مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية
المجلد ٥ - العدد ٤ من ١٠٣ الى ١١٨

ربيع الأول ١٤٠٣هـ
كانون الأول ١٩٨٢م

اكثار نبات البندورة بواسطة زراعة الميرستيم القمي

الدكتور مروان حميدان
كلية الزراعة

مقدمة :

تعد زراعة الميرستيم في عصرنا الحالي الوسيلة الأساسية لاكثار النباتات ذات الأهمية الاقتصادية والتي يصعب اكثارها بالطرق الجنسية (موريل ١٩٦٤) كما في النباتات غير المتماثلة العوامل الوراثية Plantes Hétérozygotes والتي تعطي أفراداً غير متجانسة عند اكثارها بواسطة البذور . كما انها الأسلوب الرئيسي للتخلص من الأمراض الفيروسية التي تصيب النباتات .

وقد بين ماتيوس عام ١٩٧٠ أن ١٠٪ تقريباً من الأمراض الفيروسية يمكن أن تنتقل بواسطة بذور النباتات المصابة وأن العدوى يمكن أن تحصل للبذار أثناء تلقيح النباتات السليمة بواسطة حبوب لقاح نباتات مصابة ، وقد وجد أن العامل الرئيسي للعدوى بمرض موزاييك البندورة هو البذور ، حيث ينتقل الفيروس بواسطة غلاف البذرة ، وأن العمليات الزراعية التي تتم فيما بعد تؤدي الى انتشار المرض (برودبينت ١٩٦٥ ، تايلور وآخرون ١٩٦١)

وعلى الرغم من امكانية اكثار النباتات In Vitro بواسطة زراعة الكال Cals الناشيء عن زراعة نسيج الأوراق أو أية أجزاء أخرى من النبات إلا أن احتمال انتاج سلالات غير مشابهة للنبات الأم تبقى كبيرة نتيجة حدوث تضاعف داخلي Endopolyploidie أو أية تشوهات كروموزومية أخرى (كاراتا وآخرون ١٩٧٧) ، وتبقى طريقة زراعة الميرستيم الأسلوب الأكثر ضماناً للحصول على نباتات مماثلة للنبات الأصلي . حيث أن الميرستيمات تتركب من خلايا أقل تمايزاً وتخصصاً من خلايا النسج الكاملة (داماتو ١٩٥٢) ، وعند فصلها وزراعتها تعطي نباتات مماثلة تماماً للنبات الأم وتكون خالية من الأمراض الفيروسية (موريل ومارتان ١٩٥٥ ، موريل وآخرون ١٩٦٨ ، رودريجو وآخرون ١٩٧٥) .

في هذا البحث سندرس طريقة اكثار نبات البندورة Lycopersicum esculentum بواسطة زراعة الميرستيم القمي Méristème Apical وما يلزم من عناصر غذائية وهرمونات خارجية تضاف الى الوسط المغذي لنجاح نموه وتطوره وبالتالي الحصول على نبات كامل يمكن نقله وزراعته حقلياً .

١ ـ مادة وطريقة البحث Materiel et Téchnique :

١ ـ ١ ـ المادة النباتية : Materiel végétal :

لقد تم اختيار هجين البندورة مونت فافيه ٦٣ ـ ٤ لعمل جميع التجارب . وهو ناتج عن التلقيح بين السلالتين بورفير Porphyre وأبيكا Apica الناتجتين عن المعهد القومي

للبحوث الزراعية الفرنسي . والهجين ٦٣ ـ ٤ مسجل في المجموعة الرسمية للأنواع والأصناف المزروعة في فرنسا عام ١٩٧٣ ولكنه يباع تجارياً منذ عام ١٩٦٤ ، وهو صنف يزرع بكثرة في البيوت الزجاجية ، البيوت البلاستيكية وفي الزراعات الحقلية المبكرة .

١ ـ ٢ ـ انبات البذور : Germination de graines

تم إنبات البذور في ظروف معقمة داخل أوعية زجاجية قابلة للتعقيم . وقد وضع في كل وعاء ١٠٠ مل من الوسط المغذي والمركب من : العناصر الكبرى والعناصر المعدنية الصغرى والفيتامينات لمحلول موراشيح وسكوك (MURASHIGE et SKOOG) مضافاً إليه محلول الـ Fe EDTA والاينوزيتول Inositol والآجار (٨غ/ ليتر) واعتبر هذا المحلول المحلول الأساسي ، وقد تم تعقيم الأوعية الزجاجية (برطمانات) على حرارة ١٢٠ م° لمدة ٣٠ دقيقة .

جرى تعقيم البذور في رشاحة من محلول هيبوكلوريت الكالسيوم بتركيز ٤٪ لمدة ٢٠ دقيقة وذلك بعد غمس البذور في الكحول الاتيلي عيار ٧٠٪ لمدة دقيقة واحدة . بعد ذلك جرى غسيل البذور في ماء معقم ثلاث مرات . بعد ذلك زرعت البذور بمعدل ١٠ ـ ١٥ بذرة في الأوعية الزجاجية ثم وضعت الأوعية المزروعة في صالة الزراعة لمدة ١٥ ـ ٢٠ يوم .

١ ـ ٣ ـ نزع وزراعة الميرستيم Prélèvement et mise en culture de méristemes

نزعت الميرستيمات القمية في ظروف معقمة من البادرات الناتجة عن البذور بعمر ١٥ ـ ٢٠ يوم ـ في هذه المرحلة يكون الميرستيم القمي بابعاد ٠,٢ ـ ٠,٤ مم ـ وذلك بواسطة مكبرة ذات عينيتين Loup binoculaire وزرعت في انابيب اختبار صغيرة Tubes à hémolyse تحتوي على ٢,٥ مل من البيئة المغذية . بعد نمو الميرستيمات المزروعة وتكوينها سوقاً وأوراقاً وجذوراً ، اعتبرت نباتات كاملة وتم نقلها الى أنابيب اختبار كبيرة بإبعاد ١٦٠×٢٥ مم يحتوي كل منها على ١٠ مل من المحلول المغذي الأساسي والمضاف اليه ٠,١ مغ/ ليتر من حمض الاندول الخلي AIA ، وقد اطلقنا على هذا المحلول اسم المحلول المغذي للشتلات .

عند بلوغ الشتلات طول ٥ ـ ٦ سم نقلت الى البيت الزجاجي وزرعت في أصص على خلطة من التورب والرمل بنسبة ٣ : ١ حجماً واحتفظ بها حتى تشكل الثمار .

١ ـ ٤ ـ المحلول المغذي : Milieu de culture

بعد تجارب مبدئية تتضمن إنبات البذور ، زراعة الميرستيم ، تطور الميرستيم ، وتطور البادرات المشتولة ، فقد اخترنا محلول موراشيج وسكوك (١٩٦٢) والمفصل تركيبه في الجدول رقم ١ . وقد اعتبر هذا المحلول محلولاً أساسياً واستعمل لانبات البذور . أما عند استعماله لزراعة الميرستيمات أو شتل البادرات فكنا نضيف اليه ٢٠ غ/ ليتر من السكاروز

ومنظمات النمو اللازمة ، ولجعل الوسط صلباً فقد أضيف الآجار بمعدل ٨غ/ ليتر . بالنسبة لحموضة الوسطPH فقد تمت معايرته على درجة ٥,٥ ـ ٥,٧ وذلك بإضافة قطرات من محلول هيدروكسيد الصوديوم ١/ ١٠ نظامي . وقد تم التعقيم على حرارة ١٢٠°م لمدة ٢٠ دقيقة .

١ ـ ٥ الظروف البيئية للزراعة Condition de culture

وضعت جميع الزراعات (بذور نابتة ، ميرستيمات منزوعة ، بادرات مشتولة) تحت نفس الشروط وذلك داخل صالة الزراعة Salle de cutlure على فترة ضوئية Photopériode تصل الى ١٦ ساعة وشدة ضوئية حوالي ٦٠٠٠ ـ ٨٠٠٠ إرغ/ سم٢/ ثانية .

جدول رقم ١ : تركيب محلول موراشيج وسكوك

آ ـ المركبات المعدنية

العناصر الكبرى		العناصر الصغرى	
الأملاح	مغ/ ليتر	الأملاح	مغ/ ليتر
نترات الأمونيوم NH_4NO_3	١٦٥٠	حمض البوريك H_3BO_3	٦,٢
نترات البوتاسيوم KNO_3	١٩٠٠	كبريتات المنجنيز $MnSO_4.4H_2O$	٢٢,٣
كلور الكالسيوم $CaCl_2.2H_2O$	٤٤٠	كبريتات التوتياء $ZnSo_4.4H_2O$	٨,٦
كبريتات المغنزيوم المائية $MgSO_4.7H_2O$	٣٧٠	يود البوتاسيوم KI	٠,٨٣
فوسفات البوتاسيوم الاحادية KH_2PO_4	١٧٠	موليبدنات الصوديوم $Na_2MoO_4.2H_2O$	٠,٢٥
Na_2EDTA	٣٧,٣*	كبريتات النحاس $CuSO_4.5H_2O$	٠,٠٢٥
كبريتات الحديد المائية $FeSO_4.7H_2O$	٢٧,٨*	كلور الكوبالت $CoCl_2.6H_2O$	٠,٠٢٥

* يضاف ٥ مل/ ليتر من المحلول ، وذلك من المحلول الأم الذي يحتوي على ٥,٥٧غ من $FeSO_4.7H_2O$ و ٧,٤٥غ من Na_2EDTA في ليتر من الماء .

ب ـ المركبات العضوية

ميو ـ نيوزيتول	Myo- Inositol	١٠٠ مغ/ ل
غليسين	Glycine	٢ مغ/ ل
حمض النيكوتينيك	Acide Nicotinique	٠,٥ مغ/ ل
بيريدوكسين	Pyriodoxine Hcl	٠,٥ مغ/ ل
تيامين	Thiamine Hcl	٠,١ مغ/ ل

٢ ـ دراسة تأثير منظمات النمو Substances de croissance على تطور ميرستيم البندورة :

ان مواد النمو أو منظمات النمو عبارة عن مركبات عزلت لأول مرة من النسج النباتية ووضعت في خمس مجموعات رئيسية هي :

- الاوكسينات Auxines
- الجبرلينات Gibberellines
- الستيوكينينات Cytokinines
- احماض الابسيسيك Acides Abscissique
- الايتيلين Ethylène

وهذه المواد مسؤولة عن النمو والتمايز الخلوي في النباتات ، المجموعات الثلاث الأولى هي منبهات أو منشطات للنمو والمجموعتان الأخيرتان عبارة عن مثبطات للنمو ، وما النمو والتمايز الخلوي Différenciation cellulaire إلا نتيجة للفعل المتبادل بين منظمات النمو الداخلية ، وان إضافة الهرمونات الخارجية يؤثر على كثير من العمليات الفيزيولوجية والبيوكيميائية في النبات المعامل بها .

وقد رأينا في هذا البحث أنه يجب انتقاء واحدٍ من كل من المجموعات الثلاث الاولى والمعتبرة كمنشطات للنمو ودراسة تأثيرها على نمو وتطور ميرستيم البندورة . وسيضاف الهرمون المنتخب لوحده في الوسط المغذي كخطوة أولى وفي الخطوة الثانية سيمزج مع هرمونات اخرى وذلك لمعرفة أفضل تركيب للوسط المغذي وأفضل تركيز من الهرمونات المضافة .

٢ ـ ١ ـ دراسة تأثير منظمات نمو مختلفة مضافة الى الوسط المغذي بشكل افرادي :

في هذه المجموعة من التجارب فقد تمت دراسة تأثير كل من : الجبرلين ، حمض الاندول الخلي و والبنزيل أمينوبيورين ، وقد أضيفت الى الوسط المغذي الأساسي بعد إضافة ٢٠غ/ ليتر من السكر .

٢ـ١ـ١ـ تأثير حمض الجبرلين Acide Gibberellique (AG)

من خصائص حمض الجبرلين الأساسية أنه ينشط استطالة الخلايا بعد انقسامها ، لذا فقد تمت دراسة تأثيره على نمو الميرستيم القمي لنبات البندورة وقد أضيف الى الوسط المغذي بكميات تتراوح بين صفر الى ٥ مغ/ ليتر .

في هذه التجربة المكررة ثلاث مرات أخذت ميرستيمات هجين البندورة هـ ٦٣ ـ ٤ وزرعت على الوسط المغذي بوجود حمض الجبرلين لوحده كمنشط للنمو . وقد وجد بنهاية

التجربة (٤٠ يوم) ان الميرستيمات لم تستطع ان تتطور وتعطي نباتات كاملة وانما شكلت كتلاً خلوية كبيرة غير قادرة على اعطاء بادرات بشكل نبات كامل .

يبدو من هذه التجربة ان استخدام الجبرلين لوحده لا يسمح لميرستيمات هذا الصنف من البندورة بالنمو والتطور لاعطاء نبات كامل .

٢-١-٢ تأثير حمض الاندول الخلي AIA Acide Indolyl-3- Acétique

في هذه التجربة أضيف حمض الأندول الخلي بتراكيز تتراوح بين صفر الى ١٠ مغ/ ليتر للوسط المغذي كما في التجربة السابقة وقد تمت زراعة ٦٠ ميرستيم في كل معاملة بهذا الهرمون .

وقد وجد في نهاية التجربة (٨٠ يوم بعد الزراعة) ، ان بعض الميرستيمات المعاملة بتراكيز منخفضة من الهرمون (٠,١ مغ/ ليتر) استطاعت أن تتطور وتعطي نباتات كاملة ولكن بنسبة قليلة نسبياً كما هو مبين في الجدول رقم ٢ . أما في التراكيز الأعلى فإن الميرستيمات المعاملة إما أن تعطي كتلة خلوية غير متمايزة Cals (تركيز ١ مغ/ ليتر) أو تموت الميرستيمات دون حدوث أي تطور يذكر (تركيز ١٠ مغ/ ليتر) .

من هذه التجربة يستنتج بأن حمض الاندول الخلي ذو تأثير على نمو وتطور الميرستيم ولكن يجب أن يضاف بتراكيز منخفضة وأن زيادة التركيز تكون سامة أو مثبطة للانقسام والتطور .

جدول رقم ٢ : تأثير حمض الاندول الخلي AIA على تطور ميرستيم البندورة هـ ٦٣ - ٤

التركيز مغ/ ليتر	عدد الميرستيمات المزروعة	عدد الميرستيمات المتطورة (مدة التجربة بالأيام)				نسبة الميرستيمات المتطورة
		٢٠	٤٠	٦٠	٨٠	
٠	٥٨	-	-	-	-	٠
٠,٠١	٦٠	-	١	٢	٢	٣,٣
٠,١	٦٠	٣	٥	٧	٧	١١,٦
١	٥٧	+	+	+	+	٠
١٠	٥٠	-	-	-	-	٠

الاشارة (-)= ميرستيم غير متطور أو ميت

الاشارة (+)= ميرستيم تطور وأعطى كتلة خلوية غير متمايزة cal

٢-١-٣- تأثير البنزيل أمينو بيورين Benzyl Amino purine (BAP)

لدراسة تأثير السيتوكينين فقد أضيف البنزيل أمينو بيورين BAP الى الوسط المغذي بخمسة تراكيز وتمت زراعة ٤٠ ميرستيم في كل تركيز .

بعد ٨٠ يوم من الزراعة لوحظ تشكل الكال cal على جميع ميرستيمات التجربة ، ولكن حجم الكال المتشكل كان متناسباً طردياً مع شدة تركيز السيتوكينين (انظر جدول رقم ٣) فالتركيزين ١ و ١٠ مغ/ ليتر من الـBAP أديا إلى منع تكون الجذور والسوق والأوراق ، بينما كانت النتائج مختلفة عند إضافة تراكيز أقل : ففي التركيز ٠,٠١ مغ/ ليتر ، ٣٧,٥٪ من الميرستيمات تطورت وأعطت نباتات كاملة، أما التركيز الأعلى ٠,١ مغ/ ليتر فقد أدى إلى تطور الميرستيمات واعطاء نباتات كاملة بنسبة ٩٠٪ مع ملاحظة تشوهات على هذه النباتات فبدت غير طبيعية إذ أنها تحمل أوراقاً سميكة مائية وسوقاً قصيرة ثخينة .

يستنتج من ذلك بأن ميرستيمات الصنف هـ ٦٣ - ٤ حساسة جداً لفعل السيتوكينين فبالرغم من حاجة الميرستيمات لوجوده في الوسط المغذي فإنه يجب الانتباه كثيراً للكميات المضافة .

جدول رقم ٣ : تأثير الـBAP على تطور ميرستيمات البندورة «الصنف هـ ٦٣ - ٤»
[٤٠ ميرستيم مزروع في كل معاملة]

تركيز الـBAp مغ / ليز	عدد الميرستيمات المتطورة (مدة التجربة بالأيام)				تشكل الكال	نسبة النباتات الكاملة المتشكلة (٪)
	٢٠	٤٠	٦٠	٨٠		
..	..	..	..	..	-	..
٠,٠١	٥	١٥	١٥	١٥	+	٣٧,٥
٠,١	٢٠	٣٠	٣٦	٣٦	+ +	٩٠*
١	١	١	١	١	+ + +	٢,٥*
١٠	..	..	..	..	+ + + +	..

* نباتات غير طبيعية ذات اوراق سميكة لحمية وسوق مشوهة .

٢ - ٢ تأثير مزج مواد النمو L'association de Substances de Croissance

٢ - ٢ - ١ : تأثير مزيج من حمض الاندول الخلي وحمض الجيرلين :

عند إضافة مزيج مكون من ٠,١ مغ / ليتر من حمض الاندول الخلي مع

١ مغ / ليتر من الجبرلين فقد تطورت الميرستيمات وأعطت نباتات كاملة بنسبة ٦١٪ دون تشكل الكال (انظر الجدول رقم ٤).

تظهر هذه النتائج أهمية وجود أكثر من هرمون واحد في الوسط المغذي للحصول على نباتات كاملة من الميرستيمات القمية لبنات البندورة . كما يلاحظ ايضاً بأن ميرستيم البندورة يمكن أن يتطور ويعطي نباتاً كاملاً دون وجود السيتوكينين ، ولكن مدة التجربة ستكون أطول حيث يجب الانتظار حوالي ٨٠ يوماً .

جدول رقم ٤ : تأثير مزيج من حمض الاندول الخلي AIA وحمض الجبرلين AG على تطور ميرستيمات البندورة هـ ٦٣ ـ ٤ .

(النتائج بعد ٨٠ يوم من زراعة الميرستيمات)

تراكيز الهرمونات مغ ليتر		عدد الميرستيمات المزروعة	عدد الميرستيمات المتطورة والتي أعطت نباتات كاملة	النسبة المئوية ٪
حمض الاندول الخلي AIA	حمض الجبرلين AG			
٠,٠١	١	٦٠	٨	١٣,٣
٠,١	١	٩٠	٥٥	٦١,١
٠,١	٠٠	٦٠	٦	١٠,٠
٠٠	١	٦٠	١	١,٧

٢ ـ ٢ ـ ٢ ـ تأثير مزيج من الـ BAP وحمض الجبرلين AG :

عند إضافة مزيج من هرمونات النمو الخارجية مكون من ٠,٠١ مغ / ليتر BAP و ١ مغ / ليتر جبرلين فإن ٨٥٪ من الميرستيمات المعاملة قد تطورت وأعطت نباتات كاملة طبيعية مع تكون كال بسيط ، وفي غياب حمض الجبرلين تنخفض نسبة النباتات الكاملة المتكونة الى ٣٥٪ من الميرستيمات المزروعة مع تشكل كال بنسبة كبيرة .

أما التراكيز الأخرى فقد أعطت نتائج أقل أهمية مع تشكل نسب متفاوتة من الكال حسب شدة تركيز الـ BAP ووجود أو غياب حمض الجبرلين كما هو مبين في الجدول رقم ٥ .

جدول رقم ٥ : تأثير مزيج من البنزيل امينو بيورين (BAP) وحمض الجبرلين (AG) على تطور ميرستيمات البندورة الصنف هـ ٦٣ ـ ٤ .

تركيز الهرمونات		عدد الميرستيمات المزروعة	عدد الميرستيمات المتطورة	تشكل الكال	عدد النباتات الكاملة مع تشكل جذور	نسبة النباتات الكاملة لطبيعية
مغ BAP	ليتر AG					
..	..	٤٠	..	-	-	..
٠,٠١	..	٤٠	١٤	+	١٤	٣٥,٥
٠,١	..	٤٠	٣٧	+++	٥	١٢,٥
٠,٠١	١	٤٠	٣٤	-	٣٤	٨٥,٠
٠,١	١	٤٠	٣٨	++	١٥	٣٧,٥

الإشارة (-) تعني عدم حدوث أي نشاط في الميرستيم المزروع
الاشارة (+) شدة تكون وتشكل الكال .

٢ ـ ٣ تأثير حالات مزج مختلفة بين السيتوكينينات والاوكسينات :

٢ ـ ٣ ـ ١ : الينزيل امنيو بيورين (BAP) ممزوجاً مع حمض الاندول الخلي (AIA) :

من الجدول رقم ٦ نلاحظ بأن إضافة البنزيل امنيو بيورين (BAP) وحمض الاندول الخلي (AIA) بتركيز ٠,٠١ مغ / ليتر لكل منهما الى الوسط المغذي أدى الى تطور نصف الميرستيمات المزروعة الى كال وبعد ٨٠ يوم من الزراعة ظهرت اوراق وجذور على الكال المتشكل وتكونت نباتات كاملة بنسبة ٥٠٪ من الميرستيمات المزروعة . وعند زيادة تركيز الاوكسين حتى ٠,١ مغ / ليتر أي عشرة أضعاف الحالة الاولى مع الاحتفاظ بكمية السيتوكينين المضافة (٠,٠١ مغ / ليتر) فإن الميرستيمات المزروعة تتطور بشكل مختلف عن الحالة الأولى ونحصل على حوالي ١٧ نبات كامل من ٢٠ ميرستيم مزروع مروراً بتشكل كال في البداية ، وبالعكس عند الاحتفاظ بتركيز منخفض من الاوكسين (٠,٠١ مغ / ليتر) وزيادة تركيز الستيوكينين (٠,١ مغ / ليتر) فإننا نلاحظ تشكل كال محتوٍ على براعم والتي تتطور بدورها وتعطي سوقاً نباتية ذات أوراق وتتشكل جذوراً في مرحلة متقدمة مما يؤدي للحصول على نباتات كاملة طبيعية بعد مرور ٨٠ يوماً على زراعة الميرستيمات . وفي حالة رفع وزيادة تركيز كل من الاوكسين والسيتوكينين الى ٠,١ مغ / ليتر فإن تطوراً سريعاً يحصل في

الميرستيمات المزروعة وبالتالي الحصول على نباتات كاملة بنسبة مرتفعة وفي فترة قصيرة (٤٠ يوماً بعد الزراعة) .

أما في حالة زيادة تركيز السيتوكينين حتى ٥ , ٠ مغ / ليتر مع الاحتفاظ بتركيز معتدل من الاوكسين (١ , ٠ مغ / ليتر) فإن نسبة كبيرة من الميرستيمات المزروعة تتطور وتعطي كتلاً خلوية كبيرة غير متمايزة تسمى الـ : كال cal بعض هذا الكال يستطيع أن يكون جذوراً ولكن لم يلاحظ تشكل براعم قادرة على اعطاء الأجزاء الهوائية من ساق وأوراق ، وفي حالة خفض تركيز الاوكسين الى ١ , ٠ مغ / ليتر فإن نفس التركيز المرتفع من السيتوكينين (٥ , ٠ مغ / ليتر) أدى الى تطور ١٦ ميرستيم من أصل ٢٠ ميرستيم واعطاء نباتات كاملة طبيعية .

من هذه التجارب نلاحظ الأهمية الكبرى للتوازن الهرموني وتأثيره على سلوك وانقسام خلايا الميرستيم ودفعه في اتجاه دون الآخر وأن الحدود المنشطة أو المانعة للتطور متقاربة جداً ويجب اختيارها بدقة متناهية .

٢ ـ ٣ ـ ٢ ـ البنزيل امينو بيورين BAP ممزوجاً مع حمض النفتالين الخلي (ANA) :

نلاحظ من الجدول رقم ٧ بأن التراكيز المنخفضة المستعملة لكل من السيتوكينين (BAP) والأوكسين (ANA) ١ , ٠ مغ / ليتر أدت الى نسبة ضعيفة جداً من تطور الميرستيمات حيث حصلنا على نبات واحد من أصل ٢٠ ميرستيماً مزروعاً . وهذا عكس ما حصل في حالة إضافة حمض الاندول الخلي AIA ممزوجاً مع الـ BAP بنفس التركيز (انظر الجدول رقم ٦) . أما عند زيادة تركيز الـ ANA الى ١ , ٠ مغ / ليتر مع الاحتفاظ بتركيز منخفض من الـ BAP فإن الميرستيمات تشكل (كالاً) مع كمية كبيرة من الجذور الشعرية بيضاء اللون ، وتظهر بعد ذلك براعم عديدة تتطور لتعطي سوقاً تحمل أوراقاً وبالتالي إعطاء نباتات فتية طبيعية .

في حالة خفض تركيز الاوكسين ANA الى ١ , ٠ مغ / ليتر وزيادة تركيز الـ BAP الى ١ , ٠ مغ / ليتر فإن الميرستيمات المزروعة تعطي (كالاً) يحمل براعم تتطور لتعطي نباتات كاملة كما هو الحال عند المعاملة بالـ BAP والـ AIA (جدول رقم ٧)، وبالعكس فإن النتائج مختلفة تماماً عند إضافة ١ , ٠ مغ / ليتر من كل من الـ BAP والـ AIA حيث حصلنا على ثلاث نباتات كاملة فقط من ٢٠ ميرستيماً مزروعاً أما باقي الميرستيمات فقد اعطت (كالاً) يحمل العديد من الجذور الوبرية .

وفي الحالة الاخيرة عند إضافة تركيز مرتفع من السيتوكينين (٥ , ٠ مغ / ليتر) مع تركيز

معتدل من الاوكسين ANA (١,٠ مغ / ليتر) فإن النتيجة كانت مماثلة لحالة استعمال الـ AIA بنفس التركيز حيث تشكلت كتل كبيرة من (الكال) ذات جذور .

٢ ـ ٣ ـ ٣ ـ الـ ٦ ـ جاما ـ جاما داي ميثيل اليل امنيو بيورين IPA ممزوجاً مع الـAIA :

يستنتج من الجدول رقم ٦ أن فعل الـIPA مماثل لفعل الـBAP عند إضافته بتركيز منخفض ٠,٠١ مغ / ليتـر مع تركيز منخفض من الـAIA (٠,٠١ مغ / ليتـر) ، وبالعكس عند إضافة تركيز أعلى من الـIPA كسيتوكينين مع الاحتفاظ بنفس التركيز من AIA فإننا نلاحظ اختلافاً في سلوك الميرستيمات المزروعة حيث لم يستطع اي ميرسيم أن يتطور ويعطي نباتاً كاملاً .

وأخيراً فإن أفضل النتائج المتحصل عليها بأقل فترة زمنية كانت عند إضافة تراكيز معتدلة من كل من الـIPA والـAIA (١,٠ مغ / ليتر).

٢ ـ ٣ ـ ٤ الـIPA ممزوجاً مع الـANA :

ان التوازن الهرموني IPA وANA بتراكيز منخفضة أعطى تقريباً نفس النتيجة عند استعمال المزيج IPA وAIA . أما بمقارنة ذلك عند استعمال BAP كسيتوكينين فإننا نلاحظ بأن إضافة تركيز ١,٠ مغ / ليتر من الـIPA مع الـANA بتركيز منخفض ٠,٠١ مغ / ليتر تشكل نباتات كاملة كما هو الحال عند استعمال الـBAP (انظر جدول رقم ٧).

يمكن ملاحظة أن أفضل نتيجة لتطور الميرستيمات بأقل فترة زمنية (٤٠ يوماً) كانت عند استعمال مزيج هرموني مكون من الـIPA بتركيز ٠,٠١ مغ / ليتر مع ١,٠ مغ / ليتر من الـANA .

٢ ـ ٣ ـ ٥ ـ الكينيتين ممزوجاً مع حمض الاندول الخلي La Kinétine Associée à l'AIA :

من هذه التجربة نلاحظ بأن تأثير وفعل الكينيتين مختلف تماماً عن فعل كلٍ من الـ BAP والـIPA عند استخدامها كسيتوكينينات . حيث حصلنا على ١٢ نبات كامل من ٢٠ ميرستيماً مزروعاً عند إضافة الكينيتين بتركيز ٠,٠١ مغ / ليتر ممزوجاً مع نفس التركيز من الـ AIA ، كما وأن زيادة تركيز الـ AIA الى ١,٠ مغ / ليتر أعطت نفس النتيجة تقريباً . أما زيادة تركيز الكينيتين فقد أدت الى تطور عدد قليل من الميرستيمات المزروعة واعطاء نباتات كاملة .

٢ ـ ٣ ـ ٦ الكينيتين ممزوجاً مع الـANA :

ان فعل وتأثير الكينيتين مختلف جداً في حالة استعمال الـANA كأوكسين حيث تطورت الميرستيمات بنسبة ٥٠٪ وأعطت نباتات كاملة بجميع التراكيز والحالات المستعملة تقريباً ،

ماعدا المعاملة التي استعملت بها تراكيز منخفضة من كل من الكينيتين والـANA (٠,٠١ مغ / ليتر) . ويلاحظ أن أفضل النتائج في هذه التجربة كانت عند استعمال ٠,١ مغ / ليتر من كل من الكينيتين والـANA حيث حصلنا على ١٦ نبات كامل من ٢٠ ميرستيما مزروعاً خلال ٤٠ يوماً من الزراعة .

٣ ـ الاستنتاجات :

نظراً للنتائج المتحصل عليها من التجارب السابقة يمكن أن نتوصل الى الاستنتاجات التالية :

١ ـ ميرستيمات البندورة من الصنف الهجين هـ ٦٣ ـ ٤ المزروعة In vitro بحاجة لإضافة هرمونات خارجية حتى تتطور وتعطي نباتات كاملة .

٢ ـ ان تطور الميرستيمات والحصول على نباتات كاملة وبأقل فترة زمنية ممكنة يتطلب تراكيز وتراكيب ملائمة من السيتوكينين والاوكسين ، تتراوح بشكل عام بين ٠,٠١ مغ / ليتر و ٠,١ مغ / ليتر .

٣ ـ لتطور الميرستيمات واعطاء نباتات كاملة يجب إضافة أكثر من هرمون واحد .

٤ ـ إن الشرط الاساسي للحصول على نباتات من الميرستيمات المزروعة هو إضافة اوكسين وسيتوكينين وبتراكيز ملائمة .

٥ ـ إن تأثير وفعل سيتوكينين معين يختلف حسب الاوكسينات الموجودة وتراكيزها . والعكس صحيح حيث يختلف تأثير نفس الاوكسين بحسب نوع السيتوكينين وتركيزه .

٦ ـ من الممكن الحصول على نباتات كاملة بزراعة الميرستيم عند استعمال حمض الجبرلين ممزوجاً مع تركيز ملائم من الاوكسين وبدون إضافة السيتوكينين حيث نتفادى بذلك تشكل الكال .

٧ ـ هذه النتائج والمشاهدات تنطبق فقط على هجين الجيل الأول للصنف هـ ٦٣ ـ ٤ ، وأن الأصناف الأخرى بحاجة لدراسة تراكيز أخرى من الهرمونات النباتية لدفع ميرستيماتها للتطور واعطاء نباتات كاملة (نتائج غير منشورة لنفس الباحث)[١٩٧٨] .

: تأثير عدد من السيتوكينينات ممزوجة مع حمض الانـدول الخلي AIA على تطور ميرستيمات البندورة للهجين هـ ٦٣ ـ ٤ وعلى سرعة تشكل نباتات كاملة

جدول رقم ٦ (عدد الميرستيمات المزروعة في كل معاملة هرمونية ٢٠ ميرستيم)

مواد النمو المضافة وتراكيزها مغ / ليتر		خصائص الميرستيمات المتطورة				سرعة التطور واعطاء نباتات كاملة			
BAP	AIA	(١)	(٢)	(٣)	(٤)	(٥)	(٦)	(٧)	(٨)
٠,٠١		..	..	..	١٠	..	١٠	..	١٠
٠,١	٠,٠١	..	٤	..	١٥	..	١٥	..	١٥
٠,٥		..	٤	..	١٠	..	١٠	٦	١٦
٠,٠١		..	٣	..	١٥	..	١٥	٢	١٧
٠,١	٠,١	..	٣	..	٥	..	٥	١٢	١٧
٠,٥		..	١٣	٧	..	..	..	..	..
IPA									
٠,٠١		..	٩	..	١١	..	١١	..	١١
٠,١	٠,٠١	..	١٨	..	..	..	..	..	..
٠,٥		..	٥	..	١٥	..	١٥	..	١٥
٠,٠١		..	٩	..	١١	..	١١	..	١١
٠,١	٠,١	..	٣	..	٥	..	٥	١٢	١٧
٠,٥		٦	١٠	٤	..	..	..	..	..
K									
٠,٠١		..	٨	..	١٢	..	١٢	..	١٢
٠,١	٠,٠١	..	١٧	..	٢	..	٢	١	٣
٠,٥		٢٠	..	..	..	..	..	..	..
٠,٠١		..	١٠	..	١٠	..	١٠	..	١٠
٠,١	٠,١	..	١٧	..	٣	..	٣	..	٣
٠,٥		..	١٥	٥	..	..	..	..	..

(٨) العدد الكلي للنباتات المتكونة

(٧) نباتات كاملة متكونة مباشرة (٢٠ يوم بعد الزراعة)

(٦) كال + اوراق تتطور وتعطي نباتات كاملة (٨٠ يوم من الزراعة)

(٥) كال + جذور تتطور فيما بعد وتعطي نباتات كاملة (٨٠ يسوم من الزراعة)

(٤) كال + اوراق

(٣) كال + جذور

(٢) كالcal

(١) بداءات ورقية

تأثير عدد من السيتوكينينات ممزوجاً مع حمض النفتالين الخلي ANA على تطور ميرستيمات البندورة للهجين هـ ٦٣ ـ ٤ وعلى سرعة تشكل نباتات كاملة

جدول رقم ٧ (عدد الميرستيمات المزروعة في كل معاملة هرمونية ٢٠ ميرشيم)

مواد النمو المضافة وتراكيزها مغ / ليتر		خصائص الميرستيمات المتطورة						سرعة التطور		واعطاء نباتات كاملة	
BAP	ANA	(١)	(٢)	(٣)	(٤)	(٥)	(٦)	(٧)	(٨)
٠,٠١		١٩	٠	٠	٠	٠	٠	١	١
٠,١	٠,٠١	..	٣	٠	١٧	٠	١٧	٠	١٧
٠,٥		٠	١٨	٢	٠	٠	٠	٠	٠
٠,٠١		٠	٠	١	٠	٠	٠	١٩	١٩
٠,١	٠,١	٠	٠	١٥	٠	٠	٠	٣	٣
٠,٥		٠	١٤	٦	٠	٠	٠	٠	٠
IPA									
٠,٠١		١٤	٥	٠	٠	٠	١	٠	١
٠,١	٠,٠١	٠	٣	٠	١٥	٠	١٥	٢	١٧
٠,٥		٠	٢٠	٠	٠	٠	٠	٠	٠
٠,٠١		٠	٠	٢	٠	٠	٠	١٨	١٨
٠,١	٠,١	٠	٠	٠	١٧	٠	١٧	٣	٢٠
٠,٥		٠	١٠	١٠	٠	٠	٠	٠	٠
K									
٠,٠١		٢٠	٠	٠	٠	٠	٠	٠	٠
٠,١	٠,٠١	٩	٠	٠	١٠	٠	١٠	١	١١
٠,٥		٠	٥	٠	١٥	٠	١٥	٠	١٥
٠,٠١		٦	٠	٠	١٢	٠	١٢	٢	١٤
٠,١	٠,١	٠	٠	٤	٠	٠	٠	١٦	١٦
٠,٥		٥	٠	٠	١٥	٠	١٥	٠	١٥

﴿٨﴾ العدد الكلى للنباتات المتكونة

﴿٧﴾نباتات كاملة متكونة مباشرة (٢٠ يوم بعد الزراعة)

﴿٦﴾كال + أوراق يتطور فيا بعد ويعطي نباتات كاملة (٨٠ يوم بعد الزراعة)

﴿٥﴾كال + جذور يتطور فيا بعد ويعطي نباتات كاملة

(٨٠ يوم بعد الزراعة)

﴿٤﴾كال + أوراق

﴿٣﴾كال + جذور

﴿٢﴾كالcal

﴿١﴾بداءات ورقية

المراجعREFERENCES

BROADBENT L.H., 1965 - The epidemiology of tomato masaic. xi. seed transmission of TMV. Ann. Appl. Boil. 56: 177 - 205

D'AMATO F., 1952 - Polyploidy in the defferentiation and function of tissues cells in plants.
Carvologia, 4: 311-358

KARTHA K.K., CHAMPOUX S., GAMBORG O.L. and PAHL K., 1977.
In Vitro propagation of tomato by shoot apical meristem culture. J. Amer. Hort. Sci., 102, 3: 346-349

MATTHEWS R.E.F., 1970- Methods of transmission and infection. Plant Virology: 135 - 164.

MOREL G. et MARTIN C., 1955 - Guérison de plantes atteintes de maladies à virus par cultures de méristèmes apicaux.
Report of the XIVth Internat. Hort. cong. Symposium VII: 303-309.

MOREL G., 1964 - Régénération des variétés virosées par la culture des méristèmes apicaux. Annales de la Société Nationale d'Horticultur.

MOREL G., MARTIN C. et MULLER J. F., 1968 « La guérison des pommes de terre atteintes de maladies à virus. Ann. physiol. Vég., 10: 113 - 139.

RODRIGO A., SANTIAGO A.G., MORALESF. and RODRIGUEZ F., 1975 - Meristem tip Culture and virus indexing of Sweet potatoes . Phytopathology , 65 ; 769 - 773

TAYLOR R.H., GROGAN R.G. and KIMBLE A., 1961 - Tiansmission of tabacco mosaic virus in tomato seed . Phytopathology , 5 : 837 - 842 .