إكثار الشليك بتقانة تكوين الأفرع العرضية خارج الجسم الحي

ماجد عبد الحميد إبراهيم [1] هدى عبد الكريم الطه [1] زينب عبد الواحد سعيد [2] *
أستاذ مساعد أستاذ مساعد مساعد باحث
majidalbassiri@yahoo.com tahaaltaha@ymail.com zainab2000@yahoo.com
1. قسم البستنة وهندسة الحدائق ، كلية الزراعة/جامعة البصرة
2. قسم علوم الحياة ، كلية العلوم/جامعة البصرة

المستخلص

أجريت هذه التجربة في مختبر زراعة الأنسجة النباتية في كلية الزراعة، جامعة البصرة خلال المدة 2010–2012 م بهدف دراسة إكثار نبات الشليك صنف Albion خارج الجسم الحي بتقانة تكوين الأفرع العرضية. أوضحت نتائج البحث أن الوسط الغذائي MS المعد للتضاعف المجهز بتركيزي 2.0 و2.5 ملغم/لتر من BA مع وجود NAA بتركيز 0.2 ملغم/لتر حقق أعلى معدل لعدد الأفرع الخضرية الناتجة من التضاعف بلغ 23.00 و21.67 فرعاً بالتتابع. بينما أعطى التركيز 0.5 ملغم/لتر من BA بوجود NAA بتركيز 0.2 ملغم/لتر أقل معدل للتضاعف بلغ 9.67 فرعاً خضرياً. كما بينت النتائج عند استبدال الكاينتين بـ BA بنفس تراكيز ومكونات الوسط السابق أعطى نتائج معكوسة إذ بلغ معدل عدد الأفرع فيها 8.33 و2.33 و3.00 أفرع للتراكيز 0.5 و2.0 و2.5 ملغم/لتر كاينتين بالتتابع. أما التركيز 0.5 ملغم/لتر من BA في وسط التضاعف قد نتج عنه أعلى معدل لطول الفرع الخضري بلغ 4.33 سم في حين أن التركيز 2.5 ملغم/لتر نتج عنه أقل معدل لطول الفرع الخضري بلغ 0.67 سم. كانت النتائج متطابقة عند احلال الكاينتين محل BA لنفس مكونات وسط التضاعف إذ أعطى التركيزين 0.5 و2.5 ملغم/لتر معدلي طولي أفرع بلغا 3.00 و0.67 سم بالتتابع. كما أشارت النتائج الى أن وسط التجذير MS المجهز بـ IBA تركيز 1.0 ملغم/لتر قد حقق أعلى نسبة مئوية لتجذير الأفرع بلغت 100% وأعلى معدل لعدد الجذور/نبيت وطول جذر بلغا 11.67 جذر/نبيت و9.33 سم بالتتابع. أقلمت النبيتات الناتجة بنسبة نجاح 100% عندما زرعت بأوساط مكونة من خليط من الزميج والبيتموس بنسبة 1:1 في غرفة النمو تحت ظروف اضاءة 16 ساعة و8 ساعات ظلام ودرجة حرارة 27 ± 2 °م.

كلمات مفتاحية : خارج الجسم الحي، التضاعف، بنزيل أدنين، الكاينتين، أندول حامض الجبرليك، النبيتات.

---

*البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثالث

PROPAGATION OF STRAWBERRY VIA IN VITRO ADVENTITIOUS SHOOT FORMATION TECHNIQUE

M. A. Ibrahim[1] H. A. Al-Taha[1] Z. A. Saaid[2]*
Assist. Prof. Assist. Prof. Res. Assist.,
majidalbassiri@yahoo.com tahaaltaha@ymail.com zainab2000@yahoo.com
1. Department of Horticulture and Landscape Design, College of Agriculture, University of Basrah
2. Department of Biology Science, College of Sciences – University of Basrah

ABSTRACT

This study was carried out at Tissue Culture Laboratory, College of Agriculture - University of Basrah, during the period from 2010-2012 to investigate the propagation of strawberry(*Fragaria ananassa* Duch.) Albion by *in Vitro* adventitious shoot formation. Results showed that MS medium supplemented with 2.0 and 2.5 mg/l BA + 0.2 mg/l. NAA gave highest rate of shoot number reached 23.00 and 21.67 shoots respectively. While BA concentration of 0.5 mg/l. + 0.2 mg/l. NAA gave lowest rate of shoot number (9.67 shoots). The results were reverse when kinetin replaced with BA for the same medium components of multiplication, they reached 8.33, 2.33 and 3.00 shoots at 0.5, 2.0 and 2.5 mg/l. kinetin respectively. The concentration 0.5 mg/l. of BA gave highest rate of shoot length reached 4.33 cm whereas the 2.5 mg/l. of BA gave lowest rate of shoot length (0.67 cm). The similar results showed when kinetin replaced with BA for the same medium components of multiplication, they reached 3.00 and 0.67 shoots at 0.5 and 2.5 mg/l. Kinetin respectively. Results showed that rooting medium supplemented with 1 mg/l. IBA gave high rooting percentage of shoots (100%) and produced high rates of root number and length reached (3.00 root/plantlet and 3.67 cm) respectively. Finally, the plantlets were acclimatization by culture in mixture of river soil + peat moss (1:1) in growth room at conditions: 16 hrs. light and 8 hrs. dark and 27 ± 2 °C temperature. All plantlets were survived when transferred.

Key words: In vitro, Multiplication, Benzyl adenine, Kinetin, IBA, Plantlets.

***Part of MS.c Thesis of third author.**

المقدمة

نبات الشليك (*Fragaria ananassa* Duch.) من نباتات الثمار الصغيرة الواسعة الانتشار في العالم (10). أن الموطن الأصلي لهذا النبات هو أمريكا الشمالية (33). أشتق أسم هذا النبات العربي من التسمية التركية له وهي Chilliak ويسمى في جمهورية مصر العربية بالفراولة وهي كلمة مشتقة من التسمية الإيطالية لهذا النبات وهي Fragola (10). وينتمي هذا النبات إلى العائلة الوردية Rosaceae وهو معمر ينمو كنبات بري أو مزروع (40). أن ثمار هذا النوع من النبات هي من نوع الثمار المركبة المتجمعة وتستهلك طازجة أو مطبوخة أو مثلجة كما تدخل في الصناعات الغذائية مثل صناعة المعجنات والحلويات والمربيات والعصائر (13). وتحتوي ثمارها على سعرات حرارية منخفضة ونسبة عالية من الألياف وهي مصدر غني لمضادات الأكسدة الطبيعية (38). كما تحتوي ثمارها أيضاً على الكاروتينات والفيتامينات والفينولات والفلافونويدات (24). فضلاً عن احتوائها على كميات عالية من ellagic acid الذي يعد كمنشط حيوي (30). يعد الصنف المزروع Albion أحد أصناف الشليك التجارية المهمة والذي يقع ضمن مجموعة النباتات المحايدة (40) يزهر ويثمر على مدار السنة وعلى درجة حرارة 4.6 – 29.4 °م، ويتكاثر نبات الشليك بطريقة البذور وتقسيم التاج والمدادات، وتعد الطريقة الأخيرة من الإكثار هي الأكثر شيوعاً في إكثار هذا النبات على نطاق تجاري واسع (15). هناك محاولات عديدة لإكثار الشليك بتقانة زراعة الأنسجة ، فقد أستعمل العديد من الباحثين بعض أجزاء هذا النبات في إكثاره نسيجياً (19، 20). وجد في دراسة لإكثار نبات الشليك صنف Selva خارج الجسم الحي أن أعلى معدل لعدد النموات الخضرية الناتجة من التضاعف بلغ (13.0) فرعاً من زراعة أطراف الأفرع في الوسط الغذائي MS المجهّز بـ 0.5 ملغم/لتر BA (12). كما أشارت دراسة للإكثار الدقيق لنبات الشليك للأصناف (Tango و Calypso و Pagasus و Bolero و Elsanta) أن زراعة قطع من جذور النبات أو اذينات الأوراق في الوسط الغذائي MS كامل القوة مضافاً له 2 ملغم/لتر من البنزيل أدنين مع (0.2 ملغم/لتر) من 2,4-di chloro phenoxy acetic acid (2,4-D) قد أعطى نموات خضرية جديدة بالتضاعف Multiplication وهذه النموات الجديدة تم تجذيرها من خلال زراعتها في وسط غذائي خاص بالتجذير للحصول على نبيتات جديدة ناتجة من الإكثار الدقيق (28). وتم الحصول في دراسة أخرى على نموات خضرية جديدة ناتجة من التضاعف من خلال زراعة القطع الورقية لنبات الشليك صنفي Sweet Charlie و Pajaro في الوسط الغذائي MS بنصف القوة المعد للتضاعف والذي أضيف له واحد ملغم/لتر من BA مع 1.0 ملغم/لتر من IAA (34). بينما أستعمل في دراسة أخرى القطع الساقية كأجزاء نباتية لغرض إنتاج نموات خضرية جديدة من التضاعف لنبات الشليك بتقنية الإكثار الدقيق . وزرعوا تلك القطع الورقية في الوسط الغذائي المعد للتضاعف (MS) كامل القوة مزوداً بالـBA تركيز 1.5 ملغم/لتر مع الكاينتين بتركيز 0.5 ملغم/لتر والذي أعطى استجابة عالية من خلال إعطائه اكبر عدد من النموات الخضرية الناتجة من التضاعف (30). هذا ونظراً لأهمية الصنف Albion لكونه من النباتات المحايدة ولتكوينه عدد قليل المدادات التي تستخدم في الإكثار التقليدي له أستوجب دراسة إكثار هذا النبات نسيجياً بهدف نشر زراعته في المنطقة الجنوبية من العراق.

المواد والطرائق

تم الحصول على 100 نبات شليك صنف Albion بعمر ثلاثة أشهر من أحدى المشاتل الأهلية في محافظة البصرة وكانت متقاربة بالعمر والنمو. وتم اعداد الوسط الغذائي الخاص بزراعة الانسجة النباتية والمكون من أملاح MS مع مجموعة من الاحماض الامينية والفيتامينات والسكروز بتركيز 30 غم/لتر مع كبريتات الأدنين بتركيز 40 ملغم/لتر. ثم عدل الـ pH للوسط الغذائي الى 5.7-5.8 واضيفت مادة الآجار agar اليه. وسخن الوسط الغذائي مع التحريك المستمر باستخدام جهاز المغناطيس الدوار المزود بصفيحة التسخين لحين وصول درجة حرارة الوسط الى 90 °م تم توزيع الوسط الغذائي في أوعية الزراعة الزجاجية. وأحكمت الفوهة لاوعية

الزراعة باستخدام القطن الطبي مع ورق الالمنيوم وتم تعقيمها بالمؤصدة على ضغط 1.04 كغم/سم^2 وعلى درجة حرارة 121 °م ولمدة 20 دقيقة . ثم حفظت في الثلاجة لحين الاستخدام، وأجريت عليها التجارب التالية:

1- دراسة تأثير مستويات مختلفة من BA في تضاعف الأفرع الخضرية

جمعت أطراف الأفرع الخضرية لنبات الشليك صنف Albion بعد تشريح النباتات واستئصال قممها النامية الطرفية وبطول 1.0 سنتمتر ثم غسلت وعقمت بمحلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 1.05% مع اضافة المبيد الفطري البنليت بتركيز 1% ومواد مانعة للاكسدة مكونة من حامض الستريك بتركيز 150 ملغم/لتر وحامض الاسكوربيك بتركيز 100 ملغم/لتر ولمدة 15 دقيقة بعدها زرعت في الوسط الغذائي MS المجهز بمستويات مختلفة من BA وهي 0.5 أو 1.0 أو 1.5 أو 2.0 أو 2.5 ملغم/لتر مع مستوى ثابت من NAA 0.2 ملغم/لتر لكل مستوى من المستويات أعلاه.

2- دراسة تأثير مستويات مختلفة من Kinetin في تضاعف الأفرع الخضرية

زرعت أطراف الأفرع الخضرية لنبات الشليك صنف Albion بعد تشريح النباتات واستئصال القمة النامية الطرفية وبطول واحد سنتمتر وغسلها وتعقيمها (كما في الطريقة السابقة)، في الوسط الغذائي MS المجهز بمستويات مختلفة من Kinetin وهي 0.5 أو 1.0 أو 1.5 أو 2.0 أو 2.5 ملغم/لتر مع مستوى ثابت من NAA 0.2 ملغم/لتر لكل مستوى من المستويات أعلاه.

3- تأثير مستويات مختلفة من IBA في تجذير الأفرع الخضرية الناتجة من التضاعف

زرعت الأفرع الخضرية الناتجة من التضاعف في وسط التجذير المكون من الوسط الغذائي MS بنصف القوة من الأملاح المعدنية (Half MS) المزود بمستويات مختلفة من IBA وهي صفر أو 0.2 أو 0.5 أو 1.0 أو 1.5 ملغم/لتر.

4- أقلمة النبيتات الناتجة من الأفرع الخضرية المجذرة

أخرجت عشرة نبيتات كاملة (التي تحتوي على نمو خضري وجذري كامل) من أنابيب الزراعة وتم غسل مجموعها الجذري بالماء المقطر المعقم للتخلص من بقايا الوسط الغذائي العالق به ، ووضعت في انبوبة زجاجية تحتوي على ماء مقطر معقم فقط بحيث يغطي الماء ثلثي المجموع الجذري مع تغطية الفوهة العليا للانبوبة بورق الألمنيوم وتركت لمدة اسبوعان في غرفة النمو لغرض تشجيع النمو الجذري واعتماد النبات على صنع الغذاء بنفسه مع تبديل الماء المقطر الذي في داخل الانبوبة كل 2-3 أيام. ثم زرعت النبيتات في أوعية فلينية قطر 5 سم تحتوي على خليط من الزميج مع البيتموس بنسبة 1:1 وتم اروائها حتى الاشباع ثم رشت هذه النبيتات برذاذ على نموها الخضري بواسطة مرشة ماء ثم غطيت بأغطية زجاجية ووضعت في غرفة النمو تحت 16 ساعة ضوء 8 ساعات ظلام وشدة اضاءة 1000 لوكس ودرجة حرارة 27±2 م°. درس تأثير BA وkinetin في عدد الأفرع الخضرية المتكونة زراعة طرف خضري واحد ومعدل طول الفرع الخضري(سم). وتأثير IBA في النسبة المئوية للتجذير وعدد الجذور/نبيت ومعدل طول الجذر (سم). تم تصميم التجارب باستعمال التصميم العشوائي الكامل وحللت النتائج احصائياً باستخدام تحليل التباين وقورن بين متوسطات المعاملات باختبار أقل فرق معنوي المعدل (8).

النتائج والمناقشة

تأثير مستويات مختلفة من البنزيل أدنين في تضاعف أطراف الأفرع الخضرية

توضح النتائج من الجدول (1) الأثر المعنوي للبنزيل أدنين في معدل عدد الافرع الخضرية الناتجة من تضاعف أطراف الأفرع. فقد تفوق المستويان 2.0 و2.5 ملغم/لتر BA مع وجود NAA بتركيز 0.2 ملغم/لتر من خلال تحقيقهما أعلى معدل لعدد الأفرع الخضرية 23.00 و21.67 فرعاً بالتتابع. ويعود السبب في ذلك الى دور السايتوكاينينات المهم وخاصة البنزيل أدنين في تشجيع النمو الخضري عن طريق تحفيز انقسام الخلايا وتمايزها واستقطاب المغذيات الى الأجزاء النباتية المعاملة بها (18) أو إلى دور السايتوكاينينات في إعاقة هدم البروتين والكلوروفيل فضلاً عن تحفيزه لانزيمات

البناء الضوئي والذي تنعكس اثاره في زيادة حجم الخلية وتشجيع عملية الانقسام والتمايز الشكلي خاصة عندما تصل حالة التوازن المثالية بين ما أضيف منه إلى الوسط الغذائي مع ما وجود في الجزء النباتي (5) أو دورها في زيادة بناء RNA والبروتينات والانزيمات داخل الخلية (9).

جدول 1. تأثير مستويات مختلفة من البنزيل أدنين في تضاعف الأفرع الخضرية الناتجة من زراعة أطراف الأفرع (بعد ثمانية أسابيع من الزراعة)

BA mg/L	فرع /طرف فرع	طول النمو (سم)
0.5	9.67	4.33
1.0	14.67	1.50
1.5	15.67	1.17
2.0	23.00	0.83
2.5	21.67	0.67
أ. ف. م. 5 %	2.45	1.23

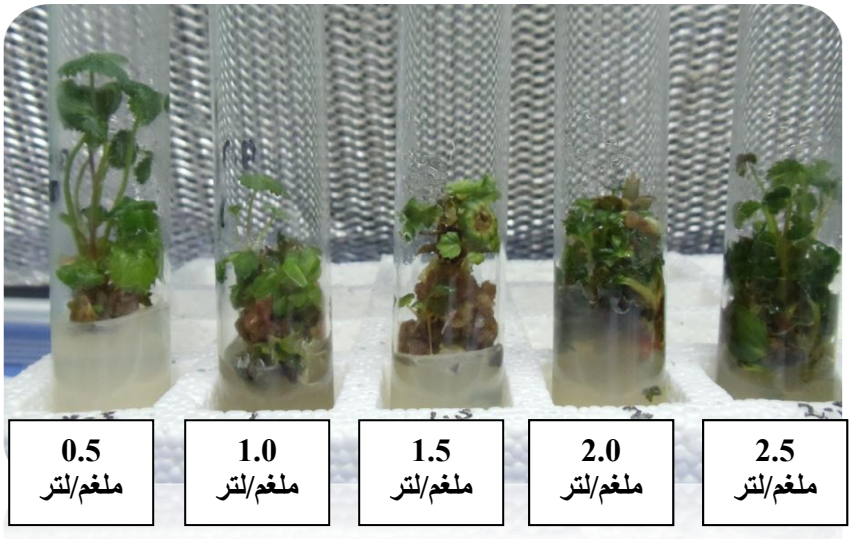
اتفقت نتائج هذه الدراسة مع نتائج دراسات عديدة عند اكثارهم نبات الشليك خارج الجسم الحي (25، 6، 4). بينما أعطى المستوى 0.5 ملغم/لتر BA مع وجود NAA بتركيز 0.2 ملغم/لتر أقل معدل لعدد الأفرع الخضرية بلغ 9.67 أفرع خضرية أتفقت نتائج هذه الدراسة مع نتائج دراسات اخرى وعلى أصناف أخرى من نبات الشليك (12 و 26). كما تبين النتائج من الجدول نفسه أن أطراف الأفرع المزروعة في الوسط الغذائي MS المجهز بالمستوى 0.5 ملغم/لتر BA قد حقق أعلى معدل لطول النمو الخضري بلغ 4.33 سم والذي تفوق معنوياً على باقي المستويات. في حين أن المستوى 2.5 ملغم/لتر BA قد أعطى أقل معدل لطول النمو الخضري بلغ 0.67 سم. وقد يعود السبب في ذلك الى زيادة عدد الافرع الخضرية الناتجة من التضاعف في الوسط الغذائي المجهز بـ 2.5 ملغم/لتر BA والتي تتنافس على كمية محدودة من الغذاء الجاهز المتوفر في الوسط الغذائي مما سبب انخفاض في طول النموات الخضرية السايتوكاينينات في الوسط الغذائي أدى الى التقليل من دور الاوكسين الداخلي المسؤول عن استطالة الخلايا باتجاه المحور الطولي وبالتالي تقليل طول الأفرع الخضرية والعكس صحيح يقابلها انخفاض في معدل أطوال الأفرع . تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل اليه العديد من الباحثين على نبات الشليك (32) إذ أن الزيادة في عدد الأفرع للجزء النباتي المزروع (39، 17). على العكس من الوسط الغذائي المجهز بـ 0.5 ملغم/لتر الذي أعطى أطول نموات خضرية ناتجة من التضاعف نتيجة لقلة عدد الافرع المتكونة وبالتالي لا يسبب ذلك تنافس عالي فيما بينها على الغذاء أو قد يعود السبب إلى أن زيادة تركيز السايتوكاينينات في الوسط الغذائي أدى الى التقليل من دور الاوكسين الداخلي المسؤول عن استطالة الخلايا باتجاه المحور الطولي وبالتالي تقليل طول الأفرع الخضرية والعكس صحيح (32) إذ أن الزيادة في عدد الأفرع للجزء النباتي المزروع يقابلها انخفاض في معدل أطوال الأفرع . تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل اليه العديد من الباحثين على نبات الشليك (39، 17).

كما يوضح الشكل (1) ضمور الأوراق داخل الوسط الغذائي MS المزود بتركيزي 2 و 2.5 ملغم/لتر نتيجة لتزاحم الأفرع الخضرية الناتجة من التضاعف مع حدوث تشوهات بنمو الأوراق لنفس التركيزين، وهذه النتيجة أتفقت مع ما أشارت اليه دراسة حول ظهور تشوهات على أوراق أفرع نبات الكارديني *Gardenia jasminoides* صنف Veitchii الناتجة من التضاعف والنامية بالتراكيز العالية من BA 1.5 و 2 ملغم/لتر (1).

تأثير مستويات مختلفة من الكاينتين في تضاعف أطراف الأفرع الخضرية

يبين الجدول (2) ، أن المستوى المنخفض من الكانتين (0.5 ملغم/لتر) في الوسط الغذائي MS الخاص بزراعة أطراف الافرع الخضرية خارج الجسم الحي قد نتج عنه أعلى معدل لعدد الافرع الخضرية الناتجة من التضاعف بلغ 8.33 أفرع وقد اختلف معنوياً هذا المستوى مع بقية المستويات المدروسة في عدد الأفرع الخضرية. بينما نتج عن المستويين 2.0 و 2.5 ملغم/لتر كاينتين أقل معدلين لعدد الافرع الخضرية الناتجة من التضاعف (2.33 و 3.00) أفرع بالتتابع وقد يعود السبب إلى التأثير الايجابي للتركيز الواطيء من الكاينتين في زيادة عدد الأفرع وأطوالها مقارنة بالتراكيز العالية منه على العكس من

تأثير البنزيل أدنين، لأن لكل منظم نمو تركيز فعال يختلف به عن بقية منظمات النمو سواء كان منخفضاً أو مرتفعاً كما أن للكاينتين دوره المهم في اعاقة هدم البروتين والكلوروفيل فضلاً عن تحفيزه لانزيمات البناء الضوئي والذي تنعكس اثاره في زيادة حجم الخلية وتشجيعه عملية إنقسام الخلايا والتمايز الشكلي لها خاصة عندما تصل مستويات ما أضيف منه الى الوسط الغذائي مع ما موجود منه في الجزء النباتي إلى حالة التوازن (5) . تتفق هذه النتيجة مع نتائج دراسة اكثار نبات الداوودي *Chrysanthemum morifolium* خارج الجسم الحي باستعمال أطراف الأفرع والعقد المفردة كاجزاء نباتية (21) ومع نتائج دراسة على اكثار نبات الشبوي *Cestrum nocturnum* L. نسيجياً باستعمال أطراف الأفرع (7). ومن الجدول (2) تدل النتائج على ان الكاينتين ليس له دور مهم في تضاعف عدد الافرع الخضرية في مرحلة التضاعف كما هو الحال بالنسبة الى البنزيل أدنين (جدول ، 1) وقد يعزى السبب إلى زيادة فعالية البنزيل أدنين في تكوين الأفرع مقارنة مع الكاينتين ، إذ يحتوي البنزيل أدنين على سلسلة جانبيه ذات ثلاث أواصر مزدوجة في حين يحوي الكاينتين على آصرتين مزدوجتين حيث تزداد فعالية السايتوكاينينات بزيادة الأواصر المزدوجة في سلسلتها الجانبية (23) وهذا يجعل البنزيل أدنين أكثر فعالية ونشاط في احداث التفرع (التضاعف) من الكاينتين. قد يعزى السبب في قلة عدد الأفرع الخضرية مع زيادة تركيز الكاينتين إلى أن التراكيز المنخفضة هي الفعالة (23).



شكل 1. تأثير مستويات BA مع تركيز ثابت من نفثالين حامض الخليك (0.2 ملغم/لتر) في تضاعف أطراف الأفرع لنبات الشليك بعد ثمانية أسابيع من الزراعة

جدول 2. تأثير مستويات مختلفة من الكاينتين في تضاعف الأفرع الخضرية الناتجة من زراعة أطراف الأفرع الخضرية لنبات الشليك

الكاينتين ملغم/لتر	فرع /طرف فرع	طول النمو (سم)
0.5	8.33	3.00
1.0	5.33	1.67
1.5	4.33	1.33
2.0	2.33	0.83
2.5	3.00	0.67
أ. ف. م. 5 %	1.592	0.865

اتفقت نتائج الدراسة مع نتائج دراسة على تضاعف نبات السدر خارج الجسم الحي عند زراعة أطراف الأفرع في الوسط الغذائي المعد للتضاعف (22). كما يلاحظ من الجدول (2) أن اضافة الكاينتين بمستوى 0.5 ملغم/لتر الى وسط التضاعف قد أعطى أعلى معدل لطول الأفرع الخضرية بلغ 3.00 سم والذي اختلف معنوياً مع بقية المستويات المدروسة. في حين نتج عن المستوى 2.5 ملغم/لتر كاينتين أقل معدل لطول النمو الخضري بلغ 0.67 سم (شكل 2).

أتفقت هذه النتائج مع النتائج التي أشار اليها (16) عند دراستهم على الاكثار الدقيق لنبات الفستق الحلبي *Pistacia vera* L. بتقانة التضاعف. إذ لاحظوا أن اضافة الكاينتين بمستوى 0.5 ملغم/لتر الى الوسط الغذائي المعد للتضاعف قد نتج عنه أعلى معدل لطول الأفرع الخضرية الذي بلغ 3.00 سم والذي اختلف معنوياً مع بقية المستويات المدروسة بينما نتج عن المستوى 2.5 ملغم/لتر كاينتين أقل معدل لطول النمو الخضري بلغ 0.67 سم. قد يعود السبب في ذلك إلى زيادة مستوى السايتوكاينين في الوسط الغذائي الذي بدوره سبب تقليل دور الاوكسين الداخلي المسؤول عن استطالة الخلايا بأتجاه المحور الطولي وبالتالي تقليل طول الفروع والعكس صحيح (32) أو إلى دور السايتوكانينات في زيادة عدد الأفرع بالتراكيز الواطئة والذي أنعكس على أطوالها (29).

تأثير مستويات مختلفة من أندول حامض البيوتريك IBA في تجذير الأفرع الخضرية الناتجة من التضاعف

تدل النتائج من الجدول (3)، أن الوسط الغذائي MS المجهز بـ IBA قد حفز تكوين الجذور في الافرع الخضرية الناتجة من التضاعف وقد أزداد عدد الجذور مع أطوالها بزيادة مستواه حتى المستوى واحد ملغم/لتر الذي حقق أعلى معدلين لعدد الجذور/نبيت وطول الجذر بلغا 11.7 جذر/نبيت و 9.3 سم بالتتابع (شكل 3). ويعود السبب في ذلك الى دور الاوكسينات وبضمنها IBA في تحفيز تكوين مبادئ الجذور

جدول 3. تأثير مستويات مختلفة من IBA في تجذير الأفرع الخضرية الناتجة من تضاعف أطراف الأفرع بعد ثمانية أسابيع من الزراعة

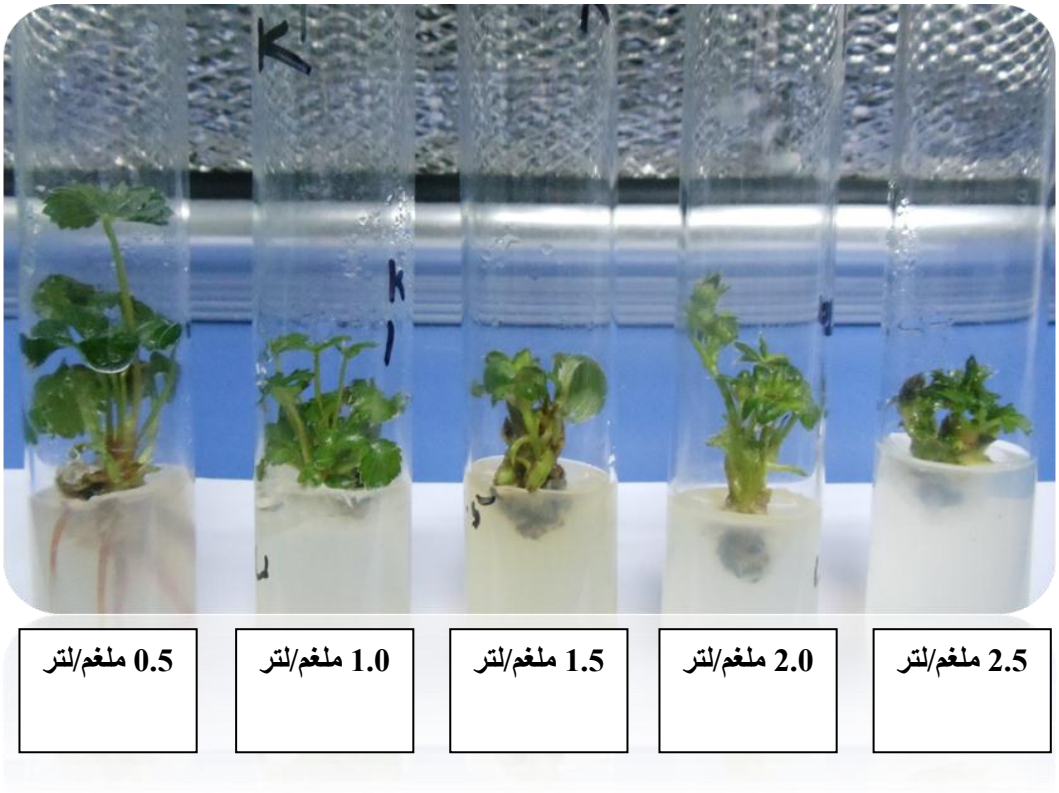
IBA mg/L	عدد الجذور/نبيت	طول الجذور (سم)	النسبة المئوية للتجذير (%)
صفر	2.0	5.3	40
0.2	5.7	6.0	80
0.5	4.0	4.3	80
1.0	11.7	9.3	100
1.5	3.0	3.8	60
أ. ف. م. 5 %	1.3	2.9	

وذلك من خلال تحفيز الدائرة المحيطة على انقسام الخلايا ونشوء الجذور العرضية (37). كما يبين الجدول أن المستوى العالي من IBA (1.5 ملغم/لتر) قد سبب نتيجة سلبية وهي انخفاض عدد الجذور / نبيت وطول الجذور واللذان بلغا 3.00 جذر/نبيت و 3.67 سم بالتتابع عند مقارنتها بالمعدلات الناتجة من المستوى 1.0 ملغم/لتر بصورة خاصة وبقية المستويات المدروسة بصورة عامة . وقد يعود السبب في ذلك الى أن المستوى الذي يزيد عن حدود التأثير قد يعطي نتيجة سلبية معاكسة لتأثيره. أتفقت نتائج هذه الدراسة مع دراسات أخرى على تجذير أفرع نبات الشليك الناتجة من التضاعف خارج الجسم الحي اذ لاحظوا تفوق المستوى 1.0 ملغم/لتر IBA (11، 14، 6). كما يبين الجدول (3) أن إضافة 1.0 ملغم/لتر من أندول حامض البيوتريك إلى الوسط الغذائي المعد لتجذير أفرع الشليك الناتجة من التضاعف حقق أعلى نسبة مئوية للتجذير (100%) بالمقارنة مع معاملة السيطرة التي نتج عنها أقل نسبة مئوية للتجذير بلغت 40%. وقد يعود السبب في ارتفاع النسبة المئوية للتجذير في معاملة 1.0 ملغم/لتر من أندول حامض البيوتريك الى كونه التركيز الأمثل لتجذير الأفرع الخضرية الناتجة من التضاعف وإلى فعالية الاوكسين (أندول حامض البيوتريك) في تشجيع التجذير من خلال تداخله مع مستويات الاوكسين الداخلية ، أما سبب انخفاض النسبة المئوية للتجذير في الوسط الغذائي الخالي من منظمات النمو هو عدم وجود التركيز الملائم من الاوكسينات الكافي لدفع الخلايا باتجاه الاستطالة والنمو الى بادئات الجذور (31) . تتفق هذه النتائج مع نتائج دراسات أخرى في تجذير الأفرع الخضرية الناتجة من التضاعف لنبات الشليك خارج الجسم الحي (6 ، 3).

أقلمة النبيتات

بينت نتائج تجربة الأقلمة أن اجراء عملية التقسية لنبيتات الشليك صنف Albion عن طريق إخراجها من أنابيب الزراعة بعد تكون مجموع جذري كافٍ وغسلها بالماء الجاري عدة مرات للتخلص من بقايا الوسط الغذائي ومن ثم وضعها في بيكرات زجاجية تحتوي على ماء مقطر يغمر ثلثي

مجموعها الجذري لمدة أسبوعان مع تبديل الماء كل 2-3 أيام (شكل ، 4) لـه دور كبير في تنشيط نمو الجذور وتطورها وتفرعها فضلاً عن افساح المجال للنبيتات بالاعتماد على نفسها في صنع الغذاء لغرض تحولها من التغذية الرمية الى التغذية الذاتية وهذا ما أشار اليه عدد من الباحثين من خلال توصياتهم بضرورة تقسية النبيتات الناتجة من زراعة الأنسجة بغمر جذورها بالماء لمدة معينة قبل زراعتها في الأوساط الزراعية المعدة للاقلمة (27 ، 35 ، 36) . كما بينت تجربة الأقلمة ضرورة تغطية النبيتات المؤقلة بأغطية زجاجية أو بلاستيكية بعد زراعتها في أوعية بلاستيكية (شكل 5) للحفاظ على الرطوبة الجوية الكافية التي تحيط بالنبيت داخل حيز الغطاء الزجاجي أو البلاستيكي في المراحل الأولى من الأقلمة بسبب عدم وجود الطبقة الشمعية Cuticle على أوراقها التي تحد من تبخر الماء منها وبالتالي تمنع عملية التغطية من تعرضها للجفاف وهذا ما أشار اليه (2) ثم يرفع الغطاء تدريجياً مع تقدم عمر النبيتات المؤقلمة (شكل 6). يوضح الجدول (4) معدلي عدد الأوراق / نبيت وارتفاع نبيتات الشليك صنف Albion الناتجة من التضاعف عند أقلمتها في غرفة النمو تحت ظروف 16 ساعة ضوء و 8 ساعات ظلام وشدة اضاءة 1000 لوكس ودرجة حرارة 27 ± 2 °م . يبين هذا الجدول زيادة معدلي عدد الأوراق/نبيت وارتفاع النبيت مع زيادة عمر النبيتات المؤقلمة ووصلت الى أعلى معدل لها بعد مرور 18 أسبوعاً من أقلمتها بلغ 13.60 ورقة/نبيت و14.22 سم بالتتابع . أن هذه النتائج تؤيد نجاح الأقلمة من خلال استمرارها بالنمو ممثلاً بزيادة عدد الاوراق وارتفاع النبات (جدول 4) وزيادة مساحة الورقة (شكل 7).



شكل 2. تأثير مستويات مختلفة من الكاينتين Kinetin مع تركيز ثابت من نفثالين حامض الخليك 0.2 ملغم/لتر في تضاعف أطراف الأفرع الخضرية

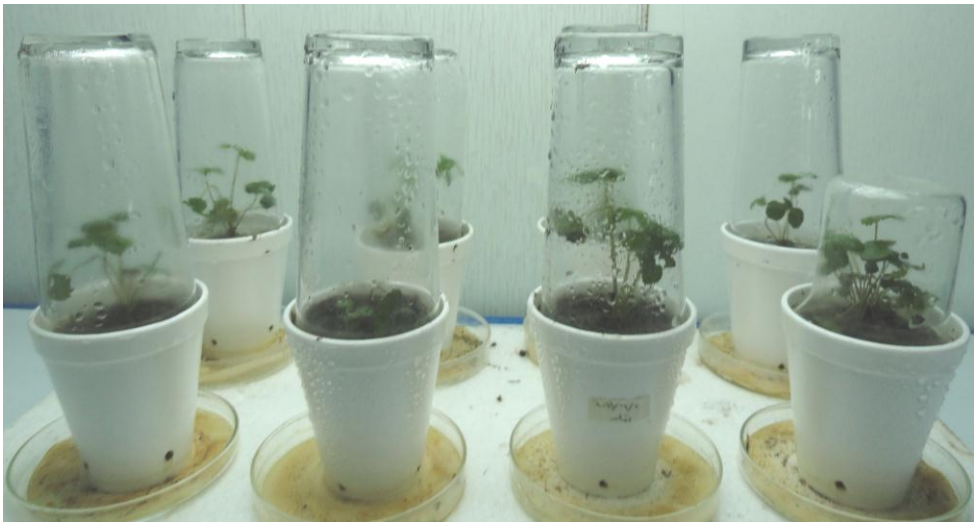
شكل 3. تأثير مستويات من IBA في تجذير الأفرع الخضرية الناتجة من التضاعف لنبات الشليك .

الجدول 4. معدلي عدد الأوراق/نبيت وارتفاع النبات (سم) للنبيتات المؤقلمة الناتجة من تضاعف أطراف الأفرع لنبات الشليك

عمر النبيتات المؤقلمة بالأسابيع	عدد الأوراق/نبيت	إرتفاع النبيت (سم)
3	5.2	4.4
6	6.2	5.3
9	7.4	7.3
12	9.2	12.9
15	10.8	13.9
18	13.6	14.2
أ. ف. م. 5 %	1.1	1.4

كما تشير تجربة أقلمة نبيتات الشليك الناتجة من تضاعف أطراف الأفرع الخضرية إلى نسبة نجاح عالية بلغت 100 % إذ وصلت بعد مرور أربعة أشهر من أقلمتها إلى مرحلة الإزهار والإثمار (شكل 8) .

شكل 4. مرحلة تقسية نبيتات الشليك قبل مرحلة الأقلمة



شكل 5. تغطية نبيتات الشليك بعد أقلمتها مباشرة .

شكل 6. رفع الأغطية عن نبيتات الشليك بعد ثلاثة أسابيع من أقلمتها .

شكل 7. ورقة نبيت الشليك بعد ستة أسابيع (أ) وبعد 18 أسبوعاً (ب)من أقلمتها.

شكل 8. نباتات الشليك في مرحلة الإزهار والإثمار بعد 36 أسبوعاً من أقلمتها .

المصادر

1.Abdulla, G. R.; Al-Khatib, A. and M. S. Ali, 2003. Effect of growth regulators (BAP and IAA) on a vegetative micropropagation of Cape jasmine plant (*Gardenia jasminoides* cv. Veitchii) using tissue culture techniques. Scient. J. King Fais. Univ., 8(1): 35-40.

2.Abo-El-Nil, M. 1986 . Refining methods of dates palm microprapagation. 2nd Symp. on Date Palm . KFV. Saudi Arabia, (1) :29-41.

3.Al-Ahbabi, A. J. A. 2006. The response of strawberry explant (*F. ananassa* Duch. cv. Hapil) taken from plants treated with iron, gibberellin and mixture of nutrients *in vitro* culture. Ph. D. Thesis, College of Agriculture, University of Baghdad, Iraq. 220 pp.

4.Al-Biski, F. and R. Bayerly, 2010. *In vitro* micropropagation of strawberry (*Fragaria*. spp. cv. Oso grand). J. Dim. Univ. Agric. Sci., 26(2): 77-95.

5.Al-Byati, Y. A. 2002. A comparative study of behavioral chrysanthemum plant (*Chrysanthemum morifolium* var. Moon Light Spoon) propagated by tissue culture and traditional methods. Ph. D. Thesis. College of Agriculture and Forestry, University of Mosul, Iraq. 256 pp.

6.Al-Byati, D. A. I. 2005. A propagation of two varieties of strawberry plant (*F. ananassa*) *in vitro*. M. Sc. Thesis. College of Agriculture, University of Baghdad, Iraq. 150 pp.

7.Al-Mazori, L. S. M. 2007. A propagation of plant (*Cestum nocturum* L.) by tissue culture technique. M. Sc. Thesis. College of Agriculture, University of Mosul, Iraq. 144 pp.

8.Al-Rawi, K. M. and A. Khalaf Allah, 1980. Design and Analysis of Agricultural Experiments. Ministry of Higher Education and Scientific Research, Dar Al-Kuteb for Printing and Publishing, University of Mosul, Iraq. 488 pp.

9.Al-Rufaai, A. T. and S. A. Al-Shobaki, 2002. Twenty-First Century Techniques to Improve Plant using Tissue Culture. Dar Al-Fiker Al-Arabi for Printing and Puplishing. 1st Ed., Cairo, Egypt. 316pp.

10.Alsaidi, I. H. 2000. Small Fruits Production. Ministry of Higher Education and Scientific Research, Dar Al-Kuteb for Printing and Publishing, University of Mosul, Iraq. 304 pp.

11.Badawi, M. A., M. Alphonse; A. Z. Bondok and Y.A. Hosni, 1990. Propagation of some strawberry cultivars by means of tissue culture technique-Egypt. J. Hort., 17 (1): 9-16.

12.Bustos, O. and M. Alejandra, 1993. Morphological description , multiplication and *in vitro* conservation of four native ecotype of

strawberry (*F. chiloensis*) and one hybrid (Selva). Santiago (Chile), 76 .
13.Debnath, S. C.; J. A. Teixeira and D. A. Silva. 2007. Strawberry culture in Vitro: applications in genetic transformation and biotechnology. In: Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology.Global Science Books. P: 1-12.
14.Devy, N. F. and A. F. Hardiyanto.1997. *In vitro* propagation of strawberry plants (*Fragaria x ananassa* Duch.). Proc. Indon. Biotech. Confer., 2 : 227-236.
15.Dickerson, G. W. 2004 . Home Garden Strawberry Production in New Mexico. Bringing Science to Your Life . Gide H-324.
16.Hameed, M. K.; Salman, M. A. and Aumar, M. S. 2001. A propagation of pistachio plant (*Pistacia vera* L.) by tissue culture.I- Plant generation and vegetative multiplication. Iraqi J. Agric. Sci., 32(5): 63-70.
17.Hansan, M. N., S. Nigar ; M. A. K. Rabbi; S. B. Mizan and M. S. .Rahman. 2010 Micropagation of strawberry (*Fragaria×ananassa*.Duch) Int. *J.* Sustain. Crop Prod., 5(4):36-41.
18.Hartmann, H. T., D. E. Kester, F. T. Davies and R. L. Geneve. 1997. Plant Propagation and Practices. 6th ed. International Editions Inc.
19.Hu, C. Y. and P. J. Wang. 1983. Meristem shoot tip and bud culture. In: Evavs D.A.; Sharp W.R. ; Ammirato P.V. and Yamada Y. (Eds.) . Handbook of Plant Tissue Culture. Vol. I. Mac Millan, New York, pp.177-227.
20.Karhu, S. and K. Hakala. 2002. Micropropagated strawberries on the field. ISHS Acta Hort., 2-182.
21.Karim, M. Z. ; M. N. Amin ; M. A. K. Azad ; F. Begum ; M. M. Rahman ; M. M. Islam and R. Alam 2003. Effects of different plant growth regulators on *in vitro* shoot multiplication of *Chrysanthemum morifolium*. On line J. of Biological Sciences. 3(6): 553–560 .
22.Khir-Allah, H. S. 1997. The vegetative propagation of jujube (ber) trees by tissue culture technique. M. Sc. Thesis. College of Agriculture, University of Baghdad, Iraq.
23.Krishnamoorthy, H. N. 1981. Plant Growth Substances Including Application in Agriculture . Tata McGraw Hill ,New Delhi P:214.
24-Larson, R. A. 1988. The antioxidants of higher plants.J. Phytochemistry , 27: 969-978.
25.Liu, Z. R. and J. C. Sanford.1988. Plant regeneration by organogenesis from strawberry leaf and runner tissues. Hort. Sci., 23(6) : 1057-1059.
26.Malodobry,M; E. Dziedzic and W. Lech.1997.Shoot culture of strawberry cv. Syiusz. Folia-Horticulture (Poland). 9(1) : 105-112.
27.Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue culture. Ann, Rev. Plant Physiol., 25: 135-166 .
28.Passey, A. J.; K. J. Barrett and D. J. James.2003. Adventitious shoot regeneration from seven commercial strawberry cultivars (*F. ananassa* Duch.) using a range of explant types. Plant Cell Reports. 21: 397-401.
29.Rahif, A. H.; Bader, S. M.; Hussein, W. I. and M. A. Hassan, 2000. The mass propagation of apple stock "MM 106" by tissue culture. Iraqi Agric. J., 5(3): 200-201.
30.Sakila, S.; M .B. Ahmed; U. K. Roy ; M. K. Biswas; R. Karim ; M. A. Razfy; M. Hossain; R. Islam and A. Hoque. 2007. Micropropagation of strawberry (*F. ananassa* Duch) a newly itroduced crop in Bangladesh. Amer.- Euras. J. Sci. Res.2(2): 151-154.
31.Salman, M.A. 1988. Principles of Cells and Tissue Culture. Dar Al-Kuteb for Printing and Publishing. College of Agriculture, University of Baghdad, Iraq.
32.Salman, M.A. and F. M. Al-Dabagh, 2000. A vegetative propagation of Loquat trees (*Eriobotrya japonica* Lindle.) using tissue culture technique. Iraqi Agric. J., 5(3): 141-150.
33.Samrah, B. S.; Zahwi, N. and G. Nassor, 2005. Effect of vertical culture method on growth and production of strawberry plant (*F. grandiflora*) planted in organic medium in plastic greenhouse. Tishreen Univ. J. Res. Scient. Sts., Biological Sciences Series, 27(1): 1-8.
34.Singh, A. K. and S. N. Pandey. 2004. Genotypic variation among strawberry cultivars

for shoot organogenesis. Acta Horticulturae,662 : 277-280.

35.Tisserat, B. 1981. Date palm tissue culture. Adv. Agric Tech. Reg. Ser., 17, USDA, ARS. pp. 1-50.

36.Tisserat, B. And A. Zaid.1983. *In vitro* shoot-tip differentiation in *Phoenix dactylifera* L. Date Plam J., 2(2):163-182.

37.Tran Thanh K. Van, 1981. Control of morphogenesis *in vitro* culture. Ann. Rev. Plant Physiol., 32 : 291-311.

38.Wang, H. ; G. Cao and R.L. Prior. 1996. Total antioxidant capacity of fruits. J. Agric. Food Chem., 44 : 701-705.

39.Ying K. O.; Chien, A. M. Al-Abdulkarim ; S. M. Al-Jowid and A. Al-Baiz, 2009. An effective disinfection protocol for plant regeneration from shoot tip cultures of strawberry .Afric. J. Biotech., 8(11):2611-2615 .

40.Zhao, Y. 2007. Berry Fruits: Value-added Products for Health Promotion. CRS Press, New York, USA , pp: 262-284.