استجابة خزعات براعم صنفين من البطاطا لتراكيز مختلفة من منظمات النمو

Response of Sprout Biopsies from Two Potato Cultivars to Different Concentrations of Growth Regulators

م. محمد الحوشان[1] د. سيروس قبادي[2]

M. Alhoshan C. Ghobadi

(1) الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دمشق، سورية. hoshan77@yahoo.com

(2) كلية الزراعة، جامعة أصفهان التكنولوجية، أصفهان، إيران، Isfahan University, Iran.

الملخص

نُفذ هذا البحث بهدف دراسة مدى استجابة أطوال مختلفة (1، 2 و 3 مم) لبراعم صنفين من البطاطا (شاندراموخ ومارفونا) لتراكيز مختلفة من منظمي النمو نفتالين أسيتيك أسيد NAA وبنزيل أمينو بورين BAP، ضمن ظروف محكمة في مخبر زراعة الأنسجة (جامعة أصفهان التكنولوجية، إيران). أظهرت النتائج وجود تأثير لطول الخزعة النباتية (Sprout tip) 2 مم في الصنف شاندراموخ المزروع على وسط MS مضافاً له NAA وBAP بالتراكيز (0.3، 0.4) و(0.5، 0.2) ملغ/ل على التوالي في طول النباتات الناتجة، بينما نتجت أطول النباتات في الصنف مارفونا على وسط MS بإضافة (0.5، 0) مغ/ل على التوالي وطول قمة نامية (خزعة) 3 مم. لوحظ تشكل أكبر عدد أوراق عند استخدام الوسط المغذي MS بإضافة (0.1،0) مغ/ل وطول خزعة 2 مم عند الصنف شاندراموخ و(0.3، 0) مغ/ل بطول3 مم عند الصنف مارفونا. في حين تشكل أكبر عدد للجذور في الصنف شاندراموخ باستخدام التراكيز (0.5،0.2) و(0.5 - 0) و(0.1 - 0) مغ/ل، أما أطول الجذور فلوحظت عند استخدام تراكيز 0.1 مغ/ل NAA و 0 مغ/ل BAP بطول خزعة 2 مم. في حين تشكل أكبر عدد للجذور وأطولها في الصنف مارفونا عند المعاملة بالتراكيز الهرمونية (0.3 - 0) و (0.5 - 0) مغ/ل وطول قمة نامية 3 مم. تعد هذه النتائج ذات أهمية تطبيقية لدراسات لاحقة نظرا للدور الذي أظهره منظم النمو NAA في الحصول على نموات جيدة عند كلا صنفي البطاطا المستخدمين.

الكلمات المفتاحية: خزعة نباتية، البطاطا، وسط النمو.

Abstract

This research was carried out to study the response of different sprout tip lengths (1, 2 and 3 mm) of two potato cultivars (Chandramokh and Marfona) to different concentrations of growth regulators (NAA: 0, 0.1, 0.3, 0.5 mgl^{-1} and BAP: 0, 0.2, 0.4 mgl^{-1}) in the laboratory of tissue culture (Isfahan University of Technology/Iran). The results showed an effect of sprout tip length (2 mm) cultivated on MS medium added with NAA and BAP (0.3, 0.4 and 0.5, 0.2 mgl^{-1}), respectively for Chandramokh and 3mm cultivated on (0.5, 0 mgl^{-1}) for Marfona on the length of plants. The number of leaves increased when 2mm sprout tip of Chandramokh grown on (0.1, 0 mgl^{-1}) added to MS medium, and when 3mm sprout tip of Marfona grown on (0.3, 0 mgl^{-1}). Higher number of Chandramokh roots were noticed by using 2mm sprout tip and (0.5, 0.2), (0.5, 0) and (0.1, 0) mgl^{-1}, whereas, (0.1, 0 mgl^{-1}) gave longer roots. In Marfona, higher number and longer

©2016 The Arab Center for the Studies of Arid Zones and Dry Lands, All rights reserved.

ISSN:2305 - 5243 ; AIF(NSP)-316

roots were found by using 3mm sprout tip and (0.3, 0) and (0.5, 0) mgl^{-1}. These results were very important for other studies because of the good effect of NAA on the growth of two potato cultivar plants.
Keywords: Growth medium, Potato, Biopsies.

المقدمة

تُعد البطاطا .*Solanum tuberosum* L من المحاصيل الدرنية المهمة في تغذية الإنسان وهي تعطي كميةً من الطاقة والبروتين أكثر من القمح والرز نظراً لارتفاع إنتاجيتها في وحدة المساحة (Mobli و Perasteh، 1994؛ Khawajeh pour، 2006؛ Roodbar Shojaei وزملاؤه، 2007). يحتل محصول البطاطا المرتبة الرابعة من حيث المساحة المزروعة بعد القمح، الرز والذرة الصفراء (Anonymous، 2007؛Kang و Priyadarshan، 2007؛ Pua وDavey، 2007؛ Singh، 2007؛ Singh و Kaur، 2009). إذ بلغت المساحة المزروعة بمحصول البطاطا على مستوى العالم 18.19 مليون هكتاراً عام 2008، بلغ إنتاجها 413.14 مليون طن (Anonymous، 2008).

لوحظ عند زراعة الأنسجة النباتية في ظروف محكمة وعلى أوساط غذائية صنعية تحتوي أملاحاً معدنية وفيتامينات إضافةً إلى الهرمونات، أن الأوكسينات عملت على زيادة تشكل الجذور في العينات المزروعة في الوسط المغذي (MS) (Murashige و Skoog، 1962)، أما السيتوكينينات فقد عملت على زيادة نمو الأجزاء الهوائية (Bostan و Demirci، 2004؛ Zhang وزملاؤه، 2005؛ Akhtar وزملاؤه، 2006). وقد وجد Roodbar Shojaei وزملاؤه (2007) لدى استخدامهم الهرمون GA_3 (حمض الجبرليك) نمواً ملحوظاً للنبيتات الناتجة عند زراعة القمم الميرستيمية. كما حصل Roca وزملاؤه (1978) على نبات كامل عند زراعة القمة النامية (الميرستيم) في الوسط المغذي MS المضاف إليه هرمونات BAP (بنزيل امينو بورين)، GA_3 وNAA (نفتالين اسيتيك اسيد)، وكان أفضل وسط نمو لزراعة الميرستيم هو الوسط المغذي السائل الذي يحتوي على 0.5 مغ/ل حمض الجبرليك (GA_3) إضافةً إلى 0.04 مغ/ل KIN (كاينيتين) (Nagib وزملاؤه، 2003). وتم الحصول على أفضل عدد أفرع وجذور وأفضل ارتفاع للساق عند نقل النبيتات الناتجة عن زراعة الميرستيم إلى وسط مغذ نصف جامد مضافاً له 0.5 مغ/ل IBA(إندول بيوتريك اسيد) و0.5 مغ/ل BA (بنزيل أدنين)، (Nagib وزملاؤه، 2003). ووجد Brown وزملاؤه (1988) أن أفضل وسط مغذ لنمو الميرستيم هو الوسط الحاوي 1 مغ/ل IAA و0.1 ملغ/ل GA_3 و 0.04 مغ/ل KIN. وتشير الدراسات إلى أنه لا يوجد حتى الآن وسط مغذي واحد يصلح لنمو ومكاثرة مختلف الأجزاء النباتية، إذ أن وسط النمو المستخدم يختلف باختلاف جنس النبات ونوعه ومكان أخذ النسيج أو العينة من النبات، لذا يجب الأخذ بعين الحسبان هذه العوامل عند تحضير وسط النمو (Rajabi، 2009). وعليه يهدف البحث إلى معرفة مدى استجابة الخزع النباتية لمنظمي النمو NAA وBAP في الحصول على نباتات ذات نمو جيد لاستخدامها في دراسات لاحقة.

مواد البحث وطرائقه

المادة النباتية:

استُخدمت درنات صنفي البطاطا (شاندراموخ و مارفونا) اللذين تم الحصول عليهما من مركز البحوث العلمية في مدينة أصفهان (إيران)، وخُزن قسمٌ من درنات كلا الصنفين ضمن أوعية بلاستيكية في غرفة مظلمة على درجة حرارة 25 م° لمدة شهر تقريبا، حيث بدأت مرحلة السكون بالإنكسار، وبدأت البراعم (Sprouts) تنمو على الدرنات. تم تعقيم العينات حسب بعض الباحثين مع بعض التعديلات (Wambugu وزملاؤه، 1985؛ Anura و Lanka، 1988؛Sidaros وزملاؤه، 2004؛ Akhtar وزملاؤه، 2006). تم غسل البراعم بالماء العادي مع بضعة قطرات من سائل الجلي لإزالة المواد العالقة عليها كافةً، تم بعد ذلك وضمن شروط معقمة وضع البراعم ضمن محلول كحولي بتركيز 70 % لمدة 30 ثانيةً، ثم غُسلت البراعم بالماء المقطر ثلاث مرات، لتوضع بعدها في المحلول التجاري هيبوكلوريد الصوديوم ذو التركيز 10 % لمدة 15 دقيقةً، تلاها غسل البراعم بالماء المقطر المعقم من 5 إلى 6 مرات. بعد انتهاء عملية التعقيم فُصلت الأجزاء القمية من البراعم المستخدمة بالأطوال 1، 2 و 3 مم، وزُرعت في أطباق بتري حاوية على الوسط المغذي MS مضافاً إليه منظمات النمو سابقة الذكر (نفتالين أسيتيك أسيد NAA وبنزيل أمينو بورين BAP).

وسط الزراعة و ظروف التحضين:

تمّ استخدام الوسط المغذي موراشيج واسكوغ (MS) (الجدول 1) دون إضافة أية منظمات نمو، أو مع تراكيز مختلفة من نوعين من منظمات النمو والمعقمة بالفلترة وهما: نفتالين أسيتيك أسيد (NAA) بالتراكيز 0، 0.1، 0.3 و 0.5 مغ/ل، وبنزيل أمينو بورين (BAP) بالتراكيز 0، 0.2 و 0.4 مغ/ل (PH =6–5.8) . ثم سُكبت مقاديرٌ معينةٌ من الوسط المغذي (20 مل) بعد التعقيم في أطباق بتري لزراعة الخزعات النباتية (4 خزع في كل طبق). ثم وُضعت العينات في غرفة النمو عند درجة حرارة 23 إلى 25 م° ضمن شروط إضاءة 16

ساعة ضوء و 8 ساعات ظلام وشدة ضوئية قدرها 40 ميكرومول /م^2/ثانية. صُممت هذه التجربة بالشكل 4×3×3، إذ يمثل الرقم الأول 3 أطوال البراعم القمية 1و 2 و3 مم، ويمثل الرقم الثاني 3 عدد تراكيز الهرمون BAP، في حين يمثل الرقم 4 عدد تراكيز الهرمون NAA.

الجدول 1. مكونات الوسط المغذي موراشيج واسكوغ (MS) المستخدم.

المكونات	التركيز في المحلول الأم (مغ /ل)	التركيز في الوسط المغذي (مغ /ل)
عناصر كبرى		
NH_4NO_3	33000	1650
KNO_3	38000	1900
$CaCl_2.2H_2O$	8800	440
$MgSO_4.7H_2O$	7400	370
KH_2PO_4	3400	170
عناصر صغرى		
KI	166	0.83
H_3BO_3	1240	6.2
$MnSO_4.4H_2O$	4460	22.3
$ZnSO_4.7H_2O$	1720	8.6
$Na_2M_oO_4.2H_2O$	50	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	5	0.025
$C_oCL_2.6H_2O$	5	0.025
مصدر الحديد		
$FeSO_4.7H_2O$	5560	27.8
$Na_2EDTA.2H_2O$	7460	37.3
الفيتامينات		
Myoinositol	20000	100
Nicotinic acid	100	0.5
Pyridoxine-HCL	100	0.5
Thiamine-HCL	100	0.5
Glycine	400	2
مصدر الكربون		
Sucrose	Added as solid	30000

وكُررت ثلاث مرات وفق التصميم العاملي لتجربة قطاعات عشوائية كاملة وتضمن البحث المعاملات التالية:

1 ـ شاهد الوسط المغذي MS، وهو شاهدٌ عام للتجربة يحتوي 0 مغ/ل BAP بالإضافة لـ 0 مغ/ل NAA.

2 ـ الوسط المغذي MS + منظم النمو NAA بمعدل 0.1 مغ/ل.

3 ـ الوسط المغذي MS + منظم النمو NAA بمعدل 0.3 مغ/ل.

4 ـ الوسط المغذي MS + منظم النمو NAA بمعدل 0.5 مغ/ل.

5 ـ الوسط المغذي MS + منظم النمو BAP بمعدل 0.2 مغ/ل.

6 ـ الوسط المغذي MS + منظم النمو BAP بمعدل 0.4 مغ/ل.

7 ـ الوسط المغذي MS + منظمي النمو NAA و BAP بمعدل 0.1 و 0.2 مغ/ل بالترتيب.

8 ـ الوسط المغذي MS + منظمي النمو NAA و BAP بمعدل 0.3 و 0.2 مغ/ل بالترتيب.

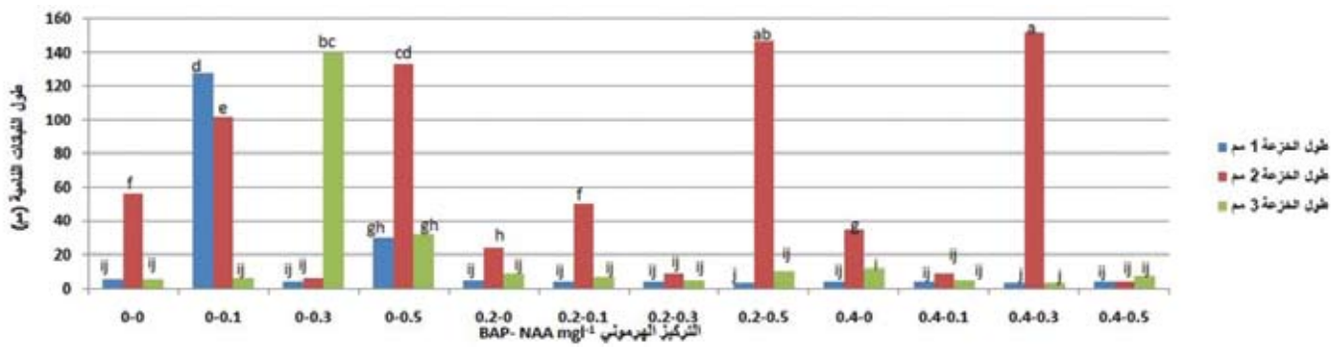
9 ـ الوسط المغذي MS + منظمي النمو NAA و BAP بمعدل 0.5 و 0.2 مغ/ل بالترتيب.
10 ـ الوسط المغذي MS + منظمي النمو NAA و BAP بمعدل 0.1 و 0.4 مغ/ل بالترتيب.
11 ـ الوسط المغذي MS + منظمي النمو NAA و BAP بمعدل 0.3 و 0.4 مغ/ل بالترتيب.
12 ـ الوسط المغذي MS + منظمي النمو NAA و BAP بمعدل 0.5 و 0.4 مغ/ل بالترتيب.

استمرت التجربة مدة 90 يوماً ضمن غرفة النمو. وفي نهاية التجربة، تمت دراسة تأثير منظمي النمو في كل صنف من الصنفين المدروسين بشكل مستقل عن الآخر من حيث عدد الأوراق، وعدد العقد على الساق، وطول النبيتات، وعدد الجذور وطولها، وتم التحليل الإحصائي باستخدام برنامجي التحليل الإحصائي SAS و MSTAT.

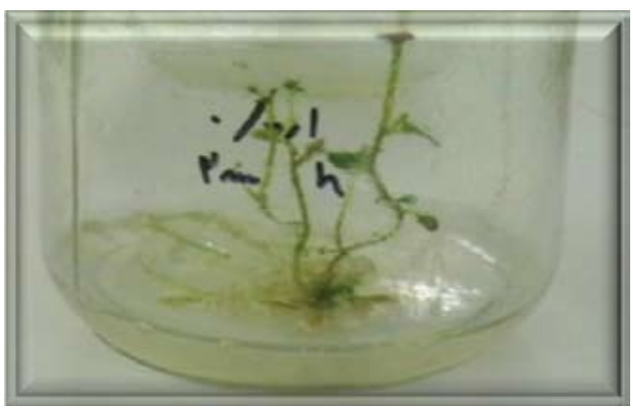
النتائج والمناقشة

1 ـ طول النبات:

يُظهر الشكل 1 تأثيراً إيجابياً لطول الخزعة النباتية 2 مم للصنف شاندراموخ المزروع على وسط MS مضافاً له NAA و BAP بالتراكيز (0.3، 0.4) و (0.5،0.2) مغ/ل على التوالي في طول النباتات الناتجة. وأظهرت هذه التراكيز الهرمونية فروقاً معنويةً مع بقية المعاملات ($LSD_{0.05}$= 8.73). وسجلت أقصر النباتات عند المعاملة (0.5، 0.4) مغ/ل مع طول خزعة 1 و2 مم. ولم تُظهر أغلب معاملات التراكيز الهرمونية فروقاً معنويةً فيما بينها عند استخدام الخزع بالأطوال 1 و3 مم، أما التركيزان 0.1 و 0.5 مغ/ل NAA فكان لهما تأثيرٌ واضحٌ في زيادة طول النبيتات الناتجة عن خزع بطول 1 و2 و3 مم على التوالي (الشكل 2).

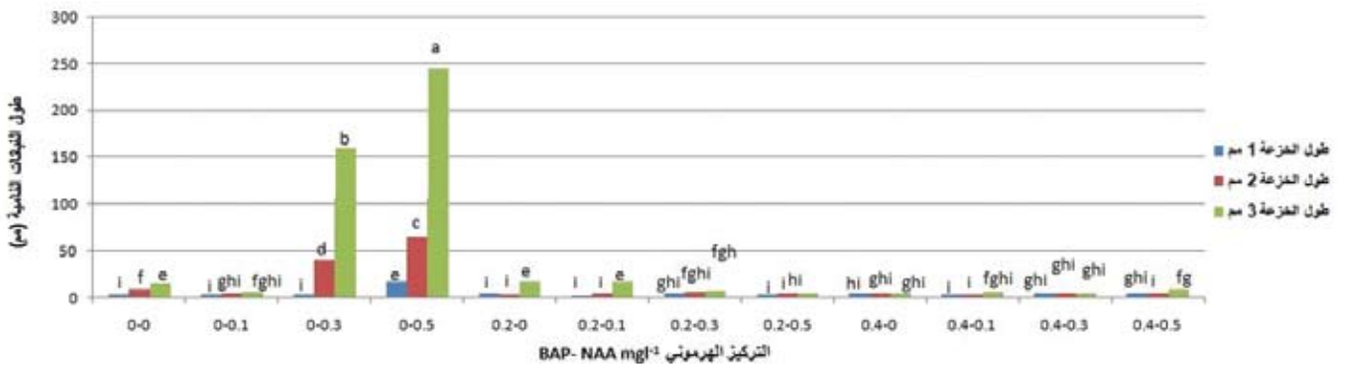


الشكل 1. تأثير التراكيز الهرمونية في النمو الطولي لنباتات الصنف شاندراموخ.



الشكل 2. النباتات النامية من خزعات بطول 2 مم ضمن وسط MS مضافاً إليه 0.1 مغ/ل نفتالين اسيتك اسيد للصنف شاندراموخ.

سُجلت أطول النباتات للصنف مارفونا على وسط MS بإضافة التراكيز (0.3، 0) و (0.5، 0) مغ/ل وطول قمة نامية (خزعة) 3 مم. وأظهرت هذه المعاملة فروقاً معنويةً مع المعاملات كافةً، وأطوال الخزع الأخرى ($LSD_{0.05}$= 3.39) (الشكل 3). أما أقل طول للنبيتات فسُجل في المعاملة 0.5 مغ/ل NAA، و0.4 مغ/ل BAP عند الأطوال المستخدمة كافةً من الخزع النباتية.



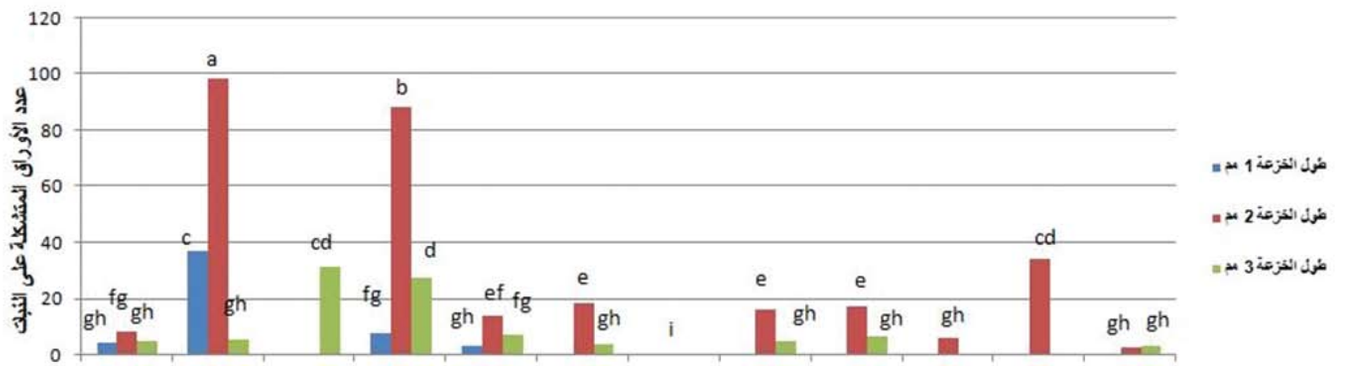
الشكل 3. تأثير التراكيز الهرمونية في النمو الطولي لنباتات الصنف مارفونا.

لوحظ مما سبق أن زيادة تركيز الهرمون BAP حتى 0.4 مغ/ل في المعاملات كافةً، والأطوال المختلفة للقمم البرعمية عملت على إنقاص طول النبيتات بشكل معنوي. وقد طابقت هذه النتائج ما توصل إليه Sanavy و Moeini (2003) و Roodbar Shojaei وزملاؤه (2007).

تشير الأبحاث السابقة إلى أن الهرمون بنزيل أمينو بورين (BAP) ونظراً لدوره الفيزيولوجي في النمو الطولي للنبيتات (Shoot elongation) قد أظهر نتائج عكسية، إذ أن المعاملات التي لا تحتوي على الهرمون BAP وتحتوي فقط على هرمون الأكسين (NAA) عملت على تنشيط استطالة خلايا النبيتات (Cell elongation)، وساعدت على النمو الطولي للسيقان (Stem growth). وكانت هذه النتائج مطابقةً لنتائج Abdul Ghaffor وزملائه (2003)، و Sanavy و Moeini (2003)، وZhang وزملائه (2005) و Roodbar Shojaei وزملائه (2007). و Badoni وChauhan (2010)، إذ استخدموا تراكيز مختلفة من الهرمون إندول أسيتيك أسيد والهرمون نفتالين أسيتيك أسيد من أجل الإكثار الدقيق للأصناف Himalini ، Zehaibi و Kufri في وسط النمو MS. من ناحية أخرى يبدو أن النمو الطولي للقمم البرعمية (Sprout tip) لم يتأثر بالنمط الوراثي للأصناف المستخدمة Genotype-dependent (Sanavy و Moeini، 2003؛ Roodbar Shojaei وزملاؤه، 2007).

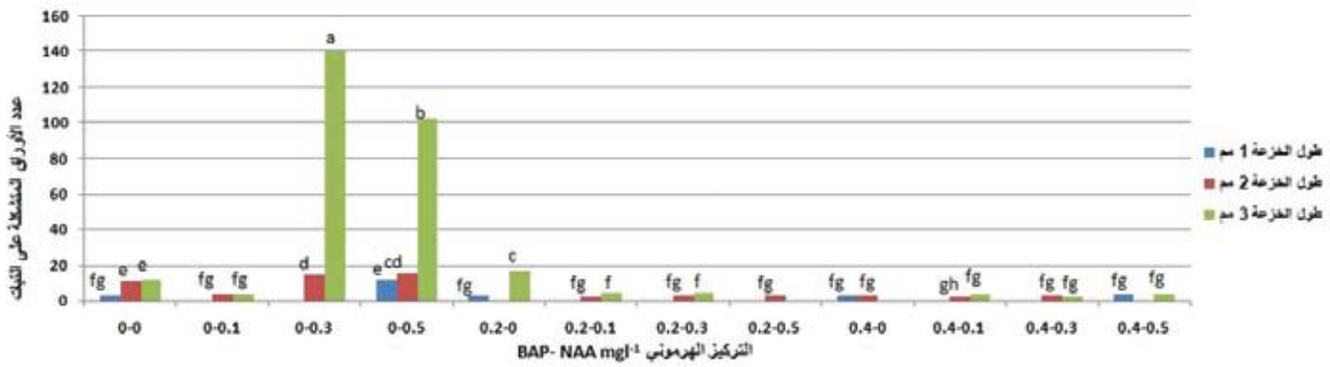
2 - عدد الأوراق:

لوحظ تشكل أكبر عدد للأوراق عند استخدام الوسط MS مع التراكيز الهرمونية NAA و BAP (0.1، 0) و (0.5،0) مغ/ل على التوالي وطول خزعة 2 مم عند الصنف شاندراموخ، إذ لوحظ الفرق المعنوي بين هاتين المعاملتين ومع المعاملات الأخرى ($LSD_{0.05}$= 7.18)، إذ تميزت النبيتات بالنمو القوي ووجود عدة أفرع على النبات الواحد. وسُجل أقل عدد للأوراق عند نبيتات معاملة الشاهد النامية من الخزع الثلاث، وعند المعاملة NAA و BAP ذات التركيز (0.5 و 0.4 مغ/ل على التوالي)، وذلك عند استخدام قمم برعمية بطول 2 و 3 مم. ولم تُظهر بعض المعاملات (0.2، 0.3 مغ/ل) تشكلًا واضحًا للأوراق الشكل (4).



الشكل 4. تأثير التراكيز الهرمونية في تشكل الأوراق عند نباتات الصنف شاندراموخ.

كما لوحظ تشكل أكبر عدد للأوراق في الصنف مارفونا عند المعاملة (0.3،0) مغ/ل بطول خزعة 3 مم، مع وجود فرق معنوي مع بقية المعاملات ($LSD_{0.05}$= 2.03). وقد أسهمت تراكيز هرمونية متعددة بتشكيل عدد قليل للأوراق (الشكل 5).

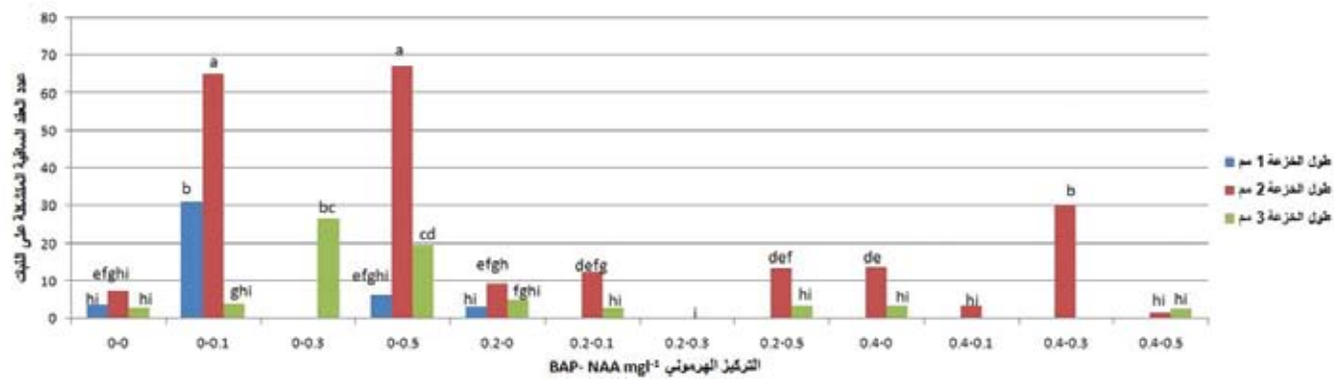


الشكل 5. تأثير التراكيز الهرمونية في تشكل الأوراق عند نباتات الصنف مارفونا.

تبين من تجربة الإكثار الدقيق لكلا الصنفين المستخدمين في هذا البحث أن التراكيز المنخفضة من الهرمون نفتالين أسيتيك أسيد أسهمت بتشكل أعداد كبيرة من الأوراق على النبيتات، وقد يُعزى ذلك إلى أن الأكسينات تعمل ضمن تراكيز منخفضة على تنشيط نمو (Organogenesis) النبيتات. من ناحية أخرى تجدر الإشارة إلى أن العامل الوراثي (Genotype-dependent) لكلا الصنفين شاندراموخ ومارفونا، كذلك الأثر المتبادل بين مورثات الصنفين ومنظمات النمو يجب أن تؤخذ بعين الحسبان، إذ يمكن أن يكون لمنظمات النمو تأثير ايجابيٌ في تنشيط عمل المورثات عند الأصناف المدروسة. وكانت نتائج التجربة المتعلقة بعدد الأوراق المتشكلة على نبيتات كلا الصنفين مطابقةً لنتائج سابقة عند الإكثار الدقيق للبطاطا ضمن الوسط المغذي MS (Abdul Ghaffor وزملاؤه، 2003).

3 - عدد العقد الساقية:

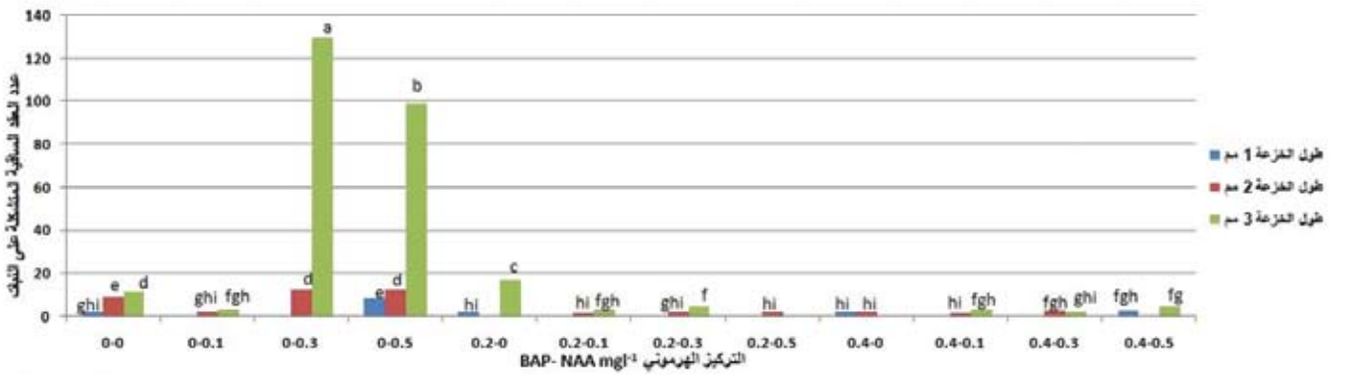
لوحظ تشكّل أكبر عدد من العقد الساقية عند استخدام الوسط MS مع التراكيز الهرمونية (0.1، 0) و(0.5، 0) مغ/ل على التوالي مع طول خزعة 2مم للصنف شاندراموخ، فقد لوحظ فرق معنوي واضح بين هاتين المعاملتين وبقية المعاملات ($LSD_{0.05}$= 8.56). بينما سُجل أقل عدد للعقد الساقية في الصنف نفسه عند المعاملة (0.5، 0.4) مغ/ل. ولم تُظهر بعض التراكيز الهرمونية أي نمو فعلي مع طول خزعة 1مم (الشكل 6).



الشكل 6. تأثير التراكيز الهرمونية في تشكل العقد الساقية عند نباتات الصنف شاندراموخ.

بالمقابل تشكّل في الصنف مارفونا أكبر عدد من العقد الساقية في الوسط MS بإضافة (0.3، 0) مغ/ل مع طول خزعة 3 مم (الشكل 7). وأظهرت هذه المعاملة فروقاً معنويةً مع المعاملات الأخرى كافةً، ومع أطوال القمم البرعمية الأخرى المستخدمة ($LSD_{0.05}$= 2.21).

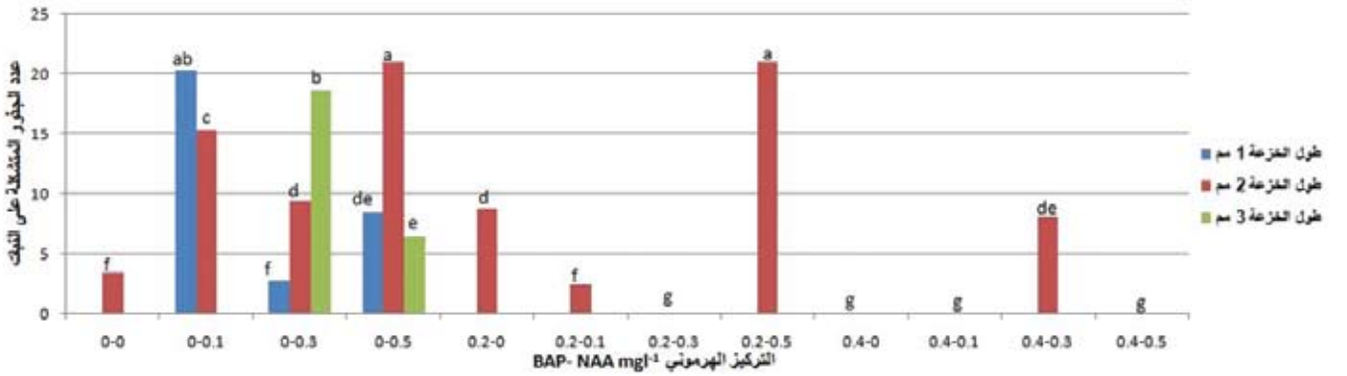
يُشار إلى أن نتائج تأثير التراكيز الهرمونية لمنظمات النمو NAA و BAP المستخدمة في هذا البحث في تشكيل العقد وعددها على النبيتات المكاثرة نسيجياً لصنفي البطاطا شاندراموخ ومارفونا، كانت مطابقةً لنتائج سابقة (Abdul Ghaffor وزملاؤه، 2003؛ Badoni و Chauhan، 2010) عند استخدامهم لتراكيز مختلفة من الهرمون NAA لدى إكثار البطاطا نسيجياً ضمن الوسط المغذي MS. وقد ذُكر سابقاً عدم تأثير زيادة تركيز الهرمون BAP حتى 0.4 مغ/ل في تشكيل العقد وعددها على نبيتات الصنف شاندراموخ النامية من قمم برعمية 2 مم. وأظهر الصنف مارفونا عند المعاملة (0، 0.4) مغ/ل، ومعاملات أخرى كما هو واضح في الشكل 7 عدداً أقل من العقد الساقية مقارنةً بمعاملة الشاهد، وذلك عند استخدام خزعات (Sprout tips) بطول 3 مم، وتطابقت هذه النتيجة مع دراسة سابقة عند استخدام تراكيز مختلفة من الهرمون BA لإكثار صنف البطاطا غرانولا نسيجياً (Bostan و Demirci، 2004).



الشكل 7. تأثير التراكيز الهرمونية في تشكل العقد الساقية عند نباتات الصنف مارفونا.

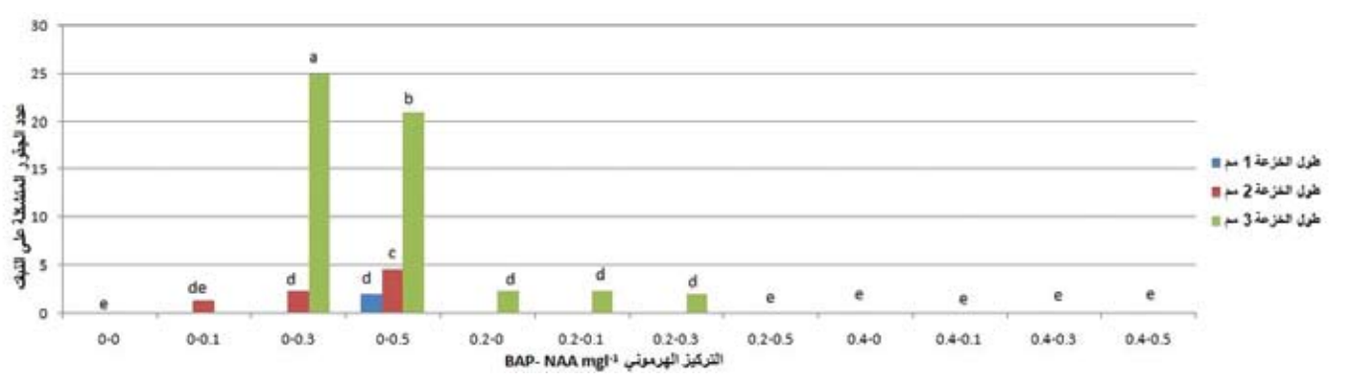
4 ـ عدد الجذور:

تبين بعد حساب المعدل الوسطي لعدد الجذور على النبات الواحد، أن العدد الأكبر للجذور تشكّل في الوسط MS مع التراكيز الهرمونية (0.5، 0.2) و (0.5، 0) مغ/ل بطول خزعة 2 مم والمعاملة (0.1، 0) مغ/ل بطول خزعة 1مم وذلك عند الصنف شاندراموخ، وأظهرت هذه المعاملات فروقاً معنويةً مع المعاملات الأخرى ($LSD_{0.05}$= 2.16)، بينما شُوهد أقل عدد للجذور عند المعاملة NAA و BAP ذات التركيز (0.1، 0.2) مغ/ل على التوالي (الشكل 8). ولم تُظهر بعض التراكيز الهرمونية (0.3، 0.2)، (0، 0.4)، (0.1، 0.4) و (0.5، 0.4) مغ/ل على التوالي، أي تشكل للجذور، ولوحظ بدلاً من ذلك تشكل الكالوس ذي اللون البني.



الشكل 8. تأثير التراكيز الهرمونية في عدد الجذور عند نباتات الصنف شاندراموخ.

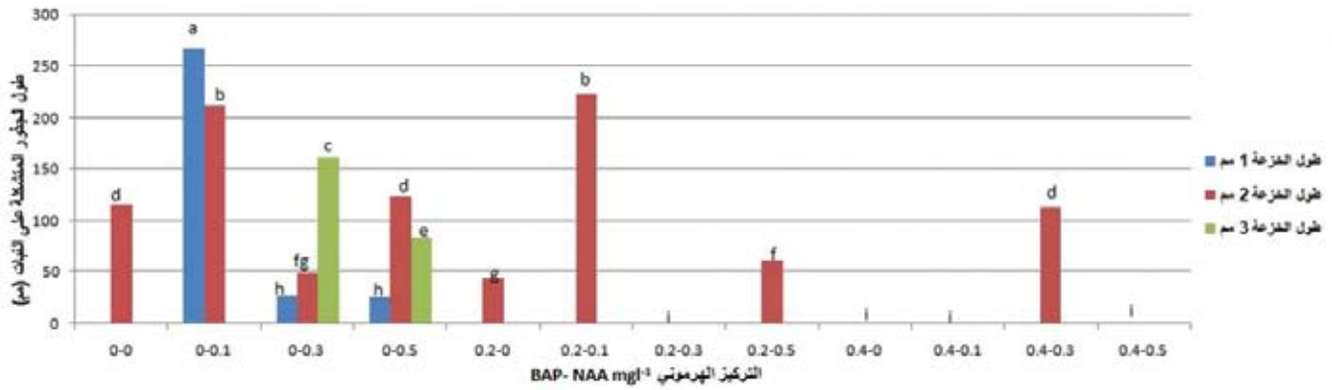
وكان أكبر عدد للجذور المتشكلة في الصنف مارفونا عند المعاملة (0.3، 0) مغ/ل مع طول خزعة 3 مم، وأظهرت فروقاً معنويةً مع بقية المعاملات ($LSD_{0.05}$= 1.37)، أما أقل عدد للجذور فكان عند التراكيز الهرمونية (0.3،0.2)، (0.1،0.2) و (0،0.2) مغ/ل على التوالي. ولم تتشكل الجذور في معاملة الشاهد وبعض التراكيز الهرمونية (0.5،0.4)، (0.3،0.4)، (0.1، 0.4)، (0،0.4) و (0.5، 0.2) مغ/ل ولوحظ تشكل الكالوس عوضاً عنه. وتُعد هذه النتيجة طبيعية نظراً لدور السيتوكينينات عند استخدامها بالتراكيز المرتفعة في الحد من تشكل الجذور ودورها الأساس في انقسام الخلايا (الشكل 9).



الشكل 9. تأثير التراكيز الهرمونية في عدد الجذور عند نباتات الصنف مارفونا.

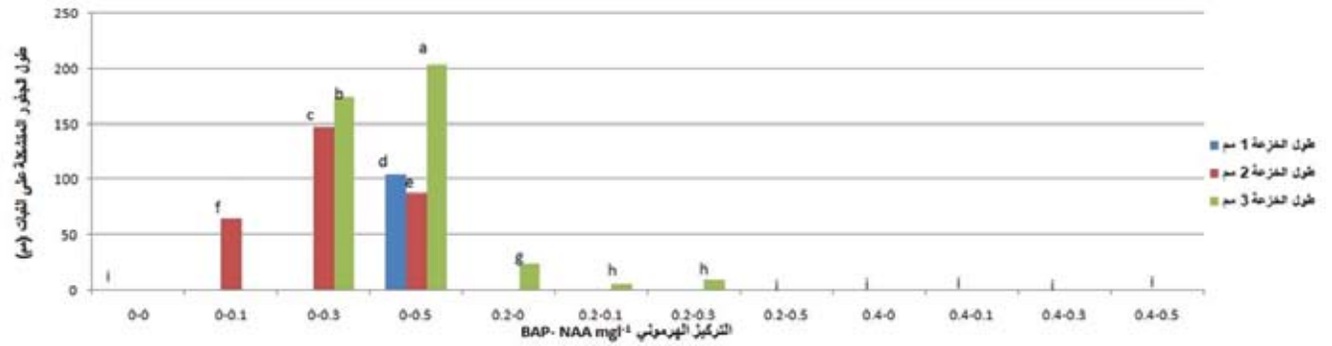
5 ـ طول الجذور:

لوحظ أن أطول الجذور كان في الوسط MS مضافاً له (0.1، 0) مغ/ل بطول خزعة 1 مم عند الصنف شاندراموخ، وقد أظهرت هذه المعاملة فرقاً معنوياً مع بقية المعاملات ($LSD_{0.05}$ =13.47)، (الشكل 10).



الشكل 10. تأثير التراكيز الهرمونية في طول الجذور عند نباتات الصنف شاندراموخ.

بينما نتجت أطول الجذور عند الصنف مارفونا لدى المعاملة (0.5،0) مغ/ل، وأظهرت هذه المعاملة فروقاً معنوية مع بقية المعاملات ($LSD_{0.05}$= 3.79)، (الشكل 11).



الشكل 11. تأثير التراكيز الهرمونية في طول الجذور عند نباتات الصنف مارفونا.

تطابقت هذه النتائج مع نتائج Abdul Ghaffor وزملائه (2003) و Sanavy و Moeini (2003) و Zhang وزملائه (2005) لدى استخدام الهرمون NAA بالتركيز 0.5 مغ/ل. كما أشار هؤلاء إلى أن مورثات أصناف البطاطا المختلفة مقارنة بالأوساط المغذية وبالتراكيب الهرمونية المختلفة تسهم كثيراً في تفاوت بعض الصفات المدروسة مثل طول الجذور وطول النبات ....الخ. وقد أشار Bostan و Demirci (2004) إلى أن وجود هرمون بنزيل أمينو بورين (BAP) بتركيز مرتفع في الوسط المغذي لنمو أنسجة نبات البطاطا يعمل على إيجاد أفرع أو سيقان ضعيفة وقابلة للكسر، في حين أن النبيتات النامية في أوساط نمو خالية من هذا الهرمون تمتعت بنمو أفضل من سابقتها.

يُلاحظ مما سبق أن زيادة تركيز منظم النمو نفتالين أسيتيك أسيد (NAA) في الوسط المغذي المستخدم دون وجود الهرمون بنزيل أمينو بورين (BAP) قد عمل على تشكل الجذور على نبيتات الصنف شاندراموخ النامية من قمم برعمية بطول 2 مم مقارنةً بالشاهد (الشكل 8)، وكانت هذه النتيجة مخالفةً لنتائج Sanavy وMoeini (2003) ولكنها كانت مطابقة لنتائج Abdul Ghaffor وزملائه (2003). وقد لوحظ في الصنف الآخر مارفونا أن التركيز 0.3 مغ/ل NAA وعند استخدام نسيج (Sprout tip) بطول 3 مم قد أسهم بتشكل الجذور على النبيتات المكاثرة نسيجياً، في حين أن زيادة التركيز حتى 0.5 مغ/ل عملت على انقاص عدد الجذور المتشكلة (الشكل 9)، وقد تطابقت هذه النتيجة مع نتائج Abdul Ghaffor وزملائه (2003) وSanavy وMoeini (2003). وقد توصل Zhang وزملاؤه (2005) في نتائجهم المطبقة على صنف البطاطا زيهايبي إلى أن زيادة تركيز الأكسينات عملت على زيادة عدد الجذور المتشكلة (Rootlets) وإنقاص طولها. ولوحظ أيضاً أن معاملات التوافقات الهرمونية NAA بالتراكيز (0، 2.5، 5 و 10 ملغ/ل) وBAP (5 مغ/ل) لم تسهم بتشكيل الجذور، وتشكل بدلاً من ذلك كالوس بني اللون، وإن عدم تشكل الجذور مع توليد الكالوس بوجود الهرمون BAP في الوسط المغذي يتطابق مع نتائج Bostan وDemirci (2004).

تجدر الإشارة إلى أن لطول الخزعة النباتية ولتركيز الهرمون المستخدم تأثيرًا في نمو النبيتات، إذ أن طول الخزعة 2 مم في الصنف شاندراموخ و 3 مم في الصنف مارفونا قد أبدى تأثيرًا إيجابيًا في إنتاج نبيتات ذات نمو جيد عند بعض تراكيز منظمات النمو المستخدمة، ولاسيما التي تحتوي

على الهرمون NAA، إذ لوحظ تشكلٌ مبكرٌ للجذور، مما ساعد على سرعة امتصاص الماء والعناصر المعدنية، كما لوحظ لدى زراعة الصنفين في الحقل وفي غرفة النمو أن الصنف شاندراموخ قد تمتع بنمو جيد مقارنةً بالصنف مارفونا، لذا قد يكون لهذا السبب تأثيرٌ في استجابة طول الخزعة للمعاملات الهرمونية المستخدمة.

الاستنتاجات والمقترحات

من خلال النتائج السابقة يُستنتج أن استجابة الخزعات النباتية من كلا الصنفين للتراكيز الهرمونية المستخدمة كانت متباينةً، وذلك تبعًا للصنف وطول الخزعة النباتية والتركيز الهرموني المستخدم، لذا فإن أفضل التراكيز وخزعات البراعم التي يُوصى باستخدامها عند كلا الصنفين كانت على الشكل التالي:

الصنف شاندراموخ: الوسط المغذي MS + 0.1 أو 0.5 مغ/ل نفتالين اسيتيك اسيد وطول خزعة 2 مم بغياب الهرمون بنزيل أمينو بورين.

الصنف مارفونا: الوسط المغذي MS + 0.3 مغ/ل من الهرمون نفتالين استيك اسيد مع طول خزعة 3 مم.

حيث نتجت عن أطوال تلك الخزع والتراكيز المستخدمة نبيتاتٌ ذات نمو جيد.

المراجع

- Abdul Ghaffor., G. B. Shah and K. Waseem. 2003. *In vitro* response of potato (*S. tuberosum* L.) to various growth regulator. Biot. J. 2: 191 - 197.
- Akhtar, N., M. H. Munawwar., M. hussain and M. Mahmood. 2006. Steril shoot production and direct regeneration from the nodal explants of potato cultivars. Asian J. Plant Sci., 5: 885 - 889.
- Anonymous .2007. Production of nuclear seed potatoes for the first time in tissue culture method in Khorasan Agriculture and Natural Resources Research Center. Newsletter Agriculture Organization of Razavi Khorasan. No. 29. (In. Persian).
- Anonymous, 2008. Crops. Available at: www.Faostat.Fao.org.
- Anura, H., and S. Lanka. 1988. Tissue culture and meristem culture in sweet potato [*Ipoaea batatas* (L.) Lam]. Report . ARC Tra. J. Sweet Potato: 1 - 7.
- Badoni, A., and J. S. Chauhan. 2010. Potato Seed Production of Cultivar Kufri Himalini, In vitro. Stem Cell, 1: 7 - 10.
- Bostan, H., and E. Demirci. 2004. Obtaining PVX, PVY and PLRV free micro tuber from Granola, Pasinler and Caspar potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars. Pak. J. Biol. Sci., 7: 1135 - 1139.
- Brown, C. R., S. Kwaitkowski, M. W. Martin and R. E. Thomas. 1988. Eradication of potato virus S from potato clones through excision of meristems from *in vitro* heat-treated shoot tips. American Potato J., 65: 633- 638.
-Kang, M. S., and P. M. Priyadarshan. 2007. Breeding Major Food Staples. Blackwell Publishing Professional. 2121 State Avenue, Ames, Iowa 50014, USA: 1 - 441.
-Khawajeh pour, M. R. 2006. Industrial plants. Publications Unit, Isfahan University Jihad: 423494-. (In Persian).
-Mobli, M., and B. Perasteh.1994. Vegetable production. (Translation), Isfahan Uni. Of Tech. (In. Persian).
-Murashige, T., and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant. 15: 473 - 497.
- Nagib, A., M. F. Hossain, M. M. Alam, R. Islam and R. S. Sultana. 2003. Virus free potato tuber seed production through meristem culture in tropical asia. Asian J. of Plant Sci., 2 (8): 616 - 622.
- Pua, E. C., and M. R. Davey. 2007. Biotechnology in Agriculture and Forestry. Transgenic Crops. Springer Verlag Berlin Heidelberg, 59: P498.
- Rajabi, M. A. 2009. *In vitro* plantlet formation and production of virus free potatoes (*Solanum tuberosum* "Istanbuli") employing chemotherapy and thermotherapy coupled with meristem culture). Master's thesis Horticulture, Faculty of Agriculture, Uni. of Tech. (In. Persian).

-Roca, W. M., N. O. Espinoza, M. R. Roca and J. E. Bryan. 1978. A tissue culture method for the rapid propagation of potatoes. American Potato J., 55: 691 - 701.
- Roodbar Shojaei, T., N. A. Sepahvand, M. Omidi, A. Mohammadi and H. R. Abdi. 2007. Response of four commercial potato cultivars to different combination of plant growth regulators in meristem culture and production of virus free plantlets. Irania J. of Crop Sciences, 9 (4): 332 - 344.(In Persian).
- Sanavy, S. A. M. M., and M. Jami Moeini. 2003. Effects of Different Hormone Combinations and Planting Beds on Growth of Single Nodes and Plantlets Resulted from Potato Meristem Culture. Plant Tiss. Cult., 13: 145 - 150.
- Sidaros, S. A., R. A. Omar., S. A. El-Kewey and S. Abd El-Khalik. 2004. Virus Elimination from Infected Garlic Plants Using Different Techniques. Egypt. J. Virol., 1: 333 - 341.
- Singh, R. J. 2007. Genetic resources, chromosome engineering, and crop improvement series. Vegetable Crops. CRC, Taylor and Francis Group. 3: P 558.
- Singh, J., and L. Kaur. 2009. Advances in potato chemistry and technology. Academic Press is an imprint of Elsevier. USA. 67: P 556.
- Wambugu, F. M., G. A. Secor and N. C. Gudmestad. 1985. Eradication of potato virus Y and S from potato by chemotherapy of cultured axillary bud tips. Amer. J. Potato Res., 62: 667 - 672.
- Zhang, Z., W. Zhou and H. li. 2005. The role of GA, IAA and BAP in the regulation of *in vitro* shoot growth and microtuberization in potato. Acta Physio. Plant, 27: 363 - 369.

Nº Ref- 295