مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (38) العدد (3) 2016
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (38) No. (3) 2016

تأثير التطفير الكيميائي بمادة ايتيل ميتان سلفونات على بعض مؤشرات النمو لصنف البطاطا مارفونا *Solanum tuberosum* L.

الدكتور حسان خوجه*
الدكتور مازن رجب**
وائل متوج***

(تاريخ الإيداع 28 / 9 / 2015. قبل للنشر في 9 / 6 / 2016)

ملخّص

نُفِّذ هذا البحث؛ بهدف تقييم تأثير المادة المطفرة ايتيل ميتان سلفونات (EMS). في بعض الصفات الكمية لصنف البطاطا مارفونا. تمت معاملة الدرنات باستخدام ثلاثة تراكيز من المادة المطفرة mM (0، 20، 30، 40) وبثلاث أزمنة غمر (2، 3، 4) ساعة. بينت النتائج وجود فروق معنوية ($p < 0.05$) بين المعاملات المدروسة؛ بلغ مجموع التغيرات الكلية في الصنف الم دروس 9 أنواع من التغيرات، تناوبت واختلفت في ظهورها بحسب التراكيز وفترات الغمر المستخدمة من المادة المطفرة. أدت الزيادة التدريجية في تراكيز الـ EMS وزمن المعاملة إلى انخفاض معنوي في أغلب الصفات الخضرية و صفة الإنتاج؛ فقد أبدت المعاملة mM 40 لمدة 4 ساعات انخفاضاً في نسبة بقاء النباتات 51% فاعتبرت هي المعاملة (LD50). بينما حققت المعاملة mM 20 لمدة 3 ساعات أكبر قطر للساق 1.63 سم. في حين تفوقت المعاملة mM 20 عند 2 ساعة على جميع المعاملات في الإنتاج الذي بلغ 1459 غرام وفي العدد الأكبر من الدرنات 16.8 درنة، كما أظهرت النتائج أن أكبر متوسط وزن للدرنة 118.1 غرام و أكبر ارتفاع للنباتات (67.22) سم حقق عند المعاملة mM 30 لمدة (4-3) ساعات على التوالي. في حين حققت المعاملة mM 40 عند 3 ساعات غمر أعلى عدد للنموات الخضرية 3.90 نمواً.

الكلمات المفتاحية: البطاطا، (ايتيل ميتان سلفونات، EMS)، طفرات.

* أستاذ مساعد- قسم البساتين- كلية الزراعة- جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.
** باحث في مركز بحوث اللاذقية- قسم التقانات الحيوية - الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية - اللاذقية - سورية.
*** طالب دراسات عليا (دكتوراه) - قسم البساتين- كلية الزراعة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (38) العدد (3) 2016
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (38) No. (3) 2016

Effect of Mutagenic Ethyl Methane Sulfonate on some Growth Characteristics of Potato *Solanum tuberosum* L. "Marfona" Cultivar

Dr. Hassan Khojah [*]
Dr. Mazen Rajab [**]
Wael Mtawj [***]

(Received 28 / 9 / 2015. Accepted 9 / 6 /2016)

□ ABSTRACT □

This research was conducted to assess the effect of different concentrations of chemical mutagen Ethyl Methane Sulphonate (EMS) on some quantitative traits in potato Marfona cultivar. Sprouted tubers were soaked in 0, 20, 30 , and 40 mM water solution of EMS for 2, 3, 4 hrs. Results showed significant differences ($p<0.05$) between the treatments. The total number of qualitative changes in the cultivar studied was 9 types of change, alternated and varied in appearance with the different concentrations and periods soaked of EMS. The results showed that the gradual increase in EMS concentrations during the treatment's times caused a significant gradual decreases in most vegetative, yield and its component characteristics. Based on the percentage from survival (51%) of treated material the LD50 concentration for EMS was inducing by 40 mM/ 4 hrs treatment . while 20 mM/ 3 hrs treatment was better for stem diameter (1.63 cm) .The 20 mM/ 2 hrs treatment was the best on total tubers weight (1459 g) and tubers number (16.8). The 30 mM/ 4-3 hrs treatment showed heaviest tuber weight (118.1 g) and highest plant (67.22 cm) respectively. Shoots number was (3.90) with 40 mM/ 3 hrs treatment.

Key word: Potato, Ethyl Methane Sulfonate, Mutations.

[*] **Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Syria.**
[**]**Researcher, General Commission for Scientific Agricultural Research , Department of Biotechnology , Lattakia, Syria.**
***postgraduate Student (Doctorate), Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Syria.**

مقدمة:

تعد البطاطا .*Solanum tuberosum* L أحد أهم محاصيل الخضار؛ إذ تستهلك كأحد الأغذية الرئيسة في العالم وتحتل المرتبة الرابعة في الأهمية الاقتصادية بعد القمح والذرة الصفراء والرز (Chiru *et al*., 2008). وتأتي البطاطا في طليعة محاصيل الخضار في القطر العربي السوري، حيث وصلت المساحة المزروعة بها إلى 12983 هكتار عام 2013 وإنتاج قدره 286594 طن حسب المجموعة الإحصائية السورية الصادرة عن وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي لعام 2013؛ تعتبر البطاطا مصدراً غذائياً غنياً بالكربوهيدرات والبروتين والمعادن كالبوتاسيوم والمغنيزيوم والفيتامينات، وغذاء رئيسي في كثير من المناطق لوفرة غلتها ورخص سعرها مقارنة بالمحاصيل الاخرى، وتنوع الظروف البيئة الملائمة لنموها.

تمثل التباينات الوراثية Genetics variability الركيزة الأساسية في أي برنامج تربية؛ حيث يمكن الحصول على هذه التباينات مباشرة من المصادر الوراثية المتوفرة في الطبيعة، أو تكوين تباينات جديدة من خلال عمليات التهجين والانتخاب، أو من خلال عمليات التطفير لدى النباتات المكاثرة بذرياً وخضرياً. تعد طريقة التطفير وسيلة سهلة وسريعة وغير مكلفة؛ لاستحداث التباينات الوراثية في صفات النباتات الكمية والنوعية؛ لذلك فإن استحداث تباينات وراثية جديدة سيكون لها دور فعال في توسيع القاعدة الوراثية للنوع وزيادة احتمال الحصول على أصناف جديدة بصفات جيدة. تتميز طريقة إحداث الطفرات في المحاصيل التي تتكاثر خضريًا، مثل الأشجار المثمرة والبطاطا والثوم وغيرها، بالمقارنة مع طرائق التربية التقليدية كالتهجين مثلا، بإمكانية تعديل عدد محدود من الصفات في صنف جيد مرغوب بدون تغيير كبير في بقية الصفات كالتغلب مثلا على ظاهرة عدم التوافق الذاتي وعوائق التهجين الأخرى (Neto *et al*., 1998; Ahloowalia,1995; Al-Safadi and Arabi, 2003).

تشير إحصائيات IAEA لعام 2014؛ إلى أنه تم استنباط أكثر من 3200 صنف جديد من 214 نوع نباتي (الرز، القمح، الشعير، الحمص، التفاح، الحمضيات، قصب السكر و البطاطا وغيرها) باستخدام المطفرات. تصنف المطفرات إلى مطفرات فيزيائية (كالأشعة فوق البنفسجية و أشعة إكس وأشعة ألفا وبيتا وغاما)، ومطفرات كيميائية تنتمي معظمها لمجموعة الالكيلات (Alkylates)، وأهمها (EMS: Ethyl Methane Sulfonate, DES: Di Ethyl Sulphate, NaN3:Soudium Azide) والتي تمتاز بقدرة جيدة على التطفير. تعددت آراء الباحثين حول آلية عمل المطفرات الكيميائية لاستحداث تباينات وراثية في النبات؛ وذلك إما من خلال استبدال نيوكليوتيد بآخر (substitution)؛ محدثة طفرات نقطية (point mutations)، يستبدل فيها نيوكليوتيد الغوانيين G بـ الأدنين A (Stefano, 2001; Greene, 2003; Kim *et al*., 2007; Muth *et al*., 2008)؛ أو إحداث فقد أو حذف في جزء من الكرموزومات loss of chromosomes segment or deletion كما ذكر (Freese, 1963)؛ أو إحداث كسور كروموزومية chromosomes breaks حسب (Vizir *et al*., 1996).

استخدمت طريقة التطفير بنجاح في استحداث وعزل وانتخاب طفرات مرغوبة من النباتات؛ في مجال تحسين طول النبات، وموعد الإزهار، ونضج الثمار ولونها، وتحسين الإنتاجية كماً ونوعاً، بالإضافة الى مقاومة بعض الأمراض والمبيدات العشبية وتحمل الإجهادات الإحيائية واللاإحيائية وفق معطيات الكثير من الباحثين (Sonnino *et al*., 1991; Love *et al*., 1993; Jain, 1997; Veitia *et al*., 2001; Rodriguez *et al*., 2002 ; Yildirim, 2002; Yildirim *et al*., 2003; Thieme and Griess, 2005; Kharkwal and Shu, 2009)

تمكن العديد من الباحثين من عزل وانتخاب سلالات طافرة من البطاطا بعد باستخدام التطفير الكيمائي بمادة ايتيل ميتان سلفونات (EMS) ؛ للاستفادة من الاختلافات الوراثية الناتجة في برامج التحسين الوراثي لنبات البطاطا؛ وذلك بالاعتماد على بعض المؤشرات الانتخابية، كمؤشرات النمو وعدد النموات، وطول النبات، ومكونات الإنتاج والتبكير بالنضج، والوزن الجاف (Bragdo, 1989 ; Sharma and Pandey, 1996).

أشارت العديد من الدراسات الى اختلاف حساسية المحاصيل الخضرية التكاثر للتطفير بنوعيه (الفيزيائي والكيميائي) باختلاف الأنواع والأصناف، بالتالي تحديد الجرعة او التركيز الملائمين قبل البدء بدراسة الحساسية للتطفير؛ وذلك باستعمال عدة جرعات أو تراكيز فضلاً عن معاملة الشاهد بدون تطفير من أجل اختبار الجرعة أو التركيز الأنسب الملائمة للنمو واستحداث التباينات الوراثية المرغوبة (Hassan and Ashraf,1991; Sonnino *et al.*, 1986)

أشار العديد من الباحثين لوجود علاقة عكسية بين تركيز المطفرات الفيزيائية والكيميائية و بين مؤشرات النمو (نسبة البقاء، ارتفاع النبات، عدد الافرع....الخ) عند استخدامها على العديد من الانواع النباتية والبطاطا (Kangarsu *et al.*, 2014; Al-hamada, 2009)

تمكن Afrasiab (2006) من عزل وانتخاب ثمان طفرات من صنفي البطاطا ديزيرية وديامنت (Diamant, Desiree) باستخدام التطفير الكيميائي بمادة الـ EMS، وبتراكيز مختلفة (0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0) %، تميزت هذه الطفرات بصفات إنتاجية ونوعية جيدة مقارنة مع النباتات غير المطفرة؛ وذلك بالاعتماد على مؤشرات شكلية وإنتاجية (عدد النموات والسلاميات، وطول النبات، عدد ووزن الدرنات، عدد العيون وحجم الدرنات). وبين أن التراكيز الأنسب من مادة الـ EMS والتي أعطت أفضل المؤشرات المرغوبة كانت ما دون التركيز 0.6 %. أجرى Al-hamada (2009) دراسة لاستحداث تباينات وراثية في ثلاثة أصناف من البطاطا (Atlas, Simon, Nicola) باستخدام التطفير الكيميائي بمادة الـ EMS، وبتراكيز مختلفة mM (0، 20، 30، 40)، حيث تمكن من عزل وانتخاب 31 سلالة طافرة، تميزت بصفات إنتاجية ونوعية جيدة في الجيل الخضري الثاني M2 ؛ وذلك بالاعتماد على بعض المؤشرات الخضرية (كنسبة البقاء، وعدد النموات الخضرية، وقطر الساق، وطول النبات، وقوة النمو)؛ وعلى أهم المؤشرات الإنتاجية (عدد الدرنات/ النبات، ووزن الدرنات/ النبات، ومتوسط وزن الدرنة). كما تمكن من انتخاب 9 سلالات متحملة لمرض اللفحة المبكرة *Alternaria solani* L وذلك في الجيل الخضري الثالث M3.

أهمية البحث وأهدافه:

نظراً لما يتمتع به محصول البطاطا من أهمية اقتصادية كمصدر غذائي هام ورخيص ، فقد اتجه هذا البحث إلى استحداث تباينات وراثية لدى نبات البطاطا صنف مارفونا؛ باستخدام مادة إيتيل ميتان سلفونات (EMS)؛ بغرض انتخاب طفرات ذات أهمية اقتصادية؛ اعتماداً على بعض مؤشرات النمو الخضرية والإنتاجية.

طرائق البحث ومواده:

مكان وفترة تنفيذ البحث:

نفذ البحث في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية – مركز البحوث العلمية الزراعية باللاذقية– شعبة التقانات الحيوية – محطة صنوبر جبلة، في العروة الربيعة والخريفية لعام 2013.

المادة النباتية :

استخدم في البحث الصنف مارفونا Marfona، وهو من أصناف البطاطا الهولندية المعتمدة في سورية، النبات نصف قائم ومتوسط الكثافة، ويمتاز بنمو خضري قوي، أزهاره بيضاء لا تعطي ثمار (عقيم)، درناته كروية، سكونه متوسط إلى طويل، مقاوم للفيروسات (A, Y, X)، متوسط التبكير بالنضج (105– 110) يوم، إنتاجه متوسط، يصلح لجميع العروات، المادة الجافة جيدة. وتم الحصول على الصنف المذكور من المؤسسة العامة لتأمين مستلزمات الإنتاج الزراعي باللاذقية.

تحضير المادة النباتية:

أخذت درنات البطاطا للصنف مارفونا وهي تقاوي من رتبة الايليت (Elite)، وذات أحجام تتراوح بين (38– 58) ملم كما مذكورة على بطاقة المنتج المستورد من شركة اغريكو (Agrico)، غسلت الدرنات بالماء لإزالة المواد العالقة عنها، ثم حضنت الدرنات في المختبر تحت درجة حرارة (25 ± 1) م° لمدة أسبوعين حتى تمام الإنبات.

معاملة التطفير:

تم غمر الدرنات مكتملة الإنبات في محلول مائي من المادة المطفرة ايتيل ميتان سلفونات EMS بثلاثة تراكيز mM (20، 30، 40) وثلاث فترات غمر (2، 3، 4) ساعة ، ودرنات الشاهد تركت دون أية معاملة، تلتها عملية غسيل بالماء للدرنات المعاملة، وبعدها حضنت الدرنات في المختبر تحت درجة حرارة (25±2) م° وإضاءة غير مباشرة لمدة أسبوع، ثم زراعتها في العروة الربيعية لعام 2013 في نهاية شهر كانون الثاني، حيث صنفت النباتات الناتجة من الدرنات المعاملة بالـ EMS وكذلك الدرنات الناتجة عنها على أنها الجيل المطفر الاول (M0V1=M1). وتم تحديد نسبة النباتات الباقية بعد الزراعة بـ 45 يوماً، حيث تركت النباتات تكمل دورة حياتها حتى تمام النضج بدون تطبيق أي انتخاب، ثم حصدت كافة النباتات الباقية بأوائل شهر أيار، وحفظت الدرنات بظروف المختبر. وفي نهاية شهر تموز تم كسر سكون الدرنات الناتجة من العروة الربيعية باستخدام حمض الجبريلين عند تركيز 100 ميللي غرام/ لتر لمدة ساعة، ثم زرعت الدرنات مكتملة الانبات في العروة الخريفية بأواخر شهر آب لعام 2013 لإنتاج نباتات (M1V2 =M2)، حيث بدأت عملية الانتخاب وتجميع الملاحظات خلال مرحلة النمو الخضري وحتى مرحلة النضج والحصاد؛ وذلك باستخدام بعض صفات النمو الخضري وصفة الانتاج ومكوناته ، كما تم انتخاب النباتات المميزة عن الشاهد من خلال المشاهدات الحقلية والتي تتسم بصفات مورفو فيزيولوجية تتعلق بـ (الساق، الاوراق، الازهار، الثمار) فقط ؛ بغية انتخاب أنسال خضرية هامة تفيد المربي لإدخالها ضمن برامج التحسين الوراثي.

مرحلة الزراعة:

تمت زراعة المعاملات { تراكيز mM EMS 20، 30، 40) مع ثلاث فترات غمر 2، 3، 4 ساعة} في العروة الربيعية بمعدل درنة كاملة بكل حفرة في قطع تجريبية (18.75 م2 لكل قطعة)، في ثلاثة خطوط لكل قطعة تجريبية، وبواقع خمسة وعشرين درنة في كل خط، وتركت مسافة 50 سم بين الخط والآخر، ومسافة 50 سم بين الدرنة والأخرى، وأُخذت درنات البطاطا المزروعة في العروة الخريفية من درنات العروة الربيعية المحصودة، والتي زرعت في موسم 2013 بمعدل درنة كاملة بكل حفرة في قطع تجريبية (24 م2 لكل قطعة)، في خمسة خطوط لكل قطعة تجريبية، وبواقع ثلاثين درنة في كل خط، وتركت مسافة 40 سم بين الخط والآخر، ومسافة 40 سم بين الدرنة والأخرى، وتركت مسافة فاصلة 50 سم بين المعاملة والمعاملة التي تليها، وأعطيت القطع التجريبية رية خفيفة بعد الزراعة، ونفذت جميع عمليات الخدمة وفق توصية البرنامج الإرشادي لوزارة الزراعة والإصلاح الزراعي.

القراءات المأخوذة:

تم تسجيل القياسات التالية:

1 - المؤشرات الخضرية:

نسبة بقاء النباتات في العروة الربيعية بعد الزراعة بـ 45 يوم.

عدد التغيرات الكلية ونسبتها لدى نباتات العروة الخريفية.

عدد النموات الخضرية / نبات و قطر النموات و ارتفاع النبات بعد 75 يوماً من الزراعة في العروة الخريفية.

2 - مؤشرات الإنتاج:

الوزن الكلي للدرنات/النبات و عدد الدرنات/النبات و متوسط وزن الدرنة؛ وذلك في نهاية موسم النمو للعروة الخريفية.

التحليل الإحصائي:

صممت التجربة وفق القطاعات العشوائية الكاملة، تم اختيار 75 نبات عشوائياً من كل قطعة تجريبية، أخذت منها قراءات الصفات المدروسة. أخضعت المعطيات لتحليل التباين (ANOVA) باستخدام البرنامج الإحصائي GenStat12. وحددت معنوية الفروق بين المتوسطات باستخدام أقل مدى معنوي LSR عند مستوى معنوية 5% حسب (Duncan,1955).

النتائج والمناقشة:

تأثير المادة المطفرة EMS على النسبة المئوية لبقاء النباتات:

أظهرت نتائج الجدول (1) تأثير التطفير الكيميائي بمادة الايتيل ميتان سلفونات في نمو نباتات صنف البطاطا مارفونا المطفرة؛ وقد أدى التطفير إلى زيادة نسبة القتل وترافق ذلك من خلال انخفاض نسبة نباتات الباقية؛ مع زيادة تركيز وزمن الغمر بالمادة المطفرة مقارنة بالشاهد؛ إذ حققت المعاملة 20 mM عند زمن غمر 2 و 3 ساعات والمعاملة 30 mM عند زمن غمر ساعتين أعلى نسبة بقاء للنباتات بلغت (99.5، 96، 96.2 %) على التوالي وبدلالة احصائية معنوية بالمقارنة مع معاملات التطفير المختلفة. في حين أظهرت النتائج التأثير السلبي للمعاملة 40 mM مع جميع فترات غمرها (4,3,2) ساعة محدثة انخفاضاً معنوياً وتدريجياً في نسبة بقاء النباتات بعد 45 يوم من الزراعة بلغت (74.3، 58.8، 51) % على التوالي. تنسجم هذه النتيجة مع دراسات عديدة على نباتات البطاطا؛ بينت فيها وجود ارتباط سلبي بين تركيز المعاملة بالعامل المطفر (كيميائي أو فيزيائي) من جهة، والنسبة المئوية للنباتات الباقية المعاملة بعد الزراعة من جهة أخرى (Salihy *et al.*, 2006; Al-Hamada, 2009).

جدول (1): تأثير المادة المطفرة ايتيل ميتان سلفونات على مؤشرات النمو الخضرية لصنف البطاطا مارفونا .

المعاملة	نسبة البقاء%	ارتفاع النبات/سم	قطر الساق/سم	عدد نموات
0 mM+2hr	100 a	55.99b	1.44b	2.75d
0 mM+3hr	99.1a	56.02b	1.48b	2.77d
0 mM+4hr	99.1a	55.97b	1.43b	2.73d

2.55d	1.46b	54.68b	99.5a	20 mM+2hr
2.65d	1.63a	64.93a	96.0a	20 mM+3hr
3.08bcd	1.58a	65.41a	90.3b	20 mM+4hr
2.85cd	1.16c	55.83b	96.2a	30 mM+2hr
3.15bcd	1.60a	67.22a	87.8b	30 mM+3hr
3.05bcd	1.47b	62.06a	78.3c	30 mM+4hr
3.53abc	0.80f	48.55c	75.3c	40 mM+2hr
3.90a	1.01d	46.86c	58.8d	40 mM+3hr
3.60ab	0.89e	45.61c	51.0e	40 mM+4hr
0.62	0.09	5.20	5	LSD 5%
14	4.7	6.4	4.1	CV%
الأحرف المتشابهة عمودياً تدل على عدم وجود فروق معنوية				

تأثير مادة الـ EMS على ارتفاع النبات:

أظهرت نتائج الدراسة أن المعاملة 20 mM بزمن غمر (3 و 4 ساعات) والمعاملة 30 mM بزمن غمر (3 و 4 ساعات)، قد أعطت أعلى القيم لمتوسط ارتفاع النباتات (64.93 65.41 67.22، 62.06) سم على التوالي وبدلالة احصائية معنوية؛ بالمقارنة مع المعاملات الأخرى بعد 75 يوم من الزراعة جدول (1). في حين أعطت المعاملة 40 mM أقل متوسط لارتفاع النبات عند كافة فترات غمرها (45.61، 46.86، 48.55) سم على التوالي. يتفق ذلك مع معطيات دراسة (Al-Hammada, 2009)؛ الذي بين فيها أن أفضل متوسط ارتفاع للنبات لدى ثلاثة أصناف من البطاطا (Atlas, Nicola, Simon) كان عند استخدام تركيز 20 mM من المادة المطفرة EMS وزمن غمر 3 ساعات. كما انسجمت معطياتنا مع العديد من الدراسات التي بينت أن للتطفير الكيميائي دوراً محفزاً في استحداث تباينات مظهرية بين النباتات المعاملة بالمادة المطفرة بالنسبة لمؤشر ارتفاع النبات عند نباتات البطاطا (Nasrin *et al.*, 2003; yildrim *et al.*, 2003). كما تنسجم مع معطيات العديد من الدراسات التي أشارت إلى أن زيادة التركيز بشكل عام لمادة الـ EMS قد أدت إلى انخفاض ارتفاع النبات في العديد من المحاصيل؛ يمكن أن يعزى انخفاض ارتفاع النباتات المعاملة بالتراكيز العالية للمواد المطفرة؛ إلى منع أو غياب تكوين هرمون الأوكسين، الذي يساعد على انقسام الأنسجة الميرستيمية والخلايا القريبة منها (Kangarasu *et al.*, 2014)

تأثير مادة الـ EMS في قطر ساق النبات:

بينت النتائج أن المعاملة 20 mM عند فترتي غمر (4 ،3) ساعة؛ وكذلك معاملة التطفير 30 mM عند فترة غمر ثلاث ساعات؛ أعطتا أعلى متوسط قطر للنباتات بلغ (1.60 ،1.58 ،1.63) سم على التوالي وبدلالة احصائية معنوية بالمقارنة مع المعاملات الأخرى بعد 75 يوماً من الزراعة، في حين أعطت المعاملة 40 mM أقل متوسط ساق للنبات عند كافة فترات غمرها (0.80،1.01،0.89) سم على التوالي جدول (1). وانسجمت معطياتنا مع نتائج دراسة (Al-Hammada, 2009; Hoque and Morshad, 2014) التي بين فيها أن قطر النموات الخضرية لدى

بعض أصناف البطاطا؛ قد تراوحت ما بين (0.9–2) سم عند استخدام المادة المطفرة EMS بتراكيز بين mM (20,30,40).

تأثير مادة الـ EMS في عدد النموات الخضرية:

تظهر بيانات الجدول (1) وجود فروق معنوية بين معاملات التطفير المختلفة، حيث كانت العلاقة طردية بين تركيز المادة المطفرة EMS ومتوسط عدد النموات الخضرية؛ إذ حققت المعاملة 40 mM عند زمن 3 ساعات أعلى قيمة لعدد النموات الخضرية بلغت 3.90 نمواً، وعند زمن غمر 2،4 ساعات (3.53 ، 3.60) نمواً على التوالي، وبفروق معنوية مقارنة بالمعاملات الأخرى بعد 75 يوماً من الزراعة. انسجمت معطيات دراستنا مع نتائج دراسة أجريت على ثلاثة أصناف من البطاطا (Cardinal, Diamant, Asterix) عوملت بمطفرات كيميائية بتراكيز مختلفة (1، 2، 4) ملغ/ليتر (EMS, 5–Bromo Uracil (BU) and 2,4–D) حيث سببت التراكيز العالية من هذه المطفرات زيادة في عدد النموات الخضرية (Hoque and Morshad, 2014). بينما؛ انسجمت نتائج دراستنا جزئياً مع دراسة (Al–Hammada, 2009) التي بين فيها أن التراكيز العالية من المادة المطفرة الـ EMS (30– 40) ميللي مول أعطت أقل قيمة لعدد النموات بلغت (3.9) نمواً عند صنف البطاطا أطلس (Atlas)، وأعطت أعلى القيم في عدد النموات عند صنف البطاطا سيمون (Simon) بلغت على التوالي (4.55 ، 4.58) نمواً. ويعزى الدور السلبي لزيادة تركيز وزمن الغمر بالمادة المطفرة في خفض قيم المؤشرات الخضرية إلى التأثير الكيميائي في المادة الحيوية داخل الخلية من خلال تكوين الجذور الحرة في المركبات المكونة للمادة الحيوية التي تسبب ضرراً للأغشية الخلوية في العضيات فتزيد من نفاذية غشاء الخلية ومن ثم حدوث تسرب للسكر والنواتج الأخرى في الخلية وبالتالي يؤثر في فعالية ونشاط الأنزيمات ذات الصلة بالانقسام الخلوي ودورة الخلية وتكوين واستطالة الخلايا وبالتالي يؤثر في النمو وتتأثر العمليات الايضية (Van Harten, 1998).

تأثير مادة الـ EMS في عدد ونسبة التغيرات الكلية:

يلاحظ من الجدول (2) أن عدد التغيرات الكلية (لونية، شكلية، فسيولوجية) الظاهرة لدى نباتات العروة الخريفية بلغت 9 أنواع من التغيرات { التحام وريقتان وخروجهما من نقطة واحدة على الساق، تشوه الأوراق يظهر على شكل (أوراق أحادية أو ثلاثية أو خماسية أو مشوهه أو التحام جميع الوريقات بالورقة)، ساق اسطوانية الشكل، أزهار بنفسجية اللون، تشوه الازهار(تحور وظيفي وتضاعف كافة أجزاء الزهرة)، حامل العنقود الزهري مختزل، النورة الزهرية مختزلة بزهرة مفردة، تكون ثمار عاقدة، تبكير بالإزهار} شكل (1). كما يلاحظ من الجدول (2) أن عدد التغيرات الكلية لدى المعاملة 20 mM لـ EMS عند كافة فترات الغمر مجتمعة بلغ 8 تغييرات، حيث ظهرت التغيرات المذكورة أعلاه جميعها ماعدا (التحام وريقتان وخروجهما من نقطة واحدة على الساق)، بينما بلغ عدد التغيرات الظاهرة لدى المعاملة (30 mM) عند كافة فترات غمرها 7 تغيرات فقط، كما ظهرت التغيرات المذكورة أعلاه جميعها ماعدا (شكل الساق الاسطواني، أزهار بنفسجية اللون)؛ وبلغ عدد التغيرات الظاهرة 8 تغيرات لدى المعاملة (40 mM) عند فترات الغمر مجتمعه، وظهرت جميع التغيرات المذكورة أعلاه باستثناء (شكل الساق الاسطواني). وظهرت التغيرات { تشوه الازهار، حامل العنقود الزهري مختزل، زهرة مفردة، تشوه الاوراق، تبكير بالإزهار} بشكل كبير وواضح في أغلب المعاملات المدروسة، بينما أقل الصفات ظهوراً هي (شكل الساق الاسطواني، لون الازهار البنفسجي)، نلاحظ من الجدول (2) أن التراكيز المستخدمة mM (40,30,20) لـ EMS ذات فعالية في إحداث طفرات تراوحت نسبة حدوثها بين (8.45 – 11.59) %، وبشكل عام يلاحظ ازدياد نسبة التغيرات بزيادة تركيز EMS وزمن الغمر به، فارتفعت نسبة

هذه التغيرات عند زمن الغمر 2 ساعة وبزيادة تركيز الـ EMS بلغت (8.45, 9.09, 9.26) % للتراكيز المنخفضة والمتوسطة والعالية على التوالي، وكذلك عند زمن غمر 3 ساعة بلغت (8.82, 9.23, 10,14) %. في حين بلغت عند زمن غمر 4 ساعات (10.96, 10.20, 11.59) % بزيادة التركيز على التوالي. ويعزى الاختلاف في عدد التغيرات الظاهرة باختلاف تركيز المادة المطفرة من جهة وزمن الغمر بها من جهة أخرى، ويرتبط هذا بحدوث تغير وخلل على مستوى تفاعل وتركيب المادة الوراثية (DNA) (Mackey, 1981).

جدول (2) التغيرات الكلية (%) لصنف البطاطا مارفونا :

المعاملة	التحام وريقتان	تشوه أوراق	ساق اسطوانية الشكل	أزهار بنفسجية اللون	تشوه أزهار	حامل عنقود زهري مختزل	زهرة مفردة	تبكير إزهار	تكون ثمار عاقدة	% التغيرات الكلية
0mM+2hr	------	------	------	------	------	------	------	------	------	--
0mM+3hr	------	------	------	------	------	------	------	------	------	--
0mM+4hr	------	------	------	------	------	------	------	------	------	--
20mM+2hr	------	14.55	------	------	13.14	10.33	16.13	24.26	21.59	8.45
20mM+3hr	------	18.70	------	------	20.38	11.55	18.91	21.85	8.61	8.82
20mM+4hr	------	7.84	4.56	20.49	5.88	18.53	7.80	23.14	11.76	10.96
30mM+2hr	25.78	26.51	------	------	12.53	------	14.94	20.24	------	9.09
30mM+3hr	10.60	21.37	------	------	24.64	7.64	------	24.60	11.15	9.23
30mM+4hr	------	22.65	------	------	20.69	17.34	------	19.12	20.20	10.20
40mM+2hr	------	22.68	------	------	20.29	------	19.23	20.32	17.48	9.26
40mM+3hr	6.78	20.30	------	------	18.65	20.37	16.55	17.35	------	10.14
40mM+4hr	11.59	20.58	------	7.18	16.37	20.50	11.81	11.97	------	11.59

1 -صور توضح بعض التغيرات المورفو فيزيولوجية في نباتات العروة الخريفية لصنف البطاطا مارفونا .

تأثير مادة الـ EMS في صفة الإنتاج ومكوناته:

تبدي نتائج الجدول (3) أن المعاملة 30 mM عند زمن غمر أربع ساعات؛ قد أعطت أكبر قيمة بالنسبة لمتوسط وزن الدرنة 118.1 غرام وبدلالة احصائية معنوية بالمقارنة مع المعاملات الأخرى، كما أظهرت النتائج أيضاً التأثير الايجابي للمعاملة 40 mM مع جميع فترات غمرها (4,3,2) ساعة في تحقيق زيادة معنوية مقارنة مع نباتات الشاهد غير المطفرة في متوسط وزن الدرنة بلغ (108.9 ,111.2 ,113.4) غرام على التوالي؛ ما يدل على أن العلاقة طردية ما بين تركيز وزمن الغمر بالمادة المطفرة EMS من جهة، ومتوسط وزن الدرنة من جهة أخرى. أما بالنسبة للمعاملة 20 mM عند زمن غمر ساعتين فقد حققت أفضل متوسط وزن للدرنات 1459 غرام وأكبر متوسط عدد درنات على النبات 16.8 وبدلالة احصائية معنوية، في حين سجل التركيز العالي من الـ EMS 40 ميللي مول اقل القيم في وزن وعدد الدرنات عند جميع فترة الغمر. انسجمت معطياتنا مع Afrasiab (2006) الذي توصل باستخدام التطفير الكيميائي لاستحداث 3 طفرات من صنف البطاطا ديزية (EMS1, EMS3, EMS2) والتي أعطت أعلى عدد من الدرنات (12.6،14.4،14.8) على التوالي؛ مقارنة مع النباتات غير المطفرة (11.0) درنة. وانتخب 3 طفرات من الصنف ديامنت (EMS6, EMS8, EMS5) أعطت أكبر عدد من الدرنات (14.4،14.0،12.8) على التوالي، مقارنة بالنباتات غير المطفرة (11.0) درنة. ويعزى ذلك بأنه قد يكون للتراكيز المنخفضة من مادة الـ EMS دوراً منشطاً عند النباتات المعاملة، وانسجمت هذه المعطيات مع نتائج العديد من الباحثين الذين ذكروا أن استخدام تراكيز منخفضة من الايتيل ميتان سلفونات كان مفيداً لانتخاب طفرات ذات إنتاجية جيدة عند العديد من أصناف البطاطا، والمحاصيل النباتية (Berljak, 1991; Sharma and Pandey, 1996; Kowalski and Cassells, 1999; Jelenic *et al.*,2001; Afrasiab and Iqbal, 2010)

مما سبق تبين أن زيادة تركيز وفترة الغمر بالمادة المطفرة ايتيل ميتان سلفونات سبب انخفاضاً في معظم صفات النمو للنباتات، ويمكن أن يعزى ذلك إلى أن زيادة تراكيز المادة المطفرة عن حد معين يسبب إحداث اضطرابات فسيولوجية وتحطم وراثي وخلوي؛ والذي ينعكس على عمليات الاستقلاب و مراحل نمو النبات المختلفة (Mensah and Obadoni, 2007)

جدول (3): تأثير المادة المطفرة ايتيل ميتان سلفونات على مكونات الانتاج لصنف البطاطا مارفونا

المعاملة	وزن الدرنات الكلي/غ	متوسط وزن الدرنة/غ	عدد الدرنات/نبات
0 mM+2hr	1070 ef	90.de	11.9 c
0 mM+3hr	1069 ef	85.4 e	12.5 c
0 mM+4hr	1065 ef	88.8 de	12.0 c
20 mM+2hr	1459 a	87.1 e	16.8 a
20 mM+3hr	1367 b	96.5 cd	14.2 b
20 mM+4hr	1181 cd	101.1 c	11.7 c
30 mM+2hr	1208 c	89.7 ed	12.3 c
30 mM+3hr	1098 de	110.3 ab	11.2 c
30 mM+4hr	1047 eg	118.1 a	8.9 d
40 mM+2hr	997 fh	108.9 b	9.2 d
40 mM+3hr	962 gh	111.2 ab	8.7 d
40 mM+4hr	946 h	113.4 ab	8.4 d
LSD 5%	85.54	7.20	1.56
CV%0	8.5	5	9.5
الأحرف المتشابهة عمودياً تدل على عدم وجود فروق معنوية			

الاستنتاجات والتوصيات:

يتضح مما تقدم أن التطفير الكيميائي قد يؤثر في نمو وتطور النباتات بصورة عامة، وأن هذا التأثير قد يؤدي إلى حدوث تباينات وراثية، ويتباين تأثير مادة ايتيل ميتان سلفونات EMS المطفرة على نسبة بقاء النباتات بعد الزراعة، وبعض صفات النمو الخضرية، وعلى الإنتاج ومكوناته تبعاً لتركيزها وزمن الغمر بها، وقد تبين أن تراكيزها المنخفضة تحدث تباينات مرغوبة لهذه الصفات؛ إذ تفوقت المعاملة 20 mM عند زمن غمر ساعتين على جميع المعاملات؛ فأعطت أكبر متوسط إنتاجية، وأكبر عدد للدرنات، وأعطت المعاملة 20 mM عند زمن غمر أربع ساعات أعلى عدد ونسبة من التغيرات مقارنة بباقي المعاملات المدروسة ، ويعزى ذلك لأنه قد يكون للتراكيز المنخفضة من مادة الـ EMS لعبت دوراً منشطاً في الجيل الخضري الطافر M_2، ويمكن أن نوصي بالتالي:

- متابعة تقييم النباتات المنتخبة في الاجيال الطافرة اللاحقة؛ للتأكد من الثباتية الوراثية للصفات المدروسة، واختبار الصفات الزراعية الأخرى وذلك تحت ظروف التقييم الحقلي المستمر.
- إجراء تقدير البروتينات الكلية في النباتات المنتخبة؛ لمعرفة مستوى التغير في عمليات الاستقلاب الذي سببته تلك المعاملات.
- تطبيق أحدى تقنيات البصمة الوراثية Fingerprinting على النباتات المنتخبة وآبائها في الاجيال اللاحقة؛ لتحديد التغيرات الوراثية المحتملة كونها تختصر جهد ووقت وتعطي نتائج سريعة ومؤكدة عن النباتات المنتخبة مقارنة بطرائق التربية التقليدية.
- الاستفادة من طريقة التطفير الكيميائي في استحداث تراكيب وراثية واعدة ومفيدة يمكن إدخالها ضمن برامج التحسين الوراثي؛ بهدف استنباط أصناف جديدة تتحمل الاجهادات الاحيائية واللاأحيائية، وإكثارها باستخدام تقانات زراعة الأنسجة.

المراجع:

المراجع العربية:

1. المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية (2013): وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، مديرية الاقتصاد الزراعي، قسم الإحصاء، دمشق سوريا.

المراجع الأجنبية:

1. AFRASIAB, H. *Biochemical and Molecular Markers of somaclonal variants and induced mutants of potato (Solanum tuberosum* L.). Thesis university of the Punjab Lahore, Pakistan. 2006, 311p.
2. AFRASIAB, H. and IQBAL, J. *In vitro techniques and mutagenesis for the genetic improvement of potato Cvs. Desiree and Diamant.* Pak. J. Bot. 2010, 42(3): 1629-1637.
3. AHLOOWALIA, B. S. *In vitro mutagenesis for the improvement of vegetative propagated plants. Induced mutations and molecular techniques for crop improvement.* IAEA-SM340/203, 1995, 531-541.
4. Al-HAMADA, R. I *Studies on breeding and improvement of potato (Solanum tuberosum* L.*) through mutagenesis and selection*. Ph. D 2009, Thesis, Fac. Agric., Cairo Univ., Egypt, 137 p
5. Al-SAFADI, B. and ARABI, M. I. E. *In vitro induction, isolation and selection of potato mutants resistant to late blight*. J. Genet. & Breed. 2003, V.57:359-364.

6. Al-SALIHY, A.A.; Al- JIBOURI, A.G.A.; Al- BAYATI, S.K. and. AWAD, M.J. *Effect of gamma radiation on growth of four potato* (*Solanum tuberosum L.) varieties propagated In vitro.* J. Agric. Sci., jordan. Univ ,2006, 2:3.

7. BERLJAK, J. *Variation in plants regenerated from potato somatic cells*. Acta. Hort. (ISHS). 1991, 289:217-218.

8. BRAGDO, A.M. *Variability among potato clones derived from irradiation callus.* J. Agric. Sci. 1989, 3(3): 281-287.

9. CHIRU, S.C.; GHEORGHE, O. and PAUL, C.S. *Preface of the special issue 31(3/4): potato in a changing world*. 2008, Potato Res. 51: 215–216.

10. DUNCAN, D.B. *Multiple range and multiple F tests*. *Biometrics*. 1955, 11: 142.

11. FREESE, E. *Molecular mechanism of mutations. Molecular Genetics*. Academic Press. 1963, pp. 207.

12. GREENE, E.A. *Spectrum of chemically induced mutations from a large-scale reverse-genetic screen in Arabidopsis.* Genetics. 2003, 164(2):731-740.

13. HASSAN, S. and ASHRAF, J.M. *In vitro Radio sensitivity and Rapid Propagation of Potato through Axillary's Bud Culture*. Sarhad J. of Agric. 1991, (4).

14. HOQUE, M.E. and MORSHAD, M.N. *Somaclonal Variation in Potato (Solanum tuberosum* L.*) Using Chemical Mutagens.* The Agriculturists. 2014, 12(1): 15-25.

15. IAEA**.** *Plant Breeding and Genetics Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture*. 2014, Retrieved 31 July.

16. JAIN, M.S. *Creation of variability by mutation and tissue culture for improving plants*. Acta Hort. 1997, 447: 69-78.

17. JELENIC, S., BERLJAK, J., DRAZENA, P. and JELASKA, S. *Mixploidy and chimeric structures in somaclones of potato (Solanum tuberosum* L.*) cv. Bintje.* Food Technol. Biotechnol. 2001, 39: 13-17.

18. KANGARSU, S.; GANESHARM, S and JOEL, A.J. *Determination of lethal dose for gamma rays and ethyl methane sulfonate induced mutagenesis in cassava (Manihot esculenta crantz)*. International journal of scientific research, 2014, 3(1):2277-8179.

19. KHARKWAL, M.C., and SHU, Q.Y. *The role of induced mutations in world food security. In: Induced plant mutations in the genomics era*. Shu, Q.Y. (Ed.). *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, Rome, Italy, 2009, pp33-38.

20. KIM, Y.S.; SCHUMAKER, K.S. and ZHU, J.K. *EMS Mutagenesis of Arabidopsis. In: "Methods in Molecular Biology"* (Eds. Salinas, J. and Serrano, J.J.). Humana Press Inc., Totowa, NJ. 2007, 36(3):101-104.

21. KOWALSKI, B. and CASSELLS, A.C. *Mutation breeding for yield and phytothora infestans (Mont.) de Bary folair resistance in potato (Solanum tuberosum* L. *cv. Golden Wonder) using computerized image analysis in selection*. *Potato Reseaech*. 1999, 42:121-130.

22. LI, W. and CHAO, H. *Studies of the mutagenic effects of various mutagenic treatments on somatic cells of potatoes (Solanum tuberosum* L.*).* Journal of Agriculture and Forestry. 1994. (43) 4: 15-25.{C. A. CAB Abstracts 1993-1994}

23. LOVE, S.I., THOMPSON-JOHNS, A. and BAKER, T. *Mutation breeding for resistance to blacks pot bruise and low temperature sweetening in potato cultivar Lehme Russe*t. Euphytica, 1993, 70: 69-74.

24. MACKEY, J. *Value of induced mutation research for improving genetic knowledge induced mutation–A tollin inplent search*, IAEA.Vienna, 1981,Pp:.3 – 32.

25. MENSAH, J.K. and OBADONI, B. *Effect of sodium azide on yield parameters of groundnut Archis hypogaea* L.). African Journal of Biotechnology. 2007, 6 (6):668-671.

26. MUTH, J.; HARTJE, S.; TWYMAN, R.M.; HOFFERBERT, H.R.; TACKE, E. and PRUFER, D. *Precision breeding for novel starch variants in potato*. Pl. Biotech. J. 2008, 6: 576 –584.

27. NASRIN, S.; HOSSIAN, M.M.; KAHTUN, A.; ALAM, M.F. and MONDAL, M.R.K. *Induction and Evaluation somaclonal variation in potato (Solanum tuberosum* L.*)*. J. Biol.Sci. 2003, 3(2):183-190.

28. NETO, A.T.; LATADO, R.R.; TSAI, S.M. and DERBYSHIRE, M.T. *Mutation breeding in vivo and in vitro in vegetatively propagated crops*. Proceedings of a final Research Co-ordination Meeting organized by the Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture and held in Lima, Peru. 1998, pp. 55-62.

29. RODRIGUEZ, V.N.; CARDOSO, F.J.; PEREZ, J.N.; RODRIGUEZ, G.L.; CARABALLOSOS, B.I.; RODRIGUEZ, G.L.; MONTESINOS, P.Y.; PEREZ, O.P.; QUINTANA, R.C. and HERNANDEZ, N. *Evaluations in field of somaclones of Irish potatoes (Solanum tuberosum* L.*) of the variety Desiree obtained by somaclonal variation and In vitro mutagenesis*. Biotechnol. Vegetal. 2002, 2(1): 21-26.

30. SHARMA, B.D. and PANDEY, S.K. *Studies on induced mutations for biometric traits in potato*. J. Ind. Potato Ass. 1996, 23(1):46-53.

31. SONNINO, A., ANCORA, G. and LOCARDI, C. *In vitro Mutation Breeding of Potato. Use of Propagation by Microcuttings. In Nuclear Techniques and in vitro Culture for Plant Improvement*. Proc. Inter. Symposium on Nuclear Techniques and *in vitro* Culture for Plant Improvement. International Atomic Energy Agency. Vienna, 1986, 385-394.

32. SONNINO, A.; PENUELA, R.; CRINA, P.; MARTINO, L. and ANCORA, G. *In vitro induction of genetic variability and selection of disease resistant plants in the potato. In: (Eds.): J.G. Hawkes, R.N. Lester, M. Nee & N. Estrada. Solanaceae. III*. Taxonomy, Chemistry, Evolution, Royal Botanic Gardens at Kew, Richmond.1991, 421-427.

33. STEFANO, P. *Mutation induction and tissue culture in improving fruits*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2001, 64:185-210.

34. THIEME, R. and GRIESS, H. *Somaclonal variation in tuber traits of potato*. Pot. Res. 2005, 48: 153-165.

35. VAN HARTEN, A. M. *Mutation Breeding*. Cambridge University Press,1998.

36. VEITIA, N.; ANGEL-DITA, M.; GARCIA, L.; HERRERA, L.; BERMUDEZ, I.; ACOSTA, M.; CLAVERO, J.; ORELLANA, P.; ROMERO, C. and GARCIA, L. *The use of tissue culture and In vitro mutagenesis for the improvement of resistance to Alternaria solani in Irish Potato (Solanum tuberosum* L.*) var. Desiree.* Biotechnol. Vegetal. 2001, 1(1): 43-48.

37. VIZIR, I.; THORLBY, G. and MULLIGAN, B. *Classical mutagenesis and gentic analysis. In plant gene isolation*. Principles and practice (Eds. Foster, G.D. and Twell, D).John Wiley and sons. Chichester. 1996, P p: 212-145.

38. YILDIRIM, Z. *A study on somaclonal variations in potatoes.* Ege Universitesi Ziraat Fakultesi Dergisi. 2002, 39: 33-40.

39. YILDIRIM, Z.; TUGAY, E. and YILDIRIM, M.B. *Somaclonal variation in potatoes (Solanum tuberosum* L.*).* Turk. J. Field Crops. 2003, 8(1): 33-38.