In vetro effect of Gibberellin and cultivar on induction and sprouting microtuberization potatoes cv. Diamant, Desiree, and Marfona

تأثير الجبرلين GA3 والصنف في تحفيز وتزريع الدرنات الدقيقة الناتجة من الزراعة النسيجية للبطاطا (ديمونت، ديزري، مارفونـا)

موسى محمد حمزة * مدرس
المعهد التقني المسيب

المستخلص Abstract

نفذ البحث خلال الفترة 2008 / 2009 في مختبر زراعة الانسجة / قسم التقنيات الحياتية النباتية في الكلية التقنية / المسيب. زرعت النموات الخضرية المأخوذة من درنات البطاطا للاصناف Diamant ،Desiree و Marfona بطول (0.3 - 0.5 ملم) على الوسط الغذائي الخاص بالأكثار بعد أن عقمت بمحلول الهايبوكلورات الصوديوم بتركيز 5% ولمدة 15 دقيقة. حضنت الزروعات في المختبر على درجة حرارة 25° م ± 2 وفترة إضاءة 16 ساعة / يوم وشدة أضاءه 1000 لوكس ولمدة 35 يوم . قطعت النبيتات الناتجة من الزراعة النسيجية الى العقل بطول (1- 2 سم) أخذت العقل القاعدية لكل صنف وزرعت على وسط MS خاص بتكوين الدرنات الدقيقة الحاوي على 8% سكروز مع 2.0 غم فحم نباتي / لتر. تضمنت التجربة الاولى تعفير الدرنات الدقيقة بالمبيد الفطري (Capitan) بتركيز 2 غم/ 1كغم درنات، لدراسة تأثير الصنف والحجم في تحديد نسبة الدرنات التالفه، والدرنات المستزرعة، عدد البراعم النابته / درنه وعدد البراعم الخضرية / درنه قبل وبعد أنتهاء مدة الخزن. اما التجربة الثانية فقد تضمنت تأثير الصنف والجبرلين GA3 بتراكيز (0.0، 3.0، 4.0، 5.0 و 6.0 ملغم / لتر) في الصفات المدرسه. أظهرت النتائج تأثيرا معنويا للتداخل بين الصنف والحجم أذ تفوق الصنف ديزري مع الحجم الكبير S1 في عدد البراعم / درنه وعدد العيون النابته / درنه على الاصناف والاحجام الاخرى بلغت (6.97، 5.31) على التوالي في حين تفوق الصنف Diamant مع الحجم الكبير S1 في اعطاء اقل نسبة الدرنات التالفه واعلى نسبة تزريع الدرنات بلغت (4.05%، 99.29%) على التوالي. كما بينت النتائج ان للتداخل بين الصنف Desiree والجبرلين بتركيز 5.0 ملغم / لتر تأثيرا معنويا في عدد البراعم النابته بلغت (5.31) ، اما الصنف Diamant مع 5 ملغم / لتر GA3 فقد اعطى اعلى نسبه تزريع الدرنات الدقيقة بلغت (89.14%)، في حين أنخفضت نسبة الماده الجافه / درنة، ونسبة النشأ / درنة ولجميع الاصناف.

Abstract

This stady was conduted during the period 2009 / 2008 in the tissue culture lab. Biotechnology Department- Technical College / Musaib. Sprouts of Diamant, Desiree and Marfona potato tubers (0.3 – 0.5 mm) were transferred on the propagation medium. Explants were sterilized with sodium hypochlorite at 5% for 15 min., cultures were incubated at 25° C ± 2 and 16 hours photoperiod at light intensity 1000 lux for 35 days. The (1 – 2 cm.) basal parts of the producing cuttings were grown on microtuberization MS media containing 8% sucrose plus 2.0 g / l charcoal. The first study contained treating the microtubers with Capitan at 2g / 1kg tubers to study the effect of cultivar and size on the percentage of the damaged tubers, sprouted tubres, number of developed buds/ tuber and vegetative buds / tuber, before and after the storage. The second trial was about the effect of cultivar and Gibberellin (0.0, 3.0, 4.0, 5.0 and 6.0 mg / l) in the characters studied. The interaction between cultivar and size had a significant influence. Hightest results were obtained from Desiree with the larger size S1 regards bud number / tuber, number of grown buds, (6.97, 5.31) respectively, wheras, Diamant with S1 resulted in less damaged tubers and higher sprouting (4.05%, 99.29%) respectively. Interaction of Desiree with GA3 at 5.0 mg / l had significant effect on number of developed buds (5.31), while Diamant with 5 mg / l Gibberellin gave higher sprouting (89.14%) on the other hand there was a decrease in dry metter for all cultivars.

المقــدمـة Introduction

البطاطـا Potato L. *Solanum tuberosum* مـن العائلــة الباذنجــانية Solanaceae وتعـدّ البطاطـا رابـع محصـول أقتصادي في العالم بجانب الحنطة والرز والشعير [1]. كما انها تأتي في المرتبة الثانية من حيث الاستهلاك البشري كونها تشكل الغذاء الرئيسى للكثير من سكان العالم ومصدراً هاماً للكثير من العناصر الغذائية ، فضلاً عن احتوائها على نسبة عالية من النشأ والبروتين، كما تحتوي على الاحماض الامينية المختلفة وبالاخص اللايسين (Lysine) الذي تفتقر اليه محاصيل الحبوب، اضافة الى الاحماض العضوية والفيتامينات [2]. تكثر البطاطا اما جنسياً بواسطة البذور وهذه الطريقة غير متبعة في انتاج التقاوي وذلك بسبب الانعزلات الوراثية التي تحدث لكون النبات مفتوح التلقيح وبذلك لايمكن الحصول على نفس مواصفات الصنف عند اكثاره، الا ان تقنية زراعة البذور تستخدم بشكل واسع في الصين والهند ومصر. اما الطريقة الثانية فهي اللاجنسية بواسطة الدرنات التي هي سيقان منتفخة تنمو تحت سطح التربة، ومع طرق الاكثار الخضري غالباً ما تتعرض النباتات للاصابه بالفطريات والبكترية والفيروسات وبذلك تكون النتيجة كمية الحاصل قليلة وذات نوعية رديئة [3] . لذا دعت الحاجة الى أستخدام تقنية زراعة الأنسجة في تربية واكثار نباتات البطاطا بهدف الحصول على التقاوي ذات مواصفات مرغوبة وخالية من المسببات المرضية وبالذات الفايروسية [4]. وقد أظهرت الدراسات ان اضافة الفحم النباتي الفعال (AC) الى الاوساط الغذائية الصلبة بتراكيز (0.5 – 3%) يمكن ان يكون بمثابة عامل منشط او مثبط فقد وجد ان اضافة الفحم النباتي الفعال الى الوسط الغذائي قد ادى الى تحفيز النمو وتمايز الاعضاء Organogenesis وتكوين الاجنة Embryogenesis في العديد من الانواع النباتية، كما ان اضافة الفحم النباتي الى الوسط الصلب يسبب اسوداد الوسط الغذائي وبذلك يكون مشابهاً الى الاوساط الطبيعية من حيث نمو الجذور والمدادات في الظلام، كذلك يؤدي الى امدصاص Adsorption المركبات السامة التي تعيق النمو للجزء النباتي المزروع كما ان الفحم النباتي الفعال يمدص منظمات النمو النباتية من الوسط الغذائي [5]. الجبرلينات (Gibberellins) هي منظمات نمو تنتج طبيعيا في أنسجة النبات، وهناك نحو 116 نوعاً معروفاً من الجبرلينات لكن المستعمل منها على نطاق واسع هو حامض الجبرليك GA3 [6]. الجبرلينات تحفز النمو للنباتات الناتجة من أجنة عرضية في مزارع الانسجة النباتية كما تتميز بسهولة ذوبانها بالماء [5]، وان الدور الاول لحامض الجبرلين (Gibberellic acid) هو توفير الغذاء اللازم لنمو الجنين وذلك من خلال تحرير أنزيم a –amylase الذي يعمل على تحليل الكاربوهيدرات المعقدة الى سكريات بسيطة، كما يشجع على استطالة التفرعات الخضرية، ويسهم في كسر طور السكون في البذور وبراعم البطاطا من خلال أعاقة الدور التثبيطي لحامض الابسيسيك ABA الذي له اثر كبير في سكون الدرنات، فضلا عن دور الجبرلين في زيادة نفاذية الاغشية الخلوية وانتقال المواد الغذائية الى داخل الخلايا للافادة منها في تحرير الطاقة اللازمة لنمو اكبر عدد من البراعم على الدرنات، وأزالة أثر السيادة القمية نتيجة تحفيز البراعم، وتنشيط نموها ، وزيادة نسبة محفزات النمو في درنات البطاطا حيث تعمل على كسر طور الراحة والتبكير بالانبات [7]. ونتيجة لقلة الدراسات التي تهتم بتحفيز وتزريع الدرنات الدقيقة لاصناف البطاطا المعتمده زراعتها في القطر وتحسينها ورفع نسبة انباتها وتقليل نسبة التلف فيها، لذا تم اجراء هذا البحث لتحديد افضل الطرق والمواد التي تساعد على حفظ الدرنات وحمايتها من التلف خلال مدة الخزن وكذلك تحديد أفضل تركيز بحيث يسهم في رفع نسبة التزريع في الصنف المناسب.

المواد طرائق العمل Materials and Methods

نفذت هذه التجربة في مختبر زراعة الانسجة قسم التقنيات الحياتية النباتية / الكلية التقنية / المسيب في المدة بين كانون ثاني 2008 ولغاية أذار 2009 وتضمنت التجربة الخطوات التالية:

1ـ أختيار الاصناف المعتمدة في البحث:

أعتمدت ثلاثة أصناف من البطاطا الهولندية المنشأ ذات احجام متجانسه ومن الرتبة Elit والمعتمده زراعتها في القطر، التي تستوردها الشركه العراقية لانتاج البذور والتي تم كسر طور السكون فيها بخزنها على درجة حرارة 4° م ولمدة ثلاثة أشهر وهي (Diamant و Desiree و Marfona) وتمتاز هذه الاصناف بالمواصفات التالية [2].

Aـ الصنف ديمونت Diamant : يعطي هذا الصنف نباتات ذات نمو خضري جيد، وقليل التفرعات وسيقانه سميكة خضراء والاوراق كبيرة نسبيا، الصنف متوسط التآخير في النضج، الدرنات بيضاوية منتظمه والقشرة ذات لون أبيض مصفر، اللب أصفر فاتح، الانتاجية جيدة.

Bـ الصنف ديزري Desiree : يمتاز هذا الصنف بسيقان طويله ومتعددة وسميكه لونها مائل الى الاحمر البني، ذات نمو خضري جيد والاوراق صغيرة نسبيا، الدرنات شكلها بيضوي الى كروي لون القشرة حمراء ناعمة واللب ذو لون أصفر، الانتاجية عالية جداً.

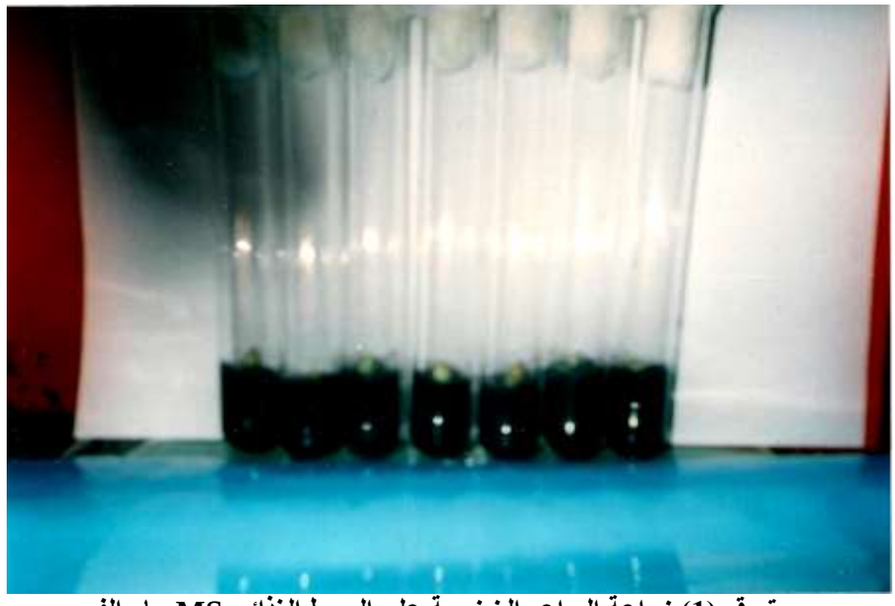
Cـ الصنف مارفونا Marfona : يتصف هذا الصنف بمجموع خضري كبير، السيقان قليلة العدد والاوراق خضراء اللون كبيرة، الدرنات بيضوية الشكل ولون القشرة أصفر واللب أصفر لماع ومعدل الانتاجية عالية جداً.

2ـ مصـدر الزروعـات: أخذت الدرنات من الاصناف الثلاثة وغسلت بالماء الجاري لمدة 30 دقيقة لازالة الاتربة والمواد العالقة فيها، ثم حضنت الدرنات في ظروف الظلام على درجة حرارة 23 – 27° م لمدة أسبوعين لتشجيع نمو البراعم الخضرية على الدرنات المعتمده في البحث [8]. بدأت البراعم الخضرية بالتحفيز والنمو ووصل معدل طولها على الدرنات (1– 2 سم) أذ يجب ان لايقل طولها عن 2 ملم وبخلاف ذلك تعد الدرنه ساكنه [7]. فصلت البراعم الخضرية من الدرنات وجمعت لغرض زراعتها على الوسط الغذائي. اعيدت الدرنات الى االخزن ثانية لتشجيع البراعم الاخرى على النمو لغرض الاستفاده منها في البحث.

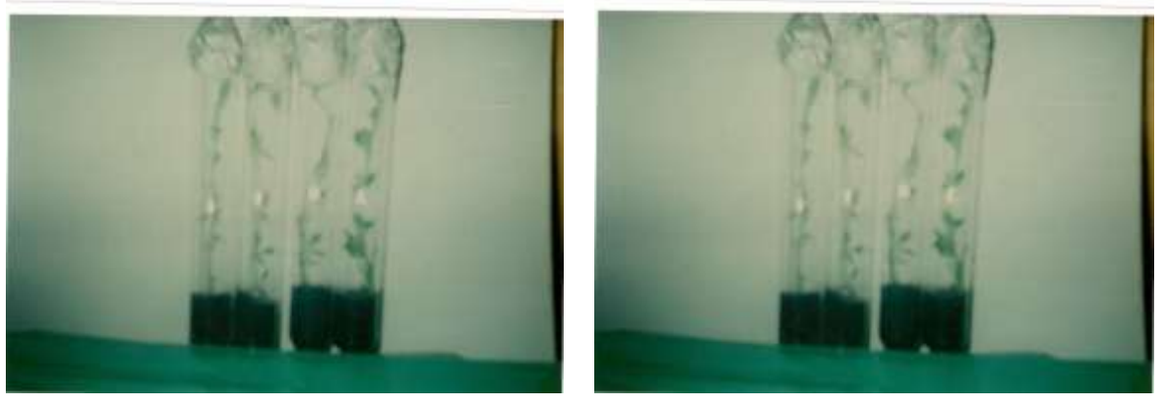
3ـ تعقيم البراعم الخضرية وزراعتها على الوسط الغذائي: أخذت البراعم الخضرية للاصناف الثلاثة وقصرت الى طول 1سم بقطعها بوساطة شفرة جراحية وغسلت بالماء المقطر عدة مرات، غمست نهايات البراعم االخضرية في الشمع البرافين المذاب بدرجة حرارة 40° م لمنع نفوذ المادة المستخدمه في التعقيم الى داخل أنسجة الجزء النباتي وكذلك لايقاف تبخر الماء من منطقة الجروح ومنع جفاف البرعم لحين أستخدامه في الزراعة [9]. عقمت البراعم وذلك بغمرها في محلول مائي يحتوي على هايبوكلورات الصوديوم (NaOCl) بتركيز 5% ولمدة 15 دقيقة مع التحريك المستمر [10]. بعد ذلك غسلت البراعم بالماء المقطر المعقم 3 مرات لازالة تأثير المادة المعقمه، وبعد تحضير الوسط الغذائي الخاص بزراعة البراعم الخضرية والذي يتكون من مجموعة الاملاح المعدنية والمعروفة بأسم MS [11] مضاف اليها الفيتامينات ومنظات النمو والسكروز جدول رقم (1) تضاف هذه الكميات في لتر ماء مقطر ثم عدلة الداله الهيدروجينيه (pH) للوسط الغذائي الى 5.7 بأستخدام قطرات من حامض االهيدروكلوريك HCL (1 عياري) او هيدروكسيد الصوديوم NaOH ثم أضيف الآكار (Agar) بمعدل 8 غم/ لتر لغرض تصليب الوسط الغذائي مع أضافة 2 غم/ لتر فحم نباتي فعال [12]. سخن الوسط على مسخن كهربائي دوار حتى االغليان وبعد ذلك تم توزيع الوسط داخل أنابيب الزراعة قياس 25 × 150 ملم بأضافة 15 مل / انبوبة زراعة أغلقت فوهاتها بالقطن الطبي ولفت بورق المنيوم فويل (Almnium foil) ثم عقمت بجهاز (Autoclave) بدرجة حرارة 121° م وضغط مقدارة 1.04 كغم / سم^2 لمدة 15 دقيقة، ثم نقلت الانابيب الى المختبر وتركت الى اليوم التالي لتكون جاهزه للزراعة. أخذت البراعم الخضرية المعقمة وقطعت قمة البراعم بطول 0.5 سم وزرعت داخل الانابيب بواقع برعم واحد لكل انبوبه، أغلقت فوهاتها بالقطن ولفت بالورق (Almnium foil) وقد أجريت جميع العمليات داخل جهاز التعقيم الهوائي الطبقي (Laminar air flow cabinet). ثم نقلت الزروعات الى غرفة النمو (صورة رقم 1) وحضنت تحت درجة حرارة 23 – 25 م وشدة أضاءة 1000 لوكس لمدة 16 ساعة / يوم [13] و [9] .

4 ـ زراعة المرستيم القمي Apical Merestem Culture : بعد مرور 2 – 3 أسبوعاً نمت البراعم الخضرية داخل أنابيب الزراعة وأصبحت جاهزة لأ ستئصال المرستيمات القميه منها. تم أستئصال المرستيم القمي من البراعم الخضرية النامية بطول 0.3 – 0.5 ملم مع زوج من بادئات الاوراق (Leaf prinordia) بأستخدام الشفرات الجراحيه المعقمه وتحت ظروف معقمة لضمان عدم أنتقال المسببات المرضية وخصوصا الفيروسات [8]. لتجنب جفاف المرستيم القمي زرع مباشرة على الوسط الغذائي حيث يتطلب ذلك الدقة العالية والسرعة في أستئصاله وزراعته، وقد أستخدم نفس الوسط الغذائي المستخدم في زراعة البراعم الخضرية وبواقع مرستيم واحد / أنبوبة زراعة. حضنت الزروعات بنفس الظروف السابقة ولمدة 4 – 6 أسابيع حيث بدأ المرستيم القمي بالنمو والتكشف الى نموات خضرية بطول 10 – 13 سم صوره رقم 2 وتحتوي على مجموعة من الاوراق وفي أبط كل ورقة برعم، جرى تقطيع هذه النموات الى عقل تحوي كل عقله على عقده واحده وبرعم واحد على الاقل. زرعت هذه العقل على وسط غذائي جديد يحوي مكونات الوسط الغذائي السابق ذاتها، حضنت العقل تحت الظروف السابق ذكرها. لزيادة عدد النباتات السليمة فقد أستعملت قناني الزراعة النسيجية قياس (50 × 150 ملم) بدلا من الانابيب أذ زرعت 5 عقل / قنينة صورة رقم 3، وأعيدت العملية عدة مرات لحين الوصول الى العدد المطلوب من النباتات للاصناف الثلاثة المستخدمة في البحث.

5 ـ أنتاج الدرنات الدقيقة Microtubers داخل قناني الزراعة: أخذت العقل القاعدية من النباتات الناتجة من الزراعة النسيجية بطول 2 سم تحوي على عقده واحدة لكل صنف لغرض الحصول الدرنات الدقيقة ذات أحجام وأوزان أكبر وعدد عيون اكثر من الدرنات المنتجة من العقل الوسطية والطرفية والتي لم تستخدم في البحث حيث أعيدت زراعة هذه العقل على الوسط الغذائي لغرض التضاعف الخضري [14]. اما العقل القاعدية فقد زرعت داخل القناني الزراعة سعة 250 مل بواقع 5 عقل/ قنينة حاوية على وسط غذائي MS خاص بتكوين الدرنات الدقيقة جدول رقم (2) مضاف الية 2 غم / لتر من الفحم النباتي الفعال، وذلك لجعل بيئة الوسط الغذائي مشابهه للبيئة الطبيعية لكي تنمو الدرنات بشكل طبيعي، كما يعمل الفحم على أمدصاص المركبات الفينولية السامة من الوسط وكذلك يحفز الجزء النباتي المزروع على النمو [5]، حضنت الزروعات في ظروف المختبر بدرجة حرارة 18° م ومدة أضاءه 6 ساعة وشدة أضاءه 1000 لوكس يعقبها ظلام لمدة 16 ساعة يوميا مع الحفاظ على ثبات درجة الحرارة وعدم السماح لها بالارتفاع لانها تؤخر عملية تكوين الدرنات الدقيقة وتطورها [8]. بدأت عملية تكوين الدرنات بعد 3 ـ 4 أسابيع من الزراعة وتكاملت بعد مرور شهرين صورة رقم (4).



صورة رقم (1) زراعة البراعم الخضرية على الوسط الغذائي MS حاوٍ الفحم

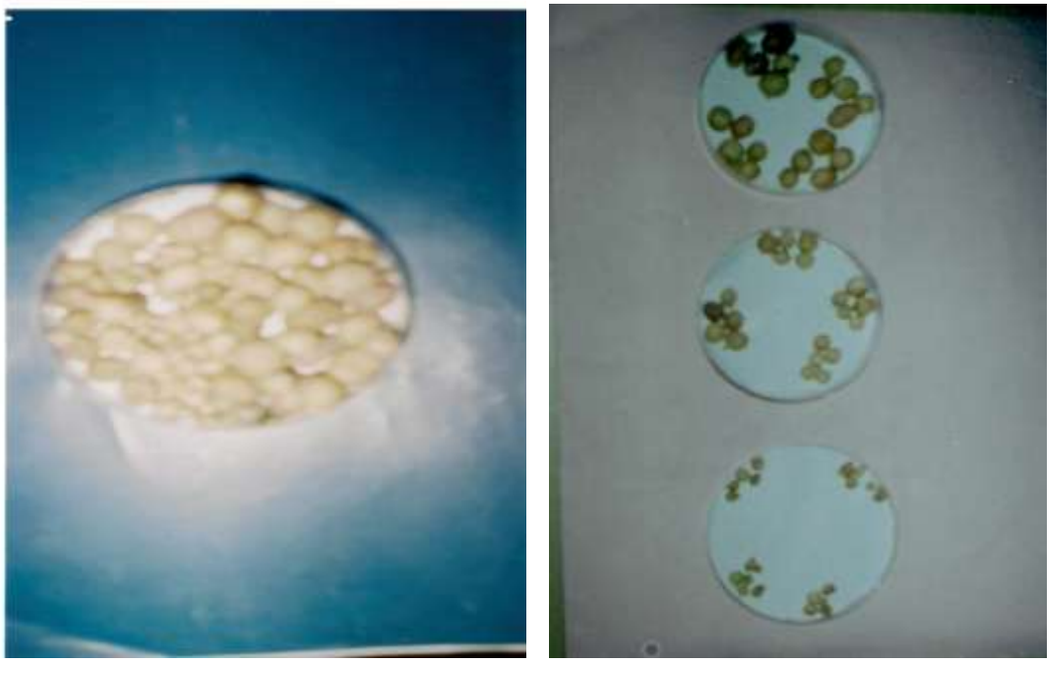


صورة رقم (2) نمو المرستيم القمي على الوسط الغذائي MS حاوٍ الفحم بعد مرور شهر من الزراعة

صور رقم (3) زراعة العقل القاعدية على الوسط الغذائي MS حاوٍ الفحم بعد مرور شهر من الزراعة

6 – جني الدرنات الدقيقة وتعفيرها ثم خزنها: جرى فصل الدرنات الدقيقة من النباتات بأستخدام الملاقط والمشارط المعقمة حيث وضعت النباتات في اطباق بتري ثم فصلت الدرنات بصورة منفردة، بعدها غسلت بالماء الجاري للتخلص من بقايا الوسط الغذائي العالقة بها، ثم وضعت في اطباق بلاستيكية وتركت مكشوفه في المختبر لمدة 24 ساعة للتخلص من الرطوبة الزائدة. عفرت الدرنات الدقيقة بالمبيد الفطري Capitan بتركيز 2 غم / 1كغم درنات وحسب تعليمات الشركة المصنعه للمبيد [9] ، ثم جرى تدريج الدرنات الدقيقة الى ثلاثة أحجام مختلفه S1 يمثل الاحجام الكبيرة (قطرها اكبر من 4 ملم)، S2 الحجم المتوسط قطره اكبر من 3 – 4 ملم S3 الحجم الصغير وقطره من 2 – 3 ملم، صورة رقم (5). عبأت الدرنات في قناني زجاجية سعة 250 مل ثم أغلقت فوهاتها بالقطن الطبي وخزنت في مكان مبرد لكسر طور السكون فيها تحت درجة حرارة 4□ م ± 1 ورطوبة نسبيه 80% وفي ظلام كامل لمدة شهرين [13].

صورة رقم (4) تكوين الدرنات الدقيقة بعد مرور شهرين من الزراعة على الوسط الغذائي MS حاو□ الفحم



صورة رقم (5) تعفير وتدريج الدرنات الدقيقة الى احجام مختلفة

أن مثل هذه الظروف من الخزن تؤدي الى زيادة عدد البراعم التي تنبت مع تقدم عمر الدرنه وكذلك نسبة التلف فيها لاتتجاوز 0.93% [15]. وخلال هذه المدة تم أجراء فحص دوري كل اربعة ايام لتقليب الدرنات واستبعاد المصابه منها. وعند أنتهاء مرحلة كسر السكون تم تنبيت الدرنات الدقيقة على درجة حرارة 20° م لمدة أسبوع واحد وبضوء غير مباشر، غسلت الدرنات بالماء المقطر وبعد ذلك تم حساب الدرنات النابتة وغير النابتة وذلك لاجراء التجارب عليها.

7ـ المعاملات الكيمياوية التحفيزية للدرنات الدقيقة: أخذت 25 درنة غير نابتة لكل صنف أذ وضع في كل معاملة خمس مكررات (أطباق بتري زجاجية) وفي كل مكرر 5 درنات دقيقة، وغمرت في محلول يحتوي على الجبرلين GA3 وصيغته الجزيئية $C_{19}H_{22}O_6$ بتراكيز هي (0.0 , 3.0, 4.0, 5.0 و6.0) ولمدة 10 دقائق ثم تركت في المختبر لتجف. نقلت الدرنات الى أطباق بتري حاوية على ورقة الترشيح

وتم ترطيبها بالماء المقطر بين الحين والأخر في جو المختبر ومراقبة تزريعها، اما معاملة المقارنه فقد غمرت الدرنات بالماء المقطر لمدة 10 دقائق ثم جففت بالهواء ونقلت الى الاطباق وعرضت للظروف نفسها في المعاملات الاخرى. نفذت تجربة عاملية حسب تصميم تام التعشية CRD (Completely Randomized Design) وقورنت المتوسطات حسب اختبار LSD عند مستوى احتمالية 5% [16].

8 ـ القياسات المختبرية:

A ـ القياسات المختبرية قبل وبعد الخزن: تم حساب الدرنات التالفه خلال مدة الخزن بقسمة عدد الدرنات التالفة على العدد الكلي مضروب بـ 100 ثم أخذت 60 درنه بشكل عشوائي من كل حجم وحسب الاتي

1ـ عدد البراعم الموجوده على الدرنات الدقيقة قبل الخزن

2ـ النسبة المئوية للدرنات المستزرعه بعد انتهاء مدة الخزن بقسمة الدرنات النابته على العدد الكلي × 100

3ـ عدد البراعم النابته على الدرنات الدقيقة بعد انتهاء مدة الخزن

جدول (1) مكونات الوسط الغذائي المستعمل في زراعة القمم النامية وأكثار النباتات الناتجة

المادة	الاسم الانكليزي	الكمية ملغم/ لتر
مجموعة أملاح MS	**Murashige and Skoog salts (1962)**	**قوة كاملة**
أنوسيتول	Inostol	100
ثيامين حامض الهيدروكلوريك	Thiamine – HCl	0.5
بايرودوكسين	Pyridoxine – HCl	0.5
حامض النكوتين	Nicotinic acid	0.5
الكلايسين	Glycine	2.0
البنزل ادنين	Benzyl adenine	2.0
الفحم النباتي الفعال	Activated Charcoal	2000
السكروز	Sucrose	30000
الاكار	Agar	7000

B ـ القياسات المختبرية على الدرنات الدقيقة غير النابته بعد انتهاء مدة الخزن

1ـ قياس النسبة المئوية لتزريع الدرنات بعد اجراء المعاملات التحفيزية بالجبرلين: أخذت 25 درنه لكل صنف ووضعت كل 5 درنات منها في طبق بتري يمثل مكرر لكل معامله يحوي على ورق ترشيح يرطب بالماء المقطر بين الحين والاخر وتم مراقبتها يوميا لحساب نسبة التزريع وكما يأتي [17].

$$\text{النسبة المئوية للتزريع} = \frac{\text{عدد الدرنات المستزرعه}}{\text{العدد الكلي للدرنات المستخدمة}} \times 100$$

2ـ النسبة المئوية للمادة الجافه للدرنات الدقيقة بعد المعامله: اخذ معدل وزن 5 درنات من كل صنف ثم وضعت في مجفف كهربائي (Oven) في درجة حرارة 65° م لحين ثبات الوزن وقد تم حسابها حسب المعادلة التالية:

$$\text{النسبة المئوية للمادة الجافة} = \frac{\text{الوزن الجاف للدرنات الدقيقة}}{\text{الوزن الرطب للدرنات الدقيقة}} \times 100$$

3ـ حساب النسبة المئوية للنشأ وقد تم تقديرها وفق المعادلة الاتية:
النسبة المئوية للنشأ = 17.55 + 0.891 (النسبة المئوية للمادة الجافه للدرنات ـــ 24.18) وذلك أستنادا الى (A. O. A. C. ، 1970)[18].
4ـ حساب عدد البراعم النابته على سطح الدرنات الدقيقة بعد المعاملة بالجبرلين

جدول (2) مكونات الوسط الغذائي (MS) خاص بتكوين الدرنات الدقيقة

المادة	الاسم الانكليزي	الكمية ملغم/ لتر
مجموعة أملاح MS	Murashige and Skoog salts (1962)	قوة كاملة
أنوسيتول	Inostol	100
ثيامين حامض الهيدروكلوريك	Thiamine – HCl	0.5
بايرودوكسين	Pyridoxine – HCl	0.5
حامض النكوتين	Nicotinic acid	0.5
الكلايسين	Glycine	2.0
الفحم النباتي الفعال (AC)	Activated Charcoal	2000
السكروز	Sucrose	8000
الاكار	Agar	7000

النتائج والمناقش Results and Discussion

1ـ تأثير الصنف والحجم في الصفات المدروسه للدرنات الدقيقة لاصناف البطاطا قبل وبعد أنتها مدة الخزن

توضح نتائج الجدول (3) الى وجود فروقات معنوية بين أصناف البطاطا في الصفات المدروسه، فقد تفوق الصنف Diamant معنويا على الصنفين Desiree و Marfona في أعطاء أقل نسبة للدرنات التالفه وأعلى نسبة للدرنات المستزرعه بلغت (16.40% ، 89.22%) على التوالي، أما الصنف Desiree فقد تفوق هو الاخر معنويا على الصنف Marfona في نسبة الدرنات التالفه بلغت (20.14%). قد يعزى السبب في ذلك الى اختلاف طول مدة السكون بين الاصناف والى كمية الغذاء المخزون في الدرنات، وهذه النتائج تتفق مع [19] و[9] اللذان وجدا ان مدة سكون الدرنات لصنف Diamant كانت أقصر من الاصناف الاخرى وان درناتها بدأت بالتزريع بعد 15 يوم من الزراعة مقارنة بالاصناف الاخرى التي تأخرت بالتزريع على الرغم من تعرضها للظروف نفسها في المخزن المبرد (4 م). كما يلاحظ أيضا تفوق الصنف Desiree معنويا على الصنفين Diamant و Marfona في أعطاء أعلى معدل عدد براعم / درنه وعدد البراعم النابته / درنه بلغت (5.60، 3.80) على التوالي.

جدول (3) تأثير الصنف والحجم والتداخل بينهما في الصفات المدروسه للدرنات الدقيقة الناتجه من الزراعة النسيجية للبطاطا (ديمونت ، ديزري ، مارفونا)

الصنف	حجم الدرنات (ملم)	نسبة الدرنات التالفة %	عدد البراعم / درنـــه	نسبة الدرنات المستزرعه %	عـدد البـراعم النابته/ درنه
ديمونت	S1	4.05	5.21	99.29	4.01
	S2	14.86	4.19	89.71	2.84
	S3	30.31	3.01	78.66	2.09
ديزري	S1	6.31	6.97	90.39	5.31
	S2	18.12	5.88	84.48	3.11
	S3	36.01	3.95	71.02	2.99
	S1	11.22	4.91	87.06	3.14

مارفونـــا	S2	36.15	3.99	79.48	2.26
	S3	41.93	2.73	68.91	1.21
LSD 0.05		1.73	0.23	6.17	0.17
تأثير الحجم	S1	7.19	5.69	92.24	4.15
	S2	23.04	4.68	84.45	2.73
	S3	36.08	3.23	72.86	2.09
LSD 0.05		1.03	0.19	6.01	0.14
تأثير الصنف	ديمونـت	16.40	4.13	89.22	2.98
	ديزري	20.14	5.60	81.86	3.80
	مارفونـــا	29.76	3.87	78.48	2.20
LSD 0.05		0.97	0.15	5.33	0.10

وقد يكون سبب الاختلافات في هذه الصفات الى الاختلاف في التركيب الوراثي، وهذا ما أكده [20] أذ وجد أختلافات في عدد العيون الكلية على الدرنات بين الاصناف ، وكذلك يعود الى كبر المساحه السطحيه للصنف Desiree بالمقارنه مع الاصناف الاخرى. وتبين النتائج في الجدول نفسه الى وجود فروقات معنويه بين الاحجام أذ كانت نسبة التلف في الدرنات ذات الاحجام الكبيرة (S1) أقل مما في الدرنات الدقيقة ذات الاحجام المتوسطه (S2) والصغيرة (S3) أذ بلغت (7.19%، 23.04%، 36.08%) على التوالي. وقد يعود السبب في ذلك الى أنخفاض نسبة الفقد بالوزن في الدرنات الدقيقة الكبيرة الحجم بالمقارنه مع حجم الدرنات المتوسطه والصغيرة التى قد لاتكون ناضجه فسلجيا وخلاياها ذات جدران رقيقه مما يسمح بزيادة معدل التبخر ومن ثم جفاف الدرنات الصغيرة وتلفها [9]. وكذلك يلاحظ وجود فروقات معنويه بين الاحجام في الصفات الاخرى أذ تفوقت الاحجام الكبيرة الحجم S1 معنويا على الاحجام المتوسطة الحجم والصغيرة في عدد البراعم / درنه، ونسبة الدرنات المستزرعه وعدد الراعم النابته / درنه بلغت (5.69، 92.24%، 4.15) على التوالي، وقد يعود السبب في ذلك الى الاختلافات في كمية الغذاء المخزون في أنسجة الدرنات الدقيقة الكبيرة الحجم والتي تمد البراعم بالطاقه لمساعدتها على التزريع والنمو، وكذلك الى درجة نضج الدرنات الفسلجي أذ ان الدرنات الدقيقة الكبير الحجم تتميز بكثرة الغذاء المخزون ودرجة نضج أكبر مقارنه بالدرنات المتوسطه والصغيرة الحجم، فضلا عن ارتفاع نسبة الهرمونات النباتية المحفزة للنمو في الدرنات الدقيقة الكبيرة الحجم [21]. وهذه النتائج تتفق مع ما وجدته [22] بالنسبة للمواد الغذائية المخزونه وبالنسبة لتفاوت العمر الفسلجي للدرنات ذات الاحجام المختلفه. هذا وقد ذكروا [23] ان مدة السكون في الدرنات الدقيقة تتأثر بدرجة كبيرة بحجم الدرنه لان الدرنة الكبيرة تميل الى التنبيت بصورة مبكرة بالمقارنه مع الدرنات الدقيقة الصغيرة الحجم. كما يلاحظ ان للتداخل بين الاصناف والحجم في الصفات المدروسه تأثيرا معنويا، أذ تميز الصنف Diamant مع الحجم الكبير S1 معنويا على الصنف Marfona والصنف Desiree في انخفاض نسبة التلف في الدرنات الدقيقة، وزيادة في نسبة الدرنات الدقيقة المستزرعه والتي بلغت (4.05، 99.29%) على التوالي، كما يلاحظ ان الصنف Desiree مع الحجم الكبير هو الاخر قد تفوق معنويا على الصنف Marfona في نسبة الدرنات التالفه وأعطى أقل نسبة بلغت (6.31%). كما تفوق الصنف Desiree مع الحجم الكبير S1 معنويا على الصنف Diamant والصنف Marfona وأعطى أعلى معدل عدد البراعم / درنه وعدد البراعم النابته / درنه بلغت (6.97، 5.31) على التوالي. وان الصنف Diamant مع الحجم الكبير S1 قد تفوق معنويا على الصنف Marfona وأعطى أعلى معدل عدد البراعم / درنه وعدد البراعم النابته / درنه بلغت (5.21، 4.01) على التوالي. في حين أعطى الصنف Marfona ومع الحجم الكبير S1 أقل النتائج في تلك الصفتين والتي بلغت (4.91، 3.14) على التوالي. وقد يعزى السبب في ذلك الى الاختلافات في التركيب الوراثي بين الاصناف في هذه الصفات، والى كبر المساحه السطحيه للدرنات الدقيقة للصنف Desiree مقارنه مع الصنفين الاخرين، وهذه النتائج تتفق مع [9] أذ وجد ان الصنف ديزري قد تفوق معنويا في عدد العيون وعدد البراعم النابته / درنه على الصنف Diamant . وهذا ما أكده [23] أذ وجدوا ان عدد البراعم على الدرنات الدقيقة يزداد بزيادة حجم الدرنه وتبعا لطبيعة الاصناف المختلفة.

2ـ تأثير الصنف والجبرلين GA3 في الصفات المدروسه للدرنات الدقيقة للبطاطا Diamant، Desiree وMarfona الناتجة من الزراعة النسيجية

توضح نتائج الجدول (4) وجود فروقات معنوية بين الاصناف في الصفات المدروسه، أذ تفوق الصنف Diamant معنويا على كلا الصنفين Desiree و Marfona في نسبة التزريع للدرنات الدقيقة وان الصنف Desiree قد تفوق معنويا على الصنف Marfona في هذه الصفة حيث بلغت النسبة للاصناف الثلاثة (68.77%، 64.14% ، 57.96) على التوالي. وهذه النتائج تتفق مع [9] أذ وجد ان الصنف Diamant قد تفوق معنويا على الصنف Desiree في نسبة التزريع، ويعتقد ان السبب يعود الى الاختلافات الوراثية بين الاصناف والى اختلاف مدة السكون في الدرنات الدقيقة [20] و [24]، كما تبين النتائج ان الصنف Desiree قد تفوق معنويا على الصنفين Diamant و Marfonaفي نسبة المادة الجافه/ درنه، نسبة النشأ / درنه وعدد البراعم النابتة / درنه بلغت (19.15%، 10.93% و 3.49) على التوالي. وقد يعزى السبب في تميز الصنفين Diamant و Marfona في قلة نسبة المادة الجافه ونسبة النشأ وعدد البراعم النابتة / درنه الى عوامل وراثية تتعلق بالصنف نفسه، وكذلك الى عوامل فسلجيه خاصه بالدرنات الدقيقة، والتي تساعد في تحفيز البراعم على التزريع والنمو والتي ربما حفزت أنزيمات تحليل المركبات المعقدة الى بسيطة لتنمو البراعم فتنخفض نسبة المادة الجافه والنشأ فيها. وهذا يتفق مع ما وجده الباحثون [24],[25],[22]، ان هذه الاصناف كانت اكثر فعالية في كسر طور السكون في درنات البطاطا، والتي عجلت في نموها وقللت من

نسبة المواد الجافه والنشأ فيها. أما معاملات الجبرلين GA3 للدرنات الدقيقة فقد تفوق التركيز 5 ملغم / لتر معنويا على بقية التراكيز الاخرى وعلى معاملة المقارنه في نسبة التزريع للدرنات الدقيقة وعدد البراعم النابتة / درنه بلغت (83.27%، 3.52)على التوالي. وان التأثير الواضح للجبرلين في زيادة نسبة التزريع ربما يعود الى دور الجبرلين في تحلل المادة المخزونه في الدرنات من خلال التأثير في أجزاء الخلية وبالتالي تزداد الطاقه الجاهزة لنمو البراعم، أضافة الى أثر الجبرلين في زيادة نسبة المواد المحفزه في الدرنات المعامله به. وهذه النتائج تتفق مع [26],[27],[24] الذين وجدوا ان حامض الجبرلين يعكس الدور التثبيطي لحامض الابسيسيك ABA الذي له أثر كبير في سكون الدرنات، ومن ثم يحفزها على التزريع، وذلك يعكس أيضا أثر الجبرلين في زيادة عدد البراعم النابته على أسطح الدرنات الدقيقة.

جدول (4) تأثير الصنف والجبرلين GA3 والتداخل بينهما في الصفات المدروسه للدرنات الدقيقة الناتجه من الزراعة النسيجية للبطاطا (ديمونت ، ديزري ، مارفونا)

الصنف	تركيز الجبرلين مغلم/ لتر	نسبة تزريع الدرنات %	نسبة المادة الجافه %	نسبة النشأ للدرنات %	عدد البراعم النابته/ درنه
ديمونت	0.0	46.8	17.89	11.66	1.33
	3.0	61.63	16.99	10.63	1.85
	4.0	74.32	15.01	9.04	2.86
	5.0	89.14	13.47	8.76	3.15
	6.0	71.95	11.41	7.29	2.57
ديزري	0.0	42.32	22.39	15.59	1.92
	3.0	57.24	21.05	14.33	2.79
	4.0	70.16	19.01	13.52	3.98
	5.0	82.42	17.13	12.65	5.31
	6.0	68.53	16.21	11.81	3.66
مارفونـــا	0.0	39.87	14.19	10.23	1.01
	3.0	41.76	13.33	9.13	1.65
	4.0	67.35	12.02	8.02	1.89
	5.0	78.22	11.61	7.17	2.12
	6.0	62.61	10.67	6.42	1.13
LSD 0.05		5.98	0.66	0.53	0.21
تأثير الجبرلين ملغم/ لتر	0.0	34.01	18.15	12.49	1.42
	3.0	53.54	17.12	11.36	2.09
	4.0	70.61	15.34	10.19	2.91
	5.0	83.27	14.07	9.52	3.52
	6.0	67.69	13.09	8.50	2.45
LSD 0.05		4.31	0.51	0.41	0.19
تأثير الصنف	ديمونـت	68.77	14.95	9.47	2.35
	ديزري	64.14	19.15	10.93	3.49
	مارفونـــا	57.96	12.24	6.59	1.56
LSD 0.05		3.89	0.46	0.31	0.11

وهذه النتائج تتفق مع [9] في دراسته حول تأثير الجبرلين في درنات البطاطا فوجد زيادة معنويه في عدد البراعم النابته في الدرنات المعامله بالمقارنه مع غير المعامله. كما يلاحظ في الجدول نفسه وجود فروقات معنويه بين المعاملات في نسبة المادة الجافه ونسبة النشأ في الدرنات الدقيقة المعامله بالجبرلين بتركيز 6.0 ملغم/ لتر والذي أعطى أقل نسبه لهما بلغت (13.09%، 8.50%) وكانت أعلى نسبة للماده الجافه وللنشأ في الدرنات الدقيقة عند معاملة المقارنه والتي بلغت (18.15%ن 12.49%) على التوالي. وقد يعزى السبب الى ان قسما من هذه المواد قد استخدمت في عملية التنبيت وتحويل المواد النشوية الى مواد سكرية بسيطه وقد تم الافاده منها في تجهيز البراعم بالطاقه الازمه لعملية النمو، وكذلك تصنيع الاحماض الامينية والبروتينات ومن ثم تخليق او المساعدة على تنشيط عمل الانزيمات المساعده على التزريع مثل أنزيم (Catalaes, Malate, Syntheatase, Isocitratellase) وأنزيم a-amylase المسؤول عن تحويل الكاربوهيدرات المعقدة الى سكريات بسيطه يسهل أستهلاكها بعمليات التنفس لتحرير الطاقه اللازمه لنمو البراعم على اسطح الدرنات الدقيقة [8]. وتشير نتائج التداخل بين الاصناف والجبرلين GA3 الى وجود فروقات معنويه في الصفات المدروسة، أذ تفوق الصنف Diamant مع التركيز

5.0 ملغم/ لتر معنويا في معدل نسبة تزريع الدرنات على كلا الصنفين Desiree و Marfona وللذان أختلفا معنويا فيما بينهما وبلغت النسبة للاصناف (89.14% ، 82.46%، 78.22%) على التوالي. بينما حقق الصنف Desiree مع التركيز 5ملغم / لتر تفوق معنويا على الصنفين Diamant و Marfona في معدل عدد البراعم النابتة / درنه والتي بلغت للاصناف المختلفه معنويا فيما بينها هي (5.31، 3.15، 2.12) على التوالي. كذلك وجد ان للتداخل بين الاصناف والمعاملات التحفيزية بالجبرلين تأثيرا معنويا في نسبة المادة الجافه ونسبة النشأ أذ وصلت أقل نسبة لهذه المواد عند التركيز 6.0 ملغم/ لتر ولجميع الاصناف بلغت (11.41%، 7.29% للصنف ديمونت) (16.21%، 11.81% للصنف ديزري) أما الصنف مارفونا فقد أعطى 10.07% مادة جافه / درنه و 6.42% نسبة النشأ / درنه. بينما حققت معاملة

المقارنه تفوق معنويا على بقية التراكيز ولجميع الاصناف في معدل نسبة المادة الجافه ونسبة النشأ في الدرنات بلغت (17.89%، 11.66%) على التوالي، وان السبب في ذلك يعود الى الاختلافات الوراثية للاصناف أضافة الى أثر المعاملات الكيمياوية في تحفيز وتزريع البراعم ونموها على الدرنات مما يؤدي الى خفض نسبة المواد الجافه ونسبة النشأ في الدرنات الدقيقة [20].

الاستنتاج

نستنتج من هذه التجربة أن عملية أختيار التركيز المناسب والصنف قد ساعد على زيادة نسبة التزريع في الدرنات الدقيقة بعد أنتهاء مدة الخزن، لذا نوصي باعتماد التركيز 5 ملغم / لتر من الجبرلين في معاملة الدرنات الدقيقة للاصناف المعتمد في البحث وذلك لتحفيزها على التزيع.

المصـــــادر

1-Fernie, A. and L. Willmizer. 2001. Molecular and Biochemical triggers of potato tuber development. Plant Physoil. Vol. 127; 1459 _ 1461.

2- حسن ، احمد عبد المنعم. 1999. انتاج البطاطا، الدار العربية للنشر والتوزيع، جمهورية مصر العربية.

3-Djurdjina, R., M. Milinkovie , and D. Milosevie .1997. *In vitro* propagation of potato (*Solanum tuberosum* L.) .Acta Horticulturae . 462: 959-963 .

4-Sarkar, D., 2001."About potato tissue cultures". The official of the DSE PGR and Biotechnology, No5.

5- سلمان، محمد عباس. 1988. اساسيات زراعة الخلايا والانسجة النباتية. جامعة بغداد، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، العراق .

6-IPGSA . 1998. International conference on plant growth substances August 13 to 17, 1998. Makuhari Nasse , Chiba Japan.

7-Van Lttersum, M. K., and D. K . Scholte . 1993 . Shorting dormancy of seed potatoes by application of gibberellic acid and storage temperature regimes . Ame. – Potato J. 70 : 7 – 19.

8- الصالحي، علي عبد الامير مهدي . 2002 . حساسية البطاطا *Solanum tuberosum* L. المكثرة خارج الجسم الحي لأشعة كاما . اطروحة دكتوراه – قسم البستنة – كلية الزراعة – جامعة بغداد .

9- الخزعلي، فلاح حسن عيسى. 2000. تأثير الجبرلين ومركبات الكالسيوم في تزريع ونمو حاصل درنات البطاطا الدقيقة الناتجة من الزراعة النسيجية . رسالة ماجستير – البستنة – كلية الزراعة – جامعة بغداد .

10- وادي، علي حسن علي. 2007. أستحداث صفة تحمل للاجهاد الملحي في البطاطا *Solanum tuberosum* L. صنف Desiree بأستخدام تقانات زراعة الانسجة. رسالة ماجستير، الكلية التقنية المسيب.

11-Murashige,T., and F.Skoog.1962."A revised medium for rapid growth and bioasseys with tobacco tissue cultures" Physiologia Plantarum ,15 : 473 – 497.

12- الحميري، موسى محمد حمزة .2005 . تأثير السكروز، السايتوكاينينات والفحم النباتي الفعال في تكوين الدرنات الدقيقة خارج الجسم الحي للبطاطا صنف Desiree . رسالة ماجستير، قسم التقنيات الحياتية النباتية، الكلية التقنية المسيب.

13- عمر، مبشر صالح وميسر مجيد جرجيس وعادل وفيق الراوي . 1994. "انتاج تقاوي البطاطا محلياً". مجلة أباء للابحاث الزراعية . المجلد 4 ، العدد 1 : 13 - 25 .

14- حمزة، موسى محمد، قيس جميل الصالحي ومحمد عبد النبي غزال. 2006. "تأثير الفحم النباتي الفعال ونوع العقل في تكوين الدرنات الدقيقة للبطاطا صنف Diamant خارج الجسم الحي". مجلة العلوم الزراعية العراقية 37- (5). 29- 36.

15- مطلوب ، عدنان ناصر . 1993 . تاثير درجة حرارة الخزن على فقدان وزن وتلف وانبات خمسة اصناف من البطاطا الخريفية . مجلة اباء للابحاث الزراعية . 3 (12) : 114 – 119 صفحة .

16- الساهوكي، مدحت وكريمة احمد وهيب. 1990. تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – العراق .

17- Allen , E. J., J. N. Bean, and P. J. Obrien .1999. Effect of length of sprouting period on growth and yield of contrasting early potato varieties. J. Agric . Sci. Camb. 92 : 151-163.

18-A. O. A. C. 1970.Official methods of analysis.11th. Ed. Washington, D. C. Association of the official Analytical chemistry. 1015 pp.

19ـ الاسدودي ، عبد الحميد محمود، محمد فتحي عوف. 1994. تأثير الجبرلين على تنبيت البطاطا، مجلة حوليات العلوم الزراعية . مجلد 39 العدد 2. 474 – 485 صفحة.

20-Van Lttersum , M.K. 1997 . Advanc in growth vigour of seed potato by storage temperature regimes. Netherlands J. Agric . Sci . 41 : 23 – 36 .

21-Hones, M. S. 2003 . The effect of sucrose concentration on micropropagation of potato (*Solanum tuberosum* L.) . Am. J. potato Res. 80 : 103 – 115 .

22- عبد الرسول ، ايمان جابر . 1988 . تاثير العمر الفسلجي ودرجة حرارة الخزن وطرق كسر السيادة القمية في نمو وحاصل نبات البطاطا (*Solanum tuberosum* L.) رسالة ماجستير . قسم البستنة – كلية الزراعة – جامعة بغداد .

23-Whan, C. Y., J. L. Cho, and S.M. Kang . 1999 . Procceding of the fourth APA {Asian Potato Association}Triennial conference {Philippines} (2) : 202 – 205 .

24- الحسني، خلود ابراهيم حسن. 1995. تأثير بعض المعاملات التحفيزية للتقاوي في نمو وحاصل البطاطا (*Solanum tuberosum* L.) . رسالة ماجستير . كلية الزراعة، جامعة بغداد.

25-Das, A., S. S. Gosal, J. S. Sidhuand, and H. S. Dhaliwal. 2001 . *In vitro* mutagenesis and production of agronomically useful potato variants . Mutation and Breeding News Letter Issue . No . 45.

26- السنبل، عبد القادر أسماعيل. 1989. تأثير الجبرليك على نمو وحاصل البطاط *Solanum tuberosum* L. . مجلة البحوث الزراعية والموارد المائية. 5 (1) : 47 – 58.

27-Bhojwani, S. S. 2001. Role of Tissue Culture in Plant Industry. Department of Botany, University of Delhi , India.