

تأثير إضافة البنزل أدنتن ونفتالين حامض الخليك في زيادة قطر □ وعدد درنات البطاطا المكثرة خارج الجسم الحي

حمزة عبد إبراهيم* و ليث عبد الكريم حاتم و شذى عايد يوسف و عطا الله إبراهيم علوان
و عبد الكريم رضا كاظم
دائرة البحوث الزراعية وتكنولوجيا الغذاء، وزارة العلوم والتكنولوجيا، ص.ب. ٧٦٥، بغداد - العراق

* temmemy67@yahoo.com

المستخلص

درس تأثير إضافة كل من البنزل ادنين BA ونفتالين حامض الخليك NAA بالتراكيز صفر و ١ و ٢ و ٣ ملغم/لتر بالإضافة الى تأثير البنزل ادنين (صفر و ١ و ٢ و ٣ ملغم/لتر) وبوجود ٢ ملغم /لتر من النفتالين حامض الخليك الى الوسط الغذائي MS في عدد درنات صنفى البطاطا ديزري ودايمونت المكثرة خارج الجسم الحي في تجارب منفصلة. أظهرت النتائج عدم وجود فروقات معنوية بين الصنفين او التداخل بين الصنفين والتراكيز لجميع المعاملات المدروسة في عدد وقطر الدرنات، أما بالنسبة لتأثير تراكيز كل من البنزل ادنين والنفتالين حامض الخليك فبالرغم من كونها تفوقت معنويا على معاملة المحايد في عدد الدرنات إلا انه لم تكن الفروقات معنوية بينها، في حين كانت هناك اختلافات معنوية بين التراكيز في قطر الدرنات، اذ تفوق التركيز ٢ ملغم NAA /لتر (٦.٥ ملم) مقارنة بالتراكيز صفر و ١ و ٣ ملغم/لتر والتي كان قطر الدرنات فيها ٠.٧٥ و ٣.١٥ و ٥.٤ ملم على التوالي. أما بالنسبة لتأثير إضافة البنزل ادنين في قطر الدرنات الدقيقة فقد ادى الى زيادة معنوية مقارنة بالمحايد. وعند دراسة تأثير إضافة البنزل ادنين وبوجود النفتالين حامض الخليك فقد تفوقت المعاملة ٢ ملغم بنزل أدنين /لتر معنويا على بقية المعاملات في قطر الدرنات وبلغ ١٠.٩ ملم.

المقدمة

ينتمي محصول البطاطا *tubersum Solanum L.* الى العائلة الباذنجانية Solanaceae والذي يعد من بين أهم أربعة محاصيل في العالم من حيث الأهمية الغذائية (١) كما يعد من اكثر المحاصيل استعمالا كونه من المحاصيل الاستراتيجية المهمة فقد توسعت المساحات المزروعة بالبطاطا في العراق من ٥٠٢٥ هكتار عام ١٩٨٢ إلى ٥٢٧٥٠ هكتار عام ٢٠٠٣ (2). يتم إنتاج تقاوي البطاطا عن طريق زراعة الدرنات الحاوية على البراعم في التربة الخفيفة وتعد هذه الطريقة من طرق الإكثار الخضري البطيئة نسبيا إضافة إلى كونها وسيلة فعالة لنقل الفيروسات من جيل لآخر مما يستدعي توفير تقاوي الأساس بصورة مستمرة ، لذا لجأ الباحثون في العديد من دول العالم إلى استخدام تقنية الزراعة النسيجية لتأمين الحصول على تقاوي الأساس والتي تمتاز بصغر حجمها مما يسهل عمليات خزنها المبرد ويقلل من تكاليفها (3) فضلا عن خلوها من الفيروسات حيث رافق استخدام هذه التقنية إجراء الفحوصات السيرولوجية للنباتات الناتجة للتأكد من خلوها من الإصابة مثل اختبار الاليزا (Elisa) - Enzyme Linked Immunosorbent Assay للكشف عن الفيروسات في النباتات الناتجة من الزراعة النسيجية (4) هناك بعض المشاكل التي تواجه العاملين في مجال إكثار درنات البطاطا بالزراعة النسيجية منها صغر حجم الدرنات المنتجة والتي تكون عرضة للجفاف والتلف أثناء خزنها وفشلها

عند زراعتها وقلة أعدادها وقد يعزى السبب فيها للوسط الغذائي حيث يعتبر من أهم العوامل المؤثرة في حجم وأعداد الدرنات الناتجة بتقنية الزراعة النسيجية وبالخصوص منظمات النمو الداخلة في الوسط الزرعي والتي تعد الأهم في إنجاح زراعة الأنسجة ألا أن هناك تباين في نوع وتركيز منظمات النمو النباتية المستخدمة اعتمادا على نوع الجزء المزروع ودرجة تطوره والهدف من زراعته (5) .

وبالنظر المشاكل الناتجة من صغر حجم الدرنات أو قلة أعدادها وصعوبة خزنها ومن ثم زراعتها في الأرض فقد كان الهدف من هذا البحث زيادة قطر وأعداد الدرنات بإضافة نبتالين حامض الخليك (Naphthalene acetic acid) و البنزل ادنين (Benzyl adenine) وبتلات تراكيز لكل منها على صنفين من أصناف البطاطا وهي دايمونت و ديزري.

المواد وطرائق العمل

نفذت هذه التجربة في مختبرات الزراعة النسيجية في أبو غريب لعام ٢٠٠٢ والتابعة لدائرة البحوث الزراعية في وزارة العلوم والتكنولوجيا .

الأجزاء النباتية:

استخدم في هذا البحث درنات البطاطا لأصناف دايمونت و ديزري المكسور طور السكون فيها والمحضنة بدرجة حرارة الغرفة) ٢٥ م° (في الظلام لتشجيع البراعم على النمو وبعد اسبوعين أخذت البراعم (6)، (شكل ١) وعقمت سطحيا باستخدام محلول هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز ١%

ولمدة ٨ ساعات إضاءة يعقبها ١٦ ساعة ظلام يوميا ولمدة ١٠٠ يوم .

الأوساط الغذائية المستعملة:

استعمل الوسط الغذائي الخاص بتكوين الدرنات والمجهز بتركيز عالية من السكرز بالإضافة الى مجموعة الأملاح اللاعضوية (جدول ٢) وجرى دراسة إضافة منظمات النمو الآتية وبالتراكيز المؤثرة إزائها على تكوين الدرنات (قطرها وعددها) في تجارب منفصلة وكما يلي :

١ - تجربة إضافة البنزل أدنين BA بالتراكيز وهي صفر و ١ و ٢ و ٣ ملغم/لتر (جدول ٣).

٢ - تجربة إضافة نفتالين حامض الخليك NAA بالتراكيز وهي صفر و ١ و ٢ و ٣ ملغم/لتر (جدول ٢).

٣ - تجربة إضافة البنزل ادنين بالتراكيز وهي صفر و ١ و ٢ و ٣ ملغم / لتر وبوجود ٢ ملغم نفتالين حامض الخليك /لتر (جدول ٦).

عقمت الأوساط الزرعية بواسطة جهاز التعقيم البخاري تحت ضغط ١,٠٤ كغ/سم^٢ ودرجة حرارة ١٢١ م° ولمدة 20 دقيقة.

التحليل الإحصائي.

أجريت تجربة عاملية باستخدام تصميم القطاعات لعشوائية الكاملة وبعاملين وهما الأصناف والتراكيز وبثلاث مكررات وكل مكرر يحوي على ٥ قنينة. حلت البيانات إحصائيا باستخدام اقل فرق معنوي LSD على مستوى معنوية ٥% للمقارنة بين متوسطات المعاملات (٩).

وبإضافة بضع قطرات من المادة الناشرة (Tween-20) ولمدة ١٥ دقيقة وبعد الانتهاء من عملية التعقيم غسلت البراعم بالماء المقطر المعقم ثم أجريت عملية استئصال المرستيم القمي من قمم البراعم النامية بواسطة شفرات جراحية خاصة ودقيقة وتحت ظروف معقمة ثم زرعت على الوسط الغذائي المتكون من مجموعة أملاح موراشيك وسكوك اللاعضوية MS (7) مضاف إليه السكرز والفيتامينات ومنظمات النمو (جدول 1) وحضنت الزروع في غرفة النمو على درجة حرارة ٢٤ م° وشدة إضاءة مقدارها ١٠٠٠ لوكس ولمدة ١٦ ساعة يوميا وبعد مرور ٤ أسابيع بدأت الزروع بالنمو وتكوين مجموع خضري جيد وجرى إكثار هذه الزروع وذلك بنقطيعها إلى قطع صغيرة تحتوي كل قطعة على عقدة واحدة على الأقل وتم إجراء الفحص السيرولوجي باستخدام تقنية الاليزا (8) وذلك للتأكد من خلو النباتات الناتجة من الإصابة بالفيروسات ونقلت الى وسط غذائي جديد يحتوي على نفس مكونات الوسط السابق وحضنت الزروع تحت نفس الظروف السابقة ولمدة أربع أسابيع . وبعد وصول النموات إلى الحجم المناسب أخذت العقل وزرعت في قناني الزرع الخاصة بتكوين الدرنات وبواقع خمسة عقل لكل قنينة والتي تحتوي على الوسط الغذائي الخاص بتكوين الدرنات (جدول ١) مع إضافة منظمات النمو المراد دراستها ، وجرى تحضينها في غرف النمو على درجة حرارة ٢٠ م° وشدة إضاءة ١٠٠٠ لوكس



شكل ١. درنات البطاطا المحضنة في غرفة مظلمة لتشجيعها على تكوين البراعم الخضرية ونموها.

جدول ١. مكونات الوسط الغذائي المستخدم في زراعة المرستيم أقمي وتكوين الدرنات الدقيقة

ملغم / لتر		المادة
تكوين الدرنات الدقيقة	زراعة المرستيم اقمي	
قوة كاملة	قوة كاملة	MS املاح
٨٠٠٠٠	٣٠٠٠٠	Sucrose
١٠٠	١٠٠	Inositol
٠.٤	٠.٤	Thiamine-Hcl
٢	٢	Glycine
٢.٥	٥	Nicotinic acid
-	١	IAA
٩٠٠٠	٩٠٠٠	Agar

تكون هوائية وأحيانا في قمة الساق وهي ذات لون ابيض مسمر. أظهرت النتائج عدم وجود فروقات معنوية بين الصنفين (دايمونت وديزري) او التداخل بين الصنفين والتركيز في عدد وقطر الدرنات الدقيقة ولجميع المعاملات المدروسة (جدول ٢ و ٣ و ٤ و ٥ و ٦ و ٧). اما بالنسبة لتأثير التركيز

النتائج والمناقشة

بدأت عملية تكوين الدرنات الدقيقة بعد مرور شهرين من الزراعة واستمرت لمدة شهرين آخرين في الوسط الغذائي وكانت الدرنات بأحجام مختلفة وقد كان موقع نشؤها على نهايات الأفرع الطرفية او في المناطق القريبة من سطح الوسط الغذائي أو

فروقات معنوية بين التراكيز المدروسة (١) و ٢ و ٣ ملغم/لتر).

ولغرض دراسة تأثير التداخل بين إضافة البنزل أدنين و النفتالين حامض الخليك فقد استخدم التركيز ٢ ملغم / لتر من النفتالين حامض الخليك والذي اعتبر افضل التراكيز لإعطائه اكبر قطر للدرنات الدقيقة بالاعتماد على نتائج التجربة السابقة (جدول ٢) وتم إضافة تراكيز مختلفة من البنزل أدنين وهي صفر و ١ و ٢ و ٣ ملغم / لتر، وقد أظهرت النتائج (جدول ٦) تفوق التركيز ٢ ملغم / لتر من BA في قطر الدرنات الدقيقة وبلغ ١٠.٩ ملم في حين بلغ قطر الدرنات ٠.٧ و ٦.١ و ٧.٩ ملم في التركيز صفر و ١ و ٣ ملغم/ لتر على التوالي مما يعني أهمية إضافة منظمي النمو معا في الأوساط الغذائية في زيادة قطر الدرنات مقارنة باستخدامها بصورة منفردة. أما بالنسبة لعدد الدرنات فقد أظهرت النتائج (جدول ٧) وجود زيادة معنوية في عدد الدرنات مقارنة بمعاملة المحايدة إلا انه لم تكن هناك اختلافات معنوية بين التركيز المستخدمة للبنزل أدنين.

فقد أشارت نتائج جدول ٢ إلى أن إضافة نفتالين حامض الخليك إلى الوسط الغذائي المستخدم لتنمية نباتات صنف البطاطا دايمونت و دزري أدت إلى زيادة حجم الدرنات الدقيقة مقارنة بالمحايد حيث أعطى التركيز ٢ ملغم / لتر اكبر قطر لدرنات البطاطا بلغ ٦.٥ ملم مقارنة بقية التراكيز والتي بلغت ٠.٧٥ و ٣.١٥ و ٥.٤ ملم للتركيز صفر و ١ و ٣ ملغم/لتر. وقد يعزى ذلك إلى أن زيادة تركيز الاوكسينات تعمل على زيادة المجموع الخضري للنباتات مما ينعكس ذلك إلى زيادة قطر الدرنات (١٠). أما عن تأثير إضافة البنزل أدنين فقد أظهرت نتائج الجدول (٣) إلا إن زيادة تراكيز البنزل أدنين أدت إلى زيادة في أقطار الدرنات مقارنة بالمحايد حيث أعطى التركيز ٣ ملغم / لتر أعلى معدل ، وقد يعود السبب في ذلك إلى الدور الذي تلعبه السايبتوكينينات في انقسام الخلايا و تكوين البروتينات (١٢،١١). اما بالنسبة لعدد الدرنات الدقيقة فقد أظهرت النتائج (جدول ٤ و ٥) أن إضافة البنزل ادنين أو النفتالين حامض الخليك أدى إلى زيادة في عدد الدرنات مقارنة بالمحايد إلا انه لم تكن هناك

الاستنتاجات

١. ضرورة إضافة البنزل أدنين والنفثالين حامض الخليك لزيادة قطر وعدد الدرنات مقارنة بالمحايدة.

٢. إضافة البنزل أدنين بالتركيز ٢ ملغم / لتر وبوجود ٢ ملغم / لتر من نفثالين حامض الخليك أدى إلى الحصول على أكبر قطر درنات دقيقة ويمكن اعتماد هذا التركيز في إنتاج الدرنات الدقيقة من البطاطا.

جدول ٢. تأثير تراكيز مختلفة من نفثالين حامض الخليك (NAA) في حجم الدرنات الدقيقة للصنفين دايمونت و ديزري.

المعدل	قطر الدرنات الدقيقة (مم)		التراكيز (ملغم / لتر)
	ديزري	دايمونت	
٠.٧٥	٠.٧	0.8	صفر
3.15	3.2	3.1	1
6.5	6.6	6.4	2
5.4	5.4	5.4	3
	3.975	3.925	المعدل
	أصناف = غير معنوي، تراكيز = 0.63، أصناف x تراكيز = غير معنوي		LSD 0.05

جدول ٣. تأثير تراكيز مختلفة من البنزل أدنين (BA) في قطر الدرنات الدقيقة للصنفين دايمونت و ديزري.

المعدل	قطر الدرنات الدقيقة (مم)		التراكيز (ملغم / لتر)
	ديزري	دايمونت	
٠.٥	٠.٦	0.4	صفر
3.2	3.4	3.0	1
6.1	6.4	5.8	2
6.6	6.8	6.5	3
	4.3	3.93	المعدل
	أصناف = غير معنوي، تراكيز = 0.652، أصناف x تراكيز = غير معنوي		LSD 0.05

جدول ٤. تأثير تراكيز مختلفة من نفتالين حامض الخليك (NAA) في عدد الدرنات الدقيقة للصنفين دايمونت و ديزري.

المعدل	عدد الدرنات الدقيقة		التراكيز (ملغم / لتر)
	ديزري	دايمونت	
1.000	0.800	1.200	صفر
5.000	5.200	4.800	1
5.100	5.000	5.200	2
5.600	5.600	5.600	3
	4.150	4.200	المعدل
غير معنوي = ، أصناف × تراكيز 0.261 = غير معنوي، تراكيز = أصناف			LSD 0.05

جدول ٥. تأثير تراكيز مختلفة من البنزل ادنين (BA) في عدد الدرنات الدقيقة للصنفين دايمونت و ديزري .

المعدل	عدد الدرنات الدقيقة		التراكيز (ملغم / لتر)
	ديزري	دايمونت	
1.000	1.000	1.000	صفر
5.000	5.200	4.800	1
5.200	5.000	5.400	2
5.000	5.000	5.000	3
	4.050	4.050	المعدل
غير معنوي = ، أصناف × تراكيز 0.524 غير معنوي، تراكيز = أصناف			LSD 0.05

جدول ٦. تأثير تراكيز مختلفة من البنزل أدنين (BA) وبوجود ٢ ملغم/لتر من النفثالين حامض الخليك (NAA) في قطرات الدرنات (ملم) للصنفين دايمونت وديزري .

المعدل	قطر الدرنات الدقيقة (ملم)		التراكيز (ملغم / لتر)
	ديزري	دايمونت	
0.7	0.8	0.6	صفر
6.1	6.4	5.8	1
10.9	11.2	10.6	2
7.9	7.6	8.2	3
	6.5	6.3	المعدل
غير معنوي=، أصناف × تراكيز 0.637 = غير معنوي، تراكيز =أصناف			LSD 0.05

جدول ٧. تأثير تراكيز مختلفة من البنزل ادنين (BA) وبوجود ٢ ملغم/لتر من النفثالين حامض الخليك (NAA) في عدد الدرنات الدقيقة للصنفين دايمونت و ديزري.

المعدل	عدد الدرنات الدقيقة		التراكيز (ملغم / لتر)
	ديزري	دايمونت	
1.55	1.6	1.5	صفر
3.25	3.2	3.3	1
2.9	2.9	2.9	2
2.95	3	2.9	3
	2.675	2.65	المعدل
غير معنوي= ٠.٥٢ ، أصناف × تراكيز = غير معنوي، تراكيز =أصناف			LSD 0.05

Effect of Benzyl adenine and Naphthalene acetic acid in increasing dimeter and number of potato microtubers propagation in vitro

Hamza A. Ibraheem* , Laith A. Hatem , Shatha A. yousif , Attallah I . Alwan ,
Abdulkareem R. Kadhim

Genetic Engineering Center and Biotechnology, Ministry of Science and
Technology, Iraq

*E-mail : temmemy67@yahoo.com

Abstract

The objective of this experiment was to study the effect of benzyl adenine BA and naphthalene acetic acid NAA at different concentrations 0,1, 2 and 3 mg / l as well as to the effect of BA (0,1, 2 and 3 mg / L) and the presence of 2 mg / L NAA in the number and diameter of the microtuber varieties of potato Desiree and Daimont cultivated in vitro. The results showed no significant differences between the two cultivars or interaction between the two cultivars and the concentrations of all treatments in the number and diameter of the tubers. Although added each of BA and NAA increased significantly number of micro tubers compare with control treatment but there were no significant differences among the concentrations of each of BA and NAA, .While there were significant differences between the concentrations in the diameter of the microtubers. The result showed that 2 mg NAA / liter gave maximum diameter of microtuber (6.5 mm) compared to different concentrations zero and 1 and 3 mg / L which the size of micro tubers were 0.75, 3.15 and 5.4 mm respectively. Added BA increased significantly the diameter of microtubers compare with control treatment. The effect of different concentration of BA and the presence of NAA significantly increased the diameter of the microtubers and the best treatment was 2 mg BA/l compare with others.

المصادر

1. Solmon-Blackburn RM, Baker H (2001). Breeding resistance virus potatoes (*Solanum tuberosum* L.) a review of traditional and molecular approaches. *Heridity*, 86: 17-35.
٢. العربية المنظمة للتنمية الزراعية (٢٠٠٣) الكتاب السنوي للإحصاءات الزراعية العربية ٢٣:٥٣٥، الخرطوم – السودان .
3. Hussey , J . and Stacey, N. J . 1984 . Factors affecting the formation of in vitro tubers of potato (*Solanum tuberosum*) . *Ann. Bot.*,53:565-578.
4. Goth, R. W. and Wedd, R.E. 1984. Use of Elisa to detect potato leaf roll virus (PLRV) in potato tubers . *phytopathology*, 74:756.
5. EL-Hameed, M.K. 2001. Vegetative propagation of some date palm (*Phoenix dactylifera* L) cultivars through tissue culture technique . PH. D. Thesis , Collage of Agriculture Baghdad University – Baghdad-Iraq.
6. Novak, F . J., Horockava, V . and Maskova, I. 1980 . the Effect of growth regulators on meristem tip development and in vitro multiplication of *solanum tuberosum* L. plants potato Research .
7. Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15:473-497.
8. Clark , M. F . and A.N . Adams . 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virolog*, 34: 475 483.
٩. الساهوكي، مدحت ووهيب، كريمة محمد. ١٩٩٠. تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جامعة بغداد، مطبعة دار الحكمة للطباعة والنشر، الموصل.
10. Edriss , M . H.; Badawym , S.; Fathi , T.M . EL-Barkouki . 1996 Propagation of potato using tissue culture Technique . *ISHS Acta Horticulturae* 434 :
١١. عبد العظيم كاظم ويونس ، مؤيد احمد . 1991. أساسيات فسيولوجيا النبات . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة بغداد – العراق.
12. Yasmin S, Nasiruddin KM, Begum R, Talukder SK (2003). Regeneration and establishment of potato plantlets through callus formation with BAP and NAA. *Asian J. Plant Sci.* 2(12): 936-940