الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
جامعة الاخوة منتوري– قسنطينة 1

كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم : البيولوجيا و علم البيئة النباتية

الرقم 141/DS/2019
السلسلة 09/EV/2019

أطروحة
قدمت لنيل شهادة الدكتوراه في العلوم
فرع بيولوجيا النبات
تخصص التنوع الحيوي والإنتاج النباتي

الموضوع

مساهمة الزراعة النسيجية في الانتقاء الصنفي لنبات البطاطس *Solanum tuberosum* L. النامية تحت ظروف ملحية.

من اعداد
السيدة لعريط صباح

أعضاء لجنة المناقشة

غروشـــة حسيـــن	أستاذ التعليم العالي	جامعة الإخوة منتوري- قسنطينة 1-	رئيسا
شوقـــي سعيـــدة	أستاذ التعليم العالي	جامعة الإخوة منتوري- قسنطينة 1-	مشرفا
السنوسي محمد مراد	أستاذ التعليم العا	جامعة العربي بن مهيدي -أم البواقي-	ممتحنا
يحـــي عبد الوهاب	أستاذ التعليم العالي	المركز الجامعي عبد الحفيظ بوالصوف- ميلة-	ممتحنا
حزمـــون الطـــاهر	أستـــاذ محاضـــر أ	جامعة 20 أوت 1955- سكيكدة-	ممتحنا
بولعســـــل معـــاد	أستـــاذ محاضـــر أ	جامعة الإخوة منتوري- قسنطينة 1-	ممتحنا

السنة الجامعية : 2019/2018

التشكرات

قبـل كـل شـيء أشكر الله العلي القدير الذي وفقني وامدني المقدرة و الإرادة لإنجاز هذا العمل فالحمد و الشكرلله ذو الجلال و الإكرام.

أشـكرو بعمق الأستاذة المشرفة الأستاذة الدكتورة **شوقي سعيدة** على توجيهاتها القيمة و نصائحها البناءة

اشكر شكرا جزيلا الأستاذ الدكتور : **غروشة حسين**، على قبوله رئاسة لجنة مناقشة المذكرة و اثراءها، و النصائح المقدمة خلال انجاز العمل. كما اشكر كل من الأستاذ الدكتور **يحيى عبد الوهاب** ،الأستاذ الدكتور **سنوسي محمد مراد**،الدكتور **حزمون الطاهر**،و الدكتور **بولعسل معاد**، على قبولهم مناقشة المذكرة وإثراءها.

كما لا أنسى أن أشكر مديرة مخبر شركة التطوير الفلاحي لولاية سطيف السيدة **كريمة سعدون** و مديرة الشركة السيدة **طرابلسي نصيرة**، كذلك مخبر البيوتكنولوجي CRBT لولاية قسنطينة على الدعم و تصخير كل الوسائل لإتمام الجانب التطبيقي.

الشكر الجزيل إلى الذين ساندوني و لو بكلمة تشجيعية، والى كل من لم يـذكر اسـمه في هذه القائمة البسيطة، على كل المساعدات .

لكـل العائلــة الكبيــرة والصــغيرة، الشــكر والعرفــان علــى التشــجيع المســتمر و المتواصل.

لعـــــــريـــــط

قائمة المختصرات

المختصر	التسمية باللغة الأجنبية	التسمية بالعربية
APG	Angiosperms phylogeny group.	
CNCC	Centre National de Contrôle et de Certification des semences et plants	المركز الوطني لمراقبة البذور والمشاتل وتصديقها
SAGRODEV	Societie AGRO DEV	الشركة الوطنية للتطوير الفلاحي
MS	Milieu de culture de Murashige et Skoog (1962)	وسط زراعة Murashige et Skoog (1962)
IAA	Indole-3-Acetic Acid	الاوكسن
Kin	Kinetin	كينيتين
GA3	Gibberellic Acid	حمض الجيبيريلين
M	Milieu	الوسط
EXP	Explant	الفسيلة
VAR	Varieté	الصنف
CMR	la Croissance Moyenne Relative	النمو المتوسط النسبي
CW	Contenu hydrique	المحتوى المائي
IS	Indice de senssibilité	مؤشر الحساسية
D	Désirée	ديزيري
S	Spunta	سبونتا
B	Bartina	بارتينا
T	Timate	تيمات
C1	concentration 1= 25m mol de Nacl /L	التركيز 01 = 25 ميلي مول
C2	concentration 2= 100m mol de Nacl / L	التركيز 02= 100 ميلي مول
C3	concentration 3= 150m mol de Nacl / L	التركيز 3 = 150 ميلي مول
LT	langueur de tige	طول الساق
NF	Nombre des feuilles	عدد الاوراق
NR	Nombre des racines	عدد الجذور
LR	Longueur de racine	طول الجذور
PF	Poids frais	الوزن الغض
PS	Poids sec	الوزن الجاف
PFt	Poids frais de la tige	الوزن الغض للساق
PFr	Poids frais de la racine	الوزن الغض للجذر
PSt	Poids sec de la tige	الوزن الجاف للساق
PSr	Poids sec de la racine	الوزن الجاف للجذر
SUC	sucre	السكريات

قائمة المختصرات الخاصة بتحليل المتغير **Liste des abréviations relatives à l'analyse de la variance**		
درجة الحرية	Degré de Liberté	DDL
الاحتمال	Probabilité	Pr
المعنوية عند عتبة 5 %	Significative au seuil de 5 %	*
المعنوية عند عتبة 1 %	Significative au seuil de 1 %	**
المعنوية عند عتبة 0.1 %	Significative au seuil de 0,1 %	***

قائمة الجداول

الرقـــم	عنـــــوان الجـــدول	الصفحة
01	القيمة الغذائية في 100 غ من نبات البطاطس	2
02	تراكيز منظمات النمو المستعملة لإنتاج الكالوس عند نبات البطاطس من طرف بعض الباحثين	21
03	بعض الخصائص للاصناف المدروسة	26
04	تراكيز ملح NaCl المستعملة في التجربة	27
05	جدول توزيع المعاملات	28
06	مكونات وسط الزراعة(MS , 1962)	30
07	تحضير محاليل التخزين لتحضير وسط الزراعة المستعمل في التجربة	31
08	تراكيز منظمات النمو المستعملة لإنتاج الكالوسات في التجربة	31
09	تحضير وسط الزراعة 1ل المستعمل في التجربة	33
10	فاعلية المتغيرات المقدرة على نبات البطاطس في تمثيل المحورين 1-2 اثناء مرحلة الاكثار الدقيق لاربعة اصناف	43
11	فاعلية المتغيرات المقدرة على نبات البطاطس في تمثيل المحورين 1-2 اثناء مرحلة الاكثار الدقيق للصنف Désirée	45
12	مصفوفة معامل الارتباطات بين المتغيرات المقدرة على نبات البطاطس للاصناف الاربعة خلال مرحلة الاكثار الدقيق	46
13	مصفوفة معامل الارتباطات بين المتغيرات المقدرة على نبات البطاطس للصنف Désirée خلال مرحلة الاكثار الدقيق	47
14	سلم ترتيب أثر فعل الملوحة والصنف والتداخل بينهم، على نبات البطاطس اثناء مرحلة الاكثار الدقيق تبعا لطريقةNew man keuils على مستوى 5 %.	51
15	متوسط المجموعات الخاصة باثر فعل الملوحة للصوديوم في الجذور	52
16	التحليل البياني (ANOVA) لإظهار اثر الفعل الكمي للملوحة على المتغيرات المدروسة لاربعة أصناف.	59
17	مصفوفة معامل الارتباطات بين المتغيرات المقدرة على نبات البطاطس خلال مرحلة تشكل الكالوس.	68
18	فاعلية المتغيرات المقدرة على نبات البطاطس في تمثيل المحورين 1-2 اثناء مرحلة تشكل الكالوسات .	69
1-19	المجموعات الخاصة باثر فعل الصنف على الوزن الرطب	71
2-19	المجموعات الخاصة باثر فعل الملوحة على طول الوزن الرطب	71

3-19	سلم ترتيب أثر فعل الملوحة والصنف والتداخل بينهم، على نبات البطاطس اثناء مرحلة تشكل الكالوسات تبعا لطريقةNewman keuils على مستوى 5 %..	72
20	التحليل البياني (ANOVA) لاظهار اثر الفعل الكمي للملوحة على المتغيرات المدروسة بالنسبة لمرحلة تشكيل الكالوسات	82

قائمة الاشكال

الرقـــم	عنـــــوان الشكـــل	الصفحة
01	الإنتاج العالمي لنبات البطاطس بين سنة 2000 و 2013	4
02	الإنتاج الزراعي لنبات البطاطس من سنة 2000 إلى 2012	5
03	الجزء الترابي لنبات البطاطس	7
04	بعض انواع درنات نبات البطاطس	7
05	المنحنى القياسي للصوديوم (الجزء / المليون)	37
06	المنحنى القياسي للبوتاسيوم (الجزء / المليون)	37
07	المنحنى القياسي للسكريات الكلية	38
08	حلقة معامل الارتباطات بين المتغيرات المقدرة على نبات البطاطس لاربعة اصناف اثناء مرحلة الاكثار الدقيق	43
09	حلقة معامل الارتباطات بين المتغيرات المقدرة على نبات البطاطس للصنف Désirée اثاء مرحلة الاكثار الدقيق	45
10	اثر معاملات الملوحة على ا لعلاقة بين الوزن الجاف للجذور و الوزن الرطب للجذوراثناء مرحلة الاكثار الدقيق لاربعة اصناف.	46
1-11	أثر معاملات الملوحة على ا لعلاقة بين محتوى البوتاسيوم في الأوراق و السكريات أثناء مرحلة الاكثار الدقيق للصنفDésirée	47
2-11	أثر معاملات الملوحة على ا لعلاقة بين معامل الانتقاء للجذور و محتوى البوتاسيوم للجذوراثناء مرحلة الاكثار الدقيق للصنف. Désirée	48
12	منحنى توزيع أفراد اربعة اصناف نبات البطاطس أثناء مرحلة الاكثار الدقيق .	49
1-13	تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على متوسط طول الساق لأصناف نبات البطاطس.	52
2-13	تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على متوسط عدد الاوراق لأصناف نبات البطاطس	53
3-13	تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على متوسط عدد الجدور لأصناف نبات البطاطس	54
4-13	تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على متوسط طول الجذور لأصناف نبات البطاطس.	55
1-14	تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على الوزن الغض للساق لأصناف نبات البطاطس	56
2-14	تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على الوزن الجاف للساق لأصناف نبات البطاطس	57

3-14	تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على الوزن الغض للجذور لأصناف نبات البطاطس	58
4-14	تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على الوزن الجاف للجذور لأصناف نبات البطاطس	58
1-15	تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على السكريات عند الصنفDésirée	60
2-15	تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على محتوى الكلوروفيل a للصنف Désirée	61
3-15	تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على محتوى الكلوروفيل b للصنف Désirée	62
4-15	تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة محتوى الصوديوم في الاوراق عند الصنفDésirée	62
5-15	تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة محتوى البوتاسيوم في الاوراق عند الصنفDésirée	63
6-15	تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على معامل الانتقاء في الاوراق عند الصنف Désirée	64
7-15	تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة محتوى الصوديوم في الجذور عند الصنف Désirée	65
8-15	تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة محتوى البوتاسيوم في الجذور عند الصنفDésirée	65
9-15	تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على معامل الانتقاء في الجذور عند الصنف. Désirée	66
16	حلقة معامل الارتباطات بين المتغيرات المقدرة على نبات البطاطس أثناء مرحلة تشكل الكالوسات .	67
17	اثر معاملات الملوحة على ا لعلاقة بين الوزن الجاف و الوزن الرطب اثناء مرحلة تشكل الكالوسات	68
18	منحنى توزيع أفراد اصناف نبات البطاطس أثناء مرحلة تشكيل الكالوسات لأربعة اصناف من نبات البطاطس	70
1-19	تاثير النمط الوراثي على سرعة تشكل الكالوسات لاصناف نبات البطاطس المستخدمة في التجربة	73
2-19	تأثير التركيز الملحي على معدل تشكيل الكالوس لاصناف نبات البطاطس المستخدمة في التجربة	74
3-19	تاثير الملوحة على الوزن الرطب لاصناف نبات البطاطس المستخدمة في التجربة	77
4-19	تاثير الملوحة على الوزن الجاف لاصناف نبات البطاطس المستخدمة في التجربة	78
5-19	تاثير الملوحة على النمو المتوسط النسبي لاصناف نبات البطاطس المستخدمة في التجربة (%)	79

6-19 تاثير الملوحة على المحتوى المائي لاصناف نبات البطاطس المستخدمة في التجربة (%) 80
7-19 تاثير الملوحة على معامل الحساسية لاصناف نبات البطاطس المستخدمة في التجربة (%) 81

قائمة الصور

الرقـــم	عنـــــوان الصورة	الصفحة
01	درنات أصناف نبات البطاطس المستعملة في التجربة	**26**
1-2	الكالوسات المتحصل عليها بالانتقاء التدريجي في الوسط الملحي عند الصنفTimate	76
2-2	الكالوسات المتحصل عليها بالانتقاء التدريجي في الوسط الملحي عند الصنفBartnia	76
3-2	الكالوسات المتحصل عليها بالانتقاء التدريجي في الوسط الملحي عند الصنفDésirée	76
4-2	الكالوسات المتحصل عليها بالانتقاء التدريجي في الوسط الملحي عند الصنفDésirée	76

الملخص :

يهدف هذا العمل إلى دراسة تأثير الملوحة على الإكثار الدقيق و تشكيل الكالوسات لنبات البطاطس (***Solanum tuberosum* L.**) *in vitro* و مقارنة السلوك الفزيو مرفولوجي و البيوكيماوية للأربعة أصناف وراثية (**Bartina, Spunta , Désirée , Timate**). في هذا السياق أجريت تجربة عاملية بالقطاعات العشوائية بتصميم المربع اللاتيني احتوت أربعة تراكيز ملحية منNaCl (C_0 :0 , C_1 : 25, C_2 : 50 , C_3 : 150) mMol و أربعة مكررات فالتجربة شملت 64 وحدة تجريبية في وسط النمو MS تحت ظروف مراقبة

بينت الملاحظات الفزيو مرفولوجية و البيوكيماوية أثناء الإكثار الدقيق أن مستويات التراكيز الملحية سببت انخفاضا تدريجيا في طول الساق (LT) و الجذور(LR) كذلك عدد الأوراق (NF) و الجذور(NR) متبوعة بتخفيض معنوي في الوزن الطازج و الجاف لكل من الأوراق و الجذور , PF_f) (PS_f ,PF_r , PS_r لدى جميع الأصناف المدروسة كما أن محتوى الكلوروفيل (a,b) و مقدار البوتاسيوم (K^+) في الأوراق و الجذور قد تراجع خاصة تحت التركيز الملحي NaCl (150mMol) عند الصنف Désirée مع تراكم الصوديوم (Na^+) في الأوراق و الجذور و ارتفاع محتوى السكريات في الأوراق . يبين مؤشر فصل المجموعات من خلال تحليل التباين أن صنف Bartina وDésirée سلكا سلوك المقاوم مقارنة بالصنفين Spunta و Timate اللذين كانت حساسيتهما واضحة للإجهاد الملحي

تشير نتائج الدراسة التي أجريت على قدرة تشكيل الكالوسات تحت الظروف الملحية *in vitro* أن الأصناف الأربعة أظهرت سلوكات متباينة بشكل واضح حيث أن مؤشر الحساسية (Is) أكد حساسية الصنفين Spunta و Timate مقارنة بالصنفين Bartina وDésirée اللذين لديهما نسبة عالية من الوزن الطازج والجاف ومعدل زيادة تحريض تشكيل الكالوسات (cal%) مع قدرة عالية من احتباس الماء (Ws) هذه المقاومة تحت الظروف الملحية مرتبطة بالنمو الجيد للكالوسات (CMR)

هذه النتائج التي تم الحصول عليها تشير إلى إمكانية استخدام تقنية زراعة الأنسجة في الانتقاء الصنفي تحت الظروف الإجهاد اللاحيوي

الكلمات المفتاحية: ***Solanum tuberosum*** L. ، الملوحة ، الإكثار الدقيق ، تخليق الكالوسات ، الانتقاء الصنفي

Résumé :

Le présent travail se propose d'étudier l'effet de la salinité sur la micro-propagation et la callogénése de la pomme de terre (***Solanum tuberosum* L.**) *in vitro* et de comparer le comportement physio-morphologique et biochimique de quatre variétés (**Bartina, Spunta , Désirée , Timate**). Dans ce contexte une expérience factorielle a été conduite dans un dispositif en bloc (carré latin) complétement randomisé avec quatre concentrations de NaCl (C_0 :0 , C_1 : 25, C_2 : 50 , C_3 : 150) mMol et quatre répétitions le travail a été exécuté sur 64 unités expérimentales dans un milieu MS et des conditions controlées .

L'observation physio-morphologique et biochimique pendant la micro-propagation montre que les concentrations en sel provoquent une diminution progressive sur la longueur des tiges (LT) et les racines (LR) , le nombre des feuilles (NF) et racines (NR) suivies d'une réduction significative du poids frais et sec des feuilles et racines (PF_f , PS_f ,PF_r , PS_r) pour toutes les variétés étudiées . Les valeurs de la chlorophylle (a,b) ainsi que le taux du potassium (K^+) dans les feuilles et racines sont réduits sous les hautes concentrations de NaCl (150mMol) chez la variété Désirée avec une accumulation de sodium (Na^+) dans les feuilles et racines et une élévation en taux de sucre dans les feuilles (Suc). L'indice de séparation des groupes d'après l'analyse de variance nous indique que des comportements spécifiques entre les deux variétés Bartina et Désirée qui semblent plus tolérantes par contre les deux autres variétés Spunta et Timate présentent une stratégie sensible au stress salin

Les résultats de l'étude qui porte sur les capacités callogénéses et le pouvoir de régénération sous stress salin *in vitro* indiquent que les quatre variétés ont manifesté des comportements bien différenciés, l'indice de sensibilité (Is) confirme la sensation des deux variétés Spunta et Timate comparant à la variété Bartina et Désirée qui présentent un taux élevé du poids frais et sec et un taux d'augmentation d'induction des cals (cal%) avec une grande capacité de retentions d'eau (Ws) cette tolérance sous les conditions salines est liées à une prolifération des cals (CMR)

Les résultats obtenus suggèrent la possibilité d'utiliser la technique in vitro pour la sélection variétale sous des stress abiotiques

Mots clés : *Solanum tuberosum* L. ,salinité , micro- propagation , callogénése , sélection variétale

Abstract

The present work aims to study the effect of salinity on the micropropagation and callogenesis of potato (***Solanum tuberosum* L.**) *in vitro* and to compare the Physio-morphological and biochemical behavior of four varieties (**Bartina, Spunta, Desiree, Timate**). In this context a factorial experiment was conducted in a completely randomized block device (Latin square) with four concentrations of NaCl (C_O: 0, C_1: 25, C_2: 50, C_3: 150) male and four repetitions the work was performed on 64 experimental units in an MS environment and controlled conditions

The physio-morphological and biochemical observations during the micro-propagation show that the salt concentrations cause a progressive decrease in the length of the stems (LT) and the roots (LR), the number of leaves (NF) and roots (NR) followed by a significant reduction of the fresh and dry weight of leaves and roots (PF_f, PS_f, PF_r, PS_r) for all the varieties studied. Chlorophyll (a, b) and potassium (K^+) values in the leaves and roots are reduced under high concentrations of NaCl (150mMol) in the Désirée variety with an accumulation of sodium (Na^+) in the leaves and roots and a rise in sugar level in the leaves (Suc). The group separation index from the analysis of variance indicates that specific behaviors between the two varieties Bartina and Désirée that seem more tolerant against the two other varieties Spunta and Timate present a strategy sensitive to salt stress .

The results of the study on callogenesis capacities and the regeneration power under salt stress *in vitro* indicate that the four varieties showed clearly differentiated behavior. The sensitivity index (Is) confirms the sensation of the two varieties Spunta and Timate. comparing to the variety Bartina and Désirée which have a high rate of fresh and dry weight and a rate of increase of callus induction (cal%) with a high capacity of retentions of water (Ws) this tolerance under saline conditions is related to a proliferation of callus (CMR) .

The results obtained suggest the possibility of using the in vitro technique for varietal selection under abiotic stress..

Key words: *Solanum tuberosum L*, salinity, micro-propagation, callogenesis , varietal selection

المقدمة

الفهرس

المحتـــــوى **الصفحة**

الاهداء

التشكرات

قائمة المختصرات

قائمة الجداول

قائمة الأشكال

قائمة الصور

فهرس المحتويات

ملخص بالعربية

ملخص بالفرنسية

ملخص بالانجليزية

مقدمة عامة

الفصل الأول: استرجاع المراجع

I.عموميات وتذكير حول نبات البطاطس 1

1 . لمحة تاريخية عن نبات البطاطس..... 1

2. التصنيف 5

3.بيئة نبات البطاطس 6

4. مرفولوجيا نبات البطاطس 6

5 .التكاثر عند نبات البطاطس..... 7

II. الملوحة..... 9

1..ملوحة التربة..... 9

1.1مصدر الأملاح في التربة 9

2.1الاجهاد الملحي 10

2 .أثر الملوحةعلى النباتات 10

1.2 . أثر الملوحة على النمو الخضري و الجذري 10

2.2. أثر الملوحة على نمو الأوراق و السيقان 11

3.2 استجابة النباتات للملوحة 11
1.3.2 مقاومة النبات للملوحة..... 11
2.3.2 آليات مقاومة الملوحة 12
4.2 استجابة نبات البطاطس للملوحة..... 12
III.الية تحسين نبات البطاطس 13
1 نبذة تاريخية 13
2.التقنيات الحديثة المستعملة لتحسين نبات البطاطس..... 13
1.2الإكثار الدقيق 13
1.1.2 تعريف الاكثار الدقيق..... 13
2.1.2 مميزات الاكثار الدقيق 14
2.2 .زراعة المرستيم 14
3.2التحويل الوراثي 15
4.2.تقنية أحادية ثنائية الصيغة الصبغية 15
5.2التهجين الجسدي 16
6.2 . التباين الجسدي 16
1.6.2.مبدأ التغيرات الجسدية 17
2.6.2.أصل التباينات الجسدية 17
3.6.2.مراحل إنتاج التباينات الجسدية 18
4.6.2.أهمية التباينات الجسدية 18
5.6.2.العوامل المؤثرة على التباينات الجسدية 18
6.6.2.وسائل تقييم التغيرات الجسدية 22
7.6.2.إيجابيات التباين الجسدي 22
8.6.2.سلبيات التباين الجسدي 22
IV. الإنتقاء المخبري 23
1. تعريف الإنتقاء المخبري 23
2. أهمية الزراعة النسيجية في الإنتقاء الصنفي تحت الظروف الملحية 23
3. إنتقاء النباتات المقاومة للملوحة 24

الفصل الثاني: مواد وطرق البحث

1. مكان التجربة 25

2. تصميم التجربة 25
3. المادة النباتية 25
4. المعاملات الملحية 27
5. طريقة الاستنباتIn vitro 29
1.5 مكان التجربة 29
2.5 تنفيد التجربة 29
1.2.5 تحضير محلولHoagland 29
2.2.5 تحضير مكونات الزراعة النسيجية(MS, 1962) 31
3.2.5تحضير وسط الزراعة النسيجية MS 32
3.5عملية التعقيم 33
4.5عملية زراعة المرستيم 34
6. الدراسة المطبقة في هذه التجربة 35
1.6عملية الإكثار الدقيق 35
1.1.6عملية الزرع المطبقة 35
2.1.6القياسات المطبقة 36
2.6عملية تشكيل الكالوسات 39
1.2.6عملية زرع وتكييف الكالوسات 39
2.2.6 القياسات اثناء انتاج الكالوسات 39
7. الدراسة الإحصائية 40

الفصل الثالث: النتائج والمناقشة

I . النتائج

1. دراسة الإكثـــار الدقيـــق 42
1.1 التحليل الوصفي لأثر الفعل النوعي للملوحة على الأصناف المدروسة 42
1.1.1.على مستوى حلقة الارتباطات 42
2.2.1. على مستوى مصفوفة معامل الارتباطات 45
3.2.1. على مستوى المنحنى البياني توزيع الافراد 48
2.1 التحليل الاستدلالي لاثر الفعل الكمي للملوحة على الأصناف المدروسة 49
1.2.1.الدراسة المورفولوجية 52
2.2.1.الدراسة الكيميائية 60

2. دراسة تشكيل الكالوسات 67
1.2. التحليل الوصفي لأثر الفعل النوعي للملوحة على الأصناف الوراثية المدروسة 67
1.1.2.على مستوى حلقة الارتباطات..... 67
2.1.2 على مستوى مصفوفة معامل الارتباطات 67
3.1.2.على مستوى المنحنى البياني لتوزيع الأفراد 69
2.2. التحليل الاستدلالي لأثر الفعل الكمي للملوحة على الأصناف الوراثية المختبرة والتداخل بينهم..... 70
II . المناقشة 83
1. مرحلة الإكثـــار الدقيـــق.....83
2. مرحلة تشكيل الكالوسات.....88
الخاتمة العامة والافاق المستقبلية
المراجع
المراجع بالعربية
المراجع بالاجنبية
الملاحق

المقـــــــــدمة :

يعـد نبات البطاطـس *Solanum tuberosum*L. أحـد نباتــات العائلــه الباذنجانيــة Solanaceae وهــي مــن المحاصـيل الغذائيـة المهمـه جـدا إذ لايمكـن الإسـتغناء عنهـا فـي الكثيـر مـن دول العـالم(Oggema et al.2007) فهي تـأتي في المرتبـه الرابعـة بعـد محاصـيل القمح والارز والـذرى مـن حيـث الإنتاجية (Jones,1994).

يعتبر محصول نبات البطاطس احد أهم المحاصيل الزراعية في العالم وقد شهد تغيرات كبيرة . فمنذ نهاية القرن الماضي كانت أغلبية أصناف نبات البطاطس تزرع وتستهلك في أوروبا و أمريكا الشمالية. عقب إدخال البطاطس إلى الجزائر في منتصف العقد الأول من القرن 19م، كانت تزرع بصورة رئيسية من أجل التصدير للأسواق الفرنسية ، و ما إن نالت الجزائر استقلالها عام 1962 حتى كان المزارعون يحصدون 250000 طن سنويا في المتوسط و كان يوجه ثلث هذه الكمية إلى أسواق التصدير. و منذ ذلك الحين أصبح نبات البطاطس محصولا هاما للإستهلاك المحلي.(FAO, 2008). حيث ان في الجزائر ارتفع انتاج نبات البطاطس بشكل كبير من 1207690 طن في عام 2000 الى 4673516 طن في عام 2014 (FAO , 2016 ; Chahredine , 2018) فكانت أكثر الولايات إنتاجية: ولاية الواد بـ 11.7 مليون قنطار (24٪) ، ولاية عين الدفلة مع 7.3 مليون قنطار (15٪) وولاية مستغانم 3.7 مليون قنطار(08٪). على النقيض من البلدان الشمالية التي تزرع فيها البطاطس خلال موسم واحد فقط ، يتم زراعة نبات البطاطس وفق ثلاث مواسم زراعية وهي : الموسم الأساسي والموسم المتأخر والموسم المبكر و التي توفر تحكما جيدا في الإنتاج التخطيطي المسبق التخزين و الجاهز للتصدير. (Amrar *et al.*, 2005) .

يعتبرنبات البطاطس من المحاصيل الحساسة للملوحة بالمقارنة مع المحاصيل الخضرية أخرى مثل الشمندر والسبانخ واليقطين. يبدأ أداء النباتات بالإنخفاض عندما يزداد مستوى الملوحة في مياه السقي عن حد معين يدعى بالعتبة الحدية للمحصول تجاه الملوحة. وبالنسبة لمحصول نبات البطاطس فإن الخسارة في المحصول تبدأ عند مستوى 500مغ/لتر من المواد الصلبة الذائبة (Stevens and Heap., 2001)

تهدد الملوحة 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)، كما ان الأراضــي الزراعية تمســها الملوحة بنسـبة 5 % (Munns *et al.*, 1999)، في حين يعاني ثلث الأراضي المسقية الملوحة بسبب مياه الري (Singh and Chatrath., 2001) **.**

سمحت الزراعة النسيجية والتقنيات الحيوية الحديثة بفتح آفاق جديدة لإثراء التنّوع النباتي، سواء عن طريق إنشـــاء أنواع جديدة، أو بتعديل الأنواع المعروفة، خاصـــة المقاومة للملوحة (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 مغذي وملائم لتطورها (Dubois, 1989).اذ أصبح تطبيق تقنيات وطرق إنتاج النباتات المقاومة للملوحة منتشرا بكثرة في مختلف أنحاء العالم (Mansour and Salama., 2004).

يمكن اكثار نبات البطاطس بتقنية زراعه الانسجة النباتيه *in vitro* اذ تساهم هذه التقنيه بتقليل فرص الاصابه بالامراض النباتيه(Wambug,1995), كما تشكل طريقة مهمة لانتقاء النباتات المقاومة للملوحة (Anura, 1988 ; Ekanayake and Dodds, 1993)؛ وذلك كون قدرة تحمل النباتات للملوحة في الحقل يتطلب الوقت والعمل الكبير، كما أن الإنتاج يتأثر بتغيرات الوسط المحيط، فكانت تقنيات الزراعة النسيجية هي الحل لربح الوقت (Yanling, 1998) اذ ان الإكثار الدقيق يعتبرإحدى الطرق المهمة في توفير الشتلات المختلفة كما كان تقدير وتحسين تحمل الملوحة لدى نبات البطاطس مخبريا على مستوى الكالوس من الحلول المتبعة (Sabbah and Tal, 1990)؛ رغم ان اعمالا مخبرية قليلة نجحت في إنتاج نبات بطاطس مقاوم للملوحة على المستوى الخلوي (Sabbah and Tal., 1990; Ochatt1 *et al*., 1999 ; Benavides *et al*., 2000).اد تتيح تقنيات زراعة الانسجة النباتية للباحث تعريض اعداد كبيرة من الخلايا لعوامل الاجهاد في مساحات صغيرة وبوقت قصير ، فضلا عن انها تزيل تاثير التداخل الدي يحصل عند دراسة تاثير عامل ما على نمو النبات وتطوره داخل الجسم الحي (Rai et *al* ,2011) عن (حسنين، 2016).

يندرج هذا العمل ضمن مجال تطبيقات الزراعة النسيجية، لإنتاج وتحسين النباتات الزراعية و تحديد سلوك أربعة أصناف وراثية Spunta ، Timate ، Bartina و Désirée أثناء عملية الإكثار الدقيق و إنتاج او استحثاث الكالوسات من اوراق نبات البطاطس، عند تعرضها للتوتر الملحي، والذي يشكل مرحلة هامة في انتقاء وتحسين نبات البطاطس المقاوم للملوحة.

إذن من خلال هذا العمل حاولنا الإجابة على تساؤلات أساسية:

- **ما مدى مساهمة الزراعة النسيجية في الانتقاء الصنفي لدى نبات البطاطس ؟**
- **- ما هي الشروط المثالية لتشكل الكالوسات؟**
- **- ما هو تأثير التراكيز الملحية المضافة إلى الوسط على عملية الاكثار الدقيق و الكالوسات؟**
- **- ما هي قدرة الكالوسات على تحمل الملوحة؟**

استرجاع المراجع

I. عموميات حول نبات البطاطس

1. لمحة تاريخية عن نبات البطاطس

*** التعريف بالنبات:**

يعتبر نبات البطاطس *Solanum tuberosum* L. من كاسيات البذور ثنائية الفلقة وهو نبات عشبي حولي ينتمي الى العائلة البادنجانية ينتج درنات تسمى "البطاطس" ، وهي كلمة مستمدة من لغة قديمة في جنوبي أمريكا (Catherine, 1985).

يعد نبات البطاطس من النباتات ثلاثية الكربون وينتمي للنباتات ذات النهار القصير (خنيفي، 2008) وقد صنفت في المجموعة الثالثة حسب حاجتها الحرارية فهي تقع بين النباتات المقاومة للبرودة والمحبة للحرارة فسيقان واوراق نبات البطاطس محبة للحرارة اما الدرنات فتحتاج لدرجات حرارة منخفضة نسبيا (كذلك، 2001).

- **الأصل وتطور نبات البطاطس :**

بدأ تاريخ نبات 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 بدأت زراعة نباتات البطاطس البرية التي كانت تنمو بصورة وفيرة حول البحيرة (Donald, 2007).

ويعتقد 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).

خلال منتصف القرن السادس عشر انتشرت زراعة نبات البطاطس في الدول الاوروبية وادخلت الى مصرفي عهد محمد على في اواخر القرن التاسع عشر وتم تصديرها بعد ذلك الى انجليترا وتوسعت الى مختلف بلدان العالم (حاج على، 2010).

- **القيمة الغذائية لنبات البطاطس :**

يعتبر نبات البطاطس من الخضر الغنية بالمواد الغذائية وهي من أكثر الاغذية تحفيزا للطاقة، حيث توصل كثير من الباحثين في العديد من الدراسات الى وجود اختلاف في التركيب الكيميائي لذبات البطاطس وذلك حسب النمط الوراثي ونوع التربة التي تنمو بها والظروف البيئية والمعاملات الزراعية المختلفة ودرجة النضج واللون والنكهة وظروف التخزين ، لذا فمن الصعب تحديد تركيبها الموحد

(Ahmad ,1979) . والجدول(01) يوضـح نتائج التحليل الكيميائي حسـب (Camire et al. ,2009) المقدرة في 100 غ من نبات البطاطس.

جدول (01) : القيمة الغذائية في 100غ من البطاطس

العناصر	الكمية
ماء	79 غ
نشاء	% 18.2-12.6
بروتين	% 2.1-0.6
الكربوهيدرات	17 غ
الدهون	% 0.075-0.2
الاملاح المعدنية	% 1
الحديد	0.8 ملغ
النحاس	0.16 ملغ
المنغنيز	0.17 ملغ
البوتاسيوم	280-264 ملغ
االمغنيسيوم	18-14 ملغ
زنك	0.3 ملغ
جلوكوز	% 0.01-0.6
فركتوز	% 0.01-0.6
سكروز	0.13-0.68
اسبرجين	110 ملغ
نيتروجين	% 0.2 -0.4
فوسفور	30-60 ملغ
الفيتامينات	13 ملغ
B_1	0.11 ملغ
B_2	20.04 ملغ
B3	31.2 ملغ
B_6	60.2 ملغ
C	13 ملغ
E	0.1 ملغ

- **مكانة البطاطس في الزراعة العالمية**

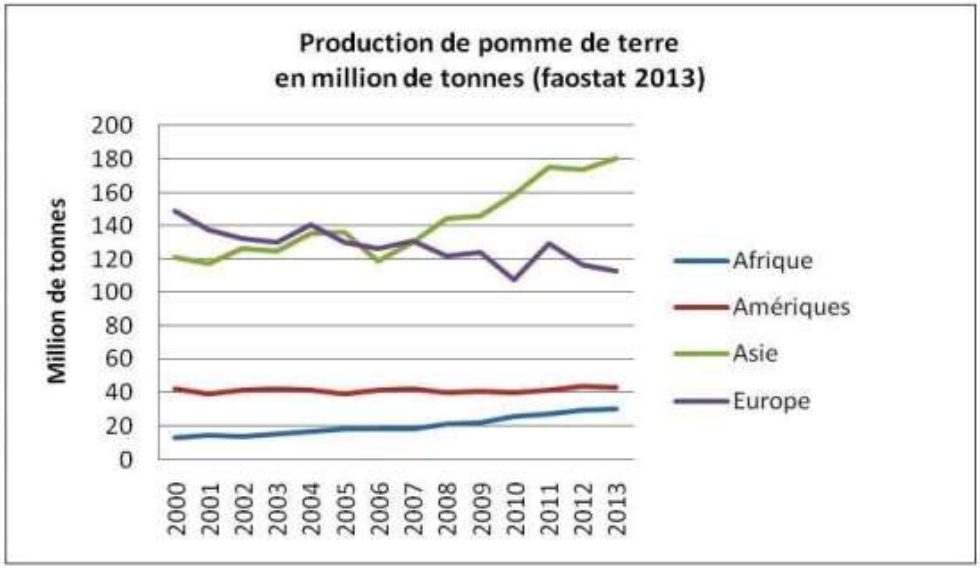
بلغ المنتوج العالمي لنبات للبطاطس سنة 2013 لأكثر من 368 مليون على مساحة 19.4 مليون هكتار. كما تشير تقديرات الإنتاج إلى ارتفاع ملحوظ في زراعة نبات البطاطاس في البلدان النامية خلال السنوات العشر الماضية، بينما كان هناك استقرار في الدول المتقدمة. في إفريقيا إزدادت الزراعة في السنوات الأخيرة بنسبة مذهلة بلغت 180% تتبعها آسيا بنسبة نمو بلغت 133% (Rolot and Vanderhofstadt, 2014)

يوجد أكبر بلدين منتجين لنبات البطاطس على طول البحر الابيض المتوسط شمال أفريقيا وهما مصر بنسبة (4.8مليون طن) حيث يتم تصدير جزء من الإنتاج، والجزائر (4.4 مليون طن) اذ يعتبر غذاء استراتيجي للسكان. كما تعد بلدان شمال أفريقيا الأخرى من المنتجين والمستهلكين المهمين (المغرب وتونس). على نفس خطوط العرض ولكن في جنوب أفريقيا ، حيث تأتي بلدان هذه المنطقة في المرتبة الثالثة أفريقيا (2.2 مليون طن). شكل (03) .(Rolot et Vanderhofstadt, 2014)

في حين أن زراعة البطاطس تعد من بين أكثر الزراعات الواعدة في أفريقيا ، فإن تطويرها لا يزال يعوقه العديد من القيود التي يمكن أن نذكر منها ما يلي:

- محدودية الوصول إلى البذور الجيدة .
- نقص المعرفة الفنية بين المزارعين.
- البنى التحتية للتخزين غير الموجودة أو ضعيفة الأداء.
- عدم وجود أصناف قوية تتكيف بشكل جيد مع ظروف النمو المختلفة.
- صعوبة الوصول إلى التمويل و الدعم.

حاليا، تعتبر زراعة نبات البطاطاس ذات أهمية اقتصادية وجغرافية كبيرة لأنها يمكن أن تساعد في معالجة نقص الغذاء في بعض مناطق العالم كما أن هذا المحصول لديه مردود مرتفع للغاية لكل هكتار. كما يستخدم أيضا في مجالات أخرى مثل الكيمياء و الصيدلة. (Rolot et Vanderhofstadt, 2014)



الشكل 1: الإنتاج العالمي لنبات البطاطس بين سنة 2000 و 2013 (Vanderhofstad, 2014)

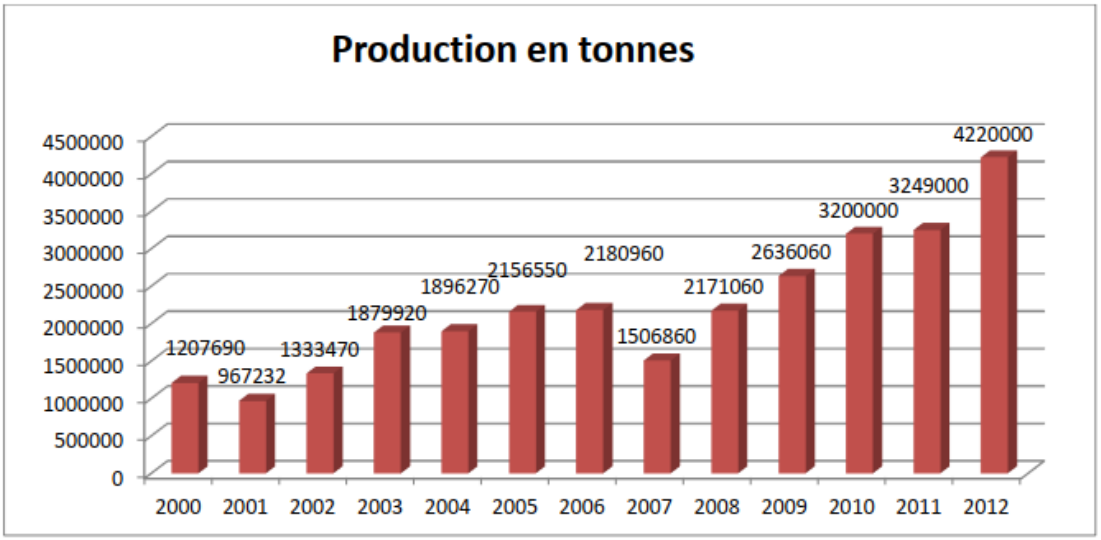
- **زراعة نبات البطاطس في الجزائر :**

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, 2013)

يمكن زراعة نبات 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 يصل علوها 500 م، في المناطق المحاذية للبحر ومرتفعات الأطلس التلي والهضاب العليا مثل سطيف، عين الدفلى، معسكر.

بلغ الإنتاج في الجزائر خلال 2013/2012 لجميع فئات محاصيل البطاطس مجتمعة حوالي 4.5 مليون طن ، بما في ذلك 0.45 مليون طن من البذور. في مساحة زراعية تبلغ حوالي 125000 هكتار كان متوسط المردود لجميع أصناف النبات حوالي 28 طن لكل هكتار ، مع سجلات تصل إلى 60 طن للهكتار الواحد. .(FAO, 2013)



الشكل 2: الإنتاج الزراعي لنبات البطاطس من سنة 2000 إلى 2012(FAO 2015)

2. التصنيف

صنف نبات البطاطس حسب التصنيف (Cronquist ,1981) الى:

Régne : Plantae

Clade :Dicotyledone

Sou-régne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe :Asteridae

Ordre : Solanales

Famille : Solanaceas

Sous-Famille : Solaniodeae

Genre : Solanum

Espéce : *Solanum tuberosum* L

3.بيئة نبات البطاطس

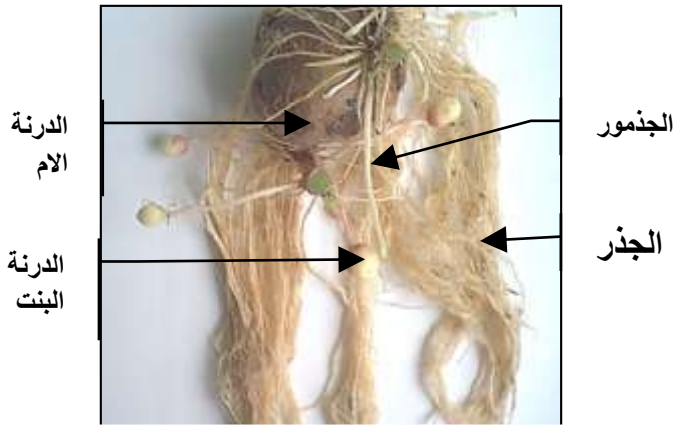
يعد نبات البطاطس من محاصيل الفصول الباردة؛ يحتاج خلال الشهرين الأولين من حياته إلى جو دافئ من 20ْإلى 25ْم، ونهار طويل نسبيا، وذلك لتشجيع تكوين المجموع الخضرى والجذرى المناسبين، ثم يميل إلى جو البرودة 15ْإلى 18ْم، والنهار القصير أثناء فترة تكوين ونمو الدرنات الجديدة؛ يتأقلم نبات البطاطس مع عدة أنواع من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

ان نبات البطاطس الشائعة في أغلب 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 (Rousselle *et al.*, 1996; Ehsanpour et *al.*, 2007).

4. مورفولوجيا نبات البطاطس :

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؛ أما المدقة فتتكون من كربلتين ملتحمتين في المبيض ؛ والتي تتحول إلى ثمار عند النضج؛ بالنسبة للتلقيح عند زهرة نبات البطاطس يكون ذاتي، وهي خالية من الرحيق (Rousselle *et al.*, 1996).

تكون الثمرة عند نبات 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 نبات 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 الصنفيكما يعتبر الجزء الترابي الأهم في النبات، لاحتوائه على الدرنات ذات القيمة الغذائية، وهو يتكون من الجذور والسيقان الترابية القصيرة (درنات) (Rousselle *et al.*, 1996) ،وقد تكون بعدة ألوان: حمراء، بيضاء، صفراء، خضراء، أو سمراء (Donald, 2007) (الشكل1 و 2).



الشكل 3: : الجزء الترابي لنبات البطاطس

الشكل 4: بعض أنواع درنات نبات البطاطس

5. **التكاثر عند نبات البطاطس :**

يتكاثر نبات البطاطس بطريقين:

- التكاثر الخضـري وهو شـائع جدا، يتم بفضـل الدرنات كاملة أوقطع الدرنات (Zhijun *et al.*, 2005)، أو بفضل تقنيات الزراعة النسيجية (OECD, 1997).

يمر النبات خلال الدورة الخضرية بثلاث أطوار:

- ✓ طور سكون براعم الدرنات، الذي يمتد من موت الجزء الخضري للنبات، ونزع الدرنات منه حتى الإنبـات، اذ لا يمكن للـدرنـات الإنبـات، حيـث تتوفر الظروف الملائمـة من حرارة ورطوبة، لأن معظم النباتات لا تسـتطيع البقاء على قيد الحياة تحت ظروف حرارة الشـتاء الباردة فى حالة خضـــرية أو زهرية، لذلك تلجأ إلى إدخال براعمها وبذروها في طور السكون مع بداية الشتاء البارد للحفاظ على حياتها. (Madec and Perennec.,(1962
- ✓ طور الإنبـات ونمو البراعم، حيث بعد حـدوث تطورات فيزيولوجيـة على الـدرنـات، تظهر الشـــتلات، و تتحول فوق الأرض إلى ســـيقان مورقة، وتحت الأرض إلى جذور؛ تتميز هذه المرحلة بانطلاق عملية التركيب الضـــوئي؛ والتي تدوم مع المرحلة الأولى من 30 إلى 70 يوم، وهذا حســـب تاريخ الزراعة، العمر الفيزيولوجي للدرنة، بالإضـــافة إلى عوامل بيئية (Sobhy, 2002).

- ✓ طور النمو البطيء للشتلات وتشكيل الدرنات حيث بعد مدة أسبوع إلى أسبوعين، وحسب النوع وظروف الوسط، تنمو نهايات الجذمورات (les 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 الاخيرينتهي بموت الجهاز الخضري.

(Madec and Perennec, 1962)

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

- **أهم مواصفات أصناف نبات البطاطس :**

تختلف أصناف نبات البطاطس من حيث طبيعة نمو الساق، و لون الساق، و حجم الوريقات و لونها، و طبيعة الأزهار ولون و ملمس جلد الدرنة و تشكل الدرنة، ولون لحم الدرنة، و عدد العيون و عمق العيون و توزيعها على سطح الدرنة ، وتقسم هذه الاصناف الى خمسة مجموعات رئيسية حسب عدد الأيام اللزمة لها من تاريخ زراعتها حتى موعد حصادها (حسن ،1999) وحسب السيد ،(2006) تم تقسيمها الى :

أ- **الأصناف المبكرة النضج :** مثل Jaerla ، Accent، Barber وهذه الأصناف تحتاج لحوالي 90-95 يوما من تاريخ الزراعة حتى تصل الى مرحلة النضج.

ب- **الأصناف النصف مبكرة النضج :** مثل Spunta ، Marfona، Timate، Ajax وهذه الأصناف تحتاج لحوالي 100-105 يوما من تاريخ الزراعة حتى تصل الى مرحلة النضج.

ج- **أصناف مبكرة الى نصف متأخرة النضج :** مثل Agira ، Draga، Nicola وهذه الأصناف تحتاج لحوالي 105-110 يوما من تاريخ الزراعة حتى تصل الى مرحلة النضج.

د- **الأصناف النصف متأخرة :** مثل Diamant ، Desiree، Van Gogh وهذه الأصناف تحتاج لحوالي 110-115 يوما من تاريخ الزراعة حتى تصل الى مرحلة النضج.

ه- **الأصناف المتأخرة النضج :** مثل Mandial ، Baraka، Kara وهذه الأصناف تحتاج لحوالي 115-120 يوما من تاريخ الزراعة حتى تصل الى مرحلة النضج.

II. الملوحة

1 . ملوحة التربة

تنتج ملوحة التربة عموما عن تراكم الاملاح، حيث يعتبر الصوديوم Na^+، الكالسيوم Ca^{2+} المغنزيوم Mg^+2، والبوتاسيوم K^+ ، من أكثر الكتيونات المرافقة للملوحة، في حين أن الكلور Cl السولفات SO_4^{-2}، و البيكربونات HCO_3^- هي الأنيونات السائدة، التي تشكل الأملاح الذائبة الموجودة في التربة، مثل كبريتات الصوديوم Na_2SO_4 ، كلور البوتاسيوم KCl، كبريتات البوتاسيوم K_2SO_4، كلور المغنزيوم $MgCL_2$، كبريتات المغنزيوم $MgSO_4$، كلور الصوديوم NaCl (Yanling, 1998; El-Swaify, 2000)، والتي يسبب انخفاض إدمصاصها إرتفاع الناقلية الكهربائية (Flowers, 2004). يبقى NaCl المتسبب الرئيسي في ملوحة التربة، لأنه السائد في تركيبها بنسبة **70%** Yanling, (Heribert, 2003; 1998) ، اضافة الى التأثيرات السلبية لأيونات Na^+ وCl^- على البنية الفيزيائية للتربة والسمية للنبات (Jan *et al*, 2005).

1.1. مصدر الأملاح في التربة

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

- تفتت صخر 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). بالإضافة إلى:

- نشاطات الإنسان الزراعية، خاصة الري بالمياه المالحة تسبب تراكم الأملاح في التربة.
- استبدال النباتات الأصلية بأخرى ، والتي تحتاج إلى عملية السقي (Munns., 2002).
- استعمال الأسمدة الكيميائية و التي تساهم في تكوين الأراضي الملحية التي تشكل 20 **%**، وهي الملوحة الثانوية (FAO, 2008) .

2.1. الإجهاد الملحي

يعبر عن اضـــطراب في أحد العوامل الخارجية التي تســـبب خللاً يعيق أو يؤثر على الوظيفة العادية للنبات. كما يوصـــف على أنه زيادة تركيز مختلف الأملاح في التربة، مما يؤدي إلى انخفاض جهدها المائي، وبالتالي عجز النبات على امتصـاص المـاء رغم توفره في الوسـط (William, 1999).

2. أثر الملوحة على النباتات :

تبدي النباتات النامية في وسط عالي التركيز من الأملاح حالتين جد متلازمتين

- الحالة الأولى والتي يمكن اعتبارها التأثير المباشر للأملاح وهي الحالة الناجمة عن التأثيرات المباشرة للأيونات في حد ذاتها (التأثيرات النوعية للأملاح)
- الحالة الثانية أو غير المباشرة ، والتي تنجم عن انخفاض الجهد الأسموزي للوسط (التأثيرات الأسموزية).

عموما تؤثر الملوحة على النباتات باليتين هما: (Matsumoto and Shung, 1988)

أ- التأثيرات الأسموزية :

وتسمى ايضا الجفاف الفسيولوجي حيث ان هناك دراسات عديدة تشير الى تاثير الاملاح على انبات بذور النباتات الملحية وغير الملحية يرجع الى تاثير اسموزي ، وذلك عن طريق تثبيط الاملاح وعدم تشرب البذور للماء نظرا لانخفاض الجهد المائي للمحلول الملحي. (Levitt , 1977).

ب- التأثيرات النوعية للأيونات :

يعتقد أن بعض مثبيطات النمو المختلفة بفعل الأملاح راجعة إلى التأثيرات النوعية للأيونات ، لقدأمكن إظهار التأثيرات النوعية للأملاح أول الأمر في الفاصوليا الخضراء ، إذ أنه يظهر تثبيط حاد في النمو بفعل المواد المتعادلة أسموزيا مقارنة بتأثيرNacl . مما ينجم عنه تأثيرات خاصة بهذه الأملاح على مستوى أنشطة مكونات الخلايا وهي تختلف باختلاف الملح السائد في الوسط . (Greenway,1973) .

1.2. أثر الملوحة على النمو الخضري و الجذري :

ان استعمال المياه المالحة في سقي نبات الفاصوليا عند مستوى عالي من الملوحة يكون ضعيف النمو وبالتالي فهو نبات حساس واثبتوا أن السقي المتواصل بالماء المالح يؤدي إلى تراكم الأملاح في التربة كما بين أن السقي بالماء المالح عدة مرات يؤدي إلى إعطاء نمو أفضل وأحسن من ذلك المروي مرة واحدة كما أصبح من الواضح الآن أن الملوحة تعمل على تقزم السوق الرئيسية وتقلل من تكون الفروع الجانبية

والتي تكون حاملة أوراق قليلة العدد ، صغيرة الحجم والمساحة ، مما ينعكس سلبا على النمو الخضري والجذري مسببا ضعف كل منهما سواء في الحجم أو الوزن ، عند الكثير من نباتات المحاصيل الزراعية

(Delane et al., Ouahrani, 1989 ; Francois *et al* 1986; Selim and Ashor . ,1994 (Redmann and Huang, 1995; 1982

كما أن تأثير الملح يغير كميا ونوعيا على حسب الأعضاء المختلفة للنبات حيث يظهر التأثير على الأجزاء الهوائية أكثر منه على الأجزاء الأرضية ، إذ أشارت بعض الدراسات إلى تحفيز نمو جذور النباتات المقاومة تحت فعل الملح مع نقص نمو الأجزاء الهوائية كما في نبات البنجروالقمح ،وقد عرف بان النباتات المقاومة لدرجات معينة من الملوحة (عتبة التحمل) ، يمكنها أن تحافظ على الأقل على 50% من نموها العام (Ouahrani,1989) .

2.2.أثر الملوحة على نمو الأوراق والسيقان :

يعتبر تأثير الملوحة على نمو الأوراق من الجوانب المهمة التي حضيت بدراسات عديدة نظرا لأهمية هذه الأخيرة في عملية التركيب الضوئي إذ أنه سجل اختزال في المساحة الورقية بالنسبة للنباتات الحساسة تحت تأثير الملوحة في نبات البصل يكون نقصان الأوراق كبيرا ويتراوح ما بين 20-40% وهذا في الوسط الذي به 50 مول/ل منNacl . وعلى العكس في النباتات المقاومة فإن الملوحة لا تغير المساحة الورقية وهذا في نبات *Atriplex nummularia* وتضاعفها في تركيز 10 مول/ل عند نبات *Atriplex halimus* بالمقارنة مع الشاهد وهذا حسب (1970)., Gale et al والتي تخص نبات الفاصوليا دائما كما أن النتح يقل نسبيا مع الملوحة المرتفعة وأنه عند نقل النبات من وسط مالح إلى وسط غير مالح سجلت زيادة في معدله كما وجدوا أن المساحة الورقية وعدد الأوراق ينخفض في النباتات المعرضة للملوحة .

واكد الشـــحات (2000) ، ان الملوحة تعمل على تقزم الســيقان الرئيســية وتقلل تكوين الفروع الجانبية وتؤدي الى موت الفروع الغضــة حديثة التكوين ، كما انها تعمل على تثبيط النشــاط الكامبيومي وهذا كلما زاد تركيزها في الوسط . ومن خلال العديد من الدراسات ايضا لوحظ ان زيادة تركيز كلوريد الصوديوم في الوسط الغذائي أدى الى اختزال نمو المزارع النسيجية كطول الساق وعدد الأوراق عند نبات البطاطس (الصالحي وأخرون .،2014 ; Murshed et al .,2015 ; كامل واخرون .،2016).

3. استجابة النباتات للملوحة

1.3. مقاومة النبات للملوحة

تعرف مقاومة النبات للملوحة على قدرته على البقاء حيا في هذا الوسط (Shannon and Grieve, 1999. ولذلك قسمت النباتات حسب مقاومتها للملوحة إلى مجموعتين:

- **النباتات المحبة للملوحة:**

متأقلمة في الأوساط المالحة، وتستطيع إكمال دورة حياتها تحت ظروف الملوحة العالية (Lincoln and Edduardo, 2002). يمكن النمو للأنواع عالية المقاومة في وسط يتراوح فيه تركيز NaCl بين 200 الى 500 ملي مول (William, 1999; Flowers, 2004) حيث تقوم بتجميع الأملاح على مستوى الساق (Flowers and Flowers, 2005).

- **النباتات الحساسة للملوحة**:

هذه النباتات لا تستطيع مقاومة الملوحة عند تراكيز معينة إذ يبدأ تأثرها عند التركيز 50 ملي مول من NaCl وهي تشكل معظم النباتات المزروعة ، مثل نبات البطاطس التي ينخفض إنتاجها في التربة الملحية (22-33 ملي مول من NaCl). (Jan *et al*., 2005 ; William, 1999)

2.3 آليات مقاومة الملوحة:

من بين اليات مقاومة الملوحة ما يلي :

- التعديل الأسموزي وهو ارتفاع الضغط الاسموزي للمحتوى الخلوي نتيجة تراكم الاملاح والمواد الذائبة من اجل ميكانيزم المقاومة .
- تراكم الأيونات السامة في فجوات خلوية، لتبعد عن المكونات الهيولية الحساسة.
- انتقاء الأيونات الممتصة، والذي يتم على مستوى الجذور، أو الطرد الملحي بعملية النتح على مستوى الأوراق.(محمد ، 1999)

4. استجابة نبات البطاطس للملوحة :

تتميز الاستجابات الفيزيولوجية للملوحة عند نبات البطاطس، بحدوث انخفاض هام للجهد الاسموزي والمحتوى المائي للأوراق، بزيادة شدة ظروف الإجهاد الملحي، كما لوحظ زيادة في تجميع الكلور والبرولين (Bruria and Arie., 1998) ويمكن تلخيص بعض هذه الاعمال فيما يلي :

- إنخفاض الوزن الرطب و الجاف للكالوسات المتأقلمة مقارنة بالكالوسات غير المتأقلمة مع كل التراكيز (100، 150، 200، 250، 300، 350 ملي مول من ملح NaCl) حسب (Sabbah and Tal ., 1990)
- يمكن لسلالات خلوية لنبات البطاطس أن تنمو على وسط يحوي **60** إلى **450** ملي مول من **Nacl**.(Ochatt1 *et al*., 1999)

- تركيز **NaCl** في الوسط يؤدي إلى انخفاض معدل نمو الكالوسات .(Benavides *et al.*, 2000)

-انخفاض المعدل النسبي للنمو للكالوسات المتأقلمة و المحتوى المائي مع انخفاض كبير عند **150** ملي مول من **NaCl**. (Queiros *et al* .,2007)

- زيادة في كمية حمض الأسكوربيك و البروتينات الذائبة و غير الذائبة عند**100** و **150** ملي مول **NaCl** يكون أقل انخفاضا مقارنة بالكالوسات الشاهدة(Queiros et al .,2007) .

- الوزن الرطب للكالوسات يكون أقل انخفاضا في تراكيز الملح المستعملة، عكس الوزن الجاف. (Queiros *et al.,2007)*

III.الية تحسين نبات البطاطس

1. نبذة تاريخية

سعى الإنسان منذ ظهوره إلى تحسين النباتات المزروعة لتغطية حاجياته نوعيا وكميا، وذلك بإنتاج أنواع نباتية ذات خصائص مورفولوجية، فيزيولوجية، بيوكيميائية، أو فلاحية مرغوبة ؛ ورغم مساهمة الطرق التقليدية في الحصول على بعض النتائج، إلاّ أنها تميّزت بمحدوديتها، في حين وجه المهندسون الوراثيون ومربوا النباتات منذ بداية الثمانينات جهودهم الى استغلال تقنيات زراعة الانسجة في وضع استراتيجيات جديدة لتربية النبات وابحاث البيولوجيا الجزيئية من اجل التحسين الوراثي للمحاصيل الزراعية من خلال استعمالها في مجال الاكثار المكثف للعديد من الانواع النباتية والاصناف ذات الاهمية الاقتصادية، اذ تم انتاج نبات البطاطس خالية من الامراض الفيروسية والبكتيرية وذلك بزراعة المريستيمات. (Souza *et al.*, 2005., Koriesh *et al.*, 2003)

2. التقنيات الحديثة المستعملة لتحسين نبات البطاطس

تعتبر نبات البطاطس من أكثر النباتات التي تعتمد على تقنيات الزراعة النسيجية لتحسينها (Richard, 2005)؛ من بين هذه التقنيات نذكر:

1.2 .الإكثار الدقيق :

1.1.2. تعريف الاكثار الدقيق :

الإكثار الدقيق هو أحد تقنيات زراعة الأنسجة التي انتشرت بسرعة كبيرة في المجال التطبيقي و التي تستخدمها معظم المخابر التجارية في العالم لإكثار النباتات. في العادة تتكاثر النباتات عن طريق البذرة أو عن طريق التكاثر الخضري ، فالإكثار الدقيق عبارة عن تكاثر البراعم الجانبية الموجودة مسبقاً على النبتة

الأم. بالتالي هذا يضمن المطابقة الوراثية واستقرارًا الصفات الوراثية خلال عمليات الزرع المتعاقبة (Demol et al., 2008).حيث أن معدل التضاعف يزيد بمقدار يتراوح من 100 إلى 1000 مرة . (Ochatt et al.,1999)

نشأت تقنية الإكثار الخضري الدقيق بعد النجاح في زراعة المريستيمات إذ تم بواسطتها إكثار نباتات سليمة و خالية من الأمراض و قد يحدث خلط أحيانا بين مفهومي تقنية زراعة المريستيم التي تعتمد على زراعة جزء صغير جدا من النبات طوله يتراوح ما بين 0.1 ملم إلى 0.3 ملم مما يجعل الزراعة أمرا صعبا و نسبة النجاح منخفضة، و تقنية الإكثار الخضري الدقيق التي تستعمل بهدف إنشاء سلالات و الحصول على نسل كبير يستخدم للزراعة العادية. (مروان ،1995).

2.1.2 . مميزات الاكثار الدقيق :

- السرعة الفائقة في إكثار النباتات خاصة بعض الأصناف النادرة و المرغوبة مثل نبات الأوركيد (Orchides) الذي يتميز ببطء نموه.
- التوفير في المساحات من الأرض الزراعية لإنتاج الشتلات ففي هذه التقنية تشغل 6 انابيب مساحة 25 سم2 من الرفوف في غرفة الزراعة حيث أن مساحة 100م^2 من الرفوف في غرفة الزراعة تحل محل 100 هكتار من الزراعة الحقلية.
- إكثار النباتات الطبية ذات القيمة الصيدلانية العالية بأعداد كبيرة و في فترة زمنية قصيرة و في أماكن بعيدة عن مواطنها الأصلية.(مروان، 1995)
- يسمح بتحسين قدرات التجذير .(Soltner,2005).

2.2.زراعة المرستيم:

الأنسجة الإنشائية عبارة عن أنسجة تكوينية وهي دائمة النمو وتمنح بنية تكوينية دائمة عند النباتات المتطورة. هذه الانسجة تمثل كتلا من الخلايا الغير متمايزة (قطر من 0.1 الى 0.5 مم) حيت تحافظ على قدرة الانقسام النشط و على خاصيتها الحية دائما و تلعب دورا حيويا في نمو النباتات لأنها تمثل القاعدة الأساسية لجميع أجزاء النبتة. (Margara, 1989).

يعتبر زراعة النسيج الإنشائي الطريقة الأكثر انتشاراً والأكثر أماناً لتجنب ظهورنباتات لا تتوافق مع النبتة الأم أو صنف متغير (Saadi, 1991). من خلال عملية إكثار النسيج الانشائي في الجزء العلوي للنبات أو في البرعم الجانبي، الذي يكون خالياً من الأمراض يمكن الحصول على سلالات خالية من الأمراض التي تأثرت بها سابقا .(Sama , 1998).

3.2. التحويل الوراثي :

يتم تحويل مورثات إما من كائن إلى آخر أو في نفس الكائن، بهدف إنتاج نباتات ذات خصائص وراثية جديدة، وفق طريقين أساسيين :

- بالتحويل المباشر للمورثات بفضل الناقل البكتيري *Agrobacterium tumefaciencs* .
- بالحقن المجهري.(El hamdouni et al., 1999; Éric, 2003)

فيما يخص نبات 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 نبات الطماطم المحولة بواسطة بكتيريا *Agrobacterium tumefaciens* لتركيب بروتين Neomycine phosphotransferase (Zamir et al., 1994)، البطاطس المحولة بالبكتيريا *Agrobacterium tumefaciens* لإنتاج بطاطس مقاومة للـKanamycin (Raffaela et *al*., 1988).

4.2 تقنية أحادية وثنائية الصيغة الصبغية

وصفت هذه التقنية لأول مرة من طرف Guha and Maheshwari (1964) ، حيث 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"، 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 نبات البطاطس، على تواتر ونمط التغيرات المحصل عليها (Yeoman, 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 نبات البطاطس ثنائي الصيغة الصبغية (2n = 2x = 24) انطلاقا ،من نبات البطاطس رباعية الصيغة الصبغية (2n = 4x = 48) من طرف ( ), Dunwell and Sanderland 1973، وأحادية الصيغة الصبغية (2n = x = 12) من طرف(1978),Sudhir *et al*.

5.2 التهجين الجسدي :

إن هضم الجدار السليلوزي الخلوي 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 لجنسين مختلفين او نوعين مختلفين، وهي عملية الدمج الجسدي، وناتج العملية هجين جسدي (Demarly and Sibi, 1989).

تعتبر العائلة الباذنجانية من أكثر العائلات النباتية نجاحا في إجراء التهجينات الجسدية، فعند نبات البطاطس كانت مع أجناس أخرى من نوع *Solanum* مثل *Solanum nigrum*، *Solanum chacoense*، *Solanum berthaultii* من اجل الرفع من مقاومة الملوحة (Amira *et al.*, 2007). أو بين نبات البطاطس وأنواع أخرى مثل الطماطم *Lycopersicum esculentum*. أو بدمج بروتوبلاست سلالتين من نبات البطاطس ثنائيي الصيغة الصبغية، لإنتاج هجين جسدي رباعي الصيغة الصبغية (Sylvia *et al.*, 1991).

6.2 التباين الجسدي :

استخدم Larkin and Scowcroft (1981) مصطلح التباين الجسدي Variations somaclonale لأوّل مرة للإشارة إلى التباينات الجينية المتناقلة والمكتشفة في النسل الجسدية "Somaclones"، والمحفزة عن طريق زراعة الأنسجة أو الخلايا مخبريا، تظهر أحيانا كأنها نمط ظاهري جديد في النباتات المتجددة انطلاقا من الزراعة النسيجية (Lepoivre and Semal, 1989).

خلال مرحلة تشكل الكالوس و زراعة المعلقات الخلوية، أو زراعة البروتوبلاست لخلايا نباتية، يمكن أن تحدث تغيرات وراثية عشوائية للـ ADN (Eric, 2003)، مصدرها غير معروف، ويكون التغير غير اعتيادي، اذ يسمى التباين الجسدي (El hamdouni *et al.*, 1999) .وهو مجموع التغيرات الوراثية المتحصل عليها بعد المرور بالظروف المخبرية (Dubois, 1989). يستدل عليها بظهور نسخ غير مطابقة مرفولوجيا أو فيزيولوجيا للنبات الأصلي، هذه الأنماط الجديدة سميت المتباينات المظهرية «Phénovariant» أو Vitro variant (Sibi ,1989) .

1.6.2 مبدأ التغيرات الجسدية :

يتشكل الكالوس خلال زراعة نسيجية، لقطع من النبات خالية من البراعم، في وسط مدعم بمنظمات النمو (Dubois, 1989; Rousselle *et al.*, 1996) ، ومن أي قطعة 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).

2.6.2 أصل التباينات الجسدية:

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

- **وراثي النمط**:

مستقرًا جينيا ويتناقل إلى الأجيال المتعاقبة (Parrot *et al.*, 1992)، يسمح بعزل طفرات مستقرة، تكتشف في الظروف المخبرية أو بعد تجديد النبات، وهو يستعمل في برامج التحسين النباتي (Kole, 2006). ينتج التباين الجسدي 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 و الذي قد يحدث بعدّة آليات:
  - ✓ تقطيع الصبغي إلى جزئين والحصول على 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:**

غير مستقر و ينقرض بعد الإنتاج عن طريق التكاثر الجنسي (Skirvin *et al*., 1994)، وهذا بسبب الاضطراب الفيزيولوجي، أو تضخيم المورثة (Kole, 2006).

3.6.2 مراحل إنتاج التباينات الجسدية:

ان مراحل انتاج التباينات الجسدية تتمثل في :

- تحريض إنتاج الكالوس
- يجدد النبات، بوضع أجزاء منه في وسط زراعي يسمح بتشكّل الكالوسات، وخلال هذا التجديد تحدث تعديلات كثيرة في النمط الوراثي والظاهري. (Sibi, 1989 ; Larkin *and* Scowcroft, 1981**).**

4.6.2 أهمية التباينات الجسدية :

يعتبر التباين الجسدي أهم مصادر التباين الجيني، والذي يترجم بظهور نسائل جسدية جديدة في النباتات المتوالدة وعلى نحو واسع (Larkin and Scowcroft, 1981)، وهي مختلفة عن النبات الأصلي المنحدرة منه، قد تتضمّن خصائص مهمّة كمقاومة الملوحة (Choi *et al*., 2000 ; Farhatullah and Raziuddin, 2002) إذن فهي مصدر للتنوع الذي يستعمل أحيانا في الانتقاء عند نبات البطاطس اذ أن التباين الجسدي مهم لانتقاء كالوسات مقاومة للملوحة (Ehsanpour *et al*., 2007; lutts et *al*, 2001., Bouharmont, 1991)

5.6.2 العوامل المؤثرة على التباينات الجسدية:

✓ **المادة النباتية:**

يمكن الحصول على التباين الجسدي 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 and 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 الجسدي، لان معدل الطفرات مرتبط بعدد التحولات في الظروف المخبرية (Demarly and Sibi, 1989)، حيث يتحكم عدد مرات النقل المخبري في عدد الطفرات الحاصلة (Skiiin and 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 الجسدية، كما وجد في حالة نبات البطاطس، حيث أن النمو البطيء يحفز إنتاج تباينات جسدية بكثرة .(Wang *et al*., 1994).

✓ **تركيب الوسط:**

يعتبر عامل مهم في تشكيل التباينات الجسدية (Angela, 1995)؛ كون إنتاج الكالوس مرتبط بالدرجة الأولى بميزان منظمات النمو، والذي يختلف حسب نوع الجزء الماخود والنوع المدروس (André et al., 2003)، حيث تختلف البرامج الوراثية حسب نسبة Cytokinine/ Auxine، فمن خلال الميزان الهرموني يمكن الحصول على التشكل العضوي المرغوب (Akbar and Hakoomat , 2004).

❖ **الأوكسين :**

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 (Sobhy, 2002).

❖ أن الأوكسين المركب يزيد من تغير الكرموزومات المتماثلة في جذر نبات الثوم *Allium sativum*، (Angela, 1995).

❖ **السيتوكينين:**

أهم خصائص ووظائف السيتوكينين هي:

✓ تأثيره على انقسام الخلايا.

✓ تأثير 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 والعناصـر إلى مكان وجودKinétine أو Zéatine أو Benzyl Adénine ومن هذه المواد الأيونات الغير العضـوية وجزيئات عضـوية مثل السـكر والأحماض الأمينية وأيضـا غالبية عصـارة الخشـب واللحاء فيتجه تيارها إلى المنطقة المستهدفة.

- ✓ ومن التطبيقات الهامة للسيتوكينين هو تأثيرها على السيادة القمية فتؤدي المعاملة به إلى تشجيع تكوين البراعم الجانبية(Sobhy, 2002) .

ان الكينيتين والسيتوكينين بتركيز 10^{-6} الى 10^{-5} مول تساهم في تشكيل الأجزاء الهوائية في الأوراق وبين العقد لعدد كبير من نباتات ثنائية الفلقة.(Oluf *et al* ., 1975)

الجبرلينات:

يؤثر الجبرلين على جدر الخلايا ، فالجبرلين يزيد من حجم الخلايا دون أن يؤثر على صلابة الجدر الخلوية، اي يؤدي إلى زيادة حجم الخلايا ونسـبة تدفق الماء اليها عن طريق زيادة تركيز المواد الذائبة الرافعة للضـغط الأسـموزى، وبهذا فالجبرلين يشـجع نشـاط إنزيم(α Amylase) ، والذي يحول كل من البروتينات والنشاء من الصور غير الذائبة أي غير النشطة أسموزيا إلى صورة ذائبة نشطة اسموزيا (Sobhy, 2002).

الجدول02: تراكيز منظمات النمو المستعملة لإنتاج الكالوس عند نبات البطاطس من طرف بعض الباحثين

الصنف المدروس	الفسيلة المستعملة	الوسط الزراعي	الميزان الهرموني			المرجع- الباحث
			الأوكسين	السيتوكينين	GA3	
Cara A25/19	اجزاء هوائية قمم نامية	MS	3.2 مع IAA 0.5 مع 2,4-D	0.1 مغ كنتين	-	Ahloowali) (a, 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	0.1 مغ/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 من NAA	0.46µ مول 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	LM	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

- ✓ **العناصر المغذية:**

تستطيع العناصر المغذية مثل الأملاح، السكريات، وكذا بعض المواد المستعملة للتعقيم ضد الفيروسات، أن تكون سببًا في نمو غير طبيعي للنبات (Meulmans, 1984).

- ✓ **العامل المسبب للإجهاد:**

بينت نتائج سابقة أن تشكل التغيرات الجسدية، 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 لإنتقاء أنماط متحملة للملوحة (Jain *et al.*, 1991) .

6.6.2 وسائل تقييم التغيرات الجسدية

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

7.6.2 إيجابيات التباين الجسدي:

توجد عدة تباينات جسدية من بينها ما يلي :

- ➢ 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 بالتحويل الوراثي.
- ➢ ليس مهم معرفة أسس التغير الحاصلة وراثيا (Éric, 2003 ; Angela, 1995) .

8.6.2 سلبيات التباين الجسدي:

توجد تباينات سلبية نحصرها فيما يلي :

- ➢ غياب المراقبة على الكمية والمكان 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 لنبات البطاطس أن الجينوم غير مستقر خلال تشكل الكالوس والزراعة الجزئية (Robert, 1994).
- يعتبر تحليل ومراقبة التباينات الجسدية مهم جدا عند عدد من النباتات المحسنة،

(Masayoshi *et al.*, 1996 ; Éric, 2003 ; Angela, 1995)

VI.الإنتقاء المخبري :

إن استراتيجيات إنتاج نباتات مقاومة للملوحة، بفضل الانتقاء المرحلي، خلال الزراعة النسيجية، قد وصفت منذ زمن طويل (Flowers. 2004)، ونجحت عند أنواع كثيرة من النباتات الحساسة للملوحة (Tal, 1993)، فقد تحصل Nabors *et al.*, 1980 على خلايا التبغ *Nicotiana tabacum* على مقاومة عالية للملوحة عند التركيز 0.16 **%** و 0.52 **%**من NaCl، أما عند نبات البطاطس فقد نجح كل من Sabbah and Tal ., (1990)، Ochatt1 et *al* .,(1999) و(2000) , Benavides et *al* ،في إنتقاء خلايا مقاومة للملوحة في الظروف المخبرية.

1. تعريف الانتقاء المخبري

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). , Flowers) 2004)

2. أهمية الزراعة النسيجية في الانتقاء الصنفي تحت الظروف الملحية :

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 (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.
- 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.

. (Croughan *et al*, 1981 Piri *et al*.1994)

3. انتقاء النباتات المقاومة للملوحة

تعتبر ملوحة التربة أهم عوامل الإجهاد اللاحيوي، التي تقلل الإنتاج النباتي (Chen *et al.*, 2008)، وهي تمس مساحات واسعة من العالم مما جعل إنتاج نباتات مقاومة للملوحة ضروريًا (Toshio and Eduardo, 2005)، 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 لدى النباتات المستهلكة كطريقة مرغوبة في معظم الأراضي الزراعية المالحة طبيعيا أو مسقية بالمياه المالحة ونجح إدخال مقاومة الملوحة للنباتات الحساسة للملوحة، ودرس عند عدة أنواع نباتية (Epstein and Rains, 1987; Tal, 1996) لكن يبقى ضئيل (Tal, 1996) ويتطلب برنامج الانتقاء سنوات للتمكن من تحديد والتأكد من الحصول على سلالات مقاومة (Croughan *et al.*, 1981)اقترحت عدة طرق لتطوير مقاومة الملوحة Flowers and 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 ومواد البحث

1. مكان التجربة

أجريت التجارب على مستوى مخبر الزراعة النسيجية **Laboratoire de culture *in vitro*** بالشركة الوطنية للتطوير الفلاحي **SAGRODEV** قلال-ولاية سطيف ،وبالمركز الوطني للبحث في البيوتكنولوجيا (CRBT)ولاية قسنطينة

2. أهداف التجربة

تمثلت اهداف التجربة فيما يلي :

- ❖ مساهمة الإكثار الدقيق في الإنتقاء الصنفي لأربعة أصناف من نبات البطاطس تحت تأثير الملوحة.
- ❖ إحداث تباينات جسدية محرضة لنبات البطاطس عن طريق الزراعة المولدة للكالوس لأربعة أصناف من نبات البطاطس، لتشكيل الكالوسات باختبار النمط الوراثي تحت تأثير مستويات مختلفة من الملوحة.

3.تصميم التجربة :

اجريت تجربة عاملية بالقطاعات العشوائية بتصميم المربع اللاتيني بحيث احتوت على أربع أصناف من نبات البطاطس (V_1،V_2،V_3،V_4) عمل كل صنف بأربعة تراكيز من الملوحة (C_1،C_2،C_3،C_4)، كررت كل معاملة بأربعة مكررات (R_1،R_2،R_3،R_4) وبذلك فقد احتوت هذه الدراسة على (644 (4 x 4x وحدة تجريبية.

4. المادة النباتية

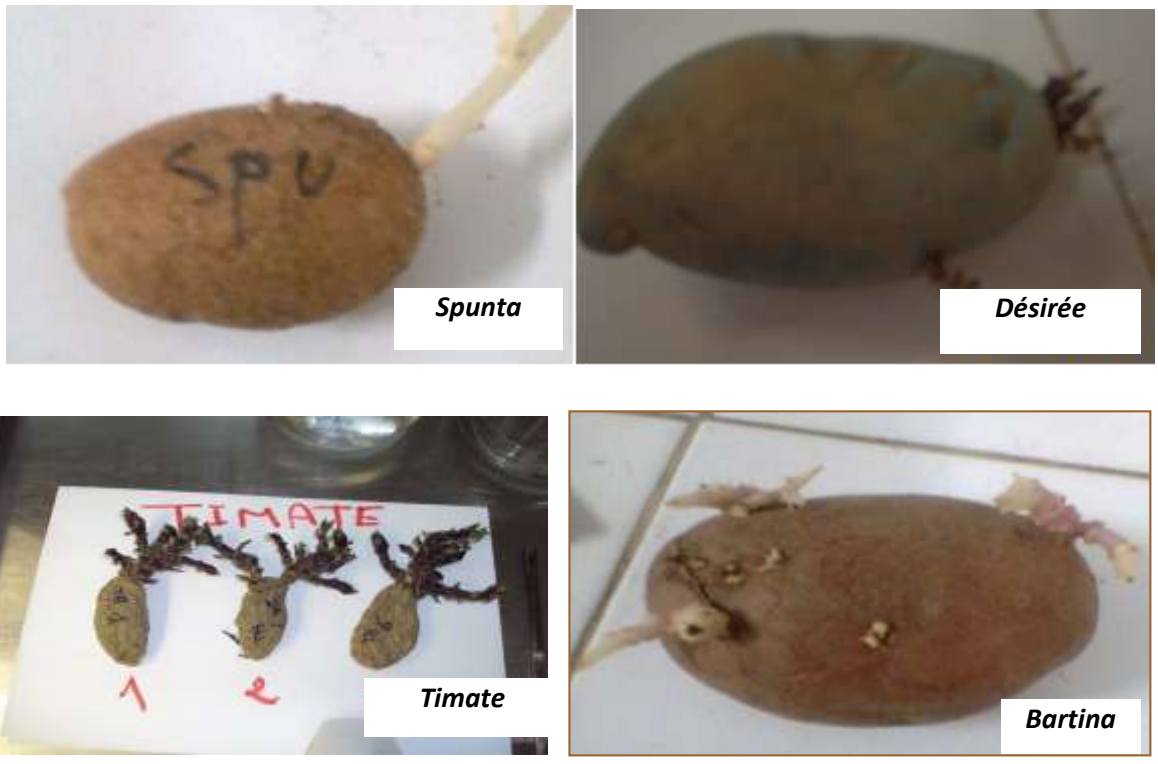
- **اختيار الدرنات والنباتات الزجاجية:**

كان اختيار الدرنات حسب الأصناف المتوفرة في الجزائر، فتم استعمال أربعة أصناف من نبات البطاطس و هي:**Désirée، Bartina Spunta، Timate** هذه الأصناف تم الحصول عليها من الشركة الوطنية للتطوير الفلاحي **SAGRODEV** المتواجدة بقلال – سطيف وهي مستوردة أصلا من هولندا وقد تلاءمت بشكل جيد مع بيئة الجزائر وهذه الأصناف موضحة في الصورة (1).

و فيما يلي بعض خصائص الأصناف الأربعة حسب المركز الوطني لمراقبة البذور والشتلات **CNCC**:

جدول 03 : بعض الخصائص للأصناف المدروسة Désirée،Spunta Bartina وTimate

الأصناف / الخصائص	صنف Désirée V_1	صنف Spunta V_2	صنف Bartina V_3	صنف Timate V_4
مكان استيرادها	هولندا	هولندا	هولندا	هولندا
لون بشرة الدرنة	حمراء	صفراء	حمراء ذات لحم أصفر	صفراء
شكل الدرنة	مستطيلة بيضاوية	متطاولة مستطيلة	بيضاوية وعين حمراء	بيضاوية طويلة
طبيعة نضج الدرنة	نصف متأخر	نصف مبكر	نصف متأخر	نصف مبكرة
مردودية الصنف	عالية جدا	عالية جدا	عالية جدا	جيدة
الكفاءة الإدخارية	جيدة	قليلة	متوسطة	جيدة



الصورة 01: درنات أصناف نبات البطاطس المستعملة في التجربة

5.المعاملات الملحية :

استعمل في التجربة ملح كلوريد الصوديوم بثلاثة تراكيز مختلفة اضافة الى الشاهد كما هو موضح في الجدول(04)

جدول رقم 04 : تراكيز ملح NaCl المستعملة في التجربة

الرمز	تركيز الملح المستعمل (ملي مول mMol من NaCl)	المادة الملحية
C_0	00 (الشاهد)	ماء عادي
C_2	25	NaCL
C_3	100	NaCl
C_4	150	NaCl

تم إضافة ملح NaCl إلى الوسط الزراعي قبل إضافة الأجار حيث تم تعديل pH بجهاز pH mètreمن نوع Orion 520 A في حدود 5.6 الى 5.8،بالتعديل بواسطة قاعدة NaOH أو 1 HCl عياري حسب الحالة ثم أضيف الأجار Agar .

كررت كل معاملة بأملاح كلوريد الصوديوم NaCl كل نوع نباتي تحت الدراسة **(R_4 , R_3 , R_2 , R_1)**

جدول 05: جدول توزيع المعاملات

	V_1				V_2				V_3				V_4			
	C_0	C_1	C_2	C_3	C_0	C_1	C_2	C_3	C_0	C_1	C_2	C_3	C_0	C_1	C_2	C_3
R_1	$R_1V_1C_0$	$R_1V_1C_1$	$R_1V_1C_2$	$R_1V_1C_3$	$R_1V_2C_0$	$R_1V_2C_1$	$R_1V_2C_2$	$R_1V_2C_3$	$R_1V_3C_0$	$R_1V_3C_1$	$R_1V_3C_2$	$R_1V_3C_3$	$R_1V_4C_0$	$R_1V_4C_1$	$R_1V_4C_2$	$R_1V_4C_3$
R_2	$R_2V_1C_0$	$R_2V_1C_1$	$R_2V_1C_2$	$R_2V_1C_3$	$R_2V_2C_0$	$R_2V_2C_1$	$R_2V_1C_2$	$R_2V_2C_3$	$R_1V_3C_0$	$R_2V_3C_1$	$R_2V_3C_2$	$R_2V_3C_3$	$R_2V_4C_0$	$R_2V_4C_1$	$R_2V_4C_2$	$R_2V_4C_3$
R_3	$R_3V_1C_0$	$R_3V_1C_1$	$R_3V_1C_2$	$R_3V_1C_3$	$R_3V_2C_0$	$R_3V_2C_1$	$R_3V_2C_2$	$R_3V_2C_3$	$R_3V_3C_0$	$R_3V_3C_1$	$R_3V_3C_2$	$R_3V_3C_3$	$R_3V_4C_0$	$R_3V_4C_1$	$R_3V_4C_2$	$R_3V_4C_3$
R_4	$R_4V_1C_0$	$R_4V_1C_1$	$R_4V_1C_2$	$R_4V_1C_3$	$R_4V_2C_0$	$R_4V_2C_1$	$R_4V_2C_2$	$R_4V_2C_3$	$R_4V_3C_0$	$R_4V_3C_1$	$R_4V_3C_2$	$R_4V_3C_3$	$R_4V_4C_0$	$R_4V_4C_1$	$R_4V_4C_2$	$R_3V_4C_3$

6.طريقـة الاستنبات *In vitro*

2.6.تنفيد التجربة :

1.2.6. تحضير محلول Hoagland :

يتكون من المحاليل الأساسية المكونة من العناصر الكبرى ،العناصر الصغرى، الحديد المتمخلب تم تحضيره كالتالي:

أ. تحضير المحلول الاساسي العناصر المعدنية الكبرى :

- سكب 600 مل من الماء المقطر في بيشر 1 لتر.
- وزنت المواد الكيميائية المشار إليها (1) في الجدول (06) وضعها في الإناء مع التحريك باستعمال الرج الكهربائي
- بعد إضافة وإذابة المواد السابقة أضيف الماء المقطر إلى حد العلامة 1000مل مع الرج الجيد.
- وضع المحلول في قارورة زجاجية و تغطيته ثم تم تخزينه و وضعه في ثلاجة مع الإشارة بأنه محلول أساسي للأملاح الكبرى.

ب. تحضير المحلول الأساسي العناصر المعدنية الصغرى:

- سكب 600 مل من الماء المقطر في بيشر 1 لتر.
- وزن المواد الكيميائية المشار إليها (2) في الجدول (06) ووضعها في إناء مع التحريك باستعمال الرج الكهربائي.
- بعد إضافة وإذابة المواد السابقة أضيف الماء المقطر الى حد العلامة 1000مل مع الرج الجيد.
- وضع المحلول في قارورة زجاجية و تغطيته و تخزينه في ثلاجة مع الإشارة بأنه محلول أساسي للأملاح الصغرى.

ج.تحضير المحلول الاساسي للحديد (F_eEDTA) :

- سكب 600 مل من الماء المقطر في بيشر 1 لتر..
- إضافة Na EDTA و أخلط حتى الذوبان مع $FeSO_47H_2O$ بالأوزان المشار إليها في الجدول (6).

- بعد إضافة وإذابة المواد السابقة أضيف الماء المقطر إلى حد العلامة 1000مل مع الرج الجيد.

وضع المحلول في قارورة زجاجية و تغطيته و تخزينه في ثلاجة مع الإشارة بأنه محلول أساسي للحديد المتمخلب على صورة F_eEDTA.

الجدول06 : مكونات وسط الزراعة (MS, 1962)

	المركب الكيميائي	المحلول الأساسي	الحجم/ لتر
العناصر الكبرى Macro élément (1)	$NH_4\ NO_3$	1650	50 مل
	KNO_3	1900	
	$CaCl_2\ 2H_2O$	440	
	$MgSO_4$7H2O	370	
	KH_2PO3	170	
العناصر الصغرى Micro élément (2)	H_3BO_3	6.2	10 مل
	$MnSO_4\ 4H_2O$	22.3	
	$ZnSO_4\ 4H_2O$	8.6	
	Kl	0.83	
	$Na_2\ 2MoO_4,\ H_2O$	0.25	
	$CuSO_4\ 5H_2O$	0.025	
	$CoCl_2\ 6H_2O$	0.025	
الحديد (Fe-EDTA) (3)	N_{a2}EDTA	37.3	10 مل
	F_eSO_4-7H_2O	27.8	
الفيتامينات Vitamines (4)	Glycine	0.2	10 مل
	Nicotinique	0.5	
	Thiamine-HC	0.1	
	Myo-inositol	100	
السكر Sucre	Saccharose	3000 مغ/ل	3000 مغ/ل
الاجارAgar	Agar	7غ/ل	7غ

2.2.6. تحضير مكونات الزراعة النسيجية (MS, 1962)

المحاليل الأساسية المكونة من العناصر الكبرى ،العناصر الصغرى، الحديد المتمخلب ، أو ما يسمى بمحلول (Hoagland) مع إضافة الفيتامينات كما هو مبين في الجدول (6) .

كما تم وضع علامة على جميع المحاليل و تبقى محفوظة في مكان بارد و محمية من الإضاءة.

أ.تحضير منظمات النمو :

تم تحضـير محاليل تخزين بالنسـبة لمنظمات النمو كما يبينه الجدول **07** (**Rosario and Alan, 1999**) .

الجدول رقم 07: تحضير محاليل التخزين لتحضير وسط الزراعة المستعمل في التجربة.

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

أضيفت منظمات النمو إلى الوسط الزراعي حسب الكميات المبينة في الجدول **08**

الجدول رقم 08 : تراكيز منظمات النمو المستعملة لإنتاج الكالوسات في التجربة.

الوسط		الأوكسين	السيتوكينين	الجبريلين	التركيز	المرجع
1	الصنف	**2.4D**	**الكنتين**	-	مركزة 1000 مرة	Hakan, 2004
	التركيز	3 مغ/ل	0.5 مع/ل	-		
	التحضير	300مغ/100ملل	50مغ/100ملل	-		

ب.تحضير المحلول الأساسي للفيتامينات :

- سكب 70 مل من الماء المقطر في بيشر 100 مل.
- وزن المواد الكيميائية المشار إليها (4) في الجدول (06) إلى الإناء مع التحريك باستعمال الرج الكهربائي.
- بعد إضافة وإذابة المواد السابقة أضيف الماء المقطر الى حد العلامة 100مل مع الرج الجيد.
- وضع المحلول في قارورة زجاجية وتغطيته ثم وضعه في ثلاجة مع الإشارة بأنه محلول أساسي للفيتامينات.

ج .تحضير الأجار :

أضيف الأجار(7غ) إلى المكونات السابقة.

3.2.6. تحضير وسط الزراعة النسيجية MS

لتحضير 1 لتر من وسط الزراعة حسب الجدول 06، لإنتاج النيبتات، الكالوسات:

- تم مزج مختلف المكونات المأخوذة حسب الجدول 06، في حوجلة سعتها 1 لتر.

إكمال الحجم إلى 1 لتر بالماء المقطر، ثم تعديل pH بجهاز pH mètre من نوع Orion 520 A في حدود 5.6 إلى 5.8، بالتعديل بواسطة قاعدة NaOH او HCl 1 عياري حسب الحالة، و هي القيم التي تسمح بتصلب الأجار.

- أضيف الاجار(7غ) الى المكونات السابقة.
- تم تسخين الخليط لإذابة الأجار، ثم وزع الخليط في أنابيب الاختبار (25م م*150 م م) المغسولة والمجففة،10 مل لكل أنبوب، ثم تم غلقها بإحكام، و وضعها في الحامل المخصص (Rosario and Alan, 1999)

الجدول 09: تحضير وسط الزراعة 1 ل المستعمل في التجربة

المكونات المحضرة	الكمية	
العناصر الكبيرة MS	50 مل	
العناصر الصغيرة MS	10 مل	
MS Fer (Fer-EDTA)	10 مل	
الفيتامينات= MS	10 مل	
السكريات غ/ل - السكروز ➢ الاجار	30 7	
Myo-inositol مغ/ل	100	
منضمات النمو غ/ل: - الاوكسين (2.4D;NAA)= - السيتوكينين (الكنتين)	- -	موضحة في الجدول 08
ملح كلور الصوديوم NaCl: غ/ل	-	موضحة في الجدول 04

3.6. عملية التعقيـــم:

أ.تعقيم مكان العمل

- اجريت كلّ المعاملات المخبرية على طاولة التعقيم **Hotte stérile** (شكل 05)، التي تم مسحها بهيبوكلوريد الصوديوم(ماء جافيل) يوم قبل التجربة، ثم بالإيثانول**(70°)** قبل بدأ التجربة مباشرة.
- إشعال معقم الأدوات (**250** °م) والطاولة لمدة **20** دقيقة قبل بدا التجارب (شكل 05)**.**

ب. تعقيم أدوات العمل:

- تم تعقيم أدوات العمل: ملاقط **Pinces**، المشارط ذات الشفرة المعقمّة **" Scalpels à lames stérile"** بياشر **Birchers** في مجفف **L'étuve (Fisher Scientific) (شكل 05)**، **120** °م لمدة ساعتين.
- غسل الأيدي بالصابون ثم بماء جافيل قبل كل معاملة.
- مسح الأيدي بالكحول (الايثانول) قبل و أثناء العمل وكذلك مكان العمل.
- غمر أدوات العمل في الايثانول وإمرارها في جهاز تعقيم الأدوات تحت درجة حرارة **250**°م لمدّة **10** ثواني على الأقل بعد كل ملامسة لأدوات النباتية.

ج .تعقيم الوسط الزراعي:

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

د .تعقيم النبات:

- وضعت الدرنات في شروط ملائمة لإنباتها (ظلام + درجة حرارة **18- 20** °م)، لمدة **30** يوم، وهي المدة الكافية لاستطالة ما بين العقد للإنباتها.
- إمرار سريع للعقل المحتوية على عيون في الإيثانول **75** °، على طاولة العمل لمدة **20** ثا، حسب حالة النبيتات.
- غمرالعقل 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 تجفيفها في ورق النشاف المعقم.

4.6. عملية زراعة المرستيم:

تم انتقاء الدرنات الجيده بعدما غسلت بالماء الجاري لمدة 30 دقيقه و تركت لتجف ثم تم تحضينها في ظروف مظلمة على درجة حرارة 1 -+ 25C لغرض تشجيع البراعم على النمو. و بدأت البراعم بالنموو وصل معدل طولها إلى 1-3 سم بحيث أصبحت جاهزة للزراعة النسيجية .

1. عقمت الدرنات بمحلول 5% كلوراكس Sodium hypochlorite (هيبوكلوريد الصوديوم) لمدة 15دقيقة.

2. تم غسل الدرنات بالماء المقطر ثلاث مرات.

3.أزيلت البراعم واستخلصت القمم المريستمية بطول 0.5 ملم باستعمال المكبر الالكتروني Binoculaire Olympus بشفرة جراحية معقمة من أجل الحصول على نباتات خالية من الأمراض الفيروسية والفطرية ومن ثم زرعت على بيئة MS (Murashige and Skoog, 1962) مضافاً لها هرمون IAA بمعدل 1مغ / لتر ضمن أنابيب زجاجية. وبعد مرور حوالي 8اسابيع بدأ المرستيم القمي بالنمو والتطور إلى نموات خضريه وبعد أن أصبحت أطوال النموات 8-6cm قطعت كل عقله لكل عقده واحده وبرعم واحد. وزرعت على وسط غذائي جديد يحوي على مكونات الوسط (MS) السابق الذكر.

تم استخدام النبيتات الناتجة من زراعة المرستيم خلال مرحلة الاكثار الدقيق ومرحلة تشكيل الكالوسات .

7.الدراسة المطبقة على هذه التجربة :

1.7. عملية الاكثار الدقيق :

1.1.7. عملية الزرع المطبقة :

يمكن تلخيص خطواتها فيما يلي :

- تم أخذ كل نسيج نباتي من العلب الزجاجية التي تحتوي على مجموعة من الأنسجة النباتية(مجموع جذري و مجموع خضري) مستنبتة من خلال زراعة المرستيم بواسطة ملقط معقم و وضعه فوق ورق تجفيف معقم ثم تم تجزئته إلى قطع ، يتراوح طول القطعة (عقلة صغيرة) 0.5 سم (تم استبعاد البرعم القاعدي و الجزء الجذري) بمساعدة شفرة معقمة للحصول على قطع متجانسة أو عقلة صغيرة.
- إعادة زرع العقل الصغيرة على وسط زراعي MS بمساعدة ملقط معقم في أنبوبة اختبار به الوسط الزراعي **MS** بحيث يوجه البرعم إلى الأعلى .
- تم تعليم الأنابيب و غلقها بواسطة أغطية بلاستيكية معقمة.

بعد الزرع وضعت الأنابيب في غرف الزرع، وح ضّنت في درجة حرارة °م 22 و تواقت ضوئي **16- 8** لمدة أربع أسابيع.

ملاحظة :

عملية الزرع تمت بأسرع وقت ممكن للتقليل من احتمالية جفاف العقل و التعرض للتلوث.

2.1.7. القياسات المطبقة :

ا .القياسات الخضرية

خلال هذه المرحلة تم قياس كل من :

- قياس متوسط الطول باستخدام الورق الملمتري.
- عدد الأوراق
- عدد الجذور.
- الوزن الرطب و الجاف للساق و الجذر بواسطة جهاز حساس من نوع Metier AE 240

أخذت هذه القياسات بعد مرور 28 يوم من الزرع، وهذا لأربعة أصناف من نبات البطاطس (Bartina، Timate، Désirée، Spunta).

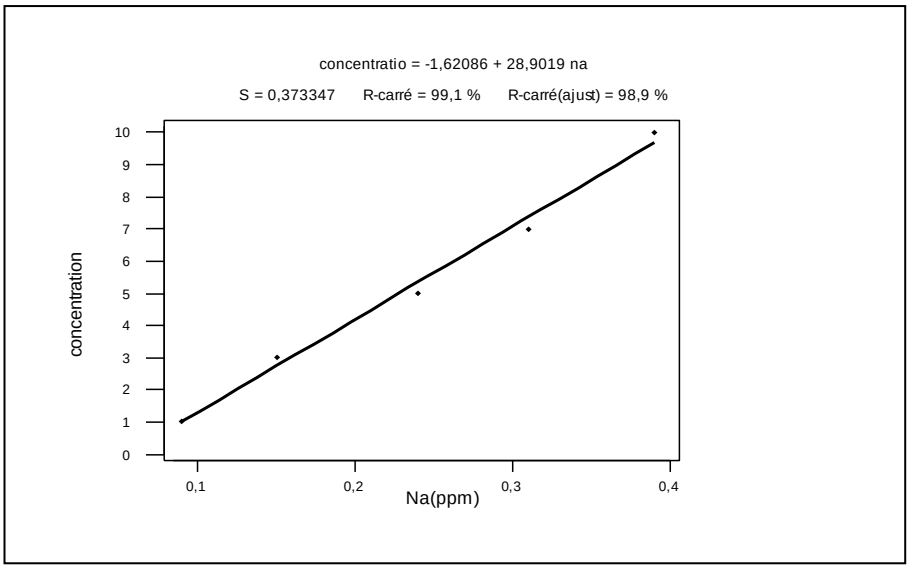
ب .التحاليل الكيميائية : خلال هذه المرحلة تم تقدير كل من :

- **الصوديوم Na^+ و K^+**

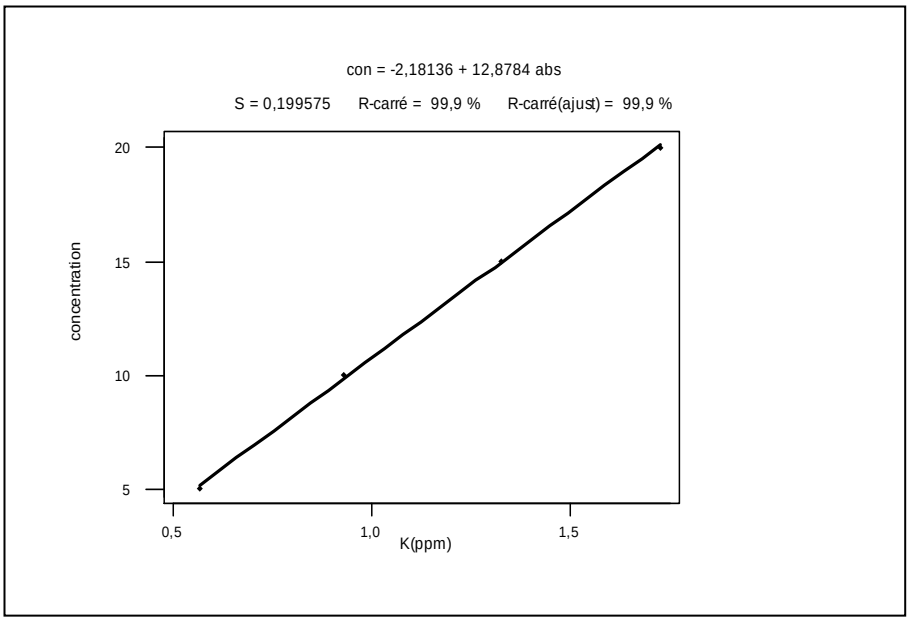
يمكن تلخيص عملية الهضم الرطب فيما يلي :

أضيف إلى 250 ملغ من المادة الجافة النباتية (أوراق أو جذور) 5 ملل من مزيج الحوامض التالية : HNO_3 (حمض الآزوت)، $HClO_4$ (حمض بركلوريك) و H_2SO_4(حمض الكبريت) بنسب 1:2:5 على التوالي (الدوري و آخرون.،1989)، أجريت عملية الهضم في حمام مائي حرارته 80^0 م لمدة 6 ساعات لضمان التخلص من أكاسيد النثرات و تحول المادة الناتجة عن الهضم الى محلول رائق. بعد الترشيح يتم تخفيف العينات إلى100 ملل بواسطة الماء ثنائي التقطير.

- ✓ تم تقدير تركيز كل من الصوديوم (Na^+) و البوتاسيوم (K^+) بواسطة جهاز طيف الإمتصاص ذي اللهب (Spectrophotomètre à flamme) على طول الموجتين 589 و 767 نانومتر على الترتيب.صورة (04)
- ✓ تم تحديد تركيز الصوديوم و البوتاسيوم في العينات باستعمال منحنيين قياسين الشكل(08) والشكل(09).على صورة NaCl بالنسبة للصوديوم وباستعمال KCl بالنسبة للبوتاسيوم (ppm)



الشكل(05): المنحنى القياسي للصوديوم (الجزء / المليون).



الشكل(06): المنحنى القياسي للبوتاسيوم (الجزء / المليون).

- حساب معامل الانتقاء Na^+/K^+

- **قياس تركيز السكريات الذائبة الكلية :**

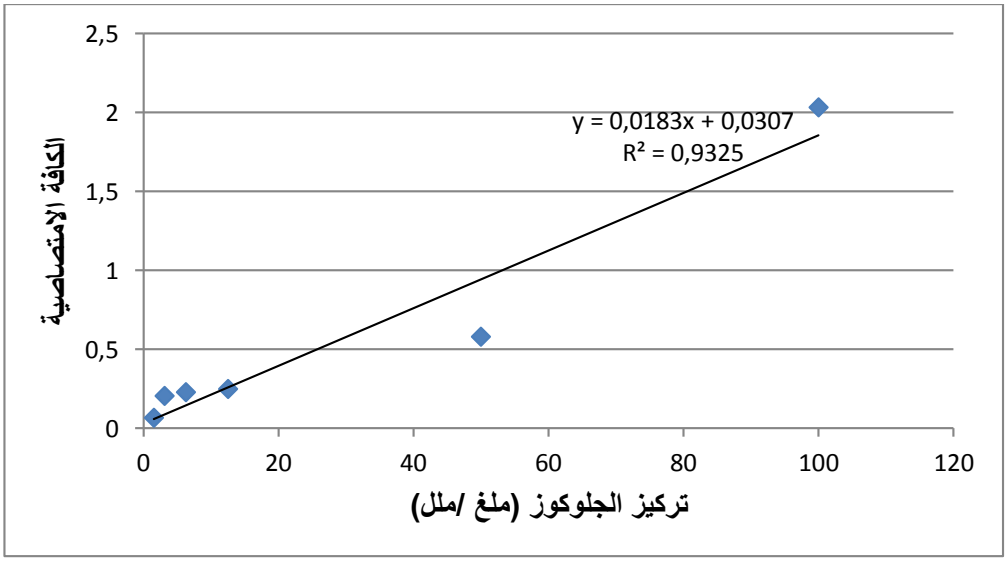
قدر تركيز السكريات الكلية (السكروز، الفريكتوز، الغليكوز، و السكريات المتعددة) بطريقة (Dubois et al.,1956):

لاستخلاص السكريات الذائبة، تم تقطيع 100 ملغ من الثلث المتوسط للأوراق الغضة بعد غمرها في 3 ملل من الإيثانول 80 % لمدة 48 ساعة؛ ثم تجفيفها بالكحول بوضع الأنابيب في حاضنة في 80 م° بعدها أضيف لكل أنبوب 20 ملل من الماء المقطر.

في أنابيب زجاجية نظيفة أضيف1 ملل من المستخلص و1ملل من الفينول (5%) + 5 ملل من حمض الكبريتيك المركز (96%، ك = 1.86) مع تفادي ملامسة الحمض لجدران الأنبوب، نتج لون أصفر بني.

رجت العينات بواسطة الرجاج الكهربائي (Vortex)، تركت الأنابيب المحتوية على المستخلصات الملونة في حمام مائي دافيء(30^0م) من 10 الى 20 دقيقة.

قرأت الكثافة الضوئية على طول الموجة 490 نانومتر ثم حددت تركيز السكريات في العينات باستعمال المنحنى القياسي للغليكوز النقي (ملغ/ملل).(الشكل08).



الشكل(07): المنحنى القياسي للسكريات الكلية

- **اليخضور الكلي :**

قدر تركيز اليخضور الكلي في الأوراق النباتية حسب طريقة (Mackiney.,1941):

قطعت 100 ملغ من الأوراق الغضة إلى قطع صغيرة ثم سحقها في حجم كاف من الأسيتون بتركيز 80% أسيتون ثم رشحت للتخلص من الرواسب.

خففت المستخلصات اليخضورية بإضافة 05 ملل من المذيب، و قدرت الكثافة الضوئية لمختلف العينات على طولي الموجة 645 و 663 نانومتر بالنسبة لليخضور **ب** واليخضوراً على التوالي مع مراعاة ضبط الجهاز(Spectrophotommetre) من نوع Nicolet evolution 100 بواسطةالمحلول الشاهد (المذيب).

تم حساب تركيز اليخضورتبعا للعلاقتين التاليتين:

اليخضور أ = 12 ك$_{663}$ – 2.67 ك$_{645}$

اليخضور ب = 22.5 ك$_{645}$ – 4.68 ك$_{663}$ حيث ك = الكثافة الضوئية

ملاحظة : تم تقدير كل التحاليل البيوكيميائية عند الصنف Désirée

2.7. عملية تشكيل الكالوسات

1.2.7. عملية زرع وتكيف الكالوسات :

تم إنتاج الكالوسات عند نبات البطاطس انطلاقا من تطبيق الإجهاد الملحي باستعمال الملح NaCl النقي الموضح في (الجدول03) و باستعمال فسائل من النبيتات (Bouharmont, 1991). عبارة عن أجزاء من الأوراق **3** فسائل لكل علبة بتري (Queiros *et al.*, 2007)**.** و لتحفيز تشكيل الكالوسات، حضّنت أنابيب الاختبار في غرفة الزراعة في الظلام، تحت درجة حرارة **25± 1**°م، لمدّة أربع أسابيع (Khadiga *et al.*, 2009)

2.2.7. القياسات اثناء إنتاج الكالوسات

تمت دراسة أثر فعل الملوحة على إنتاج الكالوسات من خلال المتغيرات التالية:

- سرعة تشكيل الكالوسات.
- معدل تشكيل الكالوسات.
- خصائص الكالوسات: من خلال نمط و لون الكالوسات.

- نمو الكالوسات: تم تقدير نمو و تطور الكالوسات من خلال الوزن الرطب و الجاف للكالوسات لكل وحدة تجريبية على حدى.

تم حساب الوزن الجاف بعد إمرار الكالوسات في مجفف **L'étuve (Fisher Scientific) 85°م، 48** ساعة **(Sabbah and tal, 1990)**

- النمو المتوسط النسبي **(**CMR**):** يمثل الزيادة في الوزن الرطب أو الجاف، تم حسابه بالعلاقة التالية:

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

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

حسب الوزن الجاف بعد امرار الكالوسات في مجفف **L'étuve (Fisher Scientific)** 85^{0}م،48 ساعة (Sabbah and Tal ,1990)

- **تحديد المحتوى المائي**: تم حسابه وفق العلاقة: **WC =(FM - DM)/FM**

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

- **معامل الحساسية للملوحة**: قدر باتباع العلاقة التالية: **IS=[(Ms-Mt)/Mt]*100** **(**Ben Ahmed *et al*., 2008**)**.

  - حيث **Ms** قيمة المتغير عند الكالوس تحت الإجهاد الملحي، و هو الوزن الجاف للكالوسات تحت التراكيز الملحية.
  - **Mt** قيمة المتغير عند الكالوس الشاهد، وهو الوزن الجاف للكالوسات الشاهدة .

8 . الدراسة الإحصائية :

طبقت دراسة احصائية وصفية على النتائج المتحصل عليها تمثلت في اتباع تحليل المركبات النموذجية (ACP) تم من خلالها استنتاج الارتباطات الايجابية والسلبية بين المتغيرات المقدرة ودراسة احصائية استدلالية تمثلت في اتباع طريقة تحليل التباين **"Analyse of variance"** بتصميم المربع اللاتيني .

بالاستعانة ببرنامج XL STAT version 2014 لتحديد مدى معنوية هذه المتغيرات التي تحت الدراسة ومن ثم استخراج المجموعات المتباينة والمتشابهة تبعا لطريقة Neumen et Keuils على مستوى 5 %.

النتائج

I. النتائج :

1. دراسة الاكثار الدقيق :

1.1.التحليل الوصفي لأثر الفعل النوعي للملوحة على الأصناف المدروسة :

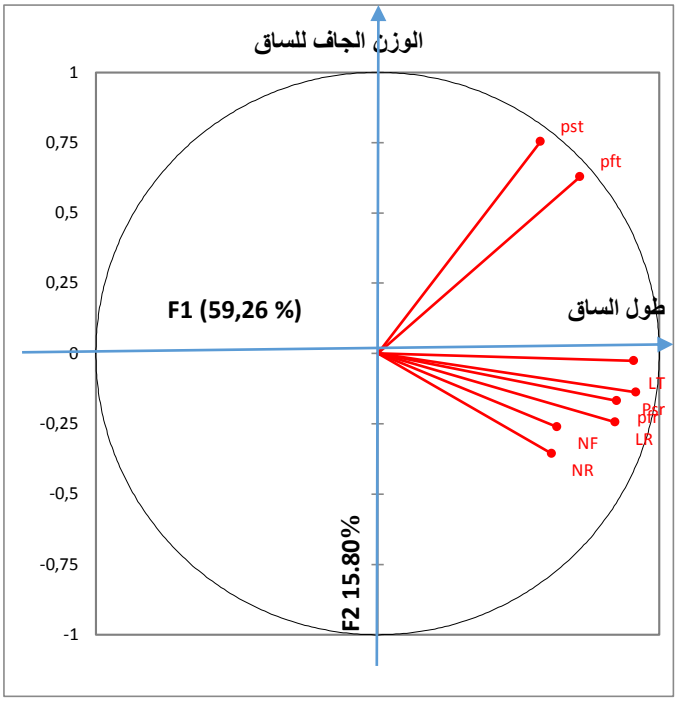
طبقت في هذه التجارب معايير مورفولوجية وفيزيولوجية اثناء عملية الاكثار الدقيق على اربعة اصناف من نبات البطاطس *Solanum tuberosum L.* وهي Bartina، Spunta ، Désirée ، Timate كما طبقت معايير بيوكيميائية للصنف Désirée وذلك لمعرفة سلوك هذه الاصناف اثناء النمو في وسط ملحي وتم اجراء على النتائج دراسة احصائية وصفية تمثلت في اتباع تحليل المركبات النموذجية (ACP) ، واستنتاج المتغير الاكثر تمثيلا للأفراد ، واظهار اثر الفعل النوعي للملوحة على الاصناف المختبرة ومدى مقاومتهم لها كذلك استنتاج الارتباطات الايجابية والسلبية بين مختلف المتغيرات تحت الدراسة ولإظهار ذلك تم تفسير النتائج ضمن ثلاث مستويات تحليلية مختلفة:

- على مستوى مصفوفة معامل الارتباطات
- على مستوى حلقة الارتباطات
- على مستوى المنحنى البياني لتوزيع اللأفراد.

1.1.1. على مستوى حلقة الارتباطات

- **الدراسة على أربعة أصناف**

بينت الدراسة الاحصائية للمتغيرات شكل (08) وجدول (10) بتطبيق تحليل المركبات النموذجية ACP ان اكبر متغير بين اثر الفعل النوعي للملوحة على الافراد المدروسة هو طول الساق (LT) اي ان هذا المتغير مثل الافراد اي الوحدات التجريبية احسن تمثيل وبالتالي فان له معنوية عالية مقارنة بالمتغيرات الاخرى ونسبة تمثيله على مستوى محاور وتوزيع الانتماء كان 91,7 % على المحور 1 ذو المصداقية 59.26 % مقارنة بالمحور 2 الذي كانت مصداقيته 75.03 % والذي مثله المتغير PS_t بنسبة 15.80%.



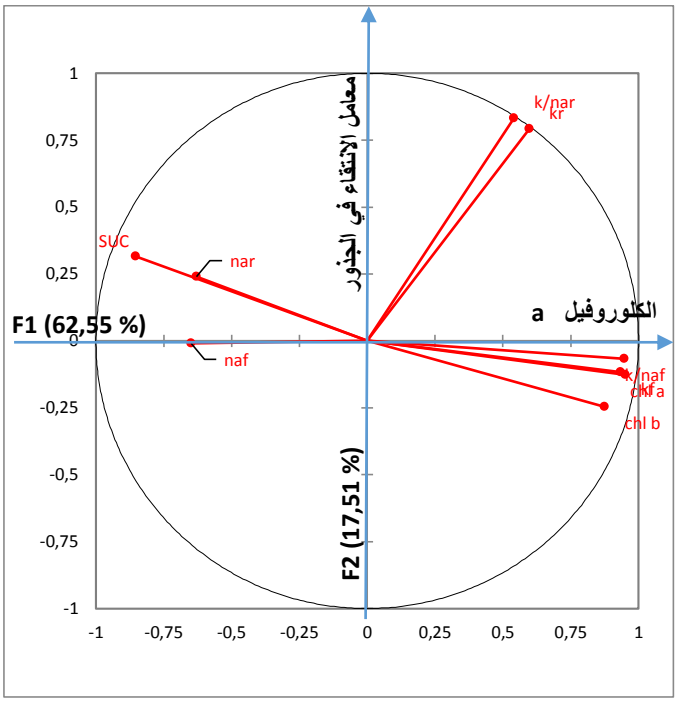
شكل (08) : حلقة معامل الارتباطات بين المتغيرات المقدرة على نبات البطاطس لأربعة اصناف أثناء مرحلة الاكثار الدقيق

جدول (10) :فاعلية المتغيرات المقدرة على نبات البطاطس في تمثيل المحورين 1-2 اثناء مرحلة الاكثار الدقيق لأربعة اصناف

المتغيرات	المحور 1	المحور 2
NF	0,638	-0.261
LT	**0,917**	-0.138
NR	0,618	-0,356
LR	0.844	-0.245
PF_t	0.718	0.628
PS_t	0.579	**0.753**
PF_r	0.910	-0.027
PS_r	0.849	-0.167
مصداقية المحورين	%59.26	% 15.80

- **الدراسة التي تمت على الصنف Désirée :**

اوضحت حلقة الارتباطات شكل (09) وجدول (11) ان كمية الكلوروفيل ا (Chl a) هو المتغير الاكثر تمثيلا للافراد تحت الدراسة بنسبة 95,1 % مقارنة بالمتغيرات الاخرى وساهم في تشكيل المحور1 بمصداقية قدرها 62.55 % مقارنة بالمحور 2 الذي كانت مصداقيته 17.51 % والذي مثله معامل الانتقاء K^+_r/Na^+_r بنسبة 83.3 % مقارنة بالمتغيرات الاخرى. شكل (09).



شكل (09) : حلقة معامل الارتباطات بين المتغيرات المقدرة على نبات البطاطس للصنف Désirée أثناء مرحلة الاكثار الدقيق.

جدول (11) :فاعلية المتغيرات المقدرة على نبات البطاطس في تمثيل المحورين 1-2 اثناء مرحلة الاكثار الدقيق للصنف Désirée .

المتغيرات	**المحور 1**	**المحور 2**
Suc	-0,853	0,317
Chl a	**0,951**	-0,127
Chl b	0,874	-0,245
Na^{+}_{f}	-0,649	-0,008
K^{+}_{f}	0,933	-0,117
K^{+}/Na^{+}_{f}	0,947	-0,066
Na^{+}_{r}	-0,629	0,241
K^{+}_{r}	0,597	0,793
K^{+}_{r}/Na^{+}_{r}	0,541	**0,833**
مصداقية المحورين	**%62.55**	**% 17.51**

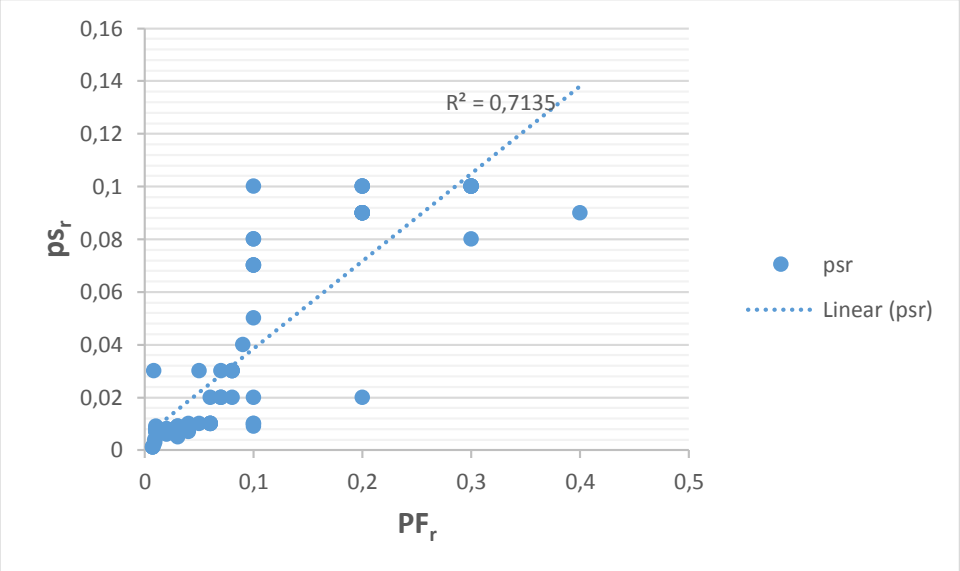
2.2.1.على مستوى مصفوفة معامل الارتباطات :

- **الدراسة على أربعة أصناف :**

بينت مصفوفة الارتباطات المدونة في الجدول (12) أن أكبر ارتباط معنوي سجل بين PS_r /PF_r (r=0.845) كذلك اظهرت ارتباطات معنويةعلى مستوى 1 % LT/ Pf_r (r= 0.832) ، Pf_t/Ps_t (r= 0.823) ، (r= 0.788) LT/ Ps_r ،(r= 0.748) LT/ LR ، Ps_r/LR (r= 0.751) كما لوحظ وجود ارتباطات ضعيفة في باقي المتغيرات شكل (10)

جدول(12) مصفوفة معامل الارتباطات بين المتغيرات المقدرة على نبات البطاطس المعاملة بتراكيز ملحية

Variables	NF	LT	NR	LR	Pf_t	Ps_t	Pf_r	Ps_r
NF	**1**							
LT	0,544	**1**						
NR	0,353	0,621	**1**					
LR	0,612	0,748	0,488	**1**				
Pf_t	0,288	0,567	0,262	0,450	**1**			
Ps_t	0,246	0,409	0,162	0,311	0,823	**1**		
Pf_r	0,484	0,832	0,520	0,700	0,608	0,466	**1**	
Ps_r	0,428	0,788	0,413	0,751	0,484	0,301	**0,845**	**1**



شكل (10) اثر معاملات الملوحة على ا لعلاقة بين الوزن الجاف للجذور و الوزن الرطب للجذور اثناء مرحلة الاكثار الدقيق لأربعة اصناف.

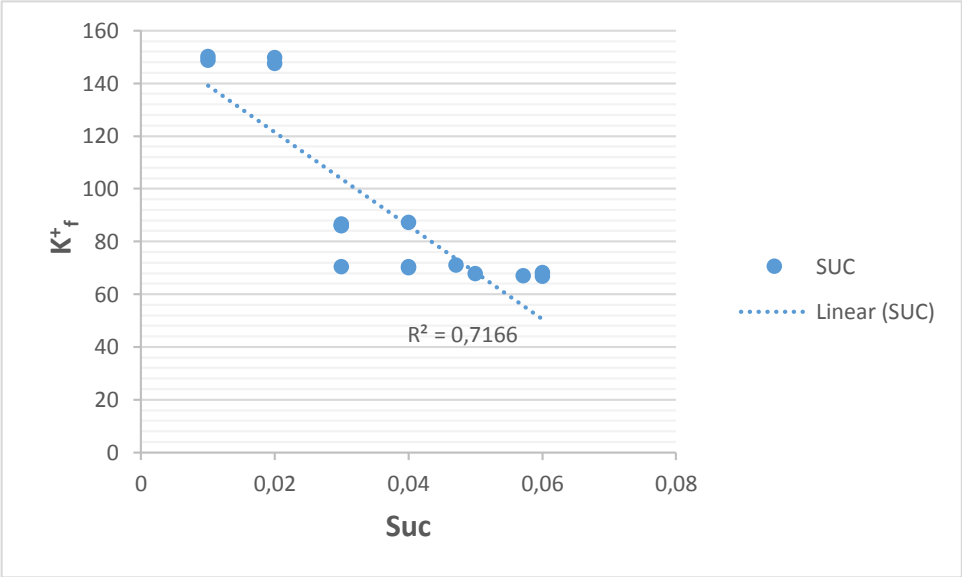
- **الدراسة التي تمت على الصنف Désirée :**

بينت مصفوفة الارتباطات المدونة في الجدول (13) أن أكبر ارتباط ايجابي سجل بين K^+/Na^+_r $/K^+_r$ (r=0.997) بينما سجل اكبر ارتباط سلبي بين K^+_f / Suc (r= -847) كما أظهرت ارتباطات معنوية على مستوى 1% مابين K^+_f/Suc (r= -0,847) ، Chl a/Chl b (r= 0,966) ، Chl

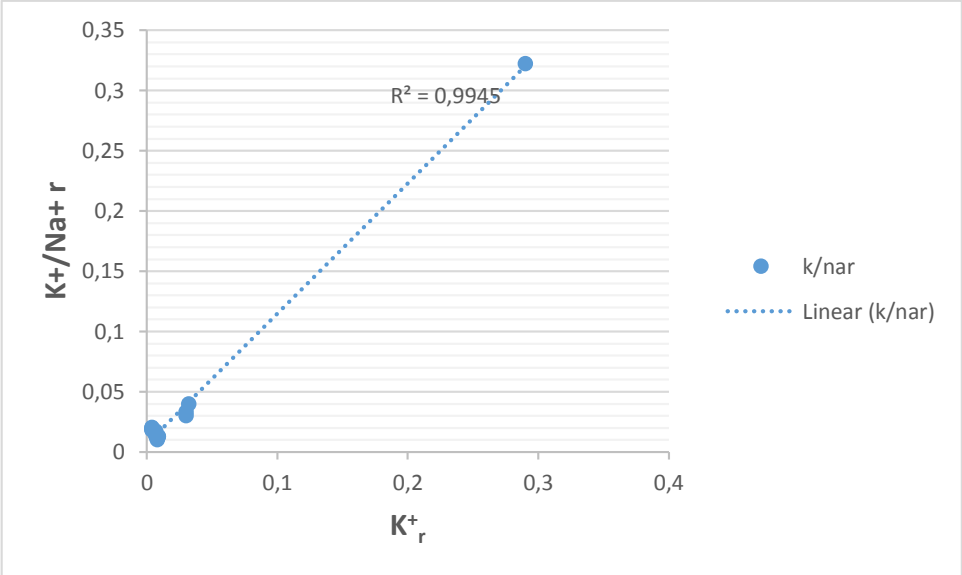
a/K^+_f (r= 0,874) ، K^+/Na^+_f/ K^+_f (r= 0,967) وارتباطات ضعيفة مابين المتغيرات الاخرى تتراوح ما بين (r= 0.642 ,r=0.212) .شكل (11-1، 11-2).

جدول(13) مصفوفة معامل الارتباطات بين المتغيرات المقدرة على نبات البطاطس للصنف Désirée خلال مرحلة الاكثار الدقيق.

Variables	Suc	Chl a	Chl b	Na^+_f	K^+_f	K^+/Na^+f	Na^+_r	K^+_r	K^+/Na^+_r
Suc	**1**								
Chl a	-0,779	**1**							
Chl b	-0,748	0,966	**1**						
Na^+_f	0,504	-0,555	-0,486	**1**					
K^+_f	**-0,847**	0,874	0,781	-0,561	**1**				
K^+/Na^+_f	-0,793	0,878	0,771	-0,723	0,967	**1**			
Na^+_r	0,642	-0,615	-0,579	0,108	-0,512	-0,486	**1**		
K^+_r	-0,282	0,468	0,335	-0,321	0,452	0,482	-0,252	**1**	
K^+/Na^+_r	-0,215	0,412	0,277	-0,287	0,394	0,428	-0,212	**0,997**	**1**



شكل (1.11.) أثر معاملات الملوحة على ا لعلاقة بين محتوى البوتاسيوم في الأوراق و السكريات أثناء مرحلة الاكثار الدقيق للصنف Désirée .



شكل (2.11) : أثر معاملات الملوحة على ا لعلاقة بين معامل الانتقاء للجذور و محتوى البوتاسيوم في الجذور خلال مرحلة الاكثار الدقيق للصنف Désirée .

3.2.1. على مستوى توزيع الافراد :

- **الدراسة لأربعة اصناف :**

ان توزيع الافراد حول المحور 1 والممثل في طول الساق دو المصداقية 59.26% والمحور 2 المتمثل في الوزن الجاف للساق PS_r ذوالمصداقية 15.80 % شكل المجموعات التالية :شكل (12)

المجموعة الأولى :

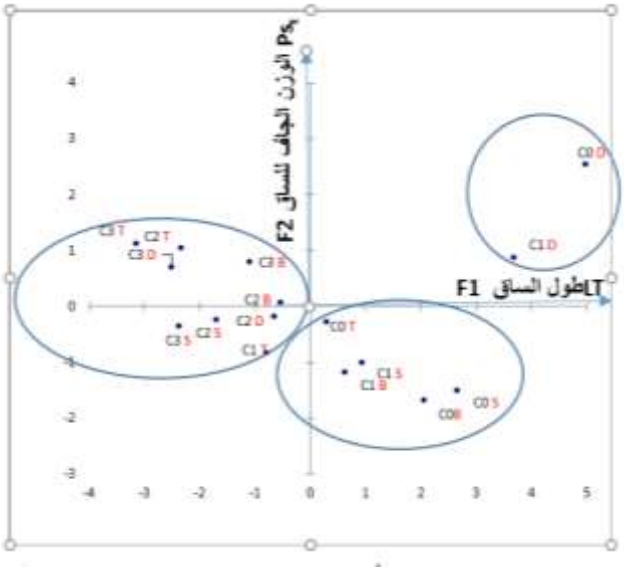
اشتملت هذه المجموعة على افراد الصنف Désirée عند معاملات الملوحة C0 (0 ميلي مول) و C1 (25 ميلي مول) فتواجده في الاتجاه الموجب للمحور 2 يدل على انها تتصف بارتفاع الوزن الرطب للساق PF_t والوزن الجاف للساق PS_t اي ان هذا الصنف سلك نفس السلوك عند هذين التركيزين.اذ يعتبر هذا الصنف مقاوم للملوحة عند التركيز الملحي C1 (25 ميلي مول) NaCl .

المجموعة الثانية :

تميزت هذه المجموعة بوجود افراد الاصناف Bartina، Spunta، Timate المعاملة بالتركيز الملحي C0 (0 ميلي مول) اضافة الى افراد الصنفين Bartina، Spunta المعاملة بالتركيز الملحي C1 (25 ميلي مول) ، فتواجدهم في الاتجاه الموجب للمحور 1 يدل على ارتفاع في طول الساق(LT)، طول الجذر(LR) ، عدد الاوراق(NF) ، الوزن الرطب والجاف للجذور(Ps_r ، Pf_r) .اي ان الصنفين Bartina و Spunta لم يتاثرا في التركيز الملحي C1 (25 ميلي مول) .

المجموعة الثالثة :

تميزت افراد هذه المجموعة بوجود افراد الاصناف Bartina، Spunta ،Désirée،Timate المعاملة بالتركيزين الملحيين C2 (100ميلي مول) و C3 (150ميلي مول) اضافة الى افراد الصنف Timate المعاملة بالتركيز الملحي C1 (25 ميلي مول) ، فتواجدهم في الاتجاه السالب للمحور 1 يدل على انخفاض المتغيرات المدروسة مثل طول الساق(LT)، طول الجذر(LR) ، عدد الاوراق(NF) ، الوزن الرطب والجاف للجذور(Ps_r ، Pf_r) .مما يدل على ان الاصناف Bartina، Spunta ،Désirée،Timate تحت التركيزين الملحيين C2 (100ميلي مول) و C3 (150ميلي مول) سلكت نفس السلوك مع الصنف Timate عند التركيز الملحي C1 (25 ميلي مول NaCl).



شكل (12) : منحنى توزيع أفراد اربعة اصناف نبات البطاطس خلال مرحلة الاكثار الدقيق

2.1. التحليل الاستدلالي لأثر الفعل الكمي للملوحة على الأصناف المدروسة :

- **الدراسة على أربعة أصناف :**

صممت نتائج المتغير LT طول الساق في مرحلة الاكثار الدقيق الذي تفوق في تمثيل الافراد تحت الدراسة احسن تمثيل واظهر اثر الفعل النوعي للصنف والملوحة والتداخل بينهم تحت تصميم (ANOVA) وذلك لتحديد اثر الفعل الكمي لهذا المتغير فتبين ان تحليل التباين (ANOVA) يبين وجود اختلافات جد معنوية للصنف والملوحة والتداخل بينهم كما هو مبين في الجدول (16) والملحق (3)

➢ **أثر اختلاف الأصناف على استجابة الأفراد بغض النظر عن الملوحة :**

تباين سلوك الاصناف في هذه الدراسة بغض النظر عن معاملات الملوحة فأعطى ثلاث مجموعات مختلفة .**المجموعة A :** افرادها مثلت الصنفين Bartina و Désirée . لهما نفس السلوك

المجموعة B : افرادها مثلت الصنف Spunta سلوك منفرد .

المجموعة C : افرادها مثلت الصنف Timate سلوك منفرد.

➢ **أثر فعل الملوحة :**

من خلال الدراسة المطبقة على التجربة تبين ان الملوحة اثرت تاثيرا متباينا على الافراد بغض النظر عن الصنف بحيث توزع هذا التأثير على الافراد الى اربع مجموعات مختلفة **.**

المجموعة A : افرادها غير معاملة بالملوحة (C0) وكانت تخص معاملة الشاهد.

المجموعة B : افرادها عوملت بتركيز (C1) 25 ميلي مول NaCl .

المجموعة C : افرادها عوملت بتركيز (C2) 100 ميلي مول NaCl .

المجموعة D : افرادها عوملت بتركيز (C3) 150 ميلي مول NaCl

نستنتج ان التراكيز المدروسة والمطبقة في التجربة لهما تاثيرات متباينة على الافراد.

➢ **أثر التداخل بين الصنف والملوحة :**

- تشابه اثر فعل التداخل بين الصنف والملوحة لدى كل من الصنفين Désirée و Spunta عند المعاملة بالتركيز الملحي 150 ميلي مول NaCl مع الصنف Spunta اثناء معاملته بالتركيز الملحي 100 ميلي مول NaCl وكذلك مع الصنف Timate تحت جميع التراكيز الملحية وشكلوا المجموعة (F) ، في حين تشابه فعل التداخل لكل من الصنف Bartina عند معاملته بالتركيز الملحي 150 ميلي مول NaCl مع الصنف Spunta اثناء التركيز الملحي 25 ميلي مول NaCl وشكلا مجموعة (DE) .
- في ما يخص الصنف Bartina تشابه فعل التداخل عند التركيز 25 ميلي مول NaCl ومعاملة الشاهد وكونت مجموعة منفردة (C) ، بينما الصنف Désirée كان يسلك سلوكا مغايرا مقارنة بالأصناف الاخرى فنلاحظ ان فعل التداخل يتغير بتغير التركيز الملحي (0 ،100 ،150) ميلي مول واعطى مجموعة مختلفة كل مرة (AB، B ،CDE) مقارنة بالأصناف الاخرى .

جدول (14) :سلم ترتيب أثر فعل الملوحة والصنف والتداخل بينهم، على نبات البطاطس اثناء مرحلة الاكثار الدقيق تبعا لطريقة New man keuilsعلى مستوى 5 %.

الأصناف / التركيز	Désirée	Spunta	Bartina	Timate
C_0	A*A**AB***	BAA	AAC	CAF
C_1	ABB	B B DE	ABC	CBF
C_2	A C CDE	BCF	A C CD	CCF
C_3	ADF	BDF	A D DE	CDF

***أثر فعل الصنف**

****أثر فعل الملوحة**

*****أثر فعل التداخل بينهما.**

•الدراسة للصنف Désirée

صممت نتائج المتغير Chl a الكلوروفيل a في مرحلة الاكثار الدقيق الذي تفوق في تمثيل الافراد تحت الدراسة أحسن تمثيل وأظهر أثر الفعل النوعي للملوحة لهذا المتغير فتبين أن تحليل التباين (ANOVA) يبين وجود اختلافات معنوية جدا على مستوى 1% كما هو مبين في الملحق (3)

أثر فعل الملوحة :

من خلال الدراسة المطبقة على التجربة تبين أن الملوحة أثرت تأثيرا متباينا بحيث توزع هدا التأثير الى أربع مجموعات مختلفة .**جدول (15)**

المجموعة A : افرادها غير معاملة بالملوحة (C0) يمثله معاملة الشاهد.

المجموعة B : افرادها عوملت بتركيز (C1) 25 ميلي مول NaCl .

المجموعة C : افرادها عوملت بتركيز (C2) 100 ميلي مول NaCl .

المجموعة D : افرادها عوملت بتركيز (C3) 150 ميلي مول NaCl

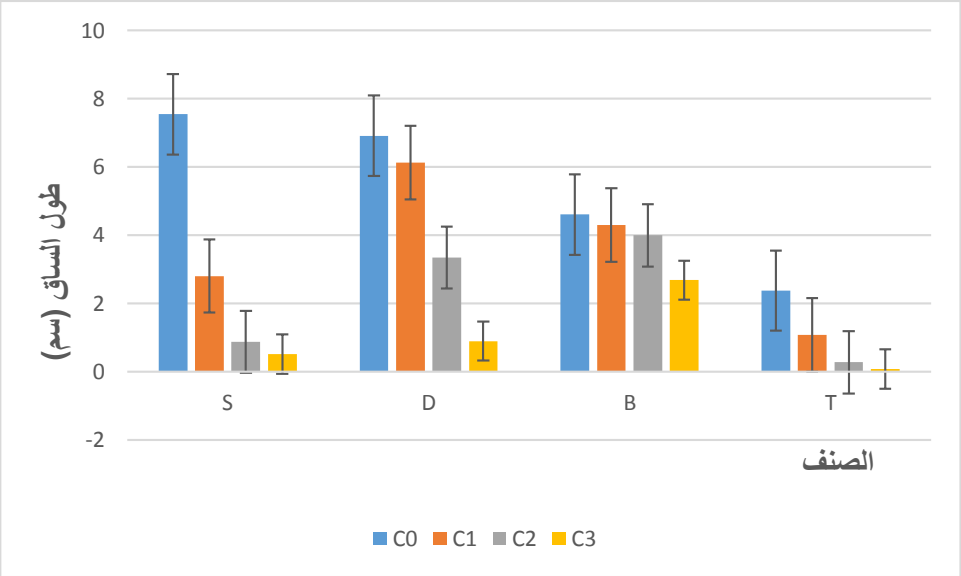
نستنتج ان الصنف Désirée سلك سلوكا متباينا تحت تأثير هذه التراكيز المطبقة.

جدول (15) متوسط المجموعات الخاصة باثر فعل الملوحة للصوديوم في الجذور

الملوحة	المتوسط	المجموعات
C0	0,900	A
C1	0,725	B
C2	0,490	C
C3	0,208	D

1.2.1. الدراسة المورفولوجية :

- **طول الساق :**

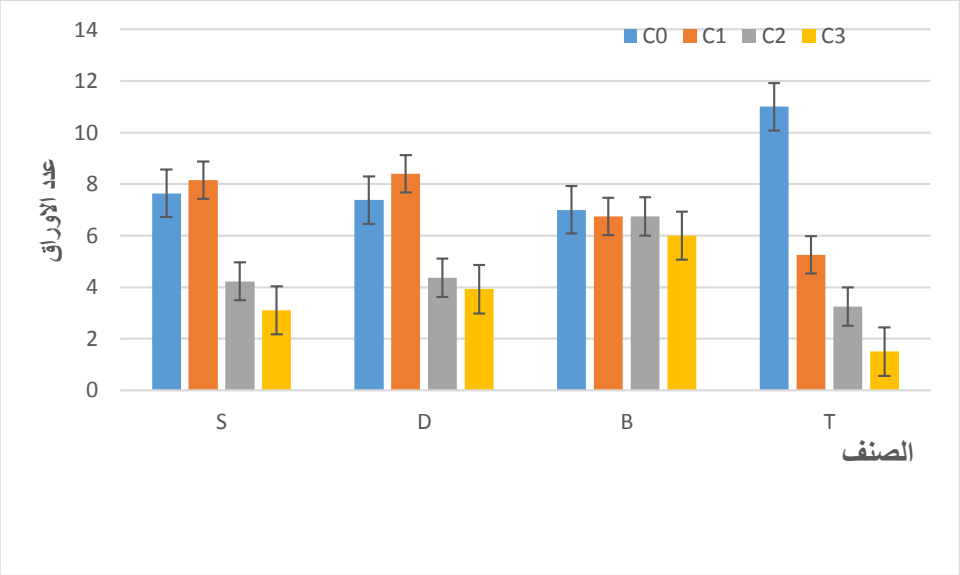


الشكل13-1: تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على متوسط طول الساق لأصناف نبات البطاطس.

تبين النتائج شكل(13-1) أن متوسط طول الساق نقص تقريبا عند الأصناف الأربعة المدروسة في التجربة خصوصا عند المستوى المرتفع من الملوحة (C_3)150 ميلي مول NaCl، مع ملاحظة ان نسبة الانخفاض كانت مختلفة من صنف لآخر , وسجلت نسبة النقصان الحاصلة مقارنة بالشاهد فكانت 62.87%،88.47%، 93.24% عند مستويات الملوحة (C_1) 25 ميلي مول , (C_2) 100 ميلي مول , (C_3) 150 ميلي مول على التوالي عند الصنف Spuntaو 11.28%، 51.66%،87.12% عند Désiréeو 6.73% , 13.26%, 41.73%عند Bartina. كذلك تبين نقصان في طول الساق عند الصنف Timate خاصة عند المستوى المرتفع من الملوحة وسجلت نسبة النقصان الحاصلة مقارنة بالشاهد فكانت 87.12%عند مستوى الملوحة (C_3) 150 ميلي مول NaCl.

ان الدراسة الاحصائية باتباع تحليل التباين (ANOVA) بينت ان تاثير فعل الصنف وتاثير فعل الملوحة وكذلك التداخل بينهما كان معنويا على مستوى 1% -الجدول (16)-

- **عدد الاوراق :**

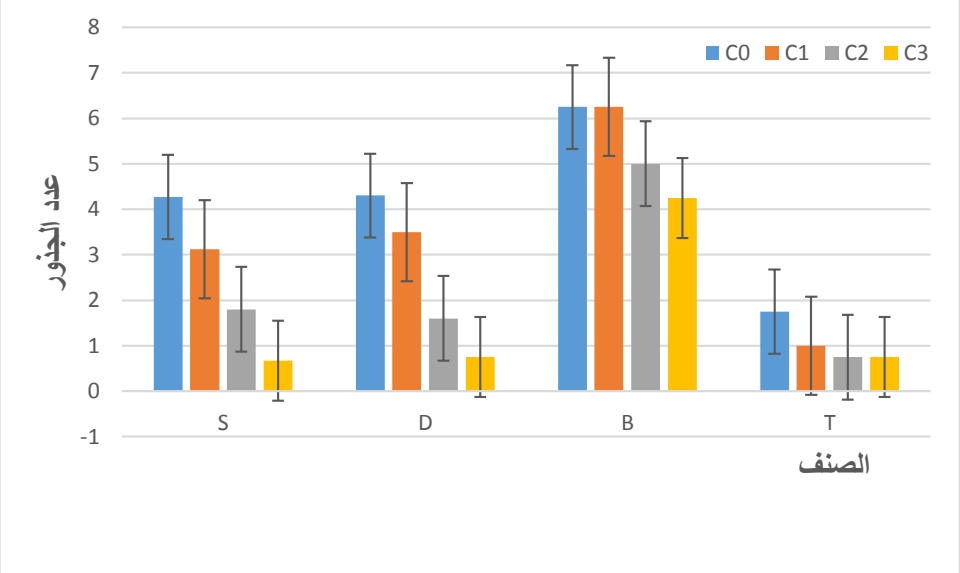


الشكل13-2: تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على متوسط عدد الاوراق لأصناف نبات البطاطس

تبين النتائج (الشكل 13-2) أن متوسط عدد الاوراق نقص تقريبا عند الأصناف الأربعة المدروسة في التجربة خصوصا عند المستوى المرتفع من الملوحة (C_3)150 ميلي مول ، حيث يلاحظ انخفاض في متوسط عدد الاوراق عند الصنفين Bartina وTimate كلما زادت تراكيز الملوحة، بينما أبدى الصنف Spunta وDésirée زيادة في متوسط عدد الاوراق عند مستوى الملوحة(C_1) 25 ميلي مول مقارنة بالشاهد وقدرت نسب الزيادة فيهما فكانت: 6.53% عند الصنف Spunta و 13.82% عند Désirée.

سجلت الدراسة الاحصائية باتباع تحليل التباين (ANOVA) ان سلوك الصنف كل على حدى و تأثير التراكيز الملحية بغض النظر على الاصناف كان معنويا على مستوى 1 % في حين ان اثر التداخل بينهما كان غير معنويا -الجدول (16)-

- **عدد الجذور :**

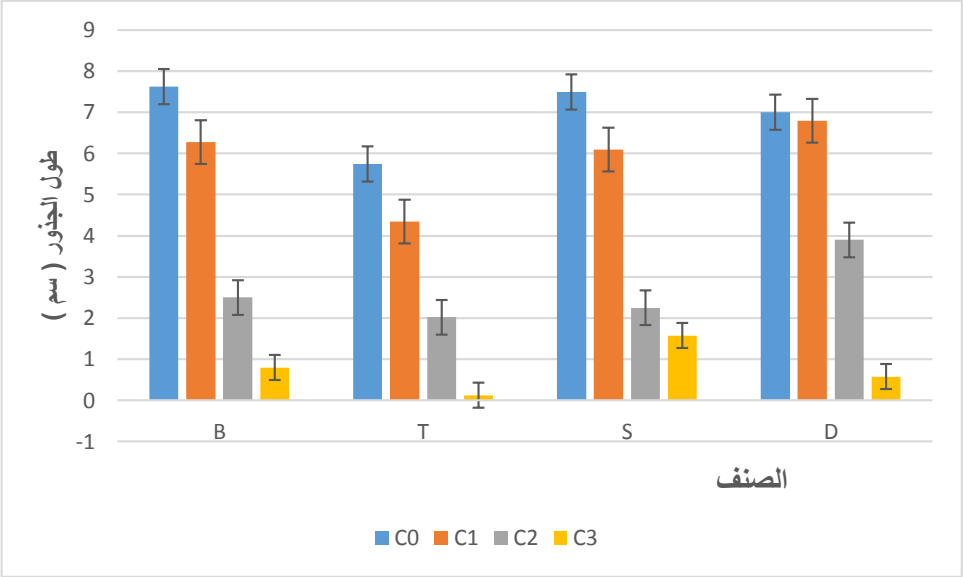


الشكل13-3 : تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على متوسط عدد الجذور لأصناف نبات البطاطس

يبين الشكل(13-3) تأثير الملوحة على متوسط عدد الجذور ، حيث يلاحظ انخفاض في متوسط عدد الجذور عند الاصناف Spunta، Désirée، Timate كلما زادت تراكيز الملوحة، بينما أبدى الصنف Bartina تقارب في نموعدد الجذور عند مستوى الملوحة(C_1) 25 ميلي مول NaCl، مقارنة بالشاهد .

سجلت الدراسة الاحصائية باتباع تحليل التباين (ANOVA) ان اثر فعل الملوحة بغض النظر عن الصنف و تاثير الصنف بغض النظر على الملوحة كان معنويا على مستوى 1 % في حين ان اثر التداخل بينهما كان غير معنويا-الجدول (16)

- **طول الجذور**



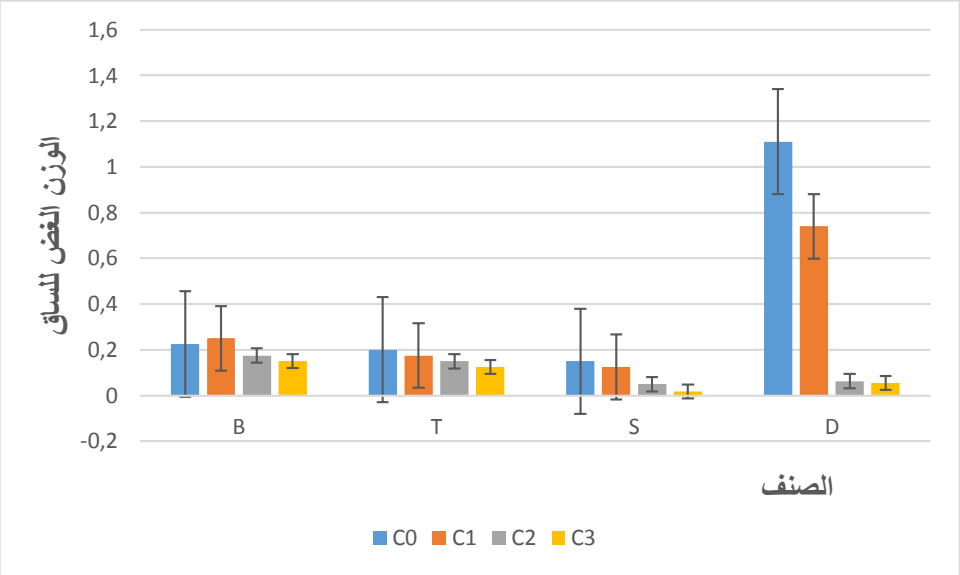
الشكل13-4 : تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على متوسط طول الجذور لأصناف نبات البطاطس

تبين النتائج شكل(13-4) أن متوسط طول الجذر نقص تقريبا عند الأصناف الأربعة المدروسة في التجربة خصوصا عند المستوى المرتفع من الملوحة (C_3) 150 ميلي مول NaCl، مع ملاحظة ان نسبة الانخفاض كانت مختلفة من صنف لآخر , وسجلت نسبة النقصان الحاصلة مقارنة بالشاهد فكانت 17.70%،67.21%، 89.50% عند مستويات الملوحة 25 (C1) ميلي مول , 100 (C2) ميلي مول , 150 (C3) ميلي مول NaCl على التوالي عند الصنف Bartina و 2.85%، 44.28%،91.78% عند Désirée و 18.66% , 70%, 79%عند Spunta. كذلك سجل نقصان في طول الساق عند الصنف *Timate* خاصة عند المستوى المرتفع من الملوحة وكانت نسبة النقصان الحاصلة مقارنة بالشاهد 97.86%عند مستوى الملوحة (C_3) 150 ميلي مول.

ان الدراسة الاحصائية باتباع تحليل التباين (ANOVA) بين ان الاصناف المدروسة سلكت سلوكا متباينا في الوسط الملحي كما ان التراكيز الملحية المقترحة اثرت على الاصناف تأثيرا مختلفا كل على حدى وكان هذا التأثير معنوي على مستوى 1 % في حين ان اثر فعل التداخل بينهما كان معنويا على مستوى % 5 -الجدول (16)-

- **الوزن الغض للساق**

من خلال الشكل(14-1) نلاحظ أن هناك تباين في الوزن الطازج بالنسبة للأصناف الاربعة ، حيث انه في التركيز C_0 (0 ميلي مول NaCl) كان التفوق للصنف Désirée غالبا عن باقي الاصناف وبعدها نلاحظ تزايد تدريجي في الوزن خاصة عند الصنف Bartina عند التركيز C_1 (25 ميلي مول) ، بينما عند التركيزين C2 (100 ميلي مول) و C3 (150 ميلي مول) نلاحظ ايضا تناقص طفيف بالنسبة للصنفين Timate و Bartina يقابله انخفاض ملحوظ بالنسبة للصنفين Désirée و Spunta .

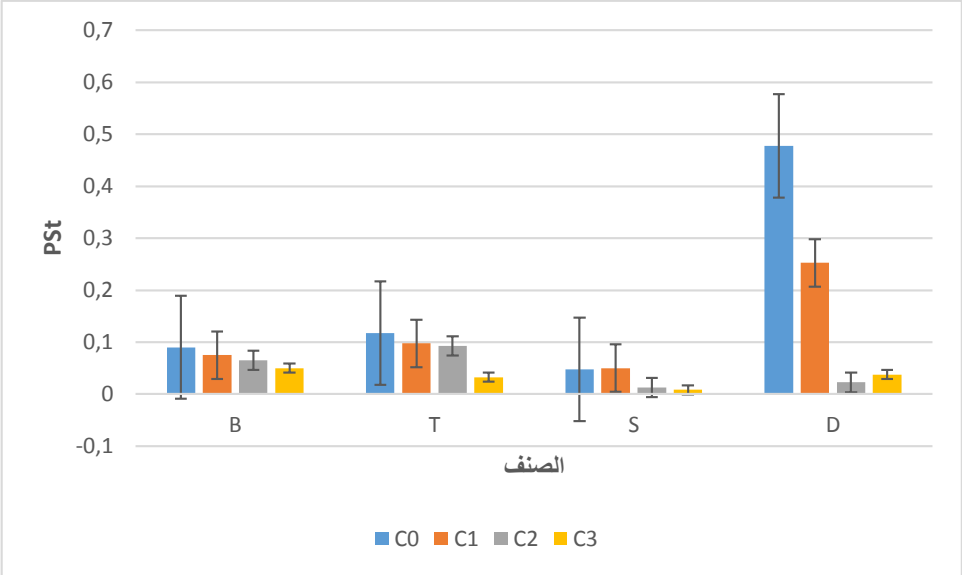


الشكل14-1 : تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على الوزن الرطب للساق لأصناف نبات البطاطس .

سجلت الدراسة الاحصائية باتباع تحليل التباين (ANOVA) ان اثر فعل الملوحة بغض النظر عن الصنف و تاثير الصنف بغض النظر على الملوحة كان معنويا على مستوى 1 % في حين ان اثر فعل التداخل بينهما كان معنويا على مستوى 5 % -الجدول (16)-

- **الوزن الجاف للساق :**

من خلال نتائج الشكل(14-2) نلاحظ تناقص تدريجي في الوزن الجاف للساق وفي مختلف التراكيز بالنسبة للأصناف الاربعة اي انه كلما زاد تركيز الملوحة في الوسط كلما نقص الوزن الجاف للساق.



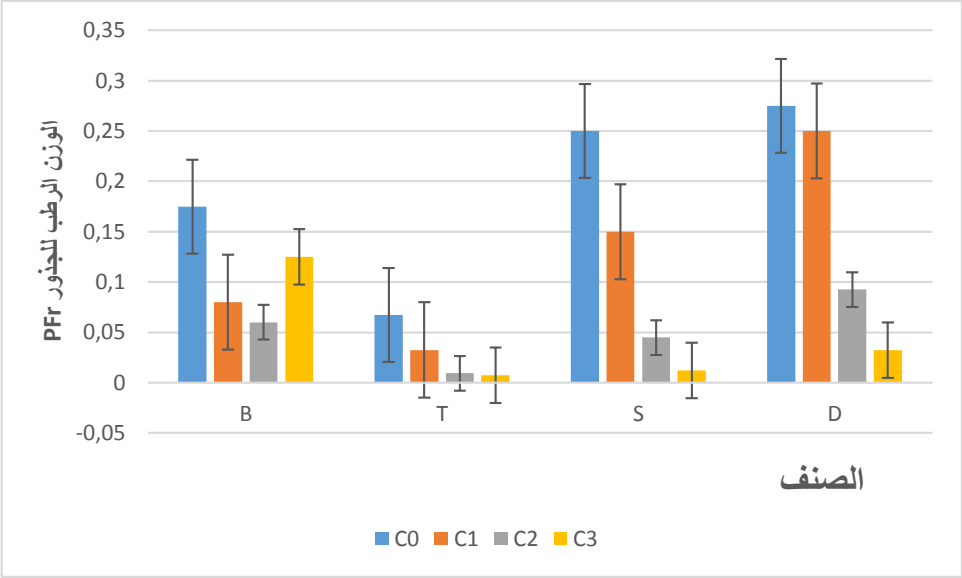
الشكل14-2 تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على الوزن الجاف للساق لأصناف نبات البطاطس

يبين تحليل التباين (ANOVA) وجود اختلافات غير معنوية للملوحة والصنف و بالنسبة للتداخل بين الصنف والملوحة -الجدول (16)-

- **الوزن الرطب للجذور**

تبين النتائج شكل(14-3) أن الوزن الرطب للجذور نقص تقريبا عند الأصناف الأربعة المدروسة في التجربة خصوصا عند المستوى المرتفع من الملوحة (C_3) 150 ميلي مول NaCl ، مع ملاحظة ان نسبة الانخفاض كانت مختلفة من صنف لآخر , وسجلت نسبة النقصان الحاصلة مقارنة بالشاهد فكانت 51.85%،85.92% ،89.25% عند مستويات الملوحة (C1)ميلي مول , 100 (C2) ميلي مول , (C3) 150 ميلي مول NaCl على التوالي عند الصنف Timateو 9.09%، 66.36%،88.11% عند Désiréeو 40% ،82% ،95.2%عند Spunta. كذلك سجل زيادة في الوزن الرطب عند الصنف Bartina خاصة عند المستوى المرتفع من الملوحة وسجلت نسبة الزيادة الحاصلة مقارنة بالشاهد فكانت 28.57%.

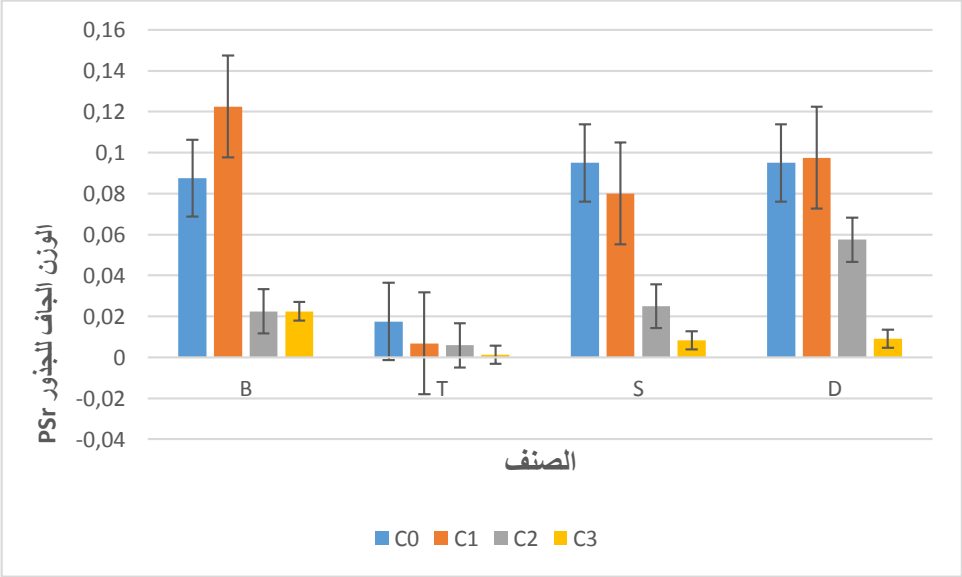
بينت الدراسة الاحصائية باتباع تحليل التباين (ANOVA) ان اثر فعل الملوحة بغض النظر عن الصنف و تأثير الصنف بغض النظر علىالملوحة كان معنويا على مستوى 1 % في حين ان اثر فعل التداخل بينهما كان معنويا على مستوى 5 % -الجدول (16)-



الشكل14-3 : تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على الوزن الرطب للجذور لأصناف نبات البطاطس

- **الوزن الجاف للجذور :**

من خلال الشكل(14-4) تم ملاحظة أن هناك تباين في الوزن الجاف بالنسبة للأصناف الاربعة ، حيث تبين تزايد تدريجي في الوزن خاصة عند الصنفين Bartina و Désirée عند التركيز C_1 25 ميلي مول ، بينما عند التركيزين C2 100 ميلي مول و C3 150 ميلي مول NaCl هناك تناقص ملحوظ بالنسبة لجميع الاصناف.



الشكل14-4: تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على الوزن الجاف للجدور لأصناف نبات البطاطس

سجلت الدراسة الاحصائية باتباع تحليل التباين (ANOVA) ان اثر فعل الملوحة بغض النظر عن الصنف و تأثير الصنف بغض النظر على الملوحة و تأثير فعل التداخل بينهما كان معنويا على مستوى 1 % -الجدول (16)

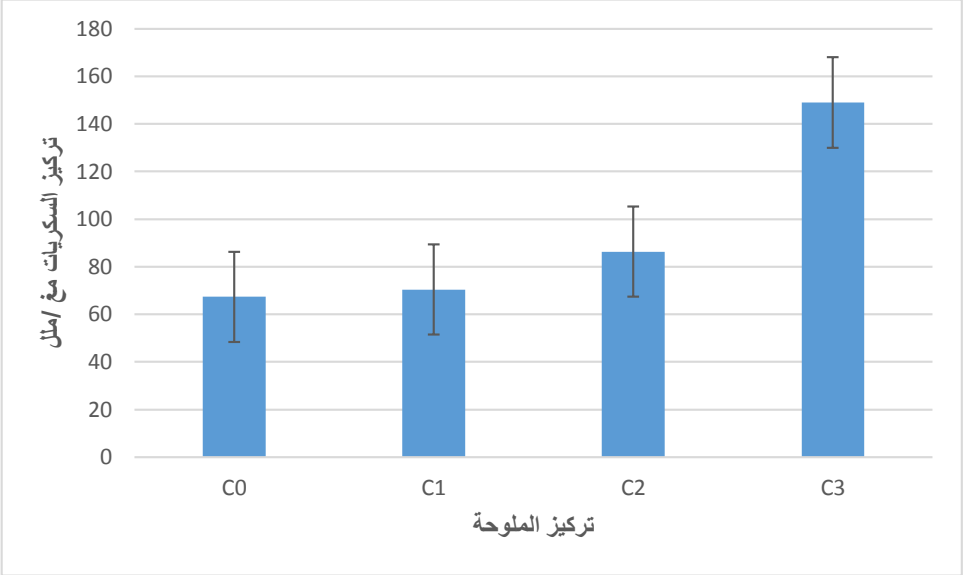
جدول (16) : التحليل البياني (ANOVA) لإظهار اثر الفعل الكمي للملوحة على المتغيرات المدروسة لأربعة أصناف.

	ف البيانية		
المتغيرات	**الصنف**	**الملوحة**	**التداخل**
LT	101,139 ***	64,853 ***	13,900
NF	24,267 ***	1,727 ns	4,505 ***
NR	14,770 ***	65,325 ***	1,999 ns
LR	483,158 ***	27,323 ***	5,335 ***
Pf_t	16,857 ***	19,951 ***	9,437 ***
Ps_t	3,471 ns	4,304 ns	2,233 ns
Pf_r	36,905 ***	23,698 ***	6,108 ***
Ps_r	110,177 ***	88,483 ***	20,708 ***

***Pr<0.001 (معنوي) Pr>0.001 (غير معنويns)**

2.2.1. الدراسة الكيميائية :

- **السكريات الكلية :**



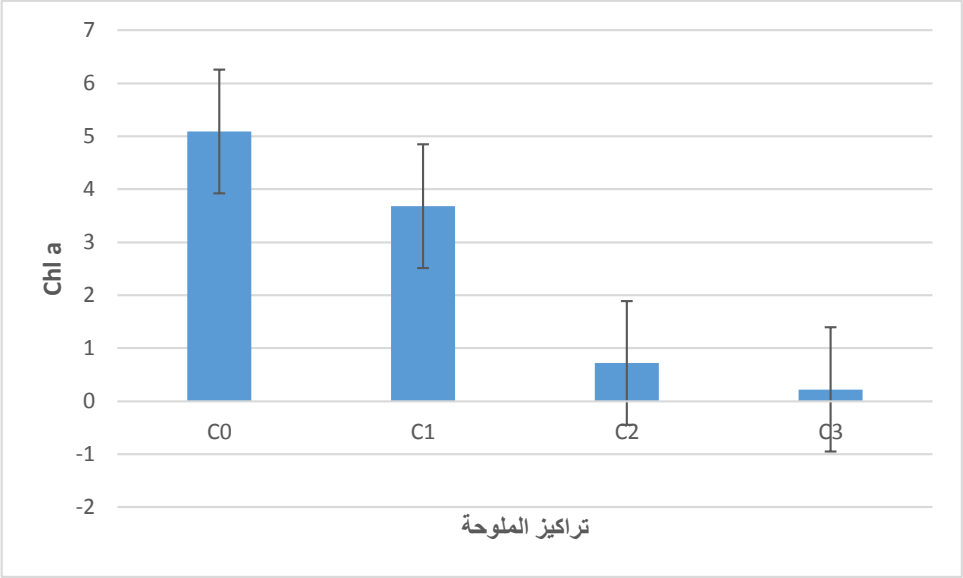
الشكل15-1: تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على السكريات عند الصنف Désirée

بينت النتائج في (الشكل15-1) أن معاملات الملوحة اثرت تأثيرا معنويا على مستوى 1%

(Pb <0.0001) على السكريات الذائبة حيث ارتفعت كميتها مقارنة بالشاهد فكانت بنسبة 4.61%،28.35%، 121.22% عند مستويات الملوحة 25 (C_1) ميلي مول (C2) 100 ميلي مول، 150 (C_3) ميلي مول على التوالي.

- **الكلوروفيل a :**

يبين الشكل(15-2) تأثير الملوحة على محتوى الكلوروفبل a. حيث لوحظ انخفاض في محتوى الكلوروفيل a كلما زادت تراكيز الملوحة، مقارنة بالشاهد .وسجلت نسبة الانخفاض مقارنة بالشاهد فكانت 27.70%،85.85%، 99.56% عند مستويات الملوحة 25 (C_1) ميلي مول (C2) 100 ميلي مول، 150 (C_3) ميلي مول NaCl على التوالي.

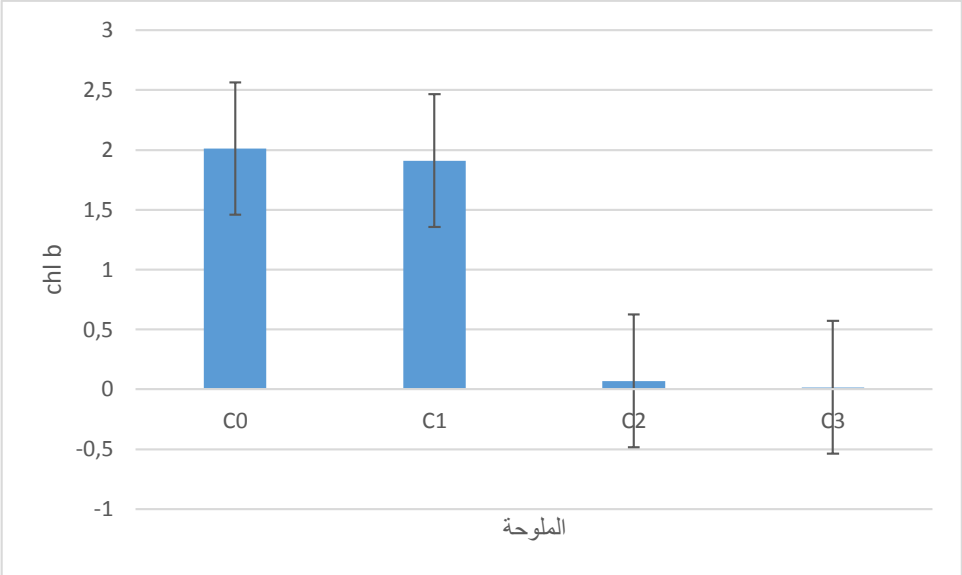


الشكل15-2: تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على محتوى الكلوروفيل a للصنف Désirée

كما لوحظ من الدراسة الاحصائية باتباع تحليل التباين (ANOVA) أن أثر فعل الملوحة على الكلوروفيل a كان جد معنوي على مستوى 1% .

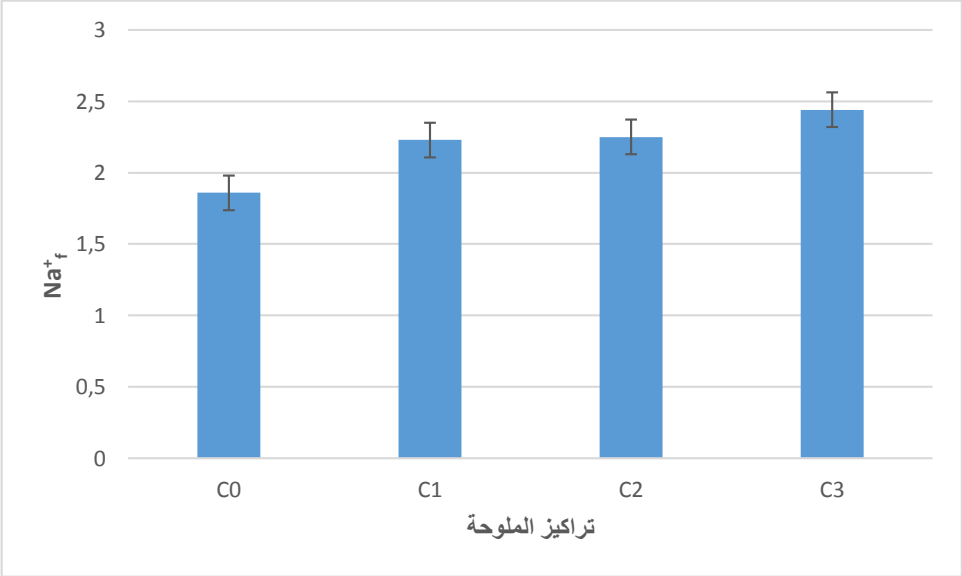
- **الكلوروفيل b**

تبين النتائج شكل (15-3) أن محتوى الكلوروفيل b انخفض خاصة عند المستوى المرتفع من الملوحة (C_3) 150 ميلي مول NaCl ،حيث لوحظ انخفاض معنوي على مستوى 1% في محتوى الكلوروفيل b كلما زادت تراكيز الملوحة، وسجلت نسبة النقصان الحاصلة مقارنة بالشاهد قدرت ب 4.97%،96.56%، 99.20% عند مستويات الملوحة (C_1) 25 ميلي مول ، (C2) 100 ميلي مول، (C_3) 150 ميلي مول NaCl على التوالي. كما سجلت الدراسة الاحصائية باتباع تحليل التباين (ANOVA) أن أثر فعل الملوحة على الكلوروفيل b كان جد معنوي على مستوى 1% .



الشكل15-3 : تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على محتوى الكلوروفيل b للصنف Désirée

- **الصوديوم في الاوراق Na^{+}_{f}**

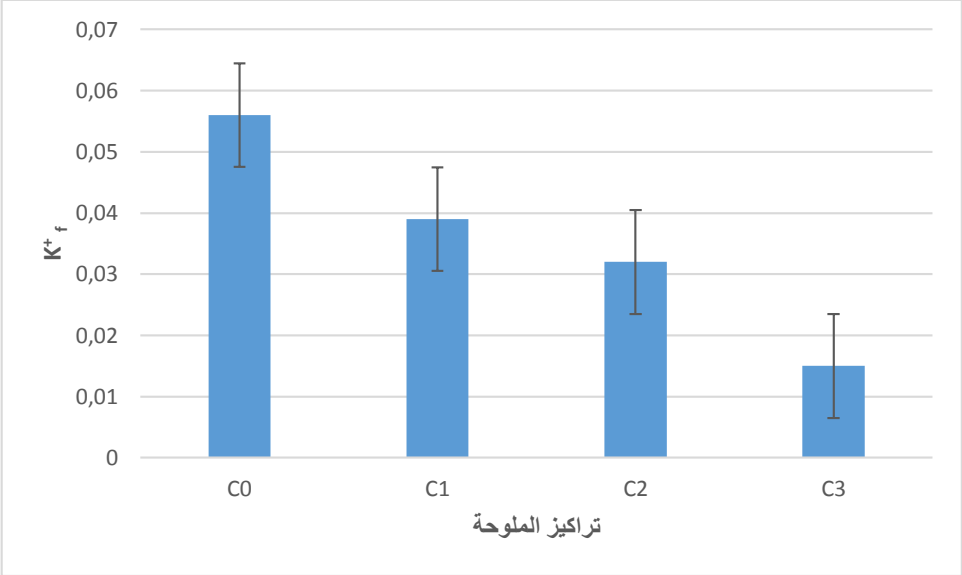


الشكل15-4: تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة محتوى الصوديوم في الاوراق عند الصنف Désirée.

تبين النتائج شكل(15-4) أن محتوى الصوديوم في الاوراق زاد زيادة معنوية تقريبا عند جميع التراكيز الملحية المدروسة في التجربة ، مع ملاحظة أن نسبة الزيادة كانت مختلفة, وسجلت نسبة الزيادة الحاصلة مقارنة بالشاهد ب 19.89%،20.96%، 31.18% عند مستويات الملوحة (C1) 25 ميلي مول ، (C2) 100 ميلي مول، (C3) 150 ميلي مول NaCl على التوالي . كما لوحظ من خلال الدراسة الإحصائية وجود فروق غير معنوية لاثر الملوحة على كمية الصوديوم في الاوراق .

- **البوتاسيوم في الاوراق K^+_f**

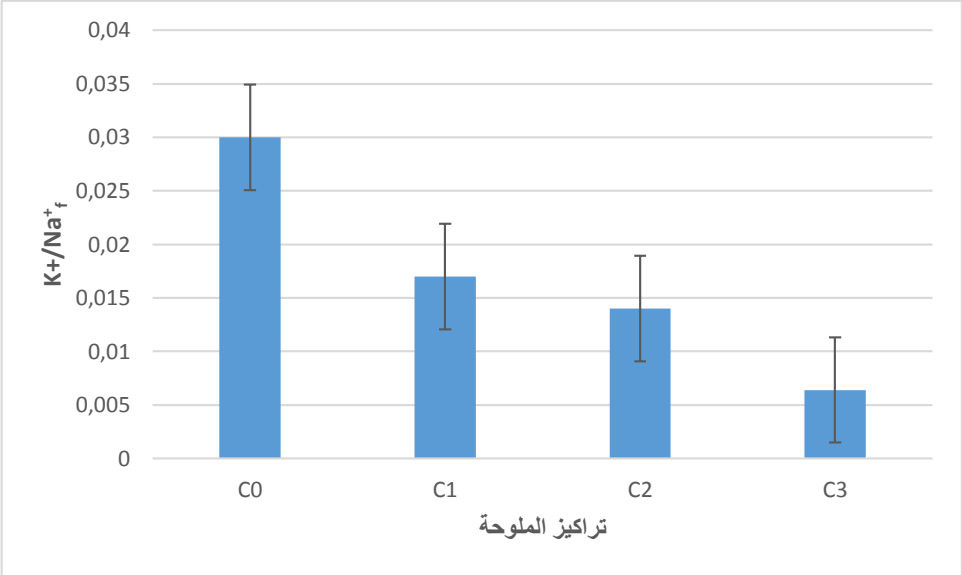
نلاحظ من خلال الشكل(15-5) أن الملوحة أثرت تأثيرا معنويا على مستوى 1% على محتوى البوتاسيوم في الاوراق خاصة في التركيز C3(150 ميلي مول NaCl) وذلك بنسبة 73.21 % .



الشكل15-5: تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة محتوى البوتاسيوم في الاوراق عند الصنف Désirée

- **معامل الانتقاء K^+/Na^+ في الاوراق :**

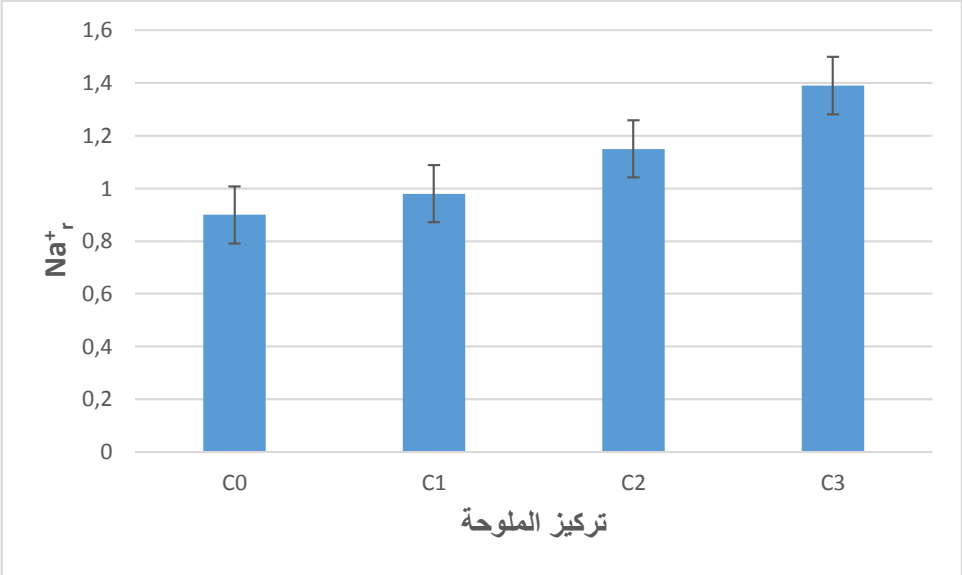
يبين الشكل(15-6) تأثير الملوحة على محتوى معامل الانتقاء K^+/Na^+ في الاوراق . حيث يلاحظ انخفاض معنوي على مستوى 1% كلما زادت تراكيز الملوحة، مقارنة بالشاهد .وسجلت نسبة الانخفاض مقارنة بالشاهد ب 43.33%،53.33%، 78.66% عند مستويات الملوحة (C_1) 25 ميلي مول ، (C2) 100 ميلي مول، (C_3) 150 ميلي مول NaCl على التوالي. كما لوحظ من الدراسة الإحصائية وجود فرق معنوي على مستوى 1% فيما يخص اثر الملوحة على معامل الانتقاء في للاوراق K^+/Na^+_f.



الشكل15-6: تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على معامل الانتقاء في الاوراق عند الصنف Désirée

- **الصوديوم في الجذور**

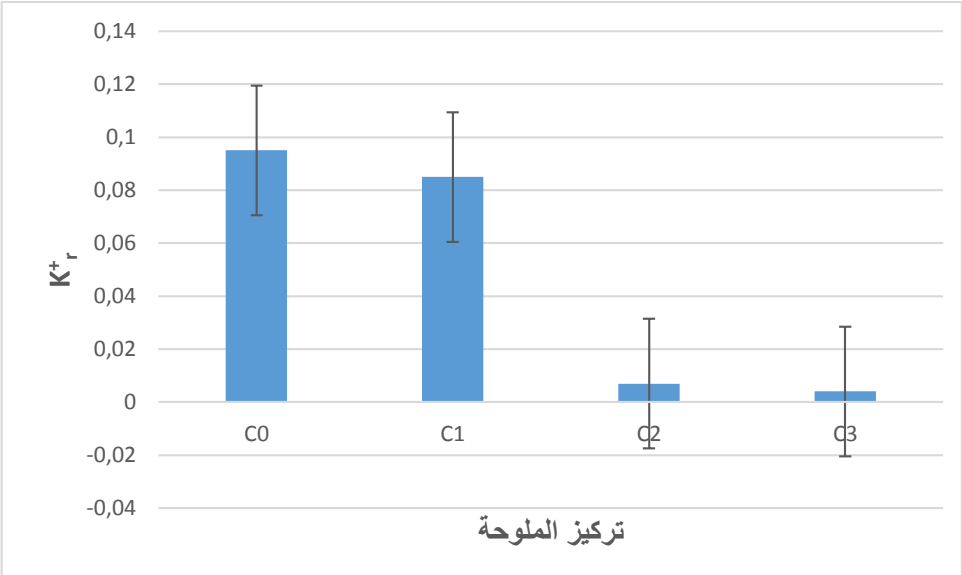
يلاحظ من خلال نتائج (الشكل 15-7) أن الملوحة اثرت تاثيرا ايجابيا على نسبة الصوديوم في الأوراق أي انه كلما ازداد تركيز الملوحة زادت نسبة الصوديوم حيث كانت نسبة الزيادة في التراكيز الملحية (C_1) 25 ميلي مول ، (C2) 100 ميلي مول، (C_3) 150 ميلي مول NaCl 8.88 %،27.77%، 54.44% على الترتيب . كما لوحظ من الدراسة الإحصائية وجود فرق معنوي على مستوى 1% لاثر فعل الملوحة على محتوى للصوديوم في الجذور Na^+_r.



الشكل15-7: تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة محتوى الصوديوم في الجذور عند الصنف Désirée

- **البوتاسيوم في الجذور**

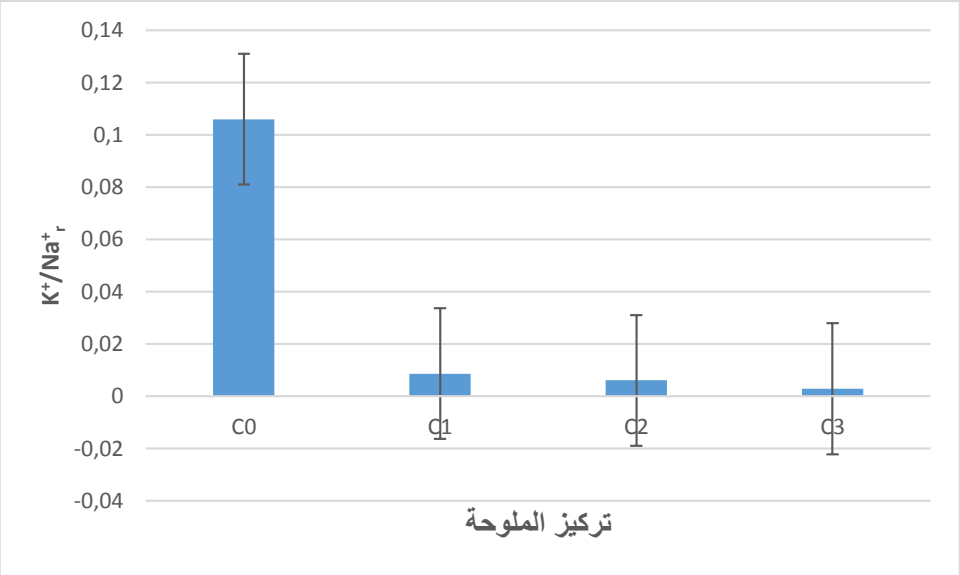
يلاحظ من خلال نتائج (الشكل15-8)انخفاض في نسبة البوتاسوم في الجذور أي انه كلما ازداد تركيز الملوحة كما انخفض البوتاسيوم في الجذور .كما سجلت الدراسة الاحصائية باتباع تحليل التباين (ANOVA) ان اثر فعل الملوحة على محتوى البوتاسيوم في الجذوركان غير معنويا.



الشكل15-8: تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة محتوى البوتاسيوم في الجذور عند الصنف Désirée

- **معامل الانتقاء K^+/Na^+ في الجذور :**

يبين الشكل(15-9) تأثير الملوحة على محتوى معامل الانتقاء K^+/Na^+ في الجذور . حيث يلاحظ انخفاض غيرمعنوي كلما زادت تراكيز الملوحة، مقارنة بالشاهد .وسجلت نسبة الانخفاض مقارنة بالشاهد ب 91.88%،94.33%، 97.35% عند مستويات الملوحة (C_1) 25 ميلي مول ، (C2) 100 ميلي مول، (C_3) 150 ميلي مول NaCl على التوالي.



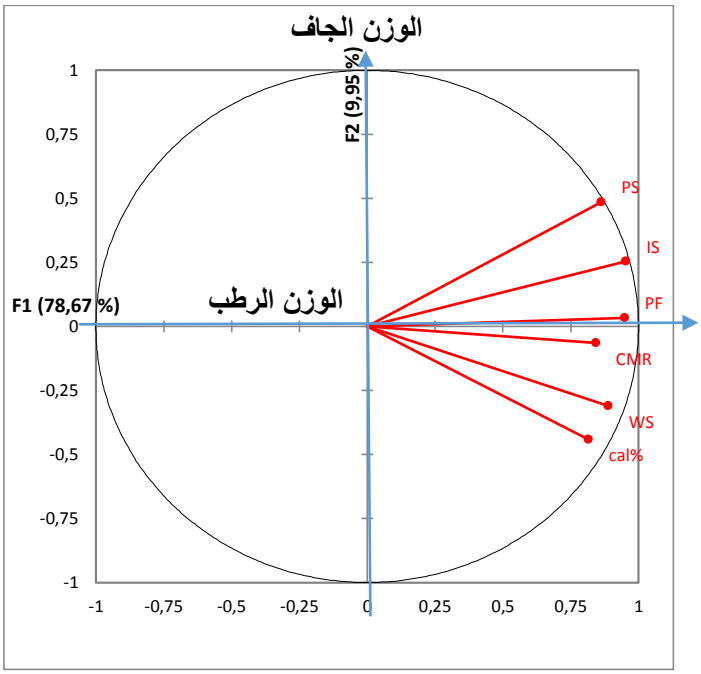
الشكل15-9: تأثير التراكيز المختلفة من الملوحة على معامل الانتقاء في الجذور عند الصنف Désirée

2. دراسة تشكيل الكالوسات :

1.2.التحليل الوصفي لأثر الفعل النوعي للملوحة على الأصناف الوراثية المدروسة

1.1.2.على مستوى حلقة الارتباطات:

بينت الدراسة الاحصائية شكل (16) والجدول (18) للمتغيرات بتطبيق تحليل المركبات النموذجية ACP ان اكبر متغير بين اثر الفعل النوعي للملوحة على الافراد المدروسة هو الوزن الرطب (PF) اي ان هدا المتغير مثل الافراد احسن تمثيل وبالتالي فان له معنوية عالية مقارنة بالمتغيرات الاخرى ونسبة تمثيله على مستوى محاور وتوزيع الانتماء كان 95,4 % على المحور 1 دو المصداقية 78.67 % مقارنة بالمحور 2 الذي كانت مصداقيته 9.85 % والذي مثله المتغيرPS بنسبة 48.6 %.



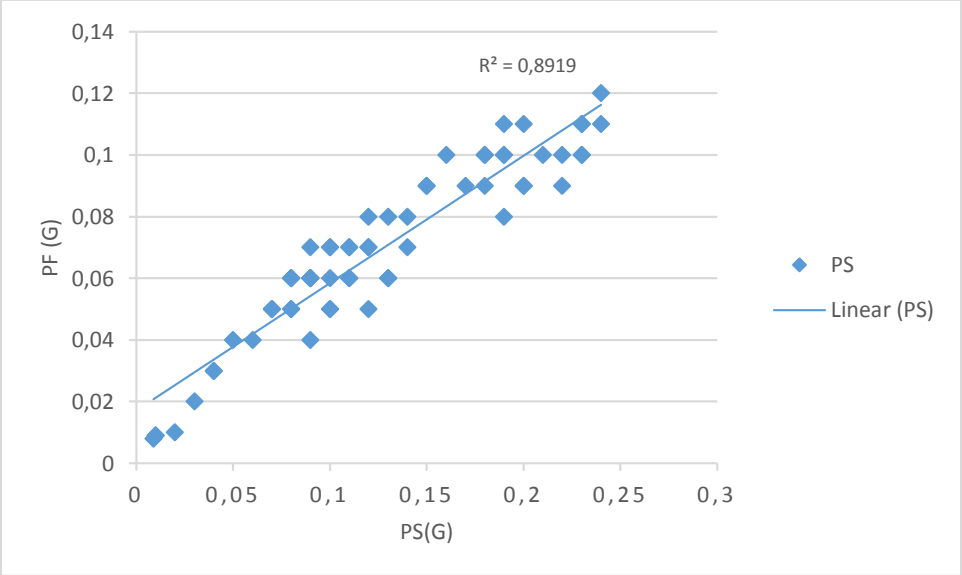
شكل (16) : حلقة معامل الارتباطات بين المتغيرات المقدرة على نبات البطاطس أثناء مرحلة تشكل الكالوسات .

2.1.2. على مستوى مصفوفة معامل الارتباطات :

بينت مصفوفة الارتباطات المدونة في الجدول (17) أن أكبر ارتباط ايجابي سجل بين PS /PF (r=0.945) بينما اظهرت ارتباطات متباينة وكلها معنوية على 1% و5% تتراوح مابين (r= 0.533, 0.890) في باقي المتغيرات شكل (17)

جدول(17) مصفوفة معامل الارتباطات بين المتغيرات المقدرة على نبات البطاطس خلال مرحلة تشكل الكالوس.

Variables	PF	PS	WS	IS	CMR	% cal
PF	**1**					
PS	**0,945**	**1**				
WS	0,774	0,607	**1**			
IS	0,890	0,845	0,808	**1**		
CMR	0,777	0,646	0,791	0,703	**1**	
% cal	0,683	0,533	0,768	0,800	0,600	**1**



شكل (17) اثر معاملات الملوحة على ا لعلاقة بين الوزن الجاف و الوزن الرطب اثناء مرحلة تشكل الكالوسات

جدول (18) فاعلية المتغيرات المقدرة على نبات البطاطس في تمثيل المحورين 1-2 اثناء مرحلة تشكل الكالوسات

المتغيرات	المحور 1	المحور 2
PF	**0,954**	0,253
PS	0,863	**0,486**
WS	0,890	-0,309
IS	0,949	0,036
CMR	0,846	-0,077
% cal	0,819	-0,434
مصداقية المحورين	%78.67	%9.85

3.1.2. على مستوى المنحنى البياني لتوزيع الأفراد :

ان توزيع الافراد حول المحور 1 والممثل في الوزن الرطب ذو المصداقية 78.67 %والمحور 2 المتمثل في الوزن الجاف ذوالمصداقية 9.85 % وشكل المجموعات التالية شكل (18) :

المجموعة الاولى

تميزت أفراد هذه المجموعة بوجود الصنف Timate اذعوملت بالتراكيز الملحية المنخفضة C0 (0 ميلي مول) و C1 (25 ميلي مول) فتمركزهم في الجهة الموجبة لإتجاه المحور 2 لازمها إرتفاع في الوزن الجاف (PS) ومعامل الحساسية (IS).

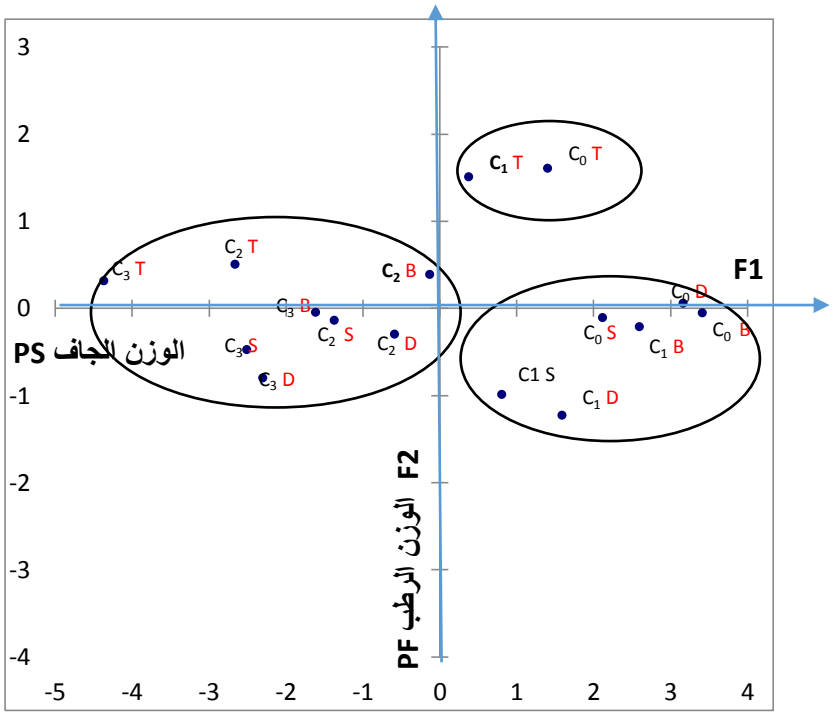
المجموعة الثانية :

تميزت افراد هذه المجموعة بوجود الاصناف Bartina، Spunta ،Désirée المعاملة بالتركيز الملحي C0 (0 ميلي مول) و C1 (25 ميلي مول) ، فتواجدهم في الاتجاه الموجب للمحور 1 يدل على ارتفاع في الوزن الرطب (Pf)، معامل الحساسية(IS)، المحتوى المائي(WS) ، نمو المتوسط النسبي (CMR)، مما يدل على ان افراد الاصناف Bartina، Spunta ،Désirée في التركيز الملحي C1 (25 ميلي مول) و لتركيز C0 (0 ميلي مول).سلكت نفس السلوك اي انها اصناف مقاومة لهذه التراكيز.

المجموعة الثالثة :

تميزت افراد هذه المجموعة بوجود افراد الاصناف Bartina، Spunta ،Désirée،Timate المعاملة بالتراكيز الملحية C2 (100ميلي مول) و C3 (150ميلي مول) ، فتواجدهم في الاتجاه السالب للمحور 1 يدل على انخفاض المتغيرات المدروسة وهي معامل الحساسية(IS)، المحتوى المائي(WS) ، نمو

المتوسط النسبي (CMR). ، الوزن الجاف (PS) والوزن الرطب (PF)، مما يدل على ان الاصناف Bartina، Spunta، Désirée، Timate سلكت نفس السلوك وتميزت بحساسية عالية للملوحة.



شكل (18) : منحنى توزيع أفراد اصناف نبات البطاطس أثناء مرحلة تشكيل الكالوسات لأربعة اصناف من نبات البطاطس

2.2. التحليل الاستدلالي لأثر الفعل الكمي للملوحة على الأصناف الوراثية المختبرة والتداخل بينهم :

صممت نتائج المتغير PF الوزن الرطب في مرحلة تشكل الكالوسات الذي تفوق في تمثيل الافراد تحت الدراسة احسن تمثيل واظهر اثر الفعل النوعي للصنف والملوحة والتداخل بينهم تحت تصميم المربع اللاتيني وذلك لتحديد اثر الفعل الكمي لهذا المتغير فتبين من خلال تحليل التباين (ANOVA) وجود اختلافات معنوية جدا بين الصنف والملوحة كما هو مبين في الجدول (19) والملحق (3)

- **اثر فعل الصنف :**

سلكت هذه الافراد المدروسة سلوكا متباين تحت الظروف الملحية فتوزع هذا السلوك تبعا لاختبار Newman-Keuls الى المجموعات التالية : جدول **(1-19)**

المجموعة A : افرادها مثلت الصنفين Bartina و Désirée . لهما نفس السلوك فهي مقاومة للملوحة

المجموعة B : افرادها مثلت الصنف Spunta سلوك منفرد .فهي نصف حساسة للملوحة

المجموعة C : افرادها مثلت الصنف Timate سلوك منفرد.فهي حساسة للملوحة

جدول (19-1) المجموعات الخاصة باثر فعل الصنف على الوزن الرطب.

الصنف	المجموعات
B	A
D	A
S	B
T	C

- **أثر فعل الملوحة :**

من خلال الدراسة المطبقة على التجربة تبين ان الملوحة اثرت تأثيرا متباينا على الافراد بغض النظر عن الصنف بحيث توزع هذا التأثير الى اربع مجموعات مختلفة **جدول (2.19)**

المجموعة A : افرادها غير معاملة بالملوحة (C0) NaCl .

المجموعة B : افرادها عوملت بتركيز (C1) 25 ميلي مول NaCl

المجموعة C : افرادها عوملت بتركيز (C2) 100 ميلي مول NaCl

المجموعة D : افرادها عوملت بتركيز (C3) 150 ميلي مول NaCl

نستنتج ان التراكيز المطبقة في التجربة لهما تأثيرات متباينة على الاصناف المدروسة.

جدول (19-2) المجموعات الخاصة باثر فعل الملوحة على طول الوزن الرطب**.**

الملوحة	المجموعات
C0	A
C1	B
C2	C
C3	D

- **أثر التداخل بين الصنف والملوحة :**

من خلال الجدول (18-3) الخاص باثر فعل التداخل بين الصنف والملوحة على الوزن الرطب للكالوسات نلاحظ مايلي :

- ✓ تشابه اثر فعل التداخل بين الصنف والملوحة لدى كل من الصنفين Désirée و Bartina عند المعاملة بالتركيز الملحي 150 ميلي مول NaCl مع الصنف Spunta عند معاملته بالتركيز الملحي 100 ميلي مول NaCl وكذلك مع الصنف Timate عند المعاملة بالشاهد وشكلو المجموعة (CD) ، في حين تشابه هذا الفعل المتداخل لكل من الصنف Spunta عند معاملته بالتركيز الملحي 150 ميلي مول NaCl مع الصنف Timate عند معاملة الشاهد وشكلا مجموعة (D) .ايضا تشابه فعل التداخل عند التركيز الملحي 25 ميلي مول NaCl للصنفين Spunta و Bartina وشكلا المجموعة (B) كما تشابه هذا الفعل المتداخل للصنفين Désirée وBartina عند التركيز الملحي 100 ميلي مول NaCl وشكلا المجموعة (C) .
- ✓ في ما يخص الصنف Désirée تشابه فعل التداخل عند التركيز 25 ميلي مول NaCl مع الاصناف Bartina، Spunta، Désirée عند معاملة الشاهد وكونت مجموعة منفردة (AB) ، بينما الصنف Timate كان يسلك سلوكا مغايرا مقارنة بالاصناف الاخرى وهذا عند التراكيز الملحية (100، 150) ميلي مول واعطى مجموعة مختلفة كل مرة (F،E) مقارنة بالاصناف الاخرى .

الجدول (19-3):سلم ترتيب أثر فعل الملوحة والصنف والتداخل بينهم، على نبات البطاطس اثناء مرحلة تشكل الكالوسات تبعا لطريقة Newman keuilsعلى مستوى 5 %.

التراكيز / الصنف	Désirée	Spunta	Bartina	Timate
C_0	A*A**AB***	B A AB	A A AB	C A CD
C_1	A B AB	B B B	ABB	CBD
C_2	A C C	B C CD	A C C	CCE
C_3	A D CD	BDD	A D CD	CDF

*أثر فعل الصنف

**أثر فعل الملوحة

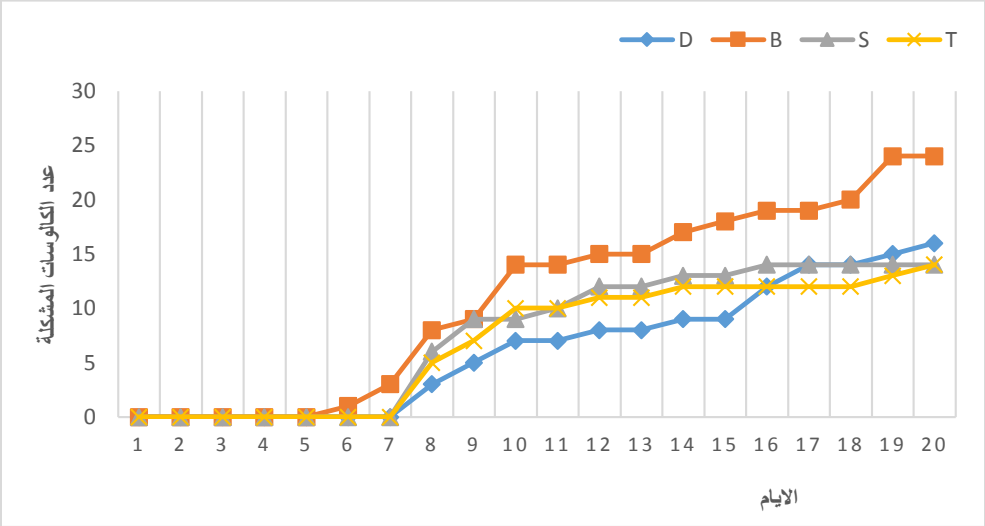
***أثر فعل التداخل بينهما

- **الدراسة الفزيولوجية :**

لغرض تحديد الشروط المثلى لتشكّل الكالوسات عند اربعة اصناف من نبات البطاطس:Désirée ، Spunta، Bartina، Timate إختبرنا جزء من الأوراق في الوسط الزراعي.

➢ **سرعة التشكل**

يمثل المنحنى في الشكل(19-1)، النتائج الخاصة بمعدل تأثير النمط الوراثي على سرعة تشكل الكالوسات فقد لوحظ ظهور الكالوسات بدءا من اليوم الـ 5 للصنف Bartina وبعد7 أيام للأصناف الباقية؛ هذه النتائج تؤكدها التحاليل الإحصائية المنجزة (الجدول 20)، والتي تبين غياب أي تأثير معنوي للنمط الوراثي على سرعة تشكل الكالوسات.



شكل19-1: تأثير النمط الوراثي على سرعة تشكل الكالوسات لأصناف نبات البطاطس المستخدمة في التجربة

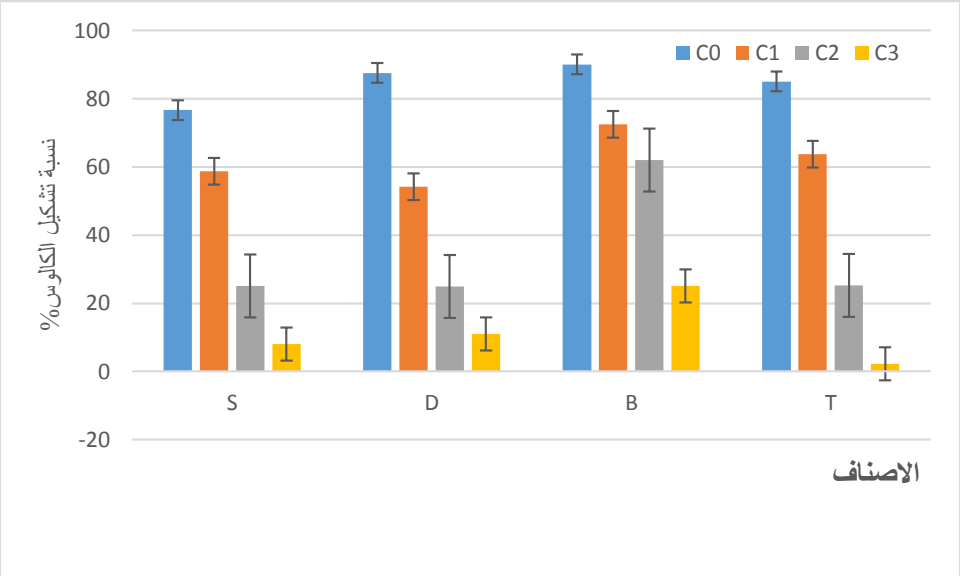
➢ **معدل تشكيل الكالوسات:**

يعبر معدل تشكل الكالوس بنسبة الفسائل المشكلة للكالوس على عدد الكالوسات المزروعة خلال أربعة أسابيع في وسط الزراعة، اذ تبين من خلال الأعمدة البيانية في الشكل (19-2) أن تشكيل الكالوس كان تقريبا في كل التراكيز الملحية، لكن لوحظ انخفاض في نسبة التشكيل مصاحب بالزيادة في تركيز الملح في الوسط الزراعي، مع ملاحظة أن نسبة الانخفاض كانت مختلفة من صنف لآخر حيث ان في التركيز 25 ملي مول NaCl كانت نسبة الانخفاض طفيفة، عند جميع الاصناف المدروسة Bartina و Timate ، Désirée وSpunta .وهذا بنسبة 19.44%، 25 % ، 38%، 23.32% على الترتيب

أما في التركيز 100 ملي مول NaCl فقد كانت نسبة الانخفاض عالية عند الأصنافTimate Désirée وSpunta مقارنة بالشاهد بنسبة 70.47%، 71.42 % ، 67.21%.

و في التركيز 150 ملي مول NaCl كان الانخفاض في نسبة تشكيل الكالوس عالي عند الأصناف Désirée، Spunta، Bartina وقدرت ب 87.42 %،89.55%،87.42% على الترتيب.

بينما الصنف Timate، كان الانخفاض في نسبة تشكل الكالوس عالي جدا ، بمقدار 96.80 %.



شكل 19-2- تأثير التركيز الملحي على معدل تشكيل الكالوس لأصناف نبات البطاطس المستخدمة في التجربة

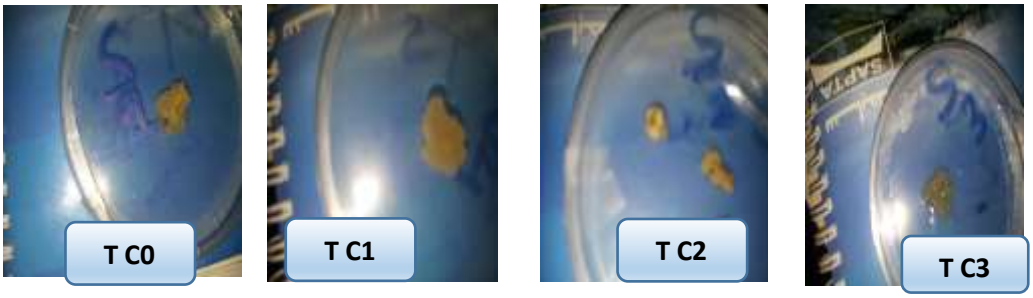
تحليل التباين (ANOVA) يبين وجود اختلافات جد معنوية للصنف والملوحة والتداخل بينهما -الجدول -(20)

- **وصف الكالوسات المتحصل عليها: النسيج واللون**

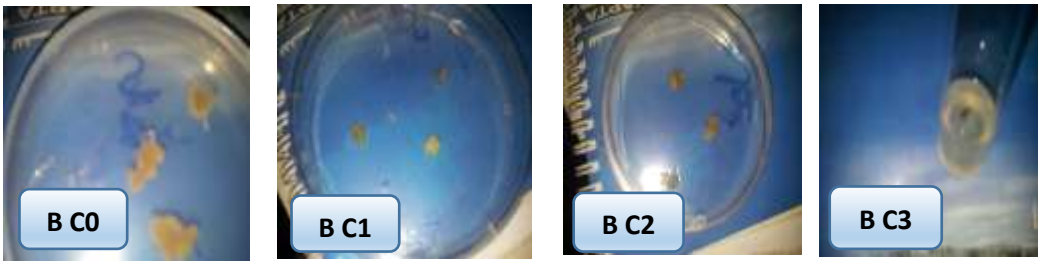
إن النتائج الخاصة بنمط ولون الكالوسات، وفي مختلف التراكيز الملحية، تبين وجود تأثير واضح للملوحة حسب الصور(**1-08، 2-08، 3-08، 4-08**)فمقارنة بالكالوسات النامية في الوسط الخالي من الملح أي الشاهد والملاحظة في الجزء الأول من التجربة، اين كانت اغلبها لزجة نصف شفافة، ومفتتة مصفرة إلى شفافة متماسكة فقد كانت 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 Timate فكانت في الغالب شفافة متماسكة.ومنه نستنتج ان غالبية الكالوسات وفي جميع الاصناف المدروسة في الوسط الخالي من الملح تكون شفافة الى نصف شفافة.في حين أبدت الكالوسات النامية في الوسط 25 ملي مول 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 NaCl، فكان التكاثر متوسط، مع ظهور قطع صغيرة بنية منخرة لعدد كبير من الكالوسات، ولجميع الأصناف.وفي الوسط المضاف اليه 150 ملي مول NaCl، جزء كبير من الكالوسات لم ينمو، وأصبحت بنية خلال أسبوعين، وعدد قليل منها نمت، وكانت شفافة مفتتة إلى بنية فاتحة متماسكة.

من خلال النتائج تبين ان من بين الاصناف التي قاومت الملوحة تحت جميع التراكيز هي الاصناف Bartina و Désirée ثم Spunta اما الصنف الذي تأثر بالملوحة خاصة عند التركيز الملحي 150 ميلي مول هو الصنف Timate .ومنه نستنتج ان الصنف Timate حساس للملوحة على عكس الاصناف Bartina ،Désirée، Spunta فقد كانت مقاومة للملوحة خاصة الصنف Bartina .



صورة(2-1) :الكالوسات المتحصل عليها بالانتقاء التدريجي في الوسط الملحي عند الصنف *.Timate*



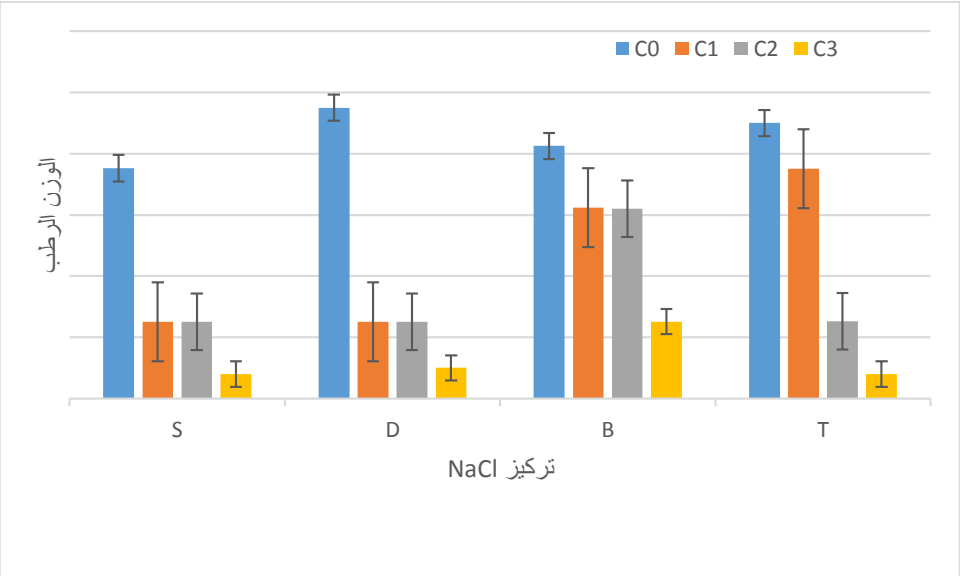
صورة (2-2) :الكالوسات المتحصل عليها بالانتقاء التدريجي في الوسط الملحي عند الصنف *.Bartina*

صورة (2-3) : الكالوسات المتحصل عليها بالانتقاء التدريجي في الوسط الملحي عند الصنف *Désirée*

صورة(2-4): الكالوسات المتحصل عليها بالانتقاء التدريجي في الوسط الملحي عند الصنف **Spunta**

➢ **الوزن الرطب للكالوسات:**

من خلال الأعمدة البيانية في الشكل **3-19**، لوحظ أن نسبة الانخفاض في الوزن الرطب للكالوسات في الأوساط الملحية مقارنة بالكالوسات النامية في الوسط الخالي من الملح تباينت بين الأصناف وحسب التراكيز الملحية



شكل:3-19 تأثير الملوحة على الوزن الرطب لأصناف نبات البطاطس المستخدمة في التجربة.

كانت نسبة الانخفاض في الوزن الرطب عند التركيز 25 ملي مول من NaCl، متقاربة بين الأصناف الأربعة، وهي من 13 إلى 17 %، ما عدا الصنف Timate أين بلغت 23.07 %.

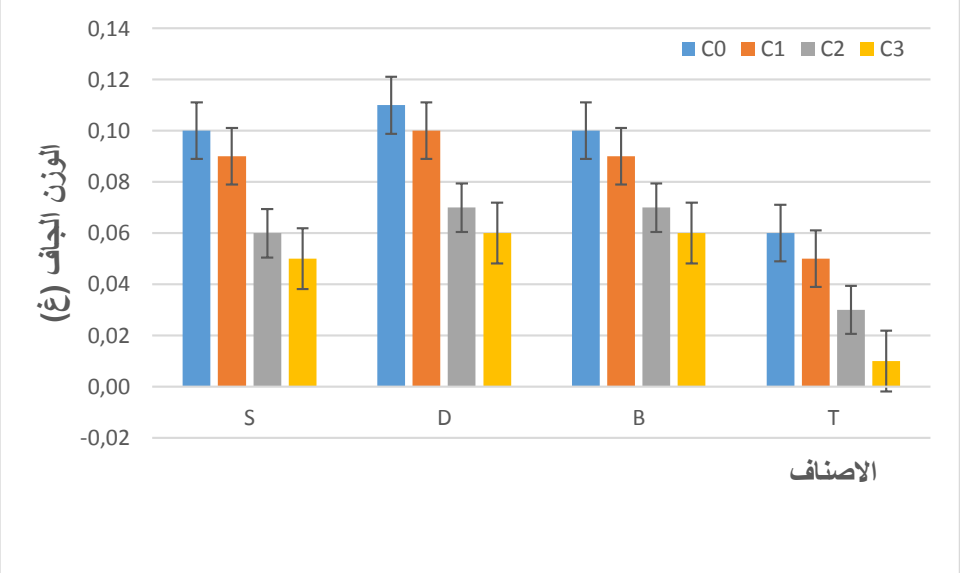
أما في التركيز 100 ملي مول NaCl، نجد أن الصنف Désirée حقق اقل انخفاض في الوزن الرطب 47.82 %. أما الأصناف المتبقية فكانت نسبة الانخفاض في الوزن الرطب بين 50 و69 %.

في التركيز 150 ملي مول NaCl كان معدل الانخفاض في الوزن الرطب بالنسبة لمجموع الأصناف 6.87 %، أما لكل صنف فقد كان الصنف Bartina أكثر مقاومة للملوحة، بمعدل انخفاض في الوزن الرطب 60.86 %، على عكس الصنف Timate بلغت نسبة الانخفاض الى 92.30 %. أما الصنفين Spuntaو Désirée فكان معدل الانخفاض 61.11 و 65.21 % على الترتيب.

ان الدراسة الاحصائية باتباع تحليل التباين (ANOVA) بين ان الاصناف المدروسة سلكت سلوكا متباينا في الوسط الملحي كما ان التراكيز الملحية المقترحة اثرت على الاصناف تأثيرا مختلفا كل على حدى وكان هذا التأثير معنوي على مستوى 1 % في حين ان اثر فعل التداخل بينهما كان معنويا على مستوى 5% **جدول(20)**

➢ **الوزن الجاف للكالوسات :**

تبين الأعمدة البيانية في الشكل **4-19**، أن نسبة الانخفاض في الوزن الجاف للكالوسات في الأوساط الملحية مقارنة بالكالوسات النامية في وسط خالي من الملح تباينت بين الأصناف وحسب التركيز.



شكل19-4 :تأثير الملوحة على الوزن الجاف لأصناف نبات البطاطس المستخدمة في التجربة

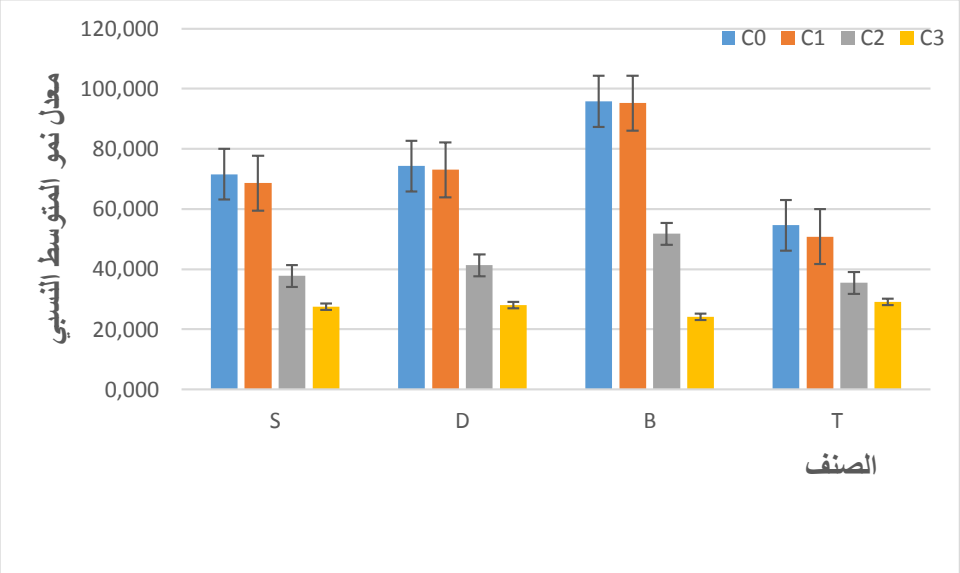
ففي التركيز 50 ملي مولNaCl ، كان معدل الانخفاض لكل الأصناف 11.43 %، وكانت نسبة الانخفاض متقاربة بين الأصناف المعاملة وهي 10 % للصنفين Spunta ، Bartina ، و 9.09% للصنف Désirée ، أما الصنف Timate فحقق اكبر معدل انخفاض 16.66 %.

في التركيز100 ملي مولNaCl ، معدل الانخفاض39.09% لكل الأصناف، في حين نجد أن الصنفين Bartina وDésirée حققا اقل معدل لانخفاض النمو، 30 %،36.36 % على التوالي، أما الأصناف المتبقية فكانت نسبة الانخفاض 40% للصنف Spunta و50 % للصنف Timate والذي سجل اكبر معدل لانخفاض النمو، بينما في التركيز 150 ملي مولNaCl، بالنسبة لمجموع الأصناف كان معدل الانخفاض كبير 55.11 % و كان الصنف Bartina أكثر نموا بمعدل انخفاض 40 % مقارنة بالاصنافDésirée، Timate ، Spunta فكان معدل الانخفاض يتراوح بين 45 و85 %.

ان سلوك الصنف كل على حدى كان معنويا على مستوى 1% بغض النظر عن تأثير الملوحة كما كان تأثير التراكيز الملحية بغض النظر على الاصناف كذلك كانت معنوية على مستوى 1 % في حين ان اثر التداخل بينهما كان غير معنويا-الجدول (20)

➢ **النمو المتوسط النسبي للكالوسات:**

أظهرت النتائج المبينة في الشكل **(5-19)** انخفاض معدل نمو المتوسط النسبي كلما زادت تراكيز الملوحة وبنسب متفاوتة على حسب الصنف ففي التركيز 25 ملي مول NaCl، كان معدل نسبة الانخفاض في النمو المتوسط النسبي للكالوسات 3.53 % وهي نسبة قليلة مقارنة بالشاهد و التي كانت على النحو التالي:(4.10 و1.73و0.63) % للأصناف ، Spunta ، وDésirée،Bartina على التوالي، بينما بلغت نسبة الانخفاض 6.94 % للصنف Timate. أما بالنسبة للتركيز 100 ملي مول NaCl، فبلغ معدل نسبة الانخفاض في النمو المتوسط النسبي للكالوسات 45.77 % والنسب كما يلي: 35.13 % للصنف Timate، و(55.60، 45.03، و47.33)% للأصناف Désirée، Bartina، و Spunta على الترتيب . في حين ان الوسط الملحي بتركيز 150 ملي مول NaCl،سجل معدل نسبة الانخفاض في النمو المتوسط النسبي للكالوسات 61.40 % وكانت النسب كما يلي: 46.63 % للصنف Timate، و 62.35، 61.58، و 74.85% للأصناف Désirée، Spunta ، و Bartina على التوالي.



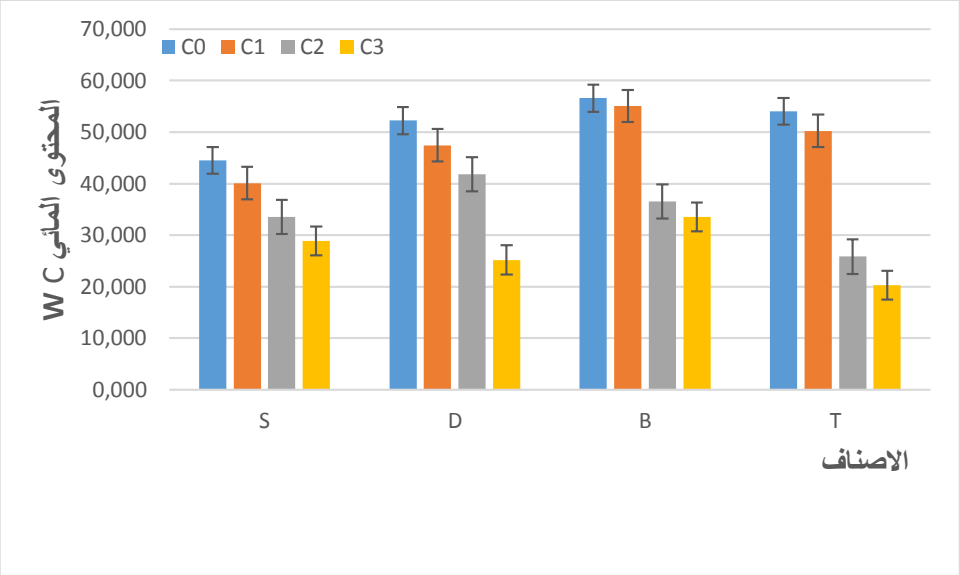
الشكل19-5: تأثير الملوحة على النمو المتوسط النسبي لأصناف نبات البطاطس المستخدمة في التجربة (%)

بين تحليل التباين (ANOVA) ان اثر فعل الصنف كان معنويا على مستوى 5% بغض النظر عن الملوحة بينما كان اثر فعل الملوحة معنويا على مستوى 1% في حين التداخل بينهما كان غير معنويا. - الجدول (20)-

- **تحديد المحتوى المائي:**

الهدف من هذه الدراسة هو اظهار تأثير التراكيز الملحية على الحالة المائية للكالوسات، حيث بينت نتائج الدراسة المبينة في الشكل (19-6)، وجود تأثير واضح للملوحة على محتوى الماء في الكالوسات ،

فقد سجل انخفاض المحتوى المائي مع زيادة تركيز الملح في الوسط إلا أن نسبة الانخفاض متباينة بين الأصناف حيث ان في التركيز 25 ملي مول NaCl، كان المحتوى المائي تقريبا مماثل لكالوسات الشاهد عند كل الأصناف، ماعدا الصنف Bartina، أين كان منخفض مقارنة بالشاهد، أي أن هذا التركيز لم يؤثر على المحتوى المائي، عكس التركيز 100 و150 ملي مول NaCl الذين لهما تأثيرا واضحا، حيث لوحظ انخفاض معنوي في محتوى الماء في الكالوسات.كما لوحظ ارتفاع المحتوى المائي في الكالوسات لكل الأصناف، وفي كل التراكيز الملحية



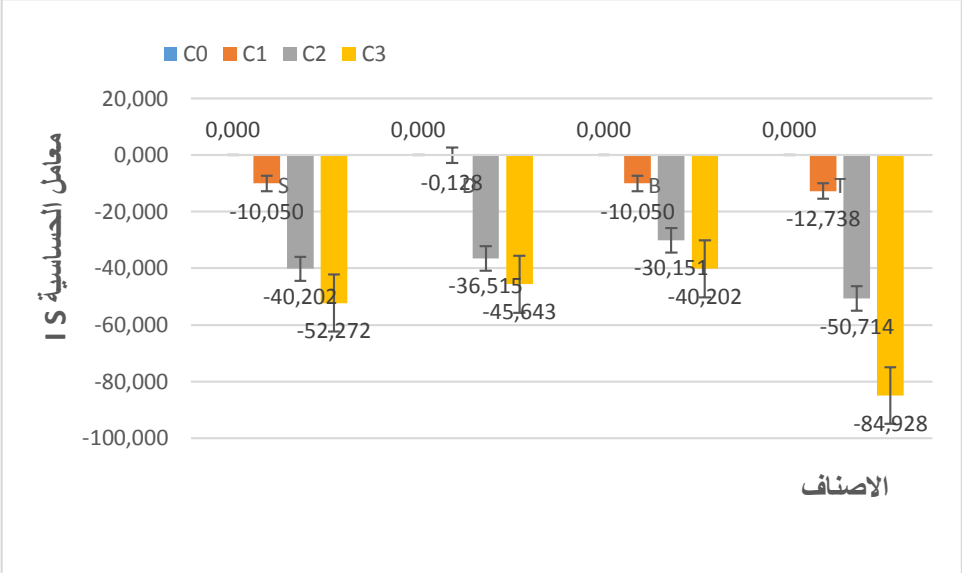
الشكل 19-6: تأثير الملوحة على المحتوى المائي لأصناف نبات البطاطس المستخدمة في التجربة (%)

سجلت الدراسة الاحصائية باتباع تحليل التباين (ANOVA) ان اثر فعل الملوحة بغض النظر عن الصنف كان جد معنوي على مستوى 1% في حين ان سلوك الاصناف المدروسة في الوسط الملحي كان سلوكا معنويا على مستوى 5 % بينما ان اثر فعل التداخل بينهما كان غير معنويا -الجدول (20)-

- **معامل الحساسية للملوحة:**

من خلال النتائج في الشكل **19-7** تكون الحساسية للملح في التركيز المنخفض 25 ملي مول NaClمتقاربة لجميع الاصناف حيث تتراوح ما بين (-9.12 %) و(-12.73 %) .أما في التركيز 100 ملي مولNaCl ، فالحساسية للملح كانت ايضا متقاربة بنسب كبيرة تراوحت ما بين (-30.15 % و-50.71 %) لكل الأصناف .

في حين تباين سلوك الاصناف عند التركيز 150 ملي مول بالنسبة للصنف Timate أبدى اكبر حساسية للملح (-84.92 %) ثم الصنف Spunta (-52.27 %) ثم Désirée (-45.64 %) وأخيرا الصنف Bartina الذي كان اقل حساسية للملوحة (-40.20 %)



الشكل 19-7: تأثير الملوحة على معامل الحساسية لأصناف نبات البطاطس المستخدمة في التجربة (%)

ان الدراسة الاحصائية باتباع تحليل التباين (ANOVA) بينت ان تأثير فعل الصنف وتأثير فعل الملوحة وكذلك التداخل بينهما كان معنويا على مستوى 1%.-الجدول (**20**)-

جدول (20) :التحليل البياني (ANOVA) لإظهار اثر الفعل الكمي للملوحة على المتغيرات المدروسة بالنسبة لمرحلة تشكيل الكالوسات

الإحصاء	**ف البيانية**		
المتغيرات	**الصنف**	**الملوحة**	**التداخل**
CAL%	2122,266 ***	278,088 ***	108,733 ***
PF	900,333 ***	408,686 ***	5,849 ***
PS	124,028 ***	121,150 ***	0,803
CMR	36,962 ***	6,970 ***	1,591
WS	65,545 ***	7,723 ***	3,147
IS	998,257 ***	97,602 ***	30,172 ***

***Pr<0.001 (معنوي) Pr>0.001 (غير معنوي ns)**

المناقشة

II. المناقشة :

1.مرحلة الاكثار الدقيق :

استنادا الى الدراسة الاحصائية الوصفية (ACP) التي طبقت على المتغيرات المختبرة على نبات البطاطس لأربعة اصناف Bartina، Spunta، Désirée، Timate تبين أن طول الساق(LT)و محتوى الكلوروفيلa (Chl a)بالنسبة لمرحلة الاكثار الدقيق مثلت الأفراد بنسب 95.4، 95.9% ، على الترتيب ، هذه المتغيرات أظهرت الفعل النوعي للملوحة والصنف والتداخل بينهم مقارنة بالمتغيرات الأخرى المختبرة ، بتطبيق التحليل الاستدلالي (ANOVA) تحت تصميم القطاعات العشوائية تم استنتاج مدى فاعلية الملوحة على النبات وتحديد أثر الفعل الكمي للملوحة والصنف والتداخل بينهم تم تحليل متغيرات المجموعة الفعالة التي مثلت الافراد احسن تمثيل.تبين أن تأثير الملوحة على الافراد كان معنويا على مستوى 1 %.

- **اثر فعل الملوحة على المظاهر المورفولوجية والفزيولوجية لأربعة اصناف من نبات البطاطس (Timate، Spunta، Désirée،Bartina)**

تم دراسة تأثير الملوحة على نمو نباتات البطاطس من قبل عدد من الباحثين. فعلى سبيل المثال، درس (Silva *et al.*, 2001) تأثير تراكيز مختلفة من ملح الطعام على تشكل درينات نبات البطاطس عن طريق الزراعة النسيجية. وقد وجد الباحثون ان تركيز 100ميلي مول قد منع تماماً تشكل الدرينات في كافة الأصناف المدروسة. وفي تجربة أخرى، درس(Khrais 1998) تحمل 130صنفاً من نبات البطاطس للملوحة *in vitro*. وقد تبين للباحثين أن أفضل الأصناف قد تحملت عند التركيز 120ميلي مول NaCl.

في دراستنا الحالية، جرى اختبار أربعة أصناف التي زرعت في الجزائر وهي Spunta و Désirée Bartina, وTimate والتي تبين أن تحملها للملوحة اثناء الزراعة النسيجية لا يتعدى 100ميلي مول NaCl، باستثناء بعض النباتات التي وصل تحملها لـ 100ميلي مول وكان نموها ضعيفاً جداً. بينما وصل تحمل بعض الأصناف إلى 150ميلي مول مثل الصنف Bartina وDésirée.

نلاحظ من النتائج فيما يخص نمو وتطور الجزء الهوائي أن التركيز الملحيNacl 25% لم يسجل أي فارق معنوي بالمقارنه بالشاهد حيث كان النمو متقارب كما اظهر Taleisnik and) (Grunberg., 1994 ان التركيزات المنخفضة من NaCl اقل من 3 غرام في اللتر يمكن ان تحفزنمو الأجزاء الهوائية لبعض اصناف نبات الطماطم. وهذا يدل على ان التراكيز المنخفضة من الملوحة قد تكون ضروريه لحدوث عملية النمو بصوره طبيعيه بما في ذلك امتصاص الماء والأيونات .

(Badawi ,1985)وأيضا تبين من النتائج اشكال (15-1 ، 15-2، 15-3) أنه كلما زادت تراكيز المستويات الملحيه في الوسط قل معدل أطوال النبيتات LT/NF (r= 0.544) والجذور LR/NF(r= 0.612) .وقل عدد الأوراق خاصة عند الأصناف Bartina وDésirée Spunta وهذا ما يتوافق مع نتائج (khenifi et al ., 2011)ويعود سبب ذلك الى قلة العمليات الحيويه في النبيتات المعرضه للاجهاد الملحي (Rengel,.1992) والى الاختلال في التوازن الغذائي ولحصول الظاهرة التفاضلية (Selectivity) للنبات بامتصاص العناصر الغذائيه اللازمه لنموه (الزبيدي، 1989)وهذا يتفق مع (وادي، 2007)حيث لاحظ ان اطوال نبيتات البطاطس وجذورها من صنف Désiréeالمزروعه *In vitro* الحي تختزل بزيادة التراكيز الملحية كما لاحظ(khenifi et al .,2011) عند الأصناف Spunta وTimate ان طول الساق ينخفض مع ارتفاع تراكيز الملوحة .وقد يؤدي كذلك الانخفاض الى قلة توسع وانقسام الخلايا والاختلال في نشاط الايضي المرافق لها مع انخفاض في الجهد الأزسموزي الذي يعرقل امتصاص الماء والعناصر الغذائيه.

ان التراكيز العالية لكلوريد الصوديوم NaCl تؤدي الى تقليل الجهد المائي لوسط النمو وانخفاض معدل انتقال الماء فيقل الضغط الانتفاخي للخليه ويجعلها منكمشة فتعرقل الفعاليات الحيويه (Smith et al ,1992).كما ان عدم النمو في التراكيز الملحية 150 %عند جميع اصناف نبات البطاطس المدروسة في التجربة قد يعود الى أن هذه التركيز العالي يؤدي الى قلة امتصاص الماء واضطراب الفعاليات الحيويه .كما أن زيادة تراكم الايونات الملحية وخاصة الصوديوم و الكلوريمكن أن يؤدي الى حدوث السميه الأيونيه الناتجه من زيادة تركيز الأيونات في الخلايا والأنسجة النباتيه Munns,2002) وهذا يتفق مع (وادي، 2007)اذ انعدم نمو نبات البطاطس صنف Desirée المزروع *In vitro* عند التركيز الملحي 125ملم مول / لتر.كما انعدم نموالصنف Timate عند المستويات المرتفعة للملوحة خاصة تحت التركيز 150%.وهدا يتوافق مع نتائج (khenifi *et al*., 2011) .(Bouraoui et al ., 1998 ;

كما يظهر تحليل البيانات التي تم الحصول عليها خلال عملية انبات النباتات في المختبر أن التراكيز المختلفة من كلوريد الصوديوم لها تأثير كبير على عدد الاوراق المتكونة.يتم الحصول على أفضل القيم في وسط MS مع تركيز كلوريد الصوديوم 25 ميلي مول.في المقابل فان التراكيز العالية من كلوريد الصوديوم NaCl تسبب انخفاضا ملحوظا في عدد الاوراق لا سيما تركيز 150 ميلي مول وقد يعود هذا كما بينه الباحثون (Munns and Tester., 2008) ان عملية التركيب الضوئي لن تكون قادرة على تلبية احتياجات الكربوهيدرات في الأوراق الصغيرة والتي تنخفض في النمو تبعا لذلك.وعموما هناك انخفاض

في النمو الخضري يتمثل اما في انخفاض عدد الاوراق أو مساحة الورقة وهو أول نتيجة نراها لتأثيرات الاجهاد الملحي (Benmahioul et al .,2009).

توضح نتائج دراسة تأثير الملوحة على النظام الجذري أنه في حالة الاجهاد الملحي المعتدل 25 ميلي مول من كلوريد الصوديوم فان كل الأصناف المدروسة لم تتأثر بشكل كبير . أما التراكيز 100 و 150 ميلي مول من كلوريد الصوديوم فان جميع النباتات تستجيب بشكل سلبي , كما كشفت دراسة أجراها (Bouaouina and al . , 2002)أن تأثير الملوحة ينظر اليه في المقام الأول على مستوى الجذر حيث سيكون هذا المستوى أكثر تأثرا بالملوحة مقارنة بالجزء الهوائي. و لاحظ (Suhayda et al. , 1992) انخفاض في استطالة الجذر في التراكيز العالية 100 الى 200 ميلي مول كلوريد الصوديوم , وأكد (Netondo, 1999)ان هذا الانخفاض في نمو الجذور يمكن أن يعود الى انخفاض معدل انقسام الخلية والاستطالة وبالتالي انخفاض في قطر جذورها.

من خلال النتائج نلاحظ انخفاض في الوزن الجاف للساق والجذر تحت الظروف الملحية في كل الأصناف وقد كانت معدلات هذا الانخفاض مختلفة باختلاف الصنف وتركيز الملح مع تسجيل فروقات معنوية للوزن الجاف عند الساق PS_T/PF_T (r=0.823) وعند الجذور PSr/PFr (r=0.823) . أما بالنسبة للوزن الغض لوحظ تباين في مدى تأثير الملوحة على الساق والجذور للأصناف الأربعة حيث توضح النتائج وجود فروقات معنوية بين المعاملات الملحية في الوزن الغض للساق PF_T/LT (r= 0.567) والوزن الغض للجذور PF_r/LT (r=0.832) كما تفوق التركيز C1 (25 ميلي مول NaCl) على جميع التراكيز خاصة عند الصنفين Bartina و Désirée.اذ أثبت ذلك (خضر واخرون . ، 2009)على نبات الارز (الكعبي ،2004)و(الزبيدي، 2008)على نبات نخيل التمراذ ان التراكيزالمعتدله للأملاح تؤدي الى زيادة في الوزن الغض النباتي وربما يعود السبب الى أن تقوم الخلايا في امتصاص الأيونات الملحيه بوصفها وسيلة تأقلم ظروف شد الملحي (Rains *et al.*,1986).

ان الانخفاض في معدل الاوزان عند التراكيز العاليه من NaCl يعود بسبب التغيرات الحاصله في العلاقه المائيه للخلايا واعادة تنظيم جهدها الاسموزي (Mass, 1986) كما أن التراكيز العالية لكلوريد الصوديوم تؤدي الى تقليل الجهد المائي لوسط النمو وانخفاض معدل انتقال الماء فيقل الضغط الانتفاخي للخليه ويجعلها منكمشة فتعرقل الفعاليات الحيويه (Smith et al . ,1992) وان عدم النمو نبات البطاطس عند التراكيز الملحية 150 ميلي مول قد يعزى الى أن هذه التراكيز العالية تؤدي الى قلة امتصاص الماء واضطراب الفعاليات الحيويه اضافة الى حدوث اختلال في امتصاص العناصر الغذائيه في حين أن زيادة تراكم الايونات الملحية وخاصة الصوديوم و الكلوريمكن أن يؤدي الى حدوث السميه الأيونيه الناتجه من زيادة تركيز

الأيونات في الخلايا والأنسجة النباتيه (Munns,2002) .وهذا يتفق مع(وادي، 2007) اذ انعدم نمو نبات البطاطس صنف Dessrée المزروع *In vitro* عند التركيز الملحي 125ملم مول / لتر.من النتائج المتحصل عليها والمناقشة في الدراسة لوحظ ان الصنفين Bartina و Désirée أظهرا تحملا ومقاومة افضل في كل تراكيز الملح مقارنة بالصنفين Spunta وTimate .

➢ **اثر فعل الملوحة على الظاهرة البيوكيميائية للصنف : Désirée**

في هده الدراسة الحالية، جرى اختبار الصنف Désirée

- **الكلوروفيل**

تسببت الملوحة في انخفاض محتوى الكلوروفيل a و الكلوروفيل b حيث كان تأثيرها معنوي Chl a/ Chl b (r= 0.966) اذ بينت الدراسة أن كل من انخفاض الكلوروفيلa والكلوروفيلb ربما يعود هذا تكوين إلى إنزيم الكلوروفيلاز المسؤول عن تحطيم الكلوروفيل أو نتيجة للتغيرات في تركيب البلاستيدات الخضراء لأوراق النباتات عند ارتفاع مستوى الملوحة مما يؤدي إلى تحطم بروتين البلاستيدات واختزال الكلوروفيل وتثبيط عملية النقل الالكتروني على مستوى الأنظمة الضوئية(Tuna *et al*., 2008) كذلك انخفاض البوتاسيوم ودوره في عملية التركيب الضوئي بسبب زيادة نسبة الصوديوم مما يؤدي تحول اللون من الأخضر الى الاصفرار للنبات و يعززذلك علاقة الارتباط بين كمية الصوديوم إلى البوتاسيوم ومحتوى الكلوروفيل $Chl\ a/Na^{+}_{f}$ (r=-0,555)، $Chl\ a/K^{+}_{f}$ (r=0,874) تحت ظروف النمو وتتفق هذه النتائج مع ما وجده (طواجن وآخرون. ،2004).

*** السكريات الذائبة:**

لوحظ أن السكريات الذائبة تزيد بزيادة الملوحة فقد لوحظ انه توجد علاقة سلبية بين Chl a / Suc (r= - 0.779) وبين Chl b/ Suc (r= -0.748) Kf/Suc (r= -0.847)وقد يكون ذلك راجع إلى أن التغيير في علاقة بالكربوهيدرات مباشرة بعمليات فيسيولوجية عديدة كالبناء الضوئي والنقل والتنفس والتي تكون مركزها الرئيسي في الاوراق (Tsakalidi *et al* ., 2011).

كما تعد السكريات الذائبة من المواد التي تلعب دورا مهما في التنظيم الاسموزي للخلايا خلال ظروف الضغط الملحي (Gill and Sharma., 2002)وأن التكيف للملوحة ونقص الماء يرتبط مع زيادة مستوى الكربوهيدرات في الخلايا النباتية (Tajdoos *et al*., 2007)

- كما اثرت الملوحة على معامل الانتقاء K+/Na+ حيث تبين نتائج الدراسة تراكم الصوديوم في أوراق وجذور نبات البطاطس فقد لوحظ انه توجد علاقة سلبية بين K+/Naf/Suc (r= - 0.793) وعلاقة ايجابية معنوية K+/Naf/Chla (r= 0.847) , K+/Naf/Kf (r= 0.967) , K+/Na+f/Nar (r=-0.793)

وهذا يتفق مع ما وجده (Allen *et al* ., 1998)ويعزز سبب الزيادة في أيونات الصوديوم إلى زيادة امتصاصه من قبل الخلايا نتيجة لزيادة تركيزه في الوسط (Tsakalidi, 2011) . وذكر(Tuna, 2008)ان تراكم الايونات هي الصفة الغالبة.لآلية تحمل الملوحة وطريقة قياس مدى تحمل النباتات للملوحة(2000 ., Hasegawa *et al*)إذ لاحظوا أن آلية التحمل في تنظيم الأسموزية للأيونات غير العضوية في الأنسجة النباتية هو في المحافظة على الجهد الانتفاخي للخلية النباتية. فعند دخول الصوديوم إلى الخلية من خلال القنوات المنفذة له في الغشاء البلازمي يؤدي إلى تدفق أيونات البوتاسيوم إلى الخارج بنسبة عالية تعادل ثلاثة أضعاف تدفق الصوديوم فيحدث انخفاض في أيونات البوتاسيوم وزيادة في تركيز أيونات الصوديوم وهذا الانخفاض بسبب التأثير التنافسي بين ايونات الصوديوم والبوتاسيوم على مواقع النقل الفعالة في الغشاء البلازمي

(Davenport.*et al*, 2003 , Shabala and Hariadi ., 2005)

2. مرحلة تشكيل الكالوسات :

يعتبر إنتاج الكالوسات مخبريا طريقة مهمة لتطبيق التقنيات 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).

يتطلب الحصول على تباينات جسمية لنبات البطاطس 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 الملوحة (Amzallag *et al*., 1990; Gozal and Kochba, 1982).

إن تحسين مقاومة الكالوسات للملوحة عند نبات البطاطس يدل قطعيا 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.).

تمكنا من خلال التجربة من انتقاء كالوسات نبات البطاطس التي بإمكانها النمو في وسط زراعي مدعم بتركيز ملحي عالي 150 ملي مول من NaCl، باستعمال تقنية الانتقاء المخبري التدريجي: أي تعريض كالوسات نبات البطاطس إلى تراكيز متزايدة من ملح NaCl (0 الى 150 ملي مول) خلال مدة 1 شهر ؛ حيث أن أعلى تركيز يثبط النمو تماما هو 150 ملي مول من NaCl أما أدنى معدل ليس له تأثير معنوي على نمو الكالوسات فهو 25 ملي مول من NaCl ، كما أن التراكيز الملحية المستعملة للانتقاء اختلفت من باحث إلى آخر، وهذا حسب الأصناف المستعملة ودرجة مقاومتها للملوحة، اذ كانت عند التركيز من 60 الى 450 ملي مول من NaCl عند (Ochatt et al. , 1999) ، وفي التراكيز 50 حتى 350 ملى مول من NaCl (Sabbah and 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.

استنادا الى الدراسة الاحصائية الوصفية (ACP) التي طبقت على المتغيرات المختبرة تبين ان محتوى الوزن الرطب مثل الافراد بنسبة 95.4 % ، هذا المتغير اظهرالفعل النوعي للملوحة والصنف والتداخل بينهم مقارنة بالمتغيرات الاخرى المختبرة ، بتطبيق التحليل الاستدلالي تم استنتاج مدى فاعلية الملوحة على تشكل الكالوسات وتحديد اثر الفعل الكمي للملوحة والصنف والتداخل بينهم ثم تحليل متغيرات المجموعة الفعالة التي مثلت الافراد احسن تمثيل .

سمحت لنا هذه التجربة، والخاصة بتحديد شروط تشكيل الكالوسات عند نبات البطاطس، بإنتاج تباينات جسمية، والتي تستعمل ، 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؛ فبالنسبة لسرعة التشكل أو وقت ظهور الكالوسات (الإستجابة لتشكيل الكالوس)، والتي تعبر عن الفارق الزمني بين وقت زراعة اجزاء من الاوراق، وظهور أول كالوس. في النتائج، هذا الزمن تغير بين 5 الى 7 ايام.

تشكلت اغلب الكالوسات خلال مدة 10 الى 15 يوم، مع ملاحظة استمرار تشكيل الكالوسات حتى اليوم 20 . وبذلك كانت سرعة تشكيل الكالوسات متقاربة، والمدة المستغرقة لظهورها كانت جيدة.

ان النتائج المتحصل عليها مماثلة لما توصل إليه (Yasmin et al ., 2003) عند نبات البطاطس، أين كانت تسجل فترات 11.21 يوم عند جزء من الأوراق ، في وسط زراعي يشبه الوسط المستعمل في التجربة.

كما لوحظ من خلال النتائج أن تشكيل الكالوسات كان في كل التراكيز الملحية المستعملة خلال التجربة، مع أن الزيادة في التركيز الملحي في الوسط الزراعي يصاحبها انخفاض في نسبة تشكيله ، كما أن نسبة الانخفاض كانت مختلفة من صنف لآخر(CAL/PF r=0. 683)، إن هذه النتائج تتوافق مع ما توصل إليه كل من (Queiros *et al.*, 2007) عند نبات البطاطس الأصناف (Maris، Bard، Désirée) وفي نفس التراكيز الملحية كما كانت نسبة الانخفاض في التركيز 25 ملى مولNaCl طفيفة مقارنة بالشاهد للصنفين Bartina و Timate بينما كان الانخفاض عالي نوعا ما مقارنة بالشاهد للصنفين Desiree و Spunta على التوالي، كما أبدت الكالوسات المزروعة في الوسط 25 ملى مولNaCl تكاثر جيد ومشابهة مرفولوجيا للكالوسات الشاهدة، أي غياب أي تأثير معنوي لهذا التركيز على تشكيل الكالوسات، أما في التركيز الملحي 100 ملي مولNaCl فكان الانقسام الخلوي متوسط ونسبة الانخفاض في نسبة التشكل عالية لكل الأصناف، وهو يعتبر تركيز عالي نوعا ما من الملح، أما الكالوسات النامية في التركيز 150 ملي مول

NaCl، فجزء كبير لم ينمو وأصبحت بنية خلال 2 أسبوع، خاصة الصنفين Spunta و Timate حيث كان الانخفاض في نسبة تشكيل الكالوس عالي جدا عكس الصنفين Désirée و 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. كذلك لما توصل اليه ايضا (Bendif ., 2017)

تعتبر خلايا نبات البطاطس حساسة للملوحة حيث لم تستطع النمو في التراكيز الأكبر من 90 ملي مول NaCl، في حين الخلايا التي تنمو في الوسط المحتوي على تركيز اكبر من 90 ملي مولNaCl ، من الملح تعتبر مقاومة للملوحة (Ochatt *et al.*, 1999). وهذا ما يؤكد فعالية التقنية المستعملة كون تشكيل كالوسات في التركيز 100 و 150 ملي مولNaCl 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 التراكيز الملحية، وكذلك حسب نمط الكالوس خلال كل زراعة نسيجية، وهي طريقة متبعة غالبا في انتقاء الكالوسات المقاومة للملوحة (Stephen *et al.*, 1984).

بينت النتائج أن الكالوسات المتحصل عليها خلال الانتقاء التدريجي عند نبات البطاطس في وسط متزايد التركيز الملحي من NaCl (0-50-100-150 ملي مول) تغير لونها ومظهرها حسب التركيز الملحي. مثل هذه النتائج تحصل عليها (Patnaik and Debata, Queiros *et al.*, 2007; Koc *et al.*, 2008 ;1997)، حيث اكدوا أن تأثير الملوحة يكون على الكالوس بظهور التنخر وتحول لونه إلى البني وتحولها من متماسكة إلى مفتتة في التراكيز العالية من الملوحة (Stephen *et al.*, 1984).

كما لوحظ ان الكالوسات المقاومة في الوسط الملحي اكثر تماسكا و بلون مصفر إلى اخضر في الضوء وشفافة في الظلام هذه الاستجابة تماثل ما وصل إليه (Patnaik and Debata, Miki, *et al.*, 2001 ; Zacchini *et al.*, 1997 ;).

إن التعبير عن النمو عند الكالوسات بصفة عامة يكون من خلال الوزن الرطب والجاف لها، والذي يتأثر بالملوحة ونقص الماء (Heur and 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(Flowers and Flowers, 2005 ;Mansour and Salama, 2004; El-Swaify, 2000)

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) و الصنف (Ghoulam *et al*., 2002)و 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 عاديا في التركيز 25 ملي مولNaCl ، وكانت نسبة الانخفاض متقاربة بين الأصناف المعاملة ما عدا الصنف *Timate* أين كانت نسبة الانخفاض عالية مقارنة بالكالوسات النامية في الوسط الخال من الملح (الشاهد). وهذا ما لاحظه (Queiros *et al*., 2007)، كما لوحظ وجود ارتباط كبير بين الوزن الجاف والغض PF/PS (r=0.945) حيث لم يسجل انخفاض لهذا التركيز على نمو الكالوسات، عكس التركيزين 100 و150 ملي مولNaCl أين سجل انخفاض كبير في نمو الكالوسات. إذن تزايد تركيز الملوحة في وسط الزراعة أكثر من 100 ملي مول 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، كما توصل إليه (Ochatt *et al*., 1999) عند حصوله على خلايا نبات بطاطس مقاومة يمكنها النمو في وسط يحتوي من 60 الى 450 ملي مول من NaCl، لكن النمو الأحسن يكون في التراكيز 120 و150 ملي مول NaCl. نفس الملاحظات توصل إليها كل من

(Shankhdhar *et al*. 2000; Queiros *et al*., 2007).

إن النتائج المسجلة بالنسبة للوزن الجاف 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 التركيزين 100 و150 ملي مول من NaC1، فوجود الملح في الوسط بتركيز ضعيف 25 ملي مول 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 من NaC1 فما فوق، هذه النتائج توافق ما تحصل عليه (Potluri and Devi Prasad, 1994)، Ehsanpour and Fatahian., 2003).(Bendif et al., 2017) ، كما أن الانخفاض في الوزن الجاف يدل على التأخر في النمو الناتج عن تأثير الملوحة على انقسام الخلايا واستطالتها (Ekanayake and Dodds, 1993).

حتى نقيم التأثير الدقيق للملح على النشاط التركيبي للخلايا، تم حساب النمو المتوسط النسبي للكالوسات في مختلف أوساط الزراعة، عند نهاية كل زراعة نسيجية، 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 كما لوحظ وجود ارتباط معنوي لنموالمتوسط النسبي والوزن

الرطب CMR/PF (r=0.777)، وهذا ما يتوافق مع نتائج (Queiros *et al.*, 2007) عند نبات البطاطس، أو عند الذرى كما سجل من طرف (Zacchini *et al.*, 1997)، حيث وجدوا تأثيرا معنويا للملوحة على النمو المتوسط النسبي للكالوسات المكيفة؛ إن هذه الظاهرة تحدث عند كل النباتات المجهدة بالملوحة (Benavides *et al.*, 2000). فالملوحة تقلل 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 وتحدث انخفاض في الانقسام الخلوي وتركيب البروتينات، وبالتالي تقلل النمو (Shannon *and* Grieve, 1999) .

كما وجد (Queiros *et al.*, 2007) انخفاض بـ 28 و41 % في التركيزين 25 و100 ملي مول، مقابل 3.53 و45.77 % ، وهي نتائج متقاربة مع نتائجنا، كما أن في التركيز 150 ملي مولNaCl يكون الانخفاض عالي ، حيث كان 61.40 % مقابل 69 % عند (Queiros *et al.*, 2007)، مما يدل على أن النمو المتوسط النسبي للكالوسات يتأثر بملوحة الوسط الزراعي في التركيز الذي يفوق 100 ملي مول NaCl .

حسب (Patricia *et al.*, 2001) فان الانخفاض القليل في النمو المتوسط النسبي للخلايا المكيفة ناتج عن المحتوى المائي العالي؛ أما الانخفاض المرتفع في النمو المتوسط النسبي يعود إلى المركبات المرتبطة بوجود NaC1: أي المركبات الاسموزية عن التأثير السمي الناتج بسبب تجميع وارتفاع تركيز ايونات 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 و150 ملي مولNaCl أين كان الانخفاض كبير مقارنة بالشاهد، في حين كان التركيز 25 ملي مولNaCl بدون تأثير على الحالة المائية للكالوسات كما لوحظ وجود ارتباط معنوي للمحتوى المائي والوزن الرطب WS/PF (r=0.774). 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 مقاومة للملوحة عند ارتفاع الضغط الاسموزي للوسط الزراعي بارتفاع تركيز الملح .نفس الملاحظات توصل إليها (Queiros *et al.*, 2007)، حيث وجد ان المحتوى المائي يقل عند نمو الكالوسات في 100 و 150 ملي مول 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 التراكيز العالية

راجع إلى انخفاض امتصاص الماء من طرف الخلايا النامية في الملوحة مقارنة بالكالوسات النامية في الوسط الخالي من الملح، والتي تستمر في امتصاص الماء طيلة فترة الزراعة (Tao and Van, 2000).

اكد (Patricia *et al*., 2001) ان نبات البطاطس التي بها نمو كبير خاصة للسلالات المكيفة مرتبطة بمحتوى كبير من الماء في الخلايا، هذا الماء المحجوز في ظروف الإجهاد يرتبط بظاهرتين: الكمية العالية من الايونات المجمعة، التركيب وتجميع المركبات الاسموزية.

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 للملوحة تكون منخفضة عند التراكيز المنخفضة 25 ملي مول من NaCl ، أما في التركيز 100 ملي مولNaCl فالحساسية للملح كانت كبيرة لكل الأصناف، حيث فاقت 50 %. في حين التركيز 150 ملي مول يبدو من خلال قيم معامل الحساسية للملوحة الذي قارب 100 % لكل الأصناف انه ضار على تشكل الكالوسات.كما لوحظ وجود ارتباط معنوي بين معامل الحساسية والوزن الرطب IS/PF (r=890) .

نتائج الدراسة تبين أن الأصناف المستعملة معتدلة الحساسية للملوحة كون كل المعايير المقاسة لم تسجل اختلاف معنوي مع الشاهد في التركيز 25 ملي مول NaCl (William, 1999).

أما التركيز الذي يسبب 50 % من الانخفاض كان عند التركيزين 100 و 150 ملي مول NaCl كما لوحظ ان الصنفين Bartina و Désirée اكثر مقاومة للملوحة مقارنة بالصنفين Spunta و Timate.

اذ ان التأثير التثبيطي للملح يظهر من خلال انخفاض معدل تشكيل الكالوسات، معدل النمو، المحتوى المائي، ومعامل الحساسية للملوحة. تعتبرالملوحة من اكبر العوامل التي تقلل من النمو وإنتاجية النبات حيث أن تأثير الملوحة على النبات والكالوسات تتعلق بثلاث استجابات (Ehsanpour and Fatahian., 2003)

- فقد الماء من الخلايا عبر انخفاض الجهد المائي.

- اختلال التوازن الغذائي بتداخل ايونات الملح مع المغذيات الأساسية.

- السمية الناتجة عن تجميع Na وCl في السيتوبلازم.

إذن ما توصلنا إليه من إمكانية نمو خلايا نبات بطاطس في تركيز أكثر من 100 ملي مولNaCl ينبئ بمستقبل واعد لإنتاج سلالات مقاومة للملوحة NaC1 أو أملاح معدنية أخرى بتقنية الأقلمة في الظروف الخلوية (Gozal and Kochba, 1982).

الخاتمة

الخاتمة العامة والافاق المستقبلية

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

تضمن هذا العمل دراسة أربع أصناف(Bartina ، Timate ،Désirée، Spunta) من نبات البطاطس Solanum tuberosum L تحت ظروف ملحية بغرض معرفة مختلف الاستجابات للانماط الوراثية المختبرة وتحديد مفهوم المقاومة والحساسية للملوحة حيث كانت عدة معايير فزيو- مورفولوجية وبيوكيميائية تحت الدراسة على النبات خلال مرحلة الاكثار الدقيق ومرحلة تشكل الكالوسات.

اولا /مرحلة الاكثار الدقيق

- **اثر فعل الملوحة على المظاهر المورفولوجية لأربعة اصناف من نبات البطاطس (Bartina، Désirée، Spunta، Timate)**

أظهرت النتائج أن من بين الأصناف التي تبدي تأقلما للملوحة خاصة في التركيز المرتفع (C_3) 150 ميلي مول NaCl عند الصنفين Bartina و Désirée مقارنة بالصنفين Timate و Spunta.اذ لوحظ في هذه المرحلة أن فعل الملوحة كان سلبيا على كل من طول الساق وعدد الأوراق وعدد الجذور (r=0.621 LT/NR) (r=0.544 LT/NF) حيث سلكت من خلالها الأصناف المدروسة سلوك متناظرا تحت التراكيز الملحية كما لوحظ أن التركيز الملحي 25 ميلي مول NaCl لم يسجل اي فارق معنوي عندالمقارنة بالشاهد حيث كان النمو متقارب.

كذلك أدى التاثير السلبي للملوحة على هذه الانماط الوراثية الى التأثير على الوزن الجاف والغض لكل من الأوراق والجذور حيث ان النقصان في الوزن الجاف والغض يقابلها نقصان في طول الساق PF_T/LT (r= 0.567) ، PF_r/LT (r=0.832) كما تفوق التركيز C1 (25 ميلي مول) على جميع التراكيز الملحية خاصة عند الصنفين Bartina و Désirée من خلال الارتفاع في الوزن الجاف للساق.

- **أثر فعل الملوحة على الظاهرة البيوكيميائية للصنف : Désirée**

لوحظ في هذه المرحلة الى أن تأثير الملوحة كان سلبيا على محتوى الكلوروفيل a والكلوروفيل b حيث أن نقص محتوى الكلوروفيل a يقابله زيادة في السكريات الكلية والصوديوم في الأوراق والجذور $Chla/Na^+_f$ (r=-0,555) ،Chla/Suc (r=-0.779) ، $Chl\ a/Na^+_r$ (r=-0,615) . كما أثرت الملوحة على معامل الانتقاء K^+/Na^+ حيث تبين نتائج الدراسة انخفاض في معامل الانتقاء يقابلها تراكم الصوديوم في أوراق وجذور نبات البطاطس $K^+/Na^+_f/Na^+_f$ (r=-0.723) ، $K^+/Na^+_f/Na_r$ (r=-0.486) و انخفاض في كمية الكلوروفيل a K+/Naf/Chla (r= 0.847)

ثانيا / مرحلة تشكيل الكالوسات

الدراسـة في هذه المرحلة تبين تحفيز التباين الجسـمي عن طريق الزراعة المولّدة للكالوس لأجزاء نباتية (جزء من الاوراق) لأربعة أصـــناف من نبات البطاطس (***Désirée، Bartina Spunta، Timate***)، في وسط زراعي تحت تاثير تراكيز مختلفة من الملوحة.

تمّ تقييم قدرة الأصناف المختبرة في الوسط الزراعي على تشكيل الكالوسات ونموها و مدى حساسيتها اذ بينت النتائج أن الحساسية للملوحة كانت منخفضة عند التراكيز المنخفضة **25** ملي مول من **NaCl** ، أما في التراكيز **100** و 150ملي مول**NaCl** فالحساسية للملح كانت كبيرة لكل الأصناف. حيث لوحظ ان فعل الملوحة كان سلبيا على كل من الوزن الجاف والرطب، نسبة تشكل الكالوسات ونمو المتوسط النسبي اضافة الى معامل الحساسية (r=0.945) PF/PS ،r=0. 683 CAL/PF ، (r=0.777) CMR/PF، (r=890) IS/PF كما تبين ان الصنفين Bartina وDésirée كانا اكثر تحملا للملوحة .

يمكن استنتاج من خلال النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة أن التحسين الوراثي لنبات البطاطس بالانتقاء *in vitro* 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 فيزيولوجيا أو بيوكيميائيا.

يبقى من اهتمامنا في اطار اعمال مستقبلية النظر فيما يلي :

- دعم وتشجيع البحوث العلمية في مجال زراعة الانسجة مع تعميق البحث على عملية الإكثار الدقيق من خلال فاعلية التأقلم للملوحة لابتكار سلالات ذات كفاءة مقاومة للملوحة تحت ظروف جزائرية
- التحكّم في مرحلة تشكّل الكالوس، وتكيفها للملوحة من خلال ضبط المعايير والظروف المثالية
- توسيع إمكانية انشاء التباين الجسمي المركز على الزراعة المخبرية للأنسجة النباتية تحت ظروف ملحية قصد انتقاء أصناف من نبات البطاطس مقاومة للملوحة

المراجع

المراجع باللغة العربية

1. **الدوري م . ر . ، السعداوي س. ، العاني و . ،و الشهداني .1989.**مقارنة الملوحة لأربعة تراكيب وراثية من الشعير .المجلة العراقية لعوم الحياة . المجلد 8.ص, .25

2. **زينب عبد الجبار الحسيني، شذى عابد يوسف ،شيماء عبد اللطيف، تغريد عبد الجبار ،هيفاء محسن. 2014** .الاكثار الخضري الدقيق لاربعة اصناف من البطاطا Solanum tuberosum L خارج الجسم الحي . مجلة مركز بحوث التقنيات الاحيائية المجلد الثامن العدد الرابع.

3. **الزبيدي, احمد حيدر ، 1989** .ملوحة التربه ، الاسس النظرية والتطبيقية مطبعة التعليم العالي والبحث العلمي – بغداد- العراق.

3. **السيد فتحي السيد، 2006** . تكنولوجيا انتاج الخضر داخل الصوب والانفاق في الاراضي الصحراوية .المكتبة المصرية للطباعة والنشر، ص 53-54 .

4. **الشحات نصر ابو زيد، 2000.** الهرمونات النباتية والتطبيقات الزراعية ،الدار العربية للنشر والتوزيع ، ص : 547-485.

5. **الصالحي علي، جواد ،هبة احمد ،تقي ،رامي علي وزيد، احمد قاسم.2014**. تقييم استجابة اربعة اصناف من البطاطا (*Solanum tuberosum* L) للنمو تحت ظروف الشد الملحي في خارج الجسم الحي.مجلة التقنيات الحياتية العراقية.13(2) : 18-24.

6. **الكعبي , حسين خلف زاير 2004. .** دراسة تاثير كلوريد الصوديوم والبرولين في نخلة التمر**Phoenix dactylifera.L**) (صنف البرحي المزروعه خارج الجسم الحي . اطروحة (دكتوراه(كلية التربية- جامعة البصره- العراق

7. **حسنين سليم عليوي ،ماهر حميد ،مسلم عبد علي عبد الحسين ،2016** . تاثير الاجهاد المائي في نمو كالس صنفين من الرز خارج الجسم الحي.مجلة الفرات للعلوم الزراعية -8 (4) 85 – 92 .

8. **حسن، احمد عبد المنعم 1999.**انتاج البطاطس . الدار العربيه للنشر والتوزيع– جمهورية مصر العربية

9. **خضر , حلمي حامد , عبد الجاسم محسن الجبوري, ورعد هاشم بكر . 2000.**استخدام تقنية زراعة الانسجة في تحديد تحمل ثلاثة اصناف من الرز**Oryza sativuml**) (للشد الملحي– مجلة ابحاث التقانه الحيويه 10.

10. **خنيفي ل ، 2008** – دراسة تاثير الاجهاد الاسموزي المحدث اصطناعيا في الظروف المخبرية *In vitro* على نمو براعم درنات ستة اصناف البطاطس *solanum tuberasuml*. *رسالة الماجستار.جامعة البعث ، العراق ، ص 81 .*

11. **طواجن ،أحمد محمد موسى ومؤيد فاضل عباس وميسون موسى كاظم ، (2004)**استجابة مؤشرات النموالخضري والإزهار في نبات الطماطم Lycopersiconescilentum Millلملوحة مياه الري والحامض الآميني البرولين.مجلة البصرة للعلوم الزراعية ، المجلد (15) ، العدد الأول 40-45

12. **كامل ياسين صباح، مسلم عبد علي عبد الحسين ،عبد المنعم حسين علي .2016**. دراسة تاثير الاجهاد الملحي على نمو نبيتات البطاطا صنفي Bintje و Eigenheimer المزروعة خارج الجسم الحي.مجلة الفرات للعلوم الزراعية 8(3) : 34-40.

13. **كدلك م ، 2001** ، مقدمة في زراعة الخضراوات (التقسيم – احتياجات النمو – الحصاد والتخزين). منشاة المعارف ، الاسكندرية ،ص 274 -276-278.

14. **حاج علي حمودة س ،2010**. البطاطس .دار الخرطوم ، السودان ، ص 30-40 .

15. **محمد بن حمد محمد الوهيبي ،(1999) .**التغذية المعدنية في النباتات .النشر العلمي والمطابع.- جامعة الملك سعود-ص 202-196 .

16. **مروان حميدان ،1995** .الاوساط الغذائية المستخدمة في صناعة الانسجة خصائصها ومكوناتها.جامعة تشرين . اللدقية.سوريا.

17. **وادي ,علي حسن علي** ، 2007 .استحداث صفة التحمل للاجهاد الملحي في البطاطا ***Solanumtuberosum*L**صنف ديزري Desireeباستخدام تقانات زراعة الانسجة النباتيه رسالة ماجستير .الكلية التقنيه- المسيب

المراجع باللغة الاجنبية :

-A-

1. Ahmad .,(1979) - Salinityinduced changes in the growthand chemical composition on of potato Pak J. BOT,103-112p.

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

3. Allen G.J., Amtmann A., Sanders D., 1998. Calcium-dependent and calcium-independent K+ mobilizationchannels in Viciafabaguard cell vacuoles. JExp Bot49, 305-318.

4. 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

5. 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.

6. Ammar H., Touraine B. (1985).Etude comparée de la sensibilité au sel d'un triticale et d'une orge **.**Agronomie **.**5(5) ,391-395.

7. Amrar Said , Zerdani Mohamed, Boukhelifa Allaoua, Iken Nadia, 2005. La culture de la pomme de terre situation actuelle et perspectives.Alger.Institut techniques des cultures maraichères et Industrielles, 26p.

8. 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, No. 222, PP. 29-34.

9. 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*. Vol 27, N 6, p.1277-1284.

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

11. Anonyme., 1993. Biotechnologie et amélioration génétique des arbres forestiers .Ed. Icraf. Le moniteure de la biotechnologie et du devlopelent. N15. Pp, 4-9

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

13. Akbar M.A and Hakoomat A., 2004. Effect of culture medium on shoot initiation from calluses of different origin in potato (solanum tuberosum L.). *Biotechnology* 3 (2), 194-199.

-B-

14. Badawi,A.E-M.(1985). Growth and metabolism of saline treated plants ph.D.Thesis Aberystwth Univ.,Wales.(C.F.A slib ,Index(36)1: 1836-1845.

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. 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.

17. Benmahioul B., Daguin F., et M. Kaid-Harche., 2009. Effet du stress salin sur la germination et la croissance *in vitro* du pistachier (*Pistacia vera* L.). C. R. Biologies 332 :752–758.

18. Bruria H., Arie N., 1998. Physiological response of potato plants to soil salinity and water deficit plant science. 137, 43–51

19. 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.

20. Bendif H,, Lazali M, Messaoudi N, Ghadbane M,Khenifi M-A, Kadri Farida, B; Messaoud.,2017. Exploitation of somaclonal variability for the search of salintolerant potato (*solanum tuberosum* l.)International Multidisciplinary Research Journal 2017, 7: 08-12

21. 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 louvain-la-neuve, Belgique, Pp. L-8.

22. Bouraoui. N ; Grignon. C ; Zid. E 1998. Effet de NaCl sur la croissance et la réparation racinaire du triticale (X-triticosecale wittmack). Cahiers Agriculture 5 : 372-6.

-C-

23. Camefort H., 1977. Morphologie des végétaux vasculaires. Ed. Doin. p418.

24. Camire, M., Kubow S., Donnelly D.,.(2009) - Potatoes and Human Health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, :823–

25. 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.

26. Chahredine Sadek , 2018.Amélioration de l'aptitude à la callogénèse chez la pomme de terre *Solanum tuberosum* L somatique de la pomme de terre par la sélection de meilleurs équilibres hormonaux. Thèse de doctorat en sciences.Université constantine 1. 92 p.

27. 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.

28. 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.

29. 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.

30. 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.

31. 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 .

32. 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.

-D-

33. Delane R., Greenway H., Munns R & Gibbs J. (1982). Ion concentration and carbohydrate status of the elongation leaf tissue of Hordeum vulgare **growth at high external NaCl. J , Exp , Bot. 33 (135) : 557-573**

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

35. Demol J., Baudoin J.P. & Louant., 2008. Amélioration des plantes : application aux principales espèces cultivées en régions tropicales. Ed. Presse agronomique de Gembloux, la Belgique. p581.

36. Devitte D ., Stolzy L.H & Jarrel W.N. (1984). Response of Sorghum and wheat to different K+/Na+ rations at warying osmotic potentials. Agronomie. J.76,681-688

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

38. Duboi M., Hamilton J., Rebers P., Smith F., 1956- Colorimetric method for détermination of sugar and related substances. *Analytical chemistry. 28, 350-356.*

39. Dubois J., 1989. Biotechnologie et amélioration des plantes. Plantes vivrières tropicales. Ed. Aupelfuree john libbey eurotext. Paris. Pp. 19-25.

40. Dunwell,J.K. **and Sanderland , N.1973**.Anther culture of *Solanum tuberosum* L.Euphytica 22, 317-23.

-E-

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

42. 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.

43. 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.

44. 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

45. 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 in Young umbu plants. *Environmental and experimental botany* 63, 147–157.

46. 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.

47. 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.

48. 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

49. 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.

50. 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).

-F-

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

52. FAO STAT., 2015.(https:agronomie.info

53. FAO., 2016. Http.fao.org/statistics/fr/

54. 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.

55. 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

56. 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.

57. Flowers T. J., 2004. Improving crop salt tolerance. Journal of exp bot vol 55, No 396, Pp. 307-319

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

59. François L., Mass E., Donovan T & Youngs V. (1986) . Effect of salinity on grain yield and quality , vegetative growth and germination of semi-dwarf and durum wheat . Agron , J; 78: 1053-1059**.**

-G-

48. Gale ., Poljakoff- Mayler A .(1970) . Interaction , between growth and photosuythesis of salt bush Atriplex halimus . L grown in saline media .aust.J.Biol.Sci. P: 937-945.

49. 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.

50. Gill.P.A. A.D. Sharma, P. Singh and S.S.Bhullar(2002). Plant Physiol.,128:12-25.

51. 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.

52. Greenway H. (1973) . Salinity, plant growth and metabolism, J, Aust, Ins, Agri , Sci March;p: 24-34.

53. Guha, S , and Maheshwari ,S.C.1964.In vitro production of embryos from anthers of datura.Nature (London),204:497.

-H-

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

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

56. 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.

57. HASEGAWA P.M., Bressan R.A., zhu J-K., Bohnert H.J., 2000. Plant cellular molecular responses to high salinity. Ann Rev Plant Physiol Plant MolBiol 51, 463-499.

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. Hoffman G J., Maas E.V. G J. (1977). Crops salt tolerance-current assessment. J. Irrig. Drain. Div. Am. Soc Civ. Eng; 103: 115-134.

-J-

61. 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.

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

64. Jones, H.G.1994. The history of Potato (*Solanum tuberosum* L.):As review of 15th plant Potato History . January 1994, 2Pages International Potato centre, Lima, Peru.

-K-

65. 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.

66. 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.

67. Khenifi, M. L., Boudjeniba, M. and Kameli, A.2011. Effects of salt stress on micropropagation of potato (*Solanum tuberosum* L.). African Journal of Biotechnology Vol. 10(40), pp. 7840-7845

68. Khrais T. (1998) .Relative salinity tolerance of potato cultivars assessed by *in vitro* screening. American Journal of Potato Research.75(5):207-210.

69. 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.*

70. Khoury .(1966) . Reaction physiologique an NaCl , these 3emecycle Paris 93p

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

72. Koriesh N. A., abd el- fattah Y. M., EL- dayem M. A. and EL- etriby, M. A. 2003. Micropropagation of juvenile *Eucalyptus citriodora*. ***Acta Hort***. 625, 283- 288.

-L-

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. Linclon T., edduardo Z ., 2002. Plant physiology 3 edition .690 p

75. 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.

76. Lessani H . (1969). Recherches sur le comportement physiologique de la luzerne en présence de NaCl et l'étude de quelques aspects de la nutrition minérale et du métabolisme respiratoire. Thèse Doct, Paris ; p : 152

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

78. 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.

79. Laument ., Erroux J . (1961). Inventaires des blés durs rencontrés et cultivés en Algérie.Mémoire de la société d'histoire naturelle de l'Afrique du Nord ; 5 : 96.

80. 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.

-M-

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

82. Madec et Perennec en 1962: Les relations entre l'induction de la tuberisation et la croissance chez la pomme de terre. Ann. Physio. Veg pp 05-83.

83. Mackiney G., (1941). Absorption of light by chlorophyll solution. J Biol. Chem. 140: 315-322.

84. Margara J., 1989.Base de la multiplication végétatives .Les méristèmes et l'organogenèse. Institut National de la recherche Agronomique**.**

85. Maryam Amiri , Mohammad Gerdakaneh , Reza Mamghani Fath-ali Nouri .,2013. Effect of Different Concentrations of 2,4-D on Callus Induction and Callus root Indication in 2 Explants from True Potato (*Solanum tuberosum* L.) Seeds. Scientific Journal of Agronomy and Plant Breeding, 1(2): 56-63

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

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

88. Matsumoto H., Chae-Shung G. (1988) . Increase in proton – transport activity of tonoplast vesicles as an adaptive response of bearly roots to NaCl stress. Plant cell physiol ; Vol129(7). Okayama ; Japan p: 1133-1140.

89. 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.

90. Messaï Abir, C. Hannachi1 & E. Zid.,2006. Régénération *in vitro* de plantes de tomate *(Lycopersicon esculentum* Mill*.)* adaptées au NaCl. TROPICULTURA, **24**, 4, 221-228.

91. 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.

92. 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.

93. 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.

94. 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. Munns,R.(2002).Comparative Physiology of Salt and water stress .plant cell Envision.25:239-250.

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

96. Munns ., R., Tester M .2008. Mechanisms of salinity tolerans.Annu.Rev.plantbiol.59:651-81.

97. Murshed , R, Najla , S , Albiski , F ; Kassem , L , Jbour , M and Al-said, h.2015. Using growth parameters for *in- vitro* screening of potato varieties tolerant to salt stress.J.Agr.Sci.tech, 17 : 483-494.

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

-N-

99. 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.

100. Naheed Akhtar, Sajjad Ur Rehman Chughtai, Zubeda Chudhry, Mohammad Hanif Munawwar and Mozammil Hussain.2007. Callus induction and regeneration in wheat cultivars under Sodium and Calcium chlorides Salt Stress. *Sarhad J. Agric. Vol. 23, No. 3*

101. 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.

102. Netondo, G.W.1999.The use of physiological parameters in screening for salt tolerance in sorghon(Sorghon bicolor L Moench) .Varieties grown in Kenya.D.Phil. thesis university, Kenya.

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

104. 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.

-O-

105. 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**

106. 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.

107. 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.

108. Oggema,J.N,Kinyua,M.G,Ouma,J.P.and Owuoch, J. O(2007)
Agronomic performance of locally adapted sweet potato (Ipomoea batatas –L-Lam.)

109. Ouahrani G .(1989). Contribution à l'étude de l'influence du chlorure de sodium sur le développement. Les relations hydrique ionique et les échanges gazeux de deux variétés d'orge : Hordeum vulgare Var. Saïda et Aramir. Thèse de magister. Université de Constantine, p : 60.

110. 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.

-P-

111. 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.

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

113. 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.

114. Poss J., Mass E.V. (1989). Salt sensivity of wheat at various growth stages. Irrig. Sci; 10: 29-

115. 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.

-Q-

116. 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.

-R-

117. 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.

118. Rai,m.k**; Kabia, R.K,Singh, R,Gangola,M.P, and Dhawan, A.K.2011**.Developing stress tolerant plants through *in vitro* selection- An overview of the recent progress.Environmental and experimental botany, 71(1) : 89-98.

119. Raziuddin, M. 2002.Vitro effect of salt the vigor of potato (*Solanum tuberosum L*) plantlets.Biotechnology,2-4.

120. Redman R ., Huang J.(1995). Salt tolerance of Hordeum and Brassica species during germination and early seedling growth can. J. Plant. Science, 75, 815-819.

121. Rengel,Z,(1992).The Rule of calcium in salt toxicityPlant cell Environ .15: 625-632.

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

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

124. Rolot J.L. &Vanderhofstadt B., 2014. Guide technique de la culture de la pomme de terreen République démocratique du Congo. Le CDE est financé par l'Union Européenne. 8,90–92.

125. 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.

126. 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.

-S-

127. 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.

128. Saadi A., 1991. Régénération de plantes de pois *Pisum sativum* L. par embryogenèse somatique. Thèse de doctorat. Paris. Grignon. p162.

129. Sama A.E. ,1998. Culture in vitro et multiplication rapide de plante à tubercules et racines au Caméroune. Cahier Agriculture. 7 : 63-66. In Hamdani F.Z. 2001. Régénération via l'organogénèse ou l'embryogenèse somatique chez le Scorpiurus**.** Université Hassiba Ben Bouali de Chlef. Magister.

130. Selim M., Ashor N. I . (1994). Growth and yield responses of some wheat cultivars to saline conditions in south Sinai governorate. Egypt. J. Agron; 19: 139-148.

131. Shabala S , **Hariadi Y.2005.** Effects of magnesium availability on the activity of plasma membrane ion transporters and light- induced responses from broad bean leaf. Mesophyll.planta.vol.221(pg.56-65).

132. 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.

133. Shannon M.C., Grieve C.M, 1999. Tolerance of vegetable crops to salinity. Scientia horticulturae78, 5-38.

134. Sibi M., 1989. Vitro-variations ou variations somaclonales?, plantes vivriths tropicales. Ed. Aupelfuref. John libbey eurotext. Paris 0. Pp. 21-49.5.

135. Silva J., Otoni W., Martinez C., Dias L., and Silva M. (2001). Microtuberization of Andean potato species (*Solanum* spp.) as affected by salinity. Scientia Horticulturae. 89: 91-101.

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

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

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

139. Smith,M,AL.Sopmer,R.A.Shibli and S.L.Kinght(1992).Effect of Nacl Salinity on Miniature Dwarf Tomato shoot and Root Growth Responses.J.Plant Nut.15:2329-2341.

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

141. 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.

142. Soltner D., 2005. Les grandes productions végétales, phytotechnie spéciale-céréales-plantes sarclées-prairies .Collection Sciences et Techniques Agricoles 20eme édition 472P.

143. Souza, F. C., Azevedo F. A., SchinoR E. H., Filho F. A. A.M. and Mondes, B. M, 2005. Micropropagação de *citrumelo* 'swingle' pelo cultivo *in vitro* de gemas axilares. ***Rev. Bras. Frut***, 27: 136-138.

144. 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.

145. Stevens R. and Heap M. (2001) .Saline irrigation water - an Australian perspective. South Australian Research and Development Institute. http://www.sardi.sa.gov.au.

146. 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.

147. Suhayda C.G., R.E. Redman, B.L. Harvy & A.L. Cipynwk., 1992. Comparative response of salt cultivedand wild barley species to salinity stress and calciumsupply.Crop. Sci. 32, 154-163.

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

149. 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.

-T-

150. Tajdoost,S. T. Farboodnia and R. Heidari(2007). Pakistan J. Biol. Sci.,10:2086-2090.

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

152. 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).

153. Taleisnik E.L. & Grunberg K., 1994, Ion balance in tomato cultivars differing in salt tolerance, I. Sodium and potassium accumulation and fl uxes under moderate salinity. Physiol. Plant. 92, 528-534.

154. 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.

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

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

157. Tsakalidi, A. L and P. E. Barouchas. 2011. Salinity, chitin and GA3 effectson seed germination of chervil (Anthriscuscerefolium). AJCS. 5(8): 973-978.

158. Tuna, A., C. Kaya, M. Diklitas and D. Higgs. 2008. The combined effects of gibbere-llic acid and salinity on some antioxidant enzyme activities,

plant growth parame-ters and nutritional status in maize plants. Environ-mental and Experimental Botany. 62: 1–9.

159. 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.

-W-

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

161. Wambug U F(1995). Control of African Sweet Potato virus Diseases through Biotechnology and technology transfer. ISNAR.

162. 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.

-Y-

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

164. 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.

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

-Z-

166. 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.

167. 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.

168. 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.*

169. Zamir , D ,Ekstein micholson, I., Zakary, Y .(1994).Mapping and introgression of a tomato Yellow leaf curl virus tolerance gence , Ty- 1- theor. Appl.Genet, 88,141-146.

الملاحق

ملحق (1) : نتائج متوسط المتغيرات المورفولوجية والفيزيولوجية والبيوكيميائية المقدرة على نبات البطاطس اثناء مرحلة الاكثار الدقيق

المتغيرات	متوسط التكرارات	الصنف S	الصنف D	الصنف B	الصنف T
LT	C0	7,54	6,91	4,6	2,37
	C1	2,8	6,13	4,29	1,07
	C2	0,87	3,34	3,99	0,27
	C3	0,51	0,89	2,68	0,072
NF	C0	7,64	7,38	7	11
	C1	8,15	8,4	6,75	5,25
	C2	4,23	4,37	6,75	3,25
	C3	3,1	3,92	6	1,5
NR	C0	4,27	4,3	6,25	1,75
	C1	3,12	3,5	6,25	1
	C2	1,8	1,6	5	0,75
	C3	0,67	0,75	4,25	0,75
LR	C0	7,5	7	7,625	5,75
	C1	6,1	6,8	6,275	4,35
	C2	2,25	3,9	2,5	2,02
	C3	1,575	0,575	0,8	0,1225
PF_t	C0	0,15	1,11	0,225	0,2
	C1	0,125	0,74	0,25	0,175
	C2	0,05	0,0625	0,175	0,15
	C3	0,0175	0,055	0,15	0,125
PS_t	C0	0,0475	0,4775	0,06	0,1175
	C1	0,05	0,2525	0,09	0,0975
	C2	0,0125	0,0225	0,0825	0,0925
	C3	0,0085	0,0375	0,075	0,0325
PF_r	C0	0,25	0,275	0,175	0,0675
	C1	0,15	0,25	0,08	0,0325

0,0095	0,06	0,0925	0,045	C2	
0,00725	0,125	0,0325	0,012	C3	
0,0175	0,0875	0,095	0,095	C0	PS_r
0,00675	0,1225	0,0975	0,08	C1	
0,0059	0,0225	0,0575	0,025	C2	
0,00125	0,0225	0,009	0,00825	C3	
		67,32425		C0	Suc
		70,43725		C1	
		86,341		C2	
		148,9355		C3	
		2,01		C0	Chl a
		1,91		C1	
		0,069		C2	
		0,016		C3	
		5,09		C0	Chl b
		3,68		C1	
		0,72		C2	
		0,22		C3	
		1,86		C0	Na^+_f
		2,23		C1	
		2,25		C2	
		2,44		C3	
		0,056		C0	K^+_f
		0,039		C1	
		0,032		C2	
		0,015		C3	
		0,03		C0	K^+/Na^+_f
		0,01		C1	
		0,014		C2	
		0,0064		C3	
		0,9		C0	Na^+_r

0,98		C1	
1,5		C2	
1,39		C3	
0,095		C0	K^+_r
0,085		C1	
0,007		C2	
0,004		C3	
0,106		C0	K^+_r/Na^+_r
0,011		C1	
0,014		C2	
0,019		C3	

ملحق (2) : نتائج متوسط المتغيرات الفيزيولوجية المقدرة على نبات البطاطس اثناء مرحلة تشكل الكالوسات

المتغيرات	متوسط التكرارات	الصنف S	الصنف D	الصنف B	الصنف T
% cal	C0	76,62	87,5	90	85
	C1	58,75	54,25	72,5	63,75
	C2	25,12	25	62	25,25
	C3	8	11	25,12	2,25
PF	C0	7,64	7,38	7	11
	C1	8,15	8,4	6,75	5,25
	C2	4,23	4,37	6,75	3,25
	C3	3,1	3,92	6	1,5
PS	C0	0,10	0,11	0,10	0,06
	C1	0,09	0,10	0,09	0,05
	C2	0,06	0,07	0,07	0,03
	C3	0,05	0,06	0,06	0,01
CMR	C0	71,590	74,294	95,833	54,593
	C1	68,655	73,030	95,227	50,803
	C2	37,708	41,319	51,785	35,416
	C3	27,500	27,976	24,107	29,135
WS	C0	44,513	52,223	56,575	54,006
	C1	40,089	47,434	55,068	50,252
	C2	33,541	41,812	36,515	25,833
	C3	28,869	25,198	33,541	20,277
IS	C0	0,000	0,000	0,000	0,000
	C1	-10,050	-0,128	-10,050	-12,738
	C2	-40,202	-36,515	-30,151	-50,714
	C3	-52,272	-45,643	-40,202	-84,928

ملحق (3) : نتائج تحليل التباين والمعنوية بالنسبة لمرحلة الاكثار الدقيق وتشكيل الكالوسات

الجدول 01: نتائج تحليل التباين والمعنوية بالنسبة لمعدل تشكيل الكالوس.

مصدر التباين	درجة الحرية	متوسط المربعات	مجموع متوسط المربعات	ف -البيانية	الاحتمال Pb
معاملات الملوحة(C)	3	6834,891	2278,297	278,088	< 0,0001
الصنف(V)	3	52161,328	17387,109	2122,266	< 0,0001
التداخل بين V/C	9	8017,391	890,821	108,733	< 0,0001

الجدول 02 : نتائج تحليل التباين والمعنوية بالنسبة للوزن الرطب

مصدر التباين	درجة الحرية	متوسط المربعات	مجموع المربعات متوسط	ف -البيانية	الاحتمال Pb
معاملات الملوحة(C)	3	0,079	0,026	408,686	< 0,0001
الصنف(V)	3	0,173	0,058	900,333	< 0,0001
التداخل بين V/C	9	0,003	0,000	5,849	< 0,0001

الجدول 03 : نتائج تحليل التباين والمعنوية بالنسبة للوزن الجاف

مصدر التباين	درجة الحرية	متوسط المربعات	مجموع المربعات متوسط	ف -البيانية	الاحتمال Pb
معاملات الملوحة(C)	3	0,023	0,008	121,150	< 0,0001 ***
الصنف(V)	3	0,023	0,008	124,028	< 0,0001 ***
التداخل بين V/C	9	0,000	0,000	0,803	0,615

الجدول (04) : نتائج تحليل التباين والمعنوية بالنسبة لنمو المتوسط النسبي.

مصدر التباين	درجة الحرية	متوسط المربعات	مجموع المربعات متوسط	ف -البيانية	الاحتمال Pb
معاملات الملوحة(C)	3	4822,273	1607,424	6,970	0,001 ***
الصنف(V)	3	25573,391	8524,464	36,962	< 0,0001 ***
التداخل بين V/C	9	3303,351	367,039	1,591	0,145 °

الجدول (05) : نتائج تحليل التباين والمعنوية بالنسبة للمحتوى المائي.

مصدر التباين	درجة الحرية	متوسط المربعات	مجموع المربعات متوسط	ف -البيانية	الاحتمال Pb
معاملات الملوحة(C)	3	768,519	256,173	7,723	0,000 ***
الصنف(V)	3	6522,486	2174,162	65,545	< 0,0001 ***
التداخل بين V/C	9	939,341	104,371	3,147	0,005 **

الجدول(06): نتائج تحليل التباين والمعنوية بالنسبة لمعامل الحساسية.

مصدر التباين	درجة الحرية	متوسط المربعات	مجموع المربعات	متوسط	ف -البيانية	الاحتمال Pb
معاملات الملوحة(C)	3	3048,443	1016,148		97,602	< 0,0001 ***
الصنف(V)	3	31178,824	10392,941		998,257	< 0,0001 ***
التداخل بين V/C;	9	2827,144	314,127		30,172	< 0,0001 ***

الجدول 07: نتائج تحليل التباين والمعنوية بالنسبة لطول الساق.

مصدر التباين	درجة الحرية	متوسط المربعات	مجموع المربعات	متوسط	ف -البيانية	الاحتمال Pb
معاملات الملوحة(C)	3	108,125	36,042		64,853	< 0,0001
الصنف(V)	3	168,623	56,208		101,139	< 0,0001
التداخل بين V/C	9	69,524	7,725		13,900	< 0,0001

الجدول 08: نتائج تحليل التباين والمعنوية بالنسبة لعدد الاوراق

مصدر التباين	درجة الحرية	متوسط المربعات	مجموع المربعات	متوسط	ف -البيانية	الاحتمال Pb
معاملات الملوحة(C)	3	15,193	5,064		1,727	0,174
الصنف(V)	3	213,477	71,159		24,267	< 0,0001
التداخل بين V/C	9	118,892	13,210		4,505	0,0001

الجدول 09 نتائج تحليل التباين والمعنوية بالنسبة لعدد الجذور

مصدر التباين	درجة الحرية	متوسط المربعات	مجموع المربعات	متوسط	ف -البيانية	الاحتمال Pb
معاملات الملوحة(C)	3	160,250	53,417		65,325	< 0,0001
الصنف(V)	3	36,232	12,077		14,770	< 0,0001
التداخل بين V/C	9	14,714	1,635		1,999	0,060

الجدول 10: نتائج تحليل التباين والمعنوية بالنسبة لطول الجذور

مصدر التباين	درجة الحرية	متوسط المربعات	مجموع المربعات	متوسط	ف -البيانية	الاحتمال Pb
معاملات الملوحة(C)	3	22,197	7,399		27,323	< 0,0001
الصنف(V)	3	392,508	130,836		483,158	< 0,0001
التداخل بين V/C	9	13,002	1,445		5,335	< 0,0001

الجدول 11: نتائج تحليل التباين والمعنوية بالنسبة للوزن الرطب للساق

مصدر التباين	درجة الحرية	متوسط المربعات	مجموع المربعات متوسط	ف -البيانية	الاحتمال Pb
معاملات الملوحة(C)	3	1,481	0,494	19,951	< 0,0001
الصنف(V)	3	1,252	0,417	16,857	< 0,0001
التداخل بين V/C	9	2,102	0,234	9,437	< 0,0001

الجدول 12: نتائج تحليل التباين والمعنوية بالنسبة للوزن الجاف للساق

مصدر التباين	درجة الحرية	متوسط المربعات	مجموع المربعات متوسط	ف -البيانية	الاحتمال Pb
معاملات الملوحة(C)	3	0,243	0,081	4,304	0,009
الصنف(V)	3	0,196	0,065	3,471	0,023
التداخل بين V/C	9	0,379	0,042	2,233	0,036

الجدول 13: نتائج تحليل التباين والمعنوية بالنسبة للوزن الرطب للجذور

مصدر التباين	درجة الحرية	متوسط المربعات	مجموع المربعات متوسط	ف -البيانية	الاحتمال Pb
معاملات الملوحة(C)	3	0,147	0,049	23,698	< 0,0001 ***
الصنف(V)	3	0,230	0,077	36,905	< 0,0001 ***
التداخل بين V/C	9	0,114	0,013	6,108	< 0,0001 ***

الجدول 14: نتائج تحليل التباين والمعنوية بالنسبة للوزن الجاف للجذور

مصدر التباين	درجة الحرية	متوسط المربعات	مجموع المربعات متوسط	ف -البيانية	الاحتمال Pb
معاملات الملوحة(C)	3	0,029	0,010	88,483	< 0,0001
الصنف(V)	3	0,036	0,012	110,177	< 0,0001
التداخل بين V/C	9	0,020	0,002	20,708	< 0,0001

الجدول15: نتائج تحليل التباين والمعنوية عند (٪5=α) بالنسبة لكمية السكريات.

مصدر التباين	درجة الحرية	متوسط المربعات	مجموع المربعات متوسط	ف -البيانية	الاحتمال Pb
معاملات الملوحة(C)	3	17364,700	5788,233	9846,359	< 0,0001

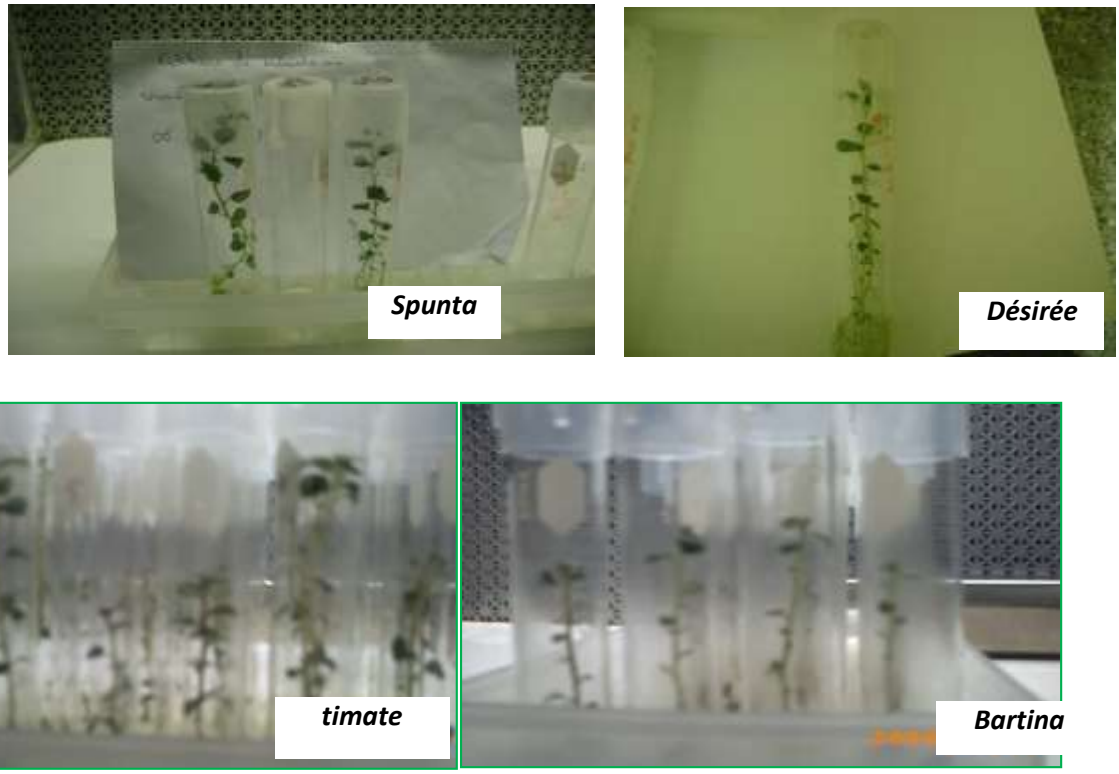
الجدول 16: نتائج تحليل التباين والمعنوية عند (٪5=α) بالنسبة لكمية السكريات.الكلوروفيل a

مصدر التباين	درجة الحرية	متوسط المربعات	مجموع متوسط المربعات	ف -البيانية	الاحتمال Pb
معاملات الملوحة(C)	3	65,771	21,924	676,703	< 0,0001

الجدول 17: نتائج تحليل التباين والمعنوية عند (٪5=α) بالنسبة لكمية السكريات.الكلوروفيل b

مصدر التباين	درجة الحرية	متوسط المربعات	مجموع متوسط المربعات	ف -البيانية	الاحتمال Pb
معاملات الملوحة(C)	3	14,739	4,913	290,144	< 0,0001

الملحق 03 :



الصورة 01: النباتات الزجاجية المستعملة في التجربة

فرن باستور

الطاولة

اللوحة المسخنة

معقم الادوات

pH métre

جهاز الصاد الموصد

الصورة02 : بعض الأجهزة المستعملة في التجربة.

صورة (3 0) : جهاز Spectrophotomètre à flame من نوع JENWAY PFP7

صورة (04) : جهاز Spectrophotommetre المستخدم في التجربة من نوع

Evolution e100

الشاهد

25Mmol

100Mmol

150Mmol

صورة: 05 تطور نمو نباتات صنف Bartina تحت تأثير تركيز محلول كلوريد الصوديوم

الشاهد

25 Mmol

100Mmol

150Mmol

صورة 06 :تطور نمو نباتات صنف Timate تحت تأثير تركيز محلول كلوريد الصوديوم

INNSPUB

International Journal of Biosciences | IJB |
ISSN: 2220-6655 (Print), 2222-5234 (Online)
http://www.innspub.net
Vol. 12, No. 3, p. 1-6, 2018

RESEARCH PAPER OPEN ACCESS

Effect of salinity on micropropagation of two potato varieties Desiree and Spunta (*Solanum tuberosum* L.)

Sabah Larit*[1,2], Chougui Saida[1]

[1]*Department of biology and Ecology, faculty of Science, University of Constantine 01, Route Ain EL Bey Constantine, Algeria*

[2]*Society Agro Development (SAgrodev) , Setif- Guellal, Algeria*

Key words: *In vitro* culture, *Solanum tuberosum* L., Salinity, Morphological parameters, Micro propagation.

http://dx.doi.org/10.12692/ijb/12.3.1-6 Article published on March 15, 2018

Abstract

Our study has allowed us, to achieve the main objective we set at the beginning; which is the possibility to regenerate *in vitro* an entire plant of two varieties of potato: Desiree and Spunta under saline conditions. This a factorial experiment was planted in MS growth medium with three different concentrations of NaCl (25, 100, 150 Mmol/L) and a control (C_0) by doing ten repetitions. This work was conducted on 80 experimental units within controlled conditions. This study allowed us to know the effect of the salinity on the micro propagation *in vitro* of the two varieties of potato Spunta and Desiree by following the growth and the development of three morphological characters (leaves number, stem length, roots number.) for four weeks. The results show that the response of the plants to salt stress varies with the variety and the salt concentrations. Similarly, it appears from this study that the potato shows a well-differentiated behavior under the high concentrations of NaCl, which proves the sensitivity of the potato to salinity. It also appears that the Desiree variety is more tolerant to high saline concentrations.

* **Corresponding Author:** Sabah Larit ✉ laritsabah2008@yahoo.fr

Introduction

The potato (*Solanum tuberosum* L.) is a tuberous herbaceous plant native to Latin America. In agricultural practice, the production cycle of the potato is mainly vegetative; the tubers produced constitute both an asexual reproductive organ and the alimentary part of the plant.

The potato is a strategic agriculture because of its position in the world, where it ranks fourth after wheat, rice and maize. The world production was evaluated in 2013 at more than 368 million tones on 19.4 million hectares (Rolot and Vanderhofstadt, 2014).

In Algeria, land erosion, salinization and desertification threaten 3.2 million hectares of land, formed by forest cover in the northern region. This is also the case for one million hectares in the steppe areas, 400,000 hectares in the western region, and 100.000 hectares in the southern part of the country where potato cultivation is practised in the pivot of Oued Souf (Ministry of Agriculture, 2005). This salinization of the arid or semi-arid zones is mainly due to the strong evaporation of the waters which favors the concentration of the total salts in the water, and their rise to the surface of the grounds.

In this context, plant biotechnology techniques and more specifically *in vitro* tissue culture can play important roles in the selection of new cultivars in addition to conventional field breeding. For this, different biotechnological pathways are used to increase the diversity and the ability of plants to tolerate saline stress, knowing that in a natural population it is the whole plant that faces the selective pressures where the screening is carried out at a global level. On the other hand, in vitro, it is the cell, freed from the stresses encountered in the whole plant, which is the target of the selective pressures in order to arrive at a range of variants thus generated, which differ from those resulting from the classical selection (Sibi, 1996).

The objective of our work is therefore to look for the effect of salinity *in vitro* on 2 different varieties of potato: Spunta and Desiree, which are the two most cultivated varieties at present.

Materials and methods

Materials

Plant material

The explants used in this study consist of two varieties namely: Desirre and Spunta of the species *Solanum tuberosum* L.

Proposed treatments

The treatments applied on this experiment are different concentrations of NaCl:

CO: 00 M mol NaCl.

C1: 25 M mol NaCl.

C2: 100 M mol NaCl.

C3: 150 M mol NaCl.

Each treatment was repeated ten times in this experiment.

Culture medium

The culture medium used in our work is the MS Basic Medium (Murashige and Skoog, 1962).

Composition of the culture medium

The culture medium is prepared in 1 liter beaker with continuous stirring. It consists in putting 500 ml of distilled water. Then we add in order the following elements:

50 ml of Macro-elements

10 ml of micro-elements

10 ml of iron

10 ml of vitamins

The pH of the medium is adjusted to 5.7 ± 0.1 with NaOH (base) or HCl (acid). The medium is then supplemented with distilled water to 1 liter with continuous stirring. Then, 30 g of saccharose and 7 g of agar are added to solidify the culture medium. The mixture is then boiled until all the agar particles have dissolved. Finally, the medium thus prepared, is transferred into tubes of 25 x 75 mm using a vending machine at the rate of 10 ml per tube while sealing the tubes with stoppers.

Methods

Micro-propagation

Under the horizontal laminar flow hood, each vitro plant is removed from the bocale by using a sterile forceps and placed on the sterile blotting paper and then fragmented into as many sections as nodes whose sections are 0.5 cm to 1 cm. (removing however the basal bud or the root part) using a scalpel passed to the flame in order to obtain homogeneous material or microbouture.

Measurements taken

During our experience, the parameters selected are:

Number of leaves

Number of roots

Length of the stems

Root length

Branching of the stem

These measurements are made weekly for 28 days.

Statistical analysis of the results

In order to define and highlight the effect of salinity on the potato and to identify the best variety and the most determining parameter against salinity, we decided to perform a statistical analysis using a specified program (EXEL Stat, 2014).

Results and discussion

The results recorded about the growth and development of the aerial part, negatively correlated with the NaCl concentration, but good growth is observed with the concentration of 25 Mmol/l relative to the control. Taleisnik and Grunberg (1994)have also shown that low concentrations of NaCl, less than 3 $g.l^{-1}$, can stimulate the growth of aerial parts of some tomato cultivars (Marmande and Edkawi variety).

This phenomenon is interpreted as being the result of improved water relations, attributed to an accumulation of mineral ions (Cuartero *et al.*, 1992, Munns *et al.*, 1986).

Salinity affects the growth of young seedling stems, according to the values of the figure, it is noted that when the growth medium is highly saline (100, 150 Mmol), vitroplants undergo an aggressive decrease of stem growth compared to the control (Fig. 1.)

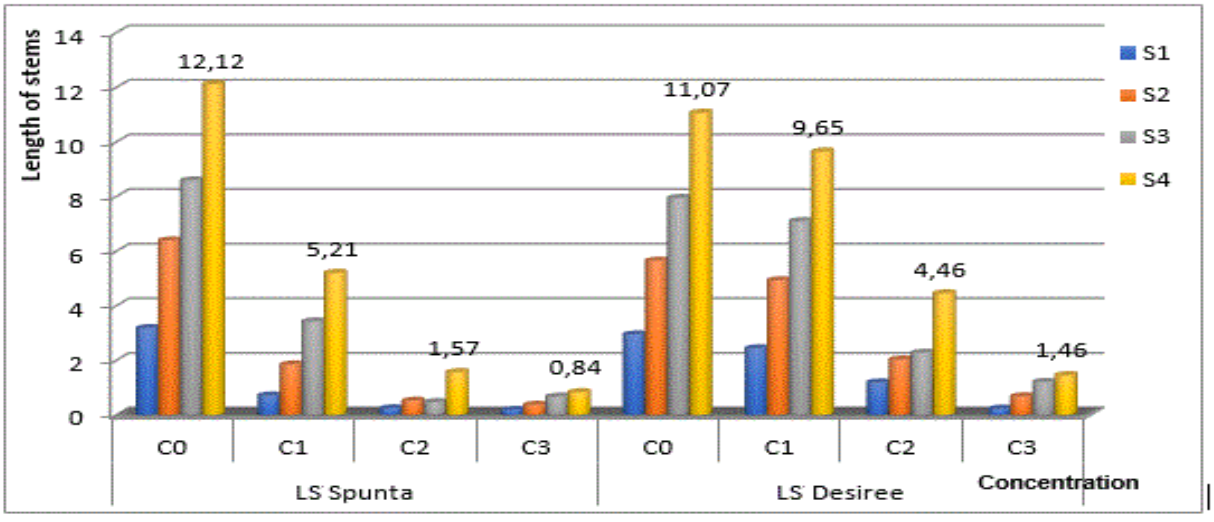


Fig. 1. Evolution of the average number of leaves formed during the growing season in both Spunta and Desiree varieties.

According to Benmahioul *et al*, (2009), the higher saline concentrations cause a cellular ionic imbalance and toxicity in the plants; this may affect some vital metabolic processes such as growth reduction and necrosis of sensitive callus. Mwai *et al.* (2004) show that the reduction of plant height due to the effect of salt, which delays the processes of cell division and extension that are the basis of growth. However, the application of ANOVA indicates that a slightly saline medium (25 M mol) has a significant influence on height growth, according to the work of (Bouraoui *et al*, 1998).

The analysis of data obtained during regeneration of vitro plants shows that the different concentrations of NaCl have a significant influence on the number of the formed leaves. The best values are obtained in the MS medium with an NaCl concentration of 25 Mmol. However, the high concentrations of NaCl cause a remarkable decrease in the number of leaves, particularly the concentration of 150 Mmol (Fig. 2.).

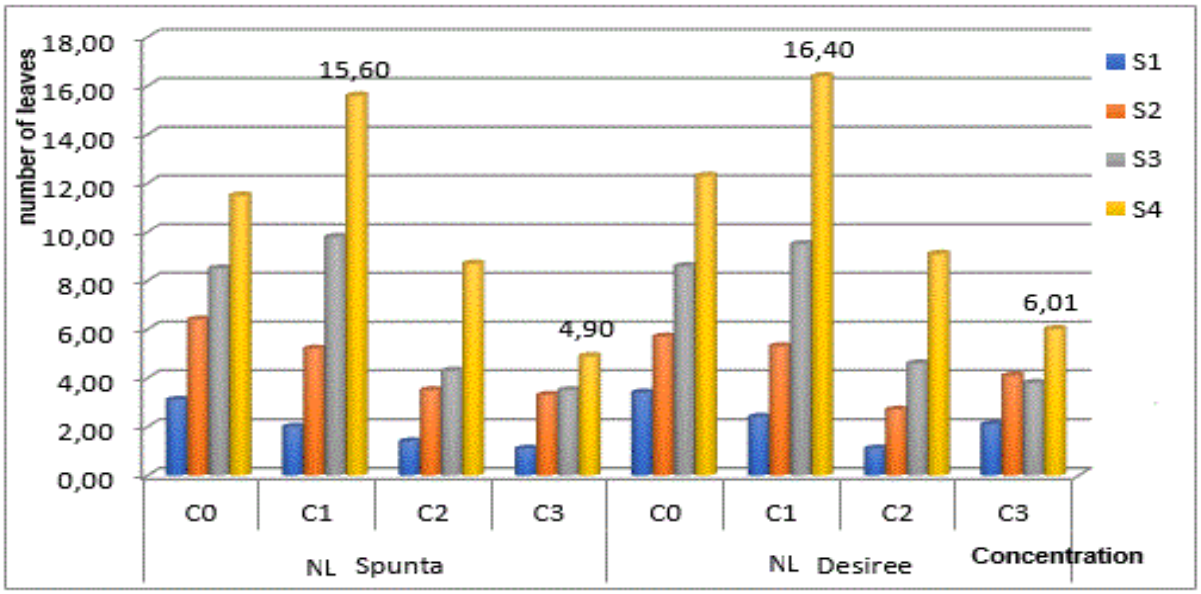


Fig. 2. Evolution of the average stem length during the growing season in both Spunta and Desiree varieties.

Our results are in agreement with the results obtained by Yeo *et al.*, Neumann, (1994) and Ben yahmed (2013), during these studies, the authors showed that the primary effect of salt stress in many plant species is the osmotic phase that inhibits the growth of young leaves, rate of onset and appearance of the leaf, and overall shoot development.

As researchers Munns and Tester, (2008) show that the photosynthetic activity will be unable to meet the carbohydrate needs of the young leaves, which are reduced in growth. It is therefore generally considered that the decrease in vegetative growth, expressed either as a reduction in the number of leaves or as leaf area, is generally the first response to genotypes exposed to salt stress (Benmahioul *et al.*, 2009).

The results of the study of the root system is illustrated which shows that, in the condition of moderate salt stress in 25 Mmol NaCl concentration, all seedlings are significantly affected. This particular behavior would be a form of tolerance to moderate salt stress (Fig. 3.).

This same behavior was reported by Mallek *et al.* (1998) during the study of some cereal varieties.

For both concentrations of 100 and 150 Mmol of NaCl, all the plants respond negatively, in the same way until complete absence of rhizogenesis.

A study conducted by Bouaouina *et al.* (2000) has shown that the impact of salinity is perceived primarily at the root level. For these authors, the root part would be more affected by salinity than the aerial part. To adapt to salt stress, the plant would first of all reduce the development of its root system in order to preserve the aerial part.

Suhayda *et al.* (1992) note that in barley, a decrease in the elongation of the root system was observed at high concentrations of 100 to 200 Mmol NaCl. Guerrier, (1996) show that the first response of glycophytes exposed to salinity is a slowdown in their development with root growth often less affected than leaf growth.

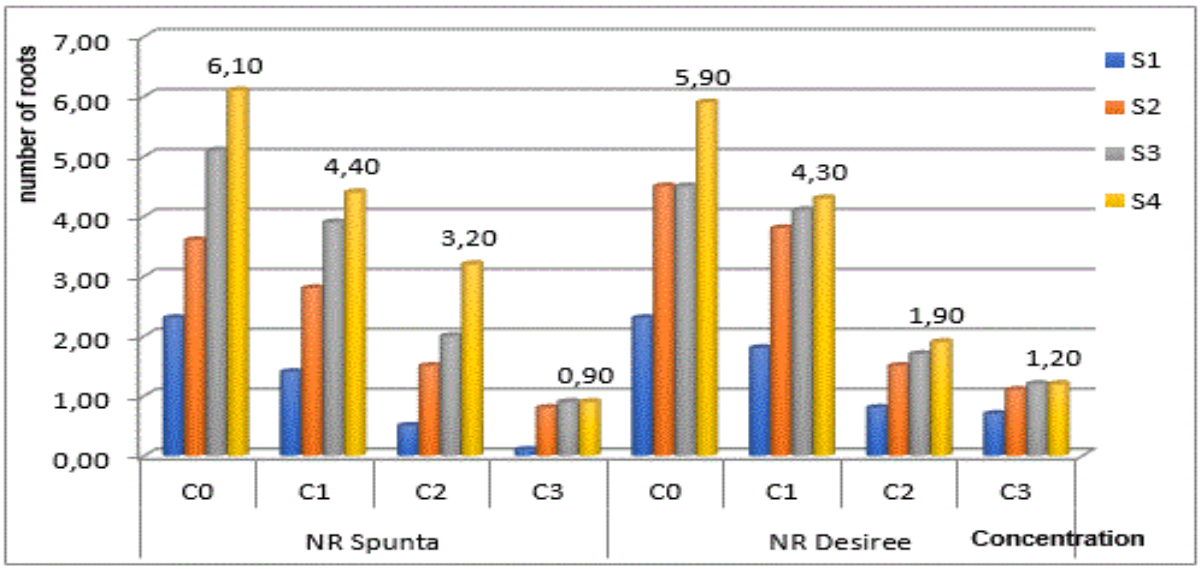


Fig. 3. Evolution of the average number of roots formed during the cultivation period in the two varieties Spunta and Desiree.

Netondo, (1999) in Mwai *et al.* (2004) showed that the reduction in root growth could be attributed to the reduction of the rate of cell division and prolongation, and thus the decrease in the diameter of the root.

Conclusion

This work aims to study in vitro the influence of NaCl and the effect of the genotype (Spunta and Desiree) on the micropropagation of the potato Solanum tuberosum. To achieve our goal, we have studied the following morphological parameters: number of leaves, stem length, number of roots . These parameters were evaluated in order to characterize the level of tolerance of these two varieties with respect to salt stress. In the present work, we have used different saline concentrations (0, 25, 100 and 150 Mmol / L of NaCl) with stress duration of 7 to 28 days.

The results obtained show that the control medium C0 has a high regeneration rate, after 28 days, compared to the other concentration studied (C25, C100 and C150). Although the presence of NaCl in the growth medium at low concentrations does not have a significant influence on the growth and development of vitro plants, the results obtained with the C25 medium are comparable with those of the control medium.

However, we found a weak development of the two varieties studied in the C100 and C150 media.

It is also apparent from our study that the Desiree variety seems more tolerant towards saline environments. This behavior can be explained by the difference of their genotypes.

Acknowledgements

This study is part of the agro development company SAGRODEV of SETIF Guellal. thesis and authors would like to thank the general Director for giving me the chance to do my thesis pratical part, where I have given the authority form the laboratory director in vitro as well, to use different equipment I have needed within the laboratory .

Reference

Benmahioul B, Daguin F, Kaid-Harche M. 2009. Effet du stress salin sur la germination et la croissance *in vitro* du pistachier (*Pistacia vera* L.). C. R. Biologies **332,** 752–758.

Ben yahmed J. 2013. Etude des propriétés de tolérance au déficit hydrique et au stress salin de génotypes appartenant au genre *Poncirus* et au groupe des mandariniers. Thèse de doctorat. Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques. Montpellier. 32p.

Bouraoui N , Grignon C, Zid E. 1998. Effet de NaCl sur la croissance et la réparation racinaire du triticale (X-triticosecale wittmack). Cahiers Agriculture **5,** 372-6.

Delaplace P. 2007. Caractérisation physiologique et biochimique du processus de vieillissement du tubercule de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.). Thèse de doctorat. Academie universitaire Wallonie-Europe. Faculté universitaire des sciences agronomiques de Gembloux. 171p.

Cuartero Yeo A R, Flowers TJ. 1992. Selection of donors for salttolerance in tomato using physiological traits. New. Phytol. **121,** 63-69.

Guerrier G. 1996. Fluxes of Na+, K+ and Cl-, and osmotic adjustment in *Lycopersicon pimpinellifolium* L. and *esculentum* during short and long-term exposure to NaCl. Plant Physiol. **97,** 583-591.

Mallek-maalej E, Boulasnem F, Ben Salem M. 1998. Effet de la salinité sur la germination des graines de céréales cultivées en Tunisie. Cahier Agricultures **1998(2),** 153-6.

Munns R, Termatt A. 1986**.** Whole plant reponse to salinity. Autralien journal of plant physiology **13,** 143-160.

Mwai GN, Onyango JC, Onyango M. 2004. Effect of salinity on growth and yield of spider plant (*Cleome gynandra* L.). African jounal of food, Agriculture, Nutrition and Developement AJFAND.volume 4N°2.

Neumann PM, azaizen H, Leon. 1994**.** Hardening of root cell walls: A Growth production en grains chez quelques écotypes de mil (*Pennisetum glaucum*. L*)* R. Comptes Rendus Biologies. Volume **331(4),** April 2008, pages 278-286.

Rolot JL, Vanderhofstadt B. 2014. Guide technique de la culture de la pomme de terre en République démocratique du Congo. Le CDE est financé par l'Union Européenne.

Sibi M. 1996. Amélioration des plantes et biotechnologie. Edition J.L Eurotexte, 99-111.

Suhayda CG, Redman B, Harvy L, Cipynwk AL. 1992. Comparative response of salt cultived and wild barley species to salinity stress and calcium supply. Crop. Sci. **32,** 154-163.

جامعة الاخوة منتوري– قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم : البيولوجيا وعلم البيئة النباتية

اللقب: لعريط **الاسم** : صباح	**تاريخ المناقشة** :2019-07-17

العنوان : مساهمة الزراعة النسيجية في الانتقاء الصنفي لنبات البطاطس *Solanum tuberosum* L.النامية تحت ظروف ملحية.

الملخص :

يهدف هذا العمل إلى دراسة تأثير الملوحة على الإكثار الدقيق و تشكيل الكالوسات لنبات البطاطس (***Solanum tuberosum* L.**) *in vitro* و مقارنة السلوك الفزيو مرفولوجي و البيوكيماوية للأربعة أصناف وراثية (**Bartina, Spunta , Désirée , Timate**). في هذا السياق أجريت تجربة عاملية بالقطاعات العشوائية بتصميم المربع اللاتيني احتوت أربعة تراكيز ملحية منNaCl mMol (C_0 :0 , C_1 : 25, C_2 : 50 , C_3 : 150) و أربعة مكررات فالتجربة شملت 64 وحدة تجريبية في وسط النمو MS تحت ظروف مراقبة

بينت الملاحظات الفزيو مرفولوجي و البيوكيماوية أثناء الإكثار الدقيق أن مستويات التراكيز الملحية سببت انخفاضا تدريجيا في طول الساق (LT) و الجذور(LR) كذلك عدد الأوراق (NF) و الجذور(NR) متبوعة بتخفيض معنوي في الوزن الطازج و الجاف لكل من الأوراق و الجذور(PF_f , PS_f ,PF_r , PS_r) لدى جميع الأصناف المدروسة كما أن محتوى الكلوروفيل (a,b) و مقدار البوتاسيوم (K^+) في الأوراق و الجذور قد تراجع خاصة تحت التركيز الملحي NaCl (150mMol) عند الصنف Désirée مع تراكم الصوديوم (Na^+) في الأوراق و الجذور و ارتفاع محتوى السكريات في الأوراق . يبين مؤشر فصل المجموعات من خلال تحليل التباين أن صنف Bartina وDésirée سلكت سلوك المقاوم مقارنة بالصنف Spunta و Timate اللذين كانت حساسيتهما واضحة للإجهاد الملحي

تشير نتائج الدراسة التي أجريت على قدرة تشكيل الكالوسات تحت الظروف الملحية *in vitro* أن الأصناف الأربعة أظهرت سلوكات متباينة بشكل واضح حيث أن مؤشر الحساسية (Is) أكد حساسية الصنفين Spunta و Timate مقارنة بالصنفين Bartina وDésirée لتي لديها نسبة عالية من الوزن الطازج والجاف ومعدل زيادة تحريض تشكيل الكالوسات (cal%) مع قدرة عالية من احتباس الماء (Ws) هذه المقاومة تحت الظروف الملحية مرتبطة بالنمو الجيد للكالوسات (CMR)

هذه النتائج التي تم الحصول عليها تشير إلى إمكانية استخدام تقنية زراعة الأنسجة في الانتقاء الصنفي تحت الظروف الإجهاد اللاحيوي

الكلمات المفتاحية : ***Solanum tuberosum* L.** ، الملوحة ، الإكثار الدقيق ، تخليق الكالوسات ، الانتقاء الصنفي

مخبر البحث : شركة التطوير الفلاحي SAGRODEV –قلال- سطيف.
مخبر البيوتكنولوجي CRBT –قسنطينة-

مشرفة البحث: شوقـــي سعيـــدة - أستاذة التعليم العالي .