



الجمهورية العربية السورية  
جامعة دمشق  
كلية الزراعة  
قسم وقاية النبات

إنتخاب طرز وراثية من البطاطا متحملة لمرض الذبول الوعائي خلويًا  
باستخدام التباين الوراثي الجسمي

*In Vitro* Selection of some potato Genotypes (*Solanum tuberosum* L.)  
for Improving their Tolerance to Fusarium Wilting by  
Somaclonal Variation

دراسة مقدمة لنيل درجة الدكتوراه في وقاية النبات

إعداد

عماد علي التيناوي

المشرف المشارك

د. فهد البيسكي

باحث في الهيئة العامة للتقانة

المشرف

أ. د. جودة فضول

أستاذ في قسم وقاية النبات-كلية الزراعة

الحيوية

دمشق-2023

## المخلص

نُفذ البحث في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، والهيئة العامة للتقانة الحيوية وكلية الزراعة (دمشق/سورية) خلال 2018-2023م. جُمعت عينات بطاطا (*Solanum tuberosum* L.) مصابة بمرض الذبول الوعائي والعفن الجاف من عدة مناطق في سورية. عُزلت 65 عزلة نقية وحيدة البوغ من *F.oxysporium*. f.sp. (*FOT*) من المجتمع الفطري، ودُرست خصائصها المظهرية والمجهرية. قُدّرت نسبة الإصابة وشدة المرض لعزلات أوراق وسوق وجذور ودرنات نباتات البطاطا السليمة من صنف سبونتا. تبيّن أنّ العزلة FOT23 تفوقت بالرشاحة على بقية العزلات. استُخلصت الرشاحة CF من العزلة FOT23 للفطر FOT لاستخدامها بالتراكيز (0، 5، 10، 15، 20، 30، 40%)، ومن حمض الفيوزاريك (0.05، 0.1، 0.2) (0، 0.0125، 0.025) ميليمول إلى وسط موراشيچ وسكوك (MS) من أجل الغرلة مختبرياً لعشرة أصناف بطاطا معتمدة في مؤسسة إكثار البذار في سورية (جولي، فريدا، أردبيل، سوريا، سفن فور سفن، نكتار، فاييولا، برشلونا، سبونتا، وتورونتو) بدراسة سبعة مؤشرات نمو وتسعة معايير بيوكيميائية، وكذلك لانتخاب سلالات جديدة متحملة للرشاحة CF وحمض FA من الكالس المُجهّد. تباينت الأصناف العشرة في استجابتها لنوعي الإجهاد وفقاً لجميع المؤشرات والمعايير وبفروق معنوية عن الشاهد. تفوق الصنف تورونتو على باقي الأصناف عند جميع المعاملات بالنسبة لكل المعايير، بينما تراجع الصنف سفن فور سفن أمام جميع الأصناف في معظم المعايير. أظهر التحليل العنقودي بناءً على مجموع القيم النسبية لمؤشرات النمو والمعايير البيوكيميائية توزيع الأصناف المدروسة في ثلاث مجموعات اعتماداً على تحملها للإجهاد الأحيائي. تم اختيار الصنف تورونتو من المتحملة، والصنف فاييولا من متوسطة التحمل، والصنف سفن فور سفن من الحساسة من أجل انتخاب الكالس. درست خزعات نباتية مختلفة وتراكيز منظمات نمو متباينة، فكانت أعلى نسبة لاستحداث الكالس (97.5%) بزراعة الورقة من الصنف تورونتو على وسط تركيز 3 مغ.ل<sup>-1</sup> من 2،4-D، انتُخبت سلالات متحملة تحت تراكيز من الرشاحة الفطرية CF وحمض الفيوزاريك FA بتقدير معدل النمو النسبي للكالس وحيوية خلاياه باختبار TTC. درس تأثير تراكيز مختلفة من منظمات النمو لتجديد الكالس النامي تحت ظروف الإجهاد الأحيائي. كان أعلى متوسط لنسبة تجدد كالس الأوراق المنتخب بحمض FA في الأصناف الثلاثة. سُجّلت أعلى نسبة التجديد لدى تورونتو حيث بلغت 27.2% عند الزراعة على الوسط MS المزود بالتوليفة الهرمونية 1.5مغ.ل<sup>-1</sup> 25+BAP مغ.ل<sup>-1</sup> Adso4. حصلنا على السلالة (S-CF8)، والسلالة (F-CF7)، والسلالة (T-CF9)، والسلالة (S-FA3) والسلالة (F-FA1) تحت تأثير الرشاحة الفطرية CF وحمض الفيوزاريك FA. أظهرت السلالات المتجددة تبايناً وراثياً عن النباتات الأم عند استخدام 14 بادئاً Pr للتكرارات التتابعية البسيطة الداخلية ISSR.

**الكلمات المفتاحية:** البطاطا، مرض الذبول الوعائي الفيوزاريومي، الممرضات الفطرية، الإجهاد الأحيائي-زراعة الأنسجة، الرشاحة الفطرية CF، حمض الفيوزاريك FA، المعايير البيوكيميائية، مؤشرات النمو، الأنزيمات المضادة للأوكسدة، منظمات النمو النباتية، الغرلة، الانتخاب، الكالس، ISSR، شجرة القرابة الوراثية.

## Summary

The research was carried out in the laboratories of the General Commission for Scientific Agricultural Research and National Commission for Biotechnology (NCBT), Damascus, Syria, during 2018-2023. Diseased potato samples (*Solanum tuberosum* L.) infected with the vascular wilt and tubers dry rot on were collected from various zones into Syria. The genus *Fusarium* and *F. oxysporium* species were identified from the fungal community, and five sixty isolates of *F. oxysporium* f. sp. *tuberosi* (FOT) were isolated and purified from single spores, and investigated the morphological and microscopically features of them. Pathogenicity of the isolates were evaluated on potato leaves, stem, roots and tubers of potato seedlings to (cv. Spunta). Results revealed that isolate FOT23 was the most virulent compared with other isolates. The cultural filtrate (CF) of isolate FOT23 for FOT was extracted to be used it by different concentrations (%0 , %5 , %10, %15, %20, %30, %40), and of fusaric acid fusaric FA (0.2, 0.1, 0.05, 0.025, 0.0125, 0 mmol) to the growth medium Murashige and Skooge (MS), for screening to ten varieties of potato grown *in vitro* (Joly, Farida, Ardappel, Saria, 7-four-7, Nectar, Fabula, Barcelona, Spunta and Toronto) by study of seven morphological growth parameters and nine biochemical parameters. So, selection new tolerate high lines to concentrations of (CF) and acid fusaric (FA) from the bio-stress callus. The ten studied varieties were differed in the response to biological stress according to the all parameters, with significant difference between varieties and control. Toronto variety was excelled on the other varieties in all treatments to all parameters, while 7-fuor-7 variety was the lowest from all, in most of the parameters. The cluster analysis showed that based on the sum of the relative values of the studied growth parameters, the studied varieties were distributed in three different groups depend on the tolerance of the bio-stress. For the selection of the callus, the variety Toronto was chosen from the tolerant group, Fabula variety from the tolerant intermediate group, and 7-four-7 variety from sensitively group. So, different plant explants and growth regulators were used in callus induction, Higher percentage of callus induction was 97.5% when the leaf was used on the concentration of 3 mg.L<sup>-1</sup> of 2,4-D in Toronto. Tolerant callus lines were selected under different concentrations of Cultural Filtrate (CF) and fusaric acid (FA) depending on both relative growth and cell viability of callus by TTC test. Different concentrations of added growth regulators. They were used in order to regenerate the callus grown under Bio-stress. the highest percentages were observed of the formed leaf callus exhibition to Fusaric acid (FA). The highest regeneration percentage was recorded in Toronto (27.5%), on MS media containing 1.5 mg.l<sup>-1</sup> BAP+ 25 mg.l<sup>-1</sup> AdSO<sub>4</sub>. Numerous regenerated plantlets under effect CF and FA. The lines are S-CF8, F-CF7, T-CF9, S-FA3 and F-FA1 were obtained. The lines were revealed genetically varied from the mother plants when had been used 14 primer (Pr) to Inter Simple Sequence Repeats (ISSR).

**Key words:** Potato (*Solanum tuberosum* L.), Vascular wilt, The Fungus pathogenicity, Biotic stress, Tissue culture (*In vitro*), Cultural filtrate (CF), Fusaric acid (FA), Biochemical parameters, Growth parameters, Antioxidant enzymes, Growth regulators, Screening, Selection, Callus, ISSR, genetic kinship tree.