ا لجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم : بيولوجيا وفسيولوجيا النبات.

Département : Biologie Et Ecologie Végétale

مذكرة التخرج للحصول على شهادة الماستر

ميدان: علوم الطبيعة والحياة

الفرع: بيولوجيا وفسيولوجيا النبات

التخصص: التنوع الحيوي وفسيولوجيا النبات

عنوان البحث:

بيولوجيا التجدد عند النباتات

تقنية الإكثار الدقيق لصنفين من نبات البطاطس *Solanum tuberosum L.* (bartina و kondor) تحت الإجهاد الملحي

من إعداد الطالبتين:

*** ايسعد نادية**

****علمي عديلة***

بتاريخ: 2018/06/27

لجنة المناقشة:

رئيس اللجنة: قارة يوسف	**أستاذ التعليم العالي**	**جامعة الإخوة متنوري- قسنطينة**
المشرف: بن لعريبي مصطفى	**أستاذ التعليم العالي**	**جامعة الإخوة متنوري- قسنطينة**
الممتحن: زغمار مريم	**أستاذة محاضرة**	**جامعة الإخوة متنوري- قسنطينة**

السنة الجامعية

2017 - 2018

نادية

إهداء:

الحمد لله على إحسانه والشكر له على توفيقه وامتنانه ونشهد أن لا إله إلا الله وأن سيدنا ونبينا محمد عبده ورسوله، الداعين إلى رضوانه، وصلى الله عليه وآله وسلم.

- إلى الذي وهبني كل ما يملك حتى أحقق له آماله، وإلى من كان يدفعني قدما نحو الأمام لنيل المبتغى، إلى الإنسان الذي سهر على تعليمي بتضحيات جسام أبي الغالي حفظه الله.

- إلى نبع الحنان ومسكن الأمان إلى التي وهبت فلذة كبدها بكل عطاء، إلى التي صبرت وسهرت ورعتني حق رعاية وكانت دعواتها لي بالتوفيق والنجاح تتبعني خطوة بخطوة إلى دعواتها لي بالتوفيق والنجاح تتبعني خطوة بخطوة إلى أمي الغالية أطال الله في عمرها.

- إلى أحبائي ورفقاء دربي إلى من هو سر سعادتي إخوتي: حسام، عماد، أيوب وأختي أحلام وفقكم الله.

- أهدي هذا العمل إلى كل الأهل والأقارب وأخص بالذكر جدي أحمد رحمه الله.

- كما لا يفوتني أن أهدي هذا العمل إلى من تقاسمت معها هذا العمل وسرنا معا لإنجازه وإنجاحه يا أعز صديقاتي "عديلة"

- إلى كل الصديقات الذين كانوا برفقتي أثناء دراستي في الجامعة وأخص بالذكر: أمينة، بسمة، خولة، سهام.

- إلى كل من لم يدخر جهدا في مساعدتنا خاصة الزميل والأخ حسام فيلاوين.

عديلة

إهداء:

باسم الله الرحمان الرحيم "قل اعملوا فسيرى الله عملكم ورسوله والمؤمنون"

صدق الله العظيم

إلهي لا يطيب الليل إلا بشكرك ولا يطيب النهار إلا بطاعتك... ولا تطيب الآخرة إلا بعفوك ... ولا تطيب الجنة إلا برؤيتك ... الله جل جلاله

إلى من بلغ الرسالة وأدى الأمانة ... ونصح الأمة... إلى نبي الرحمة ونور العالمين ... سيدنا محمد صلى الله عليه وسلم

إلى من كلله الله بالهيبة والوقار ... إلى من علمني العطاء بدون انتظار... إلى من أحمل اسمه بكل افتخار ... أرجوا من الله أن يمد في عمرك لترى ثمارا قد حان قطافها بعد طول انتظار وستبقى كلماتك نجوم أهتدي بها اليوم وفي الغد وإلى الأبد... والدي العزيز

إلى ملاكي في الحياة ... إلى معنى الحب والحنان وإلى معنى الحنان والتفاني ... إلى بسمة الحياة وسر الوجود وإلى من كان دعائها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي إلى أغلى الحبايب ... أمي الحبيبة

إلى إخوتي ورفقاء دربي في الحياة ... في نهاية مشواري أريد أن أشكركم على مواقفكم النبيلة إلى من تطلعتم لنجاحي بنظرات الأمل...

شمس الدين، منى، جميدة

شكر

* بعد رحلة بحث وجهد واجتهاد تكللت بإنجاز هذا البحث، نحمد الله عز وجل ونشكره على نعمه التي منّ بها علينا وعلى القدرة اليت منحنا إياها لإتمام هذا البحث فهو على كل شيء قدير.

* بعد شكر الله وحمده نتقدم بجزيل الشكر والتقدير للأستاذ المشرف مصطفى بن لعريبي على إشرافه على هذا البحث وعلى كل ما قدمه لنا من جهد ونصح ومعرفة طيلة إنجاز هذا العمل.

* كما نتقدم بجزيل الشكر للأستاذ قارة يوسف على حضوره وترأسه لجنة مناقشة البحث، والأستاذة زغمار مريم العضو المناقش لهذا البحث.

* كما لا يفوتنا أن نتقدم بالشكر الجزيل لكل من الأساتذة لاريت صباح (بجامعة سكيكدة) والأستاذة علمي هيبة بقسم الميكروبيولوجيا والأستاذ نبيل بوضرصة على المساعدة التي قدموها لنا والنصائح التي لم يبخلوا بها علينا.

* كما لا ننسى أن نتقدم بأرقى وأثمن عبارات التقدير والعرفان إلى شركة SAGRODEV وكل العاملين بها ونخص بالذكر السيدة كريمة سعدون مسؤولة المخابر والمهندستين سارة وسهام على التسهيلات والمساعدة والنصائح التي منحونا إياه في جميع مراحل التجربة.

وفي الأخير نتقدم بالشكر إلى كل من كان له يد في إنجاز هذا البحث.

الفهرس

قائمة المختصرات

المقدمة.....1

الفصل الأول: استعراض المراجع

I-التكاثر عند النباتات الراقية.....2

1.1- التكاثر الجنسي.....2

2.1-التضاعف الخضري.....3

1.2.1-التضاعف الخضري التقليدي.....4

1.1.2.1- التضاعف بواسطة العقل.....4

2.1.2.1- التضاعف بواسطة الترقيد.....5

3.1.2.1- التضاعف بواسطة الفسائل.....5

2.2.1- التضاعف الخضري الحديث.....7

1.2.2.1- زراعة عقل الساقية.....7

2.2.2.1- زراعة الأجنة.....7

3.2.2.1- زراعة الخلايا.....7

4.2.2.1- زراعة البروتوبلاست.....7

5.2.2.1- زراعة المتوك وحبوب اللقاح.....8

6.2.2.1- زراعة المبيض.....8

II- زراعة الأنسجة.....8

1.2- لمحة تاريخية.....8

2.2- زراعة الانسجة النباتية.....10

1.2.2- التعريف بزراعة الأنسجة النباتية.....10

2.2.2- مميزات استخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية.....11

3.2.2- أهداف زراعة الأنسجة.....12

3.2- أهم التطبيقات المستعملة في زراعة الأنسجة.....12

1.3.2- زراعة الخلية (أو المعلق الخلوي).....13
2.3.2- زراعة حبوب اللقاح أو المآبر.....14
3.3.2- زراعة الأجنة.....14
4.3.2- زراعة البيوضات.....14
5.3.2- زراعة المبيض.....15
6.3.2- زراعة البوتوبلاست.....15
7.3.2- زراعة الأعضاء النباتية.....16
1.7.3.2- زراعة المريستيمات أو القمة النامية.....16
2.7.3.2- زراعة العقل الساقية (الإكثار الخضري الدقيق LA micropropagation).....18
4.2- بيئة زراعة الأنسجة وخلايا النباتية.....19
1.4.2- تعريف.....19
2.4.2- مكونات بيئة زراعة الأنسجة.....21
1.2.4.2- الاملاح المعدنية (عناصر كبرى – عناصر صغرى).....21
2.2.4.2- الحديد.....22
3.2.4.2- مصدر الكربون (السكريات).....22
4.2.4.2- الفيتامينات.....22
5.2.4.2- الأحماض الأمينية.....23
6.2.4.2- منظمات النمو.....23
1.6.2.4.2- الأوكسينات.....23
2.6.2.4.2- السيتوكينينات.....23
3.6.2.4.2- الجبريلينيات.....23
7.2.4.2- مركبات أخرى.....24
1.7.2.4.2- الفحم النباتي النشط.....24
2.7.2.4.2- الآجار.....24
III- نبات البطاطا.....24
1.3- تعريف نبات البطاطا.....24
1.1.3- التصنيف العلمي.....25
2.1.3- الأصل الوراثي.....26
3.1.3- الوصف النباتي.....27

4.1.3- الموطن الأصلي.....29
5.1.3- القيمة الغذائية.....29
6.1.3- أصناف البطاطا.....30
7.1.3- أمراض وآفات البطاطا.....32
2.3- الملوحة ونبات البطاطا.....32
1.2.3- استجابة النبات للملوحة.....33
1.1.2.3- مقاومة الملوحة.....33
2.1.2.3- آليات مقاومة الملوحة.....33
2.2.3- الملوحة واستجابة البطاطس.....34

الفصل الثاني: مواد وطريقة العمل

I- التجربة الأولى:.....36
1- تقديم مكان الإجراء العملي.....36
2- المادة النباتية المستعملة.....36
3- الأدوات المستعملة.....37
1.3- الأجهزة المستعملة.....37
2.3- الزجاجيات المستعملة.....39
4- وسط الزرع (MS).....39
1.4- المحاليل الأساسية لوسط الزرع.....40
1.1.4- تحضير المحاليل الأساسية لوسط الزرع.....40
2.1.4- تحضير وسط الزرع.....42
5- التعقيم.....43
1.5- تعقيم وسط الزرع.....43
2.5- تعقيم أدوات العمل.....44
6- عملية الزرع.....44
1.6- مكان الزرع.....44
2.6- الأنسجة النباتية المستعملة.....45
3.6- إعادة الزرع.....46
1.3.6- الإكثار الدقيق LA micro propagation.....46

7- القياسات.....46
II- التجربة الثانية.....48

الفصل الثالث: مناقشة النتائج

I-نتائج التجربة الأولى.....49

1 – 1 - اثر الملوحة على طول الساق.....49

1 . 2 – اثر الملوحة على عدد الأوراق.....54

1 . 3 – اثر الملوحة على عدد الجذور.....58

1 . 4 –اثر الملوحة على طول الجذور 63

1 . 5 – اثر الملوحة على الوزن الطازج والوزن الجاف.....63

II- مناقشة التجربة الاولى.....76

III- نتائج ومناقشة التجربة الثانية.....77

الخاتمة.....78

قائمة الملحقات

الملخص

قائمة المختصرات

- **S1**: الأسبوع الأول Semaine 1
- **S2**: الأسبوع الثاني Semaine 2
- **S3**: الأسبوع الثالث Semaine 3
- **S4**: الأسبوع الرابع Semaine 4
- **C0:** concentration 0 (الشاهد)
- **C1**: concentration 1= 25m mol de Nacl / L
- **C2:** concentration 2= 100m mol de Nacl / L
- **C3:** concentration 3= 150m mol de Nacl / L
- **LT**: langueur de tige (طول الساق)
- **NF**: nombre de feuille (عدد الأوراق)
- **NR**: nombre de racine (عدد الجذور)
- **LR**: langueur de racine (طول الجذور)
- **PF**: poids frais (الوزن الطازج)
- **PS**: poids sec (الوزن الجاف)
- **MS**: murashigue et skoog
- **FAO**: Food and agriculture organisation
- **APG**: angios perms phylogeny group
- **B:** Bartina
- **K:** Kondor

المقدمة

مقدمة

منذ أن عرف الإنسان الزراعة وهو يبحث دون توقف عن وسائل يمكن بها إكثار النباتات التي يحتاجها أو استنباط أصناف جديدة لاستخدامها في الغذاء، الدواء أو الزينة وغيرها من المجالات، فتوصل من خلال بحثه إلى أن النباتات تتكاثر إما جنسيا عن طريق الأزهار لتعطي نباتات غير مشابهة للنبات الأم أو خضريا بواسطة الأجزاء الخضرية لتعطي نباتات مماثلة للنبات الأم وخالية من الأمراض في وقت قصير، فبدا له أن الطريقة الثانية هي الأحسن في إكثار النباتات الراقية، فبدأ تدريجيا في استخدام وسائل تقليدية لإكثارها عن طريق العقل، الفسائل، الترقيد، وغيرها من طرق الإكثار التقليدية، ومع مرور الوقت تبين له أن هذه الطرق بطيئة نوعا ما، ولم تعد تواكب وقع الحياة الذي يميل إلى التطور السريع، مما لفت الانتباه إلى زراعة الأنسجة بتقنياتها المختلفة، خاصة بالنسبة للمشتغلين في العلوم البيولوجية بعدما تبين ما توفره للباحثين من إمكانيات في دراسة نمو النباتات وتطورها وكيفية تشكل الأعضاء النباتية (Haberlandt 1902)، وإمكانية تحسين هذه النباتات بالإضافة إلى التهجين والهندسية الوراثية.

وما زاد من أهمية استخدام هذه التقنيات هو المحافظة على البيئة وذلك بالتقليل من استخدام المبيدات والأسمدة الكيماوية بالإضافة إلى الحفاظ على التنوع البيولوجي وذلك بإكثار النباتات المهددة بالانقراض، وهذا ما أدى إلى انتشار تقنية زراعة الأنسجة وتطورها وذلك بإنشاء مراكز ومخابر بحوث خاصة وذلك لإنتاج أصناف ممتازة ومن مختلف الأنواع النباتي.

وعلى سبيل المثال شركة SAGRODEV لتطوير الفلاحة الواقعة في ولاية سطيف والمتخصصة في إنتاج وتحسين مختلف أصناف البطاطس والتي تعتبر من النباتات ذات الأهمية الكبيرة من الناحية الغذائية والاقتصادية بالنسبة للإنسان.

ومن خلال بحثنا قمنا بدراسة حول زراعة الأنسجة لنبات البطاطس *Solanum tuberosum L.* باستخدام تقنية الإكثار الدقيقLa micro propagation أي زراعة عقل ساقية صغيرة لصنفين من البطاطس kondor و Bartina في وسط ملحي (3 تراكيز ملحية مختلفة) وذلك بغرض التعرف على مدى تحمل هذين الصنفين من نبات البطاطس الملوحة.

الفصل الأول: استعراض المراجع

I- التكاثر عند النباتات الراقية: (Phanérogames أو Spermaphytes)

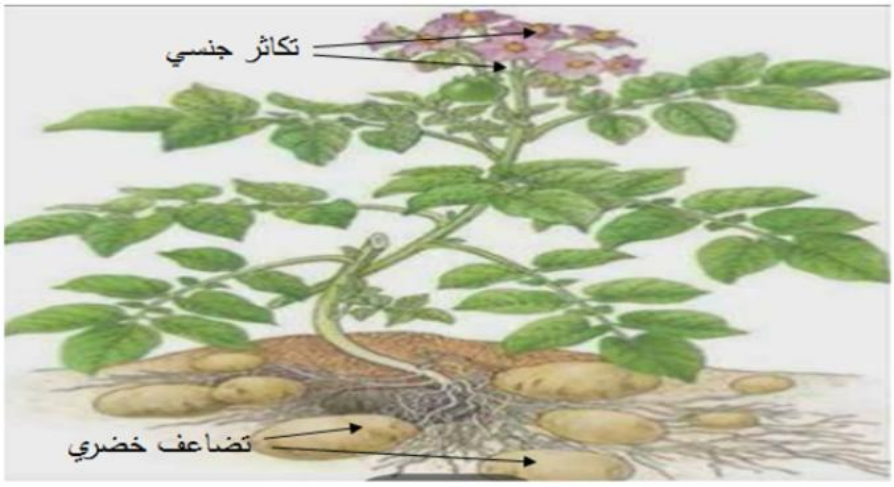
يعد التكاثر من أهم الطرق التي تسمح للكائنات الحية بالانتشار والاستمرار وكذا البقاء، فهو يحمي النسل من الانقراض، وتعد النباتات من أهم الكائنات الحية الموجودة على وجه الأرض والتي يكون تكاثرها إما تلقائيا أو اصطناعيا بتدخل الإنسان.

وتتضمن عملية التكاثر طريقتين رئيسيتين هما:

- **التكاثر الجنسي** (la reproduction sexuée) .
- **التضاعف الخضري (اللاجنسي)** (la multiplication végétative).

في الطريقة الأولى تتكاثر النباتات عن طريق الأزهار التي تعد مصدر للبذور والتي بدورها تنبت في الأرض لتعطي نباتات تنمو وتزهر وتثمر من جديد، أما فيما يخص الطريقة الثانية وهي التضاعف الخضري فإنه يكون عن طريق الأعضاء الخضرية المتمثلة في السيقان، الجذور، الأوراق ...الخ.

ولهذا فإن عملية التكاثر عند النباتات تعتمد على الخصائص المورفولوجية والتشريحية والتي يتميز بها كل نوع وصنف نباتي. (بن لعريبي، 2016).



الشكل1 : التكاثر الجنسي والتضاعف الخضري عند نبات البطاطا

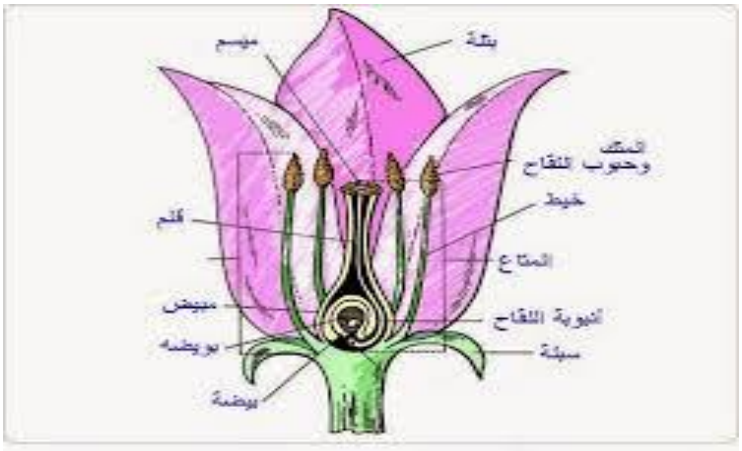
1.1- التكاثر الجنسي:

يكون هذا النوع من التكاثر في النباتات الزهرية، لأن الزهرة تعتبر العضو المسؤول على هذه العملية والتي بدورها تحتوي على أعضاء التكاثر سواء الذكرية أو الأنثوية، فبعض الأنواع من الأزهار تحتوي على الأعضاء الذكرية والأنثوية معا و التي تسمى أزهار النباتات الخنثى (plantes hermaphrodites) وتوجد أزهار

إما تحتوي على الأعضاء الذكرية أو الأنثوية، لكن محمولة على نفس النبات ويعرف هذا النوع بالنباتات أحادية المسكن (plante monoïque) وهناك نوع ثالث من الأزهار وهو ما يميز نباتات ثنائية المسكن (plante dioïque) حيث تكون أعضاء التكاثر الذكرية والأنثوية محمولة على زهرتين مختلفتين لنباتين مختلفين لكن لنفس النوع.

يتم التكاثر الجنسي من خلال عملية التلقيح التي تكون نتيجة اتحاد خلية ذكرية مع خلية أنثوية أي انتقال حبوب اللقاح من المتك (العضو الذكري) إلى ميسم الزهرة (عضو أنثوي) لتكون بذلك البذرة والتي بدورها تنبت لتعطي نبات كامل.

ويتميز التكاثر الجنسي بإنتاج نباتات غير مشابهة للنبات الأم فهو يعتبر مصدر التنوع الحيوي، إذ يسمح بإعادة تشكل الجينات نتيجة الانقسام المنصف (الاختزالي) (méiose) الذي ينتج عنه الخلايا غير متماثلة، (في حالة التلقيح الخلطي وهو نقل حبوب اللقاح من نبتة إلى ميسم فئة أخرى) ويمكن ان تكون النباتات مشابهة للنبات الأم في حالة التلقيح الذاتي (في حالة التلقيح الذاتي وهو انتقال حبوب اللقاح من المتك إلى السداة في نفس الزهرة أو إلى زهرة أخرى في نفس النبتة). (انور الخطيب، 1991).



الشكل 2: الشكل المورفولوجي للزهرة وعملية التلقيح (مقطع طولي لزهرة الخنثى)

equlsrose. Slogpot.comhttp://rose

2.1- التضاعف الخضري (التكاثر اللا جنسي):

يعتمد هذا النوع من التكاثر على الأجزاء الخضرية إذ يمكن لأي جزء أو عضو خضري من نبات ان ينمو ويكون أجزاء غير موجودة ليعطي نبات جديد ومتكامل من خلال عملية تعرف بالتجديد (تجدد الأعضاء) وذلك من خلال عملية التمايز الرجعي التي تسمح بإعادة تخليق الأنسجة وتشكل الأعضاء النباتية (La totipotence).

حيث تنمو هذه الأعضاء تحت ظروف ملائمة لتعطي نباتات مماثلة وراثيا ومظهريا لنبات الأم وهو ما يميز هدا النوع من التكاثر وهو المحافظة على التركيب الوراثي مما يؤدي إلى تكوين سلالات متجانسة ويفسر هذا كله بالانقسام الميتوزي الذي بدوره يسمح بالمحافظة على العدد الكروموزومي في الخليتين الناتجتين عن الخلية الأم وهما الخليتين البنيتين 2n كروموزوم (Margara ., 1989) كما يسمح التكاثر الخضري بإنتاج نباتات خالية من الأمراض الفيروسية البكتيرية والفطرية (جندية ، 2003).

***مبدأ التضاعف الخضري:**

تتم عملية التضاعف الخضري عند أخذ من النبات الأم إما نقطة نمو فعالة للساق (المريستيمات) أو قطعة من الساق تحوي برعم ثم تعزز في وسط مغذى أو تغرس في التربة وذلك للحصول على نباتات جديدة مع مرور الوقت. (صحراوي ، 1995).

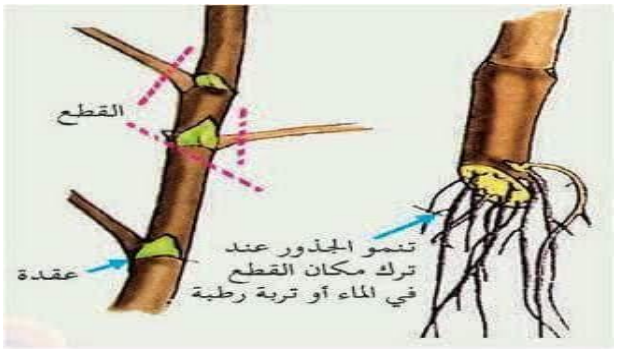
وينقسم التكاثر الخضري إلى نوعين هما:

1.2.1- التضاعف الخضري التقليدي:

يعتبر التضاعف الخضري ظاهرة معروفة عند النباتات الراقية استغلت منذ زمن بعيد من أجل إكثار النباتات والحفاظ على الصفات الأم، ويشمل هذا النوع عدة طرق أساسية للإكثار منها:

1.1.2.1- الإكثار بواسطة العقل أو التعقيل(bouturage):

يعد من أهم طرق الإكثار الخضري شيوعا لكثرة استخدامها ولكثرة النباتات المتكاثرة بها، ويتم الإكثار بواسطة العقل بأخذ أي جزء من ساق، جذر، أوراق وغرسه في التربة، حيث تسمى العقل تبعا للجزء الذي أخذت منه (عقل ساقية إذا أخذت من الساق، وعقل ورقية إذا أخذت من الأوراق) وتعتبر العقل الساقية الأكثر استخداما خاصة في الأشجار المثمرة، بعض نباتات الزينة، الخضروات مثل البطاطا، أما العقل الورقية تستخدم في النباتات المزهرة والنباتات العصارية. (khennouf.,2002).



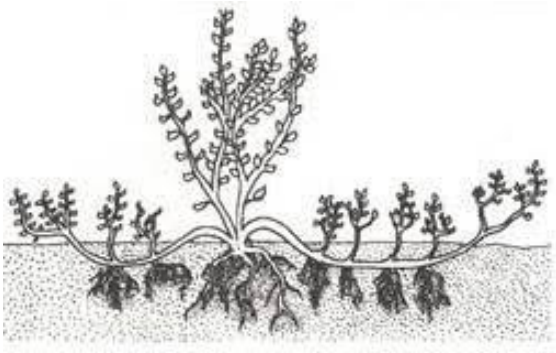
الشكل 1.3: التكاثر الخضري بواسطة العقل

الشكل 2.3:التكاثر الخضري بواسطة الأوراق

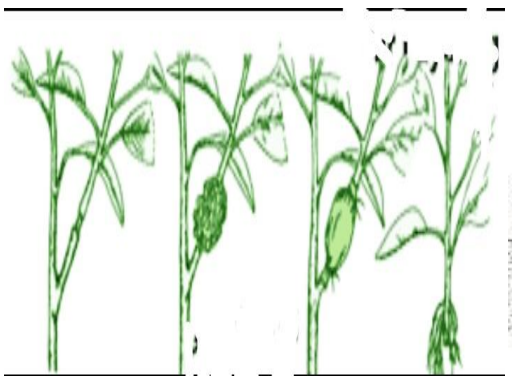
https://www. agronomie.com

2.1.2.1- الإكثار بواسطة الترقيد:

يختلف الترقيد عن الإكثار بواسطة العقل في أن تكون الجذور العرضية على قطع الساق وهي لا تزال ملتصقة بالنبات الأم، فالترقيد هو عبارة عن عملية طمر لساق أو غصن نبات تحت التربة حتى تنمو جذوره العرضية ليتم بعد ذلك فصله عن النبات الأم ونقله من أجل زراعته في مكان آخر، ويوجد نوعين من الإكثار بواسطة الترقيد، الترقيد الأرضي والترقيد الهوائي. (حمزة، 1974).



الشكل 1.4:الترقيد الأرضي



الشكل 2.4: الترقيد الهوائي

https://agronomie.info

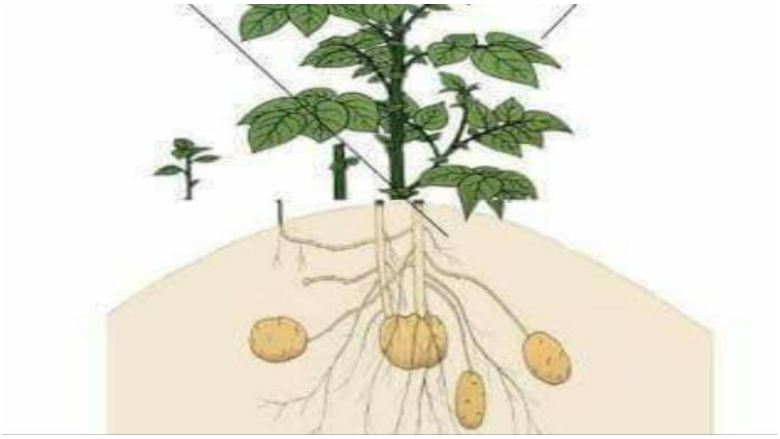
3.1.2.1- الإكثار بواسطة الفسائل:

الفسيلة هي نوع خاص من الأفرع النباتية الجانبية، تنمو حول قاعدة الساق الرئيسي في نباتات معينة، تكون الفسائل شبيهة تماما للنبات الأم وإنما بشكل مصغر، وأبرز مثال عن هذا النوع من الإكثار هو نبات النخيل، وللإكثار بواسطة الفسائل يجب:

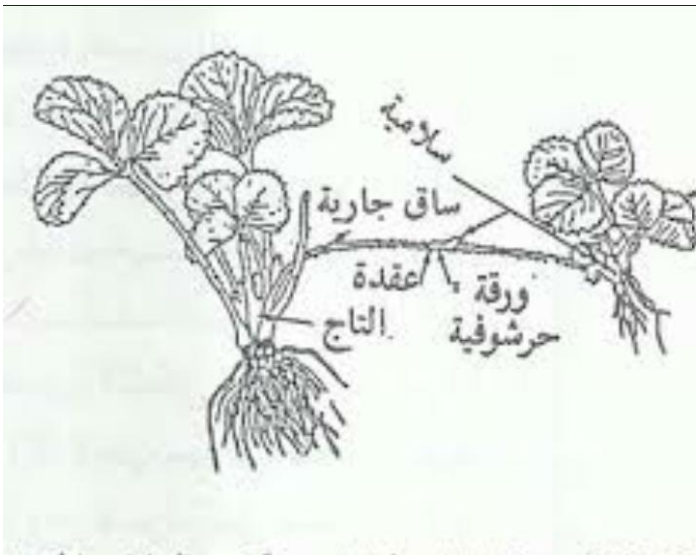
- لا يقل عمر الفسيلة عن سنتين.
- أن تكون الفسيلة ناضجة ولها مجموع جذري.
- ويجب أن تكون الفسيلة متوسطة الحجم ويتراوح وزنها من 10 إلى 15 كلغ.
- يجب أن يكون سطح الانفصال مستويا ونظيفا حتى لا تتعفن. (طه عبد الله نصر، 1977)

الشكل 5 : التكاثر عن طريق الفسائلhttps://www.agronomie.info

وبالإضافة إلى هذه الطرق توجد طرق أخرى للتضاعف الخضري منها: الإكثار عن طريق الدرنات كالبطاطا وبواسطة المدادات (الفراولة) والأبصال (البصل والثوم).

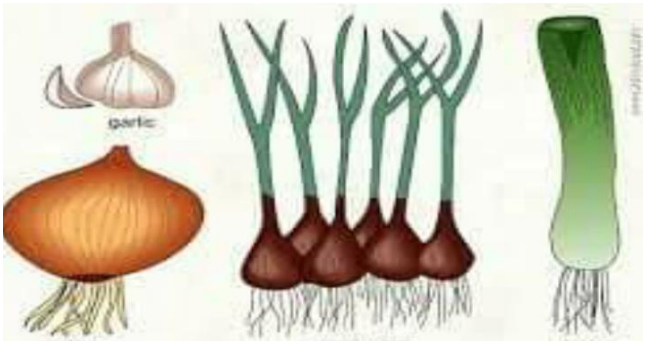


الشكل 1.6 : تضاعف خضري بواسطة الدرنات(Oswaldo.,2010)



الشكل 2.6 : التكاثر الخضري بواسطة المدادات في نبات الفراولة

https://www.agronomie.com



الشكل 3.6 : الإكثار الخضري بواسطة الأبصال https://www.agronomie.info

2.2.1- التضاعف الخضري الحديث:

هو عبارة عن إكثار النبات ابتداء من كل أو جزء من الأعضاء النباتية المأخوذة من النبات الأم، ويتطور في وسط غذائي مصنع ليكون نبات جديد مشابه للنبات الأم في الشكل المظهري والتركيب الوراثي (Prevost ,.1999). وذلك للحفاظ على بعض الأنواع النباتية خاصة منها الأشجار المثمرة مثل نبات الداليا (Dahlia) وبعض الخضروات خاصة البطاطا ثم لوحظت التطورات التدريجية لهذه النباتات.(Martin et Morel 1952).

- ومن أهم الزراعات التي استعملت في التضاعف الخضري الحديث:

1.2.2.1- زراعة العقل الساقية:

في هذا النوع من الزراعة يتم تجزئة النبات إلى عقل صغيرة (micro-bouturage) وزرعها في وسط صلب مغذي وبعد فترة زمنية تنموا لتعطي نبات كامل.

2.2.2.1- زراعة الأجنة:

في هذه الحالة يتم زراعة الأجنة المفصولة سواء كانت أجنة مكتملة أو غير مكتملة النمو.

3.2.2.1- زراعة الخلايا:

ويقصد بها زراعة الخلايا سواء كانت بصورة مفردة، أو على هيئة تجمعات خلوية صغيرة جدا في بيئة غذائية سائلة.

4.2.2.1- زراعة البروتوبلاست:

ويقصد بها زراعة الخلايا المنزوعة الجدر الخلوية.

5.2.2.1- زراعة المتوك وحبوب اللقاح:

ويقصد بها زراعة المتوك كاملة وبداخلها حبوب اللقاح، أو زراعة حبوب اللقاح فقط، وهي طريقة مهمة جدا في برامج تربية النبات.

6.2.2.1- زراعة المبيض:

ويقصد بها زراعة عضو التأنيث الزهري للنبات، وقد أمكن بنجاح زراعة بويضات مفصولة لنبات الخشخاش وبعض الأنواع النباتية الأخرى. (محمود عبد العزيز إبراهيم خليل ،2004).

II- زراعة الأنسجة:

1- لمحة تاريخية:

يعد إكثار مختلف النباتات باستخدام تقنية زراعة الخلايا والأنسجة النباتية واحد من أهم اكتشافات وفوائد العلم الحديث.

ويرجع تاريخ الإكثار الخضري عن طريق زراعة الخلايا والأنسجة النباتية أو بالأحرى أولى المحاولات في هذا المجال كانت في بداية القرن العشرين عندما قام (1902) Haberlandt عالم نبات ألماني من استنبات خلايا خضرية وأكد أنه يمكن الحصول على أجنة نباتية (ليديان كيت، 2000).

ثم تمكن (1904) Hanning من الحصول على مزارع أنسجة لقمم الجذور وفي عام (1922) نجح العالم الألماني Kotte في الحصول على نموات نتيجة زراعة المناطق المولدة الجذرية (المريستيمات) لنباتي الفول والذرة (صحراوي، 1956).

ثم استطاع العالم (1934) White أن يحقق بعض النجاح عندما تمكن من إنتاج نبات طماطم كامل من زراعة جزء من جذر نبات في وسط غذائي صناعي يحتوي على أملاح معدنية وسكروز مستخلص خميرة.

وعلاوة على ما سبق فقد استطاع (1939) Gautheret إنتاج نبات الجزر من أنسجة نباتية غير متخصصة.

ومن ناحية أخرى أوضح (1957) Skoog et Miller أن نسبة كل من الأكسجين والسيتوكينين في وسط غذائي تلعب دورا مهما في تحديد طبيعة نمو وتخصص الجزء النباتي المزروع في ذلك الوسط الغذائي.

ثم تمكن (1958) Steward et al من إنتاج نبات الجزر عن طريق تنمية كتلة من الخلايا غير المتخصصة مؤكدا ما قام به (1939) Gautheret وفي (1962) استطاع Murashigue et Skoog من إحداث قفزة علمية في مجال تطور تقنية زراعة الخلايا والأنسجة النباتية، حيث توصل إلى تركيب بيئة غذائية لزراعة أنسجة نبات الدخان،

والتي أصبحت فيما بعد من أشهر البيئات حتى يومنا هذا، ويرمز لها MS. (محمود عبد العزيز إبراهيم خليل، 2004).

كما تمكن Morel et al (1968) من إنتاج نباتي الطماطم والبطاطا خالية من الأمراض الفيروسية والبكتيرية وذلك بزراعة المريستيمات.

ولقد شهدت السنوات الأخيرة تطورا وتقدما كبيرا في مجال تقنية زراعة الخلايا والأنسجة النباتية حيث ظهرت آفاق جديدة في زراعة الأنسجة وفي مناطق نباتية عديدة ومتداخلة باستمرار من ضمنها دمج البروتوبلاست وزراعة حبوب اللقاح والتطفير والتهجين وزراعة الأجنة وغيرها تستخدم كلها بغرض إكثار النباتات وإنتاج المنتجات الثانوية (ليديان كيت،2000).

* تطور زراعة الأنسجة:

إن مقدرة الخلايا النباتية على توليد وتنمية أنسجة مثل (Cullus وخلايا وبورتوبلاست) وأعضاء نباتية معزولة (كالسوق والجذور والزهار وأجنة في بيئة مغذية تحت ظروف معقمة كانت الأساس في تطور ونمو أبحاث نظرية وعملية في العديد من المخابر العلمية منذ بداية هذا القرن وقد تركزت الجهود في البداية على إكثار النباتات حيث بدأ ذلك في الستينات وتطور خلال السبعينات إلى مختبرات على مستوى تجاري، وإضافة إلى استعمال زراعة الأنسجة كوسيلة لإكثار النباتات فقد وجه المهندسون الوراثيون ومربوا النباتات منذ بداية الثمانينات جهودهم إلى استغلال تقنيات زراعة الأنسجة (culture in vitro) في وضع استراتيجيات جديدة لتربية النبات وأبحاث البيولوجيا الجزيئية من أجل التحسين الوراثي للمحاصيل الزراعية ويطلق على هذه التقنيات بالتقنيات الحيوية (Biotechnologie).

وقد مرت زراعة الأنسجة بعدة مراحل منذ اكتشافها عام 1902:

1902: اكتشف العالم الألماني Haberlandt أن الخلايا النباتية لديها القدرة على توليد نبات كامل بدء من خلية واحدة وأطلق على هذا المفهوم (totipotence).

1934: تمكن العالم White من تنمية جذور النبدورة بشكل دائم على بيئة مغذية مزودة بخلاصة الخميرة، وقد تبين فيما بعد أن العناصر الأساسية كانت فيتامينات B وبشكل خاص B1 (الثيامين Thiamine).

1939: ثلاثة عملاء Nobecount و Gautheret من فرنسا و White من الولايات المتحدة تمكنوا من تنمية نسيج (Callus) نباتي بشكل دائم على بيئة صناعية أساسية مزودة بالأوكسينات.

1940: توليد سويقات عرضية في أنسجة الكامبيوم لنبات الغرغار (Ulmus) من قبل العالم Gautheret.

1946: الحصول على أول نباتات كاملة من الترمس (Lupinus) ونبات أبو خنجر (Tropaeolum) من القمم السوقية (من قبل Ball).

1952: الحصول على أول نباتات خالية من الفيروسات باستعمال زراعة المريستيمات القمية (من قبل Morel Martin et).

1954: الحصول على أول نبات من خلية مفردة من قبل Muir.

1957: اكتشاف العلاقة بين الأوكسينات والسيتوكينات في تنظيم تشكل الأعضاء (جذور أو السوق) من قبل Skoog و Miller.

1958: تجديد أجنة جسمية من النسيج النوسيلي للبرتقال من قبل Maheshwari و Rangaswamy.

1960: الاكثار النسيلي للسحلبية Orchid من قبل Orel.

1971: أول نباتات مجددة من بروتوبلاست من قبل Takebe.

1973: اكتشاف مقدرة السيتوكنين على كسر طور السكون في البراعم من قبل Pierik.

1974: إحداث تفرعات أبطية باستخدام السيتوكنين في السوق النامية لنبات Gerbera من قبل Marashigue.

(الصفدي .، 1995).

2- زراعة الأنسجة النباتية:

إن التنوع الجدير بالملاحظة للتكاثر الخضري الطبيعي يعكس قابلية تكاثر النباتات المثيرة للإعجاب وقابليتها الطبيعية لإكثار نفسها بالطرق الغير جنسية وهو أساس التكاثر في الزجاجيات (in vitro) أو الأنسجة النباتية وكلمة (in vitro) معناه فصل تام عن النبات الأم ولكن الترجمة اللاتينية تعني بالتحديد في الزجاج (in glass).

(ليديان كيت، 2000).

1.2- التعريف بزراعة الأنسجة النباتية:

زراعة الخلايا أو الأنسجة النباتية هي عبارة عن استخدام أي قطعة أو جزء صغير من أجزاء النباتات المختلفة والمتمثلة في "خلية ، قمة مريستيمية ، جزء من ساق أو ورقة أو جذر، برعم طرفي أو إبطي، متك أو مبيض" حيث يتم تعقيمها وعزلها تحت ظروف خالية تماما من الأمراض أو المسببات المرضية، لتزرع هذه الأنسجة النباتية في أنابيب اختبار أو أوعية زجاجية تحتوي على بيئة غذائية والتي تتكون من مجموعة من العناصر المعدنية (الصغرى والكبرى) وبتراكيز متوازنة، بالإضافة للسكروز كمصدر للكربون وبعض منظمات النمو والفيتامينات،

مع توفير جميع الظروف البيئية الملائمة (ضوء، حرارة، وغيرها) ولهذا يتم حفظ هذه الأنسجة النباتية في غرف تحضين خاصة (chambre de culture) يتم فيها التحكم في هذه الظروف البيئية. (محمود عبد العزيز إبراهيم خليل ، 2004).

وتتميز زراعة الأنسجة بخصائص مهمة يجب أن تتوفر في النبات خاصة وهي:

- **القدرة على التجدد** (la totipotence cellulaire) :

في 1902 لاحظ العالم الألماني Haberlandt الشروط الطبيعية للتكاثر الخضري (التعقيل) و بعدها وضع الأساس الوحيد للإكثار الدقيق إلا وهو القدرة على التجدد الخلوي (totipotence cellulaire) ووضع هذا التعريف "كل الخلايا النباتية قادرة على تجديد فرد آخر مطابق لتلك المنتسب إليها .إذن هي قدرة الخلايا على إعادة تكوين نبات جديد.

p210/1_culture_in_vitro_patrice_2006.pdfhttp://biologie.univ-mrs.fr/upload/

- **التمايز** (la différenciation) **:**

يحدث التمايز للخلايا خلال النمو مباشرة بعد توقف عملية الانقسام والتطاول الخلوي بحيث تتخصص هذه الخلايا وظيفيا كما تتغير مورفولوجيا وباختصار التمايز هو المرحلة التي تعبر بها الخلايا من مرحلة النبتة الصغيرة إلى مرحلة النبات البالغ المتخصص الوظيفي (Baziz ,2004).

- **التمايز الرجعي** (la dédifférenciation) **:**

وهي قدرة الخلايا النباتية على العودة إلى الوضع الجنيني، فنجد خلايا قد تمايزت وتخصصت وظيفيا وبتوفير ظروف ملائمة يحدث التمايز الرجعي (Baziz ,2004).

2.2- مميزات استخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية:

تنفرد هذه التقنية بالعديد من المميزات بالمقارنة مع طرق الإكثار الأخرى، يمكن توضيحها فيما يلي:

1- صغر حجم الجزء النباتي المستخدم في الإكثار.

2- تهيئة جميع الظروف البيئية المثلى التي تحتاجها النباتات.

3- تتم ف يحيز مكاني صغير نسبيا يمكن التحكم فيه.

4- تتم تحت ظروف معقمة تماما وبعيدا عن كل مصادر التلوث.

5- تتم بعيدا عن جميع الكائنات الحية الضارة من بكتيريا أو فطريات أو حشرات أو فيروسات.

6- لا ترتبط بالتسلسل الطبيعي لدورة حياة النبات ونموه وتطوره.

7- تجنب التدهور الذي يصيب النباتات عند إكثارها خضريا.

8- إمكانية وسهولة إكثار بعض النباتات صعبة الإكثار بالطرق التقليدية. (محمود عبد العزيز إبراهيم خليل، 2004)

3.2- أهداف زراعة الأنسجة:

1- استخدام زراعة الأنسجة كوسيلة سريعة للتكاثر.

2- إنتاج نباتات عديدة في فترة قليلة.

3- النباتات الناتجة من زراعة الأنسجة خالية من الأمراض الفطرية والفيروسية والبكتيرية وغيرها لأنها تتم تحت ظروف معقمة.

4- الحفاظ على نقاء الجنس لأن النباتات الناتجة تمتلك نفس الذخيرة الوراثية للنبات الذي اشتقت منه أي إنتاج نباتات مماثلة للنبات الأم.

5- إنتاج نباتات مقاومة للظروف البيئية (جفاف، ملوحة، ارتفاع مستوى الماء).

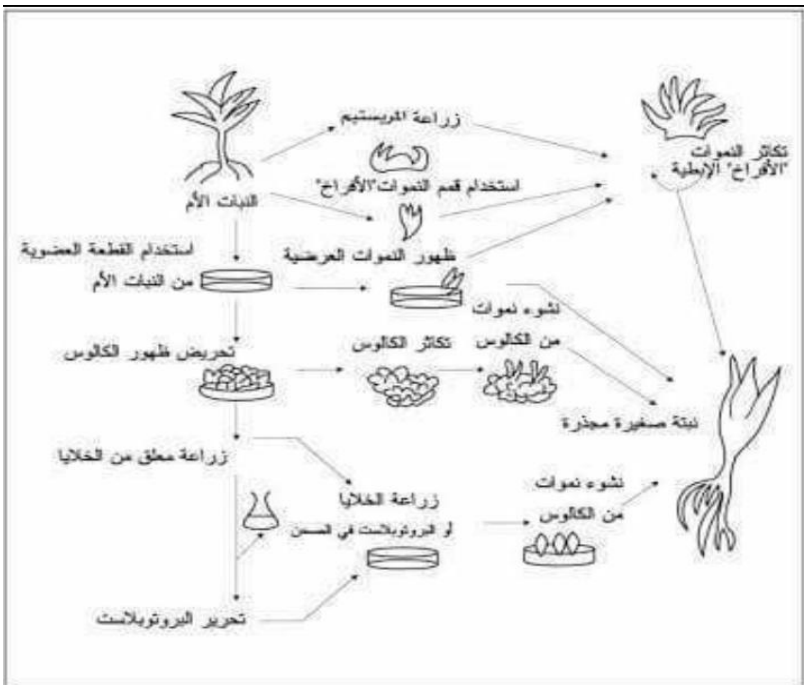
6- باستخدام زراعة الأنسجة يمكن إنتاج نباتات من أجنة خضرية، كما يمكن إنتاج أصناف جيدة عن طريق الهندسة الوراثية.

7- التعرف على بعض العمليات الفسيولوجية الحيوية وذلك عن طريق زراعة الأنسجة والهندسة الوراثية.

(جندية، 2003).

3- أهم التطبيقات المستعملة في زراعة الأنسجة:

إن تعدد الأنسجة والأعضاء النباتية جعل من زراعة الأنسجة تأخذ عدة تطبيقات ومحاولات في هذا المجال ولهذا يمكن توضيح تقنية زراعة الأنسجة من خلال تطبيقاتها على المادة او الجزء النباتي المزروع فيما يلي:



الشكل 7: بعض تقنيات زراعة الأنسجة

http://www.onlinesciencenotes.com/basic-steps-plant-tissue-culture-importance/

1.3- زراعة الخلية (أو المعلق الخلوي):

يمكن تأسيس المعلق الخلوي عن طريق نقل قطعة من الكالوس (عادة كتلة من الخلايا) الهش أو أنسجة مهروسة في بيئة سائلة بحيث تتفرق الخلايا عن بعضها البعض، ويتم تنمية الخلايا على بيئات صلبة وفي دوارق موضوعة على أجهزة رج دوارة، ويتبع نمو الخلايا نمط نموذجيا وفقا للتغيرات في معدل انقسام الخلايا:

* حيث تنقسم الخلايا ببطء في البداية وهو ما يعرف بالطور البطيء، وبعد ذلك تنقسم الخلايا بشكل أسي ومتزايدة لتصل إلى مرحلة ثابتة من الانقسام (خطية) ويتبع ذلك تباطؤ في الانقسام حتى الوصول إلى الحالة المستقرة أي أنه هناك 4 مراحل لانقسام الخلايا.

* وتستخدم زراعة الخلايا في:

1- حالة الرغبة في إحداث طفرات (mutation) وذلك بإضافة مادة الكولشيسين أو إيثيل الميثان أو بالإشعاع.

2- في حالة الحصول على نبات تتحمل الملوحة أو مقاومة للمبيدات والسموم وغيرها وذلك عن طريق إضافة ملح كلوريد الصوديوم أو المبيدات أو السموم إلى بيئة الزراعة ومحاولة الحصول على نبات يتحمل التراكيز العالية.

(عرابى، 1995).

2.3- زراعة حبوب اللقاح أو المآبر:

لقد تم اكتشاف أن حبوب اللقاح يمكن أن تتطور إلى أجنة بالصدفة من قبل (Guha et Masheshwoari) إلى أن تطورها إلى نباتات لم يتحقق إلا فيما بعد بواسطة (Mitsh et al 1969) ومنذ ذلك الحين فقد أمكن الحصول على نباتات في العديد من الأنواع إما بشكل مباشر عن طريق تمايز حبوب اللقاح إلى أجنة أو عن طريق تشكل الكالوس ثم الحصول على نباتات كاملة عن طريق تشكل الأعضاء (organogénèses) وفي هذه الطريقة تزرع حبة اللقاح غير الناضجة على أوساط غذائية وذلك للحصول على نباتات متجانسة تحتوي على نصف العدد الأصلي للكروموزمات ثم تتم مضاعفة العدد الكرموزومي لهذه النباتات باستخدام مادة الكولشيسين أو إيثيل الميثان وذلك للحصول على نباتات متجانسة وراثيا وخصبة وعموما زراعة حبة اللقاح بالرغم من نجاحها إلا أنها يمكن أن تتعرض لعدة عوامل يمكن أن تؤثر على زراعتها، أهمها:

1- نوع وطبيعة الوسط الغذائي.

2- التركيب الوراثي لنبات الأم.

3- حالة نبات الأم الغذائي.

4- مرحلة الانقسام الاختزالي لحبة اللقاح عند زراعتها.

5- ظروف حفظ المزروعات (حبوب اللقاح).

وتستخدم زراعة المآبر في تربية النبات للحصول على نباتات أحادية المجموعة الصبغية ثم مضاعفة العدد الصبغي على سلالات مماثلة اللواقح (homozygotes) (عرابى، 1995) .

3.3- زراعة الأجنة:

تستخدم هذه التقنية لإنقاض الأجنة والتي قد تجهض داخل البذرة قبل النضج ويحدث هذا عادة كنتيجة للتهجين بين الأنواع (hybridation interspécifique) والاستعمال الثاني لهذه التقنية الإنتاج السريع للبذور الكامنة الناضجة وبالتالي تقصير مراحل التربية، وتتم زراعة الأجنة بأخذ المبيض بعد التهجين بالنبات وهو في مراحله الأولى ثم يزرع على وسط غذائي لينموا ويتطور إلى بادرة.

4.3- زراعة البويضات:

وتستخدم هذه الطريقة في حالة النباتات التي يحدث فيها إجهاض الجنين مبكرا جدا (بعد الإخصاب مباشرة) حيث يتم فصل البويضة عن النبات وترزع على بيئة ثم يتم تلقيحها بحبوب لقاح من النباتات المرغوب من أجل الحصول على بذور ذات أجنة حية تنموا فيما بعد إلى باذرات، وتستخدم هذه الطريقة في حالة الأجناس المتباعدة وراثيا أو

بين الأصناف ذات الجنس الواحد والتي توجد فيها ظاهرة عدم التوافق الخلطي أو في حالة وجود مشكلة (dichogamie) (اختلاف ميعاد نضج أعضاء التذكير والتأنيث) في الصنف الواحد كما في حالة بعض أصناف البرقوق والجوز.

3.5- زراعة المبيض:

وتستخدم هذه الطريقة في حالة الرغبة في دراسة مظهر الثمار ومراحل تطورها واحتياجاتها الغذائية وحالتها الفسيولوجية وغيرها، ويقصد به زراعة عضو التأنيث الزهري للنبات (جندية ، 2003).

3.6- زراعة البروتوبلاست: (دمج البروتوبلاست) :

تتمثل زراعة البروتوبلاست (protoplaste) في عملية دمج البروتوبلاست (fusion de protoplase) .

قام Klerker (1892) بأول محاولة لعزل البروتوبلاست من خلايا النبات ، ثم تبعه بعد ذلك Kuster (1940) وقد اعتمدت الطريقة التي استخدمها كل منهما على إحداث عملية بلزمة للخلايا ثم قطع النسيج النباتي فينفصل البروتوبلاست أثناء عملية البلزمة ثم قام Cokin (1960) بتقديم طريقة أفضل وأكثر فعالية لفصل البروتوبلاست تعتمد بصورة أساسية على استخدام إنزيمات تقوم بتحليل جدر الخلايا ومن أكثر الإنزيمات استخداما في هذا الشأن كل من السيليوز والهيموسيليلوز وتتم عملية فصل البروتوبلاست تحت ظروف معقمة (محمود عبد العزيز إبراهيم خليل، 2004) .

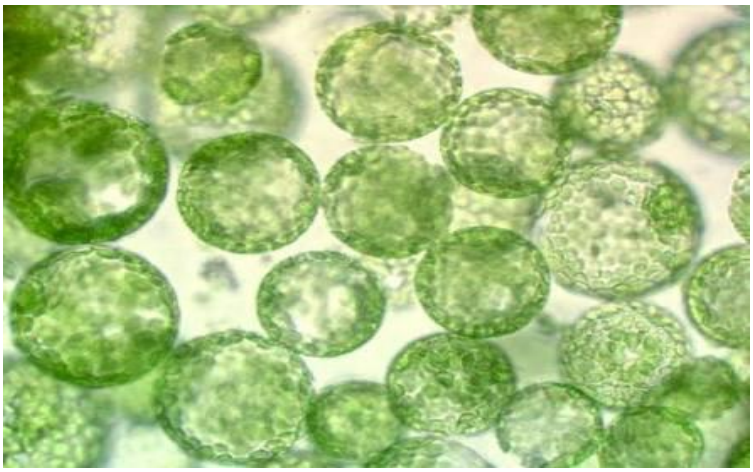
بعد فصل البروتوبلاست من خليط الإنزيمات ووضعه في بيئة نمو مناسبة، تتلامس الأغشية البلازمية للبروتوبلاست وتندمج مشكلة خلية واحدة ، وبعدها تبدأ بإعادة تكوين جذر خلايا جديدة وذلك بتوفير جميع عوامل النمو المناسبة في البيئة الغذائية والخلايا الجديدة الناتجة عن البروتوبلاست لها القدرة على التكشف والتميز إلى عضيات نباتية جديدة التي تعطي نباتات كاملة.

ويتم دمج البروتوبلاست بشكل تلقائي أو عن طريق استخدام المحفز المناسب (كهربائي أو كيميائي) مثل بولي ايثيلين غلايكول (polyethylineglycole) PEG أو شوارد الكالسيوم في درجة حموضة عالية.

وينتج عن دمج البروتوبلاست نوعين من الخلايا:

- خلايا متجانسة: عندما يندمج بروتوبلاست من نفس النبات مثلا (A-A أو B-B).

- خلايا خليطة: عندما يندمج بروتوبلاست ما بين الأنواع النباتية (interspécifique) وهو (A-B). (الصفدي، 1995) .



الشكل 8: عملية دمج البروتوبلاست(Gunels. Gubele.kaya.z, 2002)

7.3- زراعة الأعضاء النباتية:

وهي عبارة عن زراعة أعضاء نباتية يمكن فصلها من النبات الأم والتي تتمثل أساسا في زراعة المريستيمات أو القمة النامية (قمم الأفرع الخضرية ، قمم الجذور) بالإضافة إلى زراعة العقل الساقية أو الإكثار الخضري الدقيق (la micro propagation).

1.7.3- زراعة المريستيمات أو القمة النامية (la culture de méristèmes ou la culture d'apex):

يعتمد تشكل الأنسجة والأعضاء في النبات دائما على وجود كتل خلوية خاصة تدعى المناطق المولدة أو المريستيمات وكلمة مريستيم مشتقة من الكلمة اليونانية (weristos) وتعني يقسم أو يجزئ، ولذلك فهي تشير في مجال التشريح النباتي إلى مجموعة الخلايا غير المتمايزة والتي لها القدرة على الانقسام، وهو ما يميز النبات عن الحيوان وهو أن عملية تشكل الأجنة والأعضاء (organogénèse) في النباتات الراقية دائمة وغير محدودة عكس الحيوان يكون تشكل الأجنة والأعضاء محددة بفترة زمنية معينة.

ويوجد في النباتات الراقية نوعان أساسيان من المريستيمات هما:

أ- المريستيمات القمية الأولية (méristème apicaux primaires) **:**

تتوضع في نهايات السوق والجذور وهي اساس تشكل باقي الاعضاء (الساق، الاوراق، الازهار، الافرع).

ب- المريستيمات الثانوية (méristème secondaires**):**

تعرف بالكامبيوم (cambium) وتتوضع داخل السوق والجذور، وبواسطة انقساماتها تؤمن زيادة قطر السوق والجذور وهي الأصل في تشكل الجنس.

- تعود البدايات الأولى لوضع تقنية زراعة المريستيمات إلى الأبحاث التي أجراها white عام (1922) والتي لاحظ فيها أن زراعة نهايات الجذور لنبات الطماطم المصاب بالأمراض الفيروسية تعطي نموات جذرية خالية من الفيروسات، وفي عام (1949) أجريت دراسات أكثر دقة من قبل Limasset و Cornuet الذين لاحظا أن عملية التطعيم في التبغ تقلل من شدة الإصابة بالفيروسات وأنه يمكن التخلص من الإصابة نهائيا عندما يكون الطعم هو المنطقة القمية للنبات ولهذا اعتبرت المريستيمات مناطق خالية من الإصابات الفيروسية.

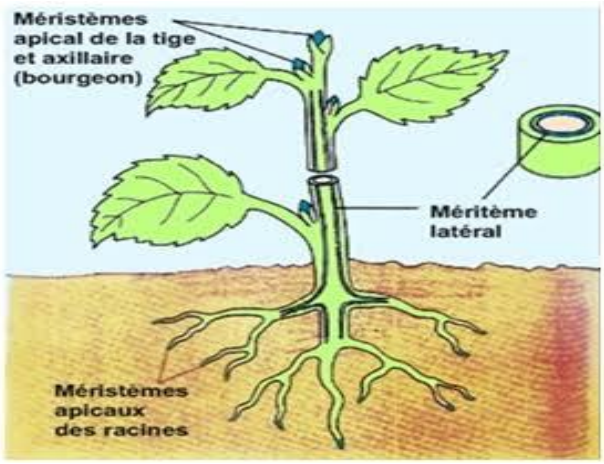
* ويعتبر الباحثان Morel et Martin من الأوائل الذين حاولوا زراعة المريستيمات في ظروف معقمة وقد اختارا نبات الداليا (Dahlia) المصاب بفيروس لإجراء تجاربهما، فقاما بزراعة مريستيمات نباتات مصابة في الزجاج (invitro) على وسط غذائي فحصلا على سوق فتية تم تطعيمها على بادرات سليمة فوجدا أن بعض النباتات خالية تماما من الفيروسات.

* وتتم زراعة المريستيمات في مجموعة من الخطوات:

- أخذ عقل من نهايات أفرع للنباتات الأصل المنتقاة (مريستيمات) وعزلها، ثم تعقم سطحيا ببعض المواد الكيميائية مثل الكحول الإيثيلي تركيز 70% أو هيبوكلوريت الكالسيوم (ca (ocl2) hypochlorite) أو هيبوكلوريت الصوديوم NaoCl وغيرها من مواد التعقيم.

- بعد تعقيم المادة النباتية يتم تعقيم اليدين، والأدوات وطاولة العمل في حجرة ذات تيار هوائي مستمر ومعقم.

- عزل القمة المريستيمية وتقطيعها بواسطة مشرط دقيق إلى أجزاء تتراوح بين 0.1 إلى 0.3 ملم وبعدها تتم عملية الزرع. **(camelfort., 1977, Margara., 1989)**



الشكل 9: زراعة المريستيمات (المريستيمات الساقية والجذرية والقمم النامية)

http://www.agronomie.info

2.7.3- زراعة العقل الساقية أو الإكثار الخضري الدقيق (la micropropagation):

إن إكثار النباتات بزراعة العقل الساقية أو ما يسمى بالإكثار الدقيق (la micro propagation) هو احد تقنيات زراعة الأنسجة التي انتشرت بسرعة كبيرة في المجال التطبيقي العملي والتي تستخدمها معظم المخابر التجارية في العالم لإكثار النباتات.

ونشأت تقنية الإكثار الخضري الدقيق بعد النجاح في زراعة المريستيمات إذ تم بواسطتها إكثار نباتات سليمة وخالية من الأمراض وقد يحدث خلط أحيانا بين مفهومي بين تقنية زراعة المريستيم وتقنية الإكثار الخضري الدقيق.

فالأولى تعتمد على زراعة جزء صغير جدا من النبات طوله يتراوح ما بين 0.1 ملم إلى 0.3 ملم مما يجعل الزراعة أمر صعب ونسبة النجاح منخفضة نسبيا فهي تقتصر فقط على الحالات التي تهدف على تخليص النباتات من الأمراض.

بينما الثانية تستعمل بهدف إنشاء سلالات والحصول على نسل كبير يستخدم للزراعة العادية.

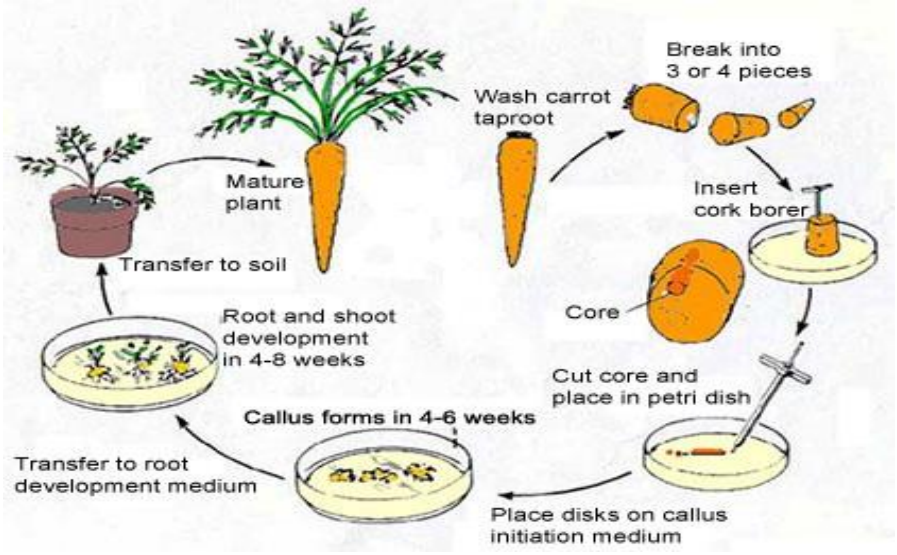
وتعتمد تقنية الزراعة عن طريق الإكثار الخضري الدقيق (la micro propagation)، على تجزئة النباتات إلى عقل ساقية صغيرة (des micro bouture) وتزرع على وسط غذائي ملائم وتوضع في بيئة مناسبة من حرارة، رطوبة، وضوء مما يؤدي إلى نموها وخلال مدة من 3 إلى 6 أسابيع.

* ولقد اكتست تقنية الإكثار الخضري الدقيق أهمية كبيرة ومكانا مرموقا مقارنة بالتقنيات الأخرى لما لها من مزايا:

- السرعة الفائقة في إكثار النباتات خاصة بعض الأصناف النادرة والمرغوبة، مثل نبات الأوركيد (Orchides) الذي يتميز ببطء نموه.

- التوفير في المساحات من الأرض الزراعية لإنتاج الشتلات ففي هذه التقنية تشغل 6 أنابيب مساحة 25 سم^2 من الرفوف في غرفة الزراعة حيث أن مساحة 100م^2 من الرفوف في غرفة الزراعة تحل محل 100 هكتار من الزراعة الحقلية.

- إكثار النباتات الطبية ذات القيمة الصيدلانية العالية بأعداد كبيرة وفي فترة زمنية قصيرة وفي أماكن بعيدة عن مواطنها الأصلية. (حميدان ، 1995).



الشكل 10: الإكثار الدقيق لنبات الجزر

http://www.onlinesciencenotes.com/basic-steps-plant-tissue-culture-importance/

4- بيئة زراعة الأنسجة والخلايا النباتية:

1- تعريف:

هي عبارة عن وسط مغذي تنمي عليه أجزاء نباتية مفصولة والهدف من استخدام هذه البيئة هو إنتاج الكالس (نسيج غير متميز) حتى تحدث عمليات تكشف وانقسام ثم الحصول على النموات الخضرية والجذور والاستمرار حتى الحصول على نبات كامل.

* وهناك العديد من البيئات الغذائية المستخدمة في مجال زراعة الخلايا والأنسجة النباتية ويمكن توضيح أسماء هذه البيئات فيما يلي:

MS : Murashigne et Skoog (1962)

White : (1963)

B5 : Gamborg et al (1968)

NN : Nitsh et Nitsh (1969)

SH : Sohemk et Hildebrandt (1972)

GD : Gresshoff et Day (1974)

KM : kas et Michauluk (1975)

LM : Litoay et al (1985)

SI :Franklin et al (1991)

وتعتبر بيئة MS (Murashing et Skoog 1962) وبيئة White من أشهر البيئات الغذائية والتي تعتبر أساس للكثير من البيئات الأخرى. (محمود عبد العزيز إبراهيم خليل ، 2004).

حيث أن هذه البيئات تتكون من نفس العناصر المعدنية والمواد الكيميائية لكن تختلف فيما بينها في كمية وتركيز المواد.

- **الجدول I.1** يمثل الاختلافات الموجودة بين الأوساط البيئية MS و White و B5 للعناصر الكبرى والصغرى. حسب White (1953) MS (1962) Gamborg et al (1968)

اسم العامل	White	MS	B5
العناصر الكبرى	الكمية مغ/ لتر	الكمية مغ/ لتر	الكمية مغ/ لتر
KH_2PO_4	750	370	
NaH_2PO_4	-	170	
H_2O	19	-	
KWO_3	80	1900	
NH_4NO_3	-	1650	
$Cacl_2$	-	440	
عناصر صغرى	الكمية مغ/ لتر	الكمية مغ/ لتر	الكمية مغ/ لتر
$7H_2O$	-	-	10
$NaMoO_4$	3	8.6	2
$CuSO_4$	0.01	0.025	0.025
KL	-	27.8	-
$FeSO_4$	-	37.3	-
H_2O	1.5	6.2	3

* مكونات البيئة الزراعية:

وتشمل كل من الأملاح المعدنية والحديد وكذا الفيتامينات والسكر والأجر والتي تعتبر لها دور أساسي في نمو النبات ويمكن أن نعرف هاته العناصر على النحو الآتي:

1- الأملاح المعدنية:

يتطلب نمو الخلايا والأنسجة النباتية وجود كميات كافية وبصفة مستمرة من العناصر الغذائية المعدنية وتنقسم إلى عناصر كبرى وعناصر صغرى:

***عناصر معدنية كبرى:**

*Ammonium nitrate $NH_4 NO_3$

* Potassium nitrate KNO_3

* Calcium chlorure $Cacl_2, 2H_2O$

* Magnésium Sulfate $Mg SO_4, 7H_2O$

* Dihydrogène phosphate de potassium KH_2po_4

***عناصر معدنية صغرى:**

* Acide borique H_3BO_3

* Manganèse Sulfate M_1SO_4 , H_2O

* Zinc Sulfate $ZnSO_4 , 7H_2O$

* Potassium iodure KI

* Sodium molybdate $Na_2 MOO_4$

* Cuivre Sulfate $Cu SO_4 , 5H_2O$

* Cobalt chlorure $Co cl_2, 6H_2O$

وتعتبر العناصر الغذائية المعدنية (من حيث النوع والكمية) الداخلة في تركيب بيئة Murashignee et Skoog (1962) والتي يرمز لها بالرمز (**MS**) هي أشهر ما يستخدم في المجالات المختلفة بصفة عامة.

2- الحديد:

ويشمل عنصرين مهمين هما:

* Na_2 EDTA

* Fe SO_4, $7H_2O$

(Robert h., 2002)

3- مصدر الكربون السكريات:

يعد السكر مصدر الكربون في بيئات الزراعة حيث يلعب دورا مهما في نجاح زراعة الخلايا والأنسجة النباتية، ويعتبر إضافته ضروريا جدا نظرا للدور الذي يقوم به في نمو تطور الأنسجة والخلايا النباتية، وذلك بسب غياب عملية التمثيل الضوئي (Welanderj ., 1977) وقد أوضح (Murashigue., 1974) أن تركيز السكر المستخدم في بيئات الزراعة بصفة عامة يتراوح من 2-3% حيث يعتبر السكروز هو أفضل مصدر للكربون.

إن استخدام السكروز بتركيز (2غ / لتر) في بيئة (MS) أعطى أفضل النتائج في معدل تكوين النموات الخضرية مثل البطاطا (El-Shabassi ., 1994).

4- الفيتامينات:

تعتبر العامل المساعد في الأنظمة الإنزيمية، وهناك العديد من الفيتامينات التي تستخدم في بيئات زراعة الخلايا والأنسجة النباتية مثل:

* الفيتامين (ب1) (Thiamine (B_1): يعتبر أكثر الفيتامينات شيوعا واستخداما وأهميته في بيئات زراعة الخلايا والأنسجة النباتية.

* الريبوفلامين (ب2) (Riboflamine (B_2): يستخدم في معظم زراعة المتوك.

* البيريدوكسين (ب6) (Pérodoxine (B_6).

* البيوتين (ب7) (Biotine (B_7): يستخدم في معظم مزارع المتوك.

* النياسين (حمض النيكوتينيك) (Niathine (Acide nicotinique).

* حمض الأسكوربيك (فيتامين ج) Acide axorbique .

5- الأحماض الأمينية والأميدات:

تؤثر هذه المركبات في زيادة نمو الكالس وليس في تكوين الأعضاء ويجب مراعاة استخدام المشابه الإيزوميري (L) وليس المشابه (D) لهذه المركبات، وتضاف الأحماض الأمينية للبيئة الغذائية على هيئة مخلوط على صورة (كازيين متحلل مائيا CasinHydrolisis) وفي أغلب الأحيان يضاف كل من الجلوتامين (L.glutamine) والأسباراجين (L.asparagine) وقد تضاف سلفات الأرنيين (AdenineSalphate) إلى البيئة الغذائية لكي تحسن من تكوين ونمو الأفرع.

6- منظمات النمو:

تعلب منظمات النمو مثل الاوكسينات والسيتوكينات والجيبريلينات دورا مهما في تقنية زراعة الخلايا والأنسجة النباتية ولذا يلزم الأمر إضافتها إلى البيئة الغذائية نظرا لتأثيرها على انقسام واستطالة وتكشف الأعضاء النباتية المختلفة ويمكن توضيح أهم منظمات النمو المستخدمة في مجال تقنية زراعة الخلايا والأنسجة النباتية فيما يلي:

1.6- الأوكسينات:

تلعب دورا رئيسيا في انقسام واستطالة خلايا النبات وتشجيع تكوين الجذور (عملية التجذير) وانتحاء النبات وانفصال الأوراق عن النبات.

2.6- السيتوكينينات Cytokonines:

تؤثر في تشجيع عمليات انقسام الخلايا وإخراج البراعم.

3.6- الجيبريلينات Gibberelines:

تلعب دورا مؤثرا في نمو الأعضاء النباتية وتخليقها فقد أوضح Gautheret (1969) أن الجيبريلين يمكن أن يكون بديلا للضوء أو بعض الاحتياجات الضوئية في تنشيطها لتخليق الجذور والإسراع في عملية تكوين الأعضاء المتكشفة.

أنواع أخرى:

حمض الأبسيسيك	Abscissicacid (ABA)
الكولشيسين	Colchicine
فلورجليكنول	Phorglucinole

الباكلوبيترازول	Paclobutrazole (PP_{333})
اليونيكينازول	Uniconazole (S_{3307})
الأنسميدول	Arcymidole (A-Rest)

7- مركبات أخرى:

هي مركبات عضوية أخرى يمكن إضافتها إلى بيئات زراعة الخلايا والأنسجة النباتية مثل:

1.7- الفحم النباتي النشط (AC):

يمكن أن يكون ذات تأثير منشط او مثبط، تحفيز النمو وتمييز الأعضاء النباتية وتكوين الأجنحة أو العكس

2.7- الأجار Agar:

الأجار عبارة عن مادة كربوهيدراتية تضاف إلى البيئات الغذائية لإعطائها الصلابة (في حالة البيئات الصلبة) ويمتص الأجار والي (خمس) وزنه من الماء خلال 24 ساعة ليكون محلول غروي.

III – نبات البطاطا:

1.3- التعريف بنبات البطاطا:

تعد البطاطا من أهم محاصيل الخضر في الوطن العربي والعديد من دول العالم، ولاسيما الأمريكيتين وأوروبا، وذلك بسبب وفرة إنتاجيتها، وتنوع الظروف البيئية (البرية منها والجوية) التي ينمو فيها، تزرع البطاطا على نطاق واسع في مختلف أنحاء العالم، ولاسيما المناطق الباردة، (البيسكي وزملاؤه ، 2014).

تعتبر أمريكا الجنوبية خاصة جبال بيرو وبوليفيا موطنها الأصلي، حيث مازالت تنمو هناك على الحالة البرية، وقد أدخلها الأسبان إلى أوروبا في القرن السادس عشر الميلادي، هذا التوسع الكبير في زراعة البطاطا عائد لكونها مصدرا غذائيا جيدا غنيا بالطاقة مقارنة بمحاصيل نشوية أخرى ذات أهمية على الصعيد العالمي كالقمح والأرز، فضلا على إنتاجيتها المرتفعة بسبب التحسين الوراثي.

تتبع البطاطا العائلة الباذنجانية (Salanaceas) التي تضم نحو 90 جنسا، ونحو 2000 نوع وتنتمي البطاطا إلى الجنس (Salanum)، والذي يعد من أهم أجناس العائلة الباذنجانية وأكبرها، إذ يحتوي على أكثر من 1000 نوع تنتشر في أنحاء العالم، ولاسيما أمريكا الوسطى والجنوبية من جهة، وفي استراليا من جهة أخرى، لا تكون درنات من هذه الأنواع سوى الذي ينتمي له محصول البطاطا(S.tuberosum L) وسبعة أنواع مزروعة أخرى فضلا عن 154 نوعا بريا(سوسن البشارة وآخرون 2013).

وتحتوي أنواع البطاطا سلسلة متصلة من التراكيب الصبغية المتضاعفة، فهناك الأنواع الثنائية 2n=2x=24 والثلاثية 2n=3x=36 والرباعية 2n=4x=48 والخماسية 2n=5x=60 والسداسية 2n=6x=72 (مسعود، 1981).

تستخدم البطاطا بعد حصادها في مجموعة كبيرة من الأغراض فهي فضلا على أنّها غذاء للإنسان فإنها تقدم أيضا علفا للحيوانات، ولها استعمالات عديدة في مجال الصناعة حيث يستخرج منها النشاء وتستعمل في صناعة الورق والمنسوجات وصناعة المواد اللاصقة، فضلا عن استخدامها في صناعة التخمير واستخراج الكحول مثل الايثانول والبيوتانول وبعض الأحماض مثل الستريك واللاكتيك (البيسكي وزملاؤه ، 2004) .

كما أنها مصدر جيد لبعض الفيتامينات مثل أ،ب، ج، علاوة على احتوائها على بعض الأملاح المعدنية مثل الحديد والفوسفور والبوتاسيوم والمنجير والفلورين، وبعض الأحماض الذهنية وقد أحصى Ber hault سنة 1911م الأنواع البرية الدرنية التابعة لهذا الجنس توجدها حوالي 6 أنواع كلها تكون درنات صغيرة غير منتظمة الشكل، وقد اختلف العلماء في معرفة أي هذه الأنواع هو أصل البطاطس الموجودة الآن.

1.1.3 التصنيف العلمي:

حسب العالم (1981) Cronquist صنف نبات البطاطس إلى:

Régne : Plantae

Sou-régne : Tracheobionta

Dioision : Magnoliophita

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe :Asteridae

Ordre : Solanales

Famille : Solanaceas

Sous-Famille : Solaniodeae

Genre : *Solanum*

Espéce : Solanum *tuberosum L.*

وحسب التصنيف(2009) APGIII:

Clade : Angiosprmes.

Clade : Dicotylédones Vrais.

Clade : Nayau des cotélydones.

Clade : Asteridées

Clade : Lamildées.

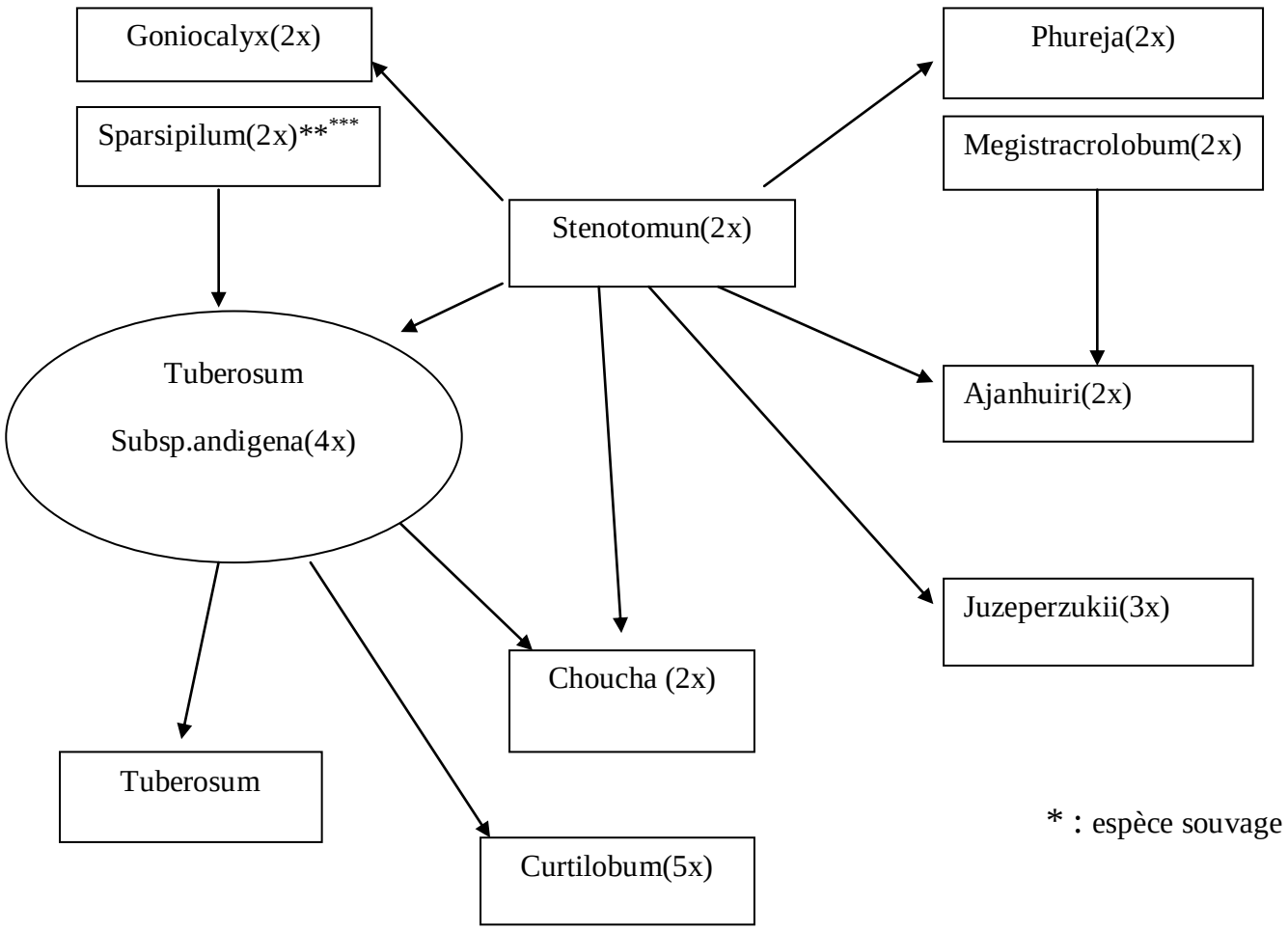
Ordre :Solanales

Famille : Solanacées

Genre : *Solanum*

Espèce : *Solanum tuberosum L.*

2.1.3- الأصل الوراثي لنبات البطاطا:



الشكل 11:الأصل الوراثي لأنواع البطاطا المزروعة من قبل (Hawkesi ., 1990**)**

3.1.3-الوصف النباتي:

ا - **طبيعة النمو**: نبات عشبي حولي بالنسبة للأجزاء الهوائية ومعمر بالنسبة للدرنات الموجودة تحت سطح التربة حيث تجدد النباتات نفسها خضريا بالدرنات.

ب - **المجموع الجذري**: في حالة استخدام البذور في الإكثار يتكون جذر وتدي، ولكن نظرا لان التكاثر الخضري بواسطة الدرنات هو الطريقة الشائعة فإنه لا يتكون جذر وتدي، بل تخرج جذور عرضية ومتفرعة من العيون الموجودة على الساق المدفون تحت سطح التربة وكل منها يتكون من ثلاث جذور تمتد أفقيا.

وتوجد معظم الجذور في القدم العلوي من التربة والقليل منها يتعمق إلى مسافة تتراوح من 2-3 قدم.

الساق: يكون نبات البطاطا نوعان من السيقان:

***الساق الهوائي:** يظهر فوق سطح التربة، ويتفرع ويحمل الأوراق والأزهار، ومقطعة مستدير أو مضلع ولونه أخضر أو اخضر مشوب بالأرجواني، وقد يكون الساق أملس(Glabrous)، ويصبح الساق الهوائي عند النضج مجوفا باستثناء مناطق العقد التي تبقى صماء، وتختلف طبيعة نمو الساق الهوائي حسب الأصناف، فقد يكون طويل أو قصير أو مفترش.

***الساق الأرضي :** ينشأ من البراعم الموجودة في آباط الأوراق المختزلة على الساق الرئيسي تحت سطح التربة حيث تتكون أولا أفرع تنمو أفقيا ثم تنتفخ في نهايتها مكونة الدرنات، وقد تكون هذه السيقان بسيطة أو تتفرع وذلك حسب الصنف.

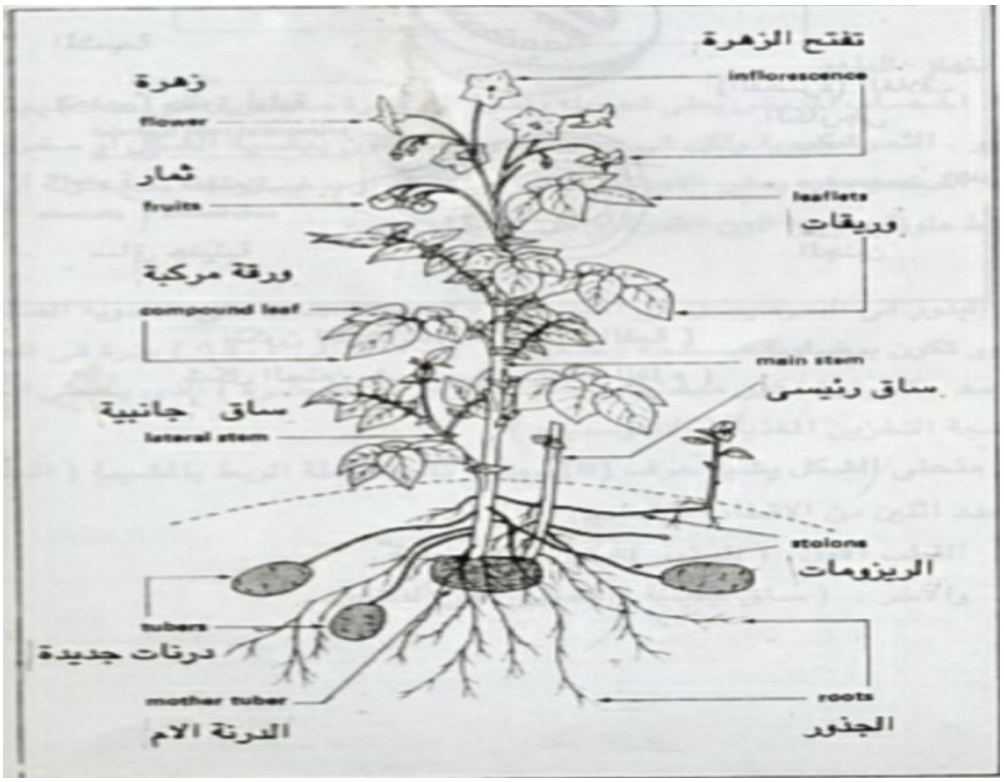
تحمل الدرنة البراعم في مجاميع تسمى العيون، وتحتوي العين الواحدة على حوالي من 3-15 بعم وأوسطها هو أكبرها في الحجم، وتختلف الأصناف فيما بينها في عدد العيون وعمقها وعدد البراعم في العين الواحدة، فكلما زاد عدد العيون على الدرنة وكذلك كلما كانت غائرة فإن قيمتها الاقتصادية تقل وذلك نتيجة لتجمع الرطوبة حولها مما يسبب سعة التلف الدرنة أثناء التخزين.

ج - **الأوراق:** الورقة مركبة ريشية وتتكون من 2-4 أزواج من الوريقات بينها وريقات صغيرة تنمو على محور الورقة الأصلي وتتميز بوجود وريقة طرفية كبيرة، وتوجد الأوراق مرتبة ترتيبا حلزونيا على الساق، وحافة الوريقات كاملة، وبصفة عامة يختلف عدد الوريقات الكبيرة والصغيرة حسب الأصناف.

د - **الأزهار:** توجد الأزهار في نورات راسيمية ابطية، الكأس أصغر من التويج ومفصص إلى خمسة فصوص، والتويج ملتحم ومفصص إلى 5 فصوص أيضا ولونه ابيض أو ارجواني أو اصفر أو ازرق على حسب الأصناف، والأسدية عددها خمسة محمولة على الأنبوبية التويجية وتحيط بعضو التأنيث، المتوك كبيرة وقائمة وتنفتح بثقوب طرفية، وتكون عضو التأنيث من كريلتين.

ه - التلقيح: لا تحتوي أزهار الكثير من أصناف البطاطا على حبوب لقاح ولا تزورها الحشرات إلا قليلا ويرجع عدم إزهار البطاطا إلى عوامل بيئية وأهمها الضوء حيث تحتاج البطاطا إلى نهار طويل حتى يزهر، وقد يرجع إلى عدم احتواء المتوك على حبوب لقاح إلى عوامل وراثية، ويعتبر عقم حبوب اللقاح صفة مندلية سائدة، كما يجمع عقم بعض الأصناف إلى وجود حبوب اللقاح غير خصبة أو إلى ظاهرة عدم التوافق الذاتي أو إلى أسباب أخرى، وبعض الأصناف لا تتفتح أزهارها ،فيها التلقيح الذاتي بينما البعض الآخر تتفتح أزهارها مبكرا في الصباح وتظل مفتوحة حتى المساء، وبعضها لا تتفتح أزهارها إلا في وجود الشمس الساطعة وعموما تتفتح زهرة البطاطا لمدة 2-4 أيام متتالية فتنتثر حبوب لقاحها في اليوم الثاني لتفتح الزهرة عندما تكون المياسم قد نضجت فيتم التلقيح الذاتي، إلا انه قد يحدث التلقيح الخلطي أحيانا بواسطة الرياح.

و - الثمرة والبذور: الثمرة عنبة صغيرة خضراء أو بنفسجية اللون كروية أو بيضاوية الشكل وتتكون من حجرتين، وتحتوي على عدد كبير من البذور(حوالي من 200 إلى 300 بذرة) الصغيرة الملساء والكلوية الشكل، قد تكون الثمرة في بعض الأحيان خالية من البذور، ولا تستعمل البذور في التكاثر إلا عند إنتاج أصناف جديدة.



الشكل 12: الشكل الظاهري العام لنبات البطاطس (Oswaldo ., 2010**)**

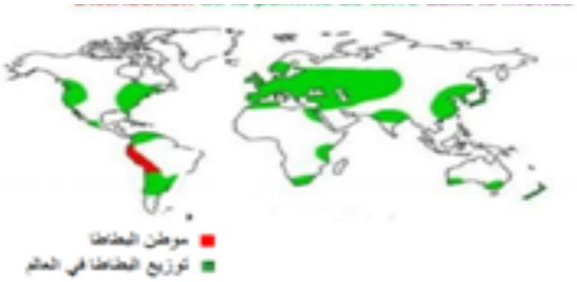
4.1.3- الموطن الأصلي:

يعود المنشأ الأول للبطاطا إلى الشيلي Chili والبيرو Perrou حيث لا تزال نباتاتها البرية تنمو حتى يومنا هذا في هذه المناطق.

فقد كانت تشكل الغذاء الرئيسي للسكان الأصليين حسب Humbalat 1929 عن الطاهر 1984، وهناك اختلاف كبير في الآراء حول من نقلها أولا إلى أوروبا والمناطق الأخرى أي بدأت زراعتها، فمنها من يشير إلى أن الباحث Hyromunxondam هو الذي نقلها عام 1534 من البيرو إلى اسبانيا ومن هناك انتشرت إلى كل من ايطاليا وانجلترا.

ومنها من يقول أن Drave القائد البحار جلبها عام 1578 إلى انجلترا، ما الشيء المؤكد فهو أن العالم الرياضي Herriocat احد أعضاء بعثة Roleigh جلب البطاطس عام 1586 من فرجينيا إلى أوروبا في حين ورد عن الباحث Rupaics عام 1943 أن الإنسان أول من نقل البطاطا من أمريكا إلى اسبانيا وهناك بدؤوا زراعتها وتكاثرها ومن هناك ثم انتشارها إلى بقية العالم ورغم الصفات التأقلمية الجيدة للبطاطا إلا أنها بقيت لمئات السنين حتى استطاعت أن تتأقلم وتتكيف مع جو أوروبا وتعطي محصولا جيدا، وقد بقيت مائتا عام حتى عمّ انتشارها وشاع استعمالها وأصبحت تنافس من حيث استهلاكها الحبوب(حشيش، بومزبر، 2001).

يحتل الإنتاج العالمي للبطاطا المرتبة الرابعة بعد القمح، الأرز، الذرة.



الشكل 16: الموطن الجغرافي للبطاطا وتوزيعها في العالم http://www.Agronomie. Info

5.1.3:القيمة الغذائية:

بالنظر إلى الأغذية الرئيسية المتناولة في العالم، أمكن تقسيم شعوب العالم إلى أربع فئات: شعوب آكلة القمح أخرى للأرز وثالثة للذرة ورابعة للبطاطا، وبهذا تكون البطاطا إحدى الأغذية الرئيسية والأقوات المهمة التي يقتات عليها قطاع كبير من شعوب الأرض وسكان المعمورة.

حيث تعتر البطاطا من أكثر المحاصيل الغذائية إنتاجا في العالم والتي تعتبر حصول الخضر الرئيسي في العالم حسب طومسون ووليام(1985) وتحتوي درنات البطاطس على حوالي 80% ماء.02% بروتين- 18% نشاء.

وتعتب البطاطس من أهم مصادر الكربوهيدرات وهي غنية بفيتامين "ج" وبها كميات قليلة من فيتامين أ، ب والبوتاسيم والفوسفور والحديد، إلا أنها فقيرة في الكالسيوم حسب طومسون ووليام (1985).

وقد ذكر الطاهر (1984) بان البطاطس غذاء سهل الهضم، أهم عناصرها الغذائية النشاء والذي تتراوح نسبته بين 12-19% وذلك تبعا للأنواع والظروف المناخية ومناطق الزراعة كما يوجد بها نسبة قليلة من البروتين وتقدر من 1 إلى 2%، ورغم أنسجة جسم الإنسان تتمثل 90% منها (حشيش، بومزبر 2001).

جدول I.2: القيمة الغذائية لنبات البطاطا

العناصر	الكمية	العناصر	الكمية
ماء	79,8غ	سكروز	0,13%- 0,68
نشاء	18,2-12,6%	أسبرجين	110 مع
بروتين	0,6 - 2,1%	بوليفينول	123-441 مع
الكربوهيدرات	17غ	الكاروتينات	0,05-2مغ
الدهون	0,075- 0,2%	الثيامين	0,02-0,2 مع
أملاح معدنية	1%	نيتروجين	0,2-0,4%
الحديد	0,8مغ	فسفور	30-60مغ
النحاس	0,16مغ	الفيتامينات	
المنغنيز	0,17مغ	B1	0,11مغ
البوتاسيوم	280-564مغ	B2	20,04مغ
المغنيسيوم	14-18مغ	B3	31,2مغ
زنك	0,3 مع	B6	60,2مغ
جلوكوز	0,01-0,6%	C	13مع
فركتوز	0,01-0,6%	E	0,1مغ

6.1.3- قائمة أصناف البطاطا المصرح بها الإنتاج والتسويق في الجزائر:

تختلف أصناف البطاطس من حيث طبيعة نمو الساق، ولون الساق، وحجم الوريقات ولونها، وطبيعة الأزهار ولون وملمس جلد الدرنة وتشكل الدرنة، ولون لحم لدرنة، وعدد العيون، وعمق العيون وتوزيعها على سطح الدرنة.

جدول I.3 :وفيما ينص قرار(9 رمضان 1427 الموافق ل2 أكتوبر 2006 بشأن تحديد القائمة المؤقتة لأنواع وأصناف البطاطس المصرح لها بالإنتاج والتسويق.

الأصناف المستطيلة	الأصناف الأخرى		
1-Alaska	1-accent	3 0-cosmos	59-obrlin
2-aida	2-adra	31-daifla	60-oméa
3-allegro	3-agria	32-désirée	61-oscar
4-amorosa	4-ailsa	33-diamant	62-ostara
5-apolline	5-ajiba	34-daitta	63-pamela
6-arinda	6-ajax	35-escort	64-pamina
7-arnova	7-akira	36-fabulla	65-pentlanddell
8-ballade	8-almera	37-famosa	66-pentlandsquare
9-bellini	9-ambo	38-florice	67-provonta
10-cantate	10-anna	39-fluva	68-raja
11-carmine	11-apollo	40-frisia	69-rdpontiac
12-ceasar	12-argos	41-ganola	70-remarka
13-caralie	13-armada	42-jaerla	71-resy
14-cleopatra	14-aranka	43-kennebec	72-rosara
15-dura	15-ariane	44-kingston	73-rubis
16-elodie	16-asterin	45-kondor	74-sahel
17-elvira	17-atlas	46-korrigane	75-samana
18-estima	18-atica	47-kuroda	76-satina
19-hanna	19-balanse	48-ilona	77-secura
20-hermine	20-baraka	49-isna	78-simplyred
21-idole	21-baraa	50-labadia	79-slaney
22-liseta	22-bartina	51-latona	80-stemster
23-monalisa	23-burren	52-lola	81-superstar
24-nicda	24-cardinal	53-maradona	82-synfonia
25-o.sirène	25-cartita	54-margarita	83-tulla
26-rodéo	26-claret	55-mirakel	84-valor
27-safrne	27-chieftain	56-mondial	85-vinaldi
28-spunta	28-concurrent	57-navan	86-xantia
29-terra	29-cornado	58-novita-	
30-limate			
31-ultra			
32-voyager			
33-yesmina			

7.1.3- أمراض وآفات البطاطس:

الجدول I.4: الأمراض الرئيسية للبطاطا (Bernard, 1998 ; Cirad et Gret ; 2002 **)**

الأمراض	السبب	الأعراض
اللفحة المتأخرة	ينتقل phytophtorainfesting هذا الفطر من الرياح	عيب بني من أعمدة السيقان أو أجزاء من السيقان والعناقيد
فيروس X	فيروس x ينتقل عن طريق الاحتكاك	عيب بني على شكل موزاييك Mosaïque
فيروسM	ناقلات هذا المرض هي المن	ضعف تلوين الأوراق القيمة تلوين ضئيل للأوراق
الصدأ	فيروس الجرذ Virus du ratte	قطع من عروض الدرنات
ريزوكتونيا البنية	مرض فطري	هجمات حادة على السيقان ولف الأوراق
نيماتودا	Globodderarostochiencis et globodera pallid	نمو سيء ناتج عن تقزم النبات
البكتيريا المسببة للأمراض من جنس Eruwinia	البكتيريا المسببة للأمراض من جنس Eruwinia تنتقل هذه البيكتيريا بواسطة المياه الري المطر والحشرات	هجمات حادة على السيقان ولف الأوراق
المن الأخضر	المن الأخضر	تشوه الأطراف
التفاف أوراق البطاطس PLRV(potato leafnall virus)	فيروس يتلف بالبطاطا بسبب تراكم النشاء في الأوراق الصلبة	التفاف الأوراق وتقزم النبات

2.3 -الملوحة ونبات البطاطا:

تعد ملوحة المياه والتربة من أهم الاجهادات الرئيسية التي تؤثر سلبا ي نمو الأنواع النباتية وإنتاجيتها وخاصة في المناطق الجافة، إذ تعد الملوحة بشكل كبير من إنتاج العديد من الأنواع النباتية ويفقد العالم سنويا نحو عشرة

ملايين هكتار من الأراضي الصالحة للزراعة بسبب التملح، وقد وصلت الأراضي المتملحة على وجه الأرض إلى نحو 954 مليون هكتار (Munns ., 2010) اهتم الباحثون بدراسة تأثير الملوحة في نمو النبات وتطوره.

وتعتمد دراسة تأثير الملوحة على تعريض النبات إلى مستويات ملحية مختلفة من خلال التحكم في لحمية الأملاح المضافة إلى مياه الري، مع العلم أن تأثير الملوحة في النبات يتوقف على شدة الإجهاد ووقت حدوثه وطول مدة التعرض النبات له، وأيضا بحسب مرحلة نمو النبات (Sinhabab و Kumer 2003)

تتملح التربة والمياه عند وجود كميات زائدة من الأملاح الذوابة فيها، ويحدث الإجهاد الملحي نتيجة وجود تراكيز مرتفعة من شوارد الصوديوم والبوتاسيوم مما يؤثر سلبا في معدل امتصاص الماء من قبل الجذور النبات 2001وزملاؤه ., Flowers) .

1.2.3- استجابة النباتات للملوحة (la réponse des plantes à la salinité)

1. 1 -مقاومة الملوحة (la résistance à la salinité) :

تعرف مقاومة النبات للملوحة على أنها القدرة على بقائه حيا، والإنتاج في ظروف الإجهاد الملحي(Shannonet grieve 1999) قسمت النباتات حسب مقاومتها للملوحة إلى مجموعتين:

***النباتات المحبة للملوحة les halophytcs:** متأقلمة مع الأوساط المالحة، وتستطيع إكمال دورة حياتها في ظروف الملوحة العالية (lingo lnet eduardo ; 2002) يمكن لأنواع عالية المقاومة للعيش في وسط يتراوح فيه تركيز NaCL بين 200 إلى 500 ملي مول (William 1999, Flowers, 2004)

***النباتات الحساسة للملوحة les glycophytes:** لا تستطيع مقاومة الملوحة عند تراكيز معينة يبدأ تأثيرها عند التركيز (50 ملي مول من NaCL (william 1999).

وهي تشمل معظم النباتات المزروعة(Jonet al ., 2005) (مثل البطاطس التي ينقص إنتاجها في الأتربة الملحية (Maaset Hoff an ., 1977).

2.1- آليات مقاومة الملوحة (les mécanismes de résistance à la salinité):

- تغير في الخصائص المورفولوجية للاقتصاد في الماء.
- التعديل الاسموزي.
- تراكم الايونات في فجوات خلوية، لتبعد عن المكونات الهيولية الحساسة.

– انتقاء الايونات الممتصة والذي يتم على مستوى الجذور، أو الطرد الملحي بعملية النتح في الأوراق.

وعلى هذا الأساس قسمت النباتات حسب استجابتها للملوحة إلى نباتات محبة للملوحة ونباتات حساسة للملوحة.

"حيث تعتبر البطاطا من المحاصيل الحساسة للملوحة بالمقارنة مع المحاصيل الأخرى لكن توجد بعض أصناف من البطاطا حساسة نسبيا للملوحة، خاصة الطماطم التي تعتبر متحملة بشكل جيد للملوحة حيث يبدأ أداء النبت بالانخفاض عندما يزداد مستوى الملوحة في ماء السقي عن حد معين يجعل بالعتبة الحدية للمحصول تبدأ عند مستوى 50 مغ / لتر من المواد الصلبة الذائبة الكلية(Stevens and heap، 2001).

2.2.3- الملوحة واستجابة البطاطس:(la salinité et la réponse de la pomme de terre):

– تتميز الاستجابات الفيزيولوجية الملوحة عند البطاطس حدوث انخفاض هام للجهد الاسموزي والمحتوى المائي للأوراق، بزيادة شدة ظروف الإجهاد، تحت ظروف الملوحة، كما لوحظ زيادة في تجميع الكلور والبرولين (bruria et al ., 1998).

الجدول I.5 : يلخص بعض الأعمال في الاستجابات الفسيولوجية للملوحة عند البطاطا:

أهم النتائج	تراكيز الملح المستعملة	الباحث
الوزن الرطب والجاف للكالوسات المتأقلمة اقل انخفاضا مقارنة بالكالوسات غير المتأقلمة في كل تراكيز لملح المستعملة الوزن الرطب اقل انخفاضا في تراكيز الملح المستعملة، بينما الوزن الجاف عكس ذلك	-200-150-100-50 -350-300-250 ملي مول من ملح NaCl.	Sabbah et tah ; 1990
سلالات حلوية للبطاطس يمكن أن تنمو على وسط يحوي 60 إلى 450 ملي مول من NaCl. الكالوس ينمو على وسط 120 أو 150 ملي مول NaCl ويظهر ارتفاع الوزن الغض مقارن مع التراكيز الأخرى. -تركيز NaCl في الوسط يؤدي إلى انخفاض معدل نمو الكالوسات وهذا مشترك للنباتات المجهدة بالملح.	60-450 ملي مول من NaCl. -	Ochatt1 et al ; 1990 Benavide set al ;
الوزن الرطب والجاف للكالوسات المتأقلمة اقل	-200-150-100-50	Sabbah et tah ;

انخفاضا مقارنة بالكالوسات غير المتأقلمة في كل تراكيز الملح المستعملة. الوزن الرطب اقل انخفاضا في تراكيز الملح المستعملة، وبينما الوزن الجاف عكس ذلك	250-300-350- ملي مول من ملح NaCl.	1990
سلالات خلوية للبطاطس يمكن أن تنو على وسط بحري 60 إلى 450 ملي مول من NaCl الكالوس ينمو على وسط 120 أو 150 ملي مول NaCl ويظهر ارتفاع الوزن الغض مقارنة مع التراكيز الأخرى	60-450_ ملي مول من NaCl	Ochatt1 et al ; 1990
تركيز NaCl في الوسط يؤدي إلى انخفاض معدل الكالوسات وهذا مشترك للنباتات المجهدة بالملح	-	Benavide set al ;
انخفاض المعدل النسبي للنمو للكالوسات المتأقلمة والمحتوى المائي مع انخفاض كبير عند 150 ملي مول من NaCl اقل انخفاضا مقارنة بالكالوسات الشاهدة الوزن الرطب اقل انخفاضا في تراكيز الملح المستعملة عكس الوزن الجاف	50، 100، 150، ملي مول من NaCl	Querios et al ; 2007

الفصل الثاني: مواد وطريقة العمل

I-التجربة الأولى:

1- تقديم مكان الإجراء العملي:

تجربتنا على مستوى مخبر زراعة في شركة تطوير الفلاحة "SAGRODEU" في مدينة سطيف منطقة قلال، هذا المخبر هو مؤسسة استراتيجية مصممة من قبل وزارة الفلاحة كجزء من التعاون الثنائي مع كندا والهدف المنشود من قبل هذه البنية التحتية هو زيادة إنتاج البذور المعتمدة من قبل المخبر، مما سيضمن توفير سوق أفضل من البذور الجيدة والأسعار المنخفضة.

2- المادة النباتية المستعملة:

استعملنا في تجربتنا هذه صنفين من البطاطس *Solanum tuberosum L.* هما: kondor **و** bartina

الشكل 17: صورة للصنفين المستعملين في التجربة

الجدول 1.II : تمثيل خصائص المطلوبة للصنفين kondor و bartina

الأنواع / المواصفات	bartina	kondor
الأصل الوراثي	Duke of K^X fruhmolle	61333 x wilja
الموطن الأصلي	PGU (PAYS-BAS) هولندا	P.GKONSI AGROCO-(PAYS-BAS) هولندا
النضج	نصف - متأخر	نصف مبكرة
الدرنة	• ذات شكل بيضوي • عيون حمراء كبيرة وعميقة جدا، متوسطة الحساسية للصدمات (الاجهادات) •بشرة حمراء (ملساء) ذات لحم أصفر	• ذات شكل مستطيل وطويل منتظم إلى حد ما. • بشرة حمراء ولحم أصفر باهت.

3- الأدوات المستعملة:

1.3- الأجهزة المستعملة:

- جهاز التعقيم (L'autoclave) أو قدر الضغط (la cocotte).

- فرن الحاضنة (L'étuve).

- غرفة الزرع(la chambre de culture).

- ميزان حساس (Balance de Précision).

- هزاز كهربائي (Agitateur magnétique).

- جهاز PH Mètre (Appareil de PH Mètre).

- موقد بنرت (Becs benzènes).

- ثلاجة.

- محرار(Thermomètre).

- غرفة التعقيم(La Hotte).

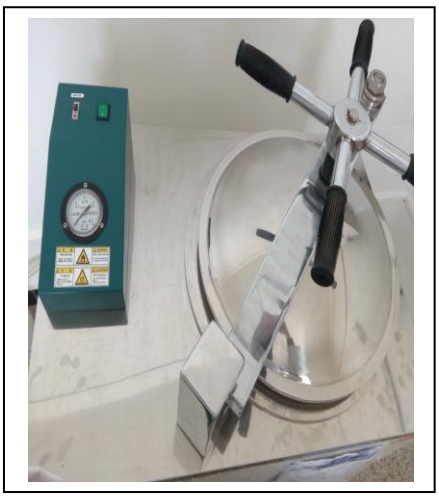
- جهاز تعقيم الأدوات(Stérilisation à billes).

- موزع تلقائي(Distributeur électronique).

Appareil de PH Mètre

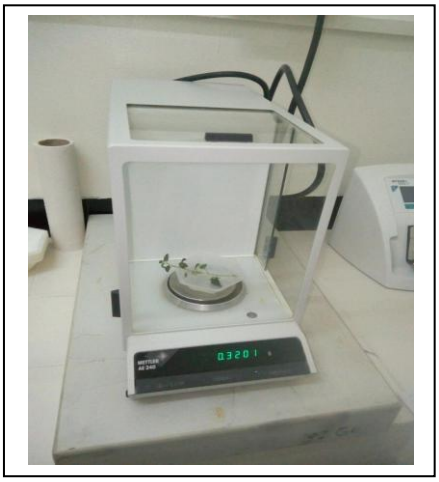
Agitateur magnétique

Distributeur électronique



L'autoclave

Stérilisation à billes



Balance de Précision

الشكل 18: بعض الأجهزة المستعملة في التجربة

3. 2- الزجاجيات المستعملة:

- ماصة مدرجة (pipettes graduées).
- بيشر زجاجي(Béchers).
- دورق مخروطي(Erlen-Meyer).
- مخبار مدرج (Eprouvette).
- علب بيتري (Boittes des pétris).
- علب زجاجية (Bocal).
- أنابيب زجاجية 25x75 مم.
- قطن (Coton).
- سدادات بلاستيكية.
- ملقط كبير وصغير من الفولاذ الصلب.
- ملعقة للوزن(Spatule).
- مشرط (Scalpels etbistouris).
- علبة لجمع وتعقيم وتطهير الأدوات.
- طارحة للماء المقطر(Pissette).
- طارحة للكحول وطارحة لماء جافيل.
- حوامل الأنابيب.
- قارورة للماء المقطر(10 لتر)
- ورق تجفيف .Papier buvard.

4- وسط الزرع:

اعتمدنا في العمل الذي قمنا به على وسط الزرع MS (Murashigue et Skoog 1962)

الجدول 2.II : مكون للوسط MS (Murashigue et Skoog 1962**)**

	المركب الكيميائي	المحلول الأساسي مغ/ل	الحجم	
العناصر الكبرى Macroélément	NH_4NO_3 KNO_3 $CACL_2$-$2H_2O$ $MgSO_4.7H_2O$ KH_2PO_4	1650 1900 440 370 170	50 مل	أ
العناصر الصغرى Micro élément	M_nSO_4-H_2O $Z_nSO_4.7H_2O$ H_3BO_3 KI $N_{a2}M_OO_4.2H_2o$ $CuSO_4$-$5H_2O$ $CoCL_2$-$6H_2O$	22,3 8,6 6,2 0,83 0,25 0,025 0,025	10مل	ب
الحديد F^eEDTA	N_{a2}-EDTA F_eSO_4-$7H_2O$	37,3 27,8	10مل	ج
الفيتامينات والأملاح المعدنية Vitamines et acid Amines	Glycine Nicotinique Thiamine-HCl Myo-inositol	0,2 0,5 0,1 100	10مل	د
السكر Sucre	Saccharose	30000مغ/ل	30000مغ	ه
الآجار Agar	Agar	7غ/ل	7غ	و

4. 1- المحاليل الأساسية لوسط الزرع(MS):

المحاليل الأساسية المكونة من: العناصر الكبرى، العناصر الصغرى، الحديد، الفيتامينات كما هو مبين في الجدول (**2.II**)، تستخدم لإعداد الوسط المغذي عند إعداد المحلول الأساسي يتم جلب العناصر المختلفة في ترتيب تنازلي حسب تركيزها من اجل تجنب أي خطر.

ثم يتم وضع علامة على جميع المحاليل وتبقى محفوظة في مكان بارد 4م° ومحمية من الضوء.

4. 1.1 - تحضير المحاليل الأساسية لوسط الزرع:

بعد تعقيم الأدوات والزجاجيات وبعد وزن كل المواد وتحضيرها نقوم بإعداد المحاليل الأساسية حسب طريقة الباحثين (Murashigue et Skoog ., 1962**).**

أ- تحضير المحلول الأساسي العناصر المعدنية الكبرى(Macroélément):

- سكب 600 مل من الماء المقطر في بيشر 1 لتر.
- وزن المواد الكيميائية المشار إليها (أ) إلى الإناء مع التحريك باستعمال الهزاز الكهربائي.
- بعد إضافة وإذابة المواد السابقة نضيف الماء المقطر إلى حد العلامة 1000 مل ونخلط جيدا.
- وضع المحلول في قارورة زجاجية وتغطيته ثم وضعه في ثلاجة مع التعليم بأنه محلول أساسي للأملاح الكبرى.

ب - تحضير المحلول الأساسي العناصر المعدنية الصغرى(Micro élément).

- سكب 600 مل من الماء المقطر في بيشر 1 لتر.
- وزن المواد الكيميائية المشار إليها (ب) إلى الإناء مع التحريك باستعمال الهزاز الكهربائي.
- بعد إضافة وإذابة المواد السابقة نضيف الماء المقطر إلى حد العلامة 1000 مل ونخلط جيدا.
- وضع المحلول في قارورة زجاجية وتغطيته ثم وضعه في ثلاجة مع التعليم بأنه محلول أساسي للأملاح الصغرى.

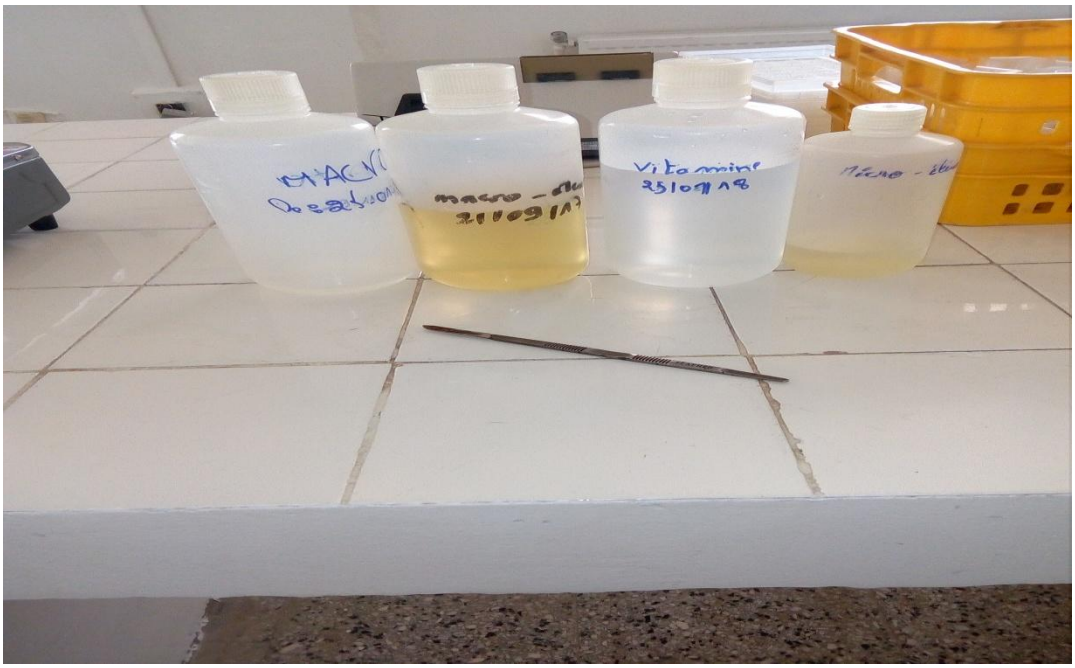
ج- تحضير المحلول الأساسي للفيتامينات:

- سكب 70 مل من الماء المقطر في بيشر 100 مل.
- وزن المواد الكيميائية المشار إليها (ج) إلى الإناء مع التحريك باستعمال الخلاط المغناطيسي.
- بعد إضافة وإذابة المواد السابقة نضيف الماء المقطر إلى حد العلامة 100 مل ونخلط جيدا.

وضع المحلول في قارورة زجاجية وتغطيته ثم وضعه في ثلاجة مع التعليم بأنه محلول أساسي للفيتامينات.

د- تحضير المحلول الأساسي للحديد (F_e EDTA **) :**

- نسكب 600 مل من الماء المقطر في بيشر 1 لتر.
- إضافة بضع قطرات الماء من NaOH والحرارة للغليان.
- قطع مصدر الحرارة.
- إضافة Na EDTA ونخلط حتى يذوب.
- بعد إضافة وإذابة المواد السابقة نضيف الماء المقطر إلى حد العلامة 1000 مل ونخلط جيّدا.
- وضع المحلول في قارورة زجاجية وتغطيته ثم وضعه في ثلاجة مع التعليم بأنه محلول أساسي للحديد.



الشكل 19: المحاليل الأساسية لوسط الزرع

2.1.4- تحضير وسط الزرع:

تحضير وسط الزرع في بيشر1 لتر مع التحريك المستمر وهو يتألف من 500 مل من الماء المقطر ثم إضافة المحاليل التالية مع التحريك في كل مرة:

- 50 مل من المحول الأساسي (Macroélément) للعناصر الكبرى.
- 50 مل من المحول الأساسي (Micro-élément) للعناصر الصغرى.
- 10 مل من المحول الأساسي للحديد.(Fe EDTA) .
- 10 مل من المحول الأساسي(Vitamines) للفيتامينات.

نقوم بتعديل الرقم الهيدروجيني للوسط (PH) للمحول بواسطة جهاز PH متر حيث نراقب قراءة الجهاز فإذا كانت اكبر من 5,7 (قاعدي جدا) نضيف حمض الهيدروكلوريك (HCL) بواسطة ماصة باستور قطرة بقطرة حتى تصل القراءة إلى 5,7، فإذا كانت القراءة عند قيمة أقل من 5,7 (حامضي جدا) نضيف أساس الصوديوم (NaOH) تدريجا باستعمال ماصة باستور قطرة بقطرة إلى أن تعتدل القراءة عند PH يساوي5,7.

تكمل المحلول الماء المقطر حد العلامة 1 لتر مع التحريك المستمر.

إضافة 30 غ من السكروز المذاب بالماء المقطر و7غ من الآجار تدريجيا إلى المحلول مع التحريك المستمر.

بعد أن يتم ذوبان كل من السكروز و الآجار جيّدا في المحلول نقوم بتقسيم المحلول 600 مل إلى 3 محاليل كل منها 200 مل.

إضافة لكل من 200 مل تراكيز مختلفة من NaCL.

- المحلول الأول 200 مل بقيمة 0,005 غ ممثلة للتركيز الأول C_1=25mmo/NaCL
- المحلول الثاني 200 مل بقيمة 0,02 غ ممثلة للتركيز الثانيC_2=100mmo/NaCL
- المحلول الثالث 200 مل بقيمة 0,03 غ ممثلة للتركيز الثالثC_3=150mmo/NaCL

في النهاية نضع المحاليل كل على حدى فوق موقد حراري حتى الغليان ثم نقوم بتوزيعه بواسطة موزع تلقائي إلى أنابيب 25x75 مم بمعدل 10 مل لكل أنبوبة اختبار مع تغطية الأنابيب ثم نقلها إلى جهاز التعقيم Autoclave لمدة 20د على درجة حرارة 120 م° وضغط 1 بار ثم تنقل هذه الأنابيب إلى غرفة التبريد لمدة 48 ساعة بعدها تتم عملية الزرع.

الشكل 20: تجهيز وسط الزرع

5- التعقيم:

يتوقف نجاح تقنية الزراعة في الأنابيب (La culture in vitro) على التطبيق الصارم والدقيق لشروط التعقيم.

5.1 تعقيم وسط الزرع:

مرحلة التعقيم في وسط الزرع في زراعة الأنسجة أمر لا غنى عنه نظرا لاحتواء الوسط المغذي على معظم العناصر الغذائية اللازمة لنمو الكائنات الدقيقة كالبكتيريا والفطريات والخمائر وغيرها.

إن تعقيم وسط الزرع يتم بطريقة التعقيم البخار بواسطة جهاز ألAutoclave (حلقة التعقيم) وهي أكثر الطرق استعمالا في معامل زراعة الأنسجة والأسهل حيث يتم وضع الوسط المغذي في أنابيب الاختبار ثم وضعه في جهاز (Autoclave) في درجة حرارة 120 م° مع ضغط 1بار لمدة 20د لضمان تدمير البكتيريا.

الشكل 21: وضع وسط الزرع في حامل الأنابيب لتعقيمه

5.-2- تعقيم أدوات العمل:

من اجل تعقيم أداوت العمل ومكان العمل نستعمل كحول الايثانول 70 % و الايثانول 99%.

قبل البدء في العمل بالتجربة يجب أن تكون كل الأدوات المستعملة معقمة في الحاضنة (l' étuve) في درجة حارة تتراوح ما بين 170م° إلى200م° لمدة 2 ساعة على الأقل.

الأدوات المتمثلة في(علب بيتري، ورق تجفيف، ملق 20 أو 25سم، مشرط، بيشر زجاجي، دورق زجاجي...) كل هذه الأدوات تغطى قبل الاستعمال وتقم واسطة الايثانول 70% في الغرفة المعقمة (la hotte).

أثناء التجربة الأدوات المصنعة من ال métallique توضع في الكحول (70%) بعدها تنقل إلى جهاز التعقيم.

الكثير من أنواع المحاليل المعقمة المستعملة في مخبر الزراعة في شركة تطوير الفلاحة SAGRODEV لأجل مخطط العمل وأيضا الأيادي العاملة (Geladanios, Hexanios, Surfanios, Dermanios).

6- عملية الزرع:

6. 1- مكان الزرع:

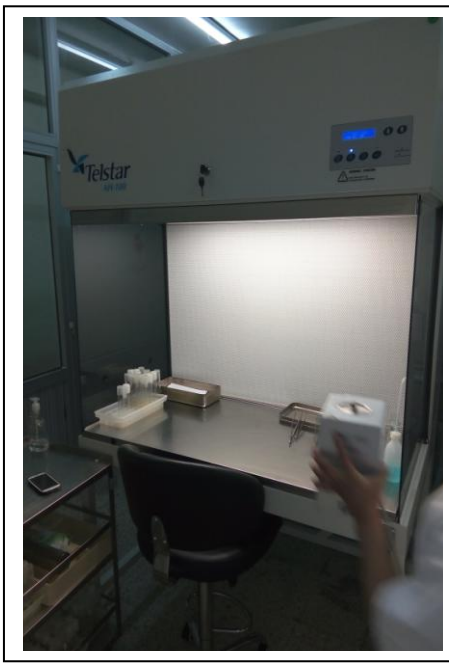
لنجاح تقنية الزراعة في الأنابيب يجب احترام الشروط الكاملة للطريقة، فكل التجارب نقوم بها تحت غرفة التعقيم (la hotte) وذلك بإتباع الطرق التالية:

- لباس خاص معقم (مآزر، قناع، قفازات، حذاء طبي...).
- تشغيل la hotte على الأقل نصف ساعة قبل التجربة.
- تعقيم la hotte والمحيط مع المحاليل بالايثانول 70% بدون أن ننسى تبخير الايثانول على كل الوسائل الخاصة بالعمل أثناء التجربة.
- تشغيل معقم الأدوات Stérilisateurs à billes لربع ساعة قبل كل خطوة أثناء كل إعادة.

- وسائل العمل (ملاقط، مشرط...) المعقمة بواسطة الحاضنة l' étuve والتي وضعت في الايثانول 99% بعدها نقوم بتعريضها للحرارة ثم تركها تبرد على حامل معقم.
- تنظيف الأيادي بواسطة محلول التعقيم.
- تجنب الحركة والتنقل للهواء داخل مكان العمل لتفادي التعرض لتلوث "Contamination" .

التعقيم بواسطة الايثانول

ورق معقم



تشغيل La Hotte

الشكل 22: تعقيم مكان الزرع

6. 2: الأنسجة النباتية المستعملة:

الأنسجة النباتية المستعملة في الإكثار الدقيق (la micro-propagation) تؤخذ من نسيج معروف للصنف المدروس بعد القيام بتحاليل الأنسجة نقوم بتحديد ونزع النسج المتضررة هي عبارة عقل دماغية صغيرة (Microbouture) .

أخذ عينة من المرشيم الذي تم اختياره وزرعه الطريقة الصحيحة في الوسط MS في أنابيب الاختبار ثم نقوم بحضنها في غرف الزراعة (Chambre De Culture) تحت الشروط التالية:

- الفترة الضوئية: 16 ساعة ضوء و8 ساعة ظلام.
- الحرارة: 22+1 م° يتم تجديد النباتات الزجاجية بعد 5 أسابيع من الحضن.

أنسجة الصنف kondor أنسجة الصنفbartina

الشكل 23: الأنسجة النباتية المستعملة

6. 3- إعادة الزرع:

1.3.6- الإكثار الدقيق:

تحت الغرفة المعقمة كل نسيج نباتي يتم سحبه من علب زجاجية bocal تحتوي على مجوعة من أنسجة نباتية مستنبتة من قبل بواسطة ملقط معقم ووضعه فوق ورق تجفيف معقم ثم نقوم بتجزئته إلى قطع يتراوح طول القطعة (عقلة صغيرة) (Microbouture) ما بين 0.5 سم إلى 1سم(يتم استبعاد البرعم لقاعدي والجزء الجدري) بمساعدة شفرة معقمة للحصول على أجزاء متجانسة أو عقلة صغيرة (Microbouture).

إعادة زرع العقل الصغيرة (repiquage) على وسط زراعي نجح مساعدة ملقط معقم وقريب من جهاز التعقيم (Thermo-stérilisateur à billes) هذه الأخيرة تؤخذ وتزرع كل على حدى في أنبوبة اختبار بها وسط زرع مغذي بحيث تبقى البراعم والأوراق على واجهة الوسط (الرأس في الأعلى) تعلم الأنابيب وتغلق بواسطة أغطية بلاستيكية معقمة.

ومما تجدر الإشارة إليه أن عملية الزرع تتم بأسرع وقت ممكن للتقليل من احتمالية جفاف المرشيم والتعرض للتلوث.

بعد الزرع توضع الأنابيب في غرف الزرع في فترة ضوئية 16 ساعة ضوء 8 ساعة ظلام في 22م° لمدة 5 أسابيع، الإضاءة بواسطة مصدر ضوئي (des lampes à néant) توضع فوق الأنابيب ببعد 4 سم هذه العملة تحفز التقدم الخضري.

الشكل 24: مختلف المراحل لعملية الزرع

2.6- القياسات:

- عدد الأوراق.
- عدد الجذور.
- طول الساق.

تؤخذ هذه القياسات كل أسبوع لمدة 5 أسابيع إضافة إلى:

- طول الجذور.
- الوزن الطازج.
- الوزن الجاف.

تؤخذ هذه القياسات بعد مرور 28 يوم من الزرع.

II- التجربة الثانية:

حاولنا نقل التجربة التي قمنا بها في مخبر SAGRODEV إلى مخبر تطوير وتثمين المصادر الوراثية النباتية في شعبة الرصاص لخلق ظروف جديدة حتى نتمكن من القيام بمثل هذه التجارب والتقنيات الحيوية في جامعتنا لاستغلالها من طرف الباحثين وطلبة الماستر في بيولوجيا النبات بمساعدة الأستاذة: علمي هيبة وهي أستاذة بقسم الميكروبيولوجيا ذات خبرة في مجال زراعة الأنسجة " invitro Culture "

قمنا بتطبيق التجربة لمرتين باستخدام نفس الوسط الزراعي للتجربة الأولى: الوسط MS (Marashigue et Skoog., 1962).

الحالة (1):

زراعة برعم قمي لنبات البطاطس في الوسط MS.

الحالة 2:

زراعة برعم قمي لنبات البطاطس في الوسط ms مضاف إليه الفحم النشط (charbon actif) .

ملاحظة:

- دور الفحم النشط **(**charbon actif**)**.
- تحفيز النمو وتكوين الأعضاء النباتية.
- إعطاء اللون الغامق للبيئة الغذائية.
- ادمصاص المركبات المثبطة للنمو في البيئة الغذائية.

(محمود عبد العزيز إبراهيم خليل، 2004).

الفصل الثالث: النتائج والمناقشة

I- نتائج التجربة الأولى:

سمحت لنا الدراسة التي قمنا بها عن إكثار شتلات لصنفين من نبات البطاطا (*Solanum tuberosum L*) هما (bartina) و(kondor) مخبريا (الإكثار الدقيق لهذين الصنفين la micropropagation.,) في وسط ملحي بالحصول على نتائج متباينة متعلقة ب: طول الساق (سم)، عدد الأوراق، عدد الجذور، بالإضافة إلى طول الجذور (سم)، الوزن الطازج والوزن الجاف للساق والجذور (مغ) والتي كانت في نهاية التجربة.

وقد تم الحصول على هذه النتائج بملاحظة ومتابعة جميع مراحل التجربة وذلك لمدة 28 يوم (كل أسبوع على حدى S1، S2، S3،S4)

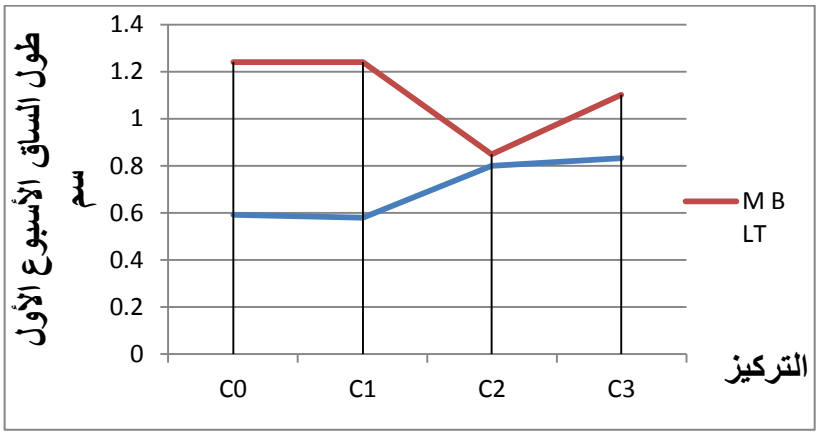
وفيما يلي نستعرض هذه النتائج والتي مثلت في منحنيات وأعمدة بيانية:

1 - أثر الملوحة على طول الساق:

نتائج S1:

جدول III. 1: متوسط طول الساق في الأسبوع الأول

	M B LT	E B LT
C0	1,24	0,55
C1	1,24	0,54
C2	0,85	0,8
C3	1,1	0,81
	M K LT	E K LT
C0	0,59	0,25
C1	0,58	0,48
C2	0,8	0,85
C3	0,83	0,61



الشكل1.25: منحنى طول الساق في الأسبوع الأول.

التحليل:

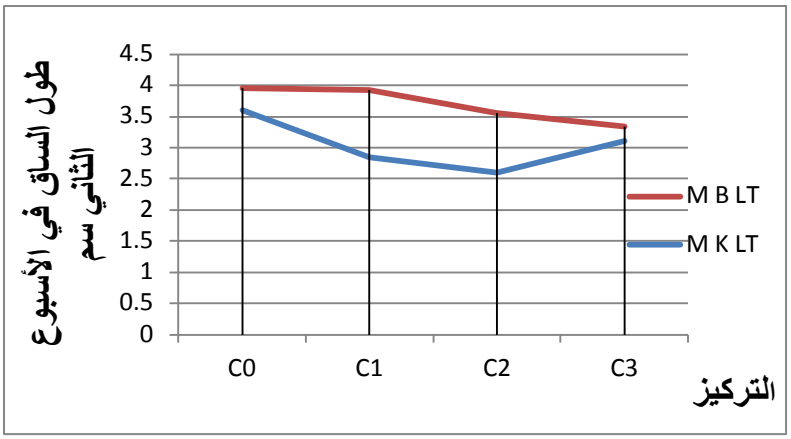
من خلال الشكل III.-1- نلاحظ ثبات في طول الساق في التركيزين C0 (الشاهد) و (C1=25 m mol/ L) بالنسبة للصنفين حيث نلاحظ تفوق في الطول للصنف bartina على الصنف kondor ، بينما التركيز (C2=100m mol /L) نلاحظ اختلاف بين الصنفين في طول الساق حيث زيادة الطول عند الصنف kondor وتناقص عند الصنف bartina.

أما عند التركيز C3=150m mol/ L نلاحظ ثبات في استطالة الساق للصنف kondor تقابلها زيادة في طول الساق عند الصنف bartina.

نتائج S2:

جدول 2.III: متوسط طول الساق في الأسبوع الثاني

	M B LT	E B LT
C0	3,96	1,81
C1	3,93	0,78
C2	3,56	0,17
C3	3,34	1,48
	M K LT	E K LT
C0	3,6	1,61
C1	2,84	1,5
C2	2,6	0,54
C3	3,11	1,25



الشكل 2.25: منحنى طول الساق في الأسبوع الثاني.

التحليل:

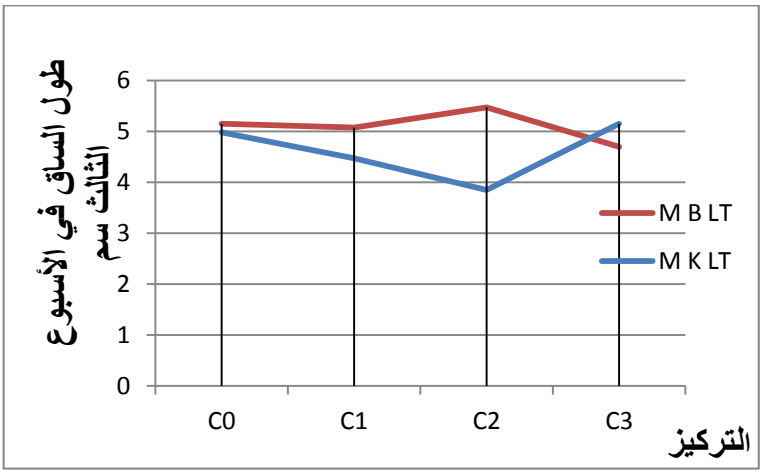
من خلال الشكل -2.III- نلاحظ زيادة في طول الساق للصنفين مع تفوق للصنف bartina ، تختلف هذه الزيادة حسب التراكيز حيث نلاحظ ثبات في طول الساق عند الصنف bartina في التركيزين C0 و C1=25m mol/L ، بينما نلاحظ تناقص الطول في C2=100m mol/L ، مع استمرار في التناقص بالنسبة للتركيز C3=150m mol/L.

أما بالنسبة للصنف kondor فنلاحظ تناقص في طول الساق عند التركيز C1=25m mol/L بعدما كان في أعلى قيمة له عند التركيز C0 ، ويسمر في التناقص بصفة اقل عند التركيز C2=100m mol/L أما بالنسبة للتركيز C3=150m mol/L فنلاحظ تزايد في طول الساق.

نتائج S3:

جدول III. 3: متوسط طول الساق في الأسبوع الثالث

	M B LT	E B LT
C0	5,15	1,34
C1	5,07	0,88
C2	5,48	2,33
C3	4,7	1,56
	M K LT	EK LT
C0	4,98	2,04
C1	4,48	1,74
C2	3,85	1,82
C3	5,16	2,18



الشكل 3.25: منحنى طول الساق في الأسبوع الثالث.

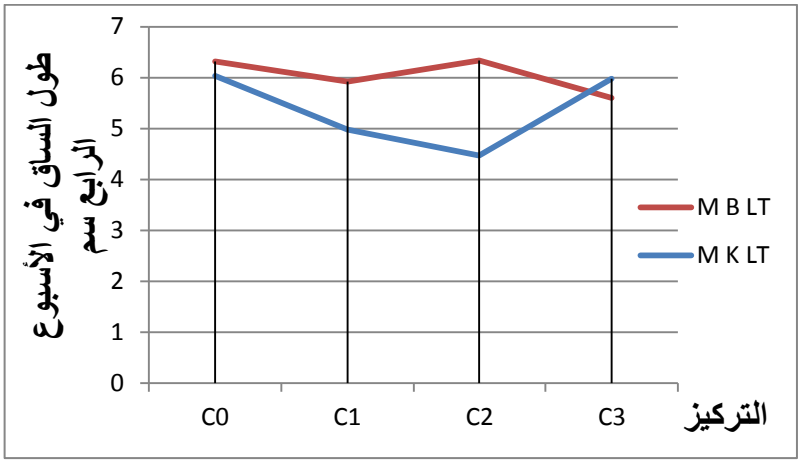
التحليل:

نلاحظ من خلال الشكل-3.III- تناقص في طول الساق عند التركيز C1= 25m mol /L بعدما كان في أعلى مستوى عند C0 بالنسبة للصنف kondor ، يقابله تناقص جد ضعيف للصنف bartina ، بينما عند التركيز C2=100m mol/L نلاحظ تزايد في الطول بالنسبة للصنف bartina وتناقص عند الصنف kondor ، أما في التركيز C3=150m mol/L نلاحظ تزايد في الطول عند الصنف kondor يقابله تناقص عند الصنف bartina.

نتائج S4:

جدول III.4: متوسط طول الساق في الأسبوع الرابع

	M B LT	E B LT
C0	6,32	1,19
C1	5,91	0,96
C2	6,34	2,72
C3	5,59	1,36
	M K LT	E K LT
C0	6,03	2,12
C1	4,97	1,82
C2	4,46	2,24
C3	5,97	2,32



الشكل 4.25: منحنى طول الساق في الأسبوع الرابع.

التحليل:

تبين نتائج الشكل -4.III- تناقص في طول الساق عند التركيز C1=25m mol/L ويستمر في التناقص عند التركيز C2=100m mol/L بعدما كان في أعلى قيمة عند التركيز C0، بينما عند التركيز C3=150m mol/L نلاحظ زيادة في طول الساق و هذا بالنسبة للصنف kondor .

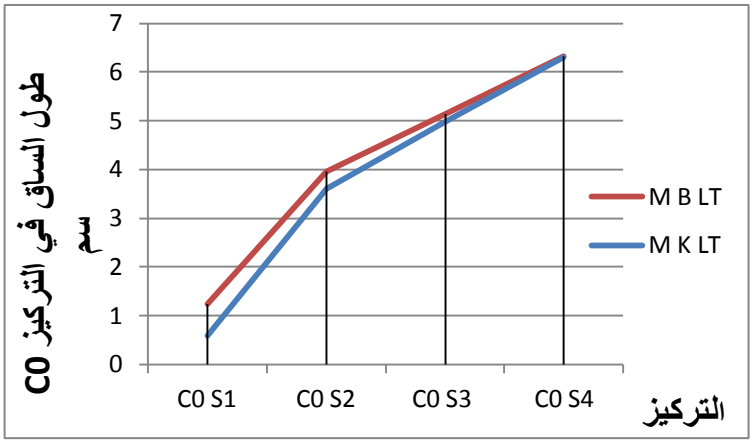
أما بالنسبة للصنف bartina فنلاحظ تناقص في طول الساق عند التركيز C1=25m mol/L بعدما كان مرتفعا عند التركيز C0 ، ليتزايد عند التركيز C2=100m mol/L ، بينما في التركيز C3=150m mol/L فنلاحظ تناقص في استطالة الساق.

* أثر الملوحة على طول الساق في مدة4 أسابيع:

نتائج C0:

جدول III. 5: متوسط طول الساق في التركيز C0

	M B LT	E B LT
C0 S1	1,24	0,55
C0 S2	3,96	1,18
C0 S3	5,15	1,29
C0 S4	6,32	1,19
	M K LT	E K LT
C0 S1	0,59	0,25
C0 S2	3,6	1,61
C0 S3	4,98	2,04
C0 S4	6,3	2,12



الشكل 1.26:منحنى طول الساق في التركيزC0.

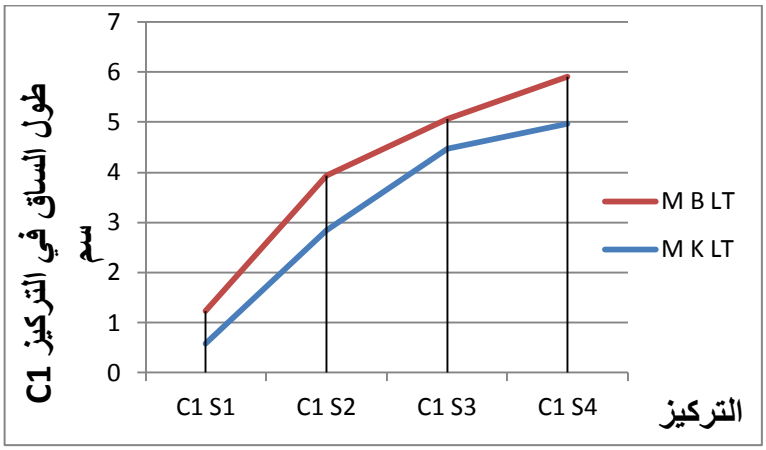
التحليل:

يوضح الشكل -5.III- تزايد في طول الساق عند الصنفين bartina و kondor مع تفوق للصنف bartina.

نتائج C1:

جدول III. 6 : متوسط طول الساق في التركيز C1

	M B LT	E B LT
C1 S1	1,24	0,54
C1 S2	3,93	0,78
C1 S3	5,07	0,88
C1 S4	5,91	0,96
	M K LT	E K LT
C1 S1	0,58	0,48
C1 S2	2,84	1,5
C1 S3	4,48	1,74
C1 S4	4,97	1,82



الشكل 2.26:منحنى طول الساق في التركيزC1.

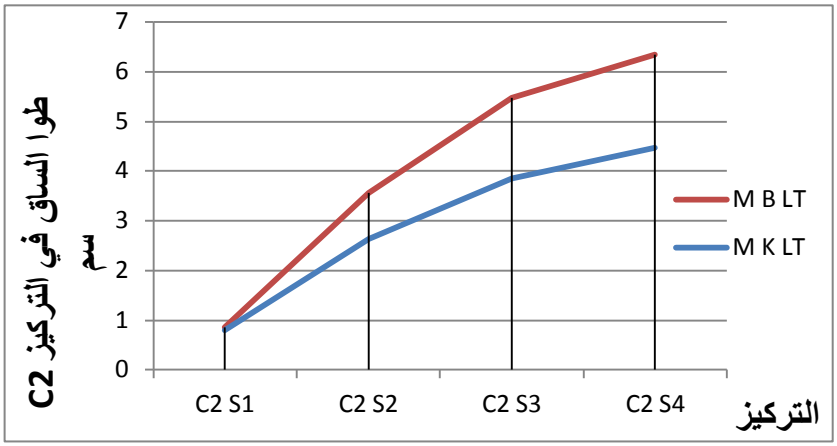
التحليل:

يبين الشكل –III.6- تزايد في طول الساق عند الصنفين bartina و kondor مع تفوق ملحوظ للصنف bartina في مدة أربع أسابيع.

نتائج C2:

جدول III. 7: متوسط طول الساق في التركيز C2

	M B LT	E B LT
C2 S1	0,85	0,81
C2 S2	3,56	1,66
C2 S3	5,48	2,33
C2 S4	6,34	2,72
	M K LT	E K LT
C2 S1	0,8	0,85
C2 S2	2,63	1,17
C2 S3	3,85	1,82
C2 S4	4,46	2,24



الشكل 3.26:منحنى طول الساق في التركيزC2.

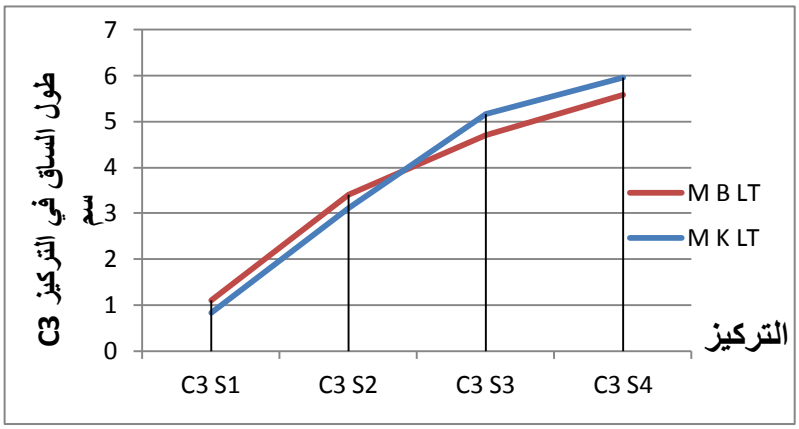
التحليل:

من خلال الشكل –III .7- نلاحظ تزايد في طول الساق عند الصنفين bartina و kondor مع تفوق كبير للصنف bartina في الأسبوع الرابع.

نتائج C3:

جدول III. 8: متوسط طول الساق في التركيز C3

	M B LT	E B LT
C3 S1	1,1	0,81
C3 S2	3,41	1,41
C3 S3	4,7	1,56
C3 S4	5,59	1,36
	M K LT	E K LT
C3 S1	0,83	0,61
C3 S2	3,11	1,25
C3 S3	5,16	2,18
C3 S4	5,95	2,32



الشكل 4.26: منحنى طول الساق في التركيزC3.

التحليل:

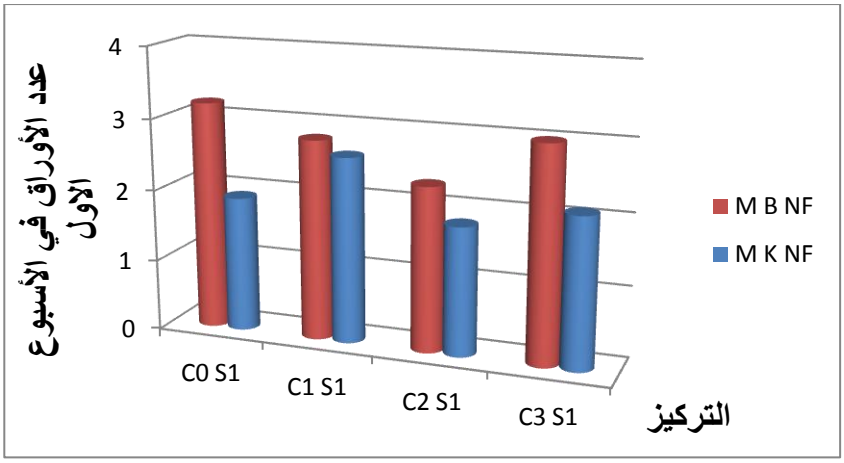
تبين نتائج الشكل –III.8- تزايد في طول الساق عند الصنفين bartina و kondor، مع تفوق للصنف bartina في الأسبوع الأول والثاني، أما الأسبوع الثالث والرابع فكان التفوق للصنف kondor.

2- اثر الملوحة على عدد الأوراق:

نتائج S1:

جدول III. 9: متوسط عدد الأوراق في الأسبوع الأول

	M B NF	E B NF
C0 S1	3,2	0,79
C1 S1	2,8	1,14
C2 S1	2,3	1,95
C3 S1	3	1,14
	M K NF	E K NF
C0 S1	1,9	0,74
C1 S1	2,6	1,35
C2 S1	1,8	1,14
C3 S1	2,1	0,88



الشكل 1.27: منحنى عدد الأوراق في الأسبوع الأول

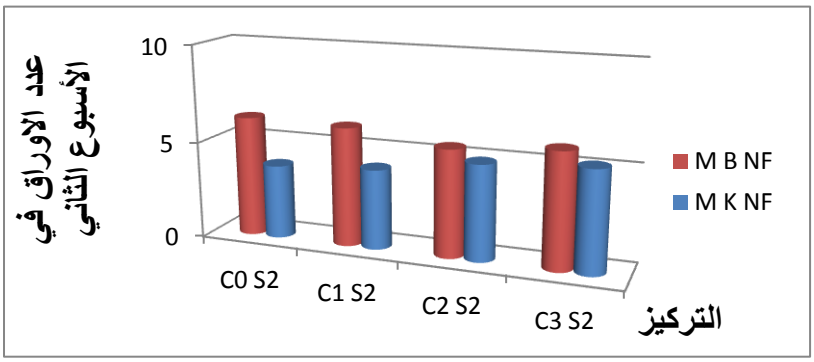
التحليل:

من خلال الشكل -III.9- نلاحظ تفوق الصنف bartina فيما يخص عدد الأوراق المتشكلة على الصنف kondor في مختلف التراكيز، مع أفضلية للتركيز C0 والتركيز C3=150m mol/L بالنسبة للصنف bartina أين كان في أعلى قيمة، أما عند الصنف kondor فكانت أعلى قيمة في التركيز C1=25m mol/L اي تفوق C1 على باقي التراكيز الأخرى في عدد الأوراق المتشكلة.

نتائج S2:

جدول III. 10: متوسط عدد الأوراق في الأسبوع الثاني

	M B NF	E B NF
C0 S2	6,2	1,4
C1 S2	6,1	0,88
C2 S2	5,5	2,52
C3 S2	5,9	1,52
	M K NF	E K NF
C0 S2	3,8	1,03
C1 S2	4,1	0,88
C2 S2	4,9	2,02
C3 S2	5,2	1,14



الشكل 2.27: منحنى عدد الأوراق في الأسبوع الثاني

التحليل:

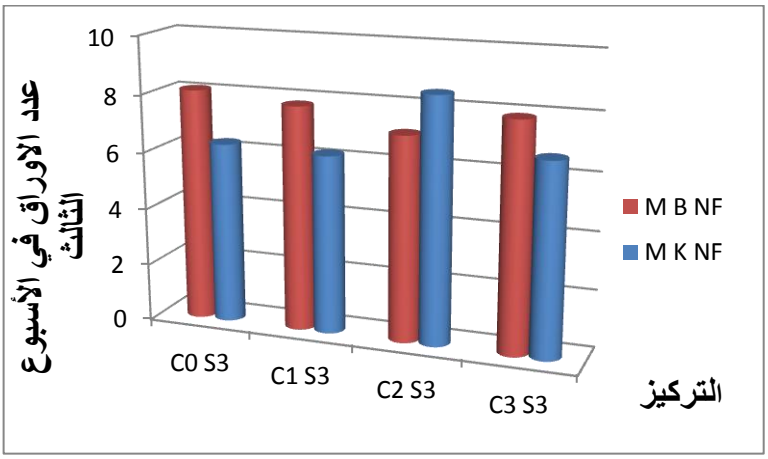
يوضح الشكل -III.10- ثبات في عدد الأوراق المتشكلة بين التركيزين C0 و C1=25m mol/L يليه انخفاض محسوس عند التركيز C2=100m mol/L، بينما نلاحظ ارتفاع عند التركيز C3=150m mol/L وهذا عند الصنف bartina لكن عند الصنف kondor فنلاحظ تفوق التركيز C3=150m mol/L في عدد الأوراق المتشكلة على باقي التراكيز الأخرى.

لكن مع تفوق الصنف bartina على الصنف kondor في مختلف التراكيز الأربعة.

نتائج S3:

جدول III. 11: متوسط عدد الأوراق في الأسبوع الثالث

	M B NF	E B NF
C0 S3	8,1	0,57
C1 S3	7,8	1,03
C2 S3	7,1	2,69
C3 S3	7,9	1,45
	M K NF	E K NF
C0 S3	6,3	0,49
C1 S3	6,2	1,99
C2 S3	8,5	3,03
C3 S3	6,67	2,08



الشكل 3.27: منحنى عدد الأوراق في الأسبوع الثالث.

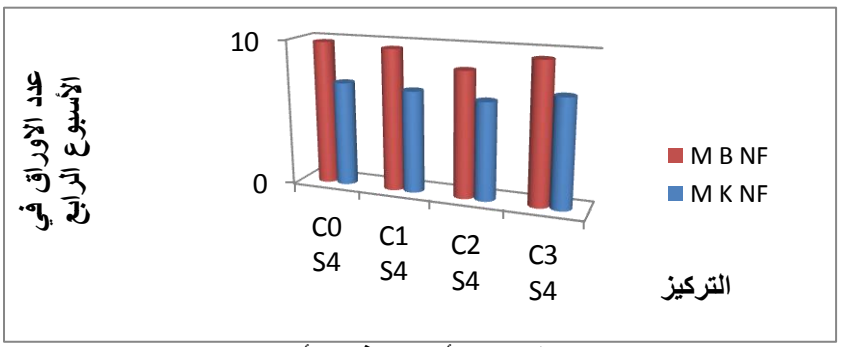
التحليل:

بينت لنا نتائج الشكل -III .11- تفوق في عدد الأوراق المتشكلة بالنسبة للصنف Kondor عند التركيز C2=100mmol/L مقارنة بالتراكيز الأخرى ومقارنة مع الصنف Bartina حيث سجلنا ثبات في عدد الاوراق المتشكلة خاصة بين التراكيز C3 C2 C1.

نتائج S4:

جدول III. 12: متوسط عدد الأوراق في الأسبوع الرابع

	M B NF	E B NF
C0 S4	9,8	0,79
C1 S4	9,6	0,84
C2 S4	8,5	3,03
C3 S4	9,5	1,25
	M K NF	E K NF
C0 S4	7,1	2,13
C1 S4	6,9	2,18
C2 S4	6,6	2,37
C3 S4	7,3	2,36



الشكل 4.27: متوسط عدد الأوراق في الأسبوع الرابع

التحليل:

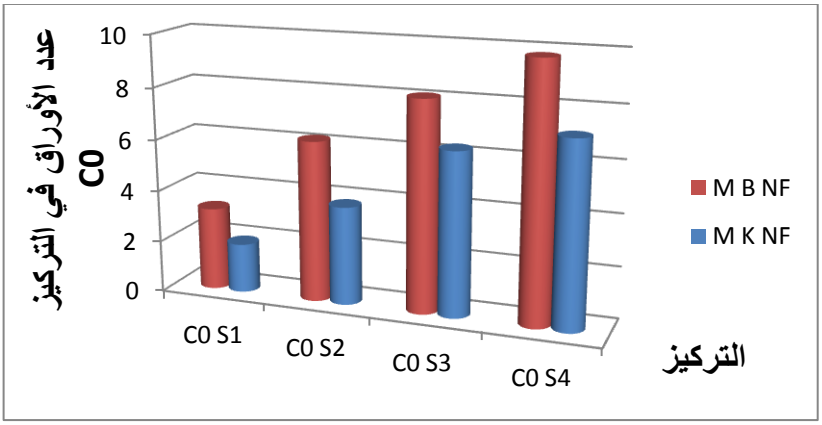
نلاحظ من خلال الجدول تفوق بالنسبة للصنف bartina على الصنف kondor في مختلف التراكيز C0 .C1.C2.C3 مع زيادة بالنسبة للتركيز C0 على باقي التراكيز الأخرى، أما بالنسبة للصنف kondor فأعلى قيمة سجلت عند التركيز C3=150m mol/L في عدد الأوراق المتشكلة.

*أثر الملوحة على عدد الأوراق في 4 أسابيع:

نتائج C0:

جدول III. 13: متوسط عدد الأوراق في أربع أسابيع ل C0.

	M B NF	E B NF
C0 S1	3,2	0,79
C0 S2	6,2	1,4
C0 S3	8,1	0,57
C0 S4	9,8	0,79
	M K NF	E K NF
C0 S1	1,9	0,74
C0 S2	3,8	1,03
C0 S3	6,3	1,77
C0 S4	7,1	2,13



الشكل 1.28: منحنى عدد الأوراق في التركيزC0.

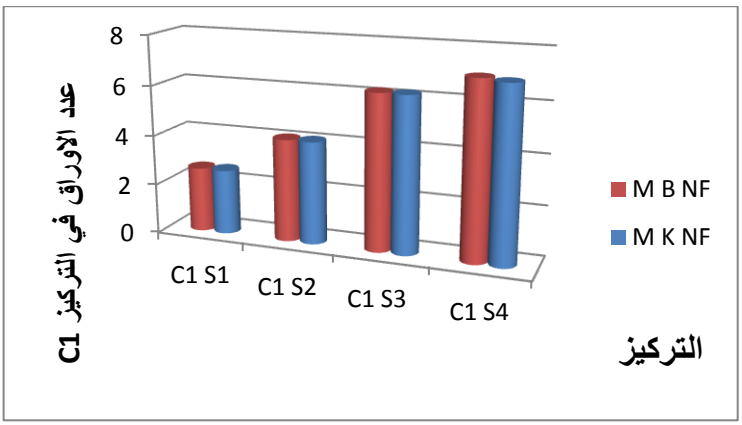
التحليل:

من خلال الشكل -13.III- نلاحظ زيادة في عدد الأوراق المتشكلة عند الصنفين مع تفوق للصنف bartina على الصنف kondor وهذا خلال الأربع أسابيع.

نتائج C1:

جدولIII . 14:متوسط عدد الأوراق في أربع أسابيع ل C1.

	M B NF	E B NF
C1 S1	2,6	1,35
C1 S2	4,1	0,88
C1 S3	6,2	1,99
C1 S4	7	2,31
	M K NF	E K NF
C1 S1	2,6	1,35
C1 S2	4,1	0,88
C1 S3	6,2	1,99
C1 S4	6,9	2,18



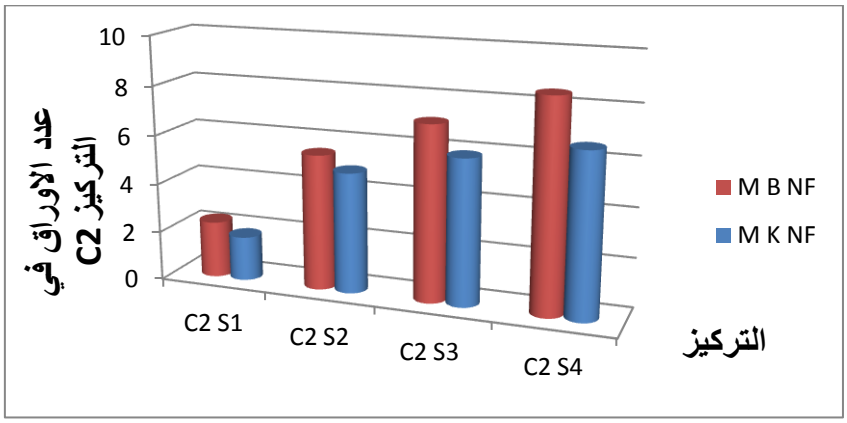
الشكل 2.28: منحنى عدد الأوراق في التركيزC1.

التحليل:

يتضح من خلال نتائج الشكل -14.III- زيادة مستمرة في تشكل الأوراق و تقريبا تطابق بين الصنفين bartina وkondor في الأسابيع الأولى بالنسبة للتركيز C1 مع تفوق طفيف للصنف bartina في الأسبوع الرابع.

نتائجC2:

جدولIII . 15: متوسط عدد الأوراق في أربع أسابيع ل C2.



	M B NF	E B NF
C2 S1	2,3	1,95
C2 S2	5,5	2,55
C2 S3	7,1	2,69
C2 S4	8,5	3,03
	M K NF	E K NF
C2 S1	1,8	1,14
C2 S2	4,9	2,02
C2 S3	5,9	1,97
C2 S4	6,6	2,37

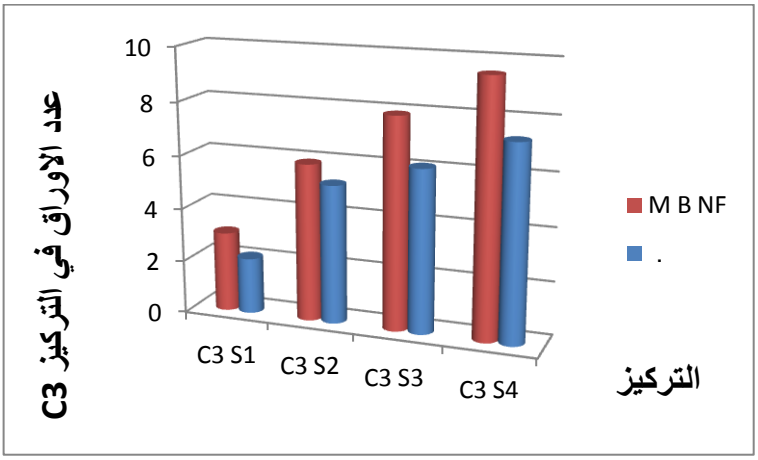
الشكل 3.28: منحنى عدد الأوراق في التركيزC2.

التحليل:

أما بالنسبة للتركيز C2 فنلاحظ أيضا من خلال الشكل -15.III- زيادة متواصلة في تشكل الأوراق مع تفوق للصنف bartina على الصنف kondor في الأسابيع الأربعة.

نتائج C3:

جدولIII . 16: متوسط عدد الأوراق في أربع أسابيع ل C3.



	M B NF	E B NF
C3 S1	3	1,89
C3 S2	5,9	1,52
C3 S3	7,9	1,45
C3 S4	9,5	1,35
	M K NF	E K NF
C3 S1	2,1	0,88
C3 S2	5,2	1,14
C3 S3	6,1	2,08
C3 S4	7,3	2,36

الشكل 4.28: منحنى عدد الأوراق في التركيزC3 .

التحليل:

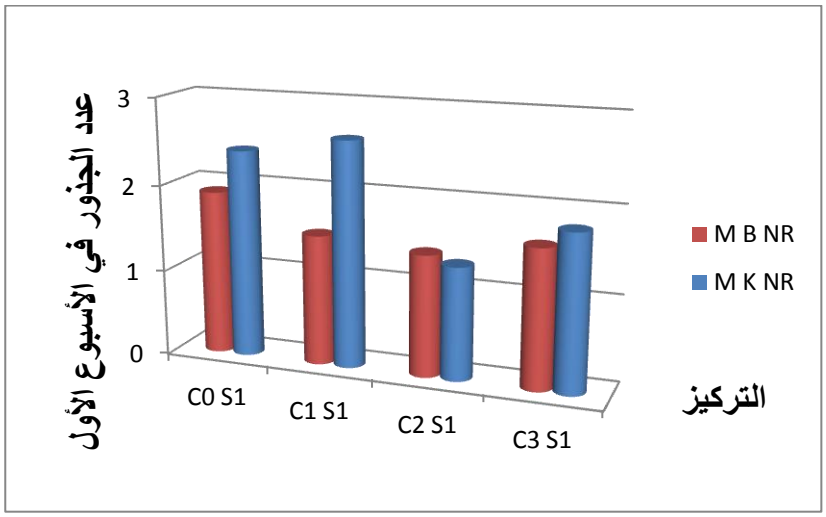
وتبين لنا نتائج الشكل -16.III- أيضا تزايد في عدد الأوراق المتشكلة بالنسبة للصنفين، مع تفوق للصنف bartina على الصنف kondor على مدار أربعة أسابيع.

3 - أثر الملوحة على عدد الجذور:

نتائج S1:

جدول III. 17: متوسط عدد الجذور في الأسبوع الأول

	M B NR	E B NR
C0 S1	1,9	0,88
C1 S1	1,5	0,53
C2 S1	1,4	0,52
C3 S1	1,6	0,7
	M K NR	E K NR
C0 S1	2,4	2,32
C1 S1	2,6	1,84
C2 S1	1,3	1,41
C3 S1	1,8	2,2



الشكل1.29: منحنى عدد الجذور في الأسبوع الأول.

التحليل:

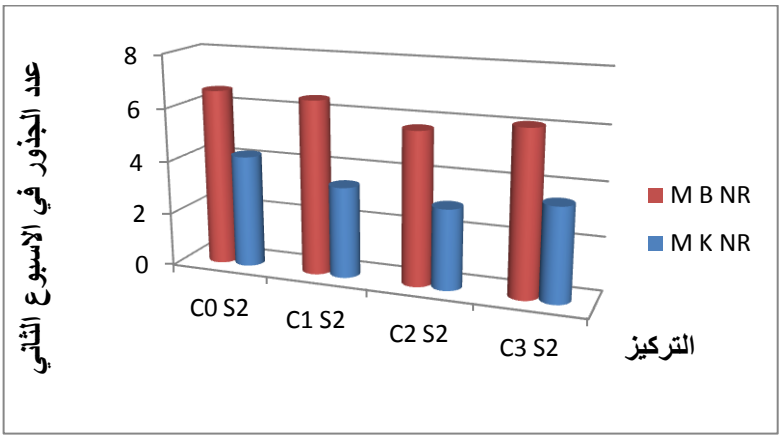
من خلال الشكل -17.III- نلاحظ اختلاف في عدد الجذور المتكونة بالنسبة للصنفين في مختلف التراكيز، مع تفوق للصنف kondor على الصنف bartina، إذ نلاحظ زيادة عند التركيز C0 و C1، في حين يقابلها تناقص عند التركيزين C2 و C3 بالنسبة للصنف kondor.

أما فيما يخص الصنف bartina فنلاحظ ارتفاع في عدد الجذور المتكونة عند التركيز C0 و C3، بينما ينخفض بعض الشيء عند التركيزين C1 و C2.

نتائج S2:

جدول III. 18: متوسط عدد الجذور في الأسبوع الثاني

	M B NR	E B NR
C0 S2	6,6	2,22
C1 S2	6,5	1,71
C2 S2	5,7	2,9
C3 S2	6,1	2,85
	M K NR	E K NR
C0 S2	4,2	2,35
C1 S2	3,4	1,26
C2 S2	3	1,89
C3 S2	3,5	1,08



الشكل2.29: منحنى عدد الجذور في الأسبوع الثاني.

التحليل:

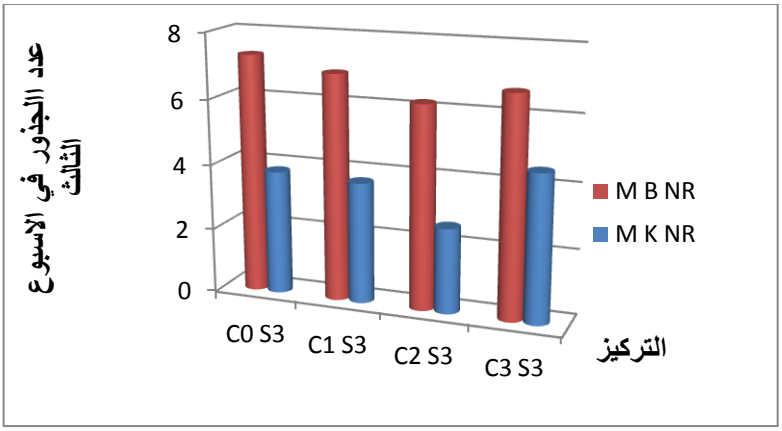
من خلال الشكل -18.III- نلاحظ تفوق في عدد الجذور المتكونة بالنسبة للصنف bartina في التراكيز الأربعة (C0 .C1.C2.C3) حيث سجلت أعلى قيمة عند التركيز C0، بينما انخفاض تدريجي عند التركيز C2 في حين زيادة عند التركيز C3.

أما بالنسبة للصنف kondor فسجلت اعلي قيمة في عدد الجذور المتكونة عند التركيز C0، لتنخفض تدريجيا بين التركيزين C1 و C2، بينما عند التركيز C3 فنلاحظ تزايد محسوس في عدد الجذور المتشكلة.

نتائج S3:

جدولIII . 19: متوسط عدد الجذور في الأسبوع الثالث

	M B NR	E B NR
C0 S3	7,3	2,67
C1 S3	6,9	1,37
C2 S3	6,2	2,49
C3 S3	6,7	2,87
	M K NR	
C0 S3	3,8	1,93
C1 S3	3,7	1,49
C2 S3	2,6	1,26
C3 S3	4,5	1,46



الشكل3.29: منحنى عدد الجذور في الأسبوع الثالث.

التحليل:

تبين لنا نتائج الشكل -19.III- ارتفاع في عدد الجذور المتكونة بالنسبة للصنف bartina عند التركيز C0، بينما عند التركيزين C1 و C2 فنلاحظ انخفاض تدريجي لعدد الجذور مقارنة بالتركيز C0، اما عند التركيز C3 فنلاحظ زيادة في عدد الجذور التي تكونت.

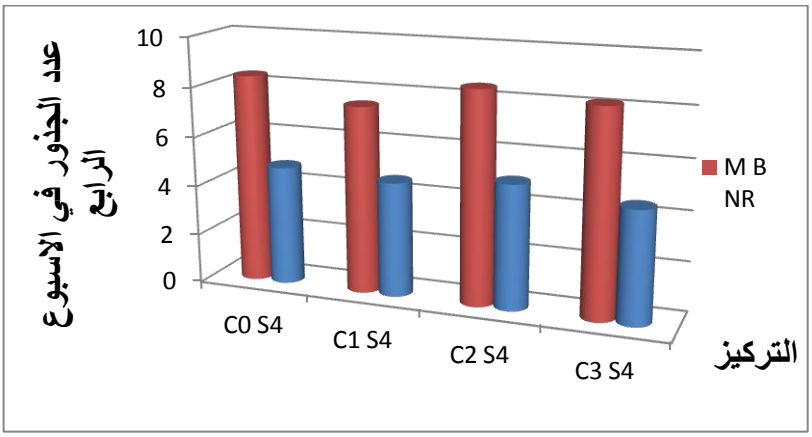
أما بالنسبة للصنف kondor فنلاحظ ثبات في عدد الجذور المتكونة بين التركيزين C0 و C1، لتنخفض تدريجيا عند التركيز C2، بينما نجد عند التركيز C3 زيادة محسوسة في عدد الجذور المتكونة.

لكن على العموم هناك تفوق للصنف bartina على الصنف kondor في عدد الجذور المتكونة في مختلف التراكيز.

نتائج S4:

جدولIII . 20: متوسط عدد الجذور في الأسبوع الرابع

	M B NR	E B NR
C0 S4	8,4	2,63
C1 S4	7,5	1,35
C2 S4	8,5	2,64
C3 S4	8,2	3,12
	M K NR	E K NR
C0 S4	4,8	1,99
C1 S4	4,6	1,96
C2 S4	5	1,15
C3 S4	4,5	1,65



الشكل 4.29: منحنى عدد الجذور في الأسبوع الرابع.

التحليل:

من خلال الشكل -20.III- نلاحظ أن عدد الجذور المتكونة بالنسبة للتراكيز الأربعة متقاربة جدا عند الصنفين bartina و kondor مع تسجيل زيادة محسوسة عند التركيز C2 .

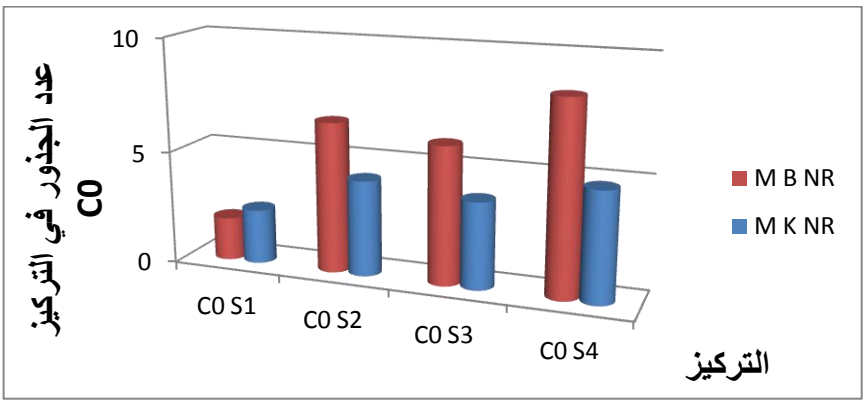
لكن هناك تفوق ملحوظ بالنسبة للصنف bartina في عدد الجذور المتكونة على الصنف kondor في التراكيز الأربعة .

***أثر الملوحة على عدد الجذور في أربع أسابيع :**

نتائج C0:

جدولIII. 21: متوسط عدد الجذور في أربع أسابيع عند C0

	M B NR	E B NR
C0 S1	1,9	0,88
C0 S2	6,6	2,22
C0 S3	6,03	2,67
C0 S4	8,4	2,63
	M K NR	E K NR
C0 S1	2,4	2,32
C0 S2	4,2	2,35
C0 S3	3,8	1,93
C0 S4	4,8	1,99



الشكل1.30: منحنى عدد الجذور في التركيزC0 لأربعة أسابيع

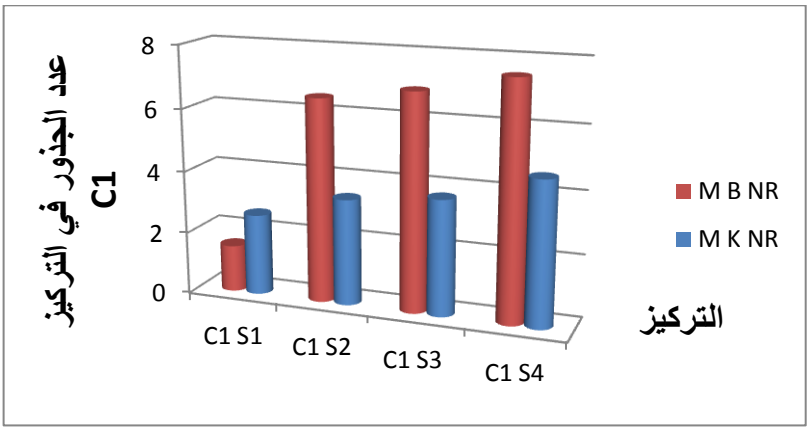
التحليل:

يوضح الشكل -21.III- أن هناك ارتفاع ملحوظ في عدد الجذور المتكونة بالنسبة للتركيز C0 في الأسابيع الأربعة خاصة في الأسبوع الثاني والرابع، ولكن مع تفوق كبير للصنف bartina على الصنف kondor.

نتائج C1:

جدولIII . 22: متوسط عدد الجذور في أربع أسابيع عند C1

	M B NR	E B NR
C1 S1	1,5	0,53
C1 S2	6,5	1,72
C1 S3	6,9	1,37
C1 S4	7,5	1,35
	M K NR	E K NR
C1 S1	2,6	1,84
C1 S2	3,4	1,26
C1 S3	3,7	1,49
C1 S4	4,6	1,96



الشكل2.30: منحنى عدد الجذور في التركيزC1 لأربعة أسابيع

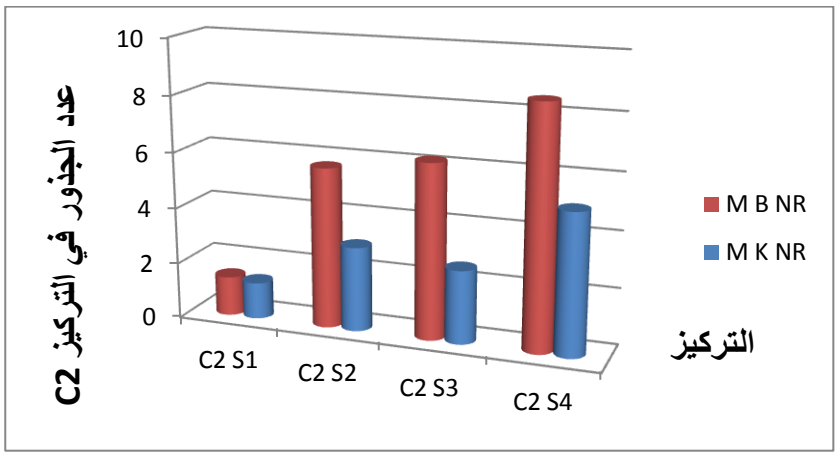
التحليل:

تبين نتائج الشكل -22.III- زيادة في عدد الجذور المتكونة بالنسبة للصنفين bartina و kondor، مع تفوق للصنف kondor على الصنف bartina في الأسبوع الأول S1، أما بالنسبة للأسابيع الأخرى S2 ; S3 ; S4 كان التفوق للصنف bartina.

نتائج C2:

جدولIII . 23: متوسط عدد الجذور في أربع أسابيع عند C2

	M B NR	E B NR
C2 S1	1,4	0,52
C2 S2	5,7	2,91
C2 S3	6,2	2,49
C2 S4	8,5	2,64
	M K NR	E K NR
C2 S1	1,3	1,42
C2 S2	3	1,89
C2 S3	2,6	1,26
C2 S4	5	1,15



الشكل3.30: منحنى عدد الجذور في التركيزC2 لأربعة أسابيع

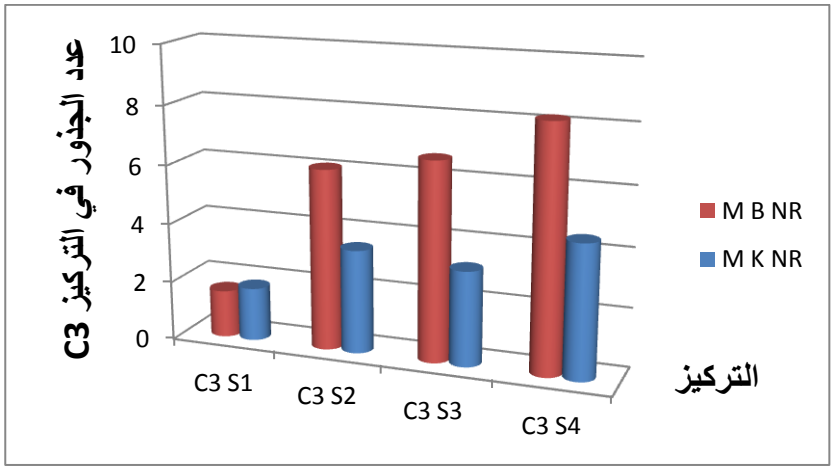
التحليل:

يتضح من خلال الشكل -23.III- ارتفاع في عدد الجذور المتكونة بالنسبة للصنفين bartina و kondor، لكن مع تفوق كبير للصنف bartina على الصنف kondor على مدار أربعة أسابيع.

نتائج C3:

جدولIII . 24: متوسط عدد الجذور في أربع أسابيع عند C3

	M B NR	E B NR
C3 S1	1,6	0,7
C3 S2	6,1	2,85
C3 S3	6,7	2,87
C3 S4	8,2	3,12
	M K NR	E K NR
C3 S1	1,8	2,2
C3 S2	3,5	1,08
C3 S3	3,2	1,55
C3 S4	4,5	1,65



الشكل4.30: منحنى عدد الجذور في التركيزC3 لأربعة أسابيع

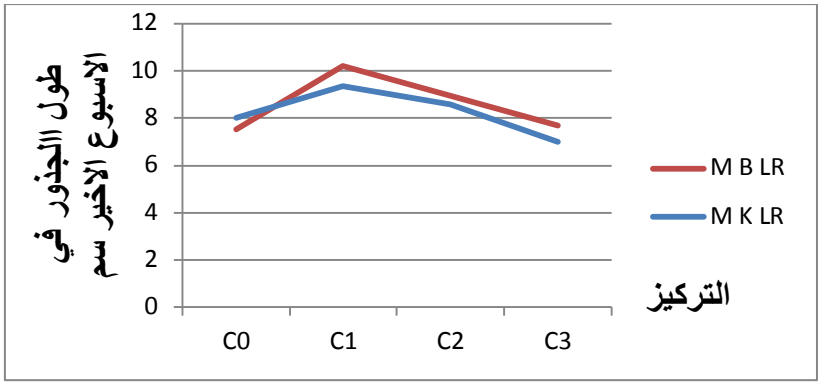
التحليل:

من خلال الشكل -24.III- نلاحظ نفس النتائج مقارنة بالنتائج السابقة إذ يتضح ارتفاع تدريجي في عدد الجذور المتكونة بالنسبة للصنفين bartina و kondor مع تفوق ضعيف للصنف kondor في الأسبوع الأول، يقابله تفوق كبير للصنف bartina في الأسابيع الأخرى.

4- أثر الملوحة على طول الجذور:

جدولIII . 25: متوسط طول الجذور بعد أربعة أسابيع

	M B LR	E B LR
C0	7,51	1,84
C1	10,2	1,89
C2	8,95	1,88
C3	7,69	1,74
	M K LR	E K LR
C0	8,01	3,29
C1	9,35	2,58
C2	8,57	2,84
C3	7,01	1,88



الشكل 31: منحنى طول الجذور بعد أربعة أسابيع

التحليل:

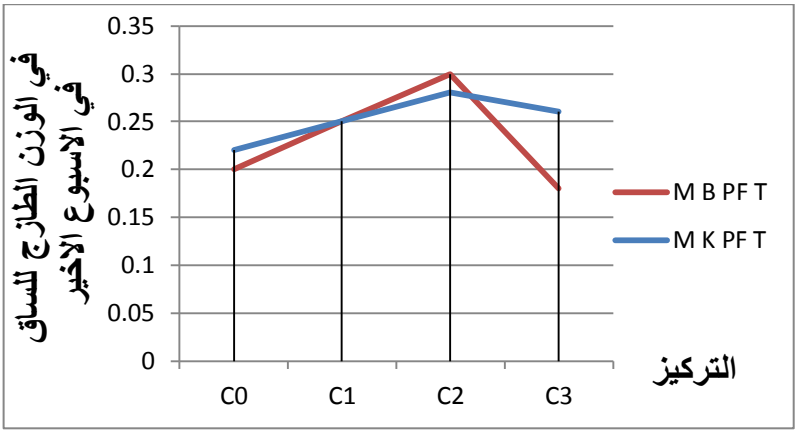
من خلال الشكل -25.III- نلاحظ ارتفاع في طول الجذور عند التركيز C1=25m mol /L بالنسبة للصنفين bartina و kondor، بعدما كان منخفضا عند C0 (الشاهد)، أما عند التركيزين C2=100m mol/L وC3=150mmol/L فنلاحظ تناقص تدريجي لكلا الصنفين.

5 – اثر الملوحة على الوزن الطازج والوزن الجاف للساق والجذور:

*أثر الملوحة على الوزن الطازج للساق:

جدولIII . 26: متوسط الوزن الطازج للساق في الأسبوع الأخير

	M B PF T	E B PF T
C0	0,2	0,09
C1	0,25	0,07
C2	0,3	0,14
C3	0,18	0,09
	M K PF T	E K PF T
C0	0,22	0,09
C1	0,25	0,07
C2	0,28	0,14
C3	0,26	0,14



الشكل1.32: منحنى الوزن الطازج للساق في الأسبوع الأخير.

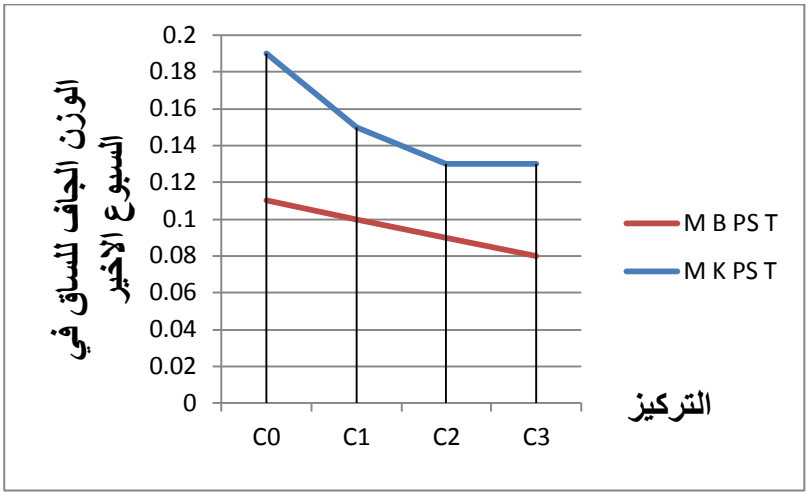
التحليل:

من خلال الشكل -26.III- نلاحظ ان هناك تباين في الوزن الطازج بالنسبة للصنفين kondor و bartina، حيث انه في التركيز C0 كان التفوق للصنف kondor على الصنف bartina،وبعدها نلاحظ تزايد تدريجي في الوزن

لكلا الصنفين ليبلغ اعلى قيمة عند التركيز c2، بينما عند التركيز c3 فنلاحظ تناقص طفيف لوزن الساق الطازج بالنسبة للصنف kondor يقابله انخفاض ملحوظ بالنسبة للصنف bartina.

*أثر الملوحة على الوزن الجاف للساق:

جدولIII . 27: متوسط الوزن الجاف للساق في الأسبوع الأخير



	M B PS T	E B PS T
C0	0,11	0,07
C1	0,1	0,04
C2	0,09	0,01
C3	0,08	0,03
	M K PS T	E K PS T
C0	0,19	0,11
C1	0,15	0,05
C2	0,13	0,08
C3	0,13	0,08

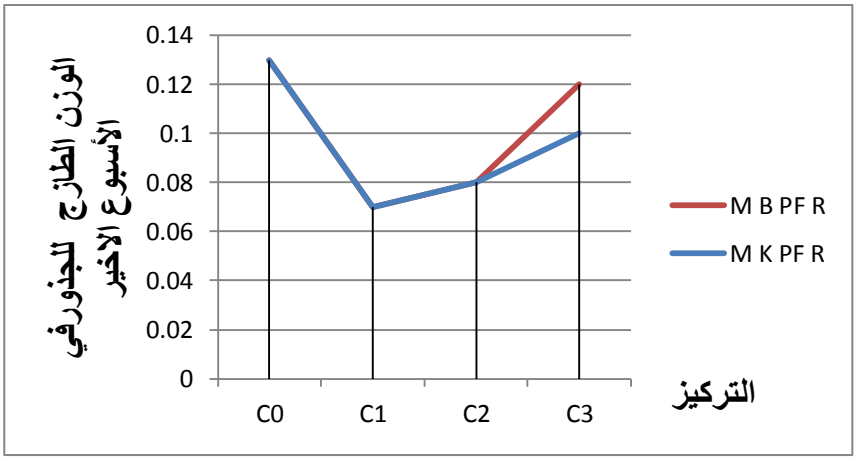
الشكل2.32: منحنى الوزن الجاف للساق في الأسبوع الأخير.

التحليل:

تبين لنا نتائج الشكل -III.27- تناقص تدريجي في الوزن الجاف للساق وفي مختلف التراكيز، اي انه كلما زاد تركيز الملوحة في الوسط كلما نقص الوزن الجاف للساق وذلك بالنسبة لكلا الصنفين.

*أثر الملوحة على الوزن الطازج للجذور:

جدولIII .28 : متوسط الوزن الطازج للجذور في الأسبوع الأخير



	M B PF R	E B PF R
C0	0,13	0,09
C1	0,07	0,02
C2	0,08	0,01
C3	0,12	0,06
	M K PF R	E K PF R
C0	0,13	0,09
C1	0,07	0,02
C2	0,08	0,01
C3	0,1	0,04

الشكل 3.32: منحنى الوزن الطازج للجذور في الأسبوع الأخير.

التحليل:

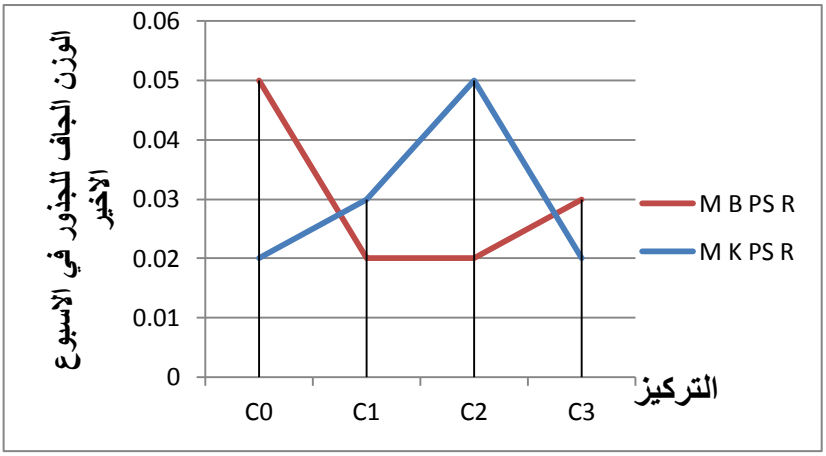
يتضح لنا من خلال نتائج الشكل -28.III- أن هناك تطابق في الوزن الطازج للجذور بالنسبة الصنفين bartina و kondor في التراكيز C0 ; C1 ; C2 إذ كان الوزن عند التركيز C0 في أعلى قيمة له، لينخفض عند التركيز C1، ويرتفع مجددا عند التركيز C2.

أما عند التركيز C3 فكانت زيادة في الوزن بالنسبة لكلا الصنفين مع تفوق ملحوظ للصنف bartina.

*أثر الملوحة على الوزن الجاف للجذور:

جدولIII . 29: متوسط الوزن الجاف للجذور في الأسبوع الأخير

	M B PS R	E B PS R
C0	0,05	0,04
C1	0,02	0,02
C2	0,02	0,01
C3	0,03	0,02
	M K PS R	E K PS R
C0	0,05	0,04
C1	0,02	0,02
C2	0,02	0,01
C3	0,03	0,02



الشكل4.32: منحنى الوزن الجاف للجذور في الأسبوع الأخير.

التحليل:

تبين لنا نتائج الشكل -29.III- أن هناك اختلاف في الوزن الجاف للجذور عند الصنفين bartina و kondor في مختلف التراكيز C0 , C1 ,C2, C3 إذ نلاحظ تناقص للوزن الجاف عند التركيز C1 بعدما كان في أعلى قيمة له عند التركيز C0 وهذا بالنسبة للصنف bartina، بينما عند التركيز C2 فنلاحظ ثبات في الوزن C1، أما عند التركيز C3 فنلاحظ تزايد تدريجي في الوزن الجاف للجذور.

لكن بالنسبة للصنف kondor فنلاحظ تزايد تدريجي للوزن الجاف من التركيز C0 حتى التركيز C2 أين تكون أعلى قيمة له، بينما عند التركيز C3 فنلاحظ تناقص ملحوظ في الوزن الجاف للجذور.

أي أن التفوق كان للصنف bartina عند التركيز C0، بينما كان التفوق للصنف kondor عند التركيز C2.

C0

C1=25m mol Nacl

C2=100m mol Nacl

C3=150m mol Nacl

الشكل 1.33: تطور العقل الساقية الصغيرة (Microbouture) للصنف bartina في مختف تراكيز NaCl بعد 7ايام.

C0

C1=25m mol Nacl

C2=100m mol Nacl

C3=150m mol Nacl

الشكل 2.33: تطور العقل الساقية الصغيرة (microboutures) للصنف bartina في مختبف تراكيز NaCl بعد 15 يوم.

C0

C1=25Mmol Nacl

C2=100m mol Nacl

C3=150m mol Nacl

الشكل 3.33: تطور العقل الساقية الصغيرة (microboutures) للصنف bartina في مختلف تراكيز NaCl بعد 21 يوم.

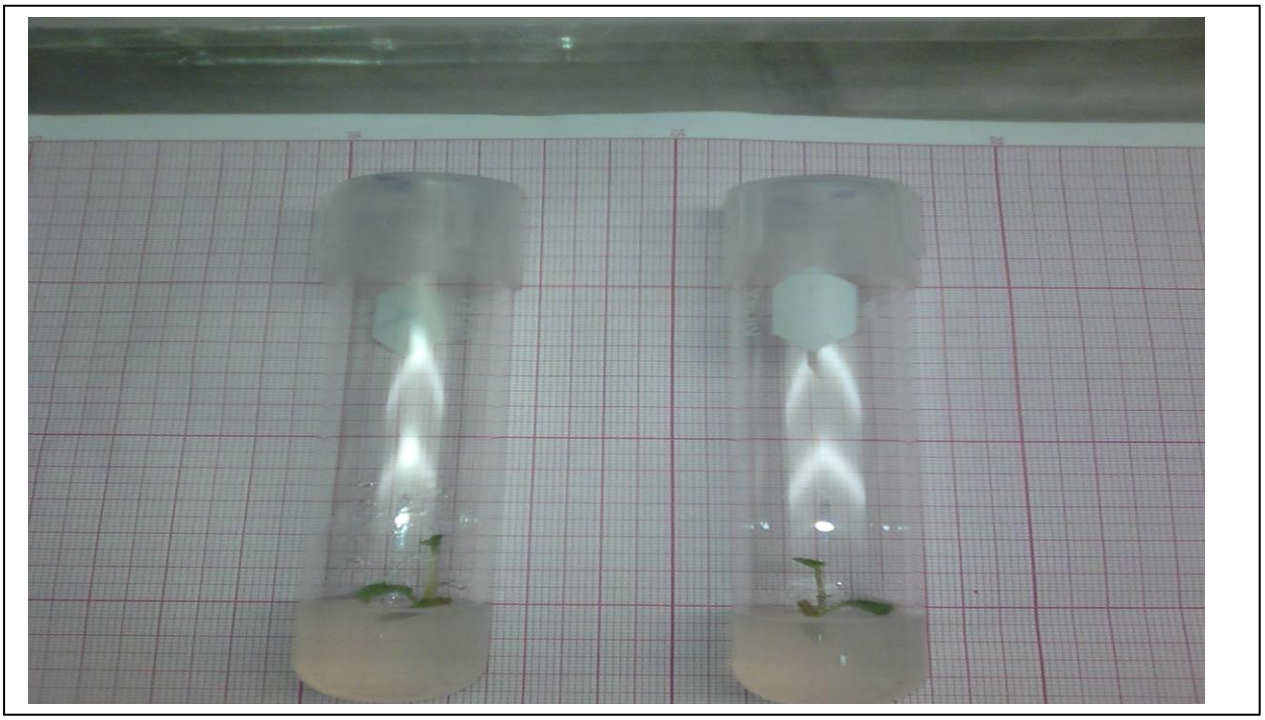
C1 = 25Mmol Nacl

C0

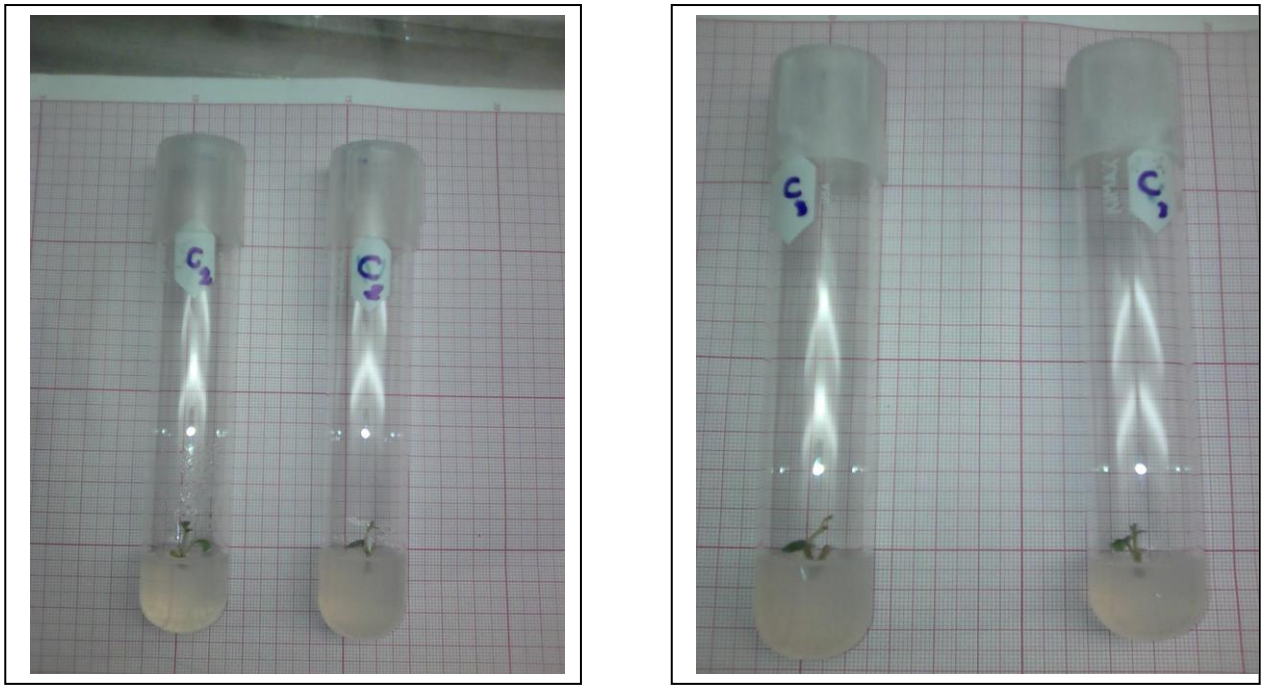
C3=150m mol Nacl

C2=100m mol Nacl

الشكل 4.33: تطور العقل الساقية الصغيرة (microboutures) للصنف bartina في مختلف تراكيز Nacl بعد 28 يوم.



C0 **C1=25m mol NaCl**



C2=100m mol NaCl **C3= 150m mol NaCl**

الشكل 1.34: تطور العقل الساقية الصغيرة (microboutures) للصنف kondor في مختلف تراكيز NaCl بعد 7 أيام.

C0

C1=25m mol Nacl

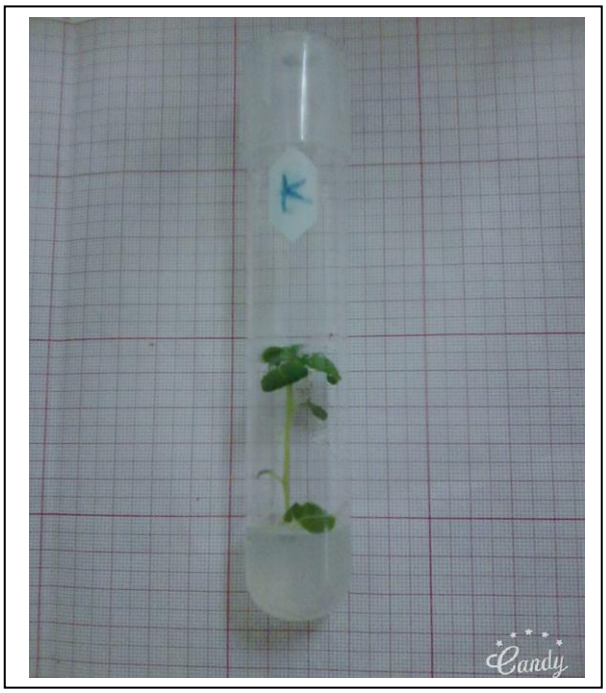
C2= 100m mol Nacl

C3= 150m mol Nacl

الشكل 2.34: تطور العقل الساقية الصغيرة (microboutures) للصنف kondor في مختلف تراكيز Nacl بعد 15 يوم.

C1= 25m mol Nacl

C0



C3=150 m mol Nacl

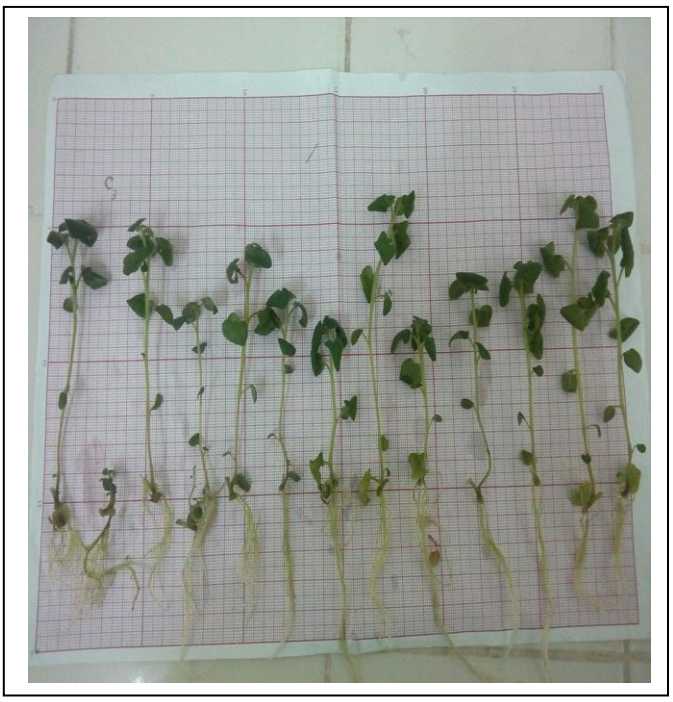
C2=100m mol Nacl

الشكل 3.34: تطور العقل الساقية الصغيرة (microboutures) للصنف kondor في مختلف تراكيز NaCl بعد 21 يوم.

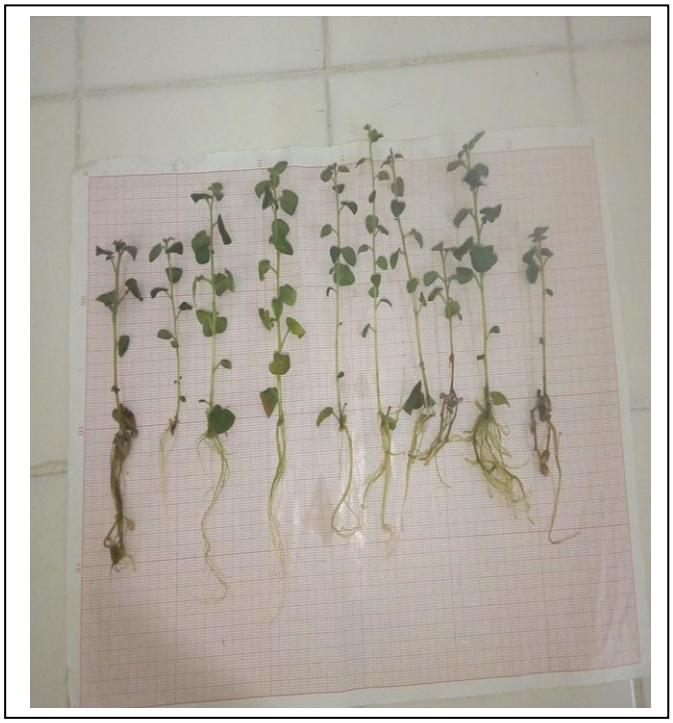
C0 C1 C2 C3

الشكل 4.34: تطور العقل الساقية الصغيرة (microboutures) للصنف kondor في مختلف تراكيز Nacl بعد 28 يوم.

C0



C1=25m mol Nacl

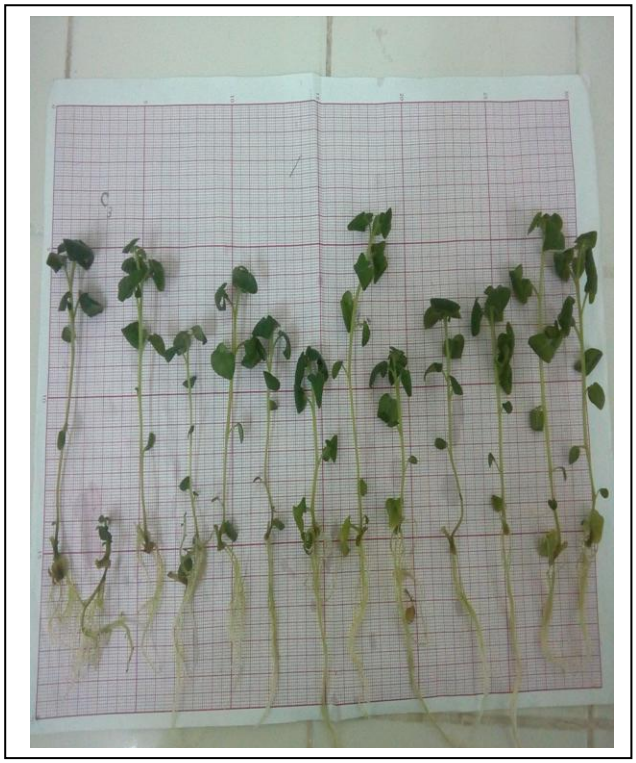


C2=100m mol Nacl

C3= 150m mol Nacl

الشكل 1.35: نمو وتطور النباتات الزجاجية للصنف bartina بعد 28 يوم

C0



C1=25m mol Nacl

C2= 100m mol Nacl

C3=150m mol Nacl

الشكل 2.35: نمو وتطور النباتات الزجاجية للصنف kondor بعد 28 يوم.

II- مناقشة التجربة الأولى:

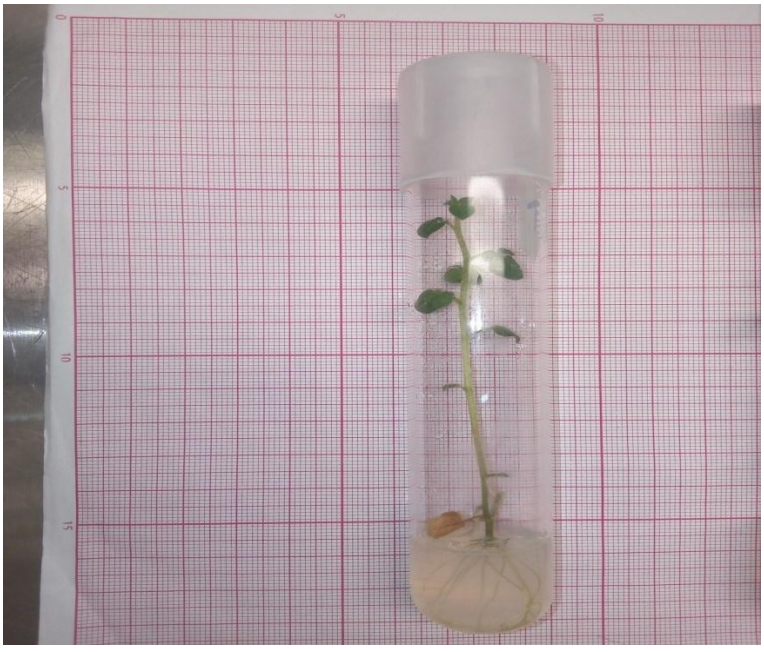
من خلال النتائج المتحصل عليها بالنسبة للصنفين و لجميع الخصائص المورفولجية التي تمت دراستها (طول الساق ، عدد الأوراق، عدد الجذور طول الجذور، الوزن الطازج، والوزن الجاف للساق والأوراق)، نلاحظ ان هناك تباين في مدى تحمل هذين الصنفين (bartina و kondor) للملوحة، إذ يتضح أن تأثير الإجهاد الملحي كان أكثر بروزا عند الصنف kondor مقارنة بالصنف bartina في جميع الخصائص.

حيث نلاحظ أن متوسط طول الساق بالنسبة للصنف kondor كان اقل منه بالنسبة للصنف bartina في مختلف التراكيز الملحية، أي أن طول الساق عند الصنف kondor كان أكثر تأثرا بالملوحة.

كما يظهر التأثير الفعلي للملوحة في عدد وطول الجذور المتكونة بالنسبة للصنف kondor، حيث كان عدد الجذور المتكونة اقل بكثير منها بالنسبة للصنف bartina خاصة عند التركيز C2=100m mol/L ، والتركيز C3=150m mol/L، اذ تعمل الملوحة على تثبيط النشاط الكامبيومي الذي يؤدي إلى تقليل تكشف الأنسجة الناقلة في الجذور ما ينعكس على صغر حجمها وخفض حجمها خاصة في التراكيز العالية وهذا ما أكده Jumson et al (2000) .

أما في ما يخص عدد الأوراق فان تأثير الملوحة لم يظهر بوضوح بالنسبة لكلا الصنفين في جميع مراحل النمو وفي مختلف التراكيز الملحية، إذ نلاحظ تشكل عادي للأوراق عند الصنفين مع تفوق نسبي للصنف bartina خاصة عند التركيز C2=100m mol/L.

إلا أن تأثير الملوحة على الأوراق ظهر مع مرور الأيام خاصة في الأسبوع الرابع إذ بدت على بعض الأوراق السفلية للصنفين بقع صفراء أدت إلى ذبولها وتساقطها، وهذا ما أكده Scholberg et locaxio.1999 على نبات الطماطم النامي في وسط مرتفع الملوحة إذ ظهرت بعض البقع الصفراء على الأوراق السفلية.



الشكل 36: بقع صفراء على الأوراق السفلية

كما نلاحظ انخفاض في الوزن الجاف عند الصنفين وذلك بسبب الانخفاض في النمو تحت الظروف الملحية، أما بالنسبة للوزن الطازج فإننا نلاحظ تباين في مدى تأثير الملوحة على الساق والجذور لكلا الصنفين.

من خلال هذه الدراسة توصلنا إلى انه هناك تباين في مدى تحمل أصناف البطاطا للملوحة، فنجد أن الصنف bartina أكثر تحمل للملوحة من الصنف kondor و ذلك من خلال الخصائص المرفولوجية وهذا ما توصل إليه أيضا طلبة ماجيستر في جامعة سوريا سهيل حداد و زملاؤه (2013) في دراستهم لبعض أصناف البطاطا ومدى تحملها للإجهاد الملحي وهي spunta وdraga و diamant .

فتوصلوا إلى أن الصنف spunta أكثر تحمل للملوحة يليه الصنف draga ثم الصنف diamant الذي كان اقل تحمل للملوحة وقد تبين ذلك بارتفاع نسبة الإنبات والزيادة في متوسط الطول والوزن الجاف للصنف مقارنة بالأصناف الأخرى.

كما أكد هذا من طرف كل من نبيل بو ضرصة و بن لعريبي معاذ (2016) من خلال دراستهما لعملية تجدد صنفي البطاطا spunta وdésirée ومدى تحملهما للملوحة حيث توصلا والى ان الصنف désirée أكثر تحمل للملوحة من الصنف spunta.

III- نتائج ومناقشة التجربة الثانية:

نلاحظ من خلال نتائج التجربة الثانية عدم نمو كل البراعم الجذرية المريستيمية في الحالتين (في وجود وغياب الفحم الناشط) مع ظهور عدوى فطرية وسط الزرع، أي أن هذه الزراعة لم تؤدي إلى نتائج ايجابية ويرجع ذلك إلى عدة أسباب أهمها:

- عدم توفر الشروط والظروف اللازمة المذكورة سابقا خاصة منها درجة الحرارة والضوء (فترة الإضاءة والظلام).
- كما أدى عدم توفر الشروط إلى ظهور عدوى فطرية في جميع الأنابيب وربما يرجع ذلك إلى عدم تحقيق شروط التعقيم التعقيم الجيد لجميع الأدوات ومكان العمل)، ونشير إلى أن ظاهرة العدوى الفطرية بدأت تظهر من الأسبوع الأول حيث عند تفحصنا للأنابيب الزراعية بالعين المجردة لاحظنا ظهور اللون الأسود، الأخضر والرمادي من ما يدل على وجود بعض الفطريات بقاعدة النبات آو بالوسط الزراعي.
- ظهور نوعين من الفطريات:
  - اللون الأسود Aspergillus Niger.
  - اللون الأخضر Penicillium.

الشكل 1.37: عدوى فطرية في جميع المكررات للتجربة الثانية

الشكل 2.37: عدوى فطرية في وسط يحتوي على الفحم النشط

الخاتمة:

تعد زراعة الأنسجة من أهم الطرق المستعملة حاليا والتي تسمح بإكثار النباتات خضريا بالإضافة إلى تحسين مختلف الأنواع النباتية، وهو ما جعل استخدامها بكثرة نظرا لتكلفتها المنخفضة وكفاءتها الكبيرة في إنتاج نباتات ذات جودة أفضل وفي وقت اقل بكثير من الطرق التقليدية.

وتعتبر تقنية الإكثار الدقيق la micropropagation من أحسن التقنيات التي تستخدم في هذا المجال وخاصة في إنتاج البذور.

وهذا ما تم استخدامه في العمل الذي قمنا به من اجل دراسة مدى تأثير كلوريد الصوديوم NaCl (تراكيز ملحية مختلفة) على صنفين من نبات البطاطا bartina و kondor وذلك بمتابعة مختلف الخصائص المرفولوجية لهذين الصنفين (طول الساق، عدد الأوراق، عدد الجذور، طول الجذور، بالإضافة إلى الوزن الطازج والجاف للساق والجذور)، حيث تم تقييم هذه الخصائص من خلال مستوى تحمل هذين الصنفين للملوحة حيث استخدمنا في هذا العمل ثلاث تراكيز ملحية مختلفة (150،100،25مل مول/اللتر) وذلك على مدار أربعة أسابيع حيث بينت نتائج الدراسة أن الصنف bartina كان اكثر تحملا للملوحة من الصنف kondor وذلك في جميع مراحل نمو وتطور الصنفين.

قائمة الملحقات

قائمة الملحقات

- قياسات مختلف الخصائص المورفولوجية في مختلف التراكيز على مدار أربع أسابيع

variétés	C	LT	NF	NR	PF T	PST	PF R	PS R
BAR	C0	1,8	3	2	0,2	0,2	0,3	0,1
BAR	C0	0,4	2	1	0,1	0,04	0,02	0,008
BAR	C0	1,7	3	2	0,3	0,01	0,1	0,04
BAR	C0	1,3	4	3	0,3	0,1	0,06	0,01
BAR	C0	1,3	3	3	0,2	0,06	0,06	0,01
BAR	C0	0,4	2	1	0,1	0,07	0,2	0,07
BAR	C0	0,9	3	1	0,3	0,1	0,1	0,03
BAR	C0	1	4	3	0,1	0,08	0,1	0,08
BAR	C0	1,8	4	1	0,3	0,2	0,2	0,1
BAR	C0	1,8	4	2	0,1	0,2	0,2	0,1
BAR	C0	4,5	7	8				
BAR	C0	1	3	2				
BAR	C0	4,7	7	8				
BAR	C0	3,7	6	8				
BAR	C0	3,8	5	5				
BAR	C0	3,6	7	6				
BAR	C0	4,2	6	9				
BAR	C0	3,9	6	9				
BAR	C0	5	7	6				
BAR	C0	5,2	8	5				
BAR	C0	5,3	7	8				
BAR	C0	2	8	2				
BAR	C0	5,7	8	8				
BAR	C0	4,4	8	8				
BAR	C0	6,2	9	5				
BAR	C0	5,8	9	10				
BAR	C0	5,7	8	11				
BAR	C0	4,3	8	9				
BAR	C0	6,2	8	7				
BAR	C0	5,9	8	5				
BAR	C0	6,7	9	9				
BAR	C0	3,4	10	5				
BAR	C0	6,2	11	10				
BAR	C0	6	10	8				
BAR	C0	6,9	10	5				
BAR	C0	7,3	11	12				
BAR	C0	7,5	10	12				
BAR	C0	5,5	9	10				
BAR	C0	7	9	6				
BAR	C0	6,7	9	7				

variétés	C	LT	NF	NR	PF T	PST	PF R	PS R
BAR	C1	0,7	2	1	0,3	0,09	0,06	0,009
BAR	C1	0,6	2	1	0,3	0,09	0,1	0,02
BAR	C1	0,5	2	1	0,3	0,12	0,1	0,01
BAR	C1	1,5	2	2	0,3	0,2	0,1	0,06
BAR	C1	1,7	4	2	0,2	0,1	0,06	0,01
BAR	C1	2,1	3	2	0,3	0,1	0,05	0,01
BAR	C1	1,7	1	2	0,1	0,07	0,04	0,009
BAR	C1	1	4	2	0,2	0,08	0,05	0,02
BAR	C1	1,5	1	1	0,2	0,08	0,06	0,02
BAR	C1	1,1	5	1	0,3	0,1	0,06	0,01
BAR	C1	2,3	4	7				
BAR	C1	3,3	5	4				
BAR	C1	3,6	4	9				
BAR	C1	4,8	3	5				
BAR	C1	5,1	5	7				
BAR	C1	3,9	4	7				
BAR	C1	3,9	3	8				
BAR	C1	3,9	5	4				
BAR	C1	4,1	3	6				
BAR	C1	4,4	5	8				
BAR	C1	3,5	6	7				
BAR	C1	4,8	8	6				
BAR	C1	4,5	7	9				
BAR	C1	6,1	1	5				
BAR	C1	6,5	8	8				
BAR	C1	4,7	6	7				
BAR	C1	5,9	6	8				
BAR	C1	4,7	7	5				
BAR	C1	5	6	6				
BAR	C1	5	7	8				
BAR	C1	5	7	10				
BAR	C1	5,7	8	7				
BAR	C1	5,5	7	7				
BAR	C1	8	1	9				
BAR	C1	7,3	8	8				
BAR	C1	5,4	7	7				
BAR	C1	5,7	7	7				
BAR	C1	5,3	7	5				
BAR	C1	5,7	8	7				
BAR	C1	5,5	10	8				

variétés	C	LT	NF	NR	PF T	PST	PF R	PS R
BAR	C2	0,3	1	2	0,2	0,1	0,07	0,03
BAR	C2	1,5	4	1	0,3	0,09	0,09	0,03
BAR	C2	0	0	1	0,4	0,1	0,1	0,04
BAR	C2	0	0	1	0,1	0,09	0,08	0,004
BAR	C2	1,6	4	1	0,3	0,1	0,09	0,02
BAR	C2	2,3	5	2	0,2	0,07	0,05	0,01
BAR	C2	0	0	1	0,6	0,1	0,09	0,02
BAR	C2	1,4	4	2	0,2	0,07	0,07	0,02
BAR	C2	0,8	2	2	0,4	0,1	0,07	0,01
BAR	C2	0,6	3	1	0,3	0,1	0,08	0,01
BAR	C2	3,8	7	10				
BAR	C2	5,1	8	4				
BAR	C2	2	2	1				
BAR	C2	0	0	2				
BAR	C2	5,7	7	9				
BAR	C2	4,5	7	8				
BAR	C2	4	5	5				
BAR	C2	3,2	7	6				
BAR	C2	4,5	6	5				
BAR	C2	2,8	6	7				
BAR	C2	5,5	7	10				
BAR	C2	6,5	8	5				
BAR	C2	6,5	6	3				
BAR	C2	0	0	2				
BAR	C2	7,2	9	9				
BAR	C2	5,6	9	8				
BAR	C2	8,6	9	6				
BAR	C2	4,8	8	6				
BAR	C2	6,3	8	6				
BAR	C2	3,8	7	7				
BAR	C2	6,8	10	11				
BAR	C2	6,9	10	8				
BAR	C2	8,8	9	9				
BAR	C2	0	0	2				
BAR	C2	8,8	9	12				
BAR	C2	6	9	9				
BAR	C2	9,4	9	8				
BAR	C2	5,3	10	9				
BAR	C2	6,8	10	9				
BAR	C2	4,6	9	8				

variétés	C	LT	NF	NR	PF T	PST	PF R	PS R
BAR	C3	1,7	5	3	0,1	0,07	0,2	0,01
BAR	C3	1,8	3	2	0,2	0,07	0,1	0,02
BAR	C3	1,9	4	1	0,2	0,1	0,04	0,01
BAR	C3	1,2	3	2	0,1	0,1	0,2	0,04
BAR	C3	0	0	2	0,1	0,06	0,2	0,06
BAR	C3	0,5	3	1	0,1	0,1	0,1	0,04
BAR	C3	0	0	1	0,3	0,1	0,1	0,02
BAR	C3	1,8	5	2	0,3	0,05	0,1	0,05
BAR	C3	0,3	2	1	0,1	0,1	0,1	0,01
BAR	C3	1,8	5	1	0,3	0,02	0,1	0,01
BAR	C3	3,4	8	8				
BAR	C3	4	7	8				
BAR	C3	4,4	7	5				
BAR	C3	2,4	5	3				
BAR	C3	4,2	6	4				
BAR	C3	1,5	4	5				
BAR	C3	4,8	6	6				
BAR	C3	4,7	6	11				
BAR	C3	0,7	3	2				
BAR	C3	4	7	9				
BAR	C3	4,6	9	8				
BAR	C3	5,3	9	8				
BAR	C3	6,3	9	5				
BAR	C3	3	5	3				
BAR	C3	6,1	9	7				
BAR	C3	3	6	5				
BAR	C3	5,7	8	9				
BAR	C3	5,9	9	11				
BAR	C3	1,8	7	2				
BAR	C3	5,3	8	9				
BAR	C3	5,2	11	8				
BAR	C3	6,2	10	11				
BAR	C3	7,1	11	8				
BAR	C3	5	7	4				
BAR	C3	6,7	10	6				
BAR	C3	4,3	8	9				
BAR	C3	7	9	12				
BAR	C3	6,2	9	12				
BAR	C3	2,7	9	3				
BAR	C3	5,5	11	9				

variétés	C	LT	NF	NR	PFT	PST	PF R	PS R
KON	C0	0,7	2	3	0,2	0,1	0,3	0,1
KON	C0	0,3	2	0	0,1	0,1	0,02	0,008
KON	C0	0,7	1	0	0,3	0,3	0,1	0,04
KON	C0	0,4	1	0	0,3	0,1	0,06	0,01
KON	C0	0,5	2	3	0,2	0,3	0,06	0,01
KON	C0	0,3	2	1	0,3	0,1	0,2	0,07
KON	C0	0,9	1	7	0,3	0,2	0,1	0,03
KON	C0	1	3	5	0,1	0,4	0,1	0,08
KON	C0	0,7	3	3	0,3	0,2	0,2	0,1
KON	C0	0,4	2	2	0,1	0,09	0,2	0,1
KON	C0	6	5	6				
KON	C0	1,5	2	1				
KON	C0	4,3	4	4				
KON	C0	1,4	2	1				
KON	C0	3,8	4	3				
KON	C0	2,7	4	4				
KON	C0	3,5	4	7				
KON	C0	6,2	5	8				
KON	C0	3,1	4	5				
KON	C0	3,5	4	3				
KON	C0	7,5	7	6				
KON	C0	1,5	2	1				
KON	C0	6,7	7	4				
KON	C0	2,6	5	1				
KON	C0	5,9	8	3				
KON	C0	4,6	7	3				
KON	C0	4,7	7	6				
KON	C0	7,8	8	6				
KON	C0	4	6	5				
KON	C0	4,5	6	3				
KON	C0	8,7	8	7				
KON	C0	2,2	2	2				
KON	C0	7,7	7	5				
KON	C0	5,9	6	3				
KON	C0	6,8	9	4				
KON	C0	5,5	7	3				
KON	C0	5,2	8	5				
KON	C0	9,7	10	8				
KON	C0	4,8	7	7				
KON	C0	6,5	7	4				

variétés	C	LT	NF	NR	PFT	PST	PF R	PS R
KON	C1	0,7	2	2	0,3	0,2	0,06	0,009
KON	C1	0,2	2	1	0,3	0,2	0,1	0,02
KON	C1	0,3	2	0	0,3	0,2	0,1	0,01
KON	C1	0,2	2	0	0,3	0,1	0,1	0,06
KON	C1	1,5	4	4	0,2	0,1	0,06	0,01
KON	C1	0,7	3	5	0,3	0,2	0,05	0,01
KON	C1	0,2	1	4	0,1	0,09	0,04	0,009
KON	C1	0,5	4	4	0,2	0,1	0,05	0,02
KON	C1	0,2	1	2	0,2	0,1	0,06	0,02
KON	C1	1,3	5	4	0,3	0,2	0,06	0,01
KON	C1	3,9	4	4				
KON	C1	3,5	5	2				
KON	C1	4,1	4	3				
KON	C1	0,6	3	1				
KON	C1	5,5	5	5				
KON	C1	2,3	4	3				
KON	C1	1,4	3	4				
KON	C1	1,3	5	4				
KON	C1	2,6	3	3				
KON	C1	3,2	5	5				
KON	C1	5,4	6	6				
KON	C1	5,9	8	5				
KON	C1	6	7	2				
KON	C1	2,5	1	1				
KON	C1	7,3	8	4				
KON	C1	3,2	6	3				
KON	C1	2,6	6	5				
KON	C1	2,3	7	4				
KON	C1	5,1	6	3				
KON	C1	4,5	7	4				
KON	C1	6,6	7	7				
KON	C1	6,9	8	7				
KON	C1	6,4	7	2				
KON	C1	2,5	1	2				
KON	C1	7,3	8	5				
KON	C1	3,4	7	3				
KON	C1	3,2	7	5				
KON	C1	3	7	6				
KON	C1	5,5	8	3				
KON	C1	4,9	9	6				

variétés	C	LT	NF	NR	PF T	PST	PF R	PS R
KON	C2	0,2	3	0	0,2	0,1	0,07	0,03
KON	C2	0,8	3	0	0,2	0,2	0,09	0,03
KON	C2	2,7	1	4	0,3	0,3	0,1	0,04
KON	C2	1,7	3	1	0,1	0,09	0,08	0,004
KON	C2	0,9	3	1	0,3	0,02	0,09	0,02
KON	C2	0,1	1	2	0,2	0,1	0,05	0,01
KON	C2	0	0	0	0,6	0,09	0,09	0,02
KON	C2	0,1	1	0	0,2	0,1	0,07	0,02
KON	C2	0,5	1	2	0,4	0,2	0,07	0,01
KON	C2	1	2	3	0,3	0,1	0,08	0,01
KON	C2	3,4	6	6				
KON	C2	3,5	6	3				
KON	C2	3	5	5				
KON	C2	3,3	7	3				
KON	C2	3	6	3				
KON	C2	3,4	5	3				
KON	C2	0	0	0				
KON	C2	1	3	0				
KON	C2	2,9	6	3				
KON	C2	2,8	5	4				
KON	C2	5,1	7	4				
KON	C2	4,8	7	3				
KON	C2	4,2	7	4				
KON	C2	6	8	3				
KON	C2	4	7	2				
KON	C2	5,1	7	3				
KON	C2	0,5	2	0				
KON	C2	0,8	3	1				
KON	C2	4,5	6	3				
KON	C2	3,5	5	3				
KON	C2	6,2	7	5				
KON	C2	5,3	9	4				
KON	C2	4,8	8	6				
KON	C2	7,2	9	5				
KON	C2	5,3	8	5				
KON	C2	6,2	7	3				
KON	C2	0,5	2	6				
KON	C2	0,8	3	7				
KON	C2	4,7	7	4				
KON	C2	3,6	6	5				

variétés	C	LT	NF	NR	PF T	PST	PF R	PS R
KON	C3	0,4	2	7	0,1	0,1	0,2	0,01
KON	C3	1,5	3	1	0,2	0,2	0,1	0,02
KON	C3	1,8	3	0	0,2	0,3	0,04	0,01
KON	C3	1,7	3	3	0,3	0,09	0,1	0,04
KON	C3	0,3	1	0	0,2	0,02	0,1	0,06
KON	C3	0,7	3	2	0,6	0,1	0,1	0,04
KON	C3	0,4	1	2	0,3	0,09	0,1	0,02
KON	C3	0,2	1	0	0,3	0,1	0,1	0,05
KON	C3	0,5	2	3	0,1	0,2	0,1	0,01
KON	C3	0,8	2	0	0,3	0,1	0,1	0,01
KON	C3	4,9	5	5				
KON	C3	3,5	7	3				
KON	C3	4,5	6	3				
KON	C3	2,3	5	5				
KON	C3	2,1	4	4				
KON	C3	2,1	6	2				
KON	C3	4,6	5	4				
KON	C3	2,1	5	4				
KON	C3	3,5	6	3				
KON	C3	1,5	3	2				
KON	C3	6,6	7	7				
KON	C3	5,4	8	4				
KON	C3	7,9	8	3				
KON	C3	3,6	6	3				
KON	C3	5,2	5	3				
KON	C3	3,3	7	2				
KON	C3	7,6	7	3				
KON	C3	3	5	1				
KON	C3	7,3	7	3				
KON	C3	1,7	1	3				
KON	C3	8,6	10	8				
KON	C3	6,2	8	4				
KON	C3	8,6	8	6				
KON	C3	4,9	8	4				
KON	C3	5,6	7	6				
KON	C3	4,2	8	3				
KON	C3	8	8	4				
KON	C3	4	7	4				
KON	C3	7,9	8	3				
KON	C3	1,7	1	3				

قائمة المراجع

- **المراجع بالعربية :**

1- **عبد الحميد عبد السلام أرحيم؛** 2002 - محاصيل الخضر. منشاة المعارف. الإسكندرية. مصر. الطبعة الأولى. ص 167 – 174.

2- **أنور الخطيب** ؛1991 - التكاثر النباتي في الزمر النباتية. ديوان المطبوعات الجامعية. الساحة المركزية بن عكنون الجزائر. رقم النشر 01-05-3509.

3- **بسام الصفدي** ؛ 1995 - تقنية زراعة الأنسجة وتطبيقاتها العلمية. قسم الزراعة الإشعاعية. هيئة الطاقة الذرية. الدورة التدريبية القومية حول إكثار تقاوي البطاطا. دمشق. سوريا.

4- **البيسكي فهد. حياة طوشان. عماد إسماعيل. فراس الشيحاوي؛** 2004 - تأثير كل من العمر الفيزيولوجي لبذار البطاطا وموعد الحصاد في معدل إنتاج الدرنات. مجلة بحوث جامعة حلب. 49-201-231. سوريا.

5- **حمزة قاسم حمزة** ؛ 1974- محاضرة في فسيولوجيا النبات. منشورات جامعة حلب. ص 33- 36. سوريا.

6- **حسن جندية** ؛2003 - فسيولوجيا أشجار الفاكهة. الدار العربية للنشر والتوزيع.

7- **ليديان كيت؛** 2000- نباتات من أنابيب الاختبار. دار الفكر للطباعة والنشر والتوزيع. عمان. الأردن.

8- محاضرات **الأستاذ بن لعريبي** ؛ 2017- تقنيات الإنتاج.

9- محمود عبد العزيز إبراهيم خليل؛ 2004- نباتات الخضر. منشاة المعارف. الإسكندرية. مصر. ص135-154.

10- **مسعود كاسر؛** 1981- أساسيات تربية النبات. منشورات جامعة حلب. ص 350.

11- **مروان حميدان** ؛ 1995 - الأوساط الغذائية المستخدمة في زراعة الأنسجة خصائصها ومكوناتها. جامعة تشرين. اللاذقية. سوريا.

12- **محمد احمد عوض؛** 2005 - أمراض النباتات الفيروسية ومسبباتها. كلية الزراعة. جامعة المنوفية. القاهرة. مصر. ص 213- 239.

13- **محمد عماد الدين عرابي؛** 1995 - المتطلبات والمواد والأجهزة اللازمة لاستخدام زراعة النسج. قسم الزراعة الإشعاعية. هيئة طاقة ذرية. ص ب 6091. دمشق. سوريا.

14- **نور القباني. فهد البيسكي. خليل المعري؛** 2014- العوامل المؤثرة في عزل البروتوبلاست الورقية في صنف البطاطا بينيلا. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية. المجلد 30. العدد 1. ص 29 – 46.

15- **صحراوي خيرة** ؛ 1995 - الإكثار الخضري لنبات الطماطم عن طريق الزراعة الأنبوبية. مذكرة DES في فسيولوجيا النبات. جامعة قسنطينة. ص 45.

16- **سوسن البشارة. سهيل حداد. سلام لاوندو**؛ 2013- دراسة بعض أصناف البطاطا المزروعة محليا للإجهاد الملحي. جامعة دمشق للعلوم الزراعية. المجلد 29. العدد 3. ص 165 – 180.

17- **طه عبد الله نصر**؛ 1977- إكثار أشجار الفاكهة القواعد العلمية والأساليب العصرية. دار المطبوعات الجديدة. الإسكندرية. مصر.

- **المراجع بالأجنبية:**

1- **Baziz K** ; 2004- La culture in vitro applique aux rosiers. micropropagation de *rosa cannin l.* thèse de magstér (AMP). univ. Constantine.

2- **Bernhards U** ;1998- La pomme de terre *solanum tuberosum L*.

3- **David C** et **Margara j** ;1979- L évolution en culture in vitro des méristèmes.

4- **Delteur** R ;1970 -Induction florale in vitro des plantes régénerées apartir d apex embryonnaires.

5- **Flowers T. J**. **Troke P**. **F**. and **Yeo A**. **R**;1977- The mécanisme of salt in where next? Aust. J. plant. Phisyol 22: 875 – 884.

6- **Flowers T. N**;2001- Mapping and characterization of new est. Derived microsatelites for potato (*solanum tuberosum L).*

7- **Gallais A. Bannerot H** ;1992- Amilioration des espèce végétales cultivées. Ed. INRA. Paris.

8- **Gamborg** et **al** ;1968- Exp. Celle. 50. 151.

9- **Gürels**. **Gürel E** et **Kaya Z** ;2002- Protopast fusion in suger beet (beta vulgaris L) biologie. Turk.

10- **Hawkes J**. **G**;1990- The potato. Evolution biodiversity and génètic resources. London. Belhaven press. 259 p.

11- **Khennouf H**;2002 - Contribution a l'étude de la diversité biologique de l'olivier. Thèse de magistère. Univ. Constantine. Fac: sci. DSNV. P 29 – 33.

12- **Koyro H W;**2000 - Effect of high Nacl – salinity on plant growth. Leaf morphologie and ion composition in leaf tissue.

13- **J. H. Dodds** et **L. W.** Roberts;1982 - experiments in plant tissue culture can-bridge university press. Newyork.

14- **Margara J** ;1989 - Base de la multiplication végétative. Les méristèmes et l'organogènes. Institut national de la recherche. Agronomique.

15- **Munns R** et **Termatt**. **A** ;1986 - Whole plant reponse to salinity. Australien journal of plant physiologie. 13 : 143-160.

16- **Munns R**;2010 - salinity and plant tolerance. electronic publishing. Utah state. university extension.

17- **Munns R** and **Y**. **S**. **Testre**; 2010 - salinity growth and phytohermons. In. salinity : environnement plants molecules-L anchli A. luttge U. ed. Dordrecht : Kluwer academic. Publishers. 271. 290.

18- **Murashigue**. **T** and **Skoog**. **F**;1962 - A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissus cultures. Physiologia plantarum. 15 : 473_497.

19- **Nitsch' S** et **al** (**Nitsch** and **Nitsch**); 1969 - Sci. N. Y.

20- **Ochette C**; 2005 - growth. quality and biotechnology. WFP. publisher. Finland.

21- **Oswaldo T** ;2010 - Hommage de la pomme de terre. Heds. Haute école de santé Genéve. Filiére nutritio et diététique. P 11.

22- **Prevost P** ;1999 - Les bases de l'agriculture. Ed. INRA. PARIS. 156.

23- **Robert D. Dumas C** and **Bajon**; 1989 - La reproduction Ed. Doin. Paris. P 384.

24- **Robert H** ; 2002 - Biotecnologie végétales. Technique de laboratoire AUF (Agence Universitaire Francophonie).

25- **Sabah .S. Tal M**; 1990 - Developement of callus and suspension culture of potato résistant to Nacl and mannital their repense to stress. Plant _cell_tiss_org. Cult. 21. 119. 121.

26- **Sin habab K**. and **Kumar H**; 2003 - The effect of salt stress.

27- **Stevens R** and **Heap M**; 2001 - Saline irrigation water. an australian perspective south australian research and developement institut.

28- **White** ; 1953 - Am. J. Bot. 40. 517. 524.

- **المواقع الالكترونية:**

1- http://www.reef.gov.sy/agri/potato.hTm

2- http://www._Potato.2008.org/Fv/monde Afrique html. (année internationale de la pomme de terre 2008)

3- http://www. Agronomie.info/مرفولوجيا نبات البطاطا/amp

4- http://www.alghad.com/m/article/769477.أهم-طرق-التكاثر الخضري-للنباتات

5- http://www.marefa.org/بطاطس

6- http://www.agronomie.com

7- http://www.biologie.univ-mrs.fr/uplood/p210/1-culture-in-vitro-partice-2006.pdf

8- http://www.onlinesciencenotes.com/basic-steps-plant-tissue-culture-importance/

الملخص:

سمحت لنا الدراسة التي قمنا بها والمتمثلة في إكثار نبات البطاطا خضريا عن طريق زراعة الأنسجة والتي أجريت بشركة SAGRODEV لتطوير الفلاحة بتحقيق الهدف الذي حدد بالبداية وهو إمكانية تجديد شتلات بطاطا *Solannum tuberosum L* من الصنفين bartina و kondor في بيئة غذائية مصنعة ومحضرة تحت تأثير الملوحة وذلك باستعمال ثلاث تراكيز ملحية من كلوريد الصوديوم (150.100.25) ميلي مول / اللتر، بالإضافة إلى الشاهد في وسط زراعي من نوع MS. بحيث كان لكل تركيز عشرة مكررات وبالتالي أنجزت هذه التجربة على 80 وحدة تجريبية وتحت ظروف محكمة.

كما تم التوصل من خلال هذه الدراسة إلى معرفة مدى تأثير الملوحة على هذين الصنفين من نبات البطاطا وذلك من خلال تتبع جميع مراحل النمو والتطور لستة خصائص مرفولوجية (طول الساق، عدد الأوراق، عدد الجذور، طول الجذور،بالإضافة إلى الوزن الطازج والجاف) وهذا على مدار أربعة أسابيع، حيث بينت هذه النتائج أن استجابة البطاطا للملوحة تختلف حسب الأصناف وحسب التراكيز الملحية إذ بينت النتائج أن الصنف bartina كان أكثر تحملا للملوحة من الصنف kondor.

في حين أن التجربة التي أقيمت في مخبر تطوير وتثمين المصادر الوراثية بشعبة الرصاص لم يتم الحصول من خلالها على أي نتيجة وذلك لعدم توفر الشروط اللازمة.

Résumé

Notre étude de la multiplication végétative du pomme de terre a travers la culture in vitro, (menée a SAGRODEV société agro développement).nous a permis d atteindre l'objectif initialement fixe pour la possibilité de régénérer la plante de pomme de terre *Solanum tuberosum L*. de deux variété kondor et bartina dans un milieu prépare sous l influence de la salinité (de type MS) , avec trois concentration de NaCl (25.100.150m mol/L) et un témoin (C0) en faisant dix répétition , Ce travail a été mené sur 80 unité expérimentales dans des conditions contrôle.

Cette étude nous a permis de connaitre l'effet de la salinité sur la micro propagation in vitro de variété de pomme de terre bartina et kondor en suivant la croissance et le développement de six caractère morphologique (longueur de la tige, nombre de feuilles, nombre des racines, poids frais et poids sec) pendant quatre semaines.

Ces résultat ont montré que la réponse des vitro plantes au stress salin varie selon la variété et les concentration en sel, les résultats ont montré que bartina était plus tolérant a la salinité que kondor.

Alor que l expérience menée en laboratoire de développement et l'évaluation des ressource génétique (Chaabat Rsas d universités mentouri de Constantine) n a donne aucun résultat, en raison du manque de condition

Abstract

Our study allowed us to investigate potato propagation That is cultivated through cultur in vitro. (Which is conducted in the company of SAGRODEV, to develop agriculture).

Achieving the goal that is specified from the begining, which is the possibility of regenerate potato seedings. (*Solanum tuberosum L.*)

of the two categories bartina and kondor, in an environment which are nutritious, manifactured and prepared under the infleunce of salinity, by using three based saline from sodium chloride (25.100.150 m mall /liter) in addition to a witness in an agricultural environment

type of MS, in which it was for each based saline ten repetions, therefore, this experiment was conducted on 80 experimental unit, under regular circumnstances.

As has already been reached under this study , to know how much salinity can infleunce this type pf plant of potato , and this from the following type of growing and development to six morphological characteristics (stualk, number of leaf , number of roots, lengh of roots , in addition to fresh weight and dry zucchini.)

And this over for weaks where these results showed That potato reaction to salinity is different from categories according to the based salinity , which indicated that the results showed That the category of bartina was more resisted to salinity from the category of konsdor.

while the experience which was conducted in the laboratory of development and evaluation of genetic resources in chaabat resas , not obtained throgh them any results, and this for the lack of the necessary conditions .

من اعداد: ايسعد نادية
علمي عديلة

السنة الجامعية: 2017/2018

موضوع البحث: بيولوجيا التجدد عند النبات
تقنية الإكثار الدقيق لصنفين من نبات البطاطس *Solanum tuberosum L.* (bartina kondor) تحت الإجهاد الملحي

مذكرة لنيل شهادة الماستر في بيولوجيا وفسيولوجيا النبات

الملخص:

سمحت لنا الدراسة التي قمنا بها والمتمثلة في إكثار نبات البطاطا خضريا عن طريق زراعة الأنسجة والتي أجريت بشركة SAGRODEV لتطوير الفلاحة بتحقيق الهدف الذي حدد منذ البداية وهو إمكانية تجديد شتلات بطاطا *Solannum tuberosum L* من الصنفين bartina و kondor في بيئة غذائية مصنعة ومحضرة تحت تأثير الملوحة وذلك باستعمال ثلاث تراكيز ملحية من كلوريد الصوديوم (25،100،150) مل مول / اللتر، بالإضافة إلى الشاهد في وسط زراعي من نوع MS. بحيث كان لكل تركيز عشرة مكررات وبالتالي أنجزت هذه التجربة على 80 وحدة تجريبية وتحت ظروف محكمة.

كما تم التوصل من خلال هذه الدراسة إلى معرفة مدى تأثير الملوحة على هذين الصنفين من نبات البطاطا وذلك من خلال تتبع جميع مراحل النمو والتطور لستة خصائص مرفولوجية (طول الساق، عدد الأوراق، عدد الجذور، طول الجذور،بالإضافة إلى الوزن الطازج والجاف) وهذا على مدار أربعة أسابيع، حيث بينت هذه النتائج أن استجابة البطاطا للملوحة تختلف حسب الأصناف وحسب التراكيز الملحية إذ بينت النتائج أن الصنف bartina كان أكثر تحملا للملوحة من الصنف kondor.

في حين أن التجربة التي أقيمت في مخبر تطوير وتثمين المصادر الوراثية النباتية بشعبة الرصاص جامعة قسنطينة لم يتم الحصول من خلالها على أي نتيجة وذلك لعدم توفر الشروط اللازمة.

الكلمات المفتاحية: تكاثر النباتات – زراعة الأنسجة – الإكثار الدقيق – نبات البطاطا – الوسط MS

مخبر البحث: شركة تطوير الفلاحة بولاية سطيف، و مخبر تطوير وتثمين المصادر الوراثية بشعبة الرصاص

لجنة المناقشة:

رئيس اللجنة: قارة يوسف	أستاذ التعليم العالي	جامعة الإخوة متنوري- قسنطينة
المشرف: بن لعريبي مصطفى	أستاذ التعليم العالي	جامعة الإخوة متنوري- قسنطينة
الممتحن: زغمار مريم	أستاذة محاضرة	جامعة الإخوة متنوري- قسنطينة

تاريخ الإلقاء: 2018/06/21