Effect of Vitamins and IAA on in vitro Potato growth
تاثير بعض الفيتامينات والاحماض الامينية والاندول حامض الخليك على نمو صنفين البطاطا خارج الجسم الحي

لينا علي حسين؛ تغريد عبد الجبار سعيد؛ نورا صاحب عبد: عبد الكريم قاسم محمد؛ عمار خالد سبع؛ زيد هلال عبد الرحمن؛ شذى عايد يوسف
وزارة العلوم والتكنولوجيا، دائرة البحوث الزراعية، ص.ب. 765 بغداد- العراق

الخلاصة :-

اجريت الدراسة لمعرفة تاثير اضافة الفيتامينات والكلايسين واندول حامض الخليك الى وسط موراشيك وسكوج في صفات نمو نبيات البطاطا (ارتفاع النبات وعدد وطول الافرع/نبات، عدد الاوراق وعدد قطع العقل) المزروعة خارج الجسم الحي للصنفين بورين وارنوفا. كما اجريت دراسة اخرى لمعرفة تاثير اضافة الاكر الى وسط النمو بالتركيز صفر و 0.8%(وسط سائل وشبه صلب على التوالي) في قطر وحاصل الدرينات. اظهرت الدراسة بعدم وجود فروقات معنوية في صفات النمو المدروسة بين الصنفين باستثناء صفة عدد قطع العقل، ومن ناحية اخرى فان اضافة الفيتامينات والكلايسين واندول حامض الخليك لم يكن لها تاثير معنوي في عدد وطول الافرع/نبات، عدد الاوراق وعدد قطع العقل ولكلا الصنفين. كما اظهرت النتائج بعدم وجود فروقات معنوية بين الاوساط السائلة والصلبة في عدد الدرينات ولكلا الصنفين

Abstract :-

To investigate the effects of vitamins, glycine and IAA on plantlets growth (plant , branch length and number/plant, leaf and cut number) *in vitro*, plantlets of Borine and Arnova cultivar s were treated *in vitro* with or without vitamins, glycine and IAA to the MS medium. Minituber yield parameters were evaluated at different concentration of Agar 0 and 0.8% (liquid or solid media respectively).

The result showed that there is no significant differences between cultivars in all plantlets growth except cut numbers and from another hand the result revealed that adding vitamins , glycine and IAA did not affect in number and branch length/plant, leaf and cut number in tow cultivars. Minitubers yield did not affect with adding agar in each cultivars.

المقدمة

تستخدم زراعة الانسجة في اكثار البطاطا للحصول على درينات خالية من الاصابة الفايروسية يعتبر الوسط الغذائي احد العوامل الاساسية المؤثرة في نمو واكثار واستجابة الاجزاء النباتية المزروعة وذلك لكونه المصدر الذي يوفر كل العناصر الغذائية اللازمة لنمو وتطور الجزء النباتي المزروع واستمراره في النمو، اذ ان الجزء النباتي المزروع على الوسط ليس له القدرة على تصنيع الغذاء بنفسه فعليه ان يعتمد في غذائه على مكونات الوسط الغذائي (محمد وعمر 1990). يتكون الوسط الغذائي من تراكيز محددة من الاملاح اللاعضوية والسكروز والفيتامينات ومنظمات النمو والاحماض الامينية والماء (Thorpe واخرون، 2008). وبالرغم من ان تصنيع الفيتامينات يتم من قبل النبات (تعد النباتات المصدر الرئيسي للفيتامينات الضرورية والمستخدمة من قبل الانسان والحيوانات)، الا انه في الزراعة النسيجية فان بعض النباتات تعاني من نقص في بناء الفيتامينات (Bonner، 1937)، لذا يعد من الضروري اضافة تلك الفيتامينات الى الاوساط الزرعية للحصول على نمو جيد. وعادة يتم اضافة الفيتامينات الاربعة والتي تعد من المكونات لوسط موراشيك وسكوج (Murashige و Skoog، 1962) وهي الثايمين (B1) والبايرودوكسين (B6) وحامض النيكوتين (B12) والانوسيتول بالتراكيز 0.1 و0.5 و 0.5 و 100 ملغم/لتر على التوالي ، ومع ذلك فان متطلبات اضافة الفيتامينات تختلف باختلاف النباتات، ففي دراسة اجريت من قبل Ishihara و Katano (1982) على نبات التفاح، وجد الباحثان انه بامكان النبات النمو فقط بوجود املاح MS بدون اي اضافات اخرى، وانه لاتوجد اهمية تذكر عند اضافة الانوسيتول والثايمين وهذا ما اكده ايضا الباحثان Soczek و Hempel (1988) عند دراساتهما نمو نبات الجربرة خارج الجسم الحي. كما لاحظ Kaul و Kochhar (1985) ان كالس نبات *Pinus strobes* نما بشكل افضل عند تقليل تركيز الانوسيتول الى 50 ملغم/لتر بينما تضاعف نبات *Pinus* echinata بشكل اسرع عند حذف الانوسيتول من الوسط الغذائي. اما بالنسبة للاحماض الامينية فتعد من المركبات العضوية ومن اكثر الاحماض الامينية المستخدمة في الاوساط الغذائية الكلايسين وبشكل عام تعد الاحماض الامينية كمصدر للنتروجين المختزل مثل ايون الامونيوم وان امتصاصها من قبل النبات يسبب زيادة حامضية الوسط الغذائي.

تعد الاوكسينات من منظمات النمو المستخدمة في اكثار البطاطا ويعد اندول حامض الخليك من اكثر الاوكسينات المستخدمة (عمر واخرون، 1994؛ الصالحي، 2002)، اذ ان اضافة منظمات النمو يحفز انقسام واستطالة الاجزاء النباتية المزروعة.
ولارهمية منظمات النمو والفيتامينات والاحماض الامينية ولقلة البحوث المتعلقة بتاثير تلك المواد في اكثار نبات البطاطا خارج الجسم الحي فقد نفذت البحث لمعرفة تاثير اضافتها الى الوسط الغذائي وفي نمو واكثار نبات البطاطا، فضلا عن ذلك فقد درس عدم اضافة الاجار الى وسط تكوين الدرينات لمعرفة تاثيره في عدد واقطار الدرينات المستحصل عليها من زراعة الانسجة.

المواد وطرائق العمل

نفذت دراسة في مختبرات دائرة البحوث الزراعية /وزارة العلوم والتكنولوجيا. تضمنت التجربة الاولى مرحلة الاكثار وشملت تقطيع نبيتات البطاطا(شركة الاوراد) لصنفي البورين والارنوفا خارج الجسم الحي الى عقل بطول 1-2 سم وتحوي على 1-2 عقدة واحدة (برعم الى برعمين) . زرعت العقل في انابيب اختبار 25*150 ملم تحوي الوسط الغذائي MS (Murashige و Skoog ،1962) مضاف اليه 30 غم سكر/لتر و1ملغم/لتر اندول حامض الخليك و 0.4 ملغم/لتر ثايمين حامض الخليك و2 ملغم/لتر لكل من حامض النيكوتين والكلايسين (الصالحي، 2002) وسمي هذا الوسط بالحرف C ولغرض معرفة تاثير الفيتامينات والاندول والانوسيتول تم حذف بعضها او جميعها من الوسط الغذائي وسميت تلك الاوساط A و B و D وكما مبينة في جدول 1.
عدلت الدالة الهيدروجينية (pH) للوسط الغذائي الى 5.7 ثم اضيف الأكار(Agar) بمعدل 8 غم/لتر لغرض تصلب الوسط الغذائي. جرى تعقيم الوسط الغذائي باستخدام جهاز المعقام البخاري بدرجة حرارة 121° م وضغط مقداره 1.04 كغم/سم^2 لمدة 15 دقيقة
حضنت الزروعات على درجة حرارة 25 ±2 مْ وشدة اضاءة 1000 لوكس لمدة 16 ساعة/يوم ولمدة شهر وقيست الصفات ارتفاع النبات ، عدد الفروع/نبات ، طول الافرع/نبات، عدد الاوراق/نبات ،عدد قطع العقل/نبات. واعيدت الدراسة مرتين
اما التجربة الثانية فهي مرحلة تشكل الدرينات الدقيقة، اذ تم زراعة 5 من قطع العقل/قنينة تحوي الوسط الغذائي MS (جدول2) بوجود (وبمعدل8غم/لتر) او عدم وجود الاكار وسمي الوسطين بشبه الصلب والسائل على التوالي. حضنت الزروعات في درجات الحرارة 25 ± 2 مْ وشدة اضاءة 1000 لوكس ولمدة 10 ايام ثم بعد ذلك حضنت الزروعات في درجة حرارة 17 ± 2 مْ في الظلام ولمدة ثلاثة اشهر. حصدت الدرينات الدقيقة ودرست اعدادها/قنينة وحددت اقطارها (سم) باستخدام القدمة (Vernier).
تم تنفيذ الدراسة بتجربة عاملية بعاملين (الاوساط الغذائية والصنفين) وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة RCBD وبسبعة مكررات للتجربة الاولى و10 مكررات للتجربة الثانية ولكل معاملة . قورنت المتوسطات عند اقل فرق معنوي (LSD) وبمستوى احتمالية 0.05 (الساهوكي ووهيب، 1990).

جدول1. مكونات الاوساط الغذائية المستخدمة في زراعة واكثار نبات البطاطا

المادة	الاوساط الغذائية(ملغم/لتر)			
	A	B	C	D
انوسيتول	100	100	100	0
ثايمين حامض الهيدروكلوريك	0	1	0.4	0
الكلايسين	0	2	2	0
حامض النيكوتينك	0	2	2	0
اندول حامض الخليك	0	0	1	0

جدول2.مكونات الوسط الغذائي المستخدم في انتاج الدرينات الدقيقة

المادة	الكمية ملغم/لتر
انوسيتول	100
ثايمين حامض الهيدروكلوريك	0.4
الكلايسين	2
حامض النيكوتينك	2
اندول حامض الخليك	1
الكايتنين	4

النتائج والمناقشة

تستخدم الفيتامينات المصنعة من قبل النبات في عدد من المسارات الايضية، اذ تستخدم كوسائط أساسية في التفاعلات الكيميائية الحيوية أو كمواد محفزة في مسارات مختلفة. وتقسم الفيتامينات الى فيتامينات ذائبة في الماء (مثل فيتامين C والثايمين B1 و الرايبوفلافين B2 والبايرودوكسين B6 وحامض النيكوتين B12 والبايوتين B5) وفيتامينات ذائبة في الدهون مثل A و D و E و K (Horton واخرون، 2006). بعد مرور شهر من الزراعة تطورت الزروعات الى نبات يحتوي على عدد من السلاميات (حيث يشير عدد الاوراق الى عدد السلاميات)، تم تقطيع النبات الى عدد من قطع العقل والتي تحوي على عقدة او عقدتين. اظهرت النتائج (جدول3 و4 و5 و6) بعدم وجود فروقات معنوية بين معدل الصنفين في صفات ارتفاع النبات (11.07 و 11.43 سم للصنفين للبورين وارنوفا على التوالي) وعدد وطول الافرع/نبات وعدد الاوراق (10.39 و 9.68 ورقة / نبات للصنفين للبورين وارنوفا على التوالي). وبالرغم من وجود تفوق غير معنوي للصنف بورين مقارنة بارنوفا في صفة عدد الاوراق وعدد وطول الافرع المتكونة لكل نبات، الا انه يبدو انها السبب في التفوق المعنوي الصنف بورين على ارنوفا في عدد قطع العقل المستحصل عليها من تقطيع النبات بعد شهر من النمو (جدول7). اما بالنسبة لتاثير الاوساط الغذائية فلم يكن لها تاثير معنوي في صفة عدد وطول الافرع وعدد الاوراق وعدد قطع العقل/نبات (جدول4 و 5 و 6 و 7)، في حين تفوق ارتفاع النبات معنويا في الوسط B ، مقارنة بالوسطين A و C، فضلا عن ذلك فان الوسط D لم يختف معنويا عن بقية الاوساط الغذائية في تلك الصفة (جدول3). وعند دراسة التداخل بين الاوساط الغذائية والصنفين في الصفات المدروسة لوحظ ان التداخل كان غير معنوي للصفات عدد وطول الافرع وعدد الاوراق وعدد قطع العقل (جدول 4 و 5 و 6 و 7)، اما بالنسبة لصفة ارتفاع النبات (جدول3) فلم يكن للاوساط الغذائية تاثير معنوي في صنف البورين، فضلا عن ذلك فلم يكن هناك اختلاف معنوي بين الوسطين A (يحتوي على الثايمين وحامض النيكوتين والكلايسين) و D (والذي يحوي على املاح MS فقط) في صفة ارتفاع النبات في الصنف ارنوفا وهذا دليل على عدم وجود تاثير معنوي لفيتامينات الثايمين والبايرودوكسين والحامض الاميني الكلايسين في صفة ارتفاع النبات بالاضافة الى الصفات الاخرى المدروسة وهذا يتفق مع العديد من الباحثين (Ishihara و Katano ،1982؛ Kaul و Kochhar ،1985؛ Soczek و Hempel ،1988) والذين وجدوا انه لاتوجد اهمية تذكر عند اضافة الانوسيتول والثايمين في نمو النباتات خارج الجسم الحي، وقد يعزى ايضا الى العوامل الوراثية والمحتوى الهرموني والغذائي للنباتات وقابليتها على الموازنة بين ماتحتويه افرعها من هرمونات ومواد وعناصر غذائية. في حين تفوق ارتفاع النبات للصنف ارنوفا معنويا في الوسط B (يحوي على الانوسيتول والثايمين وحامض النيكوتين والكلايسين) مقارنة بالوسطين A و C (يحوي على الانوسيتول والثايمين وحامض النيكوتين والكلايسين ومنظم النمو اندول حامض الخليك) في حين لم يختلف معنويا عن الوسط D والذي يحوي على املاح MS فقط. وبالرغم ان بعض الباحثين (عمر واخرون، 1994؛ الصالحي، 2002) اشار الى ان اضافة اندول حامض الخليك يحفز انقسام واستطالة الاجزاء النباتية المزروعة الا انه لم يلاحظ هذا التاثير في هذه التجربة ، بل على العكس من ذلك حدث انخفاض معنوي في ارتفاع النبات في الصنف ارنوفا عند زراعته في وسط يحوي على الاندول حامض الخليك (وسط C) مقارنة ببقية الاوساط الغذائية. اما بالنسبة للصنف بورين فلم يلاحظ تاثير معنوي لحامض الاندول في صفات النمو. ان الاختلاف الحاصل بين الصنفين لربما يفسر بشكل عام على اساس التفاوت في التركيب الوراثي(الصالحي،1994) وما يصاحب ذلك من اختلاف في محتوى الاجزاء النباتية المزروعة من المواد الغذائية والهرمونية، اذ يبدو ان سبب اختلاف الصنفين بالنسبة لاضافة اندول حامض الخليك قد يعود الى التركيز الداخلي للنبات في تركيز هذا الحامض وهذا يتفق مع الخزعلي (2006) والذي وجد اختلاف معنوي لتركيز حامض اندول الخليك في الاجزاء النباتية للصنفين ديزري ودايموند. تزرع عادة النباتات خارج الجسم الحي في اوساط غذائية شبه صلبة وذلك عن طريق اضافة مادة الاكار بتراكيز محددة لغرض تصليب الوسط الغذائي، ونظرا للكلفة العالية لهذه المادة لذا اتجه التفكير الى ايجاد بدائل عنها مثل النشا والجيلاتين والثعلبية (Smykalova واخرون، 2001؛ Rasheed واخرون، 2006). تم في التجربة الثانية دراسة تاثير اضافة الاكار (وسط شبه صلب) من عدم اضافته (وسط سائل)على تكوين الدرينات للبطاطا النامية خارج الجسم الحي واظهرت النتائج وجود تفوق الصنف ارنوفا معنويا على الصنف بورين في عدد وقطر الدرينات كمعدل (جدول8 و9). ان انتاج الدرينات لنبات البطاطا خارج الجسم الحي يتاثر بعدد من العوامل منها تركيز السكر ودرجات الحرارة والفترة الضوئية والاوساط الغذائية بالاضافة الى الاصناف اي التراكيب الوراثية (Dhital و Lim، 2004؛ الصالحي، 1994) .كما يلاحظ من التجربة (جدول8) الى عدم وجود فرق معنوي بوجود او عدم وجود الاكار في متوسط عدد الدرينات، اذ كان عدد الدرينات 6.3 و 7.3/قنينة على التوالي، وهذا يتفق مع دراسة Rosell واخرون (1987) والذين بينوا انه لايوجد فرق معنوي بين الاوساط السائلة وشبه الصلبة في اكثار البطاطا. وبالرغم من عدم وجود فروق معنوية بين الوسط السائل والصلب في عدد الدرينات، الا ان وجود الاكار زاد معنويا من معدل قطر الدرينات، اما بالنسبة للتداخل فلم يكن هناك اي تاثير معنوي للتداخل بين الوسطين والصنفين في عدد وقطر الدرينات (جدول 8 و9).

الاستنتاج:

نستنتج من هذه الدراسة بانه بالامكان زراعة واكثار نبات البطاطا خارج الجسم الحي بالاعتماد فقط على املاح MS والسكر وبدون اضافة الفيتامينات والحامض الاميني الكلايسين واندول حامض الخليك ، فضلا عن ذلك فانه بالامكان الاستغناء عن اضافة الاكار في وسط انتاج الدرينات. ان ازالة تلك المركبات من الوسط الغذائي سوف يقلل الكلفة الاقتصادية.

جدول3: تاثير الاوساط الغذائية في ارتفاع النبات (سم) لصنفي البطاطا بورين وارنوفا

الاوساط/الاصناف	بورين	ارنوفا	المتوسط
A	11.29	10.14	10.71
B	11.43	14.00	12.71
C	11.43	9.71	10.57
D	10.14	11.86	11.00
المتوسط	11.07	11,43	
أ.ف.م0.05	الصنفين= غير معنوي الاوساط= 1.83، التداخل=2.58.		

جدول4: تاثير الاوساط الغذائية في عدد الافرع لصنفي نبات البطاطا بورين وارنوفا

الاوساط	بورين	ارنوفا	المتوسط
A	0.86	0.43	0.64
B	1.00	1.00	1.00
C	1.00	0.71	0.86
D	0.57	0.40	0.50
المتوسط	0.86	0.64	
أ.ف.م0.05	الصنفين= غير معنوي ،الاوساط= غير معنوي ، التداخل=. غير معنوي		

جدول5: تاثير الاوساط الغذائية في طول الفرع (سم) لصنفي نبات البطاطا بورين وارنوفا

الاوساط	بورين	ارنوفا	المتوسط
A	0.86	0.43	0.64
B	1.14	1.14	1.14
C	0.71	0.43	0.57
D	0.71	0.57	0.64
المتوسط	0.86	0.64	
أ.ف.م0.05	الصنفين = غير معنوي الاوساط= غير معنوي ، التداخل=. غير معنوي		

جدول6: تاثير الاوساط الغذائية في عدد الاوراق لصنفي نبات البطاطا بورين وارنوفا

الاوساط	بورين	ارنوفا	المتوسط
A	10.43	9.71	10.07
B	10.00	9.71	9.86
C	10.57	8.86	9.71
D	10.57	10.43	10.50
المتوسط	10.39	9.68	
أ.ف.م0.05	الصنفين = غير معنوي الاوساط= غير معنوي ، التداخل=. غير معنوي		

جدول7: تاثير الاوساط الغذائية والصنفين في عدد قطع العقل لصنفي نبات البطاطا بورين وارنوفا

الاوساط	بورين	ارنوفا	المتوسط
A	6.00	4.29	5.14
B	6.57	5.29	5.93
C	6.57	4.86	5.71
D	5.57	5.43	5.50
المتوسط	6.2	4.96	
أ.ف.م0.05	الصنفين = 0.94 الاوساط= غير معنوي، التداخل= غير معنوي		

جدول8. تاثير الاوساط الغذائية في عدد الدرينات لصنفي البطاطا بورين وارنوفا

الصنفين	الوسطين		المتوسط
	سائلة	شبه صلبة	
بورين	6.1	5.7	5.9
ارنوفا	8.5	6.8	7.6
المتوسط	7.3	6.3	
أ.ف.م0.05	الوسطين= غير معنوي ، الصنفين=1.38، التداخل= غير معنوي		

جدول9. تاثير الاوساط الغذائية في قطر الدرينات (سم) لصنفي البطاطا بورين وارنوفا

الصنفين	الوسطين		المتوسط
	سائلة	شبه صلبة	
بورين	0.53	0.75	0.64
ارنوفا	0.73	0.89	0.81
المتوسط	0.63	0.82	
أ.ف.م0.05	الوسطين= 0.158 ، الصنفين= 0.158، التداخل= غير معنوي		

المصادر

الخزعلي، فلاح حسن عيسى 2006. انتاج تقاوي الرتب العليا للبطاطا للصنفين Diamant و Desire باستخدام تقانات مختلفة. اطروحة دكتوراه، كلية الزراعة ، جامعة بغداد/ العراق.

الساهوكي، مدحت ووهيب كريمة احمد. 1990. تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – العراق.

الصالحي، علي عبد الامير مهدي .2002.حساسية البطاطا المكثرة خارج الجسم الحي لاشعة كاما. اطروحة دكتوره، كلية الزراعة، جامعة بغداد/العراق.

الصالحي، علي عبد الامير مهدي. 1994. استجابة سبعة اصناف من البطاطا (*Solanum tuberosum* L.)للزراعة النسيجية. رسالة ماجستير ، كلية الزراعة، جامعة بغداد/العراق.

محمد، عبد المطلب سيد وعمر، مبشر صالح. 1990. المفاهيم الرئيسية في زراعة الخلايا والانسجة والاعضاء للنبات. وزارة اتعليم العالي والبحث العلمي، مطبعة جامعة الموصل-العراق

عمر، مبشر صالح و جرجيس ،ميسر مجيد و الراوي ،عادل وفيق . 1994. انتاج تقاوي البطاطا محليا. مجلة أباء للابحاث الزراعية . المجلد 4 ، العدد 1 : 13 -25 .

Bonner, J. 1937. The role of vitamins in plant development, Botanical Review, 3(12): 616-640

Dhital, S and Lim, H.2004. Microtuberization response in several genotypes of potato (*Solanum tuberosum* L.) by direct addition of liquid medium to in vitro plantlets. J.Kor. Soc. Hort. Sci., 45:281-286

Horton, R.; L. A. Moran.; Scrimgeour, G.; Perry, M. and Rawn, D. 2006. Principles of Biochemistry. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, 2006, 896 pp

Ishihara, A. and M. Katano. 1982. Propagation of apple cultivars and rootstocks by shoot-tip culture. pp. 733-734 in Fujiwara A. (ed.) .Plant Tissue Culture. Proc. 5th. Int. Cong. Plant Tiss. Cell Cult., Japan. Assoc., Japan.

Kaul, K. and S. Kochhar. 1985. Growth and differentiation of callus cultures of *Pinus*. Plant Cell Rep., 4:180-183.

Murashige, T. and F. Skoog. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant.,15: 473-497.

Rasheed, K; K.Ibrahim, and T. Khalil. 2006. The application of some agar alternatives in micropropaation of three (*Vitis vinifera* L.) varieties. Iraqi J. Biotech., 5 (1):57-69.

Rosell, G ; F. Bertoldi, and R. Tizio. 1987. In vitro mass tuberization as a contribution to potato micropropagation. Pot. Res., 30:111-116

Thorpe, T; C. Stasolla.; E. Yeung. ; G. de Klerk.; A. Roberts, and E George. 2008. The components of plant tissue culture media ll: organic additions, osmotic and pH effects, and support systems, In George, E.; Hall, M. and de Klerk, G (eds), Plant Propagation by Tissue Culture. Volume I. The Background 3rd Edition.. Springer-Verlag. Dordrecht, pp. 115-173.

Smykalova, I.; M. Ortova.; H.Lipavska, and J. Patzak,. 2001. Efficient in vitro micropropagation and regeneration of *Humulusl Iupulus* on low sugar, starch-gelrite media. Biologia Plantarum, 44(1):7-12.

Soczek, U. and M. Hempel. 1988. The influence of some organic medium compounds on multiplication of gerbera in vitro. Acta Hortic., 226: 643-646.