تحديد وسط الزرع الملائم وتأثير مستخلص الحناء *Lawsonia inermis* L. في وسط الزراعة النسيجية على انتاج نبيتات خالية من فيروس البطاطا/البطاطس Y

رقيب عاكف العاني[1]، محمد سعيد السامعي[1] ومبشر صالح عمر[2]
(1) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق؛ (2) دائرة البحوث الزراعية، منظمة الطاقة الذرية العراقية، بغداد، العراق.

الملخص

العاني، رقيب عاكف، محمد سعيد السامعي ومبشر صالح عمر. 2003. تحديد وسط الزرع الملائم وتأثير مستخلص الحناء *Lawsonia inermis* L. في وسط الزراعة النسيجية على انتاج نبيتات خالية من فيروس البطاطا/البطاطس Y. مجلة وقاية النبات العربية. 21: 90-95.

اجريت هذه الدراسة لتحديد وسط الزرع الملائم لتكوين نبيتات من أجزاء من الورقة والساق لنباتات البطاطا/البطاطس في الزراعة النسيجية، ودراسة تأثير إضافة مستخلص الحناء (*Lawsonia inermis* L.) إلى الوسط لاستئصال فيروس البطاطا Y (PVY) والحصول على نبيتات بطاطا/بطاطس خالية منه. وجد أن وسط الزرع MS (Murashige وSkooge) المضاف إليه 4.52 مغ/ليتر من Benzyladenine (BA) و 10 مغ/ليتر من Gibberellic acid (GA3) أكثر الأوساط الزرعية كفاءة في تكوين أفرع مباشرة (Diract organogenesis) من أجزاء من الأوراق والسيقان لنبات البطاطا/البطاطس صنف "ديزري"، فضلاً عن تحفيزه تكوين أفرع سليمة من أجزاء ورقية مصابة. أظهر مستخلص الحناء فعالية كبيرة في استئصال فيروس البطاطا Y (PVY) وأمكن الحصول على نبيتات خالية من الفيروس بنسبة 100% عند اضافته للوسط الصلب بنسبة 50 مغ/ليتر، في حين كانت نسبة النباتات الخالية من الفيروس 0.0، 33.3، 46.2، 58.2، 60.0، 91.7 و 100% عند اضافة مستخلص الحناء إلى الوسط الزرعي السائل بالتراكيز 0.0، 50، 100، 200، 300، 400 و 500 مغ/ليتر، إلا انه لوحظ أن التركيز الذي أعطى نسبة 100% نباتات خالية من الفيروس أدى إلى تأخر في نمو النبيتات.

كلمات مفتاحية: الحناء، زراعة نسيجية، فيروس البطاطا Y.

المقدمة

يتعرض محصول البطاطا/البطاطس للإصابة بالعديد من الفيروسات، وتعد سلالة فيروس البطاطا Y العادية (PVY، جنس *Potyvirus*، عائلة *Potyviridae*) من أكثرها انتشاراً وأهمية (7، 11). وقد سجلت للفيروس عدة سلالات قسمت إلى ثلاثة مجاميع (Y^0، Y^N، Y^C) إعتمادا على الأعراض التي تسببها على صنفي التبغ "White burly" و "Samsun NN"، نبات المنطاد *Physalis floridana* Adhorsh Ps وصنف البطاطا/البطاطس "Duke of York" (7، 8).

اعتمدت تقنية زراعة الطرف المرستيمي على أوساط زرعية صناعية بغية الحصول على نبيتات خالية من الفيروسات في برامج انتاج تقاوي البطاطا/البطاطس، إلا أن نسبة كبيرة من النباتات الناتجة تكون حاوية على الفيروس. لذلك اتجه التفكير إلى البحث عن مواد كيمياوية تضاف إلى الوسط لتثبيط الفيروس في حالة وجوده في الجزء النباتي المستخدم في الزراعة النسيجية ورفع نسبة النبيتات الخالية من الفيروس الناتجة منه. فاستخدم الريبافارين (الفايرازول virazol (Ribavarin, 1-B-D-ribofuranoy l-1,2,4-triazol-3-carboxamide) وأثبت فاعلية عالية في تثبيط الفيروس في الزراعة النسيجية (4، 14، 15). من ناحية أخرى أختبرت العديد من المستخلصات النباتية في مقاومة الفيروسات رشاً على المجموع الخضري للنباتات المصابة، فأثبت بعضها كفاءة عالية في تحطيم الفيروس داخل النسيج النباتي بعد حدوث الإصابة كان من بينها مستخلص الحناء *Lawsonia inermis* L. (1).

ونظراً لكون السلالة العادية لفيروس البطاطا Y (PVY^o) تمثل مشكلة كبيرة على البطاطا/البطاطس في العراق، فقد هدفت هذه الدراسة إلى إمكانية استخدام مستخلص الحناء في الوسط الزرعي للتخلص من الفيروس وزيادة كفاءة تقنية الزراعة النسيجية في الحصول على نبيتات خالية منه وتكوين نباتات بطاطا/بطاطس من أجزاء نباتية أخرى غير الطرف المرستيمي كالورقة والساق. ولتحقيق هذا الهدف ينبغي أولاً البحث عن وسط ملائم للحصول على نبيتات من أجزاء الورقة والساق.

مواد البحث وطرائقه

مصدر الفيروس

تم الحصول على السلالة العادية لفيروس البطاطا Y (PVY^0) من مختبر فيروسات النبات، كلية الزراعة، بجامعة بغداد وتم تأكيد تشخيصه بواسطة إختبار إليزا (6) بإستعمال أجسام مضادة وحيدة الكلون/الطراز (Monoclonal) من إنتاج شركة ADGEN، اسكتلندا، المملكة المتحدة.

الحصول على نبيتات بطاطا/بطاطس مصابة بالفيروس

أخذت درنات بطاطا/بطاطس صنفي شفتين (Chieftain) وورومانو (Romano) مصابة بالسلالة العادية لفيروس البطاطا Y، جرى التأكد من احتوائها عليه باختبار اليزا. قطعت الدرنات إلى قطع

صغيرة يحوي كل منها على برعم واحد، غمرت القطع في محلول حامض الجبرليك (GA3) تركيز 100 مغ/ليتر لمدة ساعة لكسر طور السكون وتحفيزها على الانبات. وضعت القطع في بتموس معقم ومرطب عند درجة حرارة 25 ± 2 س وفترة إضاءة 16 ساعة يومياً في غرفة النمو. قطعت الأطراف المرستيمية للأفرع الناتجة بطول 5–10 مم وغسلت بالماء الجاري مدة 10 دقائق ونقلت إلى كابينة الزراعة ذات الانسياب الطبقي للهواء المعقم (Laminar air flow cabinet). عقمت أطراف الأفرع سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم التجاري 20% مضافاً إليه بضع قطرات من مادة Tween-20، ثم غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات في أطباق بتري ولمدة خمس دقائق لكل مرة. وزعت الأجزاء في قناني زجاجية بواقع برعم طرفي واحد لكل قنينة (3) تحوي 30 مل من الوسط الزرعي الصلب MS (Murashige وSkoog) (12)، مضافاً إليه 30 غ/ليتر سكروز و 100 مغ/ليتر اينوسيتول (Myo-inositol) و 9 غ/ليتر آجار (يضاف الآجار تدريجياً مع التسخين والتحريك)، درجة حموضة 5.8 ومعقم بجهاز التعقيم البخاري عند درجة الحرارة 121 س وضغط 1.04 كغ/سم^2 مدة 20 دقيقة.

حضنت القناني في حاضنات نمو عند درجة حرارة 24 س وشدة إضاءة 1000 لوكس مدة 16 ساعة يومياً. روعي إجراء التقسيم والنقل إلى وسط إكثار جديد كل 4–6 أسابيع، واختبر إحتواء الأفرع المتكونة على الفيروس باختبار اليزا.

إختبار قابلية بعض الأوساط على تحفيز أفرع مباشرة من أوراق وسيقان بطاطا/بطاطس

قطعت الأوراق بأبعاد 0.5 × 0.5 سم والسيقان 0.5–1 سم لنبيتات بطاطا/بطاطس معقمة للأصناف ديزري (Desiree)، دايمونت (Diamont)، شفتين (Chieftain)، رومانو (Romano) في أطباق بتري معقمة. نقلت القطع إلى قناني زجاجية تحوي كل منها 30 مل من الوسط الزرعي الصلب (يتكون الوسط من MS، مضافاً إليه 30 غ/ليتر سكروز و 9 غ/ليتر آجار، وبدرجة حموضة 5.8) مضافاً إليه تراكيز مختلفة من منظمات النمو النباتية Benzyladenine (BA)، Gibberellic acid (GA3)، Indol acetic acid (IAA)، Kinetin (Kin)، 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D)، Naphthalene acetic acid (NAA) بصورة مفردة أو متداخلة مع بعضها في ثمانية أوساط وعلى النحو الآتي: 1) 0.76 مغ/ليتر NAA؛ 2) 0.19 مغ/ليتر NAA + 2.26 مغ/ليتر BA + 10 مغ/ليتر GA3؛ 3) 1.13 مغ/ليتر BA + 10 مغ/ليتر GA3؛ 4) 2.26 مغ/ليتر BA + 10 مغ/ليتر GA3؛ 5) 4.52 مغ/ليتر BA + 10 مغ/ليتر GA3؛ 6) 3.23 مغ/ليتر Kin + 0.01 مغ/ليتر IAA + 0.2 مغ/ليتر GA3؛ 7) 10 مغ/ليتر GA3 + 1.0 مغ/ليتر BA + 1.0 مغ/ليتر IAA؛ 8) 2 مغ/ليتر 2,4-D.

وضعت الأوساط المزروعة في حاضنة عند درجة حرارة 25 س و 16 ساعة إضاءة يومياً. نقلت القطع التي تحفزت وكونت أفرعاً إلى وسط جديد بالتركيب نفسه بعد 4–6 أسابيع، واستخدمت الأوساط التي حفزت تكوين أفرع في الدراسات اللاحقة.

المعاملة بمستخلص الحناء

أضيف 250 مل كحول اثيلي 80% إلى 100 غ من مسحوق الحناء في أناء زجاجي سعة 1000 مل وترك على الهزاز لمدة 48 ساعة عند درجة حرارة الغرفة. رشح المستخلص عبر أوراق ترشيح (Whattman-2) في قمع بخنر موصل بجهاز تفريغ الهواء. ركز الراشح في حمام مائي عند درجة حرارة 42–45 س حتى أصبح كثيف القوام وحفظ تحت التجميد لحين الاستخدام (9). عمل محلول أساس من هذا المستخلص باذابة 1 غ منه في 50 مل من الوسط الزرعي السائل. عقم المحلول بإمراره من خلال مرشح دقيق (Millipore) قطر فتحاته 0.45 مايكروميتر ثم من آخر قطر فتحاته 0.22 مايكروميتر. أضيفت المقادير 0.0، 0.25، 0.5، 1، 1.5، 2 و 2.5 مل من المستخلص كل على إنفراد إلى 100 مل من الوسط الزرعي في قناني زجاجية للحصول على التراكيز 0.0، 50، 100، 200، 300، 400 و 500 مغ/ليتر. وزعت الأوساط في قناني أخرى معقمة بمعدل 30 مل /قنينة. زرعت على الوسط الزرعي في كل قنينة خمسة قطع من الأفرع المصابة بطول 0.5–1 سم يحوي كل منها على برعم أبطي في ظروف معقمة وحضنت في غرفة النمو. زرعت قطع أخرى من الأفرع المصابة في وسط سائل بنفس تركيبة الوسط الصلب يحوي على نفس التراكيز السابقة من مستخلص الحناء. قدرت أطوال النبيتات الناتجة مباشرة من الأفرع وقدر وزن الكالس في الأوساط التي حفزت تكوينه وكررت المعاملات خمس مرات. حللت البيانات بإختبار مربع كاي.

النتائج و المناقشة

التكوين المباشر للأعضاء

أشارت النتائج التي تم الحصول عليها بأن الأوساط ذات الأرقام 3 (1.13 مغ/ليتر BA + 10 مغ/ليتر GA3)، 4 (2.26 مغ/ليتر BA + 10 مغ/ليتر GA3) و 5 (4.52 مغ/ليتر BA + 10 مغ/ليتر GA3) قد حفزت تكوين أفرع مباشرة من أجزاء من الورقة والساق بعد 10–12 أسبوعاً وكان أعلى معدل للأفرع المتكونة في الوسط رقم 5 (4.52 مغ/ليتر BA +10 مغ /ليتر (GA3) للصنف "ديزري" إذ بلغ عدد الأفرع 20 لقطعة الورقة و 16 لقطعة الساق وكان أقل معدل لعدد الأفرع في الوسط رقم 3 (1.13 مغ/ليتر BA + 10 مغ/ليتر GA3) للصنف "شفتين"، حيث بلغ عدد الأفرع 4 لقطعة الورقة و 6 لقطعة الساق (جدول 1). ولم تظهر على القطع أية بوادر لتكوين الكالس. وقد نشأت الأفرع مباشرة من خلايا الحواف المقطوعة

للأوراق والسيقان، إذ أن هذه الخلايا تفقد تمايزها عندما تكون في تماس مع الوسط وتكون مرستيمات صغيرة (merstimoid) ثم تتمايز خلايا هذه المرستيمات إلى أنواع مختلفة من الخلايا المتخصصة التي بدورها تكون أفرع (2، 10، 13). واستخدمت هذه الظاهرة التطورية على نطاق واسع من قبل مربي النبات عن طريق تكوين مرستيمات قمية عديدة (shoot meristems) تنمو إلى أفرع دقيقة (microshoots) ذات حجم مناسب، ثم يجرى لها تحفيز لإنتاج مرستيمات جذرية (Root meristems) (13). وتفضل هذه الطريقة في تكوين أفرع مباشرة على الطريقة غير المباشرة (الكالس) في إنتاج نباتات البطاطا/البطاطس التي تقسى وتؤقلم للحصول على درنات الرتب العليا، إذ أنه بهذه الطريقة يتم تفادي تعرض النباتات الناتجة للتغايرات الكروموسومية غير المرغوبة التي تحدث في مرحلة الكالس. ولم تبين النتائج أية بوادر لتكوين أفرع مباشرة في الأوساط ذات الأرقام 1 (0.76 مغ/ليتر NAA)، 2 (0.19 مغ/ليتر NAA + 2.26 مغ/ليتر BA + 10 مغ/ليتر GA3)، 7 (10 مغ/ليتر GA3 + 1.0 مغ/ليتر BA + 1.0 مغ/ليتر IAA) و 8 (2 مغ/ليتر 2,4-D). سواء من قطع الأوراق أو الساق للأصناف الأربعة لكنها تحفزت باتجاه تكوين الكالس. وربما يعود السبب إلى إحتواء هذه الأوساط على الأوكسينات 2,4-D، NAA و IAA منفردة أو مصاحبة للسايتوكاينينات BA و Kin. وحقق الوسط ذو الرقم 8 (2 مغ/ليتر 2,4-D) أعلى معدل لوزن الكالس من القطع الورقية أو قطع الساق (جدول 1). وقد استجابت الأصناف الأربعة من البطاطا/البطاطس للتراكيز المختلفة من السايتوكاينين BA، فقد أعطى الصنف "ديزري" أعلى إستجابة لتكوين الأفرع من أجزاء الورقة والساق عند التركيز 4.52 مغ/ليتر BA في حين أظهر الصنف "رومانو" أقل إستجابـــة لنفس التركيز. ولم يبدي الوسط رقم 6 (3.23 مغ/ليتر KIN + 0.01 مغ/ليتر IAA + 0.2 مغ/ليتر GA3) أية إستجابة لتكوين أفرع أو كالس.

استجابت الأجزاء الورقية المصابة لجميع تراكيز BA وكونت أفرعاً وكانت أعلى إستجابة للصنف " شفتين" (56%) عند التركيزين 2.26 و 4.52 مغ/ليتر في حين كانت إستجابة الصنف "رومانو" 52 و 40% للتركيزين السابقين، على التوالي. وكان أعلى معدل للأفرع التي تكونت على جزء الورقة المصابة 2.6 و 3.3 فرعاً عند التركيز 2.26 مغ/ليتر للصنفين شفتين ورومانو، على التوالي (جدول 2)

جدول 1. إستجابة أجزاء نباتية من ساق وأوراق أربعة أصناف بطاطا/بطاطس لثمانية أوساط زرعية نسيجية، الأرقام بين الأقواس تعبر عن النسبة المئوية للقطع المستجيبة.

Table 1. Response of leaf and stem parts of four potato cultivars to 8 tissue culture media, the number between brackets are % of responded shoots/pieces.

الوسط* Medium*	معدل عدد الأفرع المتكونة على القطعة الواحدة Mean numbers of shoots/piece								معدل وزن الكالس الناتج عن 5 قطع مزروعة (غ) Mean of callus weight of 5 pieces (g)							
	ديزري Desiree		ديمونت Diamont		شفتين Chieftain		رومانو Romano		ديزري Desiree		ديمونت Diamont		شفتين Chieftain		رمانو Romano	
	ورقة Leaf	ساق Stem	ورقة Leaf	ساق Stem	ورقة Leaf	ساق Stem	ورقة Leaf	ساق Stem	ورقة Leaf	ساق Stem	ورقة Leaf	ساق Stem	ورقة Leaf	ساق Stem	ورقة Leaf	ساق Stem
1	-	-	-	-	-	-	-	-	2.2 (100)	2.5 (100)	2.9 (100)	2.0 (100)	3.1 100) (	5.2 100) (	4.5 (84)	4.2 (100)
2	-	-	-	-	-	-	-	-	6.0 (88)	4.9 (72)	4.0 (88)	6.2 (80)	2.1 (88)	4.1 (96)	5.4 (68)	5.0 (92)
3	12 (80)	8 (84)	10 (96)	7 (92)	4 (48)	6 (60)	10 (80)	7 (88)	-	-	-	-	-	-	-	-
4	18 (92)	10 (88)	14 (84)	10 (88)	10 (56)	8 (60)	11 (76)	10 (84)	-	-	-	-	-	-	-	-
5	20 (96)	16 (80)	15 (80)	11 (96)	15 (80)	13 (64)	12 (84)	9 (72)	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	4.0 (72)	3.7 (68)	4.3 (84)	3.3 (52)	3.9 (52)	4.1 (60)	3.6 (64)	3.1 (80)
8	-	-	-	-	-	-	-	-	6.8 (100)	6.2 (100)	6.0 (100)	5.7 (100)	6.5 (88)	6.2 (80)	6.7 (96)	6.0 (80)

- لا توجد استجابة

- No response

* **الاوساط:** 1= 0.76 مغ/ليتر NAA، 2 = 0.19 مع/ليتر NAA + 2.26 مع/ليتر BA + 10 مع/ليتر GA3، 3 = 1.13 مغ/ليتر BA + 10 مغ/ليتر GA، 4= 2.26 مغ/ليتر BA + 10 مغ/ليتر GA، 5= 4.52 مغ/ليتر BA + 10 مغ/ليتر GA3، 6= 3.23 مع/ليتر Kin +0.01 مع/ليتر IAA + 0.2 مع/ليتر GA3، 7= 10 مغ/ ليتر GA3 +1.0 مغ/ليتر BA + 1.0 مغ/ليتر IAA، 8= 2 مغ/ليتر 2,4-D.

* **The media:** 1= 0.76 mg/l NAA, 2= 0.19 mg/l NAA + 2.26 mg/l BA + 10mg/l GA3, 3= 1.13 mg/l BA + 10 mg/l GA3, 4= 2.26 mg/l BA + 10 mg/l GA3, 5= 4.52 mg/l BA + 10mg/l GA3, 6= 3.23mg /l Kin+0.01 mg/l IAA + 0.2 mg/l GA3, 7= 10mg/l GA3 + 1.0 mg/l BA + 1.0 mg/l IAA, 8= 2 mg/l 2,4-D.

جدول 2. تأثير ثلاثة تراكيز من الـ BA (Benzyladenin) على تكوين نباتات سليمة من أجزاء ورقية مصابة واختبار قابلية النباتات السليمة الناتجة للاصابة بسلالة فيروس البطاطا Y العادية (PVY^o) جهازياً.

Table 2. Effect of three concentrations of Benzyladenine (BA) on the formation of healthy plants from infected leaf parts and susceptibility of these plants to infection with *Potato virus Y* (PVY^o).

اختبار اليزا ELISA test						
% النباتات السليمة % of healthy plants	عدد النباتات السليمة/عدد النباتات المفحوصة No. of healthy plants/ No. of tested plants	معدل عدد الأفرع لكل قطعة Mean no. of shoots/piece	% للاستجابة % of response	عدد القطع المستجيبة/عدد القطع الكلية No. of responded pieces/total no. of pieces	تراكيز BA(مغ/ليتر) BA concentrations (mg/l)	الصنف Cultivar
0	5/0	2.0	12	25/3	1.13	شفتين
13	30/4	2.6	56	25/14	2.26	Chieftain
10	30/3	2.4	56	25/14	4.52	
35	20/7	3.2	28	25/7	1.13	رومانو
17	35/6	3.3	52	25/13	2.26	Romano
17	30/5	4.0	40	25/10	4.52	

جدول 3. تأثير تراكيز مختلفة من مستخلصات الحناء *Lawsonia inermis* L. وطبيعة الوسط الزرعي في تثبيط فيروس البطاطا/البطاطس Y (PVY^o) في الزروعات النسيجية للصنف شفتين.

Table 3. Effect of different concentrations of Henna *Lawsonia inermis* L. in tissue culture media on *Potato virus Y* (PVY^o) inactivation in plantlets of Chieftain cultivar.

Medium type طبيعة الوسط						
Liquid media وسط سائل			Solid media وسط صلب			
معدل طول النبيتات الناتجة (سم) Mean of plantlets height (cm)	نسبة النبيتات المصابة % of infected plantlets	عدد النبيتات المصابة بالفيروس/عدد النبيتات الكلية No. of virus infected plantlets/total no. of plantlets	معدل طول النبيتات الناتجة (سم) Mean of plantlets height (cm)	نسبة النبيتات المصابة % of infected plantlets	عدد النبيتات المصابة بالفيروس/عدد النبيتات الكلية No. of virus infected plantlets/total no. of plantlets	تراكيز مستخلص الحناء (مغ/ليتر) Henna extract concentration (mg/l)
13.6	0.0	15/0	14.0	0	25/0	Healthy control شاهد سليم
12.5	100.0	15/15	11.5	100	25/25	Infected control شاهد مصاب
8.2	66.7	15/10	12.0	0	25/0	50
8.0	53.8	13/7	9.0	0	23/0	100
7.4	41.7	12/5	10.0	0	25/0	200
5.2	40.0	15/6	9.0	0	20/0	300
6.0	8.3	12/1	9.0	0	22/0	400
3.6	0.0	15/0	5.0	0	18/0	500

Data were analyzed by chi square test, which was highly significant.
Total X^2 at P= 0.01 and 7 df = 18.48, Calculated X^2 = 53.8

تم تحليل البيانات بأختبار مربع كاي وكانت الفروق عالية المعنوية
X^2 عند إحتمال 0.01 و 7 درجات حرية = 18.48، X^2 المحسوبة = 53.8

مقارنة بـــ 10 و 11 فرعاً على جزء الأوراق السليمة لكلا الصنفين بالتركيز نفسه، على التوالي (جدول 1). وربما يعود الإنخفاض في عدد الأفرع من الأجزاء المصابة إلى إنخفاض في حيوية الخلايا نتيجة الإصابة بالفيروس، ول ايستبعد أن يكون جزءاً من الأفرع الناتجة من قطع الأوراق المصابة ناتجاً من خلايا كانت أصلاً خالية من الفيروس. وتمكن Toyodo وآخرون (16) من الحصول على نباتات تبغ خالية من الفيروس عند زراعتهم أجزاء صغيرة من نسيج نبات تبغ مصاب بفيروس موزاييك التبغ. وعند إخضاع الأفرع الناتجة من قطع مصابة للفحص المصلي بإختبار إليزا كانت نسبة الأفرع السليمة 10% للصنف "شفتين" و 35% للصنف "رومانو" مما يشير أن قسماً من الخلايا في الحواف المقطوعة التي كانت في تماس مباشر مع الوسط كانت خالية من الفيروس ونشأت منها أفرع سليمة. وبناءً على هذه النتائج فقد أعتمد

الوسط رقم 5 (المؤلف من MS، 30 غ/ليتر سكروز، 9 غ/ليتر آجار، درجة حموضته 5.8، مضافاً اليه 4.52 مغ/ليتر BA و 10 مغ/ليتر GA3) لدراسة تأثير إضافة مستخلص الحناء في الوسط الزرعي على الفيروس.

تأثير إضافة مستخلص الحناء في الوسط على الفيروس

أظهر مستخلص الحناء تأثيراً تثبيطياً لفيروس البطاطا Y سواءً في الوسط الصلب أو السائل، غير أن فعاليته في الوسط الصلب كانت أكبر، فقد كانت نسبة التثبيط 100% عند التركيز 50 مغ/ليتر في الوسط الصلب في حين كانت هذه النسبة 33.3% في الوسط السائل عند نفس التركيز وبلغت 100% عند التركيز 500 مغ/ليتر في الوسط السائل (جدول 3). وربما يعود الاختلاف في التأثير بين الوسطين الصلب والسائل إلى طول فترة التعرض لمستخلص الحناء في الوسط الصلب عنه في الوسط السائل، فقد أجري الاختبار المصلي للكشف عن الفيروس بعد 8 أسابيع في الوسط الصلب في حين أجري هذا الاختبار بعد 4 أسابيع في الوسط السائل، بسبب جفاف الوسط وتدهور النباتات، مما أعطى فرصة أطول للمادة الفعالة في مستخلص الحناء للتأثير على الفيروس ولم يلاحظ أي تأثير سلبي للمادة على نمو النباتات باستثناء النباتات التي تعرضت لتركيز 500 مغ/ليتر، فقد لوحظ تأخر ملحوظ في نموها. ولا يعرف بشكل دقيق طبيعة المركبات الفعالة في المستخلص إلا أن بعض المصادر أشارت إلى عزل أربعة مركبات من نبات الحناء (5). وتشير النتائج في الجدول 3 إلى فعالية عالية لمستخلص الحناء ضد فيروس البطاطا/البطاطس Y العادية (PVY^{o})، ربما تضاهي فعالية بعض المركبات الكيمياوية المستخدمة للغرض نفسه كالفايرازول وقد يشكل البديل المناسب لمثل هذه المواد ذات الكلف العالية. وتجري الآن في المختبر دراسة لتحديد طبيعة المادة المؤثرة في تثبيط الفيروس في مستخلص الحناء.

Abstract

Al-Ani, R.A., M.S. Al-Sameae and M.S. Omer. 2003. Direct Organogenesis and Effect of *Lawsonia inermis* L. (Henna) Extract in the Tissue Culture Medium of Potato Plants on Production of Plantlets Free of *Potato Virus Y* (PVY). Arab J. Pl. Prot. 21: 90-95.

This study was conducted to determine the more favorable medium of tissue culture to induce direct organogenesis from leaf and stem parts of potato plant and evaluate the effect of *Lawsonia inermis* L. (Henna) extract in the medium in obtaining plantlets free of *Potato virus Y* (PVY). Results showed that the Murashige and Skooge (MS) medium amended with 4.52 mg/l benzyladenine (BA) and 10 mg/l Gibberellic acid (GA3) was the most effective medium in inducing direct organogenesis from leaf and stem explants of potato (Desiree cultivar), and the formation of virus free shoots from infected parts. The addition of Henna extract to the culture medium was found to be very effective in the elimination of PVY. Hundred percent of virus free plantlets was obtained when 50 mg/l of Henna extract were added to the solid medium culture. Percentage of 0, 33.3, 46.2, 58.3, 60.0, 91.7 and 100 of plantlets free of virus were obtained when 0, 50, 100, 200, 300, 400, and 500 mg/l were added to the liquid media. The highest concentration (500 mg/l) caused a delay of plantlets growth.

Key words: Henna , *Lawsonia inermis* L., tissue culture, *Potato virus Y* (PVY).

Corresponding author: R. A. Al-Ani, Plant Protection Department, College of Agriculture, University of Baghdad, Iraq.

المراجع

References

1. **حمد، سمير عبد الرزاق.** 2000. تأثير بعض المستخلصات النباتية ومنظمات النمو في فيروس تجعد واصفرار الطماطة. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق. 76 صفحة.
2. **سلمان، محمد عباس.** 1988. أساسيات زراعة الخلايا والأنسجة النباتية. جامعة بغداد، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، العراق. 478 صفحة.
3. **عمر، مبشر صالح، ميسر مجيد جرجيس وعادل وفيق الراوي.** 1994. إنتاج تقاوي البطاطا/بطاطس محليًا. مجلة مركز إباء للأبحاث الزراعية، 4 (1): 13-27.
4. **المعاضيدي، مثنى عكيدي، ميسر مجيد جرجيس ورقيب عاكف العاني.** 1999. المعالجة الفيزياوية والكيمياوية لاستئصال فيروس موزائيك الجت على البطاطا/البطاطس. مجلة إباء للأبحاث الزراعية، 9(1): 103-116.
5. **Bakkali, A.T., M. Jaziri, K. Ishimaru, N. Tanaka, K. Shimomura, K. Yoshimatsu, J. Homes and M. Vanhaelen**. 1977. Tannin production in hairy root cultures of *Lawsonia inermis*. Journal of Plant Physiology, 151:505-508.
6. **Clark, M.F. and A.N. Adams.** 1977. Characteristics of the microplate methods of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. Journal of General Virology, 34:475-483.
7. **DeBokx, J.A. and H. Huttinga.** 1981. Potato virus Y. Description of plant viruses. C.M.I./A.A.B. Kew, Surrey, England. No. 242.
8. **Delgado-Sanchez, S. and R.G. Grogan.** 1970. Potato virus Y. Description of plant viruses. C.M.I./A.A.B. Kew, Surrey, England. No. 37.
9. **Harborne, J.B.** 1973. Phytochemical methods. Halsted press, New York. 278 pp.
10. **Hicks, G.S.** 1980. Patterns of organ development in tissue culture and the problem of organ determination In:Plant tissue culture concepts and laboratory exercises. R.N. Trigiana and D.J. Gray (Editors). CRC Press, USA. 374 pp.
11. **Hooker, W.J.** 1981. Compendium of potato diseases, APS press. St. Paul, MN, USA. 125 pp.
12. **Murashige, T. and F. Skoog.** 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum, 15:473-597.

15. **Slack, S.A., I.S. Dewi and L.A. Tufford.** 1992. Therapy cycling to eliminate high titerd, multiple virus infections from potatoes. Phytopathology, 82:247.
16. **Toyoda, H., Y. Oishi, Y. Matsuda, K. Chatani and T. Hirai**. 1985. Resistance mechanism of cultured plant cells to tobacco mosaic virus. IV. Changes in tobacco mosaic virus concentrations in somaclonal tobacco callus tissues and production of virus free plantlets. Phytopathology Zeitschrift, 114:126-133.
13. **Schwarz, O.J. and R.M. Beaty.** 1996. Propagation from nonmeristematic tissue organogenesis. In: Plant tissue culture conepts and laboratory exercises, R.N.Trigiano and D.J. Gray (Editors). CRC Press, USA. 374 pp.
14. **Simpkins, I., D.G.A. Walkey and A.N. Heather.** 1981. Chemical suppression of virus in cultural plant tissues. Annals of Applied Biology, 99:161-169.

Received: January 21, 2002; Accepted: October 10, 2002

تاريخ الاستلام: 2002/1/21، تاريخ الموافقة على النشر: 2002/10/10