كما أمكن تهجين السلالة LP 1650 من *S. peravianum* (وهى التى وجدت نامية على ارتفاع ١٦٥٠ م من سطح البحر) مع الطماطم، مع الاستعانة بمزارع الأجنة. وتبين أن الهجين كان مماثلاً للأب البرى فى تأقلم تفاعلات البناء الضوئى الظلامى فيهما عند تعرضهما للحرارة المنخفضة لفترة طويلة؛ بما يعنى إمكان الاستفادة من تلك السلالة فى نقل صفة تحمل الحرارة المنخفضة إلى الطماطم (Brüggemann وآخرون ١٩٩٦).

ومن المعروف أن الإنزيم Ascorbate peroxidase (اختصارًا: APX) يلعب دورًا هامًّا فى أيض فوق أكسيد الأيدروجين فى النباتات؛ مما يوفر لهم حماية ضد الشدّ التأكسدى. وقد وجد عند تحويل الطماطم وراثيًّا لزيادة التعبير عن APX فيها (المتحصل عليه من البسلة) أنه وفر حماية لها من أضرار الأكسدة المستحثة بكل من شد البرودة وشد الملوحة (Wang وآخرون ٢٠٠٥).

قدرة الأزهار على العقد فى الحرارة المنخفضة

التباينات الوراثية فى قدرة الأزهار على العقد فى الحرارة المنخفضة

كانت بداية التقييم للعقد فى الحرارة المنخفضة فى الأصناف التجارية، ثم انتقلت بعد ذلك إلى سلالات الطماطم غير المحسنة، ثم إلى الأنواع البرية القريبة. ونذكر — فيما يلى — جانبًا من الجهود التى بذلت فى هذا المجال.

قُيِّمَ Curme (١٩٦٢) عددًا من أصناف الطماطم فى نظام حرارى ٧/٢٣ °م نهار/ليل). ووجد اختلافات كبيرة فيما بينها؛ حيث تراوحت نسبة العقد فيها — تحت هذه الظروف — من ٢٪ إلى ٦٠٪. وذكر Minges (١٩٧٢) القدرة على العقد فى الحرارة المنخفضة ضمن الأصناف: إيرلى نورث Earlinorth ورد كوشن Red Cushion، ووسكنس تشيف Wisconsin Chief. وفى الهند.. أجرى Nandpuri

وآخرون (١٩٧٥) اختبارًا تحت الظروف الطبيعية اشتمل على ٢٤ صنفًا، ووجدوا أن أكثر الأصناف قدرة على العقد فى الجو البارد هى: كولد ست Cold Set، وأفلانش Avalanche، وإلاليهين Illalihin.

وفى كندا .. أجرى Kemp (١٩٦٨) تقييمًا شمل ١٩ صنفًا وسلالة من الطماطم، ووجد أن أكثرها قدرة على الإنبات والنمو والإزهار والعقد فى الحرارة المنخفضة هى الأصناف: كولد ست، وإيرلى نورث، وبونيتا، وأزربدزفسكى Azrbidzivsky، والسلالتان: P.I. 205040، و P.I. 280597. كما ذكر Smith & Millett (١٩٦٨) أن السلالة الأخيرة (P.I. 280597) تنتج حبوب لقاح بوفرة فى حرارة ١٠°م، وتعقد بصورة جيدة فى نظام حرارى ٢٠/٧°م (نهار/ليل).

وفى مصر.. اختبر Radwan وآخرون (١٩٨٦) ٤٣ صنفًا وسلالة من الطماطم تحت ظروف الحرارة المنخفضة شتاء، ووجدوا أن أكثرها إنتاجية وقدرة على العقد السلالتان إف إم ٥٢٠٠٩ FM 52009، ويوسى ٧٨ دبليو ٢٩ UC 78 W29، والصنف يوسى ٨٢ UC82.

وتتوفر القدرة على العقد فى الجو البارد فى الصنفين الكنديين صب أركتك ماكسى Sub-Arctic Maxi (Harris ١٩٧٥ أ)، وصب أركتك شيرى Sub-Arctic Cherry (Harris ١٩٧٥ب).

وفى إطار البحث عن مصادر للقدرة على العقد فى درجات حرارة أكثر انخفاضًا.. اتجه الباحثون إلى الأنواع البرية. فقام Patterson وآخرون (١٩٧٨) بدراسة القدرة على النمو والعقد فى درجات الحرارة المنخفضة فى عدد من سلالات النوع *S. habrochaites* التى تنمو – بريًّا – على ارتفاعات مختلفة من سطح البحر فى بيرو وإكوادور، ووجدوا أن أكثرها قدرة على تحمل البرودة السلالات التى جمعت من على ارتفاعات عالية من بيرو.

ويذكر Zamir وآخرون (١٩٨١) أن السلالة LA 1777 من النوع *S. habrochaites* تعد من أفضل مصادر القدرة على تحمل الحرارة المنخفضة؛ فهى تنمو وتعقد ثمارها بصورة طبيعية فى الجو البارد، وتنبت حبوب لقاحها بنسبة ١٠٠٪ فى خلال خمسة أيام على حرارة ٥ °م. وتنمو هذه السلالة فى بيئتها الأصلية فى بيرو على ارتفاع ٣٢٠٠ متر فى جبال الإنديز.

كذلك وجدت خاصية القدرة على إنتاج حبوب اللقاح، وإنباتها، وعقد الثمار فى الحرارة المنخفضة فى ثلاث سلالات أخرى من *S. habrochaites* هى: LA 1393، و LA 1363، و LA 1366، وجميعها تنمو طبيعيًّا على ارتفاعات كبيرة (عن Patterson ١٩٨٨).

وقد أُجرى تقييم لمائة وسبعين صنفًا وسلالة من الطماطم والأنواع البرية القريبة لكلٍ من خصوبة حبوب اللقاح (معبرًا عنها بعدد البذور التى تُنتج بالتلقيح اليدوى)، وانتثار حبوب اللقاح (تحرر حبوب اللقاح من المتوك) على حرارة ١٠ °م. شملت الدراسة أعداد السلالات التالية من مختلف الأنواع: ١٢٢ من *S. lycopersicum*، و١٤ من *S. pimpinellifolium*، و٥ من *S. neorickii*، وسلالة واحدة من *S. chmielewskii*، و٣ سلالات من *S. chilense*، و١٢ سلالة من *S. habrochaites*، و٢١ سلالة من *S. peruvianum*، وسلالتان من *S. pennellii*. قللت الحرارة المنخفضة حيوية حبوب اللقاح بوضوح فى *S. lycopersicum*، إلاّ أن عدة أصناف أظهرت بعض التحمل، منها: Mex-69، و-N 709، وMex-72، و C-20، وStupicke Ranéٍ، وMex-92، وMex-102. وأظهرت حبوب لقاح سلالات النوعين *S. pimpinellifolium*، و *S. chilense* استجابات للحرارة المنخفضة تشابهت كثيرًا مع استجابات حبوب لقاح الطماطم. وكانت حبوب لقاح سلالات النوعين *S. neorickii*، و *L. chmielewskii* متوسطة التحمل للحرارة المنخفضة.

هذا.. بينما أظهرت السلالات التالية قدرًا واضحًا من تحمل حبوب اللقاح للحرارة المنخفضة: PE-37، وPE-39، و PE-41، و LA1777 من *S. habrochaites*؛ وT-55،

و251311 PI، و126448 PI، و 126441 PI، و PE-20، و PE-18 من *S. peruvianum*، و PE-45، و PE-47 من *S. pennellii*. وكان تحرر حبوب اللقاح من متوك تلك السلالات بدرجة مقبولة، مقارنة بتحرر حبوب اللقاح فى سلالات الطماطم المقيمة. كذلك كان الارتباط إيجابيًّا بين تحرر حبوب اللقاح من المتوك فى الحرارة المنخفضة وخصوبتها (Fernández-Munoz وآخرون ١٩٩٥).

هذا.. ومن بين المصادر المعروفة لأصناف الطماطم ذات القدرة على العقد فى الحرارة المنخفضة (أقل من ١٣ °م ليلاً) كلاًّ من: Cold Set، و Ostenkinskiz، و Precoce، و Puck، و Immuna Prior Beta، ومن أفضل المتوافقات (الـ combiners) لتلك الصفة، الأصناف: John Baer، و Puck، و Early North، و Cold Set (& Althotra Kalloo ١٩٩٥).

طرق التقييم للقدرة على العقد فى الحرارة المنخفضة

إنتاج وحيوية حبوب اللقاح

فى Montfavet بجنوبى فرنسا.. اختبر Maisonneuve & Philouze (١٩٨٢) ٣١ صنفًا وهجينًا من الطماطم للقدرة على إنتاج حبوب لقاح بوفرة تحت ظروف صوبات غير مدفأة شتاء، وصلت فيها درجة الحرارة إلى أقل من ١٠ °م لعدة أسابيع، بينما كانت نباتات المقارنة نامية فى صوبة مدفأة. وقد درس الباحثان إنتاج حبوب اللقاح (بالوزن لكل زهرة) وحيويتها (معبرًا عنها بنسبة حبوب اللقاح التى تصبغ بالأسيتوكارمن acetocarmine). وقد وجدا توافقًا عاليًا بين ترتيب الأصناف حسب قدرتها على العقد وبين حيوية حبوب اللقاح التى تنتجها، وكانت أقل الأصناف حساسية للحرارة المنخفضة هى: Espalier، و Precoce، و Apeca، و Apedice، و63-4 Montfavet، و Pinkdeal، و 63-5 Montfavet، وLucy، و Super Marmande. وقد تميزت هذه الأصناف بقدرتها — تحت ظروف البرودة — على إنتاج من ٢٠٪–٥٠٪ من حبوب اللقاح التى تنتجها — عادة — مع حيوية لا تقل عن ٧٠٪.

إنبات حبوب اللقاح وقدرتها على إخصاب البيضات

فى محاولة لإيجاد أيسر وأدق الطرق لتقييم تحمل الطماطم للقدرة على العقد فى الحرارة المنخفضة قام Fernandez-Munoz وآخرون (١٩٩٤) بزراعة عدد كبير من أصناف وسلالات الطماطم المنزرعة والأنواع البرية القريبة منها فى ظروف حرارة مخفضة لا تزيد فيها الحرارة ليلاً عن ١٠ ْم، ثم قاموا بمقارنة عدد البذور بالثمرة تحت هذه الظروف مع كل من:

١- عدد الأنابيب اللقاحية عند قاعدة قلم الزهرة.

٢- دليل نسبة العقد الطبيعى.

٣- نسبة حبوب اللقاح التى تصبغ بالأسيتوكارمن acetocarmine.

٤- نسبة حبوب اللقاح التى تعطى تفاعل فلورة fluorochromatic reaction عند استعمال صبغة الـ fluoreseine diacetate.

٥- نسبة حبوب اللقاح التى أنبتت فى البيئة الصناعية.

ولقد أظهرت جميع هذه القياسات ارتباطًا إيجابيًّا ومعنويًّا بين بعضها البعض، إلاّ أن عدد الأنابيب اللقاحية عند قاعدة القلم كان أكثر الصفات ارتباطًا بعدد البذور فى الثمرة. ونظرًا لأن قياس عدد الأنابيب اللقاحية عند قاعدة القلم لا يقل إجهادًا فى أدائه عن حساب عدد البذور فى الثمرة (الذى يقتضى الانتظار لحين نضج الثمار)، فإنه يُناسب الحالات التى يقتصر التقييم فيها على عدد محدود من التراكيب الوراثية، مع الحصول على نتائج سريعة ودقيقة.

كذلك كانت طريقتا الصبغ بالأسيتوكارمن والفلورة بسيطتين وسريعتين بحيث يمكن استعمالهما فى تقييم عدد كبير من السلالات بيسر وسهولة، وإن لم يكونا بدقة طريقة عدِّ الأنابيب اللقاحية فى قاعدة القلم، علمًا بأن طريقة الأسيتوكارمن كانت هى الأفضل.

أما طريقتا حساب دليل العقد الطبيعى ونسبة إنبات حبوب اللقاح فى البيئات الصناعية فإنهما لم يكونا فاعلتين فى تقدير خصوبة اللقاح المنتجة فى الحرارة المنخفضة.

دراسة الإنزيمات المرتبطة بالعقد فى الحرارة المنخفضة

تمكن الباحثون من عزل إنزيمات متماثلة فى نشاطها وتأثيرها – ولكنها مختلفة فى شحنتها الكهربائية – ترتبط مباشرة بالقدرة على العقد فى الحرارة المنخفضة. ويمكن التعرف على هذه الإنزيمات بسهولة بطريقة الفصل الكهربائى electrophoresis، وهى التى تعرف باسم أيزوزيمات isozymes.

وقد كانت المجموعات الإنزيمية المرتبطة بصفة القدرة على العقد فى الجو البارد هى الخاصة بإنزيم Phosphogluco isomerase (يكتب اختصارًا: Pgi)؛ حيث عزلت أيزوزيمات ترتبط بحالات الأصالة الوراثية والخلط الوراثى لهذه الصفة. ويستفاد من هذه الأيزوزيمات بزراعة بذور النباتات التى يُراد انتخاب المتميزة منها فى صفة القدرة على العقد فى الحرارة المنخفضة، ثم استعمال جزء صغير من النسيج الورقى لكل منها – وهى فى طور البادرة – فى اختبار الفصل الكهربائى لفصل أيزوزيمات الإنزيم Pgi التى توجد بها؛ وبذا.. يمكن التعرف على النباتات التى يمكنها العقد فى درجات الحرارة المنخفضة، وهى التى يسمح لها بالنمو بغرض الانتخاب للصفات البستانية المرغوبة، ثم بدء دورة جديدة من التلقيحات الرجعية.

وراثة قدرة الأزهار على العقد فى الحرارة المنخفضة

ذكر أن صفة القدرة على العقد فى الحرارة المنخفضة صفة مندلية بسيطة متنحية؛ وذلك اعتمادًا على نتائج دراسة استخدم فيها الصنف المقاوم للبرودة إيرلى نورث، والصنف الحساس مارجلوب.

هذا.. إلا أنه – تحت ظروف درجات الحرارة المنخفضة شتاء فى مصر (Ibrahim ١٩٨٤) – سلكت صفات نسبة العقد والمحصول المبكر والمحصول الكلى مسلك الصفات الكمية، مع سيادة جزئية لصفة القدرة على العقد فى هذه الظروف. وكانت درجات التوريث المقدرة لهذه الصفات منخفضة جدًّا؛ مما يدل على شدة تأثرها بالعوامل البيئية.

وتبعًا لـ Kalloo (١٩٩٣) فإن القدرة على عقد الثمار فى الطماطم فى الحرارة المنخفضة يتحكم فيها عامل وراثى واحد متنحٍ أو عوامل متنحية، وذلك كما وُجد فى انعزالات التلقيح مع *L. pimpinellifolium* (Kalloo ١٩٩٣).

وقد اختبرت حيوية حبوب لقاح نباتات الجيل الأول للتهجين بين الطماطم (الصنف منى ميكر) وسلالة متحملة للبرودة من كل من ثلاثة أنواع برية من الجنس *Solanum* بالصبغ بالأسيتوكارمن لحبوب اللقاح المنتجة شتاءً، ووجد أن الهجين *S. lycopersicum* × *S. pimpinellifolium* PE 13 أظهر قوة هجين موجبة فى الصفة، بينما كانت نباتات الجيل الأول للهجين النوعى بين الطماطم وكل من السلالة PE 47 من *S. pennellii*، و PE 37 من *S. habrochaites* وسطًا فى صفة تحمل حبوب اللقاح للبرودة. وقد بدا أن حيوية حبوب اللقاح فى الحرارة المنخفضة تُوَّرث كصفة كمية (Fernández- Munoz وآخرون ١٩٩٥).

التربية لقدرة الأزهار على العقد فى الحرارة المنخفضة

طريقة انتخاب الجاميطات

تمكن R. Jones ومعاونوه (Zamir وآخرون ١٩٨١) من إدخال صفة القدرة على العقد الجيد فى الحرارة المنخفضة من السلالة LA 1777 (من النوع البرى *S. habrochaites*) إلى الطماطم باتباع طريقة انتخاب الجاميطات Gamete Selection. وتعتمد الطريقة – ببساطة – على إجراء التلقيحات الرجعية الذاتية فى برنامج التربية فى درجات حرارة منخفضة؛ حيث لا تنبت وتشارك فى عملية الإخصاب سوى حبوب

اللقاح التى تحمل جينات القدرة على إحداث العقد فى هذه الظروف؛ ولذا فهى توفر كثيرًا من الوقت والجهد؛ فلو فرض وكانت الصفة التى يُراد نقلها يتحكم فيها ١٢ جينًا.. فإن عدد الجاميطات المختلفة وراثيًّا التى يمكن – حينئذٍ – إنتاجها فى الجيل الأول يكون ٢^{ن} = ٢ ^{١٢} = ٤٠٩٦ جاميطة.

ومثل هذا العدد من حبوب اللقاح يمكن وضعه على ميسم زهرة واحدة؛ حيث لا تنبت منها – فى الحرارة المنخفضة – سوى التى تحمل الجينات المرغوبة فقط، وهى التى تُخصب البيضات. أما إن لم تتبع طريقة انتخاب الجاميطات.. فإنه تلزم – فى هذه الحالة – زراعة كل نباتات الجيل الثانى المختلفة وراثيًّا، وعددها ٤^{ن} = ٤ ^{١٢} = ١٦٧٧٧٢١٦ نباتًا؛ ليمكن انتخاب التركيب الوراثى المرغوب منها، وهو ما يستلزم زراعة نحو ١٠٠ ألف فدان من الطماطم ليمكن التعرف على التركيب الوراثى المرغوب. وقد أوضح الباحثون أنه أمكن مضاعفة عدد الهجن المتحصل عليها من أى تلقيح فى حرارة ١٢/٦ °م (ليل/نهار) بخلط حبوب اللقاح المراد اختبارها مع حبوب لقاح سلالة عادية من الطماطم ليس لها القدرة على الإنبات فى هذه الظروف.

وقد وجد أن حبوب لقاح السلالة LA 1777 من *S. habrochaites* – التى تنمو على ارتفاع ٣٢٠٠ م فى جبال الإنديز ببيرو – أكثر قدرة – بكثير – عن حبوب لقاح الطماطم فى إحداث الإخصاب فى الحرارة المنخفضة، كما كانت أكثر قدرة على الإنبات فى البيئة الصناعية على ٥ °م. ولما كانت أعداد التراكيب الوراثية الجاميطية التى ينتجها نبات خليط فى ن من العوامل الوراثية = ٢^{ن}، فقد جرت محاولة للانتخاب لصفة القدرة على العقد فى الحرارة المنخفضة عن طريق انتخاب الجاميطات؛ فتم جمع حبوب اللقاح من الهجين بين الطماطم وسلالة النوع *S. habrochaites* المشار إليها واستخدمت فى التلقيح فى الحرارة المنخفضة. ويُستدل من الدراسة أن الانتخاب الجاميطى لتحمل حبوب اللقاح الحرارة المنخفضة يعتمد – ولو جزئيًّا – على جينات يُعبِّر عنها فى حبوب اللقاح ذاتها (Zamir وآخرون ١٩٨٢).

هذا .. وتُعرف صفات كثيرة جدًّا يكون فيها التحكم جاميطيًّا، منها – على سبيل المثال – عدم التوافق الجاميطى، وقطر حبة اللقاح وتركيبها، ومعدل نمو الأنبوبة اللقاحية، وبروتينات معينة، وكذلك بعض الإنزيمات (عن Zamir وآخرين ١٩٨٢).

إنتاج الهجن

أُنتج فى أسيوط الهجين SX23 الذى يمكنه العقد فى الحرارة المنخفضة، من تهجين بين الصنف Supermarmande كأم والسلالة التى تم انتخابها للقدرة على العقد فى الحرارة المنخفضة ASS-23 كأب. أنتج الهجين ٢٠ طنًا من الثمار للفدان، وكان ذلك أعلى من محصول الصنف سوبر مارمند بنسبة ٣٥٪، كما كان وزن ثماره أعلى من وزن ثمار أى من أبويه (Mohamed وآخرون ٢٠٠٢ب).