الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la recherche Scientifique
المدرسة الوطنية العليا لفلاحية – الحراش – الجزائر
Ecole Nationale Superieure Agronomique - El Harrach - Alger

مدرسة الدكتوراه: علم التقانة الحيوية النباتية **Ecole Doctorale: Biotechnologies Végétales**

مذكرة
مقدمة لنيل شهادة الماجستير

في علم التقانة الحيوية النباتية
Biotechnologies végétales

من تقديم الطالب

ابن الضيف الحامدي

موضوع المذكرة

التباينات الجسمية المحدثة عند نبات البطاطس (*Solanum tuberosum* L.) تحت الظروف المخبرية قصد تحسين مقاومتها للملوحة.

Variations somaclonales induites *in vitro* sur la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) pour améliorer sa résistance à la salinité.

أعضاء لجنة المناقشة:

كاملي عبد الكريم	أستاذ	المدرسة العليا للأساتذة –القبة. الجزائر	رئيسا
بوجنيبة مسعود	أستاذ محاضر	المدرسة العليا للأساتذة – القبة. الجزائر	مشرفا
بوزناد زواوي	استاذ	المدرسة الوطنية العليا للعلوم الفلاحية–الحراش. الجزائر	ممتحنا
محديد محمد	أستاذ مساعد "أ"	المدرسة العليا للأساتذة – القبة. الجزائر	ممتحنا

نوقشت يوم: 21-01-2010- على الساعة 10 سا

التشكرات Remerciments

قبل كل شيء، الشكر لله الذي أمدني بالإرادة والقوة لتحقيق هذا العمل المتواضع، فالحمد والشكر لله أولا وآخرا على عونه وفضله لإتمام هذا العمل.

اشكر شكرا جزيلا الاستاذ: **عبد الكريم كاملي**، على قبوله تراس لجنة مناقشة المذكرة و اثراءها، و النصائح المقدمة خلال انجاز العمل. كما اشكر الاساتذة **زواوي بوزناد، محمد محديد**، على قبولهم مناقشة المذكرة وإثراءها.

أسمى معاني الشكر والتقدير للأستاذ **مسعود بوجنيبة**، أستاذ محاضر بالمدرسة العليا للأساتذة بالقبة، لقبوله الإشراف على هذا العمل، تشجيعا ته، مساعدته، نصائحه الثمينة، ومتابعته المستمرة والكاملة لسير العمل وباهتمام.

الشكر الخالص لكل عمال الشركة الوطنية للتطور الفلاحي بسطيف. **مدير الشركة**، **سعدون كريمة**، **بقرار فريد**، على المساعدات والتسهيلات المقدمة خلال انجاز العمل.

أفضل عبارات الشكر للأستاذ **خليفي لخضر،** أستاذ محاضر بالمدرسة الوطنية العليا للعلوم الفلاحية، مسؤول مدرسة الدكتوراه على المساعدات والتسهيلات، والنصائح المقدمة.

لعمال المركز الوطني لمراقبة البذور والمشاتل وتصديقها بالحراش-الجزائر، على تمويلينا بالدرنات وبعض التوجيهات.

الشكر الجزيل على كل مساعدة ولو بكلمة تشجيعية، لكل من لم يذكر اسمه في هذه القائمة البسيطة، اخص بالذكر طلبة مدرسة الدكتوراه علم التقانة الحيوية النباتية 2007 خ□ة الزميل **لغزالي محمد** على كل مساعداته لي.

لكل العائلة الكبيرة والصغيرة، الشكر والعرفان على التشجيع المستمر والمتو□ل، والعمل مهدا لهم ولكل من يعرف **الحامدي** ويحمل لقب **بن ضيف**.

بن ضيف

قائمة المختصرات Liste des abréviations

المختصر	التسمية بالفرنسية	التسمية بالعربية
CNCC	**Centre National de Contrôle et de Certification des semences et plants**	المركز الوطني لمراقبة البذور والمشاتل وتصديقها
CDRS	**Centre de Distribution Régional des Sels**	المركب الجهوي لتوزيع الملح – الجزائر
SAGRODEV	**Societie AGRO DEV**	الشركة الوطنية للتطوير الفلاحي
ds m^{-1}	**decisiemens*meter**	
MS	**Milieu de culture de Murashige et Skoog (1962)**	وسط زراعة **Murashige et Skoog (1962)**
BAP	**Benzyl Amino Purine**	
NAA	**Naphthalene Acetic Acid**	
2,4-D	**2,4-Dichlorophenoxy acetic acid**	
IAA	**Indole-3-Acetic Acid**	
Kin	**Kinetin**	
GA3	**Gibberellic Acid**	
M	**Milieu**	الوسط
EXP	**Explant**	الفسيلة
VAR	**Varieté**	الصنف
EN	**Entre-noeud**	السلميات
F	**Feuille**	الاوراق
CN	**Cal devlopé en milieu Normal - temoin**	الكالوس العادي النامي في الوسط الخالي من الملح – الشاهد
CS150. CS 200	**Cal devlopé en milieu Salin**	الكالوس العادي النامي في وسط مدعم بالملح **150**، **200** ملي مول **NaCl**
SN150-0	**Cal adapté au Sel devlopé en milieu Normal**	كالوس مكيف لوسط ملحي **150** ملي مول **NaCl** ينمو في وسط خال من الملح
SS150-200 SS150-150	**Cal adapté au Sel devlopé en milieu Salin**	كالوس مكيف لوسط ملحي **150** ومنمى في **150** او **200** ملي مول **NaCl**
CMR	**la Croissance Moyenne Relative**	النمو المتوسط النسبي
قائمة المختصرات الخاصة بتحليل المتغير **Liste des abréviations relatives à l'analyse de la variance**		
CM	**Carré moyen**	
DDL	**Degré De Liberté**	
Pr	**Probabilité**	
SCE	**Somme des Carrées des Ecarts**	
*	**Significative au seuil de 5 %**	المعنوية عند عتبة 5 %
**	**Significative au seuil de 1 %**	المعنوية عند عتبة 1 %
***	**Significative au seuil de 0,1 %**	المعنوية عند عتبة 0.1 %
LSD	**Least Sinificant Difference**	اقل فرق معنوي

قائمة الجداول Liste des tableaux

الجدول 1.1: بعض الأعمال المخبرية الخاصة بتقدير تحمل الملوحة لدى نبات البطاطس على مستوى الكالوس..... 13
الجدول 2.1: تراكيز منظمات النمو المستعملة لإنتاج الكالوس عند نبات البطاطس من طرف بعض الباحثين..... 19
الجدول 1.2: مكونات وسط الزراعة **MS, 1962**..... 26

الجدول 2.2: وسط الزراعة المستعمل في التجربة..... 27
الجدول 3.2: تحضير محاليل التخزين لتحضير وسط الزراعة المستعمل في التجربة..... 27
الجدول 4.2: تراكيز منظمات النمو المستعملة لإنتاج الكالوسات في التجربة..... 28
الجدول 5.2: خصائص ملح **NaCl** المستعمل في التجربة..... 29
الجدول 6.2: تراكيز ملح **NaCl** المستعملة في تكييف الكالوسات..... 30

قائمة الأشكال Liste des figures

الشكل 1.1: مرفولوجيا نبات البطاطس– الجزء الترابي..... 5

الشكل 2.1: بعض درنات نبات البطاطس..... 5

الشكل 1.2: درنات أصناف البطاطس المستعملة في التجربة..... 25

الشكل 2.2: النبتات الزجاجية المستعملة في التجربة..... 25

الشكل 3.2: بعض الأجهزة المستعملة في التجربة..... 29

الشكل 4.2: رسم تخطيطي يوضح مجمل مخطط العمل 32

الشكل 1.3: معدل تاثير الوسط الزراعي على سرعة تشكل الكالوسات عند البطاطس..... 34

الشكل 2.3: معدل تاثير نمط الفسيلة على سرعة تشكل الكالوسات عند البطاطس..... 35

الشكل 3.3: معدل تاثير النمط الوراثي على سرعة تشكل الكالوسات عند البطاطس 36

الشكل 4.3: تاثير الوسط الزراعي ونمط الفسيلة والنمط الوراثي على نسبة تشكل الكالوس عند البطاطس..... 36

الشكل 5.3: معدل تاثير الوسط الزراعي على نسبة تشكل الكالوس عند البطاطس..... 37

الشكل 6.3: معدل تاثير نمط الفسيلة على نسبة تشكل الكالوس عند البطاطس..... 37

الشكل 7.3: معدل تاثير النمط الوراثي على نسبة تشكل الكالوس عند البطاطس 38

الشكل 8.3: خصائص الكالوس (النمط واللون) عند البطاطس 39

الشكل 9.3: تاثير الوسط الزراعي ونمط الفسيلة والنمط الوراثي على قيم الوزن الرطب للكالوسات عند البطاطس... 41

الشكل 10.3: معدل تاثير الوسط الزراعي على قيم الوزن الرطب للكالوسات عند البطاطس 41

الشكل 11.3: معدل تاثير نمط الفسيلة على قيم الوزن الرطب للكالوسات عند البطاطس 42

الشكل 12.3: معدل تاثير النمط الوراثي على قيم الوزن الرطب للكالوسات عند البطاطس 43

الشكل 13.3: تاثير الوسط الزراعي ونمط الفسيلة والنمط الوراثي على قيم الوزن الجاف للكالوسات عند البطاطس.. 43

الشكل 14.3: معدل تاثير الوسط الزراعي على قيم الوزن الجاف للكالوسات عند البطاطس 44

الشكل 15.3: معدل تاثير نمط الفسيلة على قيم الوزن الجاف للكالوسات عند البطاطس 44

لشكل 16.3: معدل تاثير النمط الوراثي على قيم الوزن الجاف للكالوسات عند البطاطس 45

الشكل 1.4: تاثير الملوحة على معدل تشكل الكالوس عند اربعة اصناف من البطاطس..... 46

لشكل 2.4: خصائص الكالوسات (النمط واللون) المتحصل عليها بالانتقاء التدريجي في الوسط الملحي عند البطاطس 58

الشكل 3.4: تاثير الملوحة على قيم الوزن الرطب للكالوسات غير المكيفة عند البطاطس (الصنف *Désirée*)..... 60

الشكل 4.4: تاثير الملوحة على قيم الوزن الرطب للكالوسات غير المكيفة عند البطاطس (الصنف *Spunta*)..... 60

الشكل 5.4: تاثير الملوحة على قيم الوزن الرطب للكالوسات غير المكيفة عند البطاطس (الصنف *Bartina*)..... 61

الشكل 6.4: تاثير الملوحة على قيم الوزن الرطب للكالوسات غير المكيفة عند البطاطس (الصنف *Kondor*)..... 62

الشكل 7.4: معدل تاثير الملوحة على قيم الوزن الرطب للكالوسات غير المكيفة عند البطاطس 62

الشكل 8.4: تاثير الملوحة على قيم الوزن الجاف للكالوسات غير المكيفة عند البطاطس الصنف (*Désirée*)..... 63

الشكل 9.4: تاثير الملوحة على قيم الوزن الجاف للكالوسات غير المكيفة عند البطاطس الصنف (*Spunta*)..... 63

الشكل 10.4: تاثير الملوحة على قيم الوزن الجاف للكالوسات غير المكيفة عند البطاطس الصنف (*Bartina*)..... 63

الشكل 11.4: تاثير الملوحة على قيم الوزن الجاف للكالوسات غير المكيفة عند البطاطس الصنف (*Kondor*)..... 64
لشكل 12.4: معدل تاثير الملوحة على قيم الوزن الجاف للكالوسات غير المكيفة للكالوس عند البطاطس 65
الشكل 13.4: الوزن الرطب والجاف لمختلف انماط الكالوسات الصنف (*Désirée*)..... 65
الشكل 14.4: الوزن الرطب والجاف لمختلف انماط الكالوسات الصنف (*Spunta*)..... 66
الشكل 15.4: الوزن الرطب والجاف لمختلف انماط الكالوسات الصنف (*Bartina*)..... 66
الشكل 16.4: الوزن الرطب والجاف لمختلف انماط الكالوسات الصنف (*Kondor*)..... 66
الشكل 17.4: معدل قيم الوزن الرطب والجاف لمختلف انماط الكالوسات لاربعة أصناف من البطاطس 67
الشكل 18.4: تاثير الملوحة على النمو المتوسط النسبي للكالوسات غير المكيفة عند البطاطس الصنف (*Désirée*).. 68
الشكل 19.4: تاثير الملوحة على النمو المتوسط النسبي للكالوسات غير المكيفة عند البطاطس الصنف (*Spunta*)... 68
الشكل 20.4: تاثير الملوحة على النمو المتوسط النسبي للكالوسات غير المكيفة عند البطاطس الصنف (*Bartina*).. 69
الشكل 21.4: تاثير الملوحة على النمو المتوسط النسبي للكالوسات غير المكيفة عند البطاطس الصنف (*Kondor*).. 69
الشكل 22.4: تاثير الملوحة على النمو المتوسط النسبي لمختلف انماط الكالوسات عند البطاطس الصنف (*Désirée*) 70
الشكل 23.4: تاثير الملوحة على النمو المتوسط النسبي لمختلف انماط الكالوسات عند البطاطس الصنف (*Spunta*). 70
الشكل 24.4: تاثير الملوحة على النمو المتوسط النسبي لمختلف انماط الكالوسات عند البطاطس الصنف (*Bartina*) 70
الشكل 25.4: تاثير الملوحة على النمو المتوسط النسبي لمختلف انماط الكالوسات عند البطاطس الصنف (*Kondor*) 71
الشكل 26.4: تاثير الملوحة على المحتوى المائي للكالوسات غير المكيفة عند البطاطس الصنف (*Désirée*)..... 71
الشكل 27.4: تاثير الملوحة على المحتوى المائي للكالوسات غير المكيفة عند البطاطس الصنف (*Spunta*)..... 72
الشكل 28.4: تاثير الملوحة على المحتوى المائي للكالوسات غير المكيفة عند البطاطس الصنف (*Bartina*)..... 72
الشكل 29.4: تاثير الملوحة على المحتوى المائي للكالوسات غير المكيفة عند البطاطس الصنف (*Kondor*)..... 72
الشكل 30.4: تاثير الملوحة على المحتوى المائي لمختلف انماط الكالوسات عند البطاطس الصنف (*Désirée*)..... 73
الشكل 31.4: تاثير الملوحة على المحتوى المائي لمختلف انماط الكالوسات عند البطاطس الصنف (*Spunta*)..... 74
الشكل 32.4: تاثير الملوحة على المحتوى المائي لمختلف انماط الكالوسات عند البطاطس الصنف (*Bartina*)..... 74
الشكل 33.4: تاثير الملوحة على المحتوى المائي لمختلف انماط الكالوسات عند البطاطس الصنف (*Kondor*)..... 74
الشكل 34.4: تغيرات معامل الحساسية للملوحة عند البطاطس معبر عنها بالوزن الجاف للكالوسات..... 75
الشكل 35.4: معامل الحساسية للملوحة لمختلف انماط الكالوسات عند البطاطس..... 76

فهرس الموضوعات Sommaire

المقـــدمة... 01

الفصل الاول: البحث المرجعي. 03

1. عموميات وتذكير حول نبات البطاطس 04

1.1 التعريف بالنبات 04

2.1 الأصل والتطور.. 04

3.1 مرفولوجيا نبات البطاطس 04

6.1 فيزيولوجيا نبات البطاطس.. 05

4.1 تصنيف نبات البطاطس 06

5.1 أهمية واستعمالات البطاطس... 07

7.1 مكانة البطاطس في الزراعة العالمية.. 07

8.1 مكانة البطاطس في الزراعة الجزائرية.. 08

2. الملوحة... 08

1.2 ملوحة التربة.. 08

2.2 مصدر الاملاح في التربة.. 09

3.2 قياس ملوحة التربة... 09

4.2 تأثير الملوحة.. 10

5.2 استجابة النباتات للملوحة 11

6.2 الملوحة واستجابة البطاطس.. 13

3. تحسين البطاطس وعلم التقانات الحيوية.. 14

1.3 نبذة تاريخية.. 14

2.3 التقانات الحيوية المستعملة لتحسين نبات البطاطس.. 14

1.2.3 التحويل الوراثي.. 14

2.2.3 تقنية أحادية ثنائية الصيغة الصبغية... 14

3.2.3 التهجين الجسمي.. 15

4.2.3 التباين الجسمي 15

1.4.2.3 تعريف التباين الجسمي 15

2.4.2.3 مبدأ التغيرات الجسمية 16

3.4.2.3 أصل التباينات الجسمية 16

4.4.2.3 مراحل إنتاج التباينات الجسمية 17

4.4.2.3 أهمية التباين الجسمي.. 17

5.4.2.3 العوامل المؤثرة على التباين الجسمي 17

6.4.2.3 تقييم التغيرات الجسمية 20

7.4.2.3 ايجابيات التباين الجسمي 20

8.4.2.3 سلبيات التغيرات الجسمية 20

4.الانتقاء المخبري:.. 21

1.4 نبذة تاريخية.. 21

2.4 تعريف الانتقاء المخبري... 21

3.4 أهمية الزراعة النسيجية في الانتقاء الملحي.. 21

4.4 انتقاء للنباتات المقاومة للملوحة..... 22
الفصل الثاني: الطرق والوسائل..... 23
1. أهداف التجربة..... 24
2. مكان التجربة..... 25
3. المادة النباتية..... 25
4. طريقة الزراعة..... 26
5. تقييم النتائج..... 30
الفصل الثالث: النتائج والمناقشة..... 33
1. نتائج تشكل الكالوسات..... 34
1.1 تشكل الكالوسات 34
2.1 وصف الكالوسات: النسيج واللون..... 38
3.1 نمو الكالوسات..... 40
2.مناقشة نتائج تشكل الكالوس 47
3. نتائج تكييف الكالوسات للملوحة..... 55
1.3. معدل تشكل الكالوسات..... 56
2.3.وصف الكالوسات المتحصل عليها..... 57
3.3.نمو الكالوسات..... 60
1.3.3. تطور الكالوسات..... 60
1.1.3.3.الوزن الرطب للكالوسات غير المكيفة للملح عند مختلف تراكيز الملح..... 60
2.1.3.3.الوزن الجاف للكالوسات غير المكيفة للملح عند مختلف تراكيز الملح..... 62
3.1.3.3.الوزن الرطب والجاف لمختلف أنماط الكالوسات..... 65
2.3.3. النمو المتوسط النسبي للكالوسات 67
4.3. تحديد المحتوى المائي..... 71
5.3.معامل الحساسية للملوحة..... 75
4.مناقشة نتائج تكييف الكالوسات للملوحة..... 78
الخاتمة..... 87
المراجع..... 88
الملحق..... 96

المقدمة

المقـــدمة Introduction

ظهرت مشكلة الأراضي المالحة قبل ظهور الإنسان والزراعة، وتفاقمت مع مـرور الوقت **(Jian, 2001)**، فهي تهدد حوالي **900** مليون هكتار من الأراضي عبر العالم **(Flowers, 2004; Elizamar *et al.*, 2008)** ، وما يقارب **15** مليون هكتار في المغرب العربي والشرق الأوسط **(Ben Ahmed *et al*., 2008)**، أما الأراضي الزراعية التي تمسها الملوحة فتشكل **5 %** **(Munns *et al.*, 1999)**، في حين يعاني ثلث الأراضي المسقية الملوحة بسبب مياه الري **(Singh et Chatrath, 2001; Rida *et al*., 2007)**؛ وتبقى مساحة الاراضي المهددة بالتملح، في تزايد مستمر مع الزمن، إذ قدرت بحوالي **6 %** أي ما يعادل **77** مليون هكتار في الـ **45** سنة الماضية **(FAO, 2008)**. أما في الجزائر فقد قدرت مساحة الاراضي التي تعاني من الجفاف والملوحة بأكثر من **3.2** مليون هكتار من المساحة الكلية، هذين العاملين يعملان على تغير ثباتية الأنظمة البيئية، كما يساهمان في انتشار ظاهرة التصحر **(FAO, 2008)**.

اصبح تحسين مقاومة النباتات الغذائية للملوحة ضروريا في معظم الأراضي الزراعية، المالحة طبيعيا، أو المملحة بعمليات السقي المحلية **(Ilga, 1995)**؛ كما اصبح إنتاج البطاطس المقاومة للملوحة مهما لاستغلال الأراضي المالحة **(Christophe *et al*., 2006)**. لانها تعد من أهم أنواع الخضر، كونها الغذاء الرئيسي في معظم مناطق العالم، وبديلا هاما للحبوب مرتفعة الثمن؛ كما لها دور في الصناعة، فهي تلعب دورًا مهِمًّا في اقتصاد العديد من الدول، كما تحل مشاكل نقص الغذاء العالمي لتعدد استعمالاتها **(Rajnchapel, 1987)**؛ بالنسبة للجزائر أصبحت البطاطس من أهم الخضر المخصصة للاستهلاك البشري، وخاصة بعد الاستقلال، حيث تزايد الاستهلاك السنوي من **35** كغ / للفرد / السنة خلال **1990** إلى **57** كغ / للفرد / السنة في **2005**؛ أمَّا الإنتاج فقد بلغ **1.9 م طن** في **2008**، على مساحة قدرت بـ **90** ألف هكتار، وبمردودية **21.11** طن / الهكتار، محتلة بذلك المرتبة الرابعة إفريقيا بعد مصر، ملاوي، و جنوب إفريقيا **(FAO, 2008)**.

تشكل الزراعة النسيجية طريقة مهمة لانتقاء النباتات المقاومة للملوحة **(Anura, 1988 ; Ekanayake *et* Dodds, 1993)**؛ وذلك لكون تقدير تحمل النباتات للملوحة في الحقل يتطلب الوقت والعمل الكبير، كما أن النتائج تتأثر بتغيرات الوسط المحيط، فكانت تقنيات الزراعة النسيجية هي الحل لربح الوقت **(Yanling, 1998)**. وكان تقدير وتحسين تحمل الملوحة لدى نبات البطاطس مخبريا على مستوى الكالوس من الحلول المتبعة **(Sabbah et Tal, 1990)**؛ رغم ان اعمالا مخبرية قليلة نجحت في إنتاج نبات بطاطس مقاوم للملوحة عند المستوى الخلوي **(Sabbah et Tal., 1990; Ochatt1 *et al*., 1999 ; Benavides *et al*., 2000)**.

يندرج هذا العمل ضمن المجال الواسع لتطبيقات الزراعة النسيجية، لإنتاج وتحسين النباتات الزراعية، وبالتحديد إنتاج الكالوسات لنبات البطاطس، مُكيفة لتراكيز عالية من الملح، والذي يشكل مرحلة هامة في انتقاء وتحسين نبات البطاطس المقاوم للملوحة.

إذن لتثمين العمل حاولنا الإجابة على تساؤلات أساسية:

- **ما هي الشروط المثالية لتشكل الكالوسات؟**
- **ما هو تأثير التراكيز الملحية المضافة إلى الوسط على الكالوسات؟**
- **ما هي قدرة الكالوسات المكيفة على تحمل الملوحة؟**

البحث المرجعي

البحث المرجعي Synthèse bibliographique

1. عموميات وتذكير حول البطاطس Généralités et rappels sur la pomme de terre

1.1 التعريف بالنبات Definition de la plante

البطاطس ***Solanum tuberosum* L.** نبات عشبي حولي، من كاسيات البذور ثنائية الفلقة، ينتج درنات تسمى "البطاطا" وهي كلمة معرَّبة من الإسبانية، مستمدة من لغة قديمة في جنوبي أمريكا **(Catherine, 1985)**.

2.1 الأصل والتطور Origine et évolution

بدأت قصة البطاطس منذ **8000** سنة خلت، بالقرب من بحيرة "تيتيكاكا"، التي تقع على ارتفاع **3800** م فوق سطح البحر في سلسلة جبال الأنديز في أمريكا الجنوبية، على الحدود بين بوليفيا وبيرو، أين بدأ تدجين نباتات البطاطس البرية التي كانت تنمو بصورة وفيرة حول البحيرة **(Donald, 2007)**.

يعتقد معظم المشتغلين والمهتمين بالبطاطس أنها انحدرت من أنواع نباتية زرعت في بوليفيا، الشيلي، والبيرو؛ ثم زرعت في أودية جبال الأنديز من طرف هنود قبائل الإنكا **(Rousselle *et al.*, 1996)**.

أما بالنسبة للجزائر فقد تم إدخال البطاطس لأول مرة في القرن **19** سنة **1856** م من طرف المستعمر الفرنسي **(FAO, 2008)**.

3.1 مرفولوجيا نبات البطاطس Morphologie de la pomme de terre

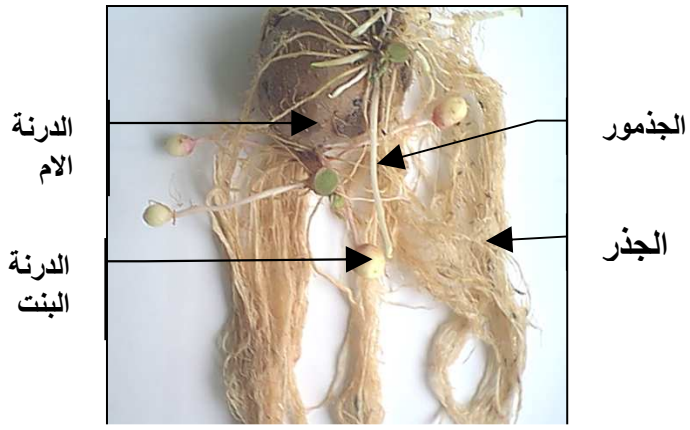
يبلغ طول الساق عند نبات البطاطس من **30** إلى **100** سم، وعدد السيقان من **2** إلى **10**، أمّا الأوراق فهي متقابلة مركبة، يختلف مظهرها ولونها حسب الأنواع؛ ينتهي كل ساق بأزهار ذات ألوان بيضاء عادة، خبازية، أو زرقاء وأحيانا وردية داكنة؛ يكون الكأس في الزهرة أنبوبي، وهو يتكون من خمس سبلات ملتحمة في القاعدة، اما التويج فيتكون من خمسة بتلات ملتحمة، تكون بيضاء، صفراء، أو زرقاء اللون، وهذا حسب الصنف النباتي؛ تحتوي زهرة نبات البطاطس على خمسة أسديه ملتصقة بالتويج؛ اما المدقة فتتكون من كربلتين ملتحمتين في مبيض بعدة بيوض؛ والتي تتحول إلى ثمار عند النضج؛ بالنسبة للتلقيح عند زهرة البطاطس يكون ذاتي، وهي خالية من الرحيق **(Rousselle *et al.*, 1996; Quezel *et al.*, 1963)**.

تكون الثمرة عند البطاطس سامة، وهي على شكل عنبة، غير صالحة للأكل، لونها مصفر إلى اخضر؛ قطرها من **1** إلى **3** سم **(Donald, 2007 ; OECD, 1997)**، تختلف أنواع البطاطس في قابليتها لتشكيل الثمار، وكذا في لون وشكل البذرة، التي تكون زلالية، والجنين مغطى، وهي خاصية تحت الفصيلة **Solanoideae**. البذرة عديمة الأهمية في الزراعة لكنّها مهمة في الانتقاء التحسيني**(Rousselle *et al.*, 1996)**.

يعتبر الجزء الترابي الأهم في النبات، لاحتوائه على الدرنات ذات القيمة الغذائية، وهو يتكون من

الجذور والسيقان الترابية القصيرة (الجذمورات) المنتهية بالدرنات **(Rousselle *et al.*, 1996)**، والتي تكون بعدة ألوان: حمراء، بيضاء، صفراء، خضراء، أو سمراء **(Donald, 2007)** (الشكل **1.1**، **2.1**).

الشكل 2.1 بعض أنواع درنات البطاطس



الشكل1.1 مرفولوجيا نبات البطاطس – الجزء الترابي

4.1 فيزيولوجيا البطاطس Physiologie de la pomme de terre

يعد البطاطس من نباتات النهار القصير ثلاثية الكربون، ومحاصيل الفصول الباردة؛ يحتاج خلال الشهرين الأولين من حياته إلى جو دافئ من **20** ْ إلى **25** ْ م، ونهار طويل نسبيا، وذلك لتشجيع تكوين المجموع الخضرى والجذرى المناسبين، ثم يميل إلى جو البرودة **15** ْ إلى **18** ْ م، والنهار القصير أثناء فترة تكوين ونمو الدرنات الجديدة؛ تتأقلم البطاطس مع عدة أنواع من الترب والمناخات، حيث تصل مردوديتها حتى **40** الى **50** طنًا من الدرنات في الهكتار **(Rousselle *et al.*, 1996)**.

ان البطاطس الشائعة في اغلب مناطق العالم رباعية الصيغة الصبغية **2n = 4x = 48**، مع وجود أنواع ثنائية الصيغة الصبغية **2n=24**، خاصة في الشيلي **(OECD, 1997)**؛ وحتى خماسية الصيغة الصبغية **2n=60**، لكن عدد الكروموزومات في الأساس هو **12** (2007 **Rousselle *et al.*, 1996; Ehsanpour et *al.*,**).

يتكاثر نبات البطاطس بالطريقين:

- التكاثر الخضري وهو شائع جدا، يتم بفضل الدرنات أو الدرنات الدقيقة **(Zhijun *et al.*, 2005)**، أو بفضل تقنيات الزراعة المخبرية **(OECD, 1997)**.

يمر النبات خلال الدورة الخضرية حسب**(Madec et Perennec, 1960)** بثلاث أطوار:

- طور السكون لبراعم الدرنات، والذي يمتد من موت الجزء الخضري للنبات، ونزع الدرنات منه حتى الإنبات، حيث لا يمكن للدرنات الإنبات، حتى بتوفر الظروف الملائمة من حرارة ورطوبة، لان معظم النباتات لا تستطيع البقاء على قيد الحياة تحت ظروف حرارة الشتاء الباردة فى حالة خضرية أو زهرية، لذلك تلجأ إلى إدخال براعمها وبذورها في طور السكون مع بداية الشتاء البارد للمرور خلاله بدون ضرر على حياتها **(Sobhy, 2002)**.

➢ طور الإنبات ونمو البراعم، حيث بعد حدوث تطورات فيزيولوجية في الدرنات، تظهر الإنباتات، و تتحول فوق الأرض إلى سيقان مورقة، وتحت الأرض إلى جذور ؛ تتميز هذه المرحلة بانطلاق عملية التركيب الضوئي؛ والتي تدوم مع المرحلة الأولى من **30** إلى **70** يوم، وهذا حسب تاريخ الزراعة، العمر الفيزيولوجي للدرنة، بالإضافة إلى عوامل المحيط **(Sobhy, 2002).**

➢ طور النمو البطيء للإنباتات وتشكيل الدرنات حيث بعد مدة أسبوع إلى أسبوعين، وحسب النوع وظروف الوسط، تنمو نهايات الجذمورات **(Rhisomes)** لتشكيل الدرنات، والتي تتزامن مع تشكل الأزهار، ثم تتضخم الدرنات، نتيجة تجميع الماء والمغذيات والكربوهيدرات، وفي الأخير تنضج الدرنات؛ في هذه المرحلة ينخفض مستوى التركيب الضوئي في النبات، وتصبح الأوراق صفراء، كما تنخفض نسبة نمو الدرنات، وفي الأخير يموت الجهاز الخضري.

❑ التكاثر الجنسي يتم بواسطة البذور، وهو نادر جدا، حيث يكون تطور المجموع الخضري قبل الترابي **(Rousselle *et al.*, 1996).**

5.1 التصنيف Systématique

وُصِفَت **البطاطس** *Solanum tuberosum* L. لأول مرة من طرف **Linné** سنة **1753**، وهي تنتمي إلى الفصيلة الباذنجانية ***Solanaceae***، التي تضم حوالي **2000** نوعًا نباتيًا مثل: الباذنجان ***Solanum melogena***، الطماطم ***Lycopersicum esculentum***، الفلفل ***Capsicum annuum***، التبغ ***Nicotiana tabacum***، والبطاطس ***Solanum tuberosum*** ؛ يضم جنس ***Solanum*** أكثر من **1000** نوعًا نباتيًا **(Rousselle *et al.*, 1996)**؛ منها ***Solanum tuberosum*** **(OECD. 1997)**. يصنف البطاطس حسب **(Quezel *et al.*, 1963 ; OECD. 1997)** .

المملكة:	النباتية
تحت مملكة:	النباتات الوعائية
الشعبة:	النباتات البذرية
تحت الشعبة:	كاسيات أو مغطاة البذور
القسم:	ثنائيات الفلقة
تحت القسم:	**Asteridae**
الرتبة	**Solanales**
الفصيلة:	**Solanaceae** الباذنجانية
تحت الفصيلة:	**Solanoideae**
الجنس:	***Solanum* L.**
نوع:	***Solanum tuberosum* L.**

6.1 أهمية واستعمالات البطاطس L'importance et l'utilisation de la pomme de terre

يحتل إنتاج واستهلاك البطاطس المرتبة الرابعة عالميا، بعد كل من الذرة (***Zea mays***)، القمح (***Tritium aestivum***)، والأرز (***Oriza sativa***) (**FAO, 2008**). وهذا نظرا لاستعمالاتها المتعددة:

1.6.1 التغذية البشرية Alimentation humaine

تشكل البطاطس غذاءًا أساسيًا لكل مواطن، حيث تسمّى لحمَ الفقراء، نظرا لغنى قشرة الدرنات بالفيتامين س والبوتاسيوم، كما تعتبر مصدرًا مهمًا للألياف (**Feytaud, 1949 ; Rousselle *et al*., 1996 ; Ewen *et al* 2006**). من الناحية الغذائية، البطاطس غنية بالعناصر؛ حيث تحتوي: **77.5 %** ماء، و**22.5 %** مواد صلبة جافة؛ يكوّن النشاء ما يعادل **85 %** منها، ويكوّن البروتين النسبة الباقية (**Murphy *et al*., 1999**).

2.6.1 الاستعمالات الصناعية Utilisation industrielle

نتج عن التقدم في تصنيع الغذاء خلال القرن العشرين استخدام واسع للبطاطس، فقد أدخلت في منتجات متنوعة غدائية كالحلويات الصناعية،والخميرة؛ وغير غذائية كاستخدام نشاء البطاطس في صناعة المستحضرات الطبية، الصناعات النسيجية والخشبية، والورقية، المواد اللاصقة والرابطة والقوامية والمالئة، صناعة الكحول، المطاط، كما يستخدم من جانب شركات التنقيب عن النفط لتنظيف حُفر الآبار (**FAO, 2008**).

3.6.1 تغذية الماشية Alimentation des betails

أحد الاستخدامات الأولى واسعة النطاق للبطاطس هو استعمالها كعلف لحيوانات المزرعة؛ فمثلاً نصف كمية البطاطس المحصودة في روسيا وبلدان أخرى في أوروبا الشرقية يستخدم لهذا الغرض (**FAO, 2008**).

7.1 مكانة البطاطس في الزراعة العالمية La place de la PDT dans l'agriculture mondiale

تزرع مئات الأصناف من البطاطس في جميع أنحاء العالم، وفي معظم الدول المدارية وشبه المدارية، خاصة في المناطق المعتدلة في الدول الصناعية، لكنَّ عدداً قليلاً من هذه الأصناف هو الذي ينتج معظم المحصول (**Farhatullah *et al.*, 2002**).

فاق الإنتاج العالمي في بداية الستينات **30** مليون طن ، وأكثر من **100** مليون طن خلال التسعينات، واليوم يقارب الانتاج **315** مليون طن سنويا، وهذا في **125** دولة منتجة للبطاطس (**Ewen *et al.*, 2006**). يتم انتاج أكثر من نصف الكمية في العالم النامي (**162** مليون طن)؛ كما تعتبر الصين أول دولة منتجة للبطاطس عالميا (**73** مليون طن من الإنتاج العالمي خلال **2005**) بنسبة **23 %**، اما المساحة المخصصة لزراعة البطاطس فقد فاقت **10.19** مليون هكتار في **2005** ، بعد كل من الأرز، القمح، والذرة (**FAO, 2008**).

تعتبر البطاطس أهم محصول في منطقة البحر الأبيض المتوسط (**1** مليون هكتار)، وهي تزرع طوال العام لتوفر الشروط الملائمة، وبإنتاج قدر بـ **18** مليون طن (**Frusciante *et al*., 1999**).

تعتبر البطاطس حساسة للجليد(تشكيل الاوراق يقل عند 2م.(**Soltner, 2005**). كما تعتبر التر ب السيليكاتية الطينية الذبالية المشبعة بالهواء، ذات pH بين 5 و 6.5 المناسبة لزراعة البطاطس

8.1 مكانة البطاطس في الزراعة الجزائرية La place de la pomme de terre dans l'agriculture algérienne

عقب إدخال البطاطس إلى الجزائر في منتصف العقد الأول من القرن **19**، كانت تزرع بصورة رئيسية من أجل التصدير إلى الأسواق الفرنسية؛ وبعد الاستقلال اصبح متوسط الانتاج يقارب **250** ألف طن سنوياً، يوجه ثلثها إلى التصدير **(FAO, 2008)**.

أهم الأصناف المسجلة في الجزائر تقدر بحوالي **120** صنف، اغلبها ذات قشرة بيضاء، منها ***Désirée***، ***Spunta***، ***Bartina***، ***Kondor***، ***Diamant***، ***Fabula***، ***Timate***، ***Atlas***، و ***Nicola*** **(FAO, 2008; Ministère de l'agriculture, 2008)**.

يمكن زراعة البطاطس في أيّ منطقة من التراب الجزائري، وفي أيّ وقت من السنة في غياب الجليد، لكن زراعتها تتركز في جهة البحر المتوسط المتميز بمناخ معتدل، وفي المرتفعات التي تصل **500** م، في المناطق المحاذية للبحر ومرتفعات الأطلس التلي والهضاب العليا مثل سطيف، عين الدفلى، معسكر **(Ministère de l'agriculture, 2008)**.

2. الملوحة La Salinité

1.2 ملوحة التربة Salinité du sol

يعبر عن ملوحة الماء بوجود كمية الاملاح الذائبة؛ حيث: الماء العذب يحتوي اقل من **0.5** غ/ل من الاملاح، في حين الماء المالح يحتوي من **15** الى **38** غ/ل من الاملاح. و بينهما نجد الماء الاجاج **Saumâtre** .

اما ملوحة التربة فتنتج عموما عن تراكم الاملاح، حيث يعتبر الصوديوم Na^+، الكالسيوم Ca^{2+}، المغنزيوم Mg^{+2}، والبوتاسيوم K^+ ، من أشهر الكتيونات المرافقة للملوحة، في حين أن الكلور Cl^-، السولفات SO_4^{-2}، والفحمات في شكل بيكربونات HCO_3^- هي أشهر الأنيونات، التي تشكل الأملاح الذائبة الموجودة في التربة، مثل كبريتات الصوديوم **Na2SO4** ، كلور البوتاسيوم **KCl**، كبريتات البوتاسيوم **K2SO4**، كلور المغنزيوم **MgCL2**، كبريتات المغنزيوم **MgSO4**، كلور الصوديوم **NaCl** **(Yanling, 1998; El-Swaify, 2000)**، والتي تسبب انخفاض حركيتها وارتفاع الناقلية الكهربائية **(Flowers et Flowers, 2005)**.

يبقى **NaCl** المتسبب الرئيسي في ملوحة التربة، لأنه السائد في تركيبها بنسبة **70%** **(Yanling, 1998 ;Heribert, 2003)** ، اضافة الى التأثيرات السلبية لأيونات Na^+ وCl^- على البنية الفيزيائية للتربة والسمية للنبات **(Epstein, 1976 ;Jan *et al*, 2005).**

2.2 مصدر الاملاح في التربة La source des sels dans le sol

يرجع مصدر الاملاح في التربة إلى: **(Heribert, 2003; El-Swaify, 2000; Croughan *et al*., 1981)**

- تفتت الصخرة الأم التي تتكون من أملاح مختلفة.
- مياه المجمعات المائية نتيجة الفيضانات.
- ترسيب المياه الجوفية بعد تبخر الماء في المناطق الجافة وشبه الجافة.

تلعب هذه العوامل دورا مهما في تكوين الأراضي الملحية التي تشكل **80 %**، وهي الملوحة الأولية **(FAO, 2008)**. بالاضافة الى:

- نشاطات الإنسان الزراعية، خاصة الري بالمياه المالحة تسبب تراكم الأملاح في التربة.
- استبدال النباتات الأصلية بأخرى مجلوبة، والتي تحتاج إلى عملية السقي **(Munns *et al.*, 2002)**.
- استعمال الأسمدة الكيميائية.

والتي تساهم في تكوين الأراضي الملحية التي تشكل **20 %**، وهي الملوحة الثانوية **(FAO, 2008)** .

3.2 قياس ملوحة التربة Mésure de la Salinité dans le sol

تقدر ملوحة التربة من خلال مجموعة من التحاليل المخبرية، إذ يمكن تحديدها بواسطة تركيز الأملاح الذائبة في التربة أو التركيز النسبي لـ Na^+ مقارنة بـ Ca^{2+} وMg^+. أما أشهر تحاليل قياس الملوحة فهو قياس الناقلية الكهربائية Electrical conductivity (EC) **الناقلية الكهربائية (EC):** قابلية محلول مستخلص من تربة مشبعة، عادة من منطقة الجذور لتمرير تيار كهربائي، تتم في غرف ذات درجة حرارة **25°**م، لأن الناقلية تتعلق بدرجة الحرارة **(El-Swaify, 2000; Shannon et Grieve, 1999)**. ووحدة القياس هي **($ds.m^{-1}$) (Lincoln et Eduardo, 2002)**.

يمكن التحويل فيما بين وحدات قياس الملوحة كما يلي:

الوحدة المستعملة	التركيز من NaCl مغ/ ل
1 ملي مول/ل	**58.44**
1 جزء من المليون	**1**
1 % NaCl/ماء البحر	**171** ملي مول/ل **NaCl**
1 **$ds.m^{-1}$**	**640**

4.2 تأثير الملوحة Effets de la salinité

1.4.2 الإجهاد الملحي Le stress salin

تنمو النباتات في الطبيعة تحت شروط غير مفضلة نتيجة غياب، نقص، أو زيادة عامل أو عدة عوامل عن الحد الأمثل لنمو النبات مثل الماء، الأملاح، الضوء، الحرارة، أو مواد كيميائية، وهي عوامل لا حيوية؛ أو تهاجم من طرف طفيليات (عوامل حيوية)، وهذه الحالات تعرف بالإجهاد؛ والذي يسبب نقصا في إنتاجية النبات **(Croughan *et al*., 1981)**.

عرف الإجهاد في معظم المعاجم على أنه من أصل انجليزي؛ فهو يعبر عن اضطراب في أحد العوامل الخارجية التي تسبب خللاً يعيق أو يؤثر على الوظيفة العادية للنبات **(William, 1999)**. كما يوصف على أنه زيادة تركيز مختلف الأملاح في التربة، مما يؤدي إلى انخفاض جهدها المائي، وبالتالي عجز النبات على امتصاص الماء رغم توفره في الوسط **(William, 1999)**.

2.4.2 تأثير الإجهاد الملحي على النباتات Effets du stress salin sur les plantes

يتضرر النبات من الملوحة حسب **(Shannon ,1997 ; William, 1999)** على ثلاث مستويات.

- التركيز العالي من الاملاح، خاصة ايون Na^+ ، يضر البنية الفيزيائية للتربة ويضعف من امتصاص بعض الكتيونات المهمة مثل K^+، Ca^{++}، النفاذية والتهوية، والمسامية، ومنه ناقلية الماء في التربة، وهو التاثير الغذائي.

ينتج عن التراكيز المنخفضة والمتوسطة التأثير على الحالة المائية أي إحداث ما يعرف بالإجهاد الأسموزي. انخفاض الجهد المائي للتربة، بعد انخفاض الجهد الاسموزي (ارتفاع تركيز المحلول في المنطقة الجذرية)، والذي يعيق إمتصاص النبات للماء من التربة والحفاظ على الإنتباج ، ويقلل من ضغط الانتفاخ، وحصول النبات على المواد المعدنية، انخفاض النمو، الاحتراق الورقي، ويحتمل أن يقود إلى موت النبات، وهذا في حالة عدم فعالية التعديل الاسموزي، وهو التاثير الاسموزي **(Mansour et Salama, 2004; El-Swaify, 2000 ; Flowers et Flowers, 2005)**.

و حسب هذه النتائج فإن:

1/ تحت التركيز الملحي العالي، تعزل النباتات NaCl في النسيج الورقي مقارنة مع الحالة الطبيعية. ينتج عن هذه الزيادة انخفاض في الجهد الأسموزي و سالبية أكثر للجهد المائي.

2/ نقصان الناقلية المائية في الجذور تقلل من كمية الماء المتدفق إلى الجزء العلوي، مما يسبب إجهاد مائي في الأنسجة الورقية.

كما أن المعاملة بالملح تسبب انخفاضا معتبرا في المحتوى النسبي للماء RWC و يشير هذا الانخفاض إلى فقد الانتباج و تراجع نسبة التمدد الخلوي، مما يقود إلى نقصان في نسبة نمو الجذور، الأوراق و الأفرع الجانبية. كما يقلل التأثيرالأسموزي من الناقلية الثغرية و يزيد من سرعة شيخوخة الأوراق، مما ينعكس سلبا على عملية التركيب الضوئي.فالمسارات الثلاثة: نقص التشكل الورقي الجديد، موت الأوراق البالغة وانخفاض نشاط التركيب الضوئي تشارك معا في نقص نمو النبات (Munns *et al*., 2002).

تحت مثل هذه الظروف بين Shannon سنة 1984 أن النباتات تعمل على التعديل الأسموزي من خلال تراكم بعض المحاليل العضوية والأيونية للحفاظ على تدرج الجهد من أجل ضمان تدفق الماء.

➢ إن انخفاض النمو ينتج عند كل النباتات، لكن مستوى احتمال الملوحة ومقدار الانخفاض يتغير حسب النوع النباتي (**Maas, 1986**)، الصنف داخل النوع (**Ghoulam *et al.*, 2002**)، مرحلة النمو (**Vicente *et al.*, 2004**)، مدة التعريض للملح، تركيز الملح، و تركيبه والتفاعل مع الوسط (**Shannon, 1999**). حيث تنتج السمية الأيونية نتيجة تراكم الايونات خاصة Na^+ و Cl^- في سيتوبلازم الخلايا النباتية، خاصة عند النباتات الكارهة للملوحة وهو التاثير الايوني.

5.2 استجابة النباتات للملوحة La réponse des plantes à la salinité

1.5.2 مقاومة الملوحة La Resistance à la salinité

تعرف مقاومة النبات للملوحة على أنها قابلية النبات على النمو، ومواصلة دورة حياته ضمن ركيزة تحوي تراكيز عالية من الملح الذائب. أما بالنسبة لـ Shannon وGrieve سنة 1999 فالمقاومة هي قدرة وراثية للنبات على تحمل تأثيرات التراكيز الملحية العالية في المنطقة الجذرية أو على الأوراق بدون تأثيرات إنعكاسية معتبرة.قسمت النباتات حسب مقاومتها للملوحة إلى مجموعتين:

➢ النباتات المحبة للملوحة **les halophytes**: متأقلمة مع الأوساط المالحة، وتستطيع إكمال دورة حياتها في ظروف الملوحة العالية (**Lincoln et Eduardo, 2002**). يمكن للأنواع عالية المقاومة العيش في وسط يتراوح فيه تركيز **NaCl** بين **200** الى **500** ملي مول/ل (**William, 1999; Flowers, 2004**)؛ حيث تقوم بتجميع الأملاح على مستوى الساق (**Flowers et Flowers, 2005**).

➢ النباتات الحساسة للملوحة **Les non halophytes**: لا تستطيع مقاومة الملوحة عند تراكيز معينة يبدأ تأثرها عند التركيز **50** ملي مول/ل من **NaCl** (**William, 1999**)، وهي تشكل معظم النباتات المزروعة (**Jan *et al.*, 2005**)، مثل البطاطس التي ينقص إنتاجها في الأتربة الملحية (**22-33** ملي مول/ل من **NaCl**) (**Maas et Hoffman, 1977**).

2.5.2 آليات مقاومة الملوحة Les mécanismes de resistance à la salinité

➢ تغير في الخصائص المورفلوجية للاقتصاد في الماء.

➢ **التعديل الأسموزي:** انخفاض في الجهد الأسموزي بسبب الزيادة في تراكم المواد الذائبة وليس بسبب انخفاض حجم الماء في الخلية، وهو ما يسمح للنسيج بالحفاظ على ضغط انتفاخه سواء جزئيا أو كليا رغم الظروف الملحية. إذ يساعد التعديل الأسموزي النبات على مواصلة إمتصاص الماء من التربة وبالتالي إبقاء عملية التركيب الضوئي واستمرار نمو النبات.

➢ **تحفيز إنتاج الإنزيمات المضادة للأكسدة و الهرمونات النباتية:**

يحفز الإجهاد الملحي النبات على إنتاج أنواع من الأوكسجين النشط (ROS) منها ½O، H_2O_2 و OH التي تصنع على مستوى الصانعة الخضراء و الميتوكوندري. تسبب هذه المركبات ضررا من خلال أكسدة المكونات الخلوية من ليبيدات غشائية، بروتينات و أحماض نووية. و لمعالجة هذه الظاهرة يملك النبات أنظمة جيدة لمواجة أنواع الأكسيجين و الحماية من تفاعلات الأكسدة المهدمة وكجزء من هذا النظام تعد الإنزيمات المضادة للأكسدة كعناصر مفتاحية في ميكانزمات الدفاع.

➢ **طرد الأملاح:** لا تتم عملية طرد الأيونات أو الأملاح على مستوى الجذر، أين تكون مركزة من 30 إلى 70 مرة مقارنة بمحلول التربة. إنما يتم الإمتصاص الأول لأيونات Cl^- وNa^+ على مستوى خلايا البشرة للجذور، ثم تنقل إلى الأجزاء العلوية للنبات عبر أوعية الخشب أين تطرح على مستوى الساق، الأوراق و البراعم أثناء عملية النتح. ولقد أشار العديد من الباحثين إلى وجود هذه الآلية لدى كل من نبات القمح، الشعير (Gorham, 1993) و الفاصولياء (Awada *et al*., 1995). لكن إذا كان النبات لا يستطيع طرح الأيونات خارجا فإنها تتراكم بشكل مفرط و بالخصوص في الأوراق القديمة، أكثر من الفتية مما يؤدي إلى موت الخلايا وبالتالي الورقة ثم موت النبات (Munns, 2002).

كما تنفرد النباتات المحبة للملوحة عن باقي النباتات بوسيلة أخرى للتقليل من سمية الأيونات وهى تجميع الأيونات الملحية في تراكيب خاصة مثل الغدد الملحية أو المثانات الملحية. تؤدي هذه الآلية إلى إحداث التوازن الملحي في الأوراق لمدة طويلة (Ball, 1988).

➢ **تنظيم النقل الغشائي:** تنظم النباتات الدخول العالي للأيونات عبر مجموعة من النواقل الخاصة التي تتحكم في حركة الملح عبر غشاء الخلية، كما أن الأيونات الملحية لا يمكنها المرور إلا في حالة تدرج ترموديناميكى كبير لتركيزها بين داخل وخارج الخلية. يحفز هذا التدرج مضخة البروتونات المتواجدة في الغشاء البلازمي والتي تعمل بالطاقة الناتجة من التحلل المائي لـ ATP أو بيروفوسفات على نقل H^+ خارج الخلية، ومنه يتجدد التدرج الكهروكيميائي الذي يسمح بتحرك أيونات الملح عبر الغشاء البلازمي للخلية Michel and Boutry, (1995).

➢ **تنظيم التوزع الأيوني داخل الخلية:** يعتبر التراكم الأيوني الآلية الأولى المتبعة لدى النباتات الملحية عند المستويات العالية، لذا يحتمل اقترانها مع القدرة على الحجز الأيوني في الفجوات الخلوية و/أو آليات الطرد المطبقة. تتجمع أيونات Cl^- وNa^+ في فجوة الخلية التي تعتبر أهم مكان لتراكم المواد سواء المبنية داخل الخلية أو التي تأخذها من الوسط الخارجي كما في حالة الإجهاد الملحي. إذ لها دور في إتزان الماء في الخلية و هذا بفضل غشائها النفوذ و بالتالي تعمل على زيادة حجم الخلية و انتفاخها وهذا له أهمية كبيرة في النمو

(Niu *et al.*,1995). كما أن أيونات K^+ والذوائب أو المواد العضوية تتراكم في سيتوبلازم الخلية وعضياتها، حيث يتم هذا التوزع من أجل إحداث توازن في الضغط الأسموزي بين أيونات الفجوة والمواد في سيتوبلازم الخلية.

6.2 الملوحة واستجابة البطاطس La salinité et la réponse de la pomme de terre

تتميز الاستجابات الفيزيولوجية للملوحة عند البطاطس، بحدوث 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)**. ويمكن تلخيص بعض هذه الأعمال في الجدول**1.1**.

الجدول1.1: بعض الأعمال الخاصة بتقدير تحمل نبات البطاطس للملوحة مخبريا على مستوى الكالوس.

الباحث	تراكيز الملح المستعملة	أهم النتائج
Sabbah et Tal, 1990	**50، 100، 150، 200، 250، 300، 350** ملي مول/ل من ملح **NaCl**.	➢– الوزن الرطب والجاف للكالوسات المتأقلمة أقل انخفاضا مقارنة بالكالوسات غير المتأقلمة في كل تراكيز الملح المستعملة. ➢– الوزن الرطب أقل انخفاضا في تراكيز الملح المستعملة، بينما الوزن الجاف عكس ذلك.
Ochatt1 *et al.*, 1999	**60–450** ملي مول/ل من **NaCl**	➢– سلالات خلوية للبطاطس يمكن أن تنمو على وسط يحوي **60** إلى **450** ملي مول/ل من **Nacl**. ➢– الكالوس ينمو على وسط **120** أو **150ملي** مول/ل **Nacl** و يظهر ارتفاع الوزن الغض مقارنة مع التراكيز الأخرى.
Benavides *et al.*, 2000	–	➢– تركيز **NaCl** في الوسط يؤدي إلى انخفاض معدل نمو الكالوسات و هذا مشترك للنباتات المجهدة بالملح.
Queiros *et* 2007*al.*,	**50، 100، 150** ملي مول/ل من **NaCl**	➢– انخفاض المعدل النسبي للنمو للكالوسات المتأقلمة و المحتوى المائي مع انخفاض كبير عند **150** ملي مول/ل من **NaCl**. ➢– و زيادة في كمية حمض الأسكوربيك و البروتينات الذائبة و غير الذائبة عند**100** و **150** ملي مول/ل **NaCl** أقل انخفاضا مقارنة بالكالوسات الشاهدة. ➢– الوزن الرطب أقل انخفاضا في تراكيز الملح المستعملة، عكس الوزن الجاف.

3.تحسين البطاطس والتقانات الحيوية L'amélioration de la PDT et les techniques biotechnologiques

1.3 نبذة تاريخية Aperçu historique

سعى الإنسان منذ ظهوره إلى تحسين النباتات المزروعة لتغطية حاجياته نوعيا وكميا، وذلك بإنتاج أنواع نباتية ذات خصائص مورفولوجية، فيزيولوجية، بيوكيميائية، أو فلاحية مرغوبة **(Anonyme, 1993)**؛ ورغم مساهمة الطرق التقليدية في الحصول على بعض النتائج، إلاّ أنها تميّزت بمحدوديتها، في حين سمحت الزراعة النسيجية والتقانات

الحيوية الحديثة بفتح آفاق جديدة لإثراء التنّوع النباتي، سواء عن طريق إنشاء أنواع جديدة، أو بتعديل الأنواع المعروفة، خاصة لمقاومة الملوحة **(Hakan, 2005)**. وأصبحت ضرورية في كل قطاعات الزراعة **(Teisson, 1989)**؛ وبعد أن وجدت الزراعة النسيجية أساسا لها، من خلال مفهوم الكمون الوراثي الخلوي، الذي يعني قدرة الخلية على إعطاء نبات كامل في وسط زراعي مغذٍ وملائم لتطورها **(Dubois, 1989)**؛ أصبح تطبيق تقانات وطرق إنتاج النباتات المقاومة للملوحة منتشر بكثرة وفي مختلف أنحاء العالم **(Mansour et Salama, 2004)**.

2.3 التقانات الحيوية المستعملة لتحسين البطاطس

Les techniques de biotechnologie utilisées pour l'amélioration de la pomme de terre

تعتبر البطاطس من أكثر النباتات التي تعتمد على تقانات الزراعة النسيجية لتحسينها **(Richard, 2005)**؛ من بين هذه التقانات نذكر:

1.2.3 التحويل الوراثي La transformation génétique

يتم تحويل مورثات اما من كائن إلى آخر أو في نفس الكائن، بهدف إنتاج نباتات ذوات خصائص وراثية جديدة، وفق طريقين أساسيين ***(El hamdouni et al., 1999; Éric, 2003)***؛ يتم إما بالتحويل المباشر للمورثات بفضل الناقل البكتيري ***Agrobacterium tumefaciencs*** ، او بالحقن المجهري.

فيما يخص البطاطس تبقى الفائدة من التحويل الوراثي تكمن في الحصول على مقاومة المضادات الحيوية أو الفيروسات ***(Rousselle et al., 1996)***، فمن العائلة الباذنجانية المحولة وراثيا، نجد الطماطم المحولة بواسطة بكتيريا ***Agrobacterium tumefaciens*** لتركيب بروتين ***Neomycine phosphotransferase*** ***Zamir et al., 1984)***، البطاطس المحولة بالبكتيريا ***Agrobacterium tumefaciens*** *لإنتاج* بطاطس مقاومة للـ ***Kanamycin*** ***(Raffaela et al., 1988)***.

2.2.3 تقنية أحادية ثنائية الصيغة الصبغية *L'haplodiplomethodes*

وصفت هذه التقنية لأول مرة من طرف **Guha**و **Maheshwari** **سنة 1964**، تعتبر تقنية حديثة تستعمل لتحسين وتطوير النباتات **(Aminul *et al.*, 2007)**. تسمح بإنتاج سلالات أحادية الصيغة الصبغية مضاعفة ***Haploïdes-doublées*** تعرف باسم ***Haplométhodes*** **(El hamdouni *et al.*, 1999; Natalija *et al.*, 2004)**، حيث يمكن الحصول على نبات ثنائي الصيغة الصبغية، ثم أحادي الصيغة الصبغية، انطلاقا من نبات رباعي الصيغة الصبغية **(Dubois, 1989 ; Aminul *et al.*, 2007)**، تتم بزراعة خلايا (حبات اللقاح) "**Androgenès**" أو أعضاء (المبايض) "**Gynogenèse**" **(Dubois, 1989)**، وتنتج سلالات خالصة ما يعادل عشر سنين من الإنتاج عبر الإلقاح فهي مربحة جدا للوقت. كما تسمح بإنتاج نباتات متماثلة العوامل الوراثية "**Homozygotes** " وهذا في مرحلة واحدة من الزراعة النسيجية **(El hamdouni *et al.*, 1999)**.

تؤثر درجة تعدد الصيغة الصبغية عند البطاطس، على تواتر ونمط التغيرات المحصل عليها (**Yeoman M., 1986; Filippone *et al*., 1992**). حيث تحدث التغيرات الوراثية أكثر، عند الانواع متعددة الصيغة الصبغية منها عند الأحادية وثنائية الصيغة الصبغية (**Wang *et al.*, 1994**).

تم الحصول على بطاطس ثنائية الصيغة الصبغية (**2n = 2x = 24**) انطلاقا من بطاطس رباعية الصيغة الصبغية (**2n = 4x = 48**) من **طرف** (**Dunwell *et al*., 1973**)، وأحادية الصيغة الصبغية (**2n = x = 12**) من طرف (**Sudhir *et al*., 1978**).

3.2.3 التهجين الجسمي Hybridation somatique

ان هضم الجدار السليلوزي لأي جزء من النبات بإنزيمات خاصة، يجعل الخلية النباتية محاطة بالغشاء الهيولي فقط، مشكلة البروتوبلاست (**Oluf *et al.*, 1975 ; Éric, 2003**)، والذي يمكنه استقبال عناصر نووية وهيولية غريبة دون رد فعل، حيث يمكن الجمع بين بروتوبلاست لنوعين، جنسين، أو حتى مملكتين بيولوجيتين مختلفتين، وهي عملية الدمج الجسمي، وناتج العملية هجين جسمي (**Demarly et Sibi, 1989**).

تعتبر العائلة الباذنجانية من أكثر العوائل النباتية نجاحا في إجراء التهجينات الجسمية، فعند البطاطس كانت مع أنواع أخرى من ***Solanum*** مثل ***Solanum nigrum*** ،***Solanum chacoense*** ، ***Solanum berthaultii*** من اجل الرفع من مقاومة الملوحة (**Amira *et al*., 2007**). أو بين البطاطس وأجناس أخرى مثل الطماطم ***Lycopersicum esculentum***. أو بدمج بروتوبلاست نوعين من البطاطس ثنائيي الصيغة الصبغية، لإنتاج هجين جسمي رباعي الصيغة الصبغية (**Sylvia *et al*., 1991**)

4.2.3 التباين الجسمي Variation somaclonale

1.4.2.3 تعريف التباين الجسمي: Définition de la variation somaclonale

خلال مرحلة تشكل الكالوس، زراعة المعلقات الخلوية، أو زراعة البروتوبلاست لخلايا نباتية، يمكن أن تحدث تغيرات وراثية عشوائية لـ **ADN** (**Eric, 2003**)، مصدرها غير معروف، والتغير غير اعتيادي، تسمى التباين الجسمي (**El hamdouni *et al*., 1999**). وهو مجموع التغيرات الوراثية المتحصل عليها بعد المرور بالظروف المخبرية، والتي تجدد إلى نبات مستقر خلوياً (**Dubois, 1989**). يستدل عليها بظهور نسخ غير مطابقة مرفولوجيا أو فيزيولوجيا للنبات الأصلي، هذه الأنماط الجديدة الظاهرة، تنوع بخصوصها الاصطلاح في التسمية، سميت المتباينات المظهرية «**Phénovariant**» أو **Vitro variant** من طرف **Sibi** (**1971**)، في حين استخدم **Larkin** و**Scowcroft** سنة(**1981**) مصطلح التباين الجسمي **Variations somaclonale** لأوّل مرة للإشارة إلى التباينات الجينية المتناقلة والمكتشفة في النسائل الجسمية "**Somaclones**"، والمحفزة عن طريق زراعة

الأنسجة أو الخلايا مخبريا، تظهر أحيانا كأنها نمط ظاهري جديد في النباتات المتوالدة انطلاقا من الزراعة النسيجية **(Lepoivre et Semal, 1989)**.

2.4.2.3 مبدأ التغيرات الجسمية Le principe de la variation somaclonale

يتشكل الكالوس خلال زراعة نسيجية، لقطع من النبات خالية من البراعم، في وسط مدعم بمنظمات النمو **(Dubois, 1989; Rousselle *et al.*, 1996)** ، ومن أي فسيلة من النبات كالورقة، الجذر، الساق، الأزهار، حبوب الطلع، البذور غير الناضجة، الفلقات**(Eric, 2003 ; Richard, 2005)**.

يتم خلال تشكل الكالوس في الظروف المخبرية، احداث طفرات للرفع من مستوى التغير الوراثي، الناتج من التكاثر الخلوي العشوائي بعد فقدان التمايز للخلايا الأصلية **(Nguyen *et al.*, 2002)**.

3.4.2.3 أصل التباينات الجسمية Origine de la variation somaclonale

اقترحت عدة فرضيات حول أصل التباين الجسمي، فقد يكون مُحَفَزًا مباشرة بشروط الزراعة النسيجية خاصة منظمات النمو، أو يحدث عفويا، وهو يعبّر عن نفسه بصورة مستمرة عبر الأجيال **(Mestre et Petiard ., 1985)**، أو قد يكون موجود مسبقا تحت شكل فسيفسائي في النبات **(Noseran, 1985)**. يمكن للتباين الجسمي أن يكون:

- **وراثي النمط:** مستقرًا جينيا ويتناقل إلى الأجيال الموالية **(Parrot *et al.*, 1992)**، يسمح بعزل طفرات مستقرة، تكتشف في الظروف المخبرية أو بعد تجديد النبات، يستعمل في برامج التحسين **(Kole, 2006)**.

ينتج التباين الجسمي وراثي النمط حسب **(El hamdouni *et al.*, 1999)** عن:

- تغيّر في العدد الصبغي.
  - حالة تعدّد الصيغة الصبغية.
  - حالة غير عادية للصيغة الصبغية.
- تغيّر في بنية الصبغي والذي قد يحدث بعدّة آليات:
  - تقطيع الصبغي إلى جزئين بحصول كسر داخلي.
  - حذف قطعة وسطية من الصبغي.
  - تبادل قطع صبغية بين الصبغيات غير المتماثلة.
  - تأخذ فيها قطعة صبغية وضعية معاكسة مقارنة مع وضعها الأصلي داخل الصبغي.
- تغيّر في عدد النيكليوتيدات
- طفرات سيتوبلازمية

➢ **ظاهري النمط:** وبائي غير مستقر و ينقرض بعد الإنتاج الجنسي **(Skirvin *et al*., 1994)**، وهذا بسبب الاضطراب الفيزيولوجي، ميثلة أو تضخيم المورثة **(Kole, 2006)**.

4.4.2.3 مراحل إنتاج التباينات الجسمية Les étapes de la variation somaclonale

تتمثل في تحريض إنتاج الكالوس ثم تجديد النبات، بوضع أجزاء نباتية في وسط زراعي يسمح بتشكّل الكالوسات، وخلال هذا التجديد تحدث تعديلات كثيرة في النمط الوراثي والظاهري (**Sibi, 1989; Larkin *et* Scowcroft, 1981**).

4.4.2.3 أهمية التباينات الجسمية Intérêt de la variation somaclonale

يعتبر التباين الجسمي أهم مصادر التباين الجيني، والذي يترجم بظهور نسائل جسمية جديدة في النباتات المتوالدة وعلى نحو واسع **(Larkin et Scowcroft, 1981)**، وهي مختلفة عن النبات الأصلي المنحدرة منه، قد تتضمّن خصائص مهمّة كمقاومة الملوحـــــة (**Choi *et al*., 2000 ; Farhatullah et Raziuddin, 2002**)، إذن فهي مصدر للتنوع الذي يستعمل أحيانا في الانتقاء **(Bouharmont, 1991)**.

عند البطاطس التباين الجسمي مهم لانتقاء كالوسات مقاومة للمـــلوحة **(Ehsanpour *et al*., 2007; lutts et Bouharmont, 2001)**.

5.4.2.3 العوامل المؤثرة على التباينات الجسمية

Facteurs ayant une action sur la variation somaclonale

➢ **المادة النباتية:** يمكن الحصول على التباين الجسمي انطلاقا من الكالوس المشكل، من أيّ جزء نباتي كالورقة، الساق، الجذر ..، لكن التأثير يكون من خلال طبيعة هذا الجزء، وحالته الفيزيولوجية **(Filippone *et al*., 1992; Robert *et al*., 1994)**. مرونة النمط الوراثي والنوع لهما دور مهم في ظهور التغير الوراثي **(Demarly et Sibi, 1989)**. العدد الصبغي ينعكس على معدّل ونوعية التباين المنتج، حيث يلاحظ أنّ التباين الجيني يحدث بكثرة عند الأفراد متعددي الصيغة الصبغية مقارنة بذوي الصيغة الصبغية الأحادية والثنائية **(Yeoman, 1986)**.

➢ **مدة الزراعة النسيجية:** تؤثر على التباين الجسمي، لان معدل الطفرات مرتبط بعدد التحولات في الظروف المخبرية **(Demarly et Sibi, 1989)**، حيث يتحكم عدد مرات النقل المخبري في عدد الطفرات الحاصلة **Skiiin et Janick., 1976)**؛ والتي يمكن أن تظهر في الفترات الأولى في الزراعة النسيجية، وتثبت انطلاقا من التحويل الثالث أو الرابع **(Sibi, 1989)**.

إن عدد دورات الزراعة النسيجية من أهم العوامل الأساسية المحفزة للتباينات الجسمية، كما وجد في حالة البطاطس، حيث أن النمو البطيء يحفز إنتاج تباينات جسمية بكثرة **(Wang *et al*., 1994)**.

➢ **تركيب الوسط**: يعتبر عامل مهم في تشكيل التباينات الجسمية **(Angela, 1995)**؛ كون إنتاج الكالوس مرتبط بالدرجة الأولى بميزان منظمات النمو، والذي يختلف حسب نوع الفسيلة والنوع المدروس ***(André et al., 2003)***، حيث تختلف البرامج المورفووراثية حسب النسبة ***Cytokinine/ Auxine***، فمن خلال الميزان الهرموني يمكن الحصول على التشكل العضوي المرغوب **(Akbar et Hakoomat , 2004)**، إن عمل منظمات النمو بالضبط في إحداث التغيرات الجسمية يبقى غير معروف ***(Charlotte et al. 1987)***.

❖ **الاوكسين** : أثبتت التجارب أن الأثر الأول للأوكسين هو التأثير على طبيعة الجدر الخلوية، لكن نظرا لوجود تأثيرات مميزة للأوكسين لا تتضمن حجم الخلايا، مثل تشجيعه لانقسام الخلايا وتشجيع نمو الجذور في التراكيز المنخفضة، اجمع الباحثون على أن تأثير الأوكسينات على جدر الخلايا هو في الواقع تأثير ثانوي ***(Sobhy, 2002)***.

ان الاوكسين المركب **2,4-D** يزيد من عدد الطفرات عند العشب الامريكي ***Tradescantia***، كما يزيد من تغير الكرموزومات الاخوة في جذر الثوم ***Allium sativum***، لكن معلومات قليلة حول تاثير منضمات النمو على التباين الجسمي خلال مرحلة الزراعة النسيجية **(Angela, 1995)**.

❖ **السيتوكينين:**

➢ أهم خصائص ووظائف السيتوكينين هو تأثيره على انقسام الخلايا.

➢ تاخير دخول النسيج النباتي في الشيخوخة، إيقاف أو تأخير التحلل والموت، إيقاف التساقط ومنعه مثل تساقط الأوراق والأزهار والثمار.

➢ يمنع الاصفرار لتأثيره الموجب على البروتين والاحتفاظ بمادة الكلوروفيل ومنع تحللها.

➢ يجذب كثيرًا من المواد والعناصر إلى مكان وجود الكينيتين أو الزينتين أوالبنزيل أدينين ومن هذه المواد الأيونات الغير العضوية وجزيئات عضوية مثل السكر والأحماض الأمينية وأيضا غالبية عصارة الخشب واللحاء فيتجه تيار ها إلى البقعة التي بها السيتوكينين.

➢ ومن التطبيقات الهامة للسيتوكينين هو تأثير ها على السيادة القمية فتؤدي المعاملة به إلى تشجيع تكوين البراعم الجانبية في**(Sobhy, 2002)**.

ويؤكد **(Oluf *et al.*, 1975)** أن الكنتين وسيتوكينينات أخرى بتركيز 10^{-6} الى 10^{-5} مول/ل تساهم في تشكيل الأجزاء الهوائية في الأوراق و بين العقد لعدد كبير من النباتات ثنائية الفلقة.

❖ **الجبرلينات:** يؤثر الجبرلين على جدر الخلايا بطريقة مختلفة عن الأوكسين، فالجبرلين يزيد من حجم الخلايا دون أن يؤثر على صلابة الجدر الخلوية، اي يؤدي إلى زيادة حجم الخلايا ونسبة تدفق الماء اليها عن طريق زيادة تركيز المواد الذائبة الرافعة للضغط الأسموزى، وبهذا فالجبرلين يشجع نشاط إنزيم ألفا أميلاز، والذي

يحول كل من البروتينات والنشاء من الصور غير الذائبة أي غير النشطة اسموزيا إلى صورة ذائبة نشطة اسموزيا **(Sobhy, 2002)**.

الجدول2.1: تراكيز منظمات النمو المستعملة لإنتاج الكالوس عند نبات البطاطس من طرف بعض الباحثين

الصنف المدروس	الفسيلة المستعملة	الوسط الزراعي	الميزان الهرموني			المرجع- الباحث
			الاوكسين	السيتوكينين	GA3	
Cara A25/19	اجزاء هوائية قمم نامية	**MS**	**3.2 مع/ل IAA** **0.5 مع/ل 2,4-D**	**0.1 مع/ل كنتين**	**-**	**Ahloowalia,) (1982**
Bintje	قطع من الورقة أقراص من الدرنة	**M S**	**5 مغ/ل من NAA, IAA 2,4-D**	**1 مغ/ل BAP** **زياتين + كنتين**	**1 -0.1 مغ/ل**	**Charlotte *et al.*, 1987**
Ung-buay AIS 01222-2, Xu-shu 18, I-166 . CN 1028-15	مرستيم ورقي قمة الساق	**M S**	**2.5 مغ/ل من 2.4D**	**1.5مغ/ل الكنتين**	**0.1مغ/ل**	**Anura *et al.*, 1988**
Désirée	ورقة	**MS**	**5مغ/ل من 2.4D**	**0.5 مغ/ل كنتين**	**-**	**Sabbah *et al.*, 1990**
Kennebec	-	**MS**	**10.7 µ مول/ل من NAA**	**0.46µ مول/ل من كنتين**	**-**	**Ochatt1 *et al*., 1999**
Maris Bard . Désiré	ورقة جذر ساق درنة	**MS**	**5 مع/ل من NAA** **0.1مغ/ل NAA** **3مغ/ل من2,4-D**	**0.5 مغ/ل كنتين** **5 مع/ل زياتين** **0.5مغ/ل كنتين**	**-**	**Hakan, 2004**
Désirée	أوراق	**MS**	**0.5-0.2-1 مع/دسم^3** **Mg dm^{-3}** **IAA. NAA.BA**	**1مغ/دسم ^{3}** **كنتين** **0.4مغ/دسم ^{3} زياتين**	**0.5 مغ/دسم^3**	**Queiros *et al*., 2007**
Diamant	قطع من الدرنات	**MS**	**(0.5، 1، 1.5، 2، 3، 4 و 5 مغ/ل)** **2,4-D. BA. NAA**	**(0.5، 1، 1.5، 2، 3، 4 و 5 مغ/ل)** **BAP**	**-**	**Khadiga *et al*., 2009**

- **العناصر المغذية:** تستطيع العناصر المغذية مثل الأملاح، السكريات، وكذا بعض المواد المستعملة للتعقيم ضد الفيروسات، أن تكون سببًا في التشكل غير الطبيعي للنبات **(Meulmans, 1984)**.
- **العامل المسبب للإجهاد:** بينت نتائج سابقة أن تشكل التغيرات الجسمية، يمكن أن يتأثر بوجود العامل المسبب للإجهاد أثناء فترة تكاثر الخلايا خلال الزراعة النسيجية **(Lutts *et al*., 2001)**. حيث يتم في أعمال كثيرة تعريض الكالوس إلى تركيز ملحي مثبط في وسطٍ مغذي، وأي خلايا تبقى حية، وتنقسم تحت هذه الظروف، تكون مرشحة لدراسات أخرى لانتقاء أنماط متحملة للملوحة **(Jain *et al*., 1991)**، إلا انه لا توجد أية معلومات بخصوص تأثير الملح **NaCl** على المادة الوراثية المكونة للتغيرات الجسمية وخصوصيتها **(Lutts *et al*., 2001)**.

6.4.2.3 تقييم التغيرات الجسمية Evaluation de la variation somaclonale

مع تطور تقنية **Polymerase Chain Reaction (PCR)**، أصبح من الممكن دراسة التغيرات الوراثية عنـــد النبات بفضل البصمة والخريطة الوراثيتين للـ **DNA (Sultana *et al*., 2005)**. تعتمد تقنية **PCR** على اســتعمال **Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)** أو **RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)** وهي مهمة في دراسة عناصر مقاومة الملوحة **(Subbarao et Chris, 1999)** عند البطاطس **(Ehsanpour *et al*., 2007)**.

7.4.2.3 ايجابيات التباين الجسمي Les avantages de la variation somaclonale

- الحصول السريع على عدد كبير من الطفرات (أفراد تظهر تغيرات وراثية مقارنة بالنبات الأم).
- إمكانية الحصول على عدة خصائص مختلفة مفيدة في آن واحد.
- مصدر للتنوع الذي يستعمل أحيانا في الانتقاء.
- طريقة جديدة لتحسين النباتات.
- غير مكلفة مقارنة بالتهجين الجسمي والتحويل الوراثي.
- ليس مهم معرفة اسس التغير الحاصلة وراثيا**(Éric, 2003 ; Angela, 1995) .**

8.4.2.3 سلبيات التباين الجسمي Les inconvinients de la variation somaclonale

- غياب المراقبة على الكمية، المكان وأهمية الطفرات الحاصلة، والعوامل المؤثرة عليها.
- ظهور تغيرات غير متوقعة.
- ضعف استقرار الخصائص المحصل عليها، والتي تختفي عند النبات المجدد البالغ أو الأجيال اللاحقة.
- الحصول على نباتات بالصفات المرغوبة غير مضمون.
- بينت الدراسات الأولى حول الزراعة النسيجية للبطاطس أن الجينوم غير مستقر خلال تشكل الكالوس والزراعة الجزئية **(Robert, 1994)**.
- عند عدد من النباتات المحسنة، يعتبر تحليل ومراقبة التباينات الجسمية مهم جدا، وهو في نفس الوقت امر صعب **(Masayoshi *et al.*, 1996 ; Éric, 2003 ; Angela, 1995)**

4.الانتقاء المخبري *in vitro* La Sélection

1.4 نبذة تاريخية Apercu historique

بدأ انتقاء النباتات مخبريا في الثمانينات، لكن لا نتائج تذكر في الحقل **(Rowland *et al.*, 1989)** ؛ كما ان استراتجيات إنتاج نباتات مقاومة للملوحة، بفضل الانتقاء المرحلي، خلال الزراعة النسيجية، وصفت منذ زمن

طويل **(Flowers T. J. 2004)**، ونجحت عند أنواع كثيرة من النباتات الحساسة للملوحة **(Tal, 1993)** ، فقد تحصل **(Nabors *et al,* 1975,1980)** على خلايا تبغ ***Nicotiana tabacum*** تبدي مقاومة عالية للملوحة **0.16 %** من **NaCl**، وفيما بعد لـ **0.52 %**؛ أما عند البطاطس فقد نجح ***Sabbah et Tal*** سنة ***1990، Ochatt1et al*** سنة ***1999*** و ***Benavides et al*** سنة ***2000*** في انتقاء خلايا مقاومة للملوحة في الظروف المخبرية.

2.4 تعريف الانتقاء المخبري Definition de la sélection *in vitro*

يعتمد الانتقاء في الزراعة النسيجية على الخلايا الطافرة القادرة على البقاء في وسط الانتقاء، وإظهار بعض الخصائص المهمّة، كزيادة إنتاج الأحماض الأمينية الأساسية أو تحمّل الإجهاد الناجم عن الملوحة؛ و هو يتّم سواء على سلالة خلوية منحدرة من زراعة البروتوبلاست أو على كالوسات ناتجة من القطع النباتية (ثنائية الصيغة الصبغية) أو من زراعة الخلايا المشيجية (أحادية الصيغة الصبغية).

3.4 أهمية الزراعة النسيجية في الانتقاء الملحي

L'importance de la culture *in vitro* en sélection contre la salinité

تبقى أغلب الطرق الفعالة للتغلب على مشكل ملوحة التربة، هي انتقاء النباتات المقاومة للملوحة في الظروف المخبرية **(Zahed *et al*., 2007 ; Christophe *et al.*, 2006)**، باستعمال تقنيات زراعة الكالوس **(Anura, 1988)**، وتبقى للزراعة النسيجية إيجابيات في دراسة مقاومة للملوحة حسب **Croughan *et al*, 1981; (Piri *et al*., 1994)** هي:

- الفيزيولوجيا تدرس على المستوى الخلوي.
- زراعة الخلايا النباتية في أوساط صلبة ومحددة يسمح باستعمال أمثل ودقيق للتراكيز الملحية.
- تكون الخلايا المزروعة غير متمايزة أي تقليل تعقيدات الشكل ومرحلة النمو.
- الزراعة النسيجية تسمح بتقييم وتقدير مقاومة عدد كبير من النباتات في مساحة صغيرة.
- الزراعة النسيجية تقلل من استخدام الوسائل، المال، والأشخاص، كما أن العمل يتم في ظروف معقمة.
- تسمح الزراعة النسيجية بالمراقبة الكمية الدقيقة للنمو.

4.4 انتقاء النباتات المقاومة للملوحة Sélection des plantes résisantes à la salinité

تعتبر ملوحة التربة أهم عوامل الإجهاد اللاحيوي، التي تخفض الإنتاج النباتي **(Chen *et al.*, 2008)**، وهي تمس مساحات واسعة من العالم مما جعل إنتاج نباتات مقاومة للملوحة ضروريًا **(Toshio et 2005 Eduardo,)**، كما أن فهم آليات المقاومة الناتجة عن تطورات فيزيولوجية وبيوكيميائية، والتي تسمح للنباتات بالتأقلم مع الأراضي المالحة مهم جدا لاستغلالها **(Christophe *et al*., 2006)**، لذلك بدأ تحسين مقاومة الملوحة

في النباتات الغذائية كطريقة مرغوبة في معظم الأراضي الزراعية المالحة طبيعيا أو المملحة بعمليات السقي المحلية **(Ilga, 1995)**. ونجح إدخال مقاومة الملوحة للنباتات الحساسة للملوحة، ودرس عند عدة أنواع نباتية **(Epstein et Rains, 1987; Tal, 1996)** لكن يبقى ضئيل **(Tal, 1996)** ويتطلب برنامج الانتقاء سنوات للتمكن من تحديد والتاكد من الحصول على سلالات مقاومة **(Croughan *et al.*, 1981)** اقترحت عدة طرق لتطوير مقاومة الملوحة **Flowers et Yeo, 1995**( )

- تطوير النباتات المحبة للملوحة كبديل.
- التهجين بين الأنواع لرفع المقاومة للنباتات الموجودة.
- استعمال التغيرات الموجودة فعليا في النباتات.
- إنتاج وتوليد تغيرات في النباتات الموجودة باستعمال الانتقاء المتكرر، إحداث الطفرات، أو بزراعة الأنسجة.

الطرق والوسائل

1. مكان التجربة Site expérimental

أجريت التجارب على مستوى مخبر الزراعة النسيجية **Laboratoire de culture in vitro** بالشركة الوطنية للتطوير الفلاحي **SAGRODEV** قلال- سطيف.

2. المادة النباتية Matériel végétal

1.2 الدرنات Les tubercules

كان اختيارها حسب الأصناف المتوفرة في الجزائر، لقد تم استعمال أربعة أصناف من البطاطس(الشكل **1.2**)، وهي:

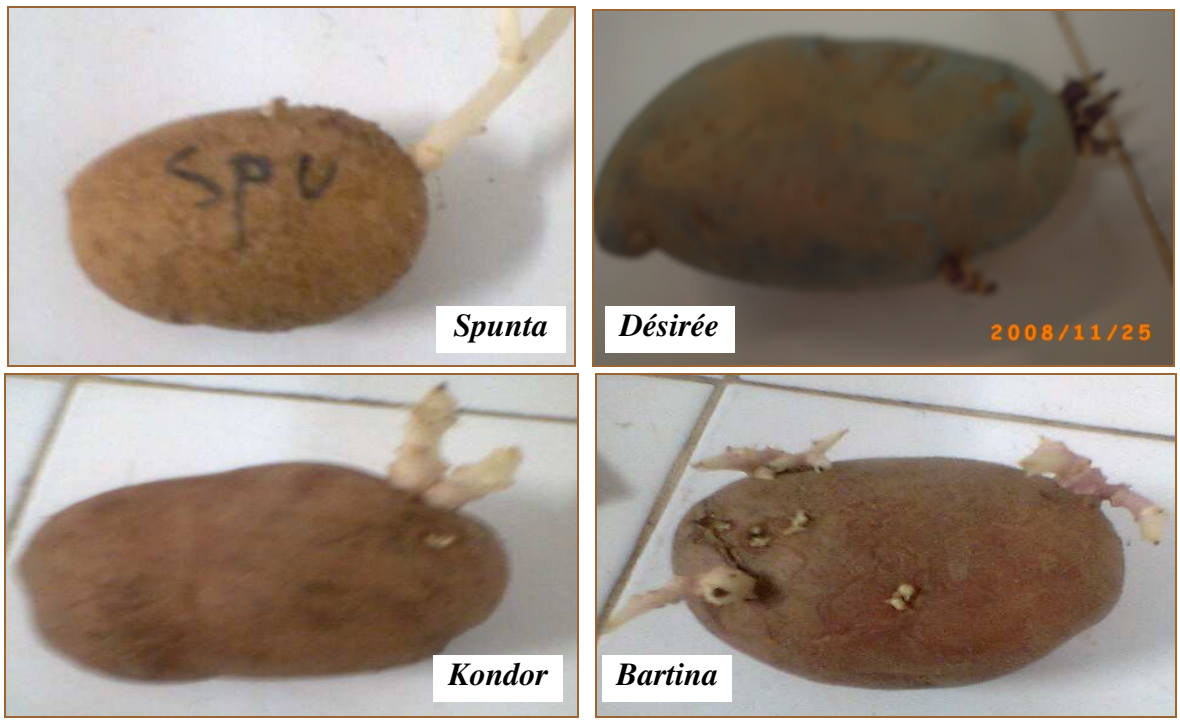
- ***Spunta*،*Désirée*** جلبت من الشركة الوطنية للتطوير الفلاحي **SAGRODEV:** قلال – سطيف.
- ***Bartina*، *Kondor*** من المركز الوطني لمراقبة البذور والمشاتل وتصديقها بالحراش **CNCC** الجزائر.

وفيما يلي بعض خصائص الأصناف الأربعة حسب **CNCC:**

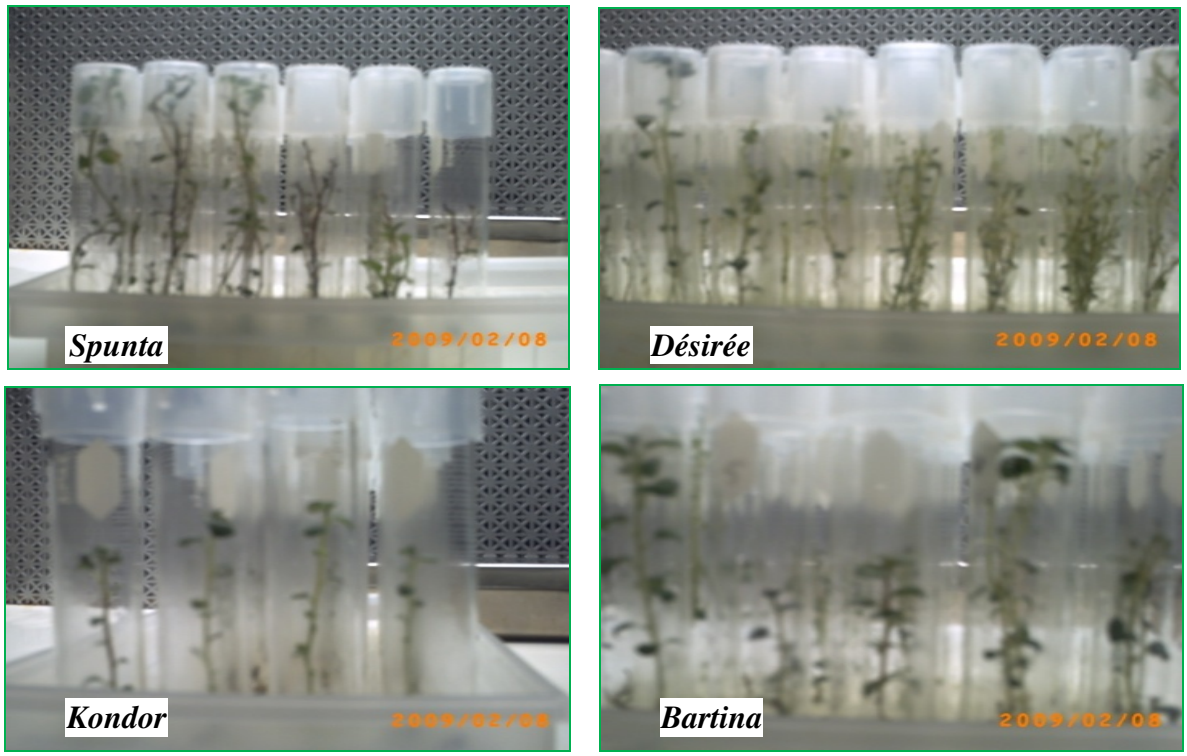
- الصنف ***Desiree*:** لون البشرة حمراء، النضج والسبات نصف مبكر الى نصف متأخر حيث تحتاج من **115 – 110** يوم. المادة الجافة كبيرة، المردودية عالية جدا، مقاومة متوسطة للفيروس **A** وكبيرة للفيروس **X**، **Y**. مقاومة لميلديو الدرنات، الأصل الوراثي **Urgenta X Depesche** بتاريخ **1960/01/01**م.
- الصنف ***Bartina*:** لون البشرة بيضاء، النضج والسبات نصف مبكرالى نصف متأخر **(115–110** يوم)، المادة الجافة منخفضة،المردودية عالية جدا،مقاومة كبيرة للفيروس**Y،X،A**، ومقاومة متوسطة لميلديو الدرنات.
- الصنف ***Spunta*:** الدرنات متطاولة، لون البشرة بيضاء، النضج والسبات نصف مبكر **(105 إلى 110** يوم)، المادة الجافة متوسطة، المردودية عالية جدا، مقاومة كبيرة للفيروس **A**، **X**، **Y**، ومقاومة متوسطة لميلديو الدرنات، تصديرية، مسجلة منذ **31–12–1967** الاصل:**Béa X U.S.D.A. 96-56.**
- الصنف ***Kondor*:**الدرنات متطاولة،لون البشرة حمراء،النضج والسبات نصف مبكر،الاصل **61333 X Wilja.**

2.2 النبتات الزجاجية Vitroplants:

أجريت التجارب على نبتات زجاجية من الجيل الأول (الشكل**2.2**)، ناتجة من نمو الانباتات" **Les germes**" في الدرنات بعد حوالي **5** الى **7** أسابيع في الوسط الزراعي **MS (Rosario et Alan, 1999)**.



الشكل 1.2: درنات أصناف البطاطس المستعملة في التجربة



الشكل 2.2: النبتات الزجاجية المستعملة في التجربة

3. طريقة الزراعة Méthode de culture

1.3 وسط الزراعة Milieu de culture

يعتبر (MS, 1962) الوسط القاعدي الأكثر استعمالا بالنسبة للبطاطس (Rosario et Alan, 1999)؛ يتم تحضيره انطلاقا من محاليل التخزين(1 لتر) (الجدول 1.2).

الجدول1.2: مكونات وسط الزراعة (MS, 1962)

العناصر	التركيب الكيميائي	الاسم	التركيز المضاف لـ 1ل	تركيز محاليل التخزين
العناصر الكبيرة Macro éléments	NH_4NO_3 KNO_3 $MgSO_47H2O$ $CaCl_2\ 2H_2O$ KH_2PO3	نترات الامونيوم نترات البوتاسيوم سلفات المغنزيوم كلوريد الكالسيوم فوسفات البوتاسيوم	33 38 7.4 8.8 3.4	مركزة 20 مرة
العناصر الصغيرة Micro éléments	H_3BO_3 $MnSO_4\ 4H_2O$ $ZnSO_4\ 4H_2O$ KI $Na_2\ 2MoO_4, H_2O$ $CuSO_4\ 5H_2O$ $CoCl_2\ 6H_2O$	الاورتوبوريك سلفات المنغنيز سلفات الزنك يود البوتاسيوم موليبدات الصوديوم سلفات النحاس كلوريد الكوبالت	0.62 2.223 0.86 0.083 0.025 0.0025 0.0025	مركزة 100 مرة
Fer (Fe-EDTA)	$FeSO_47H_2O$ $Na_2C_{10}H_{14}N_2O_8\ 2H_2O$	سلفات الحديد Na_2 EDTA	2.78 3.725	مركزة 100 مرة
الفيتامينات vitamines	– B_3 B6 B1	الجلايسين حمض لنيكوتنيك البيريدوكسين الثيامين	0.2 0.05 0.5 0.01	مركزة 100 مرة

لتحضير **1** لتر من وسط الزراعة حسب الجدول **2.2**، لإنتاج النبيتات، الكالوسات، وتكييف الكالوس للملوحة:

- نمزج مختلف المكونات المأخوذة حسب الجدول **2.2**، في حوجلة سعتها **1** لتر.

نكمل الحجم إلى **1** لتر بالماء المقطر، ثم نعدل **pH** بجهاز **pH** في حدود **5.6** الى **5.8**، بواسطة قاعدة **NaOH** او **HCl 1** مولا ري حسب الحالة، وهي القيم التي تسمح بتصلب الاجار.

- نضيف الاجار الى المكونات السابقة.
- نسخن الخليط لإذابة الاجار، ثم نوزع الخليط في أنابيب الاختبار(**25**م م***150** م م) المغسولة والمجففة، **10** مل لكل أنبوب، ثم غلقها بمغالق، ووضعها في الحامل المخصص (**Rosario et Alan, 1999**).

الجدول 2.2: تحضير وسط الزراعة 1 ل المستعمل في التجربة.

العناصر	إنتاج النبيتات	إنتاج الكالوسات	تكييف الكالوسات
العناصر الكبيرة MS	50 مل	50 مل	50 مل
العناصر الصغيرة MS	10 مل	10 مل	10 مل
MS Fer (Fer-EDTA)	10 مل	10 مل	10 مل
الفيتامينات= MS	10 مل	10 مل	10 مل
السكريات غ/ل – السكروز - الاجار	30 7	30 7	30 7
Myo-inositol مغ/ل	100	100	100
منضمات النمو غ/ل: – الاوكسين (2.4D;NAA)= – السيتوكينين (الكنتين)= - Acide Geberllique	– – –	موضحة في الجدول 4.2	موضحة في الجدول4.2
ملح كلور الصوديوم NaCl: غ/ل	–	–	موضحة في الجدول2–6

- **منظمات النمو:**

يتم تحضير محاليل تخزين بالنسبة لمنظمات النمو كما يبينه الجدول **3.2** **(Rosario et Alan, 1999) .**

الجدول 3.2: تحضير محاليل التخزين لتحضير وسط الزراعة المستعمل في التجربة.

منظم النمو	NAA	2.4D	Kin	BAP	GA3
المذيب	NaOH 1مولاري + الماء المقطر	ايثانول + الماء المقطر	NaOH 1 مولاري + الماء المقطر	NaOH 1 مولاري + الماء المقطر	ايثانول + الماء المقطر
درجة الحفظ	2–8 ° م	< 0 ° م	< 0 ° م	2–8 ° م	2–8 ° م

- تضاف منظمات النمو إلى الوسط الزراعي حسب الكميات المبينة في الجدول**4.2.**

2.3 التعقيم Stérilization

1. تعقيم مكان العمل

- تجرى كلّ المعاملات المخبرية تحت منضدة التعقيم **Hotte stérile (شكل 3.2)**، التي تمسح بهيبوكلوريد الصوديوم(ماء جافيل) يوم قبل التجربة، ثم بالايثانول**(70°)** قبل بدأ التجربة مباشرة.
- إشعال معقم الأدوات (**250** °م) والمنضدة **20** دقيقة قبل بدا التجارب **(شكل 3.2)**.

الجدول4.2: تراكيز منظمات النمو المستعملة لإنتاج الكالوسات في التجربة.

الوسط		الاوكسين	السيتوكينين	الجبريلين	التركيز	المرجع
1	**الصنف**	**NAA**	**الكنتين**	–	مركزة 1000مرة	**Hakan, 2004**
	التركيز	5 مع/ل	0.5 مع/ل	–		
	التحضير	500مغ/100ملل	50mg/100ml	–		
2	**الصنف**	**NAA**	**BAP**	**GA3**		**Charlotte *et al.*, 1987**
	التركيز	5مغ/ل	1مغ/ل	1مغ/ل		
	التحضير	500مغ/100ملل	100مغ/100ملل	100مغ/100		
3	**الصنف**	**2.4D**	**الكنتين**	–		**Hakan, 2004**
	التركيز	3 مغ/ل	0.5 مع/ل	–		
	التحضير	300مغ/100ملل	50مغ/100ملل	–		

2.تعقيم أدوات العمل Stérilisation des instruments

- يتم تعقيم أدوات العمل: ملاقط **Pinces**، المشارط ذات الشفرة المعقمّة "**Scalpels à lames stérile**" بياشر **Birchers** في فرن باستور **L'étuve (شكل 3.2)**، **120** °م لمدة **2** ساعة.
- غسل الأيدي بالصابون ثم بهيبوكلوريد الصوديوم(ماء جافيل)قبل كل معاملة.
- مسح الأيدي بالكحول (الايثانول) قبل و أثناء العمل تحت المنضدة.
- غمر أدوات العمل في الايثانول وإمرارها في جهاز تعقيم الأدوات الحبيبي تحت درجة حرارة **250**°م لمدّة **10** ثواني على الأقل بعد كل ملامسة لأدوات النباتية.

3.تعقيم الوسط الزراعي:Stérilisation du milieu de culture

الأنابيب المحتوية على الوسط الزراعي في مختلف التجارب، الماء المقطر، والورق النشاف، يتم تعقيمها بواسطة جهاز الصاد الموصد **Autoclave** (شكل **3.2**)، في درجة حرارة **120**°م لمدة **20** دقيقة.

4.تعقيم الأدوات النباتية: Stérilisation du matériel végétal

- توضع الدرنات في شروط مساعدة لإنباتها (ظلام + درجة حرارة **18**– **20** °م)، لمدة **30** يوم، وهي المدة الكافية لاستطالة ما بين العقد للانباتات **Les Germes**.
- إمرار سريع للانباتات المحتوية عيون في الايثانول **75** °، تحت المنضدة **20** ثا، حسب حالة الانباتات.
- غمرالانباتات في محلول هيبوكلوريد الصوديوم **12**° (ماء جافيل) لمدة **6** الى **10** دقيقة، حسب الحالة.
- غمرها **3** الى **4** مرات في الماء المقطر المعقم لمدة **05** د، ثم تجفف في ورق النشاف المعقم.

الشكل3.2: بعض الأجهزة المستعملة في التجربة.

3.3 الشروط الفيزيائية للزراعة: Conditions pysiologiques de la culture

1.إنتاج النبيتات: Production des plantules

تزرع الانباتات المعقمة، قطعة محتوية على عقدة لكل أنبوب، حيث يوجه البرعم إلى الأعلى في الوسط الزراعي **MS** المخصص للتقاوي الدقيق، وتحضّن في غرفة الزراعة (**25**± **1**°م)، وتواقت ضوئي **16**- **8** لأربع أسابيع.

2- إنتاج الكالوس: Production des cals

يتم إنتاج الكالوسات عند البطاطس انطلاقا من فسائل من النبيتات **(Bouharmont, 1991)**. **3** فسائل لكل علبة بتري **(Queiros *et al*., 2007)**. ولتحفيز تشكيل الكالوسات، تحضّن أنابيب الاختبار في غرفة الزراعة في الظلام، تحت درجة حرارة **25**± **1**°م، لمدّة أربع أسابيع **(Khadiga *et al*., 2009)**.

3. تكييف الكالوسات للملوحة: Adaptation des cals à la salinité

يتم تطبيق الإجهاد الملحي باستعمال الملح الصناعي النقي (**الجدول5.2**).

الجدول5.2: خصائص ملح NaCl المستعمل في التجربة CDRS-

الأصل	ملح سبخي
المحتوى من NaCl	% 97
المحتوى من Mg^{++}	% 0.6
المحتوى من Ca^{++}	% 0.75
نسبة المواد غير الذائبة	% 0.3
نسبة الرطوبة	% 4.00
قطر الحبيبة	0.5- 08 ملم

الجدول6.2 تراكيز ملح NaCl المستعملة في تكييف الكالوسات (Queiros *et al*., 2007).

المجموعة	تركيز الملح المستعمل (ملي مول/ل من NaCl)
01	00 (الشاهد)
02	50 (2.91 غ)
03	100(5.85غ)
04	150(8.77غ)

4. تقييم النتائج Evaluation des résultats

1.4 انتاج الكالوسات Induction du cals

- تمت دراسة تأثير كل من الوسط الزراعي، نمط الفسيلة، والنمط الوراثي على:

- سرعة تشكيل الكالوسات.
- معدل تشكيل الكالوسات.
- خصائص الكالوسات: من خلال نمط ولون الكالوسات.
- نمو الكالوسات: يقيم من خلال الوزن الرطب والجاف للكالوسات بعد **4** أسا بيع، لكل زراعة جزئية.

يحسب الوزن الجاف بعد إمرار الكالوسات في فرن باستور **85**°م، **48** ساعة **(Sabbah et tal, 1990)**.

2.4 تكييف الكالوسات للملوحة:Adaptation des cals à la salinité

- يتم قياس مختلف المؤشرات في انماط الكالوسات التالية:
  - الكالوس العادي النامي في الوسط الخالي من الملح=(CN)= الشاهد
  - الكالوس العادي النامي في وسط مدعم بالملح =(CS)
  - كالوس مكيف بـ**150** ملي مول/لNaCl ينمو في وسط خال من الملح = (SN)
  - كالوس مكيف بـ**150** ملي مول/لNaCl ينمو في وسط ملحي=(SS).

- **معدل تشكيل الكالوسات، نمو الكالوس، وصف الكالوسات المتحصل عليها**، يتم بنفس الطريقة السابقة.
- **النمو المتوسط النسبي (CMR):** يمثل الزيادة في الوزن الرطب أو الجاف، ويحسب بالعلاقة التالية:

CMR=((FMf - FMi)/FMi) *100

- حيث **FMf، FMi** الوزن الرطب الأولي و النهائي **(Queiros *et al.* , 2007; Meredith, 1978)**.

- **تحديد المحتوى المائي:** يتم حسابه وفق العلاقة: **WC =(FW - DW)/FW**

- حيث **DW الوزن الجاف** و **FW** الوزن الرطب للكالوسات: **(Queiros *et al*., 2007)**.

- **معامل الحساسية للملوحة:** يحسب بالعلاقة: **IS=[(Ms-Mt)/Mt]*100**

- حيث **Ms** قيمة المتغير عند الكالوس تحت الإجهاد الملحي، مثلا الوزن الجاف للكالوسات في التراكيز الملحية.
- **Mt** قيمة المتغير عند الكالوس الشاهد، مثلا الوزن الجاف للكالوسات الشاهدة في التركيز **0.**

كلما كان معامل الملوحة أكثر سالبية، يكون الكالوس أكثر حساسية للملوحة **(Ben Ahmed *et al*., 2008)**.

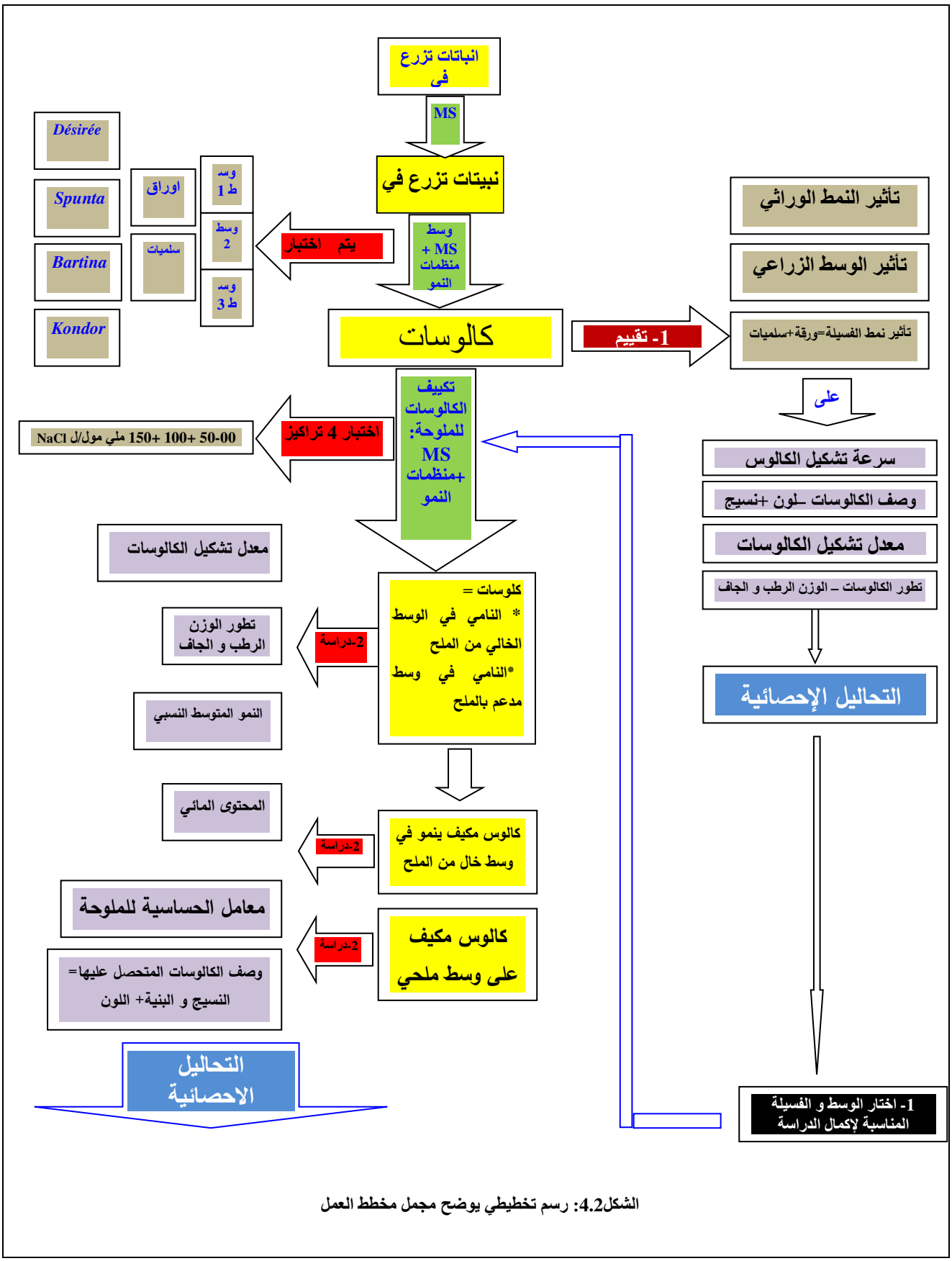
3.4 التحاليل الإحصائية Analyses statistiques

حتى تكون التحاليل الإحصائية للنتائج ذات معنى، نأخذ **5** مكررات **(Gagik, 1990)**.

- عولجت النتائج باستعمال برنامج "**EXCEL2007** " بهدف التمثيل البياني للعلاقة بين قيم المعايير المدروسة تحت تأثير العوامل المراقبة.
- من أجل الدراسة الإحصائية للتباين الملاحظ في النتائج المحصّل عليها إن كان تحت تأثير العوامل المراقبة أو أنها إحصائيا بدون معنى، استخدمنا طريقة تحليل المتغيّر "**Analyse of variance**"، بتحقيق اختبار "**ANOVA**".

بالنسبة للمقارنة بين النتائج، فقد تحققت بالاستعانة باختبار **LSD Least Sinificant Difference** عند عتبة **5%.**

- الخطأ القياسي SE standard eror



الشكل4.2: رسم تخطيطي يوضح مجمل مخطط العمل

1. نتائج تشكل الكالوس

1. نتائج تشكيل الكالوسات Résultat de callogénése

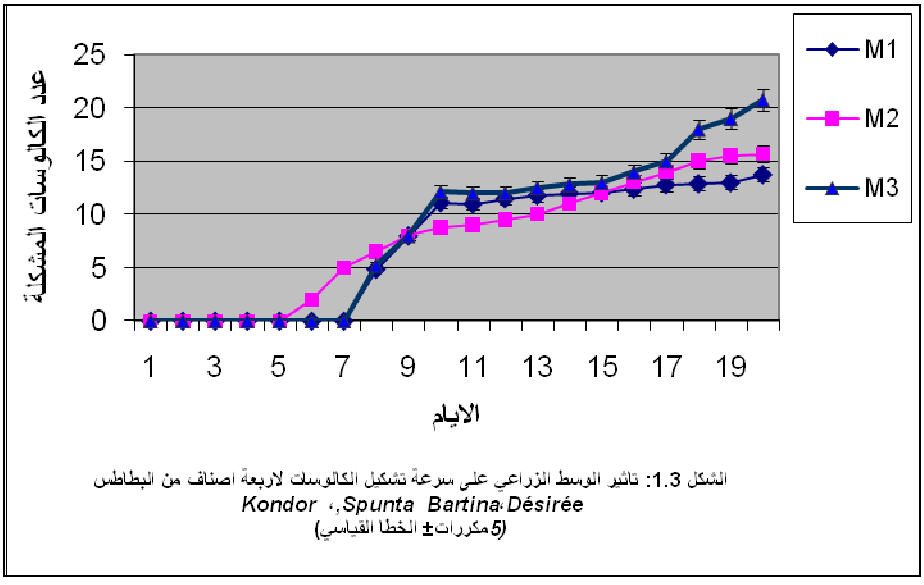
لغرض تحديد الشروط المثلى لتشكّل الكالوسات عند البطاطس، اختبرنا ثلاث عوامل يمكنها التأثير على استجابة الصنف المزروع مخبريا لتشكل الكالوس وهي:

- تركيب وسط الزراعة من منظمات النمو؛ تم اختبار تأثير ثلاث تركيبات من منظمات النمو في ثلاثة أوساط زراعية: (5 مغ/ ل NAA + 0.5 مغ / ل KIN) وهو الوسط 1، (5 مغ/ ل NAA + 1 مغ / ل BAP +1 مغ / ل GA3) وهو الوسط 2، (3 مغ / ل + 2.4D + 0.5 مغ / لKIN) وهو الوسط 3.
- نمط الفسيلة المزروعة؛ تم اختبار نمطين من الفسائل: السلميات والأوراق.
- النمط الوراثي؛ تم اختبار أربعة أصناف من البطاطس:*Désirée* ،*Spunta* ، *Bartina*، *Kondor*.

1.1 تشكل الكالوسات Callogénése

1.1.1 سرعة التشكل Vitesse d'induction

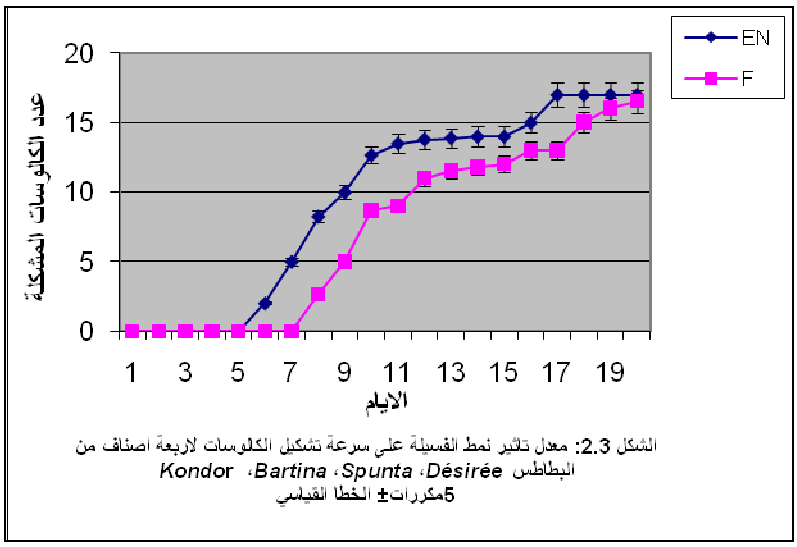
تمثل المنحنيات في الشكل1.3، النتائج الخاصة بمعدل تاثير الوسط الزراعي على سرعة تشكل الكالوسات، وهي تبين تقارب كبير في عدد الكالوسات المتشكلة في كل من الأوساط الثلاثة، أي غياب التأثير المعنوي للوسط الزراعي (الجدول1.3).



الشكل 1.3: تاثير الوسط الزراعي على سرعة تشكيل الكالوسات لاربعة اصناف من البطاطس
Kondor ،*Spunta*, *Bartina*،*Désirée*
(5 مكررات± الخطا القياسي)

ظهور الكالوسات في الاوساط الثلاثة كان بعد 5 الى 7 أيام من الزراعة، واغلب القطع شكلت الكالوسات خلال 10 الى 15 يوم، ، مع استمرار التشكل الى اليوم 20 في الوسط 3.

فيما يخص تأثير نمط الفسيلة المزروعة على سرعة تشكل الكالوسات، تبين منحنيات الشكل2.3، وجود فرق في سرعة تشكل الكالوسات بين الأوراق والسلميات.



الشكل 2.3: معدل تاثير نمط الفسيلة على سرعة تشكيل الكالوسات لاربعة اصناف من البطاطس *Désirée* ،*Spunta* ،*Bartina* ،*Kondor*
5مكررات± الخطا القياسي

يبدأ تشكل الكالوسات في الفسائل الخاصة بالسلميات ابتدءا من اليوم الـ**5** لكل الأصناف، بينما في الأوراق يبدأ ظهور الكالوسات انطلاقا من اليوم الـ**7**؛ ومع مرور أيام الزراعة نلاحظ أن سرعة التشكل في الفسائل الخاصة بالسلميات اكبر من سرعة التشكل للفسائل الخاصة بالأوراق؛ إلى أن يكتمل ظهور الكالوسات في كل الفسائل خلال **17** يوم للسلميات و**20** يوم للأوراق.

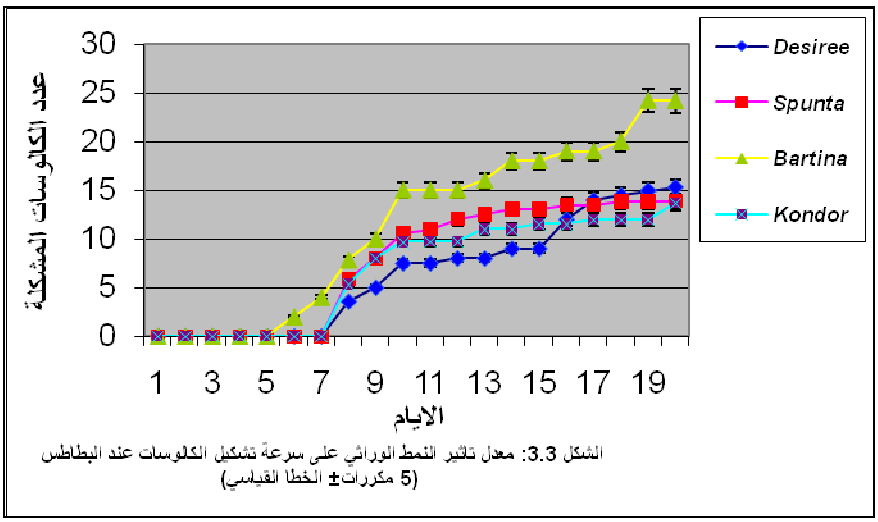
النتائج المتحصل عليها تؤكدها التحاليل الإحصائية المنجزة (الجدول**1.3**)، حيث سجلنا تأثيرا معنويا لنمط الفسيلة على سرعة تشكيل الكالوسات.

يمكننا بعد مقارنة الفرق بين معدلات سرعة تشكل الكالوس مع قيمة **LSD** للفسيلتين (الجدول**2.3**)، ان نحصل على مجموعتين متباينتين احصائيا:

المجموعة **1**: تخص السلميات بمعدل سرعة تشكل **7.25** يوما.

المجموعة **2**: تخص الأوراق بمعدل سرعة تشكل هو **8.16** يوما.

تأثير النمط الوراثي لأربعة أصناف من البطاطس على سرعة تشكيل الكالوسات؛ وحسب النتائج المبينة في الشكل**3.3**، كان غير واضح، فقد لوحظ ظهور الكالوسات بدءا من اليوم الـ **5** للصنف ***Bartina*** وبعد**7** أيام للأصناف الباقية؛ هذه النتائج تؤكدها التحاليل الإحصائية المنجزة (الجدول**1.3**)، والتي تبين غياب أي تأثير معنوي للنمط الوراثي على سرعة تشكل الكالوسات.

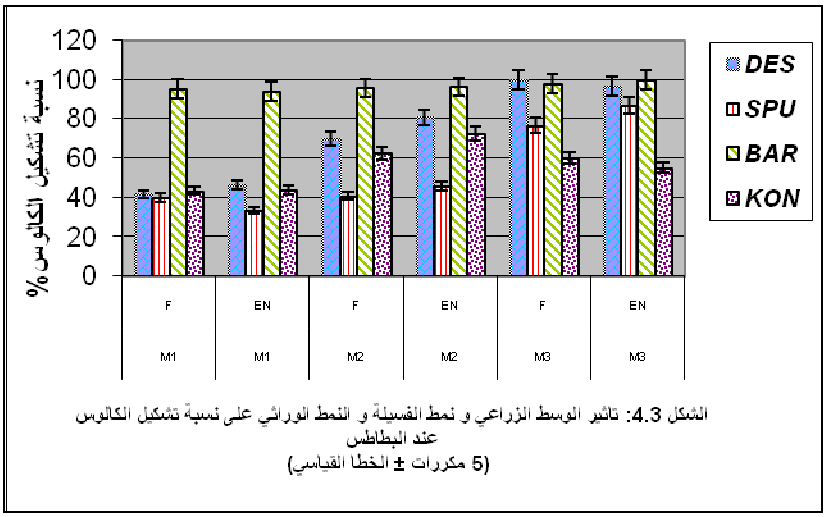


الشكل 3.3: معدل تأثير النمط الوراثي على سرعة تشكيل الكالوسات عند البطاطس
(5 مكررات± الخطأ القياسي)

2.1.1 نسبة تشكل الكالوس Pourcentage d'induction des cals

لتقدير نسبة تشكل الكالوس حسب الاوساط الزراعية، قمنا بحساب النسبة بين عدد الفسائل المشكلّة للكالوس، والعدد الإجمالي للفسائل المزروعة، وهذا بعد مرور أربعة أسابيع من الزراعة.

تظهر النتائج في الشكل **4.3**، أن تشكل الكالوسات تم في الأوساط الثلاثة، لكن بدرجات متفاوتة، مما يدل على التأثير الواضح للوسط الزراعي على نسبة تشكل الكالوسات.



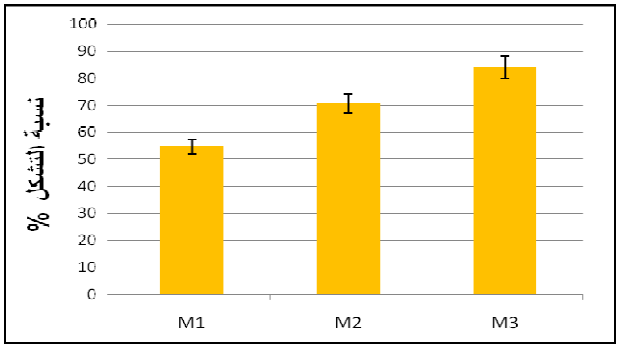
الشكل 4.3: تأثير الوسط الزراعي و نمط القسيلة و النمط الوراثي على نسبة تشكيل الكالوس عند البطاطس
(5 مكررات ± الخطأ القياسي)

تؤكد النتائج السابقة التحاليل الإحصائية المنجزة، والخاصة بتأثير الوسط الزراعي (الجدول**3.3**)؛ حيث كان التأثير معنوي جد عال للوسط الزراعي على نسبة تشكل الكالوسات.

لوحظ أحسن معدل لتشكل الكالوس عند الصنف ***Désirée*** في الوسط **3** بـ **98.38 %** ثم الوسط **2** بـ **75.38%** وأخيرا الوسط **1** بـ **44.16 %**. أما بالنسبة للصنف ***Spunta*** فقد كان عال في الوسط **3** مقارنة بالوسطين **2** و**1** بالنسب **81.66 %** ، **43.28 %** ، و **36.66 %** على التوالي.

وفيما يخص الصنفين ***Bartina*** و***Kondor***، نلاحظ أن نسب تشكل الكالوسات كانت متقاربة بين الوسطين**3** و**2** من جهة، وبين **2** و**1** من جهة أخرى بالنسب **99**، **95.97**، و**94.61** **%** على التوالي للصنف ***Bartina***، و**67.61**، **57.58**، و**43.72** **%** على التوالي للصنف ***Kondor***.

يبين حساب الفرق بين معدلات تشكل الكالوسات حسب الأوساط الزراعية، ومقارنته مع قيمة **LSD** (الجدول**4.3**)، ان الوسطين **2** و**3** هما الأحسن لإنتاج الكالوس عند الأصناف المزروعة (الشكل **5.3**).

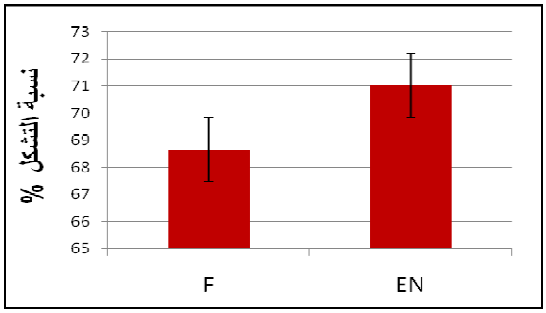


الشكل 5.3: معدل تاثير الوسط الزراعي على نسبة تشكيل الكالوس عند اصناف البطاطس

Kondor ،***Bartina*** ،***Spunta*** ،***Désirée***.

(5 مكررات± الخطا القياسي)

بالنسبة لتأثير نمط الفسيلة على نسبة تشكل الكالوسات، وحسب التحاليل الإحصائية المجراة، تبين غياب اي تأثير معنوي (الجدول **3.3**)، أما النتائج البيانية في الشكل **6.3**، فتبين معدل عال لإنتاج الكالوس عند زراعة السلميات مقارنة بزراعة الأوراق ؛ باستثناء الصنف ***Spunta*** أين كانت النسبة عالية عند زراعة الأوراق **40** **%** مقارنة مع السلميات **33.33** **%** في الوسط **1** و**2**، كذلك ***Désirée*** و***Kondor*** في الوسط **3**، أين سجلت نسبة عالية عند الأوراق مقارنة بما سجل عند زراعة بين العقد (الشكل **4.3**).



الشكل 6.3: معدل تاثير نمط الفسيلة على نسبة تشكيل الكالوس عند اربعة اصناف من البطاطس

Kondor ،***Bartina*** ،***Spunta*** ،***Désirée***.

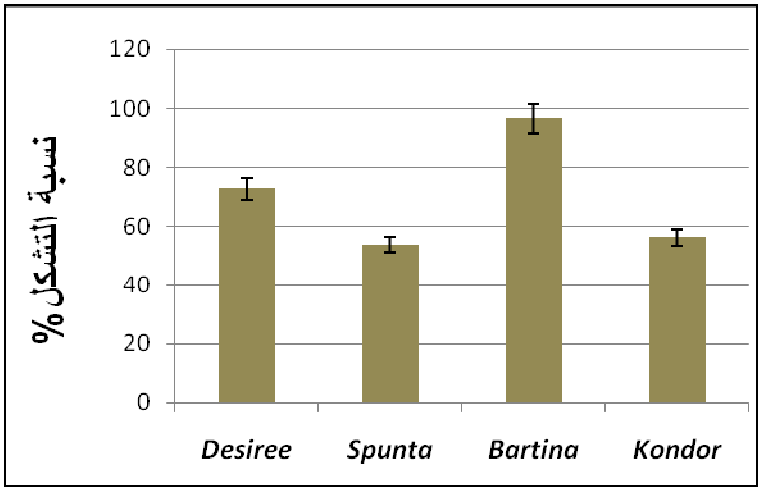
(5 مكررات ± الخطا القياسي)

فيما يخص تأثير النمط الوراثي على نسبة تشكل الكالوس، فقد كان واضحا من خلال الشكل **4.3**، وتاكد ذلك بالتحاليل الإحصائية المنجزة، والتي بينت وجود تأثير معنوي جد عال للنمط الوراثي على نسبة تشكل الكالوسات (الجدول **3.3**).

نلاحظ من خلال حساب الفرق بين معدلات تشكل الكالوسات حسب الأصناف، ومقارنته مع قيمة **LSD**، وجود فرق معنوي بين الصنفين ***Spunta*** و ***Bartina*** ، وبين الصنفين ***Kondor*** و ***Bartina*** ، وبين الصنفين ***Désirée*** و ***Bartina***، وبذلك نتحصل على مجموعتين متباينتين احصائيا (الجدول**5.3**).

تضم المجموعة الأولى الأصناف ***Spunta*** و ***Désirée*** و ***Kondor***، بمعدل تشكل للكالوسات لا يتعدى **.%72.64**

تضم المجموعة الثانية الصنف ***Bartina*** ، بمعدل تشكيل للكالوسات يصل **96.53 %** (الشكل **7.3**).



الشكل7.3: معدل تاثير الصنف النباتي على نسبة تشكيل الكالوس عند البطاطس

Désirée، Spunta، Bartina، Kondor.

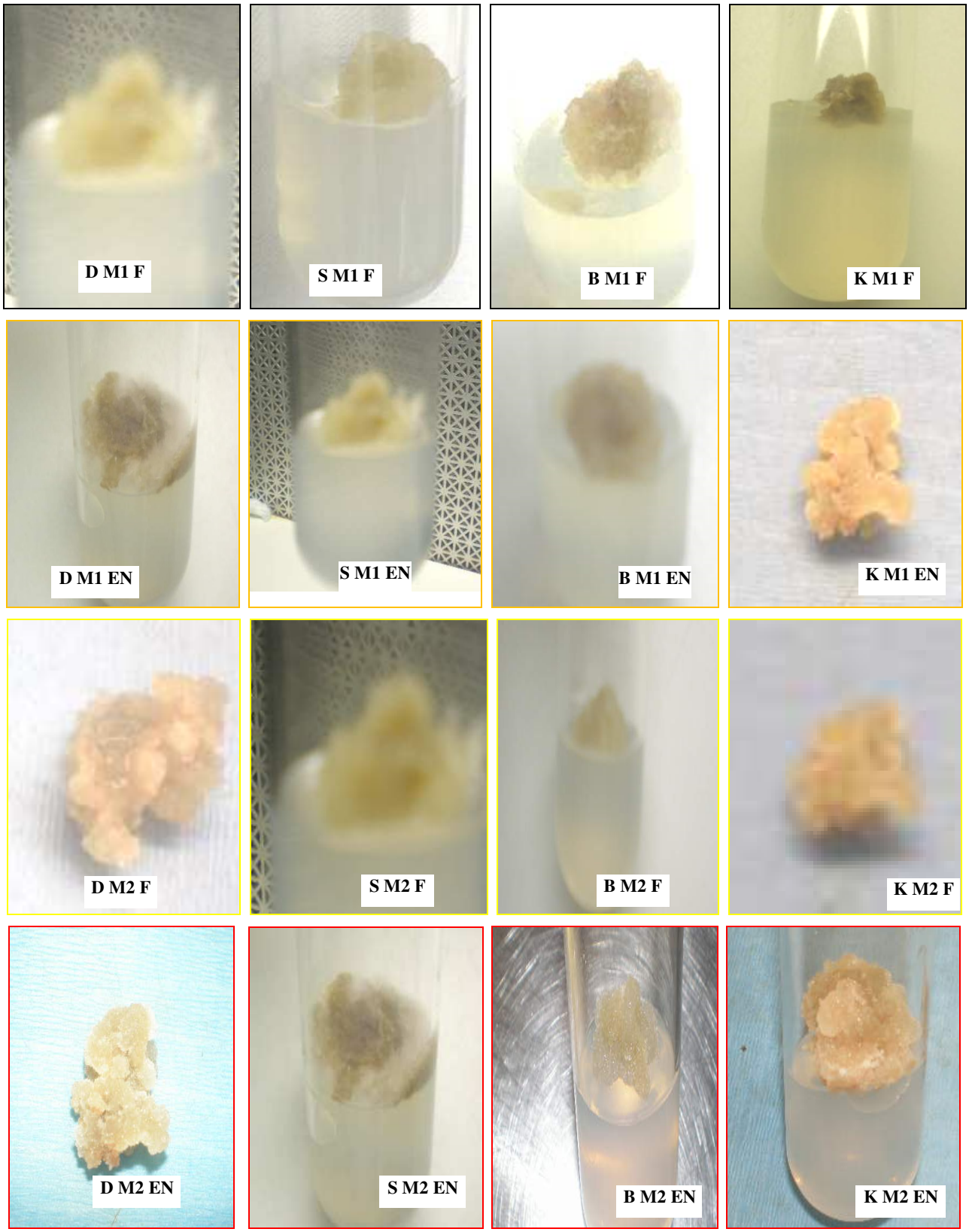
(5 مكررات± الخطا القياسي)

2.1 وصف الكالوسات: النسيج واللون : Description des cals

فيما يخص نمط ولون الكالوسات، سمحت لنا الزراعة المخبرية للبطاطس، بتحديد عدة أنماط من الكالوسات، تشكلّت بعد **4** أسابيع من بداية الزراعة، تمثلّت في الكالوسات المتفتتّة المصفرة، الكالوسات اللّزجة نصف الشفافة، إضافة إلى الكالوس البني الفاتح المتماسك (الشكل**8.3**).

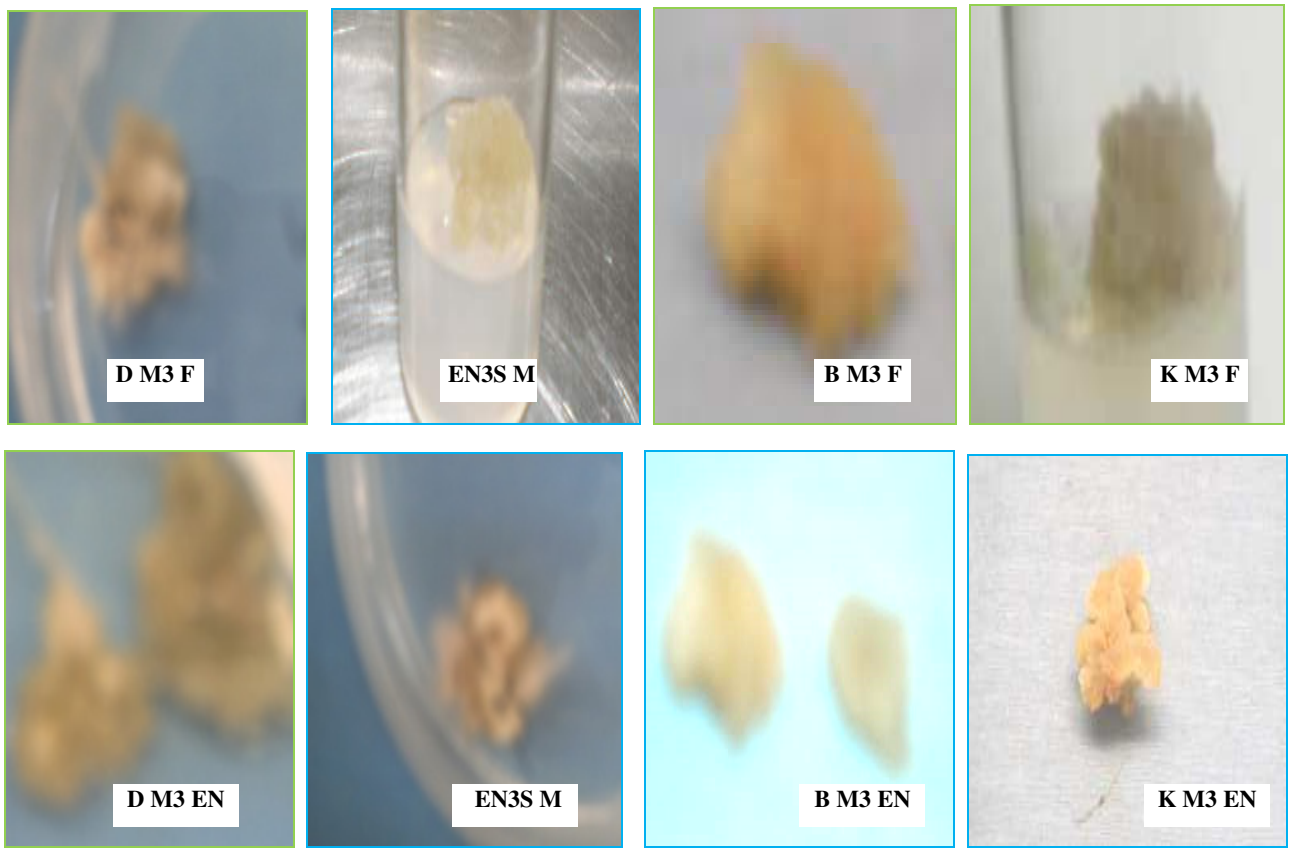
في الوسط **1** اغلب الكالوسات لزجة نصف شفافة، أما في الوسط **2** و**3** فكانت منوعة من مفتتة مصفرة في الوسط **3** إلى شفافة متماسكة ولزجة للوسط **2**.

فيما يخص نمط ولون الكالوسات، حسب نمط الفسيلة المزروعة، كانت احسن بالنسبة للسلميات، وهي غالبا متماسكة مصفرة إلى شفافة ونادرا بنية فاتحة.



الشكل 8.3: خصائص الكالوس (النمط واللون) عند البطاطس الاصناف *Désiré-Spunta-Bartina-Kondor*.

حيث: *Désirée* =D ، *Spunta* =S ، *Bartina* =B ، *Kondor* =K



تابع – الشكل 8.3: خصائص الكالوس (النمط واللون) عند البطاطس الاصناف Désiré-Spunta-Bartina-Kondor.

حيث: Désirée =D ، Spunta =S ، Bartina =B ، Kondor =K

فيما يخص نمط ولون الكالوسات حسب النمط الوراثي، كانت بالنسبة للصنف ***Désirée*** بنية فاتحة متماسكة في الوسط **3** وشفافة متماسكة في الوسط **2** و**1** . أما الصنف ***Spunta*** فكانت الكالوسات من مفتتة مصفرة إلى لزجة نصف شفافة في الغالب؛ في حين بالنسبة للصنف ***Bartina*** فكانت الكالوسات لزجة نصف شفافة، أما الصنف ***Kondor*** فكانت في الغالب شفافة متماسكة.

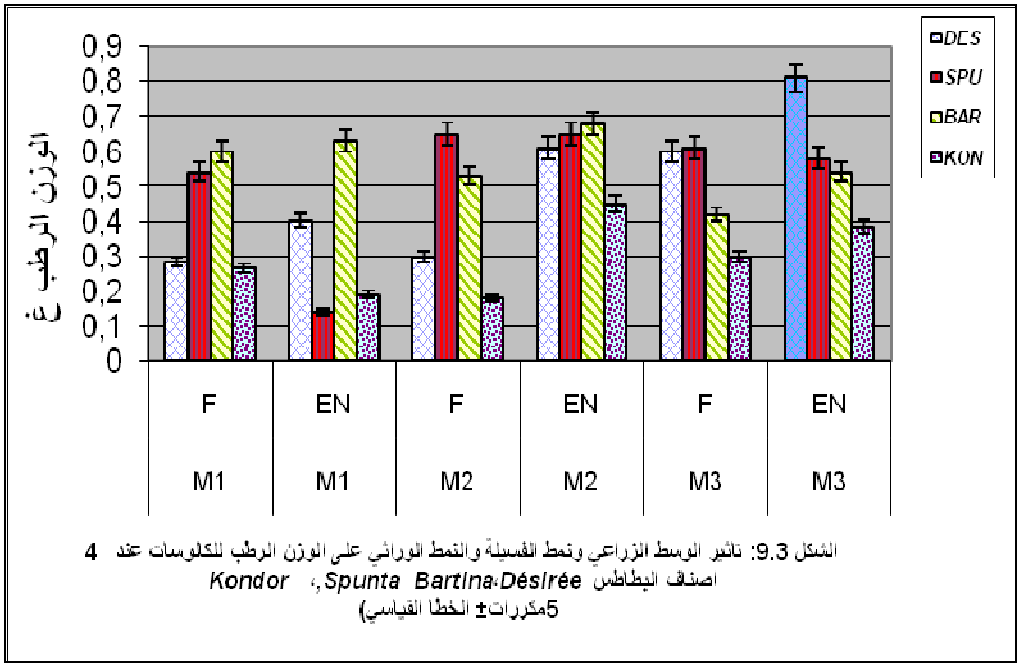
3.1 نمو الكالوسات La croissance des cals

تقييم النتائج تم بدراسة تطور قيم الوزن الرطب والجاف، بعد اربعة أسابيع من بداية الزراعة.

1.3.1 الوزن الرطب: Poids frais

تبين النتائج في الشكل **9.3**، والخاصة بقيم الوزن الرطب للكالوسات تباين في النتائج بين الأوساط الثلاثة؛ وهذا ما تؤكده التحاليل الإحصائية المنجزة (الجدول **6.3**)، التي تبين تأثير معنوي للوسط الزراعي على قيم الوزن الرطب للكالوسات.

حسب الشكل، نسجل في الوسط الـ2 أحسن النتائج بالنسبة للصنف ***Spunta*** و للفسيلتين، ***Bartina***، و ***Kondor*** بالنسبة للسلميات، أما في الوسط الـ3 فكانت النتائج مهمة بالنسبة للصنف ***Désirée*** وللفسيلتين.



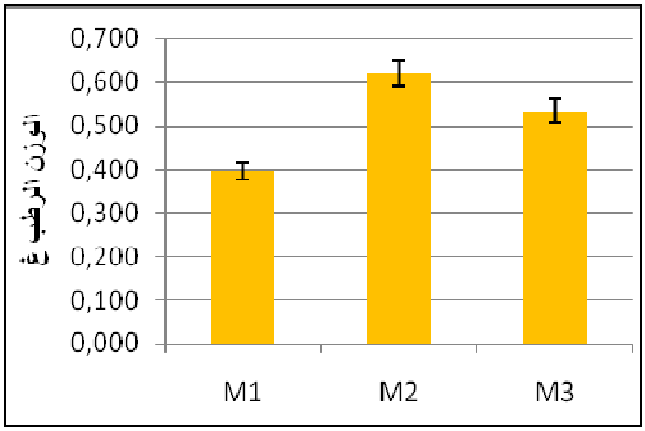
الشكل 9.3: تاثير الوسط الزراعي ونمط الفسيلة والنمط الوراثي على الوزن الرطب للكالوسات عند 4 اصناف البطاطس Désirée، Bartina، Spunta، Kondor
(5مكررات± الخطأ القياسي)

نلاحظ من خلال حساب الفرق بين معدلات الوزن الرطب حسب الأوساط الزراعية، ومقارنته مع قيمة **LSD** وجود فرق معنوي بين الوسط **1** و **2** وغيابه بين **1** و **3** وبين **2** و **3** (الجدول**7.3**).

لذلك يمكن أن نحصل على مجموعتين متباينتين احصائيا حسب قيم الوزن الرطب:

تضم المجموعة الأولى الوسط **1** و **3** بوزن منخفض أقل من **0.53** غ.

تضم المجموعة الثانية الوسط **2** و **3** بوزن مرتفع نوعا ما يصل **0.62** غ (الشكل**10.3**).



الشكل 10.3: معدل تاثير الوسط الزراعي على الوزن الرطب للكالوسات عند البطاطس

***Désirée*، *Spunta*، *Bartina*، *Kondor*.**

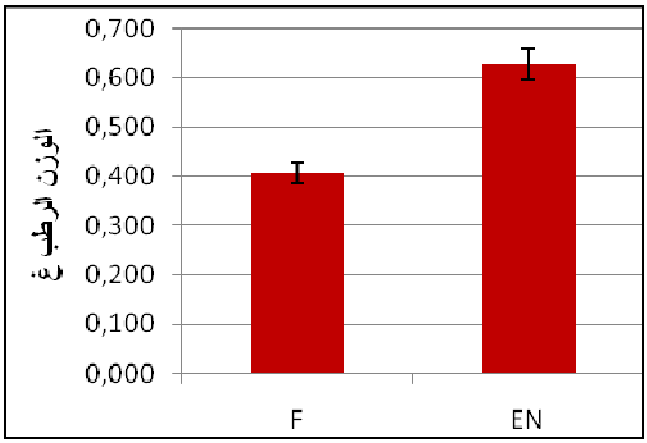
(5 مكررات± الخطا القياسي)

تبين التحاليل الإحصائية في الجدول **6.3** وجود تأثير معنوي جد عال لنمط الفسيلة على قيم الوزن الرطب للكالوسات؛ كما ان النتائج الموضحة في الشكل **9.3**، تظهر التأثير الواضح لنمط الفسيلة على قيم الوزن الرطب للكالوسات، فقد كان في العموم أحسن عند زراعة السلميات مقارنة بالأوراق، وهذا عند الصنفين ***Désirée*** و ***Bartina*** وفي كل الأوساط الزراعية، والصنف ***Kondor*** في الوسط **2** و**3**، و ***Spunta*** في الوسط **2**. في حين سجلت نتائج الوزن الرطب عند الأوراق أحسن من السلميات عند الصنف ***Kondor*** في الوسط **1**، وعند الصنف ***Spunta*** في الوسطين **1** و**3**.

نلاحظ بعد حساب الفرق بين معدلات الوزن الرطب حسب الفسيلة، ومقارنته مع قيمة **LSD** وجود فرق معنوي في وزن الكالوسات بين الأوراق والسلميات (الجدول **8.3**)، لذلك نحصل على مجموعتين متباينتين احصائيا:

تضم المجموعة الأولى الأوراق بمعدل في الوزن الرطب منخفض **0.4** غ .

تضم المجموعة الثانية السلميات بمعدل في الوزن الرطب مرتفع نوعا ما يصل **0.62 غ (الشكل 11.3)**.



الشكل 11.3: معدل تاثير نمط الفسيلة على الوزن الرطب للكالوسات عند البطاطس *Désirée*، *Spunta*، *Bartina*، *Kondor*.

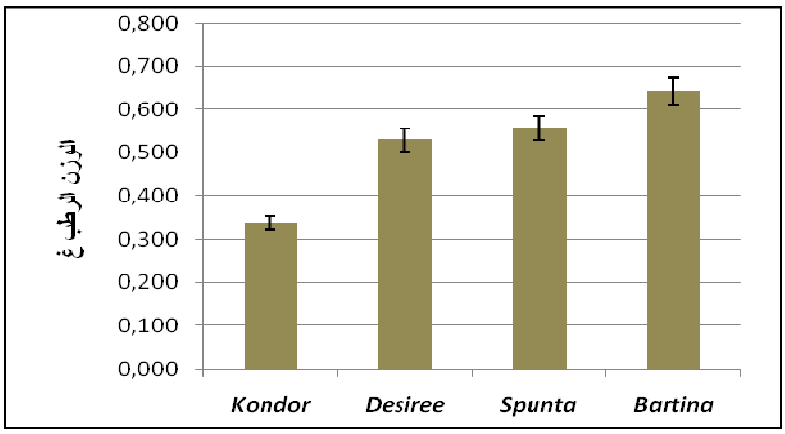
(5 مكررات± الخطا القياسي)

وفيما يخص النمط الوراثي، وبعد إجراء التحاليل الإحصائية تبين وجود تأثير معنوي عال على قيم الوزن الرطب للكالوسات (الجدول**6.3**). وبالنظر إلى الأعمدة البيانية في الشكل**9.3**، نلاحظ اختلاف قيم الوزن الرطب للكالوسات المسجل بعد أربعة أسابيع من الزراعة؛ فقد أبدى الصنف ***Bartina*** و ***Désirée*** أحسن النتائج خاصة في الوسط **3**، فيما أبدى الصنف ***Spunta*** أحسن النتائج في الوسط **2** وسجل الصنف ***Kondor*** اضعف النتائج في كل الأوساط.

نلاحظ من خلال حساب الفرق بين معدلات الوزن الرطب حسب الأصناف النباتية، ومقارنته مع قيمة **LSD**، وجود فرق معنوي بين الصنفين ***Kondor*** و ***Bartina*** (الجدول**9.3**)، لذلك يمكننا الحصول على مجموعتين متباينتين:

المجموعة الأولى: تضم ***Kondor*** و ***Désirée*** و ***Spunta***، بمعدل في الوزن الرطب منخفض لم يتجاوز **0.55**غ

المجموعة الثانية: تضم ***Désirée*** و ***Spunta***، ***Bartina***، بمعدل في الوزن الرطب مرتفع وصل إلى **0.64**غ (الشكل **12.3**).



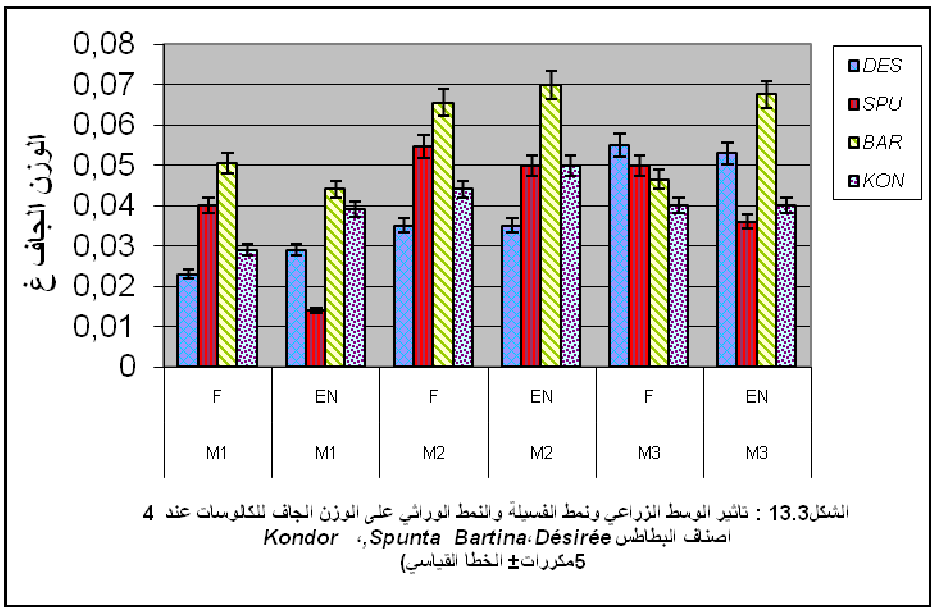
الشكل12.3: معدل تاثير النمط الوراثي على الوزن الرطب للكالوسات عند البطاطس

***Désirée*، *Spunta*، *Bartina*، *Kondor*.**

(5 مكررات± الخطا القياسي)

2.3.1 الوزن الجاف: Poids sec

تبين التحاليل الإحصائية وجود تأثير معنوي عال للوسط الزراعي على قيم الوزن الجاف للكالوسات (الجدول**10.3**).



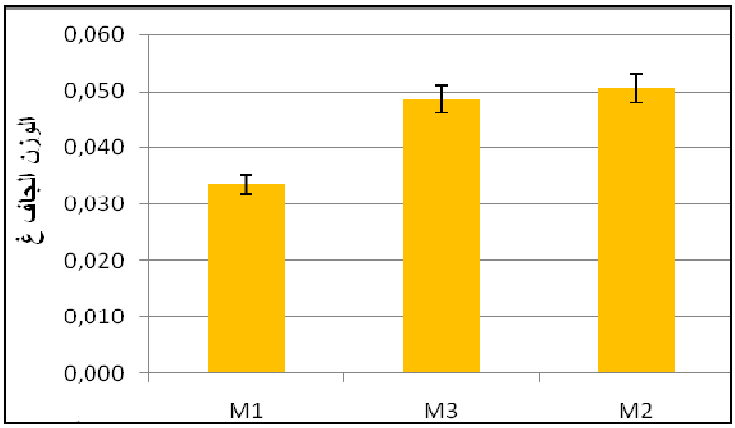
الشكل13.3 : تاثير الوسط الزراعي ونمط الفسيلة والنمط الوراثي على الوزن الجاف للكالوسات عند 4 اصناف البطاطس *Désirée*، *Bartina*، *Spunta*، *Kondor*
(5مكررات ±الخطا القياسي)

وبالنظر إلى الأعمدة البيانية في الشكل**13.3**، نلاحظ تباين بين النتائج؛ حيث سجل الوسط **2** أحسن النتائج بالنسبة للصنف ***Bartina*** ،***Kondor*** و ***Spunta***، أما الوسط **3** فكانت النتائج مهمة بالنسبة للصنف ***Désirée*** وللفسيلتين.

يمكن من خلال حساب الفرق بين معدلات الوزن الجاف، ومقارنته مع قيمة **LSD**، حسب الأوساط الزراعية أن نحصل على مجموعتين متباينتين:

المجموعة الأولى: تضم الوسط **1** بمعدل في الوزن الجاف منخفض **0.034 غ.**

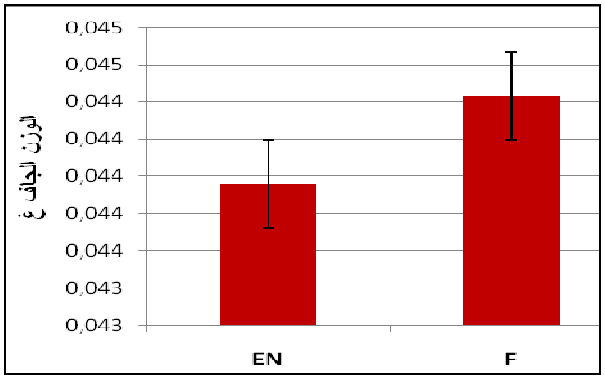
المجموعة الثانية: تضم الوسط **2** و**3** بمعدل في الوزن الجاف مرتفع نوعا ما يصل **0.05** غ (الشكل **14.3**).



الشكل 14.3: معدل تاثير الوسط الزراعي على الوزن الجاف للكالوسات عند البطاطس *Désirée*، *Spunta*، *Bartina*، *Kondor*.

(5 مكررات± الخطا القياسي)

تبين النتائج في الشكل **13.3** والخاصة بتاثير نمط الفسيلة على قيم الوزن الجاف للكالوسات كان في العموم أحسن عند زراعة السلميات من الأوراق، عند الأصناف ***Désirée*** و ***Bartina*** و***Kondor*** وفي كل الأوساط، واحسن عند الأوراق عند الصنف ***Spunta*** في كل الأوساط (الشكل **15.3**)، لكن النتائج بدون معنى إحصائيا (الجدول**10.3**).



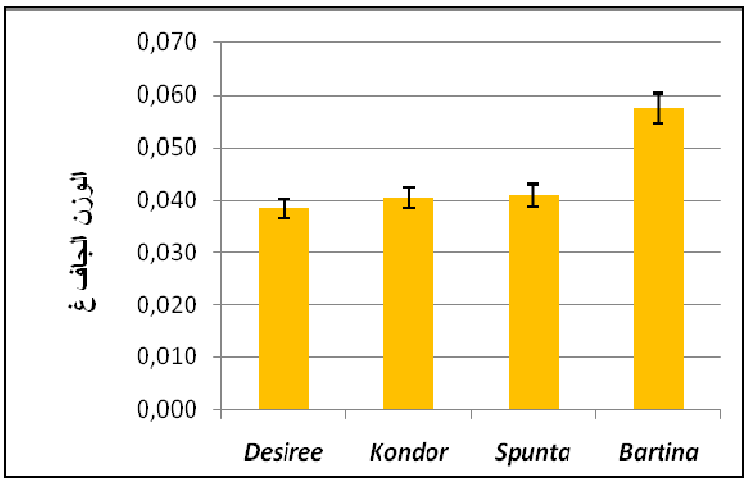
الشكل 15.3: معدل تاثير نمط الفسيلة على الوزن الجاف للكالوسات عند البطاطس *Désirée*، *Spunta*، *Bartina*، *Kondor*.

(5 مكررات± الخطا القياسي)

يبدو جليا من خلال الأعمدة البيانية في الشكل**13.3**، أن النمط الوراثي له تأثير كبير على عملية تشكيل الكالوسات، وهذا من خلال الاختلاف المسجل لقيم الوزن الجاف للكالوسات بعد أربعة أسابيع من الزراعة، فقد أبدى الصنف ***Bartina*** أحسن النتائج في كل الأوساط، فيما أبدى الصنف ***Spunta*** أحسن النتائج في الوسط **2**، والصنف ***Désirée*** و ***Kondor*** في الوسط **3**. إن هذه النتائج مؤكدة بعد إجراء التحاليل الإحصائية (الجدول**10.3**)؛ حيث تبين وجود تأثير معنوي عال للنمط الوراثي.

نلاحظ من خلال حساب الفرق بين معدلات الوزن الجاف حسب الأصناف النباتية ومقارنته مع قيمة **LSD** (الجدول**12.3**)، وجود فرق معنوي بين الصنفين ***Désirée*** و ***Bartina*** ، وبين الصنفين ***Kondor*** و ***Bartina***، وبين الصنفين ***Bartina*** و ***Spunta***، لذلك يمكن أن نحصل على مجموعتين متباينتين:

- المجموعة الأولى: تضم الأصناف ***Kondor*** و**Désirée** و ***Spunta***، بمعدل في قيم الوزن الجاف منخفض، لم يتجاوز **0.041** غ.
- المجموعة الثانية: تضم الصنف ***Bartina*** بمعدل في قيم الوزن الجاف مرتفع وصل إلى **0.057غ**. (الشكل**16.3**).



الشكل 16.3: معدل تاثير النمط الوراثي على الوزن الجاف للكالوسات عند البطاطس *Désirée*، *Spunta*، *Bartina*، *Kondor*.

(5 مكررات± الخطا القياسي)

2. مناقشة نتائج تشكل الكالوس

2. مناقشة نتائج تشكيل الكالوس Discussion des résultants de callogenèse

يعتبر إنتاج الكالوسات مخبريا طريقة مهمة لتطبيق التقانات الحيوية النباتية، وتشكيل التباين الجسمي، الذي يعتبر مصدر مهم للتغير الوراثي، لتحسين مقاومة النباتات للأمراض، والاجهادات المائية والملحية، ولدراسة مختلف العوامل التي تؤثر على انتاجها (**Nguyen *et al*., 2002**).

يفتح إنشاء التباين الجسمي آفاق واسعة، وفي مجالات متعددة مرتبطة بالدراسات الوراثية والفيزيولوجية، لإدخال وانتقاء تغيرات وراثية مقاومة للإجهاد الحيوي، واللاحيوي كالملوحة (**Choi *et al*., 2000; Farhatullah et Raziuddin, 2002**). والذي تم من قبل، بهدف انتاج تباينات جسمية مقاومة للملوحة مخبريا، بزراعة الكالوسات عند عدد من الأنواع النباتية مثل البطاطس *Solanum tuberosum* L. (**Ochatt *et al*. 1999; Queiros *et al*., 2007 ;Sabbah et Tal, 1990**)، الليمون *Citrus sinensis* Osb (**Koc *et al*., 2008**)، قصب السكر *Saccharum* sp (**Christophe *et al*., 2006**)، الذرة *Zea mays* L. (**Zacchini *et al*., 1997**)، السورقو *Sorghum bicolor* L. (**Amzallag *et al*., 1990**)، الأرز *Oriza sativa* (**Kavi, 1988**)، الأقحوان *Chrysanthemum morifolium ramat* (**Zahed *et al*., 2007**).

إن الغرض الأساسي من هذه الخطوة الأولى في التجربة، هو دراسة وتحديد الشروط المثلى لتشكّل الكالوس عند أربعة أصناف من البطاطس: ***Désirée*، *Spunta*، *Bartina*، *Kondor***، عند فسائل مختلفة: الأوراق والسلميات، في ثلاثة أوساط زراعية **MS** مدعمة بتركيبات مختلفة من منظمات النمو.

تمت دراسة شروط تشكيل الكالوس عند البطاطس من قبل عند عدد من الباحثين (**Charlotte *et al*. 1987 ; Yasmin *et al*., 2003 ; Hakan, 2004 ; Khadiga *et al*., 2009**). ودرس عند عدة أنواع نباتية أخرى، كالقطن من طرف (**Anita *et al*., 1976**)، اللوبيا القبائلية *Vigna unguiculata* (**Timir et Satyesh, 1982**)، البطاطا الحلوة *Ipomoea batatas* (L.) Lam (**Chen, 1987**)، الورد *Rosa hybrida* L. (**Carelli et Echeverrigaray, 2002**)، فول الصويا *Glycine wightii* (**André *et al*., 2003**)، الشعير *Hordeum vulgare* L. (**Zapata *et al*., 2004**)، الأرز *Oriza sativa* (**Abeyaratne *et al*., 2004 ; Kabir *et al*., 2008.**).

سمحت لنا الخطوة الأولى، والخاصة بتحديد شروط تشكيل الكالوس عند البطاطس، بإنتاج تباينات جسمية، والتي تستعمل فيما يلي من التجربة، في مرحلة اقلمتها للملوحة، لإنتاج كالوسات مقاومة لها، ليتم في دراسات أخرى لاحقة تجديد نباتات تكون مقاومة للملوحة انطلاقا من كالوسات مقاومة.

تم تشكيل الكالوسات عند الأصناف المدروسة، وفي كل الأوساط الزراعية المختبرة وللفسيلتين؛ فبالنسبة لسرعة التشكل أو وقت ظهور الكالوس (الاستجابة لتشكيل الكالوس)، والتي تعبر عن الفارق الزمني بين وقت زراعة الفسائل، وظهور اول الكالوسات. في النتائج، هذا الزمن تغير بين **5** الى **7** ايام.

اغلب الفسائل شكلت الكالوس خلال مدة **10** الى **15** يوم، مع ملاحظة استمرار تشكيل الكالوسات حتى اليوم **20** في الوسط **3**. وبذلك كانت سرعة تشكيل الكالوسات متقاربة، والمدة المستغرقة لظهورها كانت جيدة.

ان النتائج المتحصل عليها مماثلة لما توصل اليه **Yasmin** ومساعدوه **(2003)** عند البطاطس، أين كانت تسجل فترات **11.21** يوم عند الأوراق و**13.81** يوم للسلميات، وفي وسط زراعي مماثل للوسط **2**، و**12.13** يوم، **14.42** يوم للأوراق والسلميات على التوالي، و في وسط زراعي يشبه الوسط **1**. و**14.61**،**12.37** يوم للأوراق والسلميات على التوالي، في وسط زراعي يشبه الوسط **3**. فهي تتراوح بين **11** إلى **14** يوم وفي أوساط زراعية مشابهة كثيرا لما استخدمناه في التجربة.

يبدأ تشكيل الكالوس عند البطاطس حسب **Charlotte** ومساعدوه **(1987)** بعد **10** أيام من الزراعة للأوراق وأقراص الدرنات في وسط **MS** مدعم بالاوكسين **5** مغ / ل، والسيتوكينين **0.1** أو **1** مغ / ل للصنف ***Bintje*** وهي تراكيز مشابهة لتلك التي استعملناها (الوسط**2**).

أما حسب **(Khadiga *et al.*, 2009)** يبدأ تشكيل الكالوسات على حواف الفسائل عند البطاطس (الصنف ***Diamant***) في كل الأوساط بعد **7** أيام و يستمر إلى **20** يوم.

توصل بعض الباحثين عند انواع اخرى الى نفس النتائج: عند القطن فقد تحصل **Anita** ومساعدوه **(1976)** على كالوسات بعد **3** الى **6** ايام من الزراعة، وكل القطع شكلت الكالوسات خلال **10** إلى **15** يوم في وسط زراعي (**1** مغ / ل **NAA** و**1** مغ / ل **KIN** و**40** مغ / ل **Adenine**). أما **Chen (1987)** عند البطاطا الحلوة(***Ipomoea batatas*** **(L.) Lam**) فانه في وسط **MS** مدعم بـ **10** مغ / ل من **NAA** ، كان تشكيل كالوس بعد **4** أيام من الزراعة، وأحسن إنتاج تم بعد **14** يوم لكل الفسائل؛ أما **Abeyaratne** ومساعدوه **(2004)** فبداية تشكيل الكالوسات عند الأرز **Oriza sativa** كانت بعد **10** أيام من الزراعة، وعند نفس النوع كان بعد **20** يوم عند **(Ranaweera, 1998)**، وبعد **5** إلى **10** يوم في وسط **MS** مدعم **2** مغ / ل من **2,4- D** عند **(Nguyen *et al.*, 2002)**؛ ولاحظ **Natalija** ومساعدوه **(2004)** ظهور الكالوسات بعد **12** إلى **14** يوم عند اللفت (***Brassica napus* L.**). يتعلق تشكيل الكالوسات والتشكل العضوي بصفة عامة، مباشرة بالنمط الوراثي، طبيعة الفسيلة، وشروط الزراعة **(Akbar *et* Hakoomat , 2004)**. كما بينت كل الأبحاث السابقة **(André *et al*, 2003 ; Khadiga *et al*., 2009)**، فمنظمات النمو ضرورية ضمن الوسط الزراعي لغياب تشكيل الكالوس في غيابها **(Jayasree *et al*., 2001)**، والقطع المزروعة في وسط بدون منظمات النمو لا تنتج أي كالوسات

(Yasmin *et al*., 2003; Khadiga *et al*., 2009)، كما أن النمو والتشكل في الظروف المخبرية، يتعلق كثيرا بالتفاعل بين مركبات النمو الطبيعية ومنظمات النمو المضافة إلى الوسط؛ حيث يتعلق تركيزها بالنوع والصنف النباتي النامي والفسيلة **(Houri *et al.*, 1990)**، والعلاقة بينها **(Abeyaratne *et al.*, 2004)**؛ كما أن منظمات النمو تتحكم في نمو وتطور الأعضاء النباتية المختلفة، ولا يقتصر تأثيرها على عمليات التمثيل الغذائي، بل يتعداه لكثير من العمليات الفسيولوجية المتخصصة **(Sobhy, 2002)**، لكن عمله بالضبط في إحداث التباينات الجسمية يبقى غير معروف **(Charlotte *et al.* 1987)**.

يمكن اعتبار الوسط **2** أحسن الأوساط المختبرة، والسلميات أحسن الفسائل، والصنف ***Bartina*** أحسن الأصناف، وهذا حسب النتائج المسجلة بالنسبة لسرعة تشكيل الكالوس.

بالنسبة لنتائج معدل تشكيل الكالوسات، والملاحظة بعد مدة **1** شهر من الزراعة النسيجية، كانت جيدة في الوسط **3** بمعدل **84.16 %**، وبمعدل **70.56 %** في الوسط **2** ، وبمعدل **54.79 %** في الوسط **1**، فهي مقارنة مع نتائج **(Yasmin *et al*., 2003)** التي كانت **65 %** و**55 %** عند الأوراق والسلميات على التوالي في وسط **(2.5** مغ / ل **NAA + 0.5** مغ / ل **BAP)**، وهو مقارب للوسط الزراعي **3**، وبمعدل و**75** و **65 %** عند الأوراق والسلميات على التوالي، وفي نفس الوسط الزراعي **2** ما عدا غياب GA_3 والذي ليس له تأثير معنوي على نمو الكالوسات بالتركيز **1** مغ / ل **(Charlotte *et al*., 1987)**، وبمعدل **70** و**60 %** في وسط **(5** مع / ل **NAA + 0.5** مع / ل**BAP)** مشابه للوسط **1** تبدو منطقية جدا، لكن أحسن تركيبة من منظمات النمو لتشكيل الكالوسات هي الوسط **3** التي تنتج **84.16 %** من الكالوسات وهذا في تجاربنا، كون **(Yasmin *et al*., 2003)** وجد من بين التشكيلات فان **(2.5**مغ / ل **NAA + 2** مع / ل **BAP)**، **(1.25** مغ / ل **NAA + 1**مغ / ل **BAP)** تنتج أحسن الكالوسات **95 %** و**90 %** على التوالي. إن هذا الاختلاف يمكن أن يرجع إلى الاختلاف في الأصناف المستعملة **(** الانماط الوراثية**)**.

إن إضافة نسب مرتفعة من **NAA** مع **BAP** أو **2.4D** مع **KIN**، في الوسط الزراعي تنتج كالوسات أحسن **(Yasmin *et al*., 2003)** عند البطاطس؛ كذلك إضافة **NAA** إلى الوسط الزراعي أحسن من **2.4D** و**IAA** في تشكيل الكالوس عند البطاطس سواء كان مع **BAP (الوسط2)**، أو مع **KIN (Charlotte *et al*., 1987)**.

تحصل **(Hakan, 2004)** على أفضل الكالوسات عند البطاطس في نفس الوسط **2**؛ أما **(Khadiga *et al*., 2009)** فتحصلوا على أفضل النتائج لإنتاج الكالوس عند الصنف ***Diamant*** في وسط **MS** مدعم **(3**

مغ / ل **2,4-D** + **2** مغ / ل **BA**) وهي نفس تركيبة الوسط الزراعي **3** عندنا، وعليه فان أفضل الاوكسينات لتشكيل الكالوسات عند البطاطس هوالـ **2,4-D**.

أما الباحث (**Ahloowalia, 1982**) فتحصل على كالوسات بنسبة **60 %** في وسط زراعي **MS** مدعم بـ **3.2**مغ/ل **IAA** و**1** مع/ل كنتين + **0.5** مع/ل **2,4-D** بعد **30** يوم باستعمال قطع من الجذر.

بيمنا تحصل **Chen** (**1987**) عند البطاطا الحلوة ***Ipomoea batatas*** (**L.**) **Lam** على أفضل النتائج لإنتاج الكالوس في وسط **MS** + **10** مغ / ل من **NAA**. وتحصل **Anita** ومساعدوه (**1976**) عند القطن على أفضل النتائج عند استعمال نسب متساوية من **NAA** و**Kin** (**1** مع/ل) + **40** مغ / ل من الأدنين، كما أن **1** غ/ل من الكنيتين يدعم إنتاج الكالوس أحسن مقارنة مع تراكيز مرتفعة، والأدنين بالتركيز **40** مغ / ل مع **NAA** و**Kin** يضاعف الإنتاج مقارنة مع غيابه، ويرى أن من أفضل الاوكسينات المختبرة **NAA** وأفضل السيتوكينينات **Kin** و**BAP** لنمو الكالوسات عند القطن.

عند عباد الشمس ***Helianthus*** **L.** تحصل **Punia** ومساعدوه (**1992**) على نتائج جيدة لتشكيل الكالوسات في وسط (**0.05** مغ / ل **NAA** + **0.5** مغ / ل **BAP**) أي نسبة **1:10** مقارنة مع وسط (**2 مغ** / ل من**NAA** + **0.5** مغ /ل من **BAP**) أي بنسبة 4:1؛ وجد **André** ومساعدوه (**2003**) أن أفضل الكالوسات تتشكل في وسط مكون من **1**مغ/ل**2,4-D** و**0.1** مغ / ل من **KIN** عند فول الصويا ***Glycine wightii*** كذلك استعمال **2** مغ / ل من **2,4-D** و**0.1** مغ/ ل **Kin** وهي مقاربة للوسط **3** . أما (**Abeyaratne *et al*., 2004 ; Nguyen *et al*., 2002**) عند لأرز ***Oriza sativa*** فأحسن الكالوسات تتشكل في وسط مدعم بـ **2** مغ / ل من الاوكسين (**2,4-D**).

حسب (**Houri et Faramarz, 1990**)، فان تركيبة وتركيز منظمات النمو في وسط تشكيل الكالوس يؤثر على كمية الكالوس، وخصائص الخلايا النامية، فالكالوس النامي في وسط **2** مغ / ل **2,4-D** و **0.2** مغ / ل **Kin** تكون خلاياه **90 %** متطاولة مقابل **10 %** دائرية.

إن نتائج هذه التجارب تبين أن منظمات النمو المستعملة في الأوساط الثلاثة في التجارب لها تأثير مختلف على إنتاج الكالوس سواء عند البطاطس أو أنواع نباتية أخرى.

يسبب الأوكسين التمدد المطاطي والبلاستيكي للجدر الخلوية، لكن توجد تأثيرات مميزة له مثل تشجيع انقسام الخلايا، ونمو الجذور في التراكيز المنخفضة(**Sobhy, 2002**) نتيجة لتغيرات تمثيلية وقعت مسبقًا في السيتوبلازم تحت تأثير الأوكسين.

اما السيتوكينين فيؤثر على انقسام الخلايا ويساهم في تشكيل الأجزاء الهوائية **(Sobhy, 2002)**. في حين يساهم الجيرلين GA_3 في تطاول الخلايا **(Levitt, 1977)** ، لذلك فهو يحسن النمو عند البطاطس **(Asma *et al*., 2001)**.

عند البطاطس يستعمل عادة الاوكسين والسيتوكينين لإنشاء الكالوس، لكن يمكن الاستغناء على السيتوكينين **(Richard, 2005)**.

من النتائج نستنتج أن الوسطين **2** و**3** المكونين من الاوكسين **(NAA** أو **2.4D)** والسيتوكينين **(BAP** أو **KIN)** هما الأحسن لإنتاج الكالوس، اي عموما في وجود كمية اكبر من الاوكسين مقارنة بالسيتوكينين و**NAA** مقارنة مع **2.4D** و**BAP** مقارنة مع **Kin** يكون إنتاج الكالوس أحسن.

فيما يتعلّق بالعامل الثاني المدروس والمتمثّل في نمط الفسيلة، فالتأثير يكون من خلال طبيعة هذا الجزء والحالة الفيزيولوجية مهمة كذلك **(Filippone *et al.*, 1992; Robert *et al*., 1994)**؛ حيث تبين النتائج المحصل عليها بخصوص الاستجابة لإنتاج الكالوس، انها أحسن عند زراعة السلميات **71.02 %** مقارنة بزراعة الأوراق **68.66 %**. نتائج مقاربة تحصل عليها **Yasmin** ومساعدوه **(2003)** عند البطاطس **75 %** عند الأوراق و**65 %** للسلميات.

تبين النتائج أن الاستعداد لتشكيل الكالوس يكون منخفضا عند الأوراق مقارنة بالسلميات، لكن دون أن ننسى تأثير منظمات النمو فحسب **(Charlotte *et al*., 1987)** فان **NAA** يحفز تشكيل الكالوس في الأوراق وقطع الدرنات عند البطاطس، وهذا ما توصلنا إليه عند زراعة الأوراق.

مثل هذا التأثير أظهرته العديد من الأبحاث: فقد وجد **(Anita *et al*., 1976)** عند القطن أن القطع المأخوذة من الساق تستجيب لتشكيل الكالوس بشكل أحسن، كما يؤكد **(Punia et Bohorova, 1992)** اللذان اختبرا تشكيل الكالوس لأربع فسائل: ساق، أوراق، براعم، وفلقات لستة أنواع من عباد الشمس *Helianthus* L. زرعت في أوساط مختلفة لتشكيل الكالوسات، أن النمط الوراثي، الفسيلة، والوسط الزراعي لها دور كبير في التأثير على تشكيل الكالوس.

بالنسبة لتأثير الصنف النباتي مهم جدا، فمرونة النمط الوراثي والنوع لهما دور مهم في ظهور التغير الوراثي **(Demarly et Sibi, 1989)**. فالعدد الصبغي ينعكس على معدّل ونوعية التباين الناتج، حيث يلاحظ أنّ التباين الجيني يحدث بكثرة عند الأفراد متعددي الصيغة الصبغية مقارنة بذوي الصيغة الصبغية الأحادية "**Haploïde**" والثنائية "**Diploïde**" **(Yeoman, 1986)**.

درس تأثير النمط الوراثي على تشكل الكالوسات عند البطاطس **(Hakan, 2004)** وعند أنواع أخرى: البطاطا الحلوة ***Ipomoea batatas*** **(L.) Lam** من طرف **Chen (1987)**، القمح ***Triticum*** **(Janice**

Abeyaratne *et al.*, 2004 ; Nguyen *et al.*, 2002 ; Kabir *et al.*, .2008) الأرز **(*et al.*, 2004 (Ranaweera, 1998 ;**)، اللفت ***Brassica napus* L. (Natalija *et al.*, 2004)**.

من خلال النتائج، يظهر تأثير واضح للنمط الوراثي على معدّل تشكّل الكالوسات، فالأصناف الأربعة ***Désirée*، *Spunta* ، *Bartina*، *Kondor*** لا تملك نفس القدرة على تحفيز تشكّل الكالوس لاختلافها وراثياً. ان وجود التباين الجيني في إنشاء الكالوسات تمّ تقريرها في العديد من الأبحاث المنجزة عند البطاطس مثل **(Hakan, 2004)** الذي وجد تأثيرًا معنويًا للنمط الوراثي على نسبة تشكل الكالوسات عند الأصـناف ***Maris*، *Bard*، *Désiré***.

حسب الفرق بين معدلات التشكل فإن الصنف ***Bartina*** هو الأفضل على الإطلاق لتشكيل الكالوس في الأوساط المدروسة يليه ***Désirée*** وبنسبة اقل ***Spunta* ، *Kondor***.

فيما يخص نمو الكالوسات، فان الفرضية المستعملة مخبريا لاختبار النمو هي الحصول على كالوسات تبدي اقل انخفاض في النمو أي الوزن الرطب **(Ekanayake et Dodds, 1993)**.

كل الأوساط المستخدمة كانت قادرة على تحفيز تشكّل الكالوسات؛ فقد أظهر الوسط **MS** والذي يتميز بمحتوى جيد من الأزوت، البوتاسيوم، الفوسفور والكالسيوم التي تتدخل بشكل مباشر في نموّ الكالوسات، فعاليته في تحفيز نمو الكالوسات عند االبطاطس **(Rosario et Alan, 1999)**؛ حيث يساهم الأزوت بشكل أساسي في تحديد مرفولوجية الكالوسات وفي تحديد معدّل نموّها؛ بينما يعتبر البوتاسيوم عنصر ضروري في الانقسامات الخلوية وتضاعف الأنسجة، في حين يلعب الفوسفور دورا مهمّا في حياة الخلية وفي نشاطاتها الإستقلابية، أمّا الكالسيوم فيتدخّل في الحفاظ على بنية وتركيب الخلية **(Margara, 1983)**.

تعمل الأوكسينات الداخلة في هذا الوسط كإشارات تحفيزية لإطلاق عملية النشاط التضاعفي للقطع النباتية المزروعة وكنتيجة لذلك ينشأ الكالوس.

بالنسبة لنمو الكالوسات، كان جيد جدا عند بعض الأصناف مقارنة بأخرى، فالصنف ***Bartina*** سجل أهم النتائج خاصة في الوسط الزراعي **2** وعند السلميات بصفة اكبر للوزن الرطب والجاف مقارنة بالصنف ***Spunta*** التي كان نموها من حيث الوزن الرطب والجاف عال في الوسط **2** و**3** عند زراعة السلميات مقارنة

بالأوراق، فيما سجل الصنف ***Kondor*** نمو ضعيف للكالوسات (الوزن الرطب) في كل الأوساط وللفسيلتين، أما الصنف ***Désirée*** فسجل نتائج متوسطة في الوزن الرطب مثل ***Spunta*** لكن الوزن الجاف كان ضعيف نوعا ما؛ بالإضافة لذلك فان لنمط الفسيلة تأثير مهم على نمو الكالوسات، حيث تبدي السلميات استجابة أكبر لنمو الكالوسات من الأوراق؛ مثل هذه النتائج تم الحصول عليها عند أنواع أخرى، فقد تحصل **(Timir et Satyesh ,1982)** عند اللوبياء القبائلية ***Vigna unguiculata*** في وسط يحتوي **(Kin + 2.4D)** على

كالوسات في كل الفسائل، والتي يصل وزنها بعد **1** شهر إلى **4** غ؛ وهي مرتفعة جدا، أما في وسط مدعم بـ **Kin + NAA** (الوسط**1**) يتم تشكيل الكالوس في كل الفسائل والوزن يصل **4.4** غ بعد **30** يوم.

من جهة أخرى، تركيب الوسط الزراعي من منظمات النمو يؤثر على نمو الكالوسات، ونسجل نمو جيد للكالوسات في الوسطين **2** و **3** مقارنة بالوسط **1**، لأنه حسب (**Timir et Satyesh ,1982**) في الزراعة النسيجية، اختيار منظمات النمو مهم جدا منذ وقت التمايز وإعادة التمايز، لان الخلايا والأنسجة المزروعة في الوسط الزراعي عمليا كلها غير ذاتية التغذية، كذلك منظمات النمو تحفز بداية تكاثر الخلايا وتشكيل الكالوس (**André *et al.*, 2003**)

حسب (**André *et al.*, 2003**) فان تركيز عال من **2,4-D** مستقل عن الكنيتين يحفز أكسدة واختزال في الوزن الرطب للكالوسات للفلقتين عند فول الصويا، لان إضافة **Kin** إلى الوسط وحده غير كاف لتشكيل الكالوس.

إن النتائج المتحصل عليها تعتبر منطقية كون منظمات النمو المضافة لوسط الزرع مثل **2,4-D** (الوسط **3**) الذي يعرف على انه أهم اوكسين مصنع يستعمل لإنتاج الكالوس، وسبب رئيسي في انقسام الخلايا عند أنواع كثيرة (**André *et al.*, 2003**) ، **NAA** و **2,4-D** (الوسط **2.3**) اوكسينات تحفز تشكيل الكالوس في الأوراق وقطع الدرنات عند البطاطس، بينما GA_3 بتركيز **0.1** أو **1** مغ / ل لا يسبب تكاثر معنوي لنمو الكالوسات (**Charlotte *et al.*, 1987**)، لكن يرى (**Zhijun *et al.*, 2005**) أن **GA3** في الوسط يزيد من الوزن الرطب الكالوسات وقطرها.

كذلك حسب (**Timir et Satyesh ,1982**) فان **2,4-D** ينتج كالوس بكثرة مقارنة بـ **NAA** عند اللوبياء القبائلية، لكن **André** ومساعدوه (**2003**)، وجد أن الكالوسات المتشكلة من الفلقة والمزروعة في وسط مدعم بـ **1** مغ / ل من **2,4-D** تظهر اكبر وزن من وجود كمية اكبر **4** مغ / ل عند فول الصويا ***Glycine wightii***، أما (**Kathryn et Thomas, 1986**) فوجدا نمو كالوس من حيث نسبة الوزن الرطب النهائي على الوزن الأولي في وسط **MS** مدعم بـ **2,4-D** (**1** مغ / ل) أحسن من **MS** مدعم بـ **2,4-D** (**2** مغ / ل). و أن تركيز **2,4-D** ليس له تأثير على نمو الكالوس عند الذرة.

فيما يخص نمط ولون الكالوسات، فقد سمحت لنا الزراعة المخبرية للبطاطس بتحديد عدة أنماط من الكالوسات تشكلّت بعد اربعة أسابيع من الزراعة، تمثلّت في الكالوسات المتفتتّة المصفرة والكالوسات اللّزجة نصف الشفافة، إضافة إلى الكالوسات البنية الفاتحة المتماسكة.

ان نوع وكمية الاوكسين والسيتوكينين لها علاقة كبيرة مع نوع الكالوسات المشكلة **Punia et Bohorova, 1992**)، هذه الملاحظات تمّت الإشارة إليها من قبل الباحثين، وتأكد تأثير النمط الوراثي وتركيب

الوسط الزراعي وطبيعة الفسيلة المزروعة على نوعية الكالوسات المحـصّل عليها **(Khadiga *et al*., 2009 ; Hakan, 2004; Timir et Zapata *et al*., 2004 ; André *et al*., 2003; Chen 1987)** ، وهو الأمر الذي لوحظ خلال تجاربنا، فأنماط وألوان الكالوسات المحصّل عليها ظهرت في جميع أوساط الزرع وعند كلّ الأصناف وللفسيلتين بمواصفات مختلفة.

تحصل **(Khadiga *et al*., 2009)** عند البطاطس الصنف ***Diamant*** على كالوسات شفافة مفتتة في وسط **MS** مدعم بتركيز مختلفة من الاوكسين **NAA (1–5** مغ / ل)، ولزجة مصفرة في وسط **MS** مدعم بـ **2,4-D (0.5–2** مغ / ل) ومفتتة مصفرة في وسط **MS** مدعم بالاوكسين **2,4-D (2–5** مغ / ل)، أما في وسط **MS** مدعم بـ السيتوكينين **BA (1–5** مغ / ل) فكانت الكالوسات مخضرة متماسكة؛ ويرى نفس الباحثين انه من بين كل تراكيز منظمات النمو فان **3** مغ / ل من **2,4-D** تنتج كالوسات مصفرة مفتتة وتعتبر أحسن النتائج؛ كما أكدها **(Shirin *et al.*, 2007**) عند اربعة أصناف من البطاطس بزراعة الأوراق وما بين العقد؛ وهذا ما توصلنا إليه في الوسط **3** .

أما في وسط **MS** مدعم بتراكيز **5** مغ / ل من **NAA** فالكالوسات كانت مفتتة شفافة مخضرة، وهو ما يمثل الوسط **3** عندنا، أما **(Hakan, 2004)** عند البطاطس فوجد أن نمط الكالوس يتغير من وسطي إلى مفتت في نفس الأوساط التي استعملناها.

عند أنواع نباتية أخرى: تحصل **(Chen, 1987)** عند البطاطا الحلوة وفي الضوء على كالوسات خضراء باهتة بعد **15** يوم من الزراعة في وسط **MS** مدعم ب **IAA** و **2, 4-D,** و **NAA بتراكيز 1+1+10** مغ / ل. لكن الكنتين هو الذي يعطي كالوسات بلون اخضر باهت، كما تحصل **(Timir et Satyesh , 1982)** عند اللوبياء القبائلية على كالوسات بيضاء اللون متماسكة، في وسط مدعم بـ **NAA** و**2,4-D**، ومفتتة بنية اللون في وجود **IAA**، لكن **(Chen, 1987)** وجد أن وسط **MS** مدعم بـ **10** مغ / ل تنتج كالوس بكثرة بلون اصفر ونسيج لين لكل الفسائل كما تمنع ظهور الجذور والأجزاء الهوائية عند البطاطس الحلوة.

كما أكد بعض الباحثين أن للنمط الوراثي تأثير على نمط ولون الكالوسات، فحسب **(Jacqueline, 1990)** فان رفع تركيز الاوكسين في وسط الزراعة يزيد من تفتت الكالوسات عند النبات.

توصل **(Hakan, 2004)** عند البطاطس إلى اختلاف معنوي في نمط الكالوس باختلاف النمط الوراثي، كذلك **(Kathryn et Thomas, 1986)** عند الذرة وصلا إلى اختلاف نمط الكالوس باختلاف النمط الوراثي.

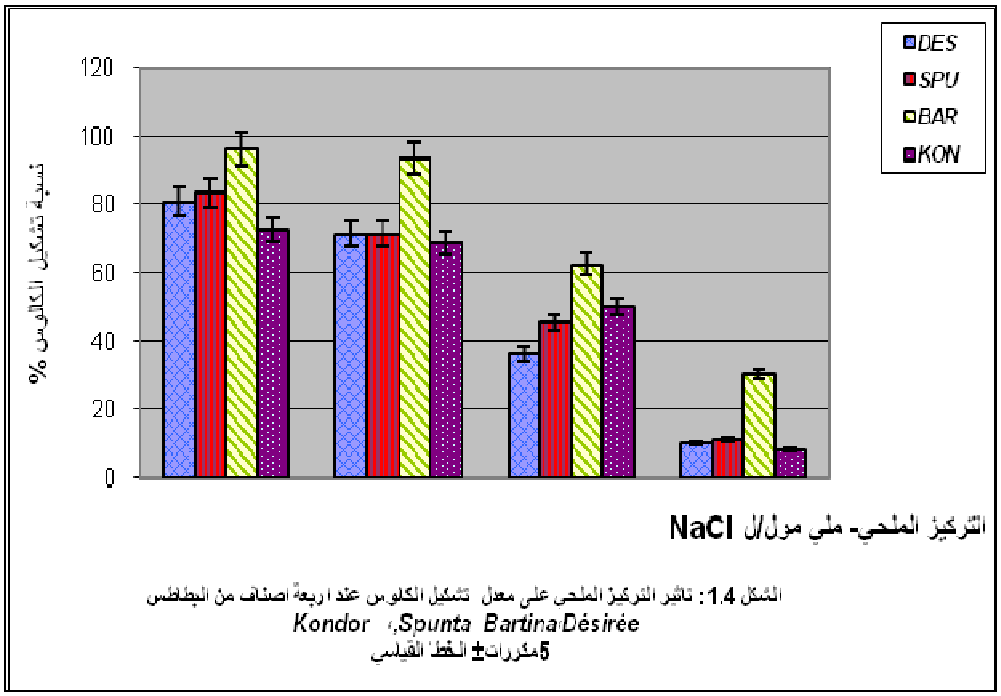
3. نتائج تكييف الكالوسات للملوحة

3. نتائج تكييف الكالوسات للملوحة : Résultats d'daptation des cals à la salinité

1.3 معدل تشكيل الكالوسات:

يعبر عن معدل تشكل الكالوس بنسبة الفسائل المشكلة للكالوس على عدد الكالوسات المزروعة خلال اربعة أسابيع في وسط الزراعة.

تبين من خلال الدراسة الإحصائية في الجدول **1.4**، أن للتركيز الملحي تأثير معنوي جد عال على نسبة تشكيل الكالوسات لكل الأصناف كما لوحظ من خلال الأعمدة البيانية في الشكل **1.4**، أن تشكيل الكالوس كان في كل التراكيز الملحية، لكن لوحظ انخفاض في نسبة تشكيل الكالوس مصاحب بالزيادة في تركيز الملح في الوسط الزراعي، مع ملاحظة أن نسبة الانخفاض كانت مختلفة من صنف لآخر حيث:



في التركيز **50** ملي مول/ل **NaCl** يمكن أن نميز مجموعتين:

مجموعة أولى: كانت نسبة الانخفاض طفيفة، تخص الصنف ***Bartina***

مجموعة ثانية: كانت نسبة الانخفاض عالية نوعا ما مقارنة بالشاهد للاصناف ***Kondor*** ، ***Désirée*** و ***Spunta***

.

أما في التركيز **100** ملي مول/ل **NaCl** فنسبة الانخفاض عالية (**31.25 %** و**54.97%**) لكل الأصناف.

في التركيز **150** ملي مول/ل **NaCl** يمكن أن نميز مجموعتين:

مجموعة أولى: تضم الأصناف ***Désirée***، ***Spunta***، و***Kondor*** حيث كان الانخفاض في نسبة تشكيل الكالوس عال جدا وبنسب تجاوزت **80 %** وهي **87.61 %**، **86.8 %**، و**88.65 %** على التوالي.

مجموعة ثانية: تضم الصنف ***Bartina***، حيث كان الانخفاض في نسبة تشكل الكالوس منخفض نوعا ما، وبنسبة **68.47 %**.

وبمقارنة الفرق بين معدلات تشكيل الكالوس لكل الأصناف، وفي كل وسط بقيمة **LSD** (الجدول**2.4**) نجد أن: نسبة تشكيل الكالوس متماثلة في التركيز **00**، **50** ملي مول/ل **NaCl** حيث معدل تشكيل الكالوس فيها عال، فيما هناك تأثير واضح للتركيزين **100**، **150** ملي مول/ل **NaCl** على معدل تشكيل الكالوس الذي ينخفض بشكل كبير.

2.3 وصف الكالوسات المتحصل عليها: النسيج واللون Description des cals

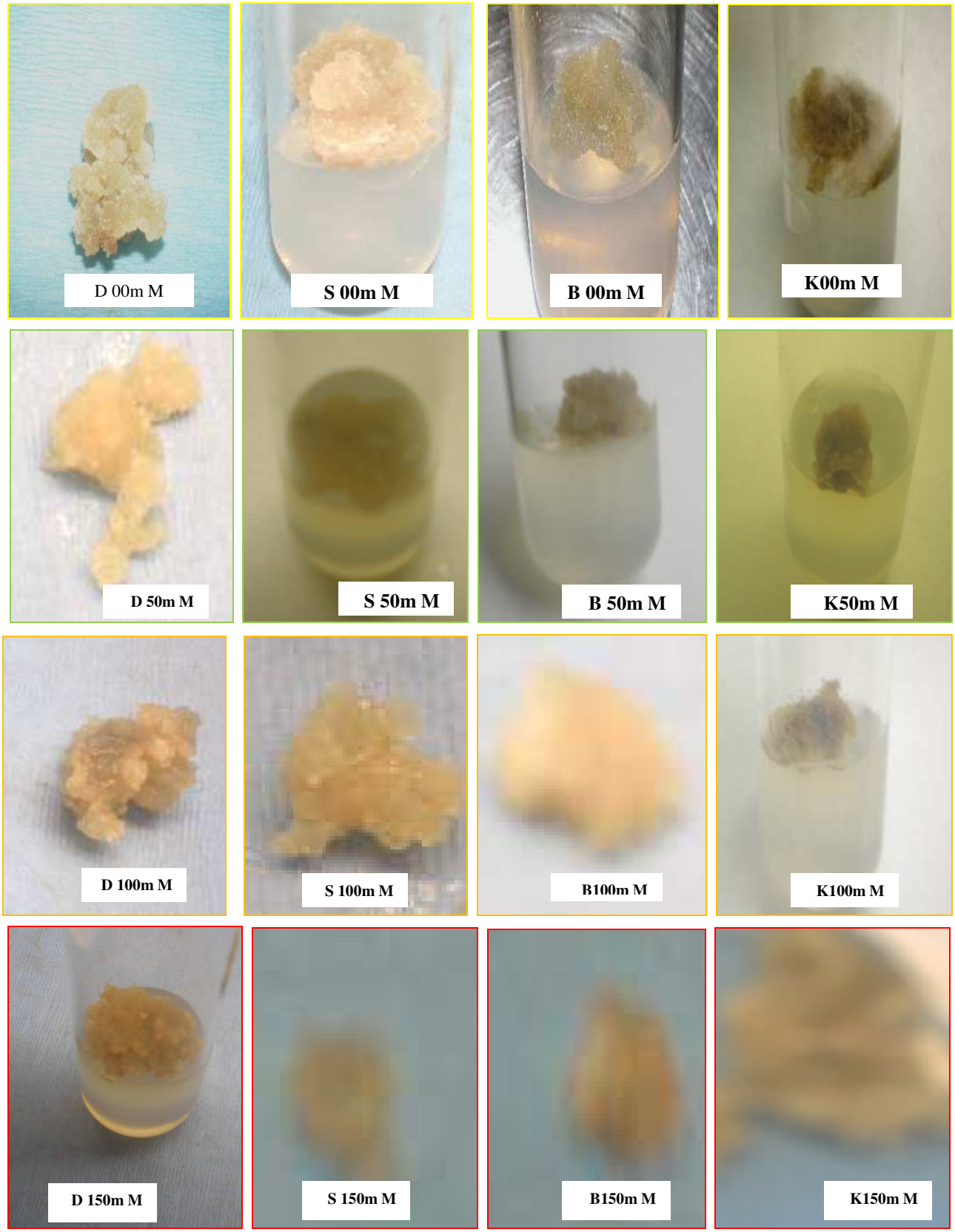
إن النتائج الخاصة بنمط ولون الكالوسات، وفي مختلف التراكيز الملحية، تبين وجود تأثير واضح للملوحة حسب الشكل **2.4**، فمقارنة بالكالوسات النامية في الوسط الخالي من الملح أي الشاهد، والملاحظة في الجزء الأول من التجربة، اين كانت اغلبها لزجة نصف شفافة، ومفتتة مصفرة إلى شفافة متماسكة؛ فقد كانت بالنسبة للصنف ***Désirée*** معظم الكالوسات شفافة متماسكة، أما للصنف ***Spunta*** فكانت الكالوسات مفتتة مصفرة إلى لزجة نصف شفافة، في حين للصنف ***Bartina*** كانت الكالوسات متماسكة مخضرة، أو نصف شفافة تحتوي أجزاء هوائية، أما الصنف ***Kondor*** فكانت في الغالب شفافة متماسكة.

أبدت الكالوسات النامية في الوسط **50** ملي مول/ل **NaCl**، تكاثر جيد وهي مشابهة مرفولوجيا للكالوسات النامية في الوسط الشاهد، مع ظهور بعض الكالوسات البنية والمسودة، لكن بنسبة قليلة بالنسبة لكل الأصناف.

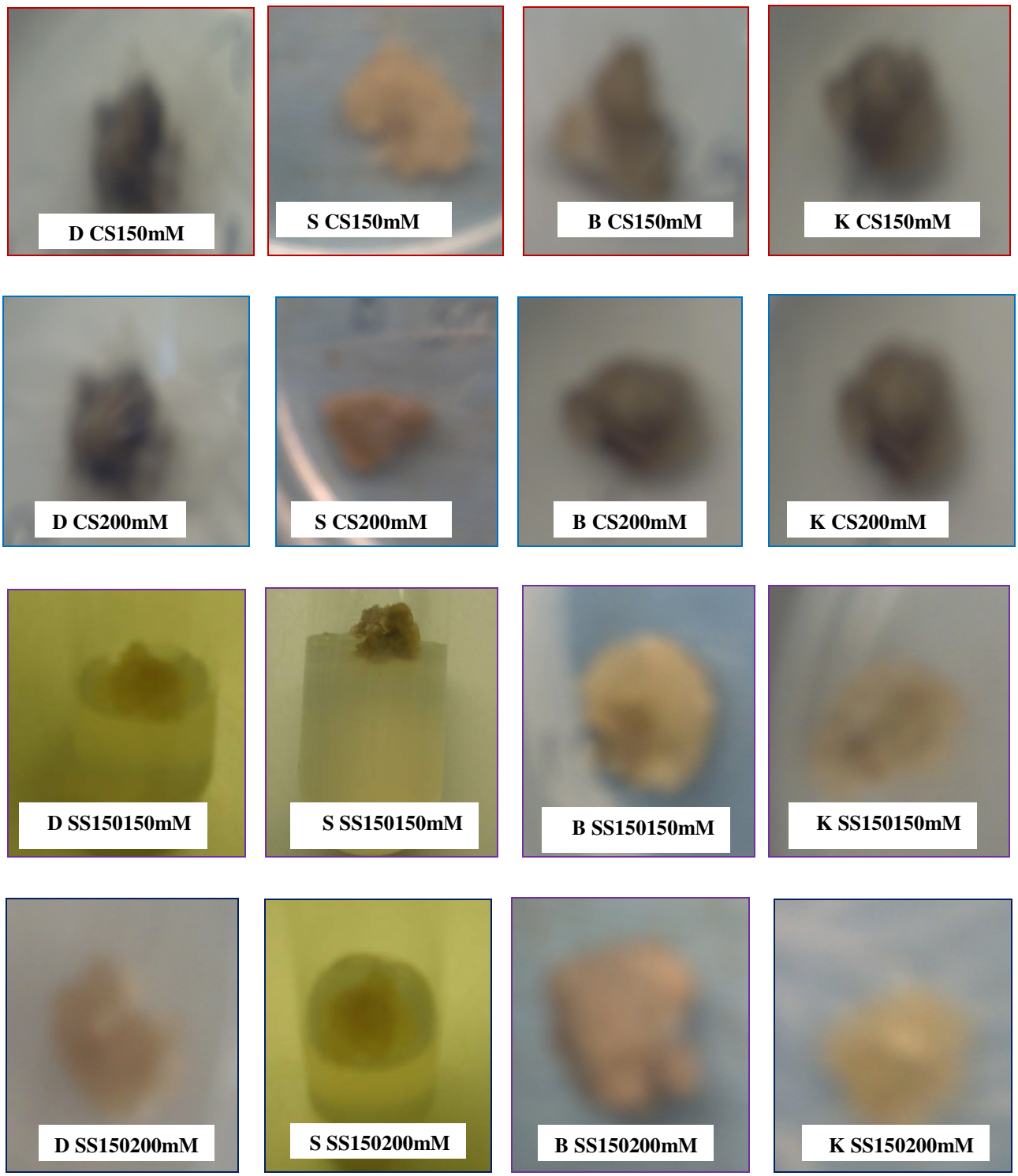
أما في الوسط **100** ملي مول/ل **NaCl**، فكان التكاثر متوسط، مع ظهور قطع صغيرة بنية منخرة لعدد كبير من الكالوسات، ولجميع الأصناف.

في الوسط المدعم بالتركيز الملحي **150** ملي مول/ل **NaCl**، جزء كبير من الكالوسات لم ينمو، وأصبحت بنية خلال **2** أسبوع، وعدد قليل منها نمت، وكانت شفافة مفتتة إلى بنية فاتحة متماسكة؛ ونفس الشيء للكالوسات **SS150150** و **SS150200**.

بالنسبة للكالوسات غير المكيفة، والمحولة مباشرة الى التركيز **150** او **200** ملي مول/ل **NaCl**، فقد تحولت إلى اللون البني او الأسود، وماتت عكس الكالوسات المكيفة للتركيز 150 ملي مول/لNaCl فهي أكثر تماسكا وشفافة واقل تنخرا مقارنة مع الكالوسات غير المكيفة وهذا دليل على مقاومتها للملوحة في الوسط الزراعي مقارنة بالأنماط غير المكيفة .



الشكل **4-2**: الكالوسات المتحصل عليها بالانتقاء التدريجي في الوسط الملحي لاربعة أصناف من البطاطس ***Désirée***، ***Spunta***، ***Bartina*** و ***Kondor***.



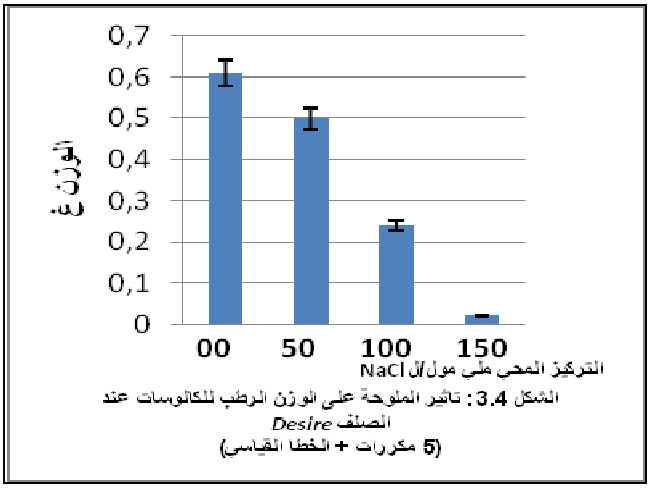
تابع-الشكل **4-2**: خصائص الكالوسات (النمط واللون) المتحصل عليها بالانتقاء التدريجي في الوسط الملحي عند البطاطس الاصناف ***Désirée***، ***Spunta***، ***Bartina*** و ***Kondor***.

3.3 نمو الكالوسات: Croissance des cals

1.3.3 تطور الكالوسات: Evolution des cals

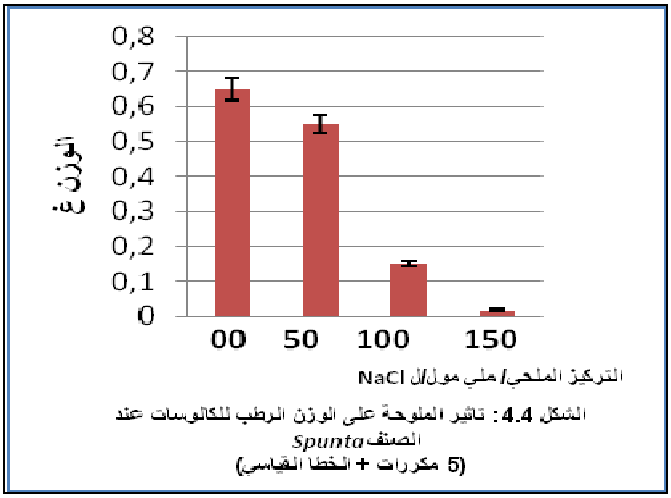
1.1.3.3 الوزن الرطب للكالوسات غير المكيفة للملح عند مختلف تراكيز الملح:

بعد إجراء التحاليل الإحصائية(الجدول**3.4**)، تبين أن هناك تأثير معنوي جد عال للملوحة على الوزن الرطب للكالوسات بالنسبة لكل الأصناف المعاملة، ومن خلال الأعمدة البيانية في الأشكال **3.4**، **4.4**، **5.4**، و**6.4**، لوحظ أن نسبة الانخفاض في الوزن الرطب للكالوسات في الأوساط الملحية مقارنة بالكالوسات النامية في الوسط الخال من الملح تباينت بين الأصناف وحسب التركيز الملحي.



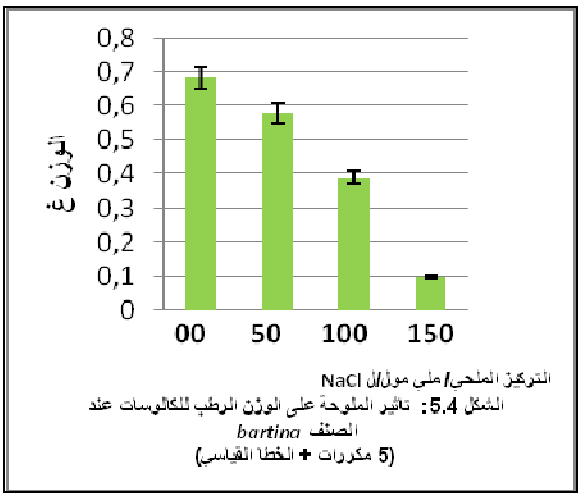
الشكل3.4: تاثير الملوحة على الوزن الرطب عند البطاطس الصنف *Désirée*

(5 مكررات± الخطا القياسي)



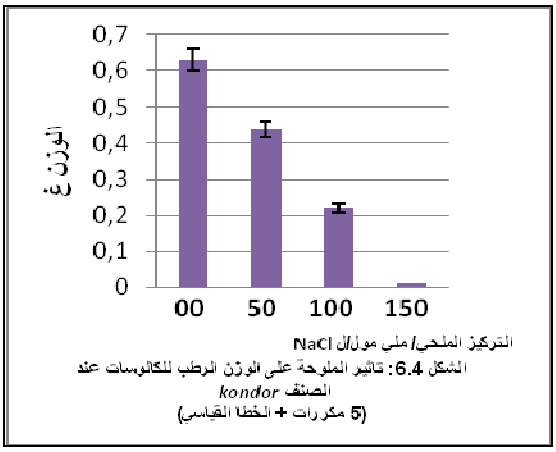
الشكل 4.4: تاثير الملوحة على الوزن الرطب عند البطاطس الصنف *Spunta*

(5 مكررات± الخطا القياسي)



الشكل 5.4: تاثير الملوحة على الوزن الرطب عند البطاطس الصنف *Bartina*

(5 مكررات± الخطا القياسي)



الشكل 6.4: تاثير الملوحة على الوزن الرطب عند البطاطس الصنف *Kondor*

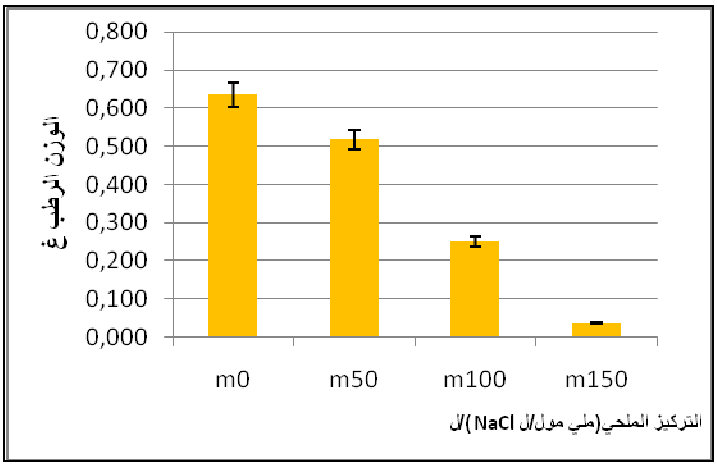
(5 مكررات± الخطا القياسي)

كان معدل الانخفاض في الوزن الرطب عند التركيز **50** ملي مول/ل من **NaCl**، لكل الأصناف **18.58 %** وكانت نسبة الانخفاض متقاربة بين الأصناف الاربعة، وهي من **15** إلى **18 %**، ما عدا عند الصنف ***Kondor*** أين لغت **30 %**.

أما في التركيز **100** ملي مول/ل **NaCl**، فقد بلغ معدل الانخفاض **60.66 %** لكل الأصناف، لكن بالنسبة لكل صنف، نجد أن الصنف ***Bartina*** حقق اقل انخفاض في الوزن الرطب **42.85 %**. أما الأصناف المتبقية فكانت نسبة الانخفاض في الوزن الرطب بين **60** و**77 %**.

في التركيز **150** ملي مول **NaCl** كان معدل الانخفاض في الوزن الرطب بالنسبة لمجموع الأصناف كبير، وصل إلى **94.1 %**، أما لكل صنف فقد كان الصنف ***Bartina*** أكثر مقاومة للملوحة، بمعدل انخفاض في الوزن الرطب **85,34 %**، أما باقي الأصناف فكان معدل الانخفاض يتراوح بين **95** و **98 %**.

كما أن مقارنة الفرق بين معدلات الوزن الرطب للكالوسات حسب التراكيز الملحية المستعملة مع **LSD** (الجدول**4-4**) يشكل أربع مجموعات متباينة إحصائيا (الشكل **7.4**).



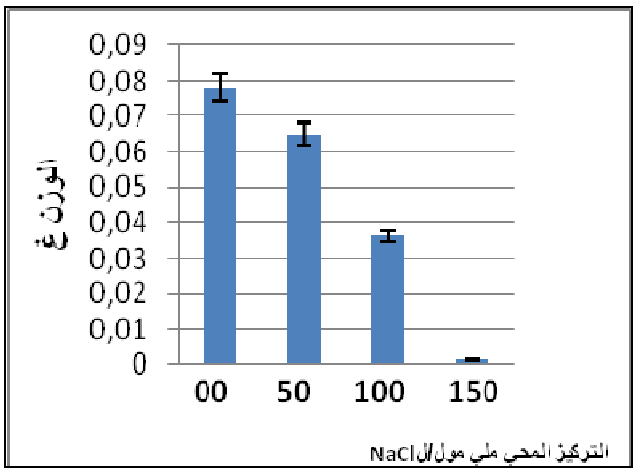
الشكل 7.4: معدل تاثير التركيز الملحي على الوزن الرطب للكالوس عند البطاطس

(5 مكررات± الخطا القياسي)

- مجموعة أولى: وهي الخاصة بالتركيز **0** ملي مول/لNaCl (الوسط الشاهد)
- مجموعة ثانية: الخاصة بالتركيز **50** ملي مول/ل **NaCl** كان الوزن الرطب للكالوسات **0.51** غ، أي نمو عادي للكالوسات مقارنة بالشاهد (**0.63** غ).
- مجموعة ثالثة: الخاصة بالتركيز **100** ملي مول/ل **NaCl**، كان الوزن الرطب للكالوسات **0.25** غ، أي انخفاض النمو بشكل معتبر للكالوسات مقارنة بالشاهد (**0.63** غ).
- مجموعة رابعة: الخاصة بالتركيز **150** ملي مول/ل **NaCl**، كان الوزن الرطب للكالوسات **0.038** غ، أي انخفاض النمو بشكل كبير جدا للكالوسات مقارنة بالشاهد (**0.63** غ).

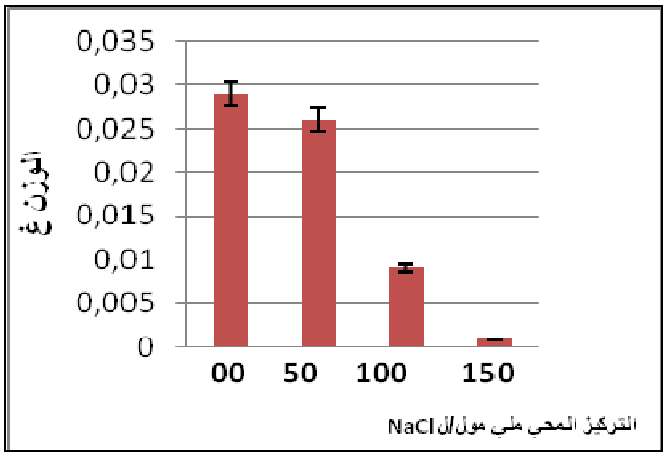
2.1.3.3 الوزن الجاف للكالوسات غير المكيفة للملح عند مختلف تراكيز الملح:

تبين الأعمدة البيانية في الأشكال **8.4**، **9.4**، **10.4**، و**11.4**، أن نسبة الانخفاض في الوزن الجاف للكالوسات في الأوساط الملحية مقارنة بالكالوسات النامية في وسط خال من الملح تباينت بين الأصناف وحسب التركيز. كما تؤكد التحاليل الإحصائية وجود تأثير معنوي للملوحة على الوزن الجاف للكالوسات لكل الأصناف (الجدول**5.4**).



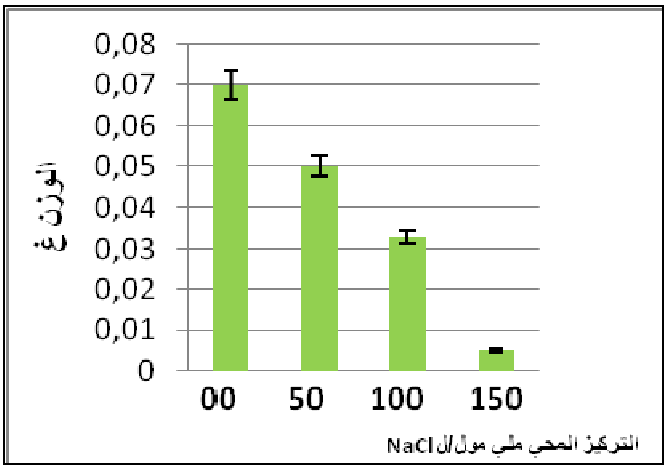
الشكل 8.4: تاثير الملوحة على الوزن الجاف عند البطاطس الصنف ***Désirée***

(5 مكررات± الخطا القياسي)



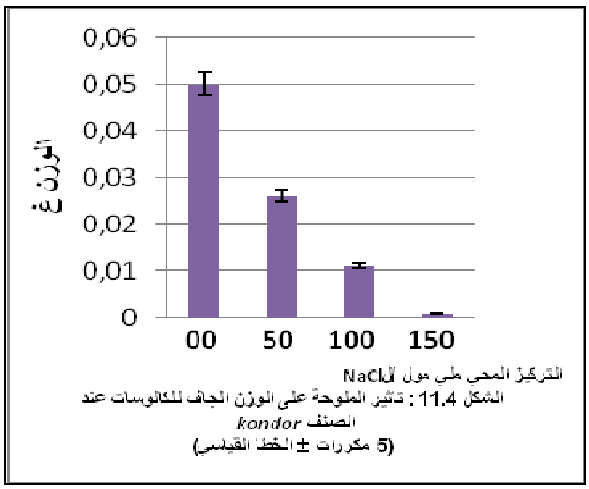
الشكل 9.4: تاثير الملوحة على الوزن الجاف عند البطاطس الصنف ***Spunta***

(5 مكررات± الخطا القياسي)



الشكل 10.4: تاثير الملوحة على الوزن الجاف عند البطاطس الصنف ***Bartina***

(5 مكررات± الخطا القياسي)



الشكل 11.4: تاثير الملوحة على الوزن الجاف عند البطاطس الصنف *Kondor*

(5 مكررات± الخطا القياسي)

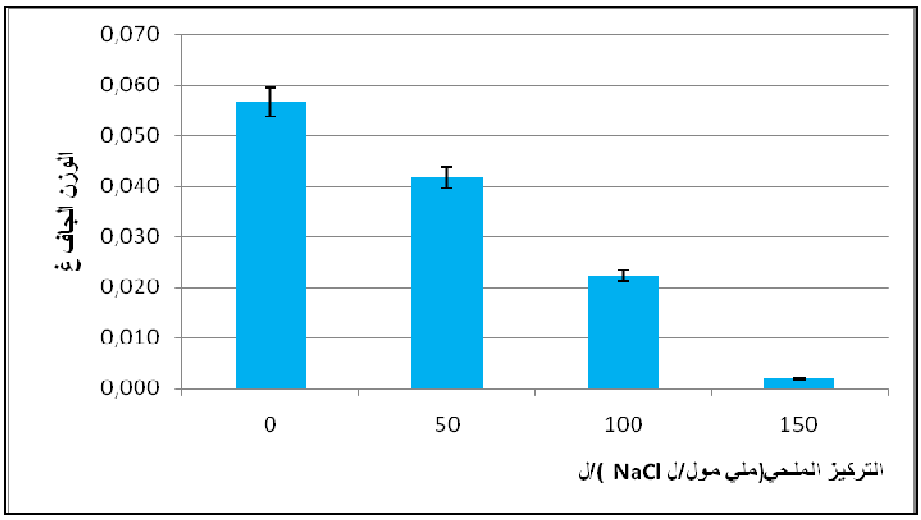
ففي التركيز **50** ملي مول/ل**NaCl** ، كان معدل الانخفاض لكل الأصناف **26.43 %**، وكانت نسبة الانخفاض متفاوتة بين الأصناف المعاملة وهي **48 %** للصنف ***Kondor*** ، **28.57 %** للصنف ***Bartina*** ، و **16.66 %** للصنف ***Désirée*** ، أما الصنف ***Spunta*** فحقق اقل معدل انخفاض **10.34 %**.

في التركيز **100** ملي مول/ل**NaCl** ، معدل الانخفاض**60.79 %** لكل الأصناف، في حين لكل صنف نجد أن الصنف ***Bartina*** و***Désirée*** حققا اقل معدل لانخفاض النمو، **52.85 %**،**53.84 %** على التوالي، أما الأصناف المتبقية فكانت نسبة الانخفاض **68.96 %** للصنف ***Spunta*** و**78 %** للصنف ***Kondor*** والذي سجل اكبر معدل لانخفاض النمو.

في التركيز **150** ملي مول/ل**NaCl**، بالنسبة لمجموع الأصناف كان معدل الانخفاض كبير **96.43 %** أما لكل صنف فقد كان الصنف ***Bartina*** أكثر نموا بمعدل انخفاض **92.85 %** أما باقي الأصناف فكان معدل الانخفاض يتراوح بين **96** و**99 %**.

كما أن مقارنة الفرق بين معدلات الوزن الجاف للكالوسات مع قيمة **LSD** (الجدول**6.4**) حسب التراكيز الملحية المستعملة ،(الشكل**12.4**) تشكل ثلاث مجموعات متباينة إحصائيا:

- مجموعة أولى: وهي الخاصة بالتركيز **0** و**50** ملي مول/ل**NaCl** ، أين سجل معدل نمو متقارب، أي غياب التأثير للتركيز **50** ملي مول مقارنة بالشاهد.
- مجموعة ثانية: الخاصة بالتركيز **50** و**100** ملي مول/ل**NaCl** ، كان الوزن الجاف للكالوسات منخفض قليلا مقارنة بالشاهد، أي وجود تأثير للتركيزين **50** و**100** ملي مول**NaCl** على نمو الكالوسات.
- مجموعة ثالثة: الخاصة بالتركيز **100** و**150** ملي مول/ل**NaCl** ، أين سجل انخفاض النمو بشكل معتبر للكالوسات مقارنة بالشاهد(**0.63** غ).

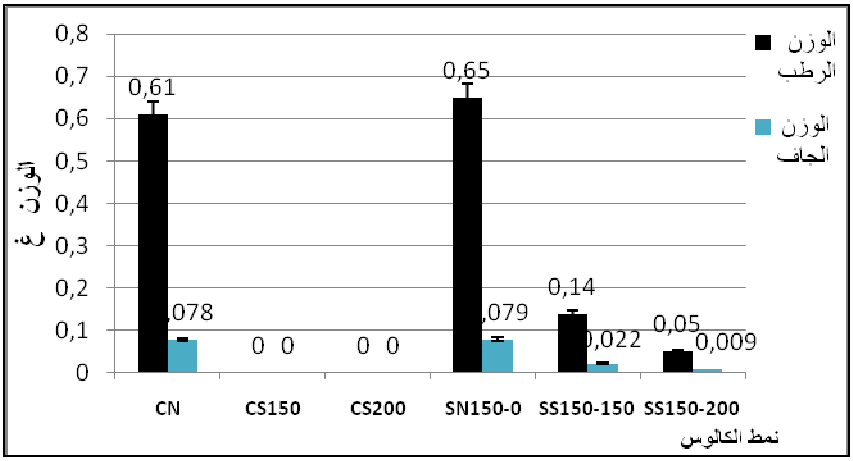


الشكل 12.4: معدل تاثير التركيز الملحي على الوزن الجاف للكالوس عند البطاطس

(5 مكررات± الخطا القياسي)

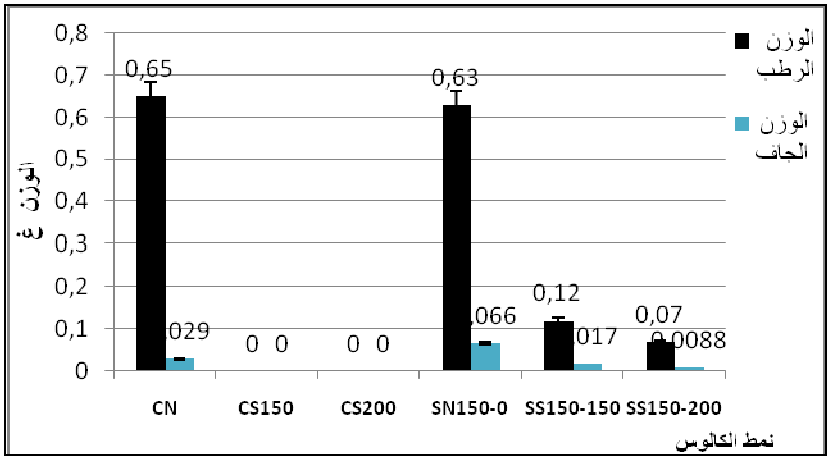
3.1.3.3 الوزن الرطب والجاف لمختلف أنماط الكالوسات:

تبين التحاليل الإحصائية الخاصة بالوزن الرطب والجاف لمختلف أنماط الكالوسات (الجدول**7.4**، **8.4**)، وجود تأثير معنوي جد عال لنمط الكالوس على نموه، كما تبين الأعمدة البيانية في الاشكال **13.4**، **14.4**، **15.4**، **16.4**، أن الكالوسات المكيفة أكثر نموا من الكالوسات غير المكيفة في نفس الوسط الزراعي من خلال قيم الوزن الرطب والجاف؛ حيث أن أحسن نمو كان للكالوسات **SN150-0** و**CN**، بـ **0.63** غ و **0.64** غ بالنسبة للوزن الرطب على التوالي؛ و**0.057** و**0.07** غ بالنسبة للوزن الجاف على التوالي، ثم الكالوسات **SS150-150** بـ **0.14** غ و **0.02** غ للوزن الرطب والجاف على التوالي، ثم الكالوسات **SS150-200** بـ **0.075** غ و**0.0095** غ للوزن الرطب والجاف على التوالي، وأخيرا سجلنا موت كل الكالوسات**CS150**، **CS200**. إن هذه النتائج المسجلة متماثلة عند كل الأصناف.



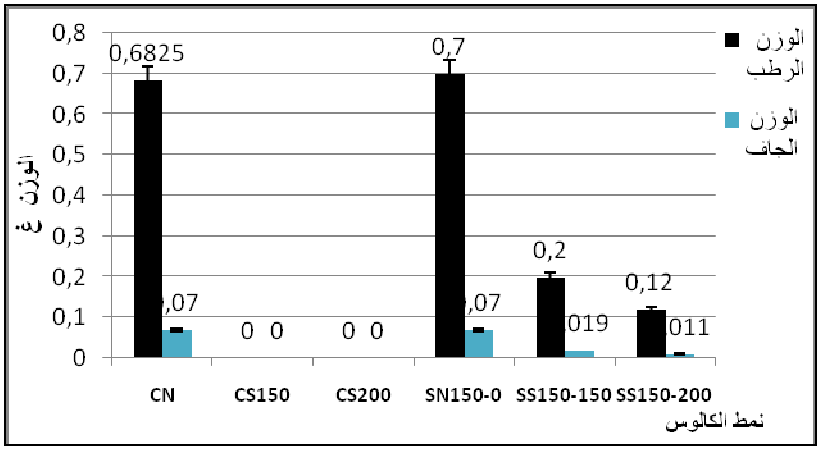
الشكل 13.4: الوزن الرطب و الجاف لمختلف انماط الكالوسات الصنف *Désirée*

(5 مكررات± الخطا القياسي)



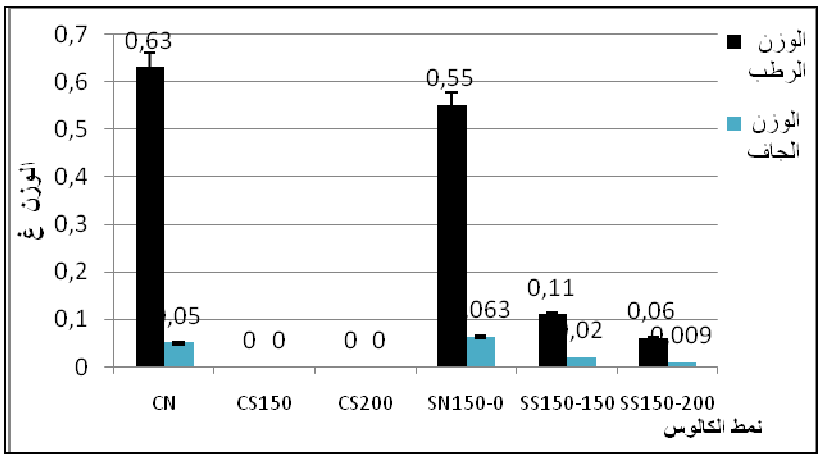
الشكل 14.4: الوزن الرطب و الجاف لمختلف انماط الكالوسات الصنف *Spunta*

(5 مكررات± الخطا القياسي)



الشكل 15.4: الوزن الرطب و الجاف لمختلف انماط الكالوسات الصنف *Bartina*

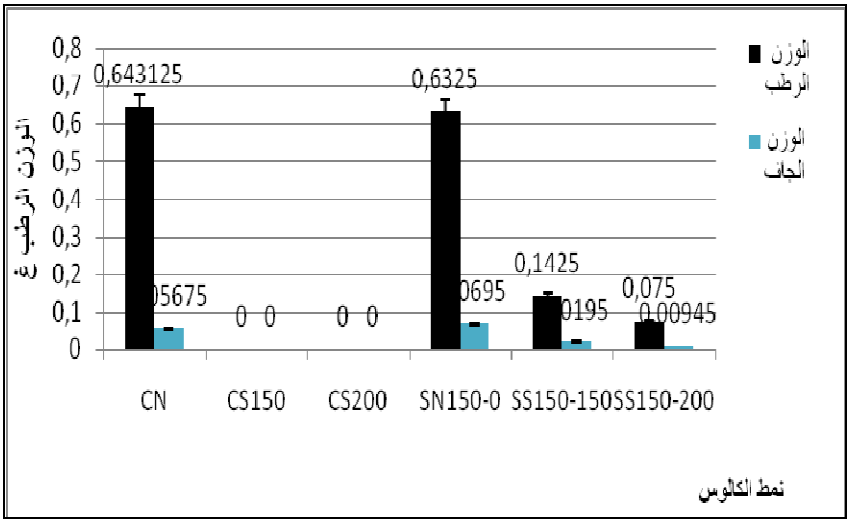
(5 مكررات± الخطا القياسي)



الشكل 16.4: الوزن الرطب والجاف لمختلف انماط الكالوسات الصنف *Kondor*

(5 مكررات ± الخطا القياسي)

من خلال التحليل الاحصائي المقارن بين معدلات الوزن الرطب والجاف للكالوسات (الجدول **9.4**، **10.4**)، (الشكل **17.4**)، نسجل المجموعات التالية لنمو الكالوسات حسب قيم الوزن الرطب:



الشكل 17.4: معدل الوزن الرطب والجاف لمختلف انماط الكالوسات عند البطاطس

(5 مكررات± الخطا القياسي)

- مجموعة أولى: تضم الكالوسات **CN** و**SN150-0** حيث كان النمو معتبر.
- مجموعة ثانية: تضم الكالوسات **SS150-150** حيث كان النمو منخفض.
- مجموعة ثالثة: تضم الكالوسات **SS150-200** حيث كان النمو منخفض جدا.
- مجموعة رابعة: تضم الكالوسات **.CS150** و **CS 200** حيث لم تنمو الكالوسات.

أما حسب قيم الوزن الجاف نسجل المجموعات التالية لنمو الكالوسات:

- مجموعة أولى: تضم الكالوسات **CN** و**SN150-0** حيث كان النمو معتبر.
- مجموعة ثانية: تضم الكالوسات **SS150-150** و **SS150-200** حيث كان النمو منخفض.
- مجموعة ثالثة: تضم الكالوسات **SS150-200** و**CS150** ، **CS 200** حيث كان النمو منخفض جدا أو غائب.

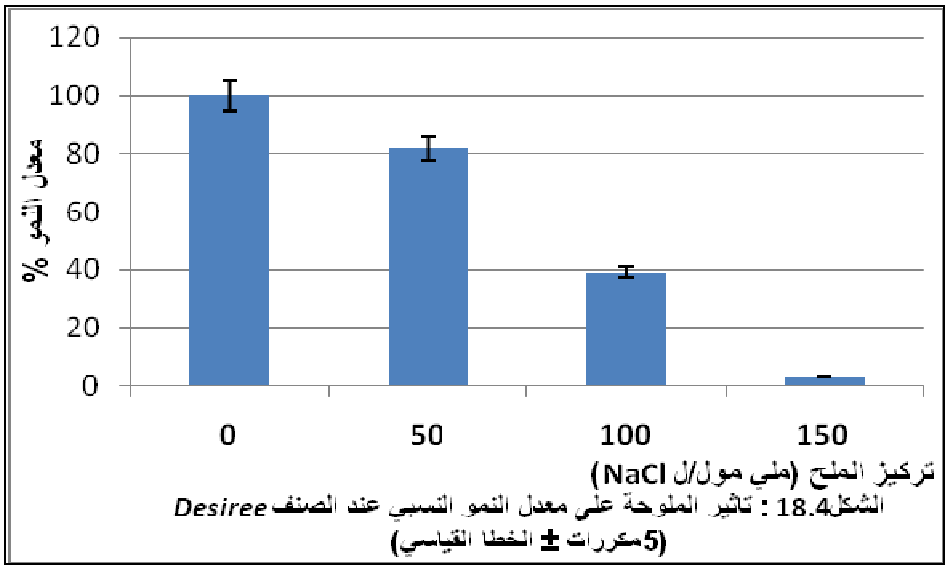
2.3.3 النمو المتوسط النسبي للكالوسات: Croissance moyenne relative des cals

أظهرت التحاليل الإحصائية وجود تأثير معنوي جد عال للملوحة على النمو المتوسط النسبي للكالوسات (الجدول **11.4**)، كذلك النتائج المبينة في الأشكال **18.4**، **19.4**، **20.4**، **21.4**.

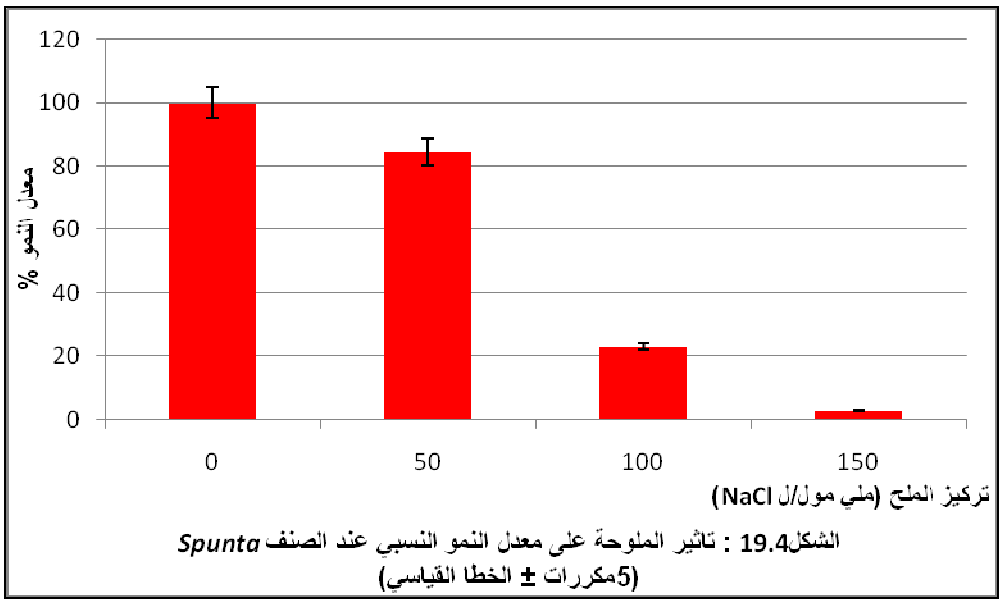
بالنسبة للتركيز **50** ملي مول **NaCl**، بلغ معدل نسبة الانخفاض في النمو المتوسط النسبي للكالوسات **19.65 %** والنسب كما يلي: **15.01** و**15.38** و**18.03 %** للأصناف ***Bartina***، ***Spunta*** ، و***Désirée*** على التوالي، فيما بلغت هذه النسبة **30.15 %** للصنف ***Kondor***.

أما بالنسبة للتركيز **100** ملي مول/ل **NaCl**، فبلغ معدل نسبة الانخفاض في النمو المتوسط النسبي للكالوسات **61.38 %** والنسب كما يلي: **42.85 %** للصنف ***Bartina***، و**60.65**، **65.07**، و**76.92%** على التوالي للأصناف ***Désirée***، ***Kondor***، و ***Spunta***.

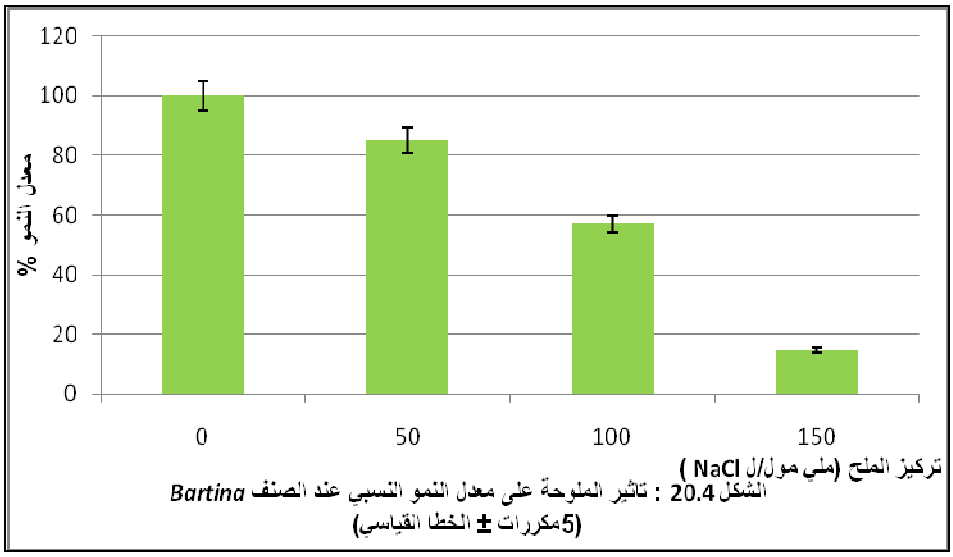
في حين سجل بالنسبة للتركيز **150** ملي مول/ل **NaCl**، معدل نسبة الانخفاض في النمو المتوسط النسبي للكالوسات **94.35 %** والنسب بالنسبة للأصناف كما يلي: **85.34 %** للصنف ***Bartina***، و **96.72**، **97.23**، و **98.09 %** للأصناف ***Désirée***، ***Spunta*** ، و ***Kondor*** على التوالي.



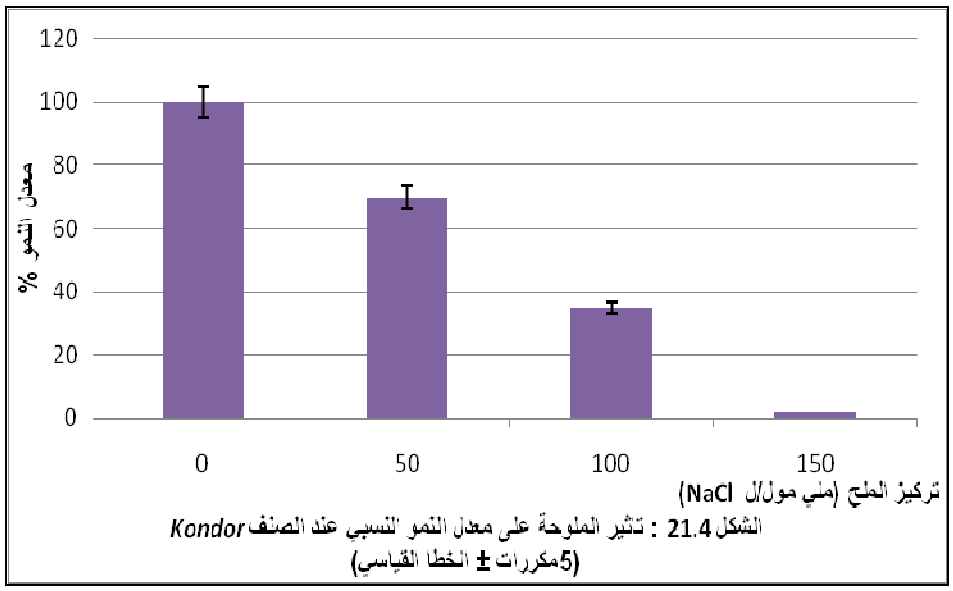
الشكل18.4 : تأثير الملوحة على معدل النمو النسبي عند الصنف *Desiree*
(5مكررات ± الخطأ القياسي)



الشكل19.4 : تأثير الملوحة على معدل النمو النسبي عند الصنف *Spunta*
(5مكررات ± الخطأ القياسي)



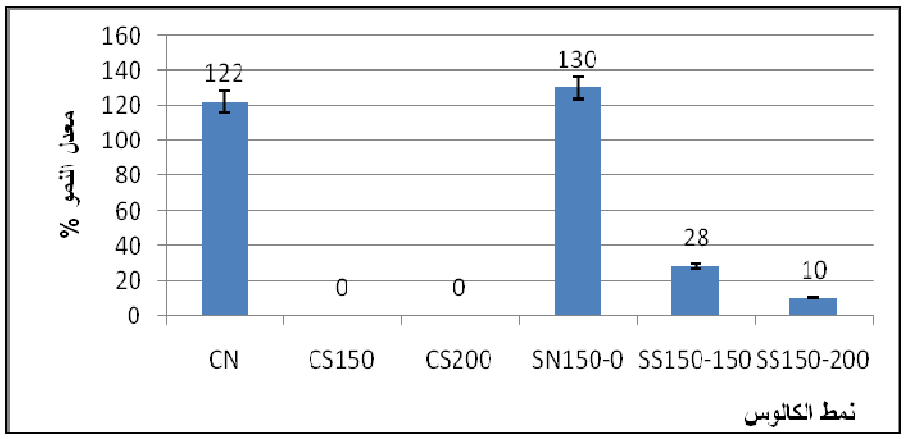
الشكل 20.4 : تأثير الملوحة على معدل النمو النسبي عند الصنف *Bartina*
(5مكررات ± الخطأ القياسي)



الشكل 21.4 : تأثير الملوحة على معدل النمو النسبي عند الصنف *Kondor*
(5مكررات ± الخطأ القياسي)

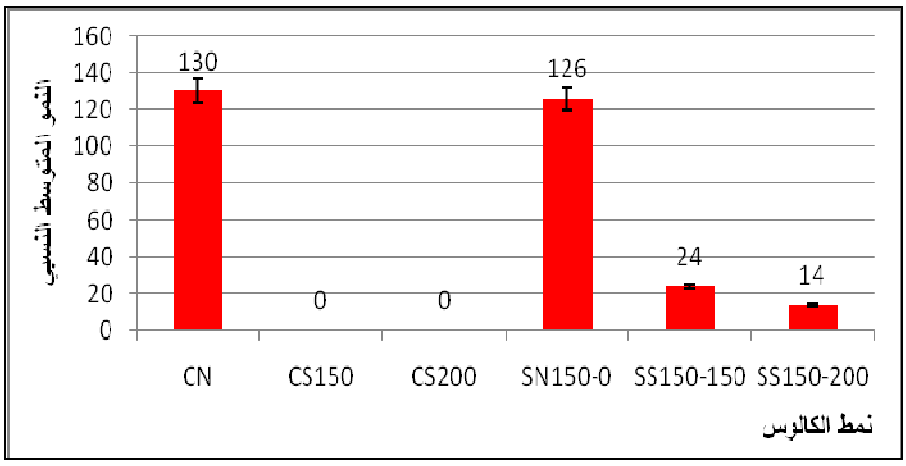
وبمقارنة الفرق بين معدلات النمو المتوسط النسبي في مختلف تراكيز الملح بقيمة **LSD** (الجدول **12.4**) نميز أربع مجموعات متباينة إحصائيا كل مجموعة تخص تركيز من التراكيز المستعملة.

تبين التحاليل الإحصائية الخاصة بقيم النمو المتوسط النسبي لمختلف أنماط الكالوسات، وجود تأثير جد معنوي لنمط الكالوس على المقاومة للملوحة (الجدول **13.4**)، كما تبين الأعمدة البيانية في الأشكال **22.4**، **23.4**، **24.4**، و**25.4**، أن الكالوسات المكيفة للملوحة **150** ملي مول **NaCl**، أكثر مقاومة من الكالوسات غير المكيفة للملوحة **CS150** و**CS200** ويبدو هذا واضحا من خلال قيم النمو المتوسط النسبي للكالوسات؛ حيث أحسن نمو كان عند الكالوسات **CN**، **SN150-0** ، والتي تشكل مجموعة واحدة كان فيها النمو المتوسط النسبي معتبر، ثم الكالوسات **SS150-150** أولا والتي سجل فيها نمو منخفض، ثم الكالوسات **SS150-200** ، والتي سجلت نمو منخفض جدا، ثم أخيرا سجلنا موت كل الكالوسات **CS150**، **CS200**. إن هذه النتائج المسجلة متماثلة عند كل الأصناف المزروعة.



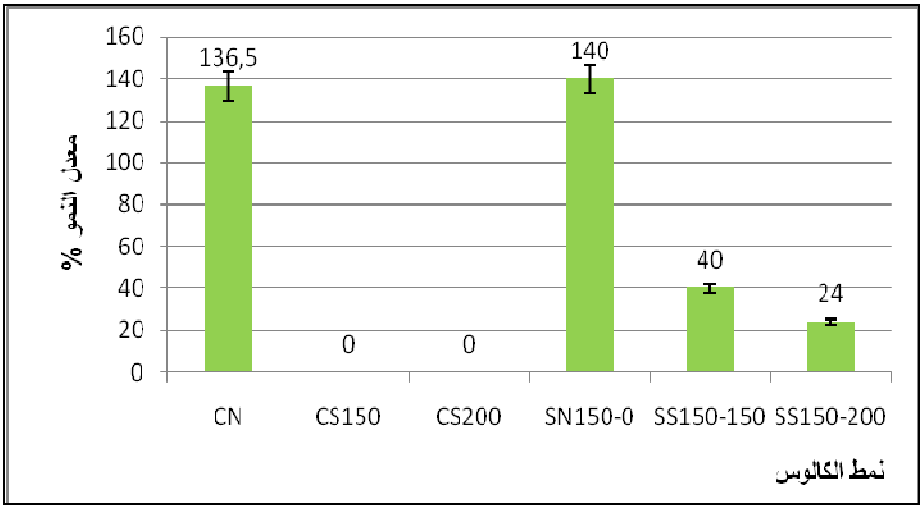
الشكل 22.4: تاثير الملوحة على النمو المتوسط النسبي لمختلف انماط الكالوسات عند البطاطس الصنف *Désirée*

(5 مكررات± الخطا القياسي)



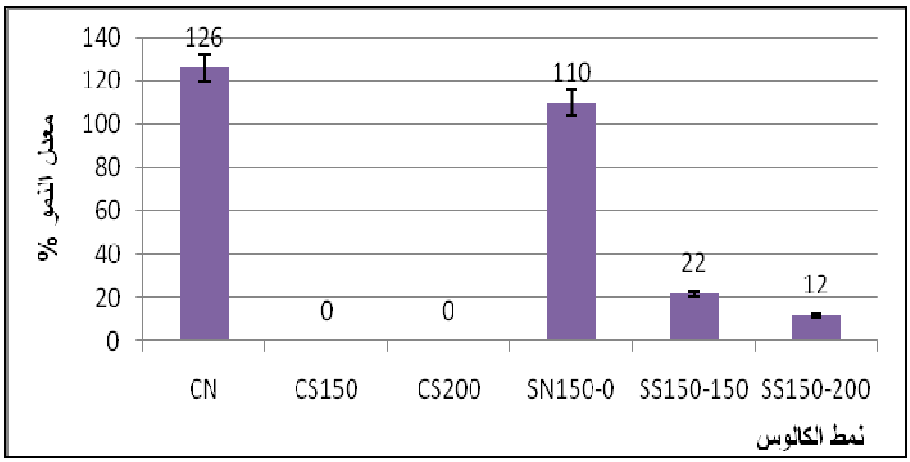
الشكل 23.4: تاثير الملوحة على النمو المتوسط النسبي لمختلف انماط الكالوسات عند البطاطس الصنف *Spunta*

(5 مكررات± الخطا القياسي)



الشكل 24.4: تاثير الملوحة على النمو المتوسط النسبي لمختلف انماط الكالوسات عند البطاطس الصنف *Bartina*

(5 مكررات± الخطا القياسي)



الشكل4 .25: تاثير الملوحة على النمو المتوسط النسبي لمختلف انماط الكالوسات عند البطاطس الصنف *Kondor*

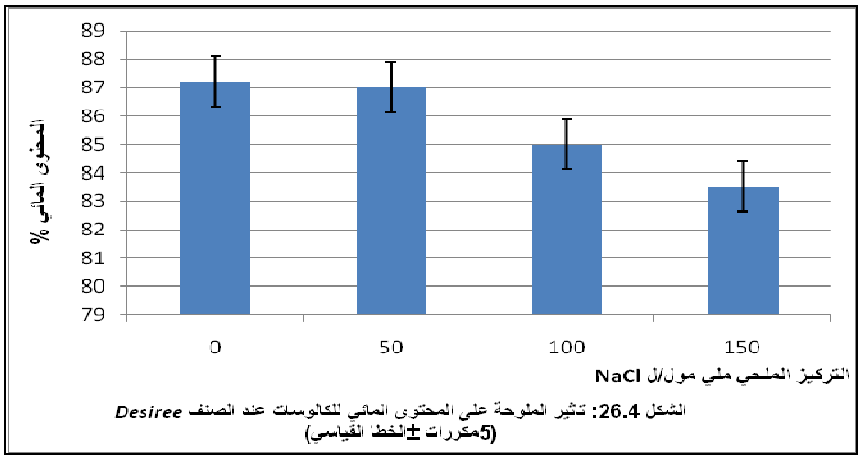
(5 مكررات± الخطا القياسي)

بمقارنة معدل النمو النسبي للكالوسات مع اقل فرق معنوي **LSD** (الجدول **14.4**) نسجل المجموعات التالية:

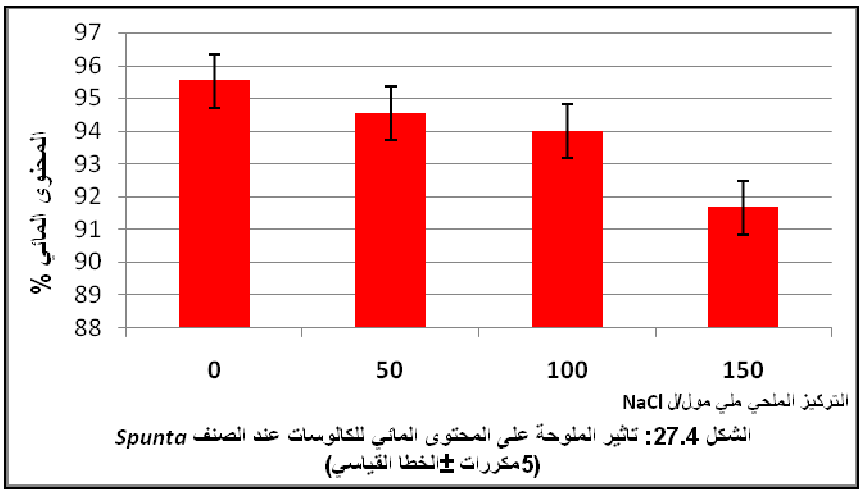
- مجموعة أولى: تضم الكالوسات **CN**، **SN150-0** حيث كان النمو المتوسط النسبي معتبر.
- مجموعة ثانية: تضم الكالوسات **SS150-150** حيث كان النمو منخفض.
- مجموعة ثالثة: تضم الكالوسات **SS150-200** حيث كان النمو منخفض جدا.
- مجموعة رابعة: تضم الكالوسات **CS150**، **CS200** حيث لم تنمو الكالوسات.

4.3 تحديد المحتوى المائي: Détermination du contenu hydrique

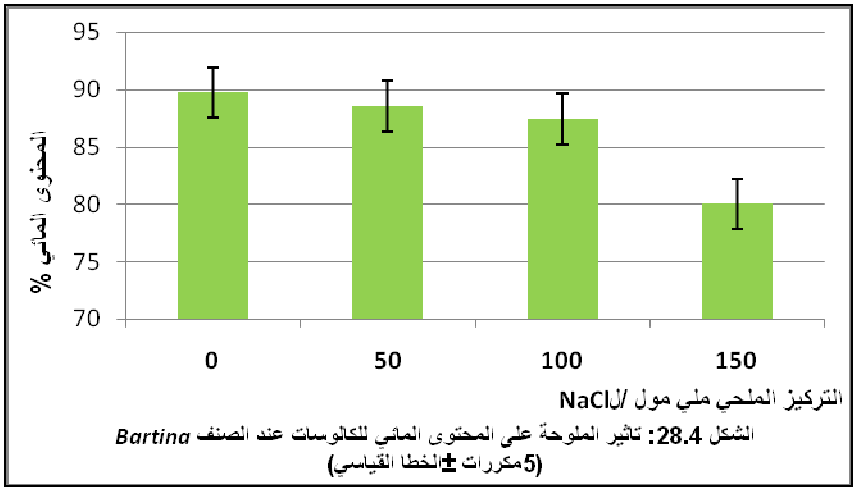
الهدف من هذه الخطوة هو دراسة تأثير التركيز الملحي على الحالة المائية للكالوسات، حيث بينت التحاليل الإحصائية المنجزة في الجدول **15.4**، وجود تأثير معنوي جد عال للملوحة على المحتوى المائي للكالوسات عند الأصناف المزروعة، كما تبين نتائج الدراسة المبينة في الأشكال **26.4**، **27.4**، **28.4**، و**29.4**، وجود تأثير واضح للملوحة على محتوى الكالوسات من الماء، فقد سجل انخفاض المحتوى المائي مع زيادة تركيز الملح في الوسط إلا أن نسبة الانخفاض متباينة بين الأصناف حيث:



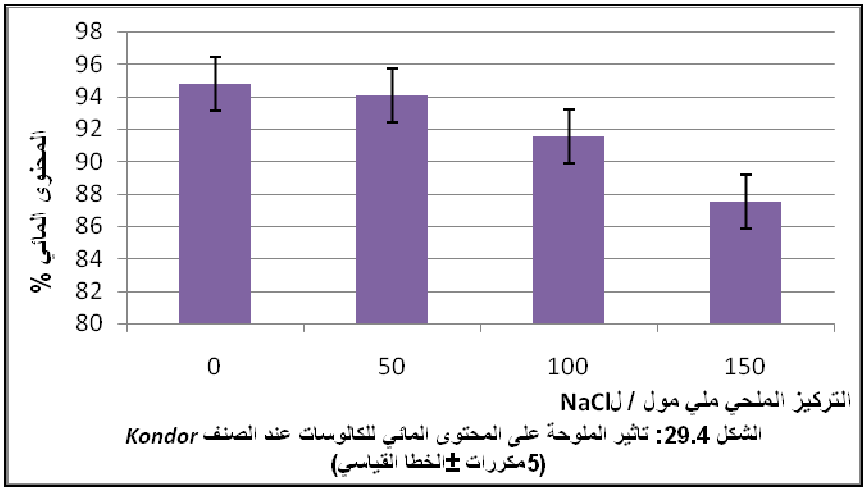
الشكل **26.4**: تأثير الملوحة على المحتوى المائي للكالوسات عند الصنف ***Desiree***
(5مكررات± الخطأ القياسي)



الشكل 27.4: تاثير الملوحة على المحتوى المائي للكالوسات عند الصنف *Spunta*
(5مكررات ±الخطأ القياسي)



الشكل 28.4: تاثير الملوحة على المحتوى المائي للكالوسات عند الصنف *Bartina*
(5مكررات ±الخطأ القياسي)



الشكل 29.4: تاثير الملوحة على المحتوى المائي للكالوسات عند الصنف *Kondor*
(5مكررات ±الخطأ القياسي)

في التركيز **50** ملي مول/ل **NaCl**، كان المحتوى المائي تقريبا مماثل لكالوسات الشاهد عند كل الأصناف، ماعدا الصنف ***Spunta***، أين كان منخفض مقارنة بالشاهد، أي أن هذا التركيز لا يؤثر على

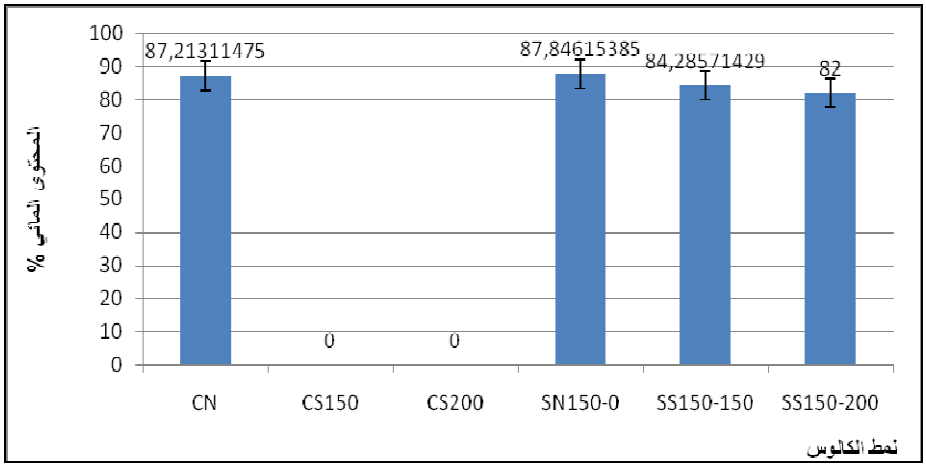
المحتوى المائي، عكس التركيز **100** و**150** ملي مول/ل **NaCl** الذين لهما تأثير واضح، حيث لوحظ انخفاض معنوي في محتوى الكالوسات من الماء.

كما نلاحظ ارتفاع المحتوى المائي في الكالوسات لكل الأصناف، وفي كل التراكيز الملحية حيث يفوق **85 %**.

من خلال مقارنة الفرق بين معدل المحتوى للمائي للكالوسات مع اقل فرق معنوي **LSD** (الجدول **16.4**). نلاحظ فرق بين الأصناف المزروعة حيث يشكل كالوسات الصنفين ***Spunta*** و ***Kondor*** مجموعة واحدة بمحتوى مائي مرتفع، مقارنة بالمجموعة التي تضم الصنفين ***Bartina***، ***Désirée*** أين كان المحتوى المائي منخفض مقارنة بالمجموعة الأولى.

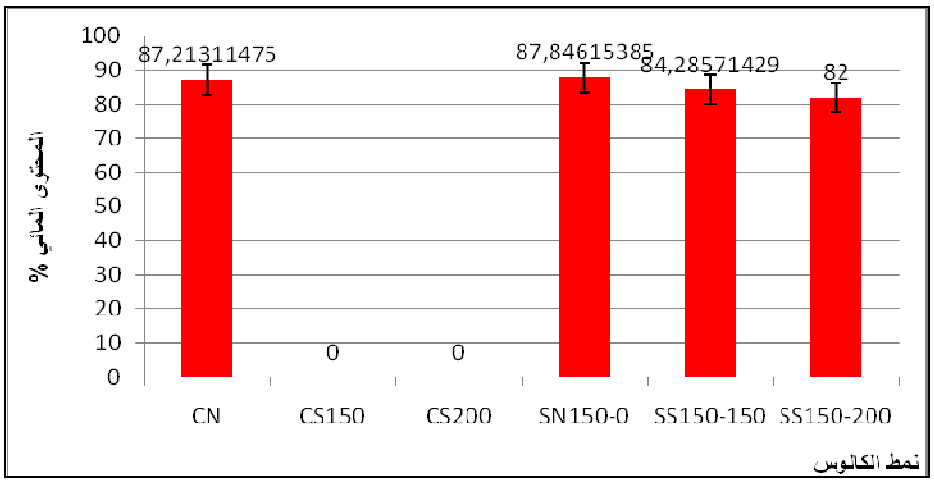
في حين نلاحظ فرق بين التراكيز الملحية المستعملة؛ حيث يشكل التركيز **50** ملي مول مع الشاهد مجموعة واحدة بمحتوى مائي مرتفع، ويشكل التركيز **100** ملي مول/ل **NaCl** مجموعة أخرى بانخفاض المحتوى المائي للكالوسات فيها، و التركيز **150** ملي مول/ل **NaCl** مجموعة ثالثة ينخفض فيها المحتوى المائي أكثر.

إن التحاليل الإحصائية الخاصة بتأثير نمط الكالوس على محتواه المائي في مختلف التراكيز الملحية، ومن خلال (الجدول **17.4**) تظهر تأثير معنوي جد عال، وتبين النتائج في الأشكال **30.4**، **31.4**، **32.4**، و**33.4**، تباين بين المحتوى المائي للكالوسات من نمط لآخر مع ملاحظة أن الكالوسات المكيفة أحسن من الكالوسات غير المكيفة سواء في الوسط الملحي أو في الوسط الخال منه ولكل الأصناف .



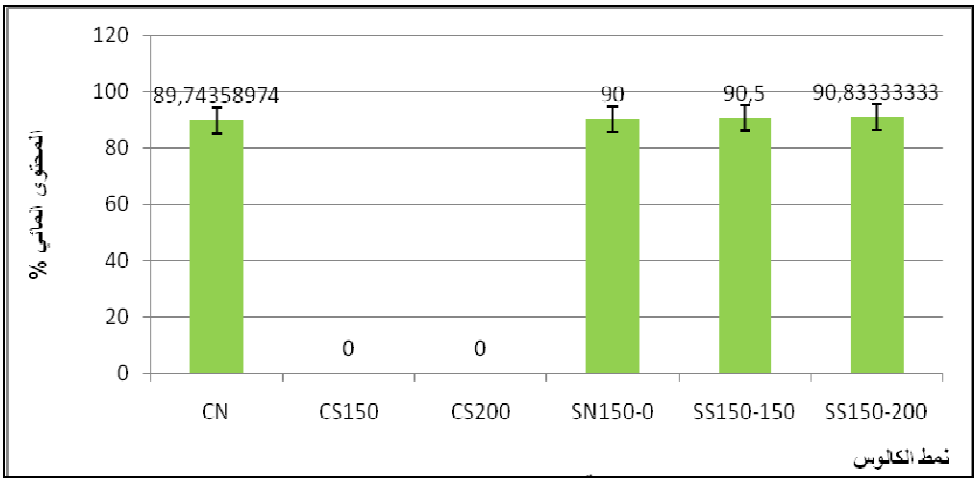
الشكل 30.4: تاثير الملوحة على المحتوى المائي لمختلف انماط الكالوسات عند البطاطس الصنف *Désirée*

(5 مكررات± الخطا القياسي)



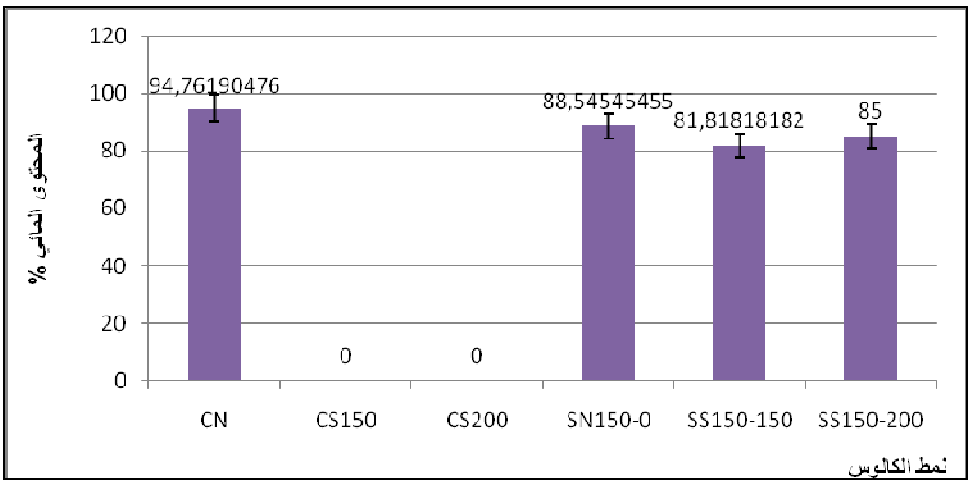
الشكل 31.4: تاثير الملوحة على المحتوى المائي لمختلف انماط الكالوسات عند البطاطس الصنف *Spunta*

(5 مكررات± الخطا القياسي)



الشكل 32.4: تاثير الملوحة على المحتوى المائي لمختلف انماط الكالوسات عند البطاطس الصنف *Bartina*

(5 مكررات± الخطا القياسي)



الشكل 33.4: تاثير الملوحة على المحتوى المائي لمختلف انماط الكالوسات عند البطاطس الصنف *Kondor*

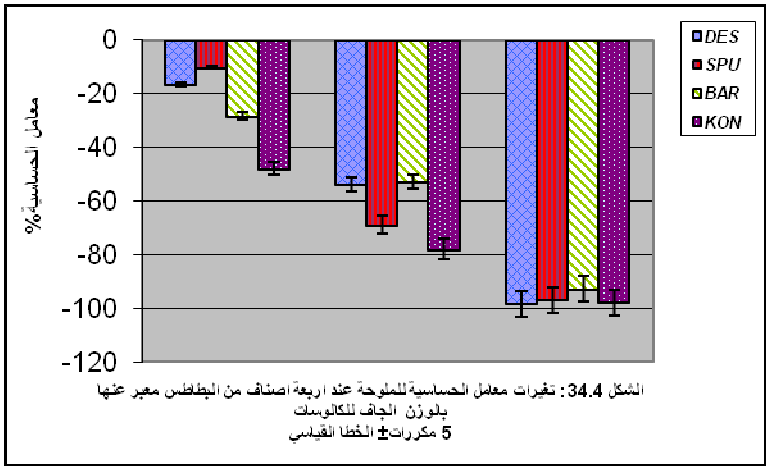
(5 مكررات ± الخطا القياسي)

بمقارنة الفرق بين معدلات المحتوى المائي للكالوسات لمختلف الأنماط عند الأصناف المزروعة بقيمة **LSD** (الجدول **18.4**) نجد:

- مجموعة أولى: تضم الكالوسات **CN**، **SN150-0** تبدي نسبة عالية من المحتوى المائي.
- مجموعة ثانية: تضم الكالوسات **SN150-0**، **SS150-200** ، **SS150-150** أي الخاصة بالكالوسات المكيفة تبدي نسبة اقل من المحتوى المائي.
- مجموعة ثالثة: تضم الكالوسات **CS150**، **CS200** غير المكيفة، والتي لم تنمو في الوسط الملحي.

5.3 معامل الحساسية للملوحة: Coefficient de sensibilité à la salinité

إن اختبار قيمة معامل الحساسية للملوحة، تبين أنها تتعلق بشكل دقيق بالتركيز الملحي، حيث كان التأثير معنوي جد عال (الجدول **19.4**)؛ و هذا ما تؤكده النتائج في الشكل **34.4**.



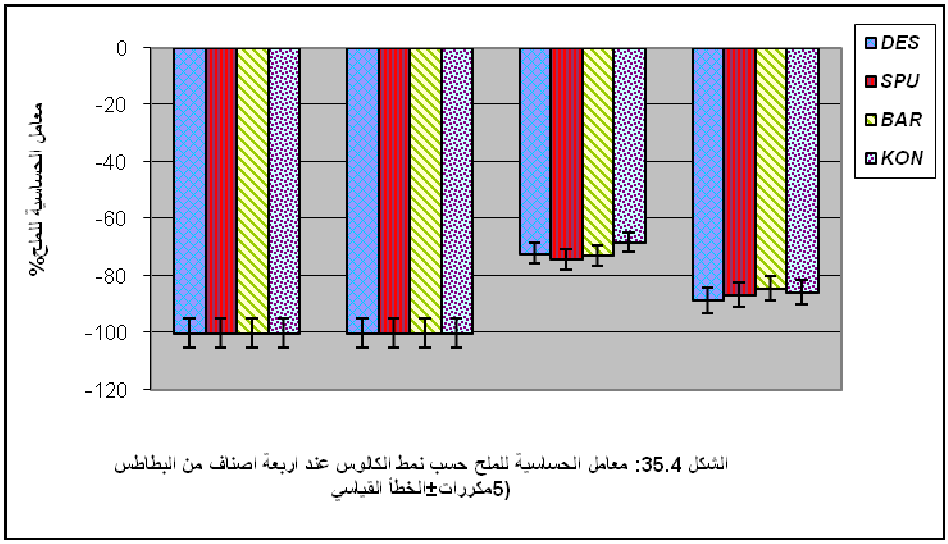
الشكل **34.4**: تغيرات معامل الحساسية للملوحة عند اربعة اصناف من البطاطس معبر عنها بالوزن الجاف للكالوسات
5 مكررات± الخطا القياسي

تكون الحساسية للملح في التركيز المنخفض **50** ملي مول/ل**NaCl** مختلفة من صنف لآخر، فمثلا الصنف ***Kondor*** أبدى اكبر حساسية للملح (**-48 %**) ثم الصنف ***Bartina*** (**-52.85 %**) ثم ***Désirée*** (**-16.66 %**) وأخير الصنف ***Spunta*** أبدى اقل حساسية للملح (**-10.34 %**).

أما في التركيز **100** ملي مول/ل**NaCl** ، فالحساسية للملح كانت كبيرة لكل الأصناف حيث فاقت **50 %**، أي أن هذا التركيز له تأثير كبير على نمو الكالوسات، في حين التركيز **150** ملي مول/ل يبدو أنه جد عال ومؤثر، وهذا من خلال قيم معامل الحساسية الذي قارب **100 %** لكل الأصناف.

بمقارنة الفرق بين معدلات معامل الحساسية لكل الأصناف في التراكيز المستعملة، نجد أن الحساسية للملح ترتفع بارتفاع التركيز الملحي في الوسط الزراعي (الجدول **20.4**).

فيما يخص نمط الكالوسات، كان لها تأثير معنوي جد عال على معامل الحساسية للملوحة (الجدول **21.4**) وهذا ما توضحه النتائج في الشكل **35.4**، حيث كانت الكالوسات المكيفة اقل حساسية للملوحة من الكالوسات غير المكيفة في نفس التركيز الملحي.



الشكل 35.4: معامل الحساسية للملح حسب نمط الكالوس عند اربعة اصناف من البطاطس
(5مكررات±الخطأ القياسي)

4.مناقشة نتائج تكييف الكالوسات للملوحة

4. مناقشة نتائج تكييف الكالوسات للملوحةDiscussion des d'adaptation des cals à la salinité resultants

لقد أصبح إنتاج كالوسات مقاومة للملوحة عند البطاطس يعتمد بكثرة على التكييف الفيزيولوجي أكثر منه على إحداث الطفرات **(Sabbah et Tal, 1990)**، كما أن الآليات المسؤولة عن التأقلم للملوحة في الظروف المخبرية وانتقاء الخلايا المقاومة تمت دراستها، إلا انه لا توجد أية معلومات بخصوص تأثير الملح **NaCl** على المادة الوراثية وإحداث التباين الجسمي **(Lutis *et al.*, 2001)**.

يتطلب الحصول على تباينات جسمية للبطاطس مقاومة للملوحة تجديد وتوالد النبات وتحاليل وراثية، وهو ما يتطلب سنوات كاملة، إلا أن التباينات الجسمية خلال مرحلة تشكيل الكالوس بالزراعة النسيجية تعتبر وسيلة مهمة **(Ochatt *et al.*, 1999)**، حيث تتحقق تغيرات وراثية حقيقية في الجينوم خلال مراحل الانتقاء وتعريض الكالوسات لتراكيز متدرجة من الملح **(Amzallag *et al.*, 1990; Gozal et Kochba, 1982)**.

استعملت منذ سنوات عديدة مضت تقنية الزراعة النسيجية لتطوير وتحسين مقاومة النباتات للملوحة، بانتقاء خلايا مقاومة لتراكيز عالية من الملح (تباينات جسمية)، انطلاقا من أنواع نباتية حساسة او معتدلة الحساسية للملوحة **(Sabbah et Tal, 1990)** مثل البطاطس **(Shankhdhar *et al.* 2000; Ochatt *et al.* 1999; Queiros *et al.*, 2007 ; Hasegawa *et al.*, 1990; Tal, 1996; Sabbah et Tal, 1990)**، الليمون ***Citrus sinensis* Osb (Gozal et Kochba, 1982; Koc *et al.*, 2008)**، قصب السكر ***Saccharum* sp (Christophe *et al.*, 2006)**، الذرة ***Zea mays* L. (Zacchini *et al.*, 1997)**، السورقو ***Sorghum bicolor* L. (Amzallag *et al.*, 1990)**، الأرز ***Oryza sativa* (Kavi, 1988)**، الأقحوان ***Chrysanthemum morifolium* ramat (Zahed *et al.*, 2007)**.

إن تحسن مقاومة الكالوسات للملوحة عند البطاطس يدل قطعا على وجود تغيرات في المادة الوراثية **(Amzallag *et al.*, 1990)**؛ والتي تنتج من جراء أقلمة الكالوسات في الوسط الملحي، إلا انه لا توجد معلومات كثيرة بشان مقاومتها للملوحة، وكذلك نتائج الإجهاد الملحي عليها رغم أنها نبات اقتصادي مهم **(Heur *et al.*, 1998.)**. كما ان واحدة فقط من الأعمال السابقة تم من خلالها تحويل الكالوسات إلى وسط التجديد، وإنتاج نباتات مقاومة للملوحة **(Ochatt *et al.* 1999)**.

تمكنا خلال الجزء الثاني من التجربة من انتقاء كالوسات بطاطس بإمكانها النمو في وسط زراعي مدعم بتركيز ملحي عال **200** ملي مول/ل من **NaCl**، باستعمال تقنية الانتقاء المخبري التدريجي: أي تعريض كالوسات البطاطس إلى تراكيز متزايدة من ملح **NaCl (0** الى **150** ملي مول/ل) برفع التركيز بـ **50** ملي مول/ل من **NaCl** في كل مرة، مرتين لكل تركيز خلال مدة **1** شهر لكل زراعة جزئية؛ حيث أن أعلى تركيز

يثبط النمو تماما هو **200** ملي مول/ل من **NaCl** أما أدنى معدل ليس له تأثير معنوي على نمو الكالوسات فهو **50** ملي مول/ل من **NaCl**.

نجحت الطريقة المتبعة في الانتقاء بزراعتين جزئيتين في كل تركيز ملحي، لكن أقصى تركيز تمكنا من الوصول إليه هو **200** ملي مول/ل من **NaCl**، وهذا راجع الى أن انتقاء الكالوسات المقاومة للملوحة يكون بتعريضها مطولا للوسط الملحي **(Gozal et Kochba, 1982)**، كما أن التراكيز الملحية المستعملة للانتقاء اختلفت من باحث إلى آخر، وهذا حسب الأصناف المستعملة ودرجة مقاومتها للملوحة، حيث كانت عند التركيز من **60** الى **450** ملي مول/ل من **NaCl** عند **Ochatt** ومساعدوه **1999**، **0** الى **200** ملي مول برفع التركيز بـ **50** ملي مول/ل من **NaCl** في كل مرة **(Queiros *et al.*, 2007)**، في التراكيز **50** حتى **350** ملى مول/ل من **NaCl (Sabbah et Tal, 1990)**.

إن تقييم نجاح انتقاء الكالوسات المقاومة للملوحة يمكن أن يكون من خلال معايير فيزيولوجية كالوزن الرطب والجاف، نسبة التشكل، النمو المتوسط النسبي **(Chaudhary *et al.*, 1996)**، بالإضافة إلى معامل الحساسية للملوحة **(Ben Ahmed *et al.*, 2008)**، وخصائص الكالوسات والمحتوى المائي للكالوسات **(Queiros *et al.*, 2007)**، وهي المعايير التي اكتفينا من خلالها في تقييم نتائج تكييف الكالوسات للملوحة، لأنها أهم المعايير المتبعة للانتقاء للملوحة.

لوحظ من خلال النتائج المتوصل إليها أن تشكيل الكالوس كان في كل التراكيز الملحية المستعملة خلال التجربة، مع أن الزيادة في تركيز الملح في الوسط الزراعي يصاحبها انخفاض في نسبة تشكيل الكالوس، وهذا عند الكالوسات غير المكيفة للملوحة من قبل؛ كما أن نسبة الانخفاض كانت مختلفة من صنف لآخر، إن هذه النتائج تتوافق مع ما توصل إليه كل من **(Queiros *et al.*, 2007)** عند البطاطس الأصناف **(*Bard* ،*Maris* ، *Désirée*)** وفي نفس التراكيز الملحية، ماعدا التركيز **200** ملي مول/ل من **NaCl** أين سجل نمو للكالوسات عكس ما وجدنا حيث ماتت معظم الكالوسات في هذا التركيز، وهذا ربما يعود إلى عدد مرات تحويل الكالوسات في الوسط الملحي لأنها مهمة في مقدار اكتساب مقاومة الملوحة **(Skiiin et Janick., 1976)**.

أما **(Sabbah et Tal, 1990)** فلاحظ نفس النتائج عند إنتاج كالوسات مقاومة للتركيز **350** ملى مول/ل من **NaCl** باستعمال الانتقاء التدريجي.

كانت نسبة الانخفاض في التركيز **50** ملى مول/ل**NaCl** طفيفة مقارنة بالشاهد للصنفين ***Bartina*** و***Kondor*** بينما كان الانخفاض عال نوعا ما مقارنة بالشاهد للصنفين ***Desiree*** و ***Spunta*** على التوالي، كما أبدت الكالوسات المزروعة في الوسط **50** ملى مول/ل**NaCl** تكاثر جيد ومشابهة مرفولوجيا للكالوسات الشاهدة،

أي غياب أي تأثير معنوي لهذا التركيز على تشكيل الكالوسات، أما في التركيز المحي **100** ملي مول/ل**NaCl** فكان التكاثر متوسط ونسبة الانخفاض في نسبة التشكل عالية لكل الأصناف، وهو يعتبر تركيز عال نوعا ما من الملح، أما كالوسات المنماة في التركيز **150** ملي مول/ل**NaCl** ، فجزء كبير لم ينمو وأصبحت بنية خلال **2** أسبوع، خاصة الأصناف ***Desiree*** ، و***Spunta*** ، و ***Kondor*** حيث كان الانخفاض في نسبة تشكيل الكالوس عال جدا عكس الصنف ***Bartina***، اين كان الانخفاض في نسبة تشكيل الكالوس منخفض نوعا ما، إن هذه النتائج تشبه كثيرا ما توصل إليه **(Queiros *et al*., 2007)** عند الأصناف ***Maris*، *Bard*، *Désirée*.**

بالنسبة للكالوسات غير المكيفة والمحولة مباشرة الى التركيز **150** او **200** ملي مول**NaCl** ، فقد تحولت الى اللون الأسود، وماتت عكس الكالوسات الموضوعة في التراكيز الصغرى، وهذا ما لاحظه**(Patnaik et Debata, 1997)**.

تعتبر خلايا البطاطس حساسة للملوحة إذا لم تستطع النمو في التركيز الأكبر من **90** ملي مول/ل **NaCl**، في حين الخلايا التي تنمو في الوسط المحتوي على تركيز اكبر من **90** ملي مول**NaCl** ، من الملح تعتبر مقاومة للملوحة **(Ochatt *et al*., 1999)**. وهذا ما يؤكد فعالية التقنية المستعملة كون تشكيل كالوسات في التركيز **100** و **150** ملي مول/ل**NaCl** يعتبر مهم رغم نسبة التشكل الضعيفة في هذين التركيزين؛ حيث أن أي خلايا تبقى حية وتنقسم تحت هذه الظروف تكون مرشحة لدراسات أخرى لانتقاء أنماط متحملة للملوحة **(Jain *et al*., 1991)**.

تم خلال مراحل الانتقاء تقييم نمط ولون الكالوسات حسب التركيز الملحي، وكذلك حسب نمط الكالوس خلال كل زراعة جزئية، وهي طريقة متبعة غالبا في انتقاء الكالوسات المقاومة للملوحة **(Stephen *et al*., 1984)**.

بينت النتائج أن الكالوسات المتحصل عليها خلال الانتقاء التدريجي عند البطاطس في وسط متزايد التركيز الملحي من **NaCl (0-50-100-150** ملي مول/ل) تغير لونها ومرفولوجيتها حسب التركيز الملحي.

مثل هذه النتائج تحصل عليـــها **(Patnaik et Debata, Queiros *et al*., 2007; Koc *et al*., 2008; 1997;**، حيث اكدو أن تأثير الملح يكون على الكالوس بظهور التنخر وتحول لونه إلى البني وتحولها من متماسكة إلى مفتتة في التركيز العالية من الملح **(Stephen *et al*., 1984)**.

كما لاحظنا في الكالوسات المنتقاة أنها أكثر تماسكا وشفافة واقل تنخرا مقارنة مع غيرها وهذا دليل على مقاومتها للملوحة في الوسط الزراعي مقارنة بالأنماط غير المكيفة **(Stephen *et al*., 1984)**، إن هذه الاستجابة تماثل ما وصل إلـــيه **(Zacchini *et al*., 1997 ; Patnaik et Debata, 1997 ; Miki, *et al*., 2001)** حيث

كانت الكالوسات المقاومة في الوسط الملحي اكثر تماسكا و بلون مصفر إلى اخضر في الضوء وشفافة في الظلام .

إن التعبير عن النمو عند الكالوسات بصفة عامة يكون من خلال الوزن الرطب والجاف لها، والذي يتأثر بالملوحة ونقص الماء **(Heur et Nadler, 1998)**، لذلك يمكن الاعتماد في انتقاء أصناف البطاطس المقاومة للملوحة على الوزن الرطب والجاف، كما انه من المعروف أن النبات يتضرر من الاجهاد الملحي الذي يقلل من الجهد المائي للوسط الزراعي بعد ارتفاع الجهد الاسموزي، وهذا ما يعرف بالجفاف الفيزيولوجي الذي يقلل من ضغط الانتفاخ وحصول النبات على المواد المعدنية، وانخفاض النمو(**Mansour et Salama, 2004; El-Swaify, 2000 ; Flowers et Flowers, 2005**). هذا الأخير أي انخفاض النمو الذي ينتج عند كل النباتات تحت التأثير التثبيطي للملح الذي يكون بسببين مهمين لكن ليس حصريا وهما: صعوبة الحصول على الماء والمغذيات وسمية الايونات المجمعة داخل الستوبلازم في الخلية، لكن مستوى احتمال الملوحة ومقدار الانخفاض يتغير حسب النوع النباتي (**Maas, 1986**)، الصنف داخل النوع **(Ghoulam *et al*., 2002)**، مرحلة النمو **(Vicente *et al*., 2004)**، مدة التعريض للملح، تركيز الملح، وتركيبه، والتفاعل مع الوسط **(Shannon, 1999)**. هذا ما أسفرت عنه النتائج في التجربة، حيث أبدت كالوسات الأصناف المزروعة نموًا اعتياديا في التركيز **50** ملي مول/ل**NaCl** ، وكانت نسبة الانخفاض متقاربة بين الأصناف المعاملة ما عدا الصنف ***Kondor*** أين كانت نسبة الانخفاض عالية مقارنة بالكالوسات المنماة في الوسط الخال من الملح (الشاهد). وهذا ما لاحظه **(Queiros *et al*., 2007)**، حيث لم يكن هناك أي تأثير معنوي لهذا التركيز على نمو الكالوسات، عكس التركيزين **100** و**150** ملي مول/ل**NaCl** أين سجل انخفاض كبير في نمو الكالوسات.

إذن تزايد تركيز الملح في وسط الزراعة أكثر من **100** ملي مول/ل من **NaCl** يقلل من نمو الكالوسات، وهي ظاهرة تحدث عند النباتات المجهدة بالملح؛ هذا النمو البطيء تم ملاحظته عند زراعة خلايا في وسط مدعم بالملح NaCl، مثلما توصل إليه **(Ochatt *et al*., 1999)** عند حصوله على خلايا بطاطس مقاومة يمكنها النمو في وسط يحتوي من **60** الى **450** ملي مول/ل من **NaCl**، لكن النمو الأحسن يكون في التركيز **120** و**150** ملي مول/ل **NaCl**. نفس الملاحظات توصل إليها كل من (**Shankhdhar *et al*. 2000; Queiros *et al*., 2007**).

من جهة أخرى وجدنا ان الكالوسات المكيفة **SS150-150** و **SS150-200** أكثر نموا من الكالوسات غير المكيفة للملوحة **CS150** و**CS200** في نفس التركيز، وهذا ما يوافق نتائج **(Sabbah et Tal, 1990)**، ويبدو هذا واضحا من قيم الوزن الرطب والجاف للكالوسات، لان أحسن نمو كان عند الكالوسات المكيفة للتركيز **150** ملى

مول/لNaCl والمنماة في وسط خال من الملح ثم الكالوسات **SS150-150** ثم الكالوسات **SS150-200** وهذا مقارنة بالشاهد، أي الكالوسات غير المكيفة والمنماة في الوسط الخال من الملح **CN** .

فيما سجلنا موت كل الكالوسات **CS150**، **CS200**. إن هذه النتائج المسجلة متماثلة عند كل الأصناف المزروعة وهي توافق ما تحصل عليه **(Gozal et Kochba, 1982)** عند الليمون حيث تموت الكالوسات المنماة في التركيز **200** ملي مول/ل من **NaC1**.

كما نلاحظ نمو الكالوسات المكيفة للتركيز **150** ملي مول/ل في التركيز العالي **200** ملي مول/ل من**NaC1** عند كل الأصناف لكن نمو ضعيف جدا، نفس النتائج توصل إليها **(Gozal et Kochba, 1982)** عند الليمون و**(Ruchira et Ganapathy, 1984)** عند ***Cicer arietinum*** ، حيث كان نمو الكالوسات المقاومة أي المكيفة أحسن من الكالوسات غير المكيفة في أي تركيز ملحي من **NaC1** مختبر. كذلك النتائج المحققة تشبه ما توصل إليه **(Christophe *et al*., 2006)**، حيث لم يلاحظوا أي انخفاض في النمو في الكالوسات المكيفة للملح في حين لوحظ انخفاض معنوي **32 %** في نمو الكالوسات غير المكيفة وهذا في وسط **68** ملي مول/ل **NaCl** عند قصب السكر. أما **(Kavi, 1988)** عند الأرز فلاحظ ان الكالوسات المكيفة تنمو في التراكيز المختبرة، عكس الكالوسات غير المكيفة التي تبدي انخفاض في النمو، مع ملاحظة أن رفع التركيز الملحي يقلل من نمو كل الكالوسات المكيفة.

إن النتائج المسجلة بالنسبة للوزن الجاف للكالوسات مماثلة جدا لما سجل في الوزن الرطب للكالوسات، وعند نفس الأصناف؛ حيث أن التراكيز العالية من الملح تؤخر النمو كثيرا، وهذا من خلال قيم الوزن الجاف المنخفضة في التركيز **100** و**150** ملي مول/ل من **NaC1**، فوجود الملح في الوسط بتركيز ضعيف **50** ملي مول/ل من **NaC1** يسبب انخفاض غير معنوي في تركيب المادة الجافة للكالوسات، أما التركيز الذي يسبب أكثر من **50 %** من الانخفاض في النمو فهو التركيز **100** ملي مول/ل من **NaC1** فما فوق، هذه النتائج توافق ما تحصل عليه **(Potluri et Devi Prasad, 1994)**، **(Ehsanpour et Fatahian., 2003)**.

كما أن الانخفاض في الوزن الجاف يدل على التأخر في النمو الناتج عن تأثير الملوحة على انقسام الخلايا واستطالتها **(Ekanayake et Dodds, 1993)**.

تعتبرالملوحة من اكبر العوامل التي تقلل من النمو وإنتاجية النبات حيث أن تأثير الملوحة على النبات والكالوسات تتعلق بثلاث استجابات **(Ehsanpour et Fatahian., 2003)**

– فقد الماء من الخلايا عبر انخفاض الجهد المائي.

– اختلال التوازن الغذائي بتداخل ايونات الملح مع المغذيات الأساسية.

– السمية الناتجة عن تجميع **Na** و**Cl** في السيتوبلازم.

إذن ما توصلنا إليه من إمكانية نمو خلايا بطاطس في تركيز أكثر من **100** ملي مول/ل**NaCl** ينبئ بمستقبل واعد لإنتاج سلالات مقاومة للملوحة **NaC1** أو أملاح صودية أخرى بتقنية الأقلمة في الظروف الخلوية **(Gozal *et* Kochba, 1982)**.

حتى نقدر التأثير الدقيق للملح على النشاط التركيبي للخلايا، قمنا بحساب النمو المتوسط النسبي للكالوسات في مختلف أوساط الزراعة، عند نهاية كل زراعة جزئية، بمقارنة النمو المتوسط النسبي لمختلف أنماط الكالوسات مع الشاهد، فمن خلال النتائج المتحصل عليها لوحظ انخفاض في النمو المتوسط النسبي للكالوسات بارتفاع ملوحة الوسط الزراعي، وهذا ما يتوافق مع نتائج **(Queiros *et al*., 2007)** وفي نفس التراكيز الملحية عند البطاطس، أو عند الذرة كما سجل من طرف **(Zacchini *et al*., 1997)**، حيث وجدو تأثيرا معنويا للملوحة على النمو المتوسط النسبي للكالوسات المكيفة؛ إن هذه الظاهرة تحدث عند كل النباتات المجهدة بالملح **(Benavides *et al*., 2000)**. فالملوحة تخفض النمو عند الكالوسات بسبب التأثير الأيوني والاسموزي الناتج عن ارتفاع تركيز الأملاح في الوسط، وانخفاض الجهد المائي؛ كما أن الايونات المرتبطة بالملوحة العالية تسبب تلف في تفاعلات الايض وتخفض الانقسام الخلوي وتركيب البروتينات، وبالتالي النمو **(Shannon *et* Grieve, 1999)**.

لوحظ أن النمو المتوسط النسبي للكالوسات في الأوساط الملحية كان اقل منه للكالوسات النامية في الوسط الشاهد، حيث وجد **(Queiros *et al*., 2007)** انخفاض بـ **28** و**41 %** في التركيزين **50** و**100** ملي مول/ل، مقابل **19.65** و**61 %** لما وجدنا، وهي نتائج متقاربة، كما أن في التركيز **150** ملي مول/ل**NaCl** يكون الانخفاض عال جدا، حيث كان **94.35 %** مقابل **69 %** عند **(Queiros *et al*., 2007)**، مما يدل على أن النمو المتوسط النسبي للكالوسات يتأثر بملوحة الوسط الزراعي في التركيز الذي يفـــوق **100** مـلي مول/ل**NaCl** وهذا على المستوى الغذائي.

يسمح التعريض التدريجي لخلايا النبات لتراكيز متزايدة من الملح بحدوث آليات التكيف، وهذا ما يساعد على تكيف الكالوسات لتراكيز عالية من الملح في وسط الزراعة **(Queiros *et al*., 2007)**.

كما سجلنا تماثل النمو المتوسط النسبي للكالوسات المكيفة وغير المكيفة في نفس الوسط الملحي، وهي نتائج تتوافق مع ما توصل إليه **(Christophe *et al*., 2006 ; Amzallag *et al*., 1990)**. والتي تدل على القدرة المكتسبة لنمو الكالوسات المنتقاة أفضل من الكالوسات غير المنقاة في الوسط الملحي.

حسب **(Patricia *et al*., 2001)** فان الانخفاض الصغير في النمو المتوسط النسبي للخلايا المكيفة ناتج عن المحتوى المائي العالي؛ أما الانخفاض الكبير في النمو المتوسط النسبي يعود إلى المركبات المرتبطة بوجود

NaC1: المركبات الاسموزية الناتجة عن ارتفاع تركيز بعض الجزيئات في وسط الزراعة؛ والتأثير السمي الناتج عن تجميع وارتفاع تركيز Na^+ وCl^- .

إن الهدف من تحديد المحتوى المائي للكالوسات هو دراسة تأثير الملح في الوسط الزراعي على الحالة المائية للكالوسات، حيث وجدنا تأثيرا كبيرا للملح على المحتوى المائي للكالوسات، خاصة في التراكيز العالية **100** و**150** ملي مول/ل**NaCl** أين كان الانخفاض كبير مقارنة بالشاهد، في حين كان التركيز **50** ملي مول/ل**NaCl** بدون تأثير على الحالة المائية للكالوسات.

إن تعديل الحالة المائية للكالوسات بالانخفاض أو الارتفاع تمثل استجابة للملوحة في الوسط الزراعي، وهذا ما لوحظ في الوسط عالي التركيز، حيث أن فقد الماء من الخلايا أي انخفاض المحتوى المائي لها يمثل استجابة للملوحة عند انخفاض الضغط الاسموزي للوسط الزراعي بارتفاع تركيز الملح **(Queiros *et al*., 2007)**.

نفس الملاحظات توصل إليها **(Queiros *et al*., 2007)**، حيث وجد ان المحتوى المائي يقل عند نمو الكالوسات في **100** و **150** ملي مول/ل من **NaCl**، وهذا راجع إلى الضغط الاسموزي العالي لوسط الزراعة مع ارتفاع تركيز الملح، أي أن مقاومة الملوحة على المستوى الخلوي تتعلق بالقدرة على مقاومة فقد الماء **(Hamrouni *et al*., 2008)**. كما ان انخفاض المحتوى المائي في التركيز العالية راجع إلى انخفاض امتصاص الماء من طرف الخلايا النامية في الملوحة مقارنة بالكالوسات النامية في الوسط الخال من الملح، والتي تستمر في امتصاص الماء طيلة فترة الزراعة **(Tao et Van, 2000)**.

كما وجدنا أن المحتوى المائي للكالوسات المكيفة أحسن منه للكالوسات غير المكيفة، سواء في الوسط الملحي أو في الوسط الخال منه، مما يدل على اكتساب مثل هذا النمط من الكالوسات أي المكيفة القدرة على مقاومة الملوحة من خلال القدرة على رفع المحتوى المائي، وهي نفس النتائج التي توصل إليها **(Tao et Van, 2000)** عند فول الصويا؛ حيث أبدت السلالات المقاومة محتوى مائي أعلى من السلالات الحساسة، وفي نفس التراكيز الملحية.

حسب **(Patricia *et al*., 2001)** عند البطاطس فان النمو الكبير للسلالات المكيفة يرتبط بمحتوى كبير من الماء في الخلايا، هذا الماء المحجوز في ظروف الإجهاد يرتبط بظاهرتين: الكمية العالية من الايونات المجمعة، التركيب والتجميع الكبير للمركبات الملائمة اسموزيا.

إن خفض حجم الخلايا في الظروف الملحية، يترجم بخفض المحتوى المائي في الكالوسات الحساسة، وهذا ما أكده مجموعة من الباحثين، حيث أن الخلايا المقاومة للملوحة تنمو مع زيادة في عدد الخلايا وحجمها **(Tao et Van, 2000)**. وهذا ما يؤكد نمو الكالوسات المكيفة بطريقة أفضل.

يتعلق معامل الحساسية للملوحة بمدى قدرة الخلايا على تجميع الايونات خلال الإجهاد الملحي، كما انه يعني الفرق بين الكالوسات المعاملة والشاهدة **(Ben Ahmed *et al*., 2008)** .

بينت النتائج أن الحساسية للملح تكون منخفضة للتركيز المنخفض **50** ملي مول/ل من **NaCl** لكن ، أما في التركيز **100** ملي مول/ل**NaCl** فالحساسية للملح كانت كبيرة لكل الأصناف، حيث فاقت **50 %**. في حين التركيز **150** ملي مول/ل يبدو من خلال قيم معامل الحساسية للملوحة الذي قارب **100 %** لكل الأصناف انه ضار على الكالوسات.

فيما يخص الكالوسات المكيفة فقد كانت اقل حساسية للملوحة من الكالوسات غير المكيفة عند كل الأصناف في التراكيز المختبرة.

تبين النتائج انه حتى في التركيز **50** ملي مول/ل**NaCl** كانت الحساسية موجودة وقاربت **50 %** ، وهذا راجع إلى مرحلة النمو فالكالوسات التي تكون على تماس مباشر مع الملح في الوسط تكون أكثر حساسية.

إن الحصول على كالوسات مكيفة للتركيز **200** ملي مول/ل**NaCl** من الملح في الوسط الزراعي فقط، رغم توصل باحثين إلى تراكيز أعلى، يمكن أن يعود إلى بعض العوامل مثل عدد الزراعات الجزئية، لان عدد مرات النقل المخبري يتحكم في عدد الطفرات الحاصلة **(Skiiin et Janick., 1976)**، والتي يمكن أن تظهر في الفترات الأولى في الزراعة المخبرية، و يثبت تكرارها انطلاقا من التحويل الثالث أو الرابع **(Sibi *et al.*, 1984)**.

نتائج الدراسة تبين أن الأصناف المستعملة معتدلة الحساسية للملوحة كون كل المعايير المقاسة لم تسجل اختلاف معنوي مع الشاهد في التركيز **50** ملي مول/ل **NaCl (William, 1999)**.

أما التركيز الذي يسبب **50 %** من الانخفاض في النمو هو **100** ملي مول/ل **NaCl**.

إن التأثير التثبيطي للملح يظهر من خلال انخفاض معدل تشكيل الكالوسات، معدل النمو، المحتوى المائي، ومعامل الحساسية للملوحة.

الخاتمة

الخاتمة

تعتبر تقنية الزراعة النسيجية جد فعالة لانتقاء سلالات مقاومة للملوحة عند عدة أنواع نباتية، أهم هذه النجاحات كانت بالتكييف الفيزيولوجي للملوحة بغض النظر عن احداث الطفرات **(Sabbah et Tal, 1990)**.

قمنا في إطار البحث، بتحفيز التباين الجسمي عن طريق الزراعة المولّدة للكالوس لأجزاء نباتية (اوراق وسلميات) لأربعة أصناف من البطاطس (***Kondor ،Bartina Spunta ،Désirée***)، في ثلاث اوساط زراعية؛ ثم قمنا باختيار الشروط المناسبة للتشكل الأمثل للكالوس.

أوضحت النتائج أنّ تشكّل الكالوس يحفز عند مختلف الأصناف، وفي أوساط النمّو المختبرة انطلاقا من الأوراق والسلميات؛ لكن احسن النتائج من حيث سرعة التشكل ونسبته ونمو الكالوسات وخصائصها كانت عند الكالوسات الناتجة عن السلميات في الوسط الزراعي الثاني **(5 مغ / ل NAA+ 1 مغ/ ل BAP +1 مغ / ل GA3)** وللصنف ***Bartina*** .

تتبع العملية بتطبيق عامل انتقاء ممثل في ملح الطعام **NaCl** بتراكيز **50، 100، 150** ملي مول/ل قصد تكيف الكالوسات للملوحة.

أثناء مراحل التجريب، تمّ تقييم قدرة الأصناف المختبرة في الوسط الزراعي المختار وللفسيلة المختارة على تشكيل الكالوسات ونموها وحساسيتها للملوحة.

أظهرت النتائج أن كل المؤشرات المدروسة تنخفض بارتفاع تركيز الملح في الوسط الزراعي للكالوسات غير المكيفة، كما أن الكالوسات المكيفة للتركيز **150** ملي مول/ل **NaCl** تبدي مقاومة أفضل من الكالوسات غير المكيفة وهذا بالنسبة لكل المؤشرات المدروسة.

وكخاتمة، تؤكد النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة أن التحسين الوراثي للبطاطس بالانتقاء المخبري عن طريق استخدام التباين الجسمي المحفز عبر الزراعة المولدة للكالوس، يسمح بعزل سلالات تبدي مقاومة للملوحة في الوسط الزراعي؛ كما تسمح التقنية بدراسة مؤشرات مقاومة الملوحة المختلفة فيزيولوجية أو بيوكيميائية.

إنّ التحكّم في مرحلتي تشكّل الكالوس، وتكيفها للملح من خلال ضبط المعايير والظروف المثالية، يوّسع إمكانية إنشاء التباين الجسمي المرتكز على الزراعة المخبرية للأنسجة النباتية، ومع اقترانه بمخطط انتقاء أكثر فعالية يصبح بالإمكان انتاج أصناف جديدة من البطاطس متحملّة لظروف الملوحة وذات إنتاجية عالية. كما ان إنتاج سلالات خلوية مقاومة للملوحة عند البطاطس ذا فائدة اقتصادية، خاصة في المناطق الجافة وشبه الجافة في العالم، كذلك فانه يعبد الطريق لتطوير برامج جديدة غير تقليدية لتطوير البطاطس (**Ochatt *et al.*, 1999**).

المراجع

المراجـــــع

1. **Abeyaratne W.M., De Silva U.N., Kumari H.M.P.S., Abeysiriwardena D.S.D., 2004**. Callus induction, plantlet regeneration and occurrence of somaclonal variation in somatic tissues of some indica rice varieties. *Annals of Sri Lanka department of agriculture* 6, 1-11.

2. **Ahloowalia B.S., 1982**. Plant régéneration from callus culture In potato. *Euphytica* 31, 755-759.

3. **Akbar M.A and Hakoomat A., 2004**. a. Effect of culture medium on shoot initiation from calluses of different origin in potato (solanum tuberosum L.). *Biotechnology* 3 , 194-199.

4. **Akbar M.A., Hakoomat A., 2004**. B. Effect of Culture Medium on Direct Organogenesis from Different Explants of Various Potato Genotypes. *Biotechnology* 3, 187-193.

5. **Aminul H., Manosh K.B., Shamiul A., 2007**. Variation of Callus Induction Through Anther Culture in Water Chestnut (Trapasp.) *Turk J Biol* 31, 41-45.

6. **Amira B., Oumama N-E., Lilia L., Darasinh S., Catherine Ch., Ali M., Noureddine D., and Radhia G-B., 2007**. Interspecific potato somatic hybrids between *Solanum berthaultii* and *Solanum tuberosum* L. showed recombinant plastome and improved tolerance to salinity. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 91,179–189.

7. **Amzallag G. N., Lerner H.R., Poljakoff-mayber A., 1990**. Induction of increased salt tolerance in *sorghum bicolor* by NaCl pretreatment. *Journal of experimental botany*, Vol. 41, 222, PP. 29-34.

8. **André L. Coelho Da Silva., Cecília S. Caruso., Renato D. Azevedo Moreira., Ana C. Góes horta., 2003.** In vitro induction of callus from cotyledon and hypocotyls explants of *glycine wighti* (wight & arn.) *Verdc. Cienc. Agrotec., lavras* 27,6, p.1277-1284.

9. **Angela K., 1995**. Somaclonal variation as a tool for crop improvement. *Euphytica* 85, 295-302.

10. **Anita R., Bhojwani S.S., 1976**. Establishment of tissue cultures of cotton. *Plant science letters* 7, 163-169.

11. **Anonyme., 1993**. Biotechnologie et amélioration génétique des arbres forestiers .Ed. Icraf. Le moniteure de la biotechnologie et du devlopelent 15. Pp, 4-9.

12. **Anura H., 1988**. Tissue culture and meristem culture in sweet potato (*Ipoaea batatas* L.) *Lam*, 1-7.

13. **Asma R., Beenish A., Nadeem A.A., Mussarat B., Azra Q., 2001**. Effect of growth regulators on *in vitro* multiplication of potato. *International journal of agricultur & Biology*. 3,No. 2.181-182.

14. **Ben Ahmed H., Arafet M., Ezzeddine Z., 2008**. Tolerance a la salinite d'une poaceae a cycle court: La setaire (*setaria verticillata* L.).C. R. Biologies 331, 164–170.

15. **Benavides M.P., Marconi P.L., Gallego S.M., Comba M.E., Tomaro M.L., 2000.** Relationship between antioxidant defense systems and salt tolerance in *solanum tuberosum. Aust. J. Plant physiol*. 27, 273-278.

16. **Bouharmont J., 1991**. Utilisation de la variation somaclonale et de la sélection *in vitro* a l'amelioration du riz: L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides, 1348. Belgique, Pp. L-8.

17. **Bruria H., Arie N., 1998**. Physiological response of potato plants to soil salinity and water deficit. Plant Science. 137, 43–51.

18. **Bureau de la biosécurité végétale, Document de biologie bio 1996**-09, la biologie du *Solanum tuberosum L.*

19. **Cardenas-Avila M.L., Verde-star J, Maiti RK., Foroughbakhch-P R.H., Gamez-Gonzale., martinez-lozano S., Nuñez-gonzalez Ma., Garcia Diaz G., Hernandez-Piñero J.L., Morales-Vallarta M.R., 2006**. Variability in accumulation of free proline on in vitro calli of four bean (*phaseolus vulgaris* L.) Varieties exposed to salinity and induced moisture stress. *International Journal of Experimental Botany* 75, 103-108.

20. **Carelli B.P., Echeverrigaray S., 2002**. An improved system for the *in vitro* propagation of rose cultivars. *Scientia Horticulturae* 92, 69–74.

21. **Catherine D., 1985**. Influence de génotype sur l'évolution in vitro de divers explants chez le *Solanum tuberosum*.L. Stage de recherche effectue au laboratoire d'androgenese et biotechnologie. U Picardie. Paris VI.

22. **Charlotte H., Hanisch T.C and Sree R.k., 1987**. Callus growth, Tumor development and polyploidization in the tetraploid potato cultivar *bintje*, *Plant science* 49, 209-216.

23. **Chaudhary M.T., Wainwright S.J., Merrett M.J., 1996**. Comparative NaCl tolerance of Lucerne plants regenerated from salt-selected suspension cultures. *Plant Science* 114, 221.

24. **Chen *et al*., 2008**. Salt tolerance conferred by overexpression of arabidopsis vacuolar Na^+/H^+ antiporter gene atnhx in common buckwheat (*fagopyrum esculentum*). *Trangenic research* 17, 121.

25. **Chen Ying Dong., 1987**. Effect of growth regulators on Sweet Potato, Report. ARC Training. 1-5.

26. **Choi H.W., Lemaux P.G & Cho M.J., 2000**. Increased chromosomal variation in transgenic versus no transgenic barley (Hordeum *vulgare* l.). *Plants Crop science*. 40, 524-533.

27. **Christophe B.G., Tomader E., Jamal A., Mohamed I,M., Nadia S.S., 2006**. Selection of callus cultures of sugarcane (*saccharum* sp.) Tolerant to NaCl and their response to salt stress. *Plant cell tiss organ cult* 87, 9–16.

28. **Croughan T.P., Stavarek S.J., Rains D.W., 1981**. In vitro development of salt resistant plants. *Envirenmental and experimental botany*. Vol 21, No. 3/4, Pp. 317- 324.

29. **Demarly Y, Sibi M**, **1989**. Amélioration des plantes et biotechnologies. Ed. John Libbey Eurotext, Paris, 152 p.

30. **Donald W-B.M.B., 2007**. Dictionary of plant lore, Second edition. Ed. Academic press is an imprint of Elsevier. Pp 1250.

31. **Dubois J., 1989**. Biotechnologie et amélioration des plantes. Plantes vivrières tropicales. Ed. Aupelf-uree john libbey eurotext. Paris. Pp. 19-25.

32. Dunwell et sunderland1973 in Rousselle P., et al, 1996.

33. **Ehsanpour A.A., Fatahian N., 2003**. Effects of salt and proline on *Medicago sativa* callus. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 73, 53–56.

34. **Ehsanpour A. A., Madani S., Hoseini M., 2007**. Detection of somaclonal variation in Potato callus induced by Uv-c radiation Using RAPD-PCR, Gen. Appl. *Plant physiology* 33 (1-2), 3-11.

35. **Ekanayake I.J., Dodds J.H., 1993**. In-vitro testing for the effects of salt stress on growth and survival of sweet potato. *Scientia horticulturae* 55, 239-248.

36. **El hamdouni E. M., Lamarti A., Badoc A., 1999**. la régénération in vitro du fraisier (fragaria x ananassa duch.), ii - les possibilites offertes par la culture in vitro, bull. Soc. *Pharm. Bordeaux* 138, 49-74.

37. **Elizamar C.D-S., Rejane J.M-C., Francisco P.D-A., Natoniel F.D- M., Andre D.D-A., 2008.** Physiological responses to Salt stress. *Environmental and experimental botany* 63, 147–157.

38. **El-Swaify S.A., 2000**, Soil and Water Salinity. From: Plant Nutrient Management in Hawaii's Soils, Approaches for Tropical and Subtropical Agriculture. J. A. Silva and R. Uchida, eds. College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii at Manoa.

39. **Epstein E., 1976**. Genetic potentials for solving problems of soil mineral stress: Adaptation of crops to salinity. In: Plant adaptation to mineral stress in problem soils. Wright.

40. **Epstein E., Rains D.W., 1987**. Advances in salt tolerance.In: Gabelman HW & loughman BC Eds. genetic aspects of plant mineral nutrition. Martinus nijhoff, dordrecht (pp. 113–125).

41. **Eric D., 2003.** OGM Végétaux., Commission de l'éthique de la science et de la technologie pour une gestion éthique des ogm commission de l'éthique de la science et de la technologie, *document complementaire*, Pp1-40.

42. **Ewen M., Dan M., Carlo P., Barbara M., Doyle-Prestwich and Conor M., 2006**. Potato in the age of biotechnology. *Plant science.* Vol 11 no 5.

43. **FAO STAT., 2008**. Food and Agricultural Organization of the United Nations Statistical database, (http://faostat.fao.org).

44. **Farhatullah R.M., and Raziuddin, 2002**. In vitro effect of salt on the vigor of potato (*s tuberosm* L.), *Plantlets Biotechnology* Vol 1, No 2-4, 73-77.

45. **Feytaud J., 1949**. La pomme de terre. Ed. Presses universitaires de france, Paris. 126 p.

46. **Filippone E., Leone M. Penza R., 1992.** Recent advances in cell and tissue culture, In biotechnology enhancing research on tropical crops in africa, Collection I.T.T.A. Ed. I.C.T.A., Ibadam, 64p.

47. **Flowers T. J. and Flowers S. A., 2005.** Why does salinity pose such a difficult problem for plant breeders? *Agricultural Water Management* 78**,** 15–24.

48. **Flowers T. J., 2004**. Improving crop salt tolerance. *Journal of exp bot* 55, 396, Pp. 307-319.

49. **Flowers T.J., and Yeo A.R., 1995**. Breeding for salinity resistance in crop plants: where next? *Aust.j. Plant physiol* 22, 875-884.

50. **Frédéric N., Yingshan D., Bao L., 2007**. Somaclonal variation at the nucleotide sequence level in rice (*Oryza sativa* L.) As revealed by RAPD and ISSR markers, And by pairwise sequence analysis, *J Appl Genet* 48(4), Pp. 329–336.

51. **Frusciante L.I., Amalia B.D., Carputo t., and Ranalli P., 1999**. Breeding and physiological aspects of potato cultivation in the Mediterranean region. *Potato Research* 42. 265- 277.

52. **Gagik S-S., 1990**. Selection of media for tissue and cell culture. From' methods in molecular biology, vol. 6, p/ml., Edited by Jeffrey w pollard and john m walker, by the humana press.

53. **Ghoulam C., Foursy A., And fares K., 2002**. Effect of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. *Environ. Exp. Bot* 47, 39-50.

54. **Gozal B.H., and Kochba J., 1982**. Growth characteristics and stability of tolerance of citrus callus cells subjected to nac1 stress. *Plant science letters* 27, 87-94.

55. **Hakan T., 2004**. Callus induction and growth in transgenic potato genotypes. *Journal of biotechnology* vol. 3 (8), Pp. 375-378.

56. **Hakan T., 2005**. Salinity response of transgenic potato genotypes expressing the oxalate oxidase gene. *Turk j agric for* 29,187-195.

57. **Hamrouni L., Ben Abdallah F., Abdelly C., Ghorbel A., 2008**. La culture in vitro: Un moyen rapide et efficace pour selectionner des genotypes de vigne tolerant la salinite. C.R. Biologies. Biologie et athologie vegetales. Plant *biology and pathology* 331, 152-163.

58. **Heribert H., 2003**. Plant responses to abiotic stress, kazuo shinozaki .Eds. Topics in current genetics. Verlag Berlin Heidelberg. Pp 2560.

59. **Heur B., et Nadler A., 1998**. Physiological response of potato plants to soil salinity and water deficit. *Plant Sci* 137, 43-51.

60. **Houri K.F., Faramarz F., from. Jeffrey W. P., John M .W, 1990**. Methods in molecular Biology. *Plant Cell and Tissue Culture*. Vol 6. Ed. Humana Press.

61. **Jacqueline T.B., from. Jeffrey W. P., John M .W, 1990**. Methods in molecular Biology. *Plant Cell and Tissue Culture*. Vol 6. Ed. Humana Press.

62. **Jain R. K., Sunita J., and Chowdhury J. B., 1991**. *In Vitro* Selection for Salt Tolerance in *Brassica juncea* L. Using Cotyledon Explants, Callus and Cell Suspension Cultures. *Annals of Botany.* 67, 517-519.

63. **Jan E., Backhausen M.K., Michael K., Sabrina J., Renate S., 2005**. Salt tolerance of potato (*solanum tuberosum* L. Var. Desiree) plants depends on light intensity and air humidity. *Plant science* 169, 229–237.

64. **Janice M. Z., Harmony B.W., Kimberlee K.K., Camille M.S., 2004**. Callus induction and plant regeneration from mature embryos of a diverse set of wheat genotypes. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 76, 277–281.

65. **Jayasree T.U. Pavan, M.Ramesh A.V. Rao. K.J.M. Reddy and A. Sadanandam., 2001**. Somatic embryogenesis from leaf cultures of potato. *Plant cell tiss.Org .Cult*. 64, 13-17.

66. **Jian-K.Z., 2001**. Plant salt tolerance. Trends in plant science Vol.6 no.2.

67. **Kabir A.H., Istiak M., Razvy M.A., Bulbul Ahmed M., and Alam M.F.,** .2008. Indirect Organogenesis and Somaclonal Variation in Four Rice Cultivars of Bangladesh. *Journal of Applied Sciences Research*, 4(4): 451-458.

68. **Kathryn K.K., Thomas K.H., 1986**. Establishment and Characterization of Long-Term Embryogenic Maize callus and cell suspension cultures. *Plant Science,* 45. 111-117.

69. **Kavi Kishor P.B., 1988**. Effect of salt stress on callus cultures of *Oryza sativa* l., *Journal of exp botany*, Vol. 39, no. 199, Pp. 235-240.

70. **Khadiga G.A., Rasheid S.M and Mutasim M.K., 2009**. Effect of plant growth regulators on callus induction and plant regeneration in tuber segment culture of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivar Diamant. *African Journal of Biotechnology* Vol. 8 (11), PP. 2529-2534.

71. **Koc N.K., Bas B., Koc M., and Kusek M., 2008**. Investigation of in vitro selection for salt tolerant lines in sour organe (*Citrus aurantium L.). Biotechnology. PP1-5.*

72. **Kole P.C., 2006**. Variability, Correlation and regression analysis in third somaclonal generation of barley, *Barley genetics newsletter* 36, 44-47.

73. **Larkin P.J & Scowcroft W.R., 1981**. Somaclonal variation –a novel source of variability from cell culture for plant improvement. *Theor. Appl. Genet*., 60, 197-214.

74. **Lepoivre P. Semal J., 1989**. Culture des tissues et phytopathologie. Traite de pathologie vegetale. Ed. Presse agronomique de gembloux. Belgique, 621p.

75. **Levitt J. 1977.** Salt and ion stress. In: Responses of plant to environmental stresses. Kuzlowsky t.t. Ed. *Acad. Press, New york*. PP.506-524.

76. **Lutts S., Kinet J., and Bouharmont J., 2001**. Somaclonal variation in rice after two successve cycles of mature embryo drived callus culture in the presence of NaCl. *Biologia plantrarum* 44(4). 489-495.

77. **Maas E.V., 1986**. Crop tolerance to saline sprinkling water. *Plant soil*. 89.273–284.

78. **Maas E.V., Hoffman G.J., 1977**. Crop salt tolerance-current assessment. *J Irrig. Drainage* 103, 1 1 5-134.

79. **Mansour M.M.F., Salama K.H.A., 2004**. Cellular basis of salinity tolerance in plants. *Environmental and Experimental Botany* 52, 113–122.

80. **Margara M, 1983.** Base de multiplication végétative: Les méristèmes et l'organogénèse. Ed, INRA. Versailles, 262 p.

81. **Masayoshi T., Eiichi O., Takayasu H., and Haruko M., 1996**. Compârison of somaclonal variation between tworegeneration methods in rice (orysa sativa l.). *Plant tissue culture letters,* 13(1), 61-64.

82. **Mestre J., Petiard V., 1985**. La nature de la variabilite des cellules végétales en culture: Les divers causes possibles de son expression. Bull. *Ssoc. Bot. Fr. Actua. Bot.* 132(3), Pp, 67-78.

83. **Meulmans M., 1984**. Extension de la varibilite chez les plantes cultivées par exploitation de la variabilité somaclonale. Bull. Rech. Agronomique de gembleux. 19(1/22), Pp. 61-80.

84. **Miki, Y., Hashiba, M., Hisajima, S., 2001**. Establishment of salt stress tolerant rice plants through step up NaCl treatment *in vitro- Biol. Plant* 44, 391-395.

85. **Ministère de l'agriculture**. 2008. Série statistique B.

86. **Munns R., Hare R.A., James R.A., Rebetzke G.J., 1999**. Genetic variation for improving the salt tolerance of *Durum wheat*. *Aust J Agric Res* 51, 69–74.

87. **Munns R. 2002.** Comparative physiology of salt and Water stress. *Plant Cell and Environment.* 25, 239-250.

88. **Murashige T., Skoog f., 1962**. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Plant physiol* 15, 473-479.

89. **Murphy A.M., De Jong H., Proudfout K.G., 1999**. A multiple disease resistant *potato* clone developed with clacical breeding methodology. Can. J. *Plant Pathol* 21, 207-212.

90. **Nabors M.W., Danmls A., Nadolnv L., and Brown C., 1975**. Sodium chloride tolerant lines of *tobacco* cells. *Plant sci*. *Lett* 4, 155-159.

91. **Nabors M.W., Gibbs S.E., Bernstein C.S., and Meis M.E., 1980**. NaCl tolerant tobacco plants from cultured cells. 2. *Plant physiol*. 97, 13-18.

92. **Natalija B., Ramune ., Liuda z., 2004**. Embryogenesis, callogenesis and plant regeneration from anther cultures of spring rape (*Brassica napus* L.). *Acta Universitatis Latviensis, Biology, Vol. 676, Pp. 153–158.*

93. **Nguyen T.L., Dang M.T., Hiromi K., Bui C.B., 2002**. In vitro selection for salt tolerance in rice. Ibaraki, 305-8686.

94. **Noseran R., 1985**. L'expression de la variabilité dans les cultures d'organe. Bull. Soc. Bot. Fr., 132 *actuel. Bot* (3/4), Pp, 11-21.

95. **Ochatt S.J., Marconi P.L., Radice S., Arnozis P.A & Caso O.H., 1999**. In vitro recurrent selection of potato: production and characterization of salt tolerant cell lines and plants. Plant cell, *tissue and organ culture* 55, 1–8.

96. **OECD: Organization for Economic Co-operation and Development. Environmental Health and Safety Publications. 1997**. Consensus Document on the Biology of *Solanum tuberosum* subsp. *Tuberosum* (Potato). *Head of Publications Service, OECD, 2 rue André-Pascal, 75775 Paris Cedex 16, France.*

97. **Oluf L.G., Shyluk J., Kartha K.K., 1975**. Factors affecting the isolation and callus formation in Protoplasts from the shoot apices of *Pisum sativum* L. *Plant Science Letters,* 4. 285-292.

98. **Parrot W.A., Bailey M.A., Durhan R. E., Marthew A.V., 1992**. Tissue culture and regeneration in legumes, II. Biotechnology and crop improvement in Asia, Ed. I.C.R.I.A.T., India, Pp115-151.

99. **Patnaik J., Debata B.K., 1997**. In vitro selection of NaCl tolerant callus lines of *Cymbopogon martinii* (roxb.) WATS, *Plant science* 124, 203-210.

100. **Piri K.C., Anceau S., El Jaafari P., Lepoivre J., Semal., 1994**. Sélection in vitro de plantes androgenetiques de blé tendre résistantes à la salinité. Pp. 3 1 1-320, Paris.

101. **Potluri Sasikala D.P and Devi Prasad P.V., 1994.** Salinity effects on in vitro performance of some cultivars of potato. R. Bras. *Fisiol. Veg*., 6(1), 1-6.

102. **Punia M.S., and Bohorova N.E., 1992**. Callus development and plant regeneration from different explants of six wild species of sunflower *(Helianthus* L.), *Plant Science,* 87. 79-83.

103. **Queiros F., Fidalgo F., Santos I., and Salema R., 2007**. In vitro selection of salt tolerant cell lines in Solanum tuberosum L. *Biologia plantarum* 51 (4), 728-734.

104. **Quezel P., Santa S., Schotter O., 1962-1963**. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, ED, DU CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE, Paris.

105. **Raffaela T., Mario T., Ricardo J., Ordas, Giorgio A., and Eugenio B., 1988**. Genetic transformation of potato *(Solanum tuberosum):* An efficient method to obtain transgenic plants. *Plant science,* 59,175-181 175.

106. **Rajnchapel M., 1987**. la pomme de terre fait peau neuve. In bio futur, Pp : 25-33.

107. **Ranaweera K.K.D.S., 1998**. The effect of genotypes and media supplements on callus induction and plant regeneration in rice (Oryza sativa l.). *Sabaragamuwa university journal*, Vol. 1, No. 1, PP. 87-92.

108. **Richard E.V., 2005**. Genetic Improvement of Solanaceous Crops Volume I: Potato. Editors. Maharaj K. Razdan. Autar K. Mattoo. 451p.

109. **Robert D., Dumas C., Bajon C., 1994**. BIologie végétal caractéristique et stratégies évolutives des olantes, T iii: La production, Ed. Doin, Paris, 389p.

110. **Rosario F.C., Alan C.C., 1999**. Callus Initiation, Maintenance, and Shoot Induction in Potato. In Plant cell culture protocols. Methods in molecular biology, Volume 111.Ed. Robert D. H.

111. **Rousselle P., Robert Y. et Crosnier J.C., 1996**. La pomme de terre: Production, Amelioration, Ennemis et maladies, Utilisation. Ed. Inra, Itpt, Itcf, Paris. 607 p.

112. **Rowland G.G., Mchughen A., Mconie C., 1989.** Field performance at saline-affected sites of a somaclonal variant of mcgregor flax selected for salt tolerance in vitro. *Canadian journal of plant science* 69, 49–60.

113. **Ruchira P., and Ganapathy P. S., 1984**. Isolation of sodium chloride-tolerant callus line of *Cicer arietinum L.*cv. BG-203. *Plant Cell Reports* 3:45-47.

114. **Sabbah S., and Tal M., 1990**. Development of callus and suspension cultures of potato resistant to Nacl and mannitol and their response to stress. Plant cell tiss. *Org. Cult*. 21, 119–128.

115. **Shankhdhar D., Shankhdhar S.C., Mani S.C., Pant R.C., 2000**. In vitro selection for salt tolerance in rice. *Biol Plant* 43. 3, 477-480.

116. **Shannon .M.C., 1997.** Adaptation of plants to salinity. Advances in agronomy. V 60: 75-120.

117. **Shannon M.C., Grieve C.M, 1999**. Tolerance of vegetable crops to salinity. *Scientia horticulturae* 78, 5-38.

118. **Sibi M., 1989**. Vitro-variations ou variations somaclonales?, Plantes Vivriths Tropicales. Ed. Aupelf-uref. John libbey eurotext. Paris 0. Pp. 21-49.5.

119. **Singh K.N and Chatrath R., 2001**. Tolerance application of physiology in wheat breeding. 101-108.

120. **Skiiin RM., Janick J., 1976**. Tissue culture-induced variation in scented pelargonium spp. Jamer soc. *Hortic sci*. 101. 281-290.

121. **Skirvin R., Pheeters k., Norton M., 1994**. Sources and frequency of somaclonal variation. *Hort.sci*. 29(11). 1232-1237.

122. **Sobhy Derhab., 2002**. Plant Physiology. Ed. *Centre scientifique de sousane moubarek*. 219-231.

123. **SOLTNER D., 2005.** Phytotechnie spéciale : Les grandes productions végétales : céréales -plantes sarclées -prairie. 17èmme édition**.**

124. **Stephen F., Chandler and Indra K.V., 1984**. Selection and characterization of NaC1 tolerant cells from embryogenic cultures of *pennisetum purpureum* schum. (*Napier grass*), *Plant Science Letters*, 37 157-164.

125. **Subbarao G.V and Chris J., 1999**. Handbook of plant and crop stress, Second Edition, Revised and expanded, Edited by Mohammad pessarakli, University of Arizona Tucson, Arizona. Pp 960.

126. **Sudhir K.S., Evert J., Gerhard W., 1978**. Production of monohaploid embryoids and plantlets in cultured anthers of *Solanum tuberosum*, *Plant science letters,* 12. 47-54.

127. **Sultana R., Tahira F., Tayyab H., Khurram B. and Shiekh R., 2005**. RAPD characterization of somaclonal variation in indica basmati rice, *Pak. J. Bot*, 37(2), 249-262.

128. **Sylvia W., Anita W., Tage E., 1991**. Production and analysis of intraspecific somatic hybrids of potato *(Solanum tuberosum* L.). *Plant Science,* 75, 107-115.

129. **Tal M., 1993**. In vitro methodology for increasing salt tolerance in crop Plants. *Acta hort*. 336, 69-78.

130. **Tal M., 1996**. Somaclonal variation for salt tolerance in tomato and potato. In: Bajaj Yps (Ed) Biotechnology in agriculture and forestry vol. 36: Somaclonal variation in crop improvement ii.Springer-verlag, Berlin (PP. 132–145).

131. **Tao L., Van S. J., 2000**. Selection and characterization of sodium chloride-tolerant callus of *glycine max* (L.) Merr CV. Acme., *Plant growth regulation* 31, 195–207.

132. **Teisson C., 1989**. Culture in vitro et amélioration des plantes vivrières tropicales. Ed. Aupelf-uree john libbey eurotext. Paris. Pp. 51-54.

133. **Timir B.J., Satyesh C.R., 1982**. Effect of different hormones on Vigna tissue culture And its chromosomal behaviour. *Plant science letters*, 24, 219-224.

134. **Toshio Y., and Eduardo B., 2005**. Developing salt-tolerant crop plants: Challenges and opportunities. *Plant sciences* vol.10 no.12, 615-620.

135. **Vicente, O., Boscaiu, M., Naranjo, M.A., Estrelles, E., Belles, J.M & Soriano, P., 2004.** Responses to salt stress in the halophyte plantago crassifolia (plantaginaceae). *J Arid envron.* 58, 463-481.

136. **Wang B.S.P., Charest J.P., Downie B., 1994**. Conservation en situ de pollen et de graines et de culture in vitro de plantes ligneuses pérennes. Ed. FAO., Forets, Rome. 113 p.

137. **William G.H., 1999**. Physiology vegetal. Second Edition john wily sons, Inc. Pp453-467.

138. **Yanling Z., 1998**. Development of in vitro bioassays for determination of salinity tolerance in potato (solanum spp.).

139. **Yasmin S., Nasiruddine K.M., Begum R., and Talukder S.K., 2003**. Regeneration and establishment of potato plantlets through callus formation with BAB and NAA. *Asian journal of plant sciences* 2(12), 936-940.

140. **Yeoman M., 1986**. Pant cell culture technology, Botanical monograph. 23, Er. Black well scientific publications, Pp. 1-51.

141. **Zacchini M., Marotta A., D'Agazio M., 1997**. Tolerance to salt stress in maize callus lines with different polyamine content. *Plant cell reports* 17. 119–122.

142. **Zahed H., Abul Kalam A.M., Subodh K.D., and Amal K.B., 2007**. Development of NaCl-Tolerant line in *chrysanthemum morifolium ramat* through shoot organogenesis of selected callus line. *Journal of Biotechnology* 129. 658–667.

143. **Zapata J.M., Sabater b., and Martín M., 2004**. Callus induction and *in vitro* regeneration from barley mature embryos. *Biologia Plantarum* 48. 3, 473-476.

144. **Zhijun Z., Weijun Z., Huizhen L., 2005**. The role of GA, IAA and BAP in the regulation of *in* growth and microtuberization in potato. Acta, *Physiologiae plantarum.* 27, 363-369.

الملحق

الجدول3-1: نتائج التحليل الإحصائي ANOVA لتأثير الوسط الزراعي ونوع الفسيلة والصنف النباتي على سرعة تشكيل الكالوس عند البطاطس.

Source de variation	DDL	SCE	CM	Test F	PR > F	Sin
VAR	3	2,125	0,708	1,206	0,353	ns
M	2	0,083	0,042	0,071	0,932	ns
EXP	1	5,042	5,042	8,587	0,014	*
Interaction :VAR*M	6	1,250	0,208	0,355	0,893	ns
Résidus	11	6,458	0,587			
Total	23	14,958				

الجدول3-2: ترتيب وتجميع المجموعات غير المختلفة معنوياً لتأثير الفسيلة على سرعة تشكيل الكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta، Bartina، Kondor* بالتحليل الإحصائي المقارن Test LSD

Exp	Moyenne	Regroupements	
EN	7,250	A	
F	8,167		B

الجدول3-03: نتائج التحليل الإحصائي *ANOVA* لتأثير الوسط الزراعي ونوع الفسيلة والصنف النباتي على نسبة تشكيل الكالوس عند البطاطس

Source de variation	DDL	SCE	CM	Test F	PR > F	Sin
VAR	3	6949,196	2316,399	130,951	< 0,0001	***
M	2	3454,825	1727,412	97,655	< 0,0001	***
EXP	1	33,363	33,363	1,886	0,197	ns
interaction :VAR*M	6	2463,724	410,621	23,213	0,000	***
Résidus	11	194,579	17,689			
Total	23	13095,686				

الجدول3-4: التحليل الإحصائي المقارن Test LSD لتأثير الوسط الزراعي على نسبة تشكيل الكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، Kondor* .

M	Moyenne	Regroupements	
M1	54,798	A	
M2	70,565	A	B
M3	84,160		B

الجدول3- 5: التحليل الإحصائي المقارن Test LSD لتأثير الصنف النباتي على نسبة تشكيل الكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta، Bartina، Kondor*

VAR	Moyenne	Regroupements	
SPU	53,873	A	
KON	56,313	A	
DES	72,646	A	
BAR	96,531		B

الجدول3-6: نتائج التحليل الإحصائي ANOVA لتأثير الوسط الزراعي ونمط الفسيلة والصنف النباتي على الوزن الرطب للكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، Kondor* .

Source de variation	*DDL*	*SCE*	*CM*	*Test F*	*PR > F*	*SIN*
VAR	**3**	**0,295**	**0,098**	**6,348**	**0,009**	**
M	**2**	**0,203**	**0,101**	**6,551**	**0,013**	*
EXP	**1**	**0,295**	**0,295**	**19,086**	**0,001**	***
VAR*M	**6**	**0,142**	**0,024**	**1,530**	**0,256**	**ns**
Résidus	**11**	**0,170**	**0,015**			
Total	**23**	**1,106**				

الجدول3-7: التحليل الإحصائي المقارن Test LSD لتأثير الوسط الزراعي على الوزن الرطب للكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، Kondor* .

M	**Moyenne**	**Regroupements**	
M1	**0,397**	**A**	
M3	**0,533**	**A**	**B**
M2	**0,620**		**B**

الجدول3-8: التحليل الإحصائي المقارن Test LSD لتأثير نمط الفسيلة على الوزن الرطب للكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta .، Bartina، Kondor*.

EXP	**Moyenne**	**Regroupements**	
F	**0,406**	**A**	
EN	**0,628**		**B**

الجدول3-9: التحليل الإحصائي المقارن Test LSD الصنف النباتي على الوزن الرطب للكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta، Bartina، Kondor* .

Modalités	**Moyenne**	**Regroupements**	
KON	**0,339**	**A**	
DES	**0,529**	**A**	**B**
SPU	**0,557**	**A**	**B**
BAR	**0,642**		**B**

الجدول3-10: نتائج التحليل الإحصائي ANOVA لتأثير الوسط الزراعي ونمط الفسيلة والصنف النباتي على الوزن الجاف للكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta، Bartina، Kondor* .

Source de variation	*DDL*	*SCE*	*CM*	*Test F*	*PR > F*	*Sin*
VAR	**3**	**0,001**	**0,000**	**6,543**	**0,008**	**
M	**2**	**0,001**	**0,001**	**9,615**	**0,004**	**
EXP	**1**	**0,000**	**0,000**	**0,019**	**0,894**	**ns**
VAR*M	**6**	**0,001**	**0,000**	**1,613**	**0,233**	**ns**
Résidus	**11**	**0,001**	**0,000**			
Total	**23**	**0,004**				

الجدول3-11: التحليل الإحصائي المقارن Test LSD لتأثير الوسط الزراعي على الوزن الجاف للكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta، Bartina، Kondor* .

M	**Moyenne**	**Regroupements**	
M1	**0,034**	**A**	
M3	**0,049**		**B**
M2	**0,051**		**B**

الجدول3-12: التحليل الإحصائي المقارن Test LSD لتأثير لصنف النباتي على قيم الوزن الجاف للكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta، Bartina، Kondor* .

VAR	Moyenne	Regroupements	
DES	0,038	A	
KON	0,040	A	
SPU	0,041	A	
BAR	0,057		B

الجدول4-1: نتائج التحليل الإحصائي ANOVA لتأثير الملوحة على نسبة تشكيل الكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، Kondor* .

Source de variation	*DDL*	*SCE*	*CM*	*Test F*	*PR > F*	*Sin*
Con	3	7590,138	2530,046	20,964	< 0,0001	***
Résidus	12	1448,202	120,683			
Total	15	9038,340				

الجدول4-2: التحليل الإحصائي المقارن Test LSD لتأثير الملوحة على نسبة تشكيل الكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، Kondor* .

M	Moyenne	Regroupements		
150	28,977	A		
100	48,580		B	
50	76,271			C
0	83,282			C

الجدول4-3: نتائج التحليل الإحصائي ANOVA لتأثير الملوحة على الوزن الرطب للكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، kondor* .

Source de variation	*DDL*	*SCE*	*CM*	*Test F*	*PR > F*	*Sin*
CON	3	0,868	0,289	67,449	< 0,0001	***
Résidus	12	0,051	0,004			
Total	15	0,919				

الجدول4-4: التحليل الإحصائي المقارن Test LSD لتأثير الملوحة على الوزن الرطب للكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، Kondor* .

M	Moyenne	Regroupements			
m150	0,038	A			
m100	0,250		B		
m50	0,518			C	
m0	0,636				D

الجدول4-5: نتائج التحليل الإحصائي ANOVA لتأثير الملوحة على الوزن الجاف للكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، Kondor* .

Source de variation	*DDL*	*SCE*	*CM*	*Test F*	*PR > F*	*SIN*
CON	3	0,007	0,002	8,563	0,003	*
Résidus	12	0,003	0,000			
Total	15	0,010				

الجدول4-6: التحليل الإحصائي المقارن Test LSD لتأثير الملوحة على الوزن الجاف للكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، Kondor* .

Mil	Moyenne	Regroupements		
m150	0,002	A		
m100	0,022	A	B	
m50	0,042		B	C
m0	0,057			C

الجدول4-7: نتائج التحليل الإحصائي ANOVA لتأثير الملوحة على الوزن الرطب لمختلف أنماط الكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، Kondor* .

Source de variation	*DDL*	*SCE*	*CM*	*Test F*	*PR > F*	*SINIFICATION*
CAL	5	1,872	0,374	301,991	< 0,0001	***
Résidus	18	0,022	0,001			
Total	23	1,894				

الجدول4-8. نتائج التحليل الإحصائي ANOVA لتأثير الملوحة على الوزن الجاف لمختلف أنماط الكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، Kondor* .

Source de variation	*DDL*	*SCE*	*CM*	*Test F*	*PR > F*	*SINIFICATION*
CAL	5	0,018	0,004	40,452	< 0,0001	***
Résidus	18	0,002	0,000			
Total	23	0,020				

الجدول4-9: التحليل الإحصائي المقارن Test LSD لتأثير الملوحة على الوزن الرطب لمختلف أنماط الكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، Kondor* .

CAL	Moyenne	Regroupements			
CS150	0,000	A			
CS200	0,000	A			
SS150-200	0,075		B		
SS150-150	0,143			C	
SN150-0	0,633				D
CN	0,643				D

الجدول4-10: التحليل الإحصائي المقارن Test LSD لتأثير الملوحة على الوزن الجاف لمختلف انماط الكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، Kondor* .

Cal	Moyenne	Regroupements		
CS150	0,000	A		
CS200	0,000	A		
SS150-200	0,009	A	B	
SS150-150	0,020		B	
CN	0,057			C
SN150-0	0,070			C

الجدول4-11: نتائج التحليل الإحصائي ANOVA لتأثير الملوحة على النمو المتوسط النسبي للكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، Kondor* .

Source de variation	*DDL*	*SCE*	*CM*	*Test F*	*PR > F*	*Sin*
con	**3**	**21463,684**	**7154,561**	**99,765**	**< 0,0001**	*******
Résidus	**12**	**860,573**	**71,714**			
Total	**15**	**22324,257**				

الجدول4-12: التحليل الإحصائي المقارن Test LSD لتأثير الملوحة على النمو النسبي للكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، Kondor* .

M	**Moyenne**	**Regroupements**			
m150	**5,651**	**A**			
m100	**38,621**		**B**		
m50	**80,351**			**C**	
m0	**100,000**				**D**

الجدول4-13: نتائج التحليل الإحصائي ANOVA لتأثير الملوحة على النمو النسبي للكالوسات لمختلف أنماط الكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، Kondor* .

Source de variation	*DDL*	*SCE*	*CM*	*Test F*	*PR > F*	*Sin*
CAL	**5**	**74884,302**	**14976,860**	**301,991**	**< 0,0001**	*******
Résidus	**18**	**892,688**	**49,594**			
Total	**23**	**75776,990**				

الجدول4-14: التحليل الإحصائي المقارن Test LSD لتأثير الملوحة على النمو النسبي للكالوسات لمختلف انماط الكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، Kondor* .

Cal	**Moyenne**	**Regroupements**			
CS150	**0,000**	**A**			
CS200	**0,000**	**A**			
SS150-200	**15,000**		**B**		
SS150-150	**28,500**			**C**	
SN150-0	**126,500**				**D**
CN	**128,625**				**D**

الجدول4-15: نتائج التحليل الإحصائي ANOVA لتأثير الملوحة على المحتوى للمائي للكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، kondor* .

Source de variation	*DDL*	*SCE*	*CM*	*Test F*	*PR > F*	*Sin*
VAR	**3**	**199,344**	**66,448**	**33,384**	**< 0,0001**	*******
con	**3**	**89,743**	**29,914**	**15,029**	**0,001**	******
Résidus	**9**	**17,914**	**1,990**			
Total	**15**	**307,001**				

الجدول4-16: التحليل الإحصائي المقارن Test LSD ً لتأثير الملوحة على المحتوى المائي للكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، Kondor* .

M	Moyenne	Regroupements		
m150	85,667	A		
m100	89,494		A	
m50	91,045			A
m0	91,814			A

الجدول4-17: نتائج التحليل الإحصائي ANOVA لتأثير الملوحة على المحتوى المائي لمختلف أنماط الكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، Kondor* .

Source de variation	*DDL*	*SCE*	*CM*	*Test F*	*PR > F*	*Sin*
CAL	5	41565,698	8313,140	1125,726	< 0,0001	***
Résidus	18	132,924	7,385			
Total	23	41698,622				

الجدول4-18: التحليل الإحصائي المقارن Test LSD ً لتأثير الملوحة على المحتوى المائي لمختلف انماط الكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، Kondor* .

Cal	Moyenne	Regroupements		
CS150	0,000	A		
CS200	0,000	A		
SS150-150	85,609		B	
SS150-200	86,315		B	
SN150-0	88,979		B	C
CN	91,814			C

الجدول4-19: نتائج التحليل الإحصائي ANOVA لتغيرات معامل الحساسية للملوحة حسب التركيز الملحي عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، Kondor* .

Source de variation	*DDL*	*SCE*	*CM*	*Test F*	*PR > F*	*Sin*
con	2	10000,332	5000,166	34,916	< 0,0001	***
Résidus	9	1288,864	143,207			
Total	11	11289,196				

الجدول4-20: التحليل الإحصائي المقارن Test LSD ً لتغيرات معامل الحساسية للملوحة حسب التركيز الملحي عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، Kondor*

Modalités	Moyenne	Regroupements		
150	-96,562	A		
100	-63,417		B	
50	-25,896			C

الجدول4-21: نتائج التحليل الإحصائي ANOVA لتغيرات معامل الحساسية للملوحة حسب التركيز الملحي لمختلف انماط الكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، kondor* .

Source de variation	*DDL*	*SCE*	*CM*	*Test F*	*PR > F*	*Sin*
CAL	**5**	**44932,687**	**8986,537**	**5461,777**	**< 0,0001**	***
Résidus	**18**	**29,616**	**1,645**			
Total	**23**	**44962,303**				

الجدول4-22: التحليل الإحصائي المقارن Test LSD لتغيرات معامل الحساسية للملوحة حسب التركيز الملحي لمختلف انماط الكالوسات عند أربعة أصناف من البطاطس *Désirée، Spunta ، Bartina ، Kondor* .

Cal	Moyenne	Regroupements			
CS150	**-100,000**	**A**			
CS200	**-100,000**	**A**			
SS150-200	**-86,319**		**B**		
SS150-150	**-71,876**			**C**	
CN	**0,000**				**D**
SN150-0	**0,000**				**D**

التباينات الجسمية المحدثة عند نبات البطاطس (*Solanum tuberosum* L.) تحت الظروف المخبرية قصد تحسين مقاومتها للملوحة.

الملخص:

تهدف هذه الدراسة إلى إمكانية استعمال التباين الجسمي المحفز بالزراعة المولّدة للكالوس، قصد انتقاء أنماط من البطاطس (***Solanum tuberosum*** **L.)** متحملة لظروف الملوحة. تتوقف فعالية هذه التقانة المخبرية على التحكّم في مختلف العوامل المؤثرة على عملية تشكّل الكالوس.

قمنا بدراسة تشكل الكالوس لدى أربعة أصناف من البطاطس ***Désirée*** **،** ***Bartina Spunta*** **،** ***Kondor*** **،** الناتجة عن نمطين من الفسائل الأوراق والسلميات، داخل ثلاث أوساط زراعية .

النتائج المتحصل عليها اظهرت غياب أي تأثير معنوي لكل من الوسط الزراعي والنمط الوراثي على سرعة تشكل الكالوسات، ولنمط الفسيلة على نسبة تشكل الكالوس. كما بينت وجود تأثير معنوي لنمط الفسيلة، الوسط الزراعي، والنمط الوراثي على نسبة تشكل الكالوس و نموها ؛ حيث كانت أحسن في الوسط **(5**مغ/ل **NAA+ 1** مغ/ل **BAP+1** مغ/ل **GA3)**، و**(3** مغ/ل+ **2.4D 0.5** مغ/**KIN)** ، وعند الصنف ***Bartina*** .

تمت دراسة تأثير الملوحة على مختلف أنماط الكالوسات المتكيفة للأصناف الأربعة لعينات السلميات وفي الوسط الزراعي **(5** مغ/ل **NAA + 1**مغ/ل **BAP+1** مغ/ل **GA3)**.اظهرت النتائج المسجلة انخفاض في كل المؤشرات المدروسة **(**معدل تشكيل الكالوسات، نمو الكالوس، النمو المتوسط النسبي، المحتوى المائي، ومعامل الحساسية للملوحة**)** عند ارتفاع ملوحة الوسط الزراعي، وهذا عند الكالوسات غير المتكيفة للملوحة. كما لوحظ تأثير واضح لنمط الكالوس على المؤشرات السابقة، حيث لوحظ نمو أحسن للكالوسات المكيفة للملوحة **150** ملي **مول**NaCl من الكالوسات غير المكيفة في نفس الوسط الزراعي.

الكلمات المفتاحية: البطاطس **(*Solanum tuberosum* L.)**، التباين الجسمي، تشكل الكالوس، تكييف، الملوحة.

Variations somaclonales induites sur la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) *in vitro* pour améliorer sa résistance a la salinité.

Résumé

Ce travail vise à étudier la possibilité de l'utilisation de la variation somaclonale induite par la callogénèse pour sélectionner des génotypes tolérantes à la salinté. L'éfficacité de cette biotechnologie dépend du contrôle des différents facteurs qui agissent sur la callongénèse.

L'étude de la callogénèse est effecutée sur quatre génotypes de pomme de terre (*Désirée*،*Spunta Bartina* ،*Kondor*) résultant de deux types d'explant (feuiles et entre-nœud) dans trois milieux de culture.

Les résultats obtenus montrent un effet non significatif des milieux de culture et du génotype sur la vitesse d'induction des cals et le type d'explant sur la callogénèse, comme on a montré l'effet significatif du type d'explant, le milieu du culture et le génotype sur la callogénèse et la croissance des clas. Les meilleurs résultats ont été obtenus dans les milieux (5mg/l NAA+1mg/l BAB+1mg/l GA3), et (3mg/l2.4D+0.5mg/l KIN). Des entre-nœuds de la variété *Bartina*.

On a étudié de l'effet de la salinité sur différents type des cals adaptées aux entre-nœuds chez les quatres variétés dans le mileiu de culture (5 mg/l NAA + 1 mg /l BAP + 1 mg/l GA3).

Les résultats obteunus montrent une diminution de tous les paramètres étudiés (Croissance des cals, Croissance moyenne relative, contenu hydrique et conefficient de sensibilité à la salinité à cause de l'augmentation de la salinité du milieu de culture chez les cals non adaptés à la salinité, comme on a observé un effet important enjendré par le type de cal sur les paramètres pécédement cités où on a obtenu une meilleur croissance des cals adaptés au 150 mM de NaCl que les cals non adaptés dans le meme milieu de culture.

Mots clés: Pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.), Variations somaclonales, Callogènes, Adaptation, Salinité.

Somaclonal variation induced in potato (*Solanum tuberosum* L.) *in vitro* to improved salinity resistance

Abstract:

This work aims to study the possibility of using somaclonal variation induced by the Callogenesis to select genotypes tolerant salinty. The effectiveness of this biotechnology stops the control of different factors that affect the callongénèse.

The study is the Callogenesis statevisit four genotypes of potato (***Désirée, Spunta Bartina, Kondor***) resulting from two types of explant (leafs and internodes) in three culture media.

The results show an insignificant effect of culture media and genotype on the rate of induction of callus and explant type on Callogenesis, as we showed the significant effect of type of explant, the medium of Culture and genotype on callogenesis and growth of callus. The best results were obtained in the media (5 mg / l NAA +1 mg / l BAB 1 mg / l GA3), and (3mg/l2.4D +0.5 mg / l KIN). of internode variety ***Bartina***.

The study of the effect of salinity on different types of callus adapted from internodes at the four varieties in the medium of culture (5 mg / l NAA + 1 mg / l BAP + 1 mg / l GA3).

Obteunus The results show a decrease in all parameters studied (callus growth, average growth relative, water content and conefficient sensitivity to salinity) due to increased salinity of the culture medium in the callus not adapted to the salinity, as we observed the effect of the type of callus on the parameters mentioned or pécédement was obtained melleiure growth of calli adapted to **150** mM **NaCl** as not adapted calluses in the same culture medium.

Key word: *Potato* (*Solanum tuberosum* L.), Somaclonales variations, Callogènes, Adaptation, Salinity.