مجلة زراعة الرافدين المجلد (٣٣) العدد(٢)
٢٠٠٥

الإكثار الخضري لأصل الكمثرى *Pyrus communis* L. بالزراعة النسيجية للقمم النامية

هناء سعيد الصالح* طلال محمود الجلبي مبشر صالح عمر
قسم علوم الحياة – كلية العلوم كلية الزراعة وزارة العلوم والتكنولوجيا/العراق
جامعة الموصل/العراق جامعة عمر المختار/ليبيا

الخلاصة

تضمنت الدراسة اكثار أصل الكمثرى *Pyrus communis* L. باستخدام تقنيات الزراعة النسيجية . ووجد ان افضل التراكيز المشجعة للتضاعف الخضري هو ١٠ ملغم / لتر BA و ١,٠ملغم / لتر IBA ،واستخدم وسط MS بتراكيز مختلفة من الاملاح مضافاً اليه تراكيز مختلفة من IBA او IAA لبيان افضلها في تشجيع تكوين ونمو الجذور واوضحت النتائج ان اضافة ١٠ ملغم / لتر من IAA الى وسط MS الحاوي على١/٤ التركيز من الاملاح كان مشجعاً لنشوء ونمو الجذور. وبينت الدراسة انه بالامكان الحصول على اكثر من ٦٠مليون نبات من اصل قطعة نباتية واحدة بعد مرور سنة على بدء الزراعة ، وهذه النباتات يمكن نقلها الى اوساط التجذير في مزارع معقمة ومن ثم الى التربة في البيت الزجاجي وبعد ذلك تنقل الى الحقل.

المقدمة

اخذ استخدام تقانات زراعة الانسجة النباتية في مجال الاكثار الخضري للنباتات الخشبية اهتماماً واسعاً خلال السنوات الاخيرة(محمد والصالح،١٩٩٦). وبالرغم من ذلك فإن الاكثار الناجح للاشجار الى زمن قريب كان مقتصراً على انواع قليلة (Mott ،١٩٨١وAl-Chalabi، ١٩٨٤) فكانت اولى المحاولات في استخدام زراعة الانسجة النباتية في الثلاثينات ولم تحقق نجاحاً حيث تم استحداث الكالس فقط (Mottو Zimmerman ، ١٩٧٧). وتوالت الدراسات بعد ذلك من اجل تحقيق النجاح في الاكثار الخضري للاشجار باستخدام هذه التقنيات.

وتعود الخطوات الاولى للاكثار الخضري الناجح لنبات الكمثرى باستخدام زراعة الانسجة النباتية الى سنة ١٩٧٩ حيث تم اكثار اصول الكمثرى باستخدام القمم النامية للنبات (Cheung ، ١٩٧٩).

ان اكثار الاشجار خضرياً بالزراعة النسيجية يعتمد فيها أخذ القمم النامية او قطع نباتية حاوية على عقدة واحدة على الاقل، ويتم زراعتها على اوساط غذائية ملائمة وتحضينها في حاضنات بشدة اضاءة عالية ودرجة حرارة ملائمة تتراوح ما بين ٢٢-٢٨ْم اعتماداً على الانواع المزروعة (Wilkins وDodds، ١٩٨٢ و Hartman وKester، ٢٠٠٢) ويمكن القول ان اصعب الخطوات في برامج الاكثار الخضري للاشجار باستخدام زراعة الانسجة النباتية ،هي مرحلة نشوء الجذور من الافرع الخضرية في المزارع المعقمة.وقد استخدمت الاوكسينات في تحفيز نشوء ونمو الجذور وكذلك في زيادة اطوال الجذور المتكونة (Scott، ١٩٧٢ وStreet، ١٩٧٧ وDodds، ١٩٨٣). أما دور السايتوكاينيات في تحفيز نشوء ونمو الجذور فيبدو غير واضح(Miller، ١٩٦١ و Skoog وArmstrong، ١٩٧٠).عموماً يمكن القول أن زراعة الانسجة النباتية توفر فرصة لتقليل الوقت اللازم في اكثار الاشجار خضرياً والحصول على اعدا كبيرة جداً من النباتات المشابهة للنبات الاصل (Murashige، ١٩٧٤ و Pierik، ١٩٨٧)

وتهدف هذه الدراسة الى اكثار اصول الكمثرى *Pyrus communis* L. خضرياً باستخدام زراعة الانسجة النباتية حيث يمكن الحصول على اعداد كبيرة من النباتات المشابهة للنبات الاصل في فترة زمنية قياسية.

مواد وطرق البحث

١-نشوء وتضاعف الافرع الخضرية: استخدمت القمم النامية لنباتات الكمثرى *Pyrus communis* L. وبطول ١ سم، حيث تم غسلها بالماء الاعتيادي ومن ثم تعقيمها بغمرها بالكحول الاثيلي٩٦ % لمدة دقيقتين، بعد ذلك نقلت الى محلول هايبوكلورات الصوديوم التجاري بتركيز٦% والمخفف بالماء المقطرللحصول على تركيز ١٠% ، غمرت القطع لمدة ١٥ دقيقة مع التحريك المستمر.ثم غسلت

بالماء المقطر والمعقم خمس مرات. نقلت القمم النامية المعقمة الى وسط MSالصلب (Murashige وSkoog ،١٩٦٢) المضاف له تراكيز مختلفة من BA لتحفيز نشوء الافرع الخضرية. حضنت الزروعات في حاضنة النمو بشدة اضاءة ٢٠٠٠ لوكس لمدة ١٦ ساعة يومياً وبدرجة حرارة ٢٧± ْ م. بعد اكتمال نمو الافرع الخضرية (بعد مرور شهرين على بدء الزراعة) تم

تاريخ تسلم البحث ٨ / ٣ /٢٠٠٥ وقبوله ١٥ /٦/ ٢٠٠٥

تقطيعها ونقلها الى وسط MS مضافاً له تراكيز مختلفةمن BA هي (صفرو١.٠ و٢.٥ و٥.٠ و١٠.٠ و١٥.٠) ملغم / لتر و IBA بتركيز(١.٠ و١٠.٠) ملغم / لتر لبيان افضلها في تشجيع التضاعف الخضري .

٢-تجذير الأفرع الخضرية:أخذت الأفرع النامية على افضل وسط للتضاعف الخضري ونقلت الوسط MS بتراكيز املاح هي التركيز الكامل و ١/٢ التركيز ١/٤ التركيز مضافاً لها منظمات النمو من الاوكسينات ،حيث تم استخدام كل من IAA و IBA بتركيز (صفر و١.٠ و٢.٥ و٥.٠ و١٠) ملغم / لتر،كل منهم على إنفراد لبيان تأثيرها في نشوء ونمو الجذور. وبعد اكتمال تكون ونمو الجذور، نقلت النباتات الى أصص صغيرة حاوية على خليط من الرمل والبتموس ووضعت الأصص في حاضنة النمو بالظروف نفسها المشار اليها مسبقاً (الفقرة ١) . وتم تغطيتها باغطية بلاستيكية لمدة اسبوعين. نقلت النباتات بعد ذلك الى البيت الزجاجي لغرض الاقلمة. وتضمن خليط الزراعة (التربة) للاقلمة النسب التالية : ٢ حجم رمل بناء ناعم، ١ حجم رمل حديقة، ١ حجم بتموس. بعد مزج التربة جيداً وغربلتها تم تعبئتها في أصص بلاستيكية صغيرة قطرها 5 سم لتكون جاهزة لزراعة الشتلات الصغيرة المنقولة من الاوساط المعقمة. واختيرت الشتلات المكونة للجذور جيداً. وغسلت من مخلفات الاكار بعدها زرعت بعناية وتم رشها بالماء وبعد مرور يوم واحد على الزراعة تم رش النباتات بمحلول مخفف من المبيدات الفطرية تجنباً لحصول اصابة فطرية للمجموع الجذري أو أي جزء آخر. نقلت الأصص بعد ذلك الى حاضنة النمو وتم تغطيتها باغطية بلاستيكية لتوفير الرطوبة وبعد مرور اسبوعين رفعت الاغطية البلاستيكية وتركت النباتات في حاضنة النمو لمدة اسبوعين آخرين ثم نقلت الأصص بعد ذلك الى البيت الزجاجي حيث تم غرس النباتات في احواض معدة لهذا الغرض.

النتائج والمناقشة

١-التضاعف الخضري: اشارت النتائج الى ان اضافة١٠ ملغم/لترBA مع IBA ١.٠ ملغم / لتر الى وسط MS الصلب هي افضل التراكيز في تحفيز تكوين ونمو الافرع الخضرية. حيث تم الحصول على ما يقارب من ٢٢ فرع خضري بطول ٢٠ ملم من قطعة نباتية واحدة في فترة زمنية هي اربعة اسابيع(الجدول ١). والافرع الخضرية المتكونة على هذه الاوساط ذات نمو جيد واوراق متكاملة التكوين(الصورة ١). ان المحاولات الناجحة لاكثار الاشجار تعتبر محدودة،ويعود ذلك الى الصعوبات التي تواجه برامج الاكثار منها افراز المواد الفينولية الى الوسط الغذائي والتي تؤثر على نمو القطع النباتية (Mott ،١٩٨١و Barghachi وAlderson، ١٩٨٣) كما ان صعوبة ملائمة الوسط الغذائي ونوع وتركيز منظمات النمو المستخدمة يعتبر عامل آخر يضاف الى العوامل المحددة للاكثار الخضري للاشجار خارج الجسم الحي (Pierik ،١٩٨٧ومحمد والصالح،١٩٩٦). وكما هو معروف ان نوع وتركيز منظمات النمو من الاوكسينات والسايتوكايتينات لها دور مهم جداً في تحفيز تكوين الافرع الخضرية في المزارع النسيجية(Hartmanو Kester،٢٠٠٢).كما اكدت الدراسات على دور BA في تحفيزه تكوين الأفرع الخضرية (Shen وMullins ،١٩٨٤وقصاب باشي، ١٩٩٨).

الجدول (١) : نشوء وتضاعف الافرع الخضرية من القمم النامية للكمثرى*Pyrus communis* باستخدام تراكيز مختلفة من BA وIBA بعد مرور شهر على بدء الزراعة.

تركيـــز BA	تركيز IBA ملغم / لتر	
	١.٠	١٠.٠

ملغم / لتر	*عدد الافرع الخضرية المتكونة/ قطعة	معدل طول الافرع الخضرية (mm)	*عدد الافرع الخضرية المتكونة/ قطعة	معدل طول الافرع الخضرية (mm)
صفر	٢	٢	--	--
١.٠	٢	٥	٢	٣
٢.٥	٥	١٠	٤	٣
٥.٠	١٠	١٠	٩	٩
١٠.٠	٢٢	٢٠	١٦	١٥
١٥.٠	١٥	١٥	٩	١٢

* :كل قيمة في الجدول تمثل معدل عشر مكررات،وكل مكرر ٢-٣ قطع نباتية

الصورة -١- التضاعف الخضري من القمم الناميةلأصل الكمثرى *Pyrus communis* النامية على وسط MSالصلب المضاف اليه ١٠ ملغم / لتر BA و١.٠ملغم / لتر IBA.

٢-تجذير الافرع الخضرية:بينت نتائج هذه الدراسة ان أفضل الاوكسينات المستخدمة لتحفيز نشوء الجذور العرضية من القمم النامية ،هو IAA بتركيز ١٠ ملغم / لتر عند اضافته الى وسط MS الصلب الحاوي على تركيز كامل من الاملاح حيث شجع نشوء الجذور في مدة زمنية قياسية ٦ ايام مقارنة مع التركيز نفسه من IBA الذي استغرق نشوء الجذور فيه ١٣ يوماً (الجدول ٢) وبلغت نسبة إستجابة النباتات ١٠٠% . اما باقي التراكيز المستخدمة من IAA فهي ايضاً مشجعة لتكوين الجذور ولكنها اقل مقارنة مع تركيز ١٠ ملغم / لتر (الجدول ٢). هذا وان تراكيز الاملاح في وسط MS كان لها تأثير واضح في تحفيز نشوء الجذور فعند استخدام التركيز الكامل من الاملاح كانت المدة الزمنية لنشوء الجذور اقل مقارنة مع٢/١ التركيز اما عند استخدام ٤/١ التركيز من الاملاح فان تكوين الجذور استغرق فترة زمنية اقل من التركيز ٢/١ (الجدول ٢).

الجدول(٢): المدة الزمنية (بالايام) اللازمة لنشوء الجذور من الافرع الخضرية لأصل الكمثرىالنامية على وسط MS الصلب المجهزبتراكيز مختلفة من الاملاح وتراكيز من IAAوIBA.

تركيز الاملاح	IAA ملغم/لتر				
	٠.٠	١.٠	٢.٥	٥.٠	١٠.٠
التركيز الكامل	---	*١٢	١٠	٧	٦
١/٢ التركيز	١٢	٩	٩	١١	١١
١/٤ التركيز	١٢	٨	٧	٧	٧
	IBA ملغم/لتر				
التركيز الكامل	١٠	١٢	١٢	١٣	١٣
١/٢ التركيز	**	**١٤	**١٥	**١٥	١٠
١/٤ التركيز	٨	٨	٩	١٢	١٢

**:تكوين الكالس *:كل قيمة تمثل معدل عشرة مكررات

ولوحظ زيادة نسبة الاستجابة مع زيادة تراكيز IAA المستخدمة وكانت العلاقة عكسية مع تراكيز الاملاح حيث ازدادت الاستجابة مع انخفاض تراكيز الاملاح ما عدا التركيز ١٠ ملغم / لتر من IAA فان النسبة المئوية للاستجابة كانت اكبر عند استخدام التركيز الكامل من الاملاح (الجدول٣) وبصورة عامة فان التراكيز المستخدمة من IAA شجعت تكوين الجذور على طول الافرع الخضرية المغمورة في الوسط الغذائي الصلب ،وكان عدد الجذور المتكونة اكثر واطوالها اكبر مما هي في حالة استخدام IBA (الجدول ٣) وعند استبدال IAA بـ IBA وبالتراكيز نفسها المذكورة سابقاً ففي جميع التراكيز المستخدمة كانت الفترة الزمنية لنشوء الجذور اطول حيث تراوحت ما بين ٨-١٣ يوماً (الجدول ٢). كما أن التراكيز المستخدمة منIBA كانت اقل تحفيزاً لتكوين ونمو الجذور مما في حالة IAA (الصورة ٢).ان اكثر الخطوات صعوبة في الاكثار الخضري هي مرحلة التجذير (Wilkins وDodds ،١٩٨٢) ولوحظ من نتائج هذه الدراسة ان استخدام IAA كان محفزاً لنشوء ونمو الجذور من الافرع الخضرية وبنسب متفاوتة للاستجابة ، اعتماداً على التراكيز المستخدمة. وكان افضلها هو التركيز ١٠ ملغم / لتر ،وباستخدام IBA كانت نسبة التحفيز لتكوين الجذور اقل مقارنة مع IAA (الصورة ٢) اضافة الى ان بعض التراكيز من IBA كانت محفزة لتكوين الكالس اكثر من تحفيزها لتكوين الجذور خاصة عند استخدام ١/٢ من الاملاح (الجدول ٣) ، ان الاوكسينات عموماً تحفز نشوء ونمو الجذور وان نسبة الاستجابة تتفاوت تبعاً لنوع وتركيز الاوكسين المستخدم. اضافة الى عوامل اخرى مثل ظروف الزراعة المستخدمة. وقد اشارت دراسات سابقة في هذا المجال الى ان الاوكسينات تعمل على تحفيز نشوء الجذور وزيادة اطوالها اضافة الى زيادة عددها (Scott،١٩٧٢). ان نتائج هذه الدراسة اكدت ان IAA كان له دور اكبر في تحفيز نشوء ونمو الجذور وزيادة عددها مقارنة بـ IBA وهذه تعد نتيجة مهمة في مجال الاكثار الخضري لأصل للكمثرى حيث ان اغلب الدراسات التي جرت على الاكثار الخضري لهذا النبات استخدم فيها IBA في عملية التجذير ومعظم هذه الدراسات لم تصل الاستجابة فيهاالى ١٠٠% (Lane،١٩٧٩).

الجدول(٣): تجذير فروع أصل الكمثرى بعد مرور ٢١ يوماً من بدء الزراعةعلىوسط MSالصلب المضاف اليه تراكيز مختلفة من IAAوIBA .

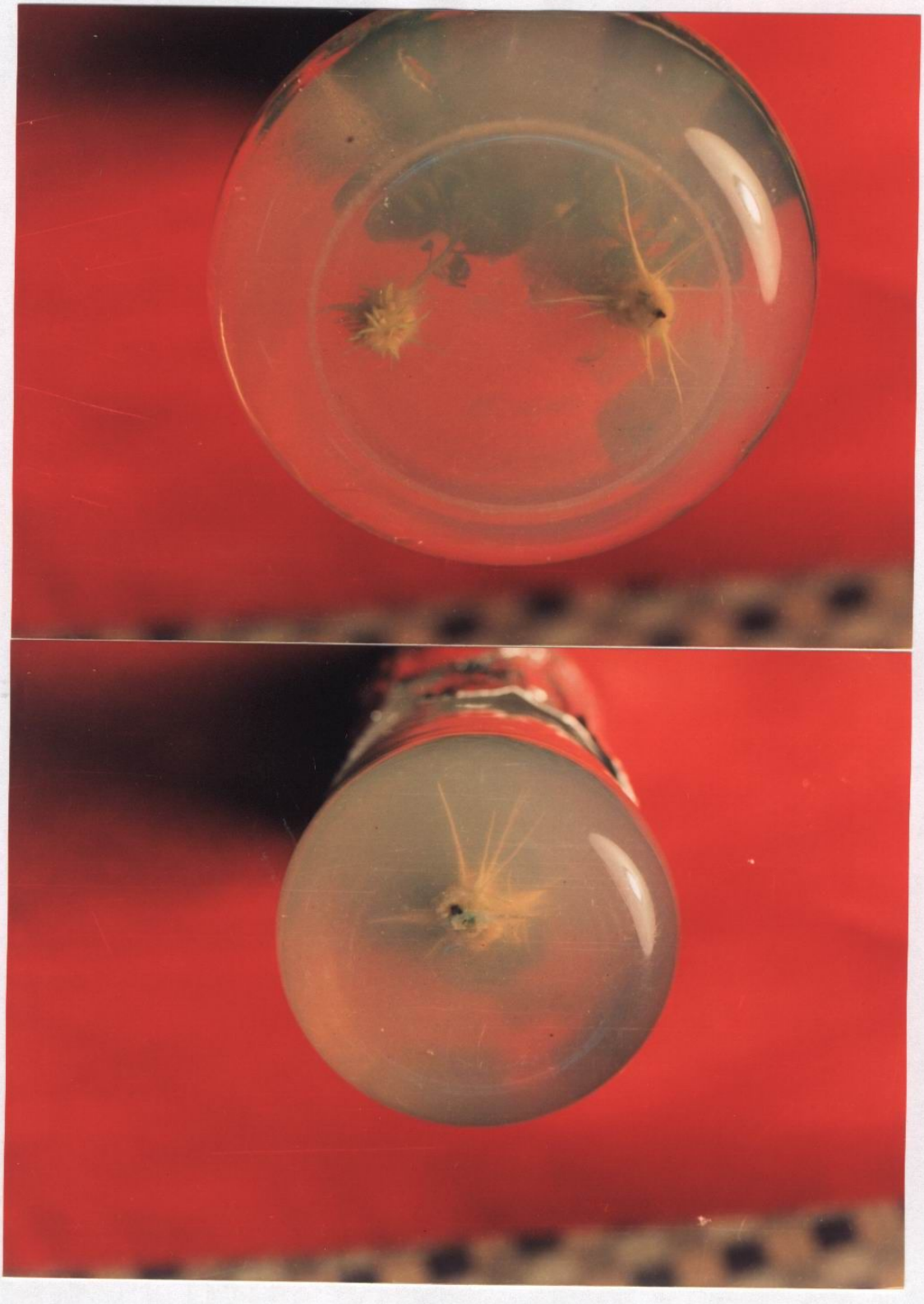
IAA ملغـــم / لتر	تركيز الأملاح								
	التركيز الكامل			١/٢لتركيز			١/٤لتركيز		
	% الاستجابة لنشـــوء الجذور	عـــدد الجـذور المتكونـة / نبات	معـــدل طـــول الجـذور mm	% الاستجابة لنشـــوء الجذور	عـــدد الجـذور المتكونـة / نبات	معـــدل طـــول الجـذور mm	% الاستجابة لنشـــوء الجذور	عـــدد الجـذور المتكونـة / نبات	معـــدل طـــول الجـذور mm
صفر	---	---	---	*١٦	٤	٢	١٢	٢	٣
١.٠	٢٣	٣	٣	٣٠	٤	٣	٣٣	٧	٥

٥	٨	٥٠	٦	٦	٣٢	٣	٤	٢٠	٢.٥
٧	٨	٨٠	٧	٦	٤٧	٥	٦	٤٧	٥.٠
١٠	١٢	٨٠	١٠	١٠	٦٦	١٠	١٥	١٠٠	١٠.٠
									IBA
٢	٢	١٢.٥	---	---	---	٣	١	١٠	صفر
٢	٣	٢٠	٣	٢	١٢	٣	٢	١٦	١.٠
٣	٤	٢٠	٣	٢	١٥	٣	٢	١٨	٢.٥
٣	٦	٢٥	٣	٥	٢٠	٣	٤	٣٠	٥.٠
٥	٨	٤٠	٥	٧	٤٥	٥	٧	٤٧	١٠.٠

*: كل قيمةفي الجدول تمثل معدل عشرة مكررات وكل مكرر ٢-٣قطع نباتية

٣. **نقل النباتات الى التربة:** نقلت النباتات النامية في وسط MS بعد اكتمال نمو الجذور الى التربة وتضمن خليط التربة النسب المبينة في الفقرة- ٢- من المواد وطرائق العمل، والنباتات المنقولة الى التربة كانت ذات نمو جيد. وبعد رفع الاغطية البلاستيكية نقلت النباتات الى البيت الزجاجي ولوحظ ان النباتات المنقولة استمرت بمعدل نمو جيد وكانت الاوراق متكاملة النمو (الصورة ٣)عد اقلمة الشتلات من العمليات الصعبة جداً في مشاريع زراعة الانسجة والخلايا النباتية ، حيث تعد مرحلة نقل وتطوير من الاوساط المعقمة الى الاوساط الخارجية (تربة

وتوابعها). وان العناية بخليط التربة والظروف البيئية المستخدمة خلال الاقلمة لها أثر كبير في نجاح هذه العملية(Pierek،١٩٨٧) ، اضافة الى متابعة رش النباتات بمبيدات فطرية لتجنب حصول اصابة فطرية عن طريق الجذور . ونباتات الكمثرى التي تم نقلها الى التربة كانت ذات نمو جيد ونسبة نجاح عالية .



الصورة -٣- نباتات الكمثرى بعد نقلها الى البيت الزجاجي.
أ- النباتات النامية في سنادين صغيرة.

ب- النباتات بعد نقلها الى احواض في البيت الزجاجي.

IN VITRO PROPAGATION OF PEAR ROOTSTOCK(*Pyrus communis L.*)BY TISSUE CULTUR OF SHOOT TIPS

Hana S Assaleh Talal M.Al-Chalabi Mubasshar S Omar
College of Science Cllege of Agric. Ministry of Science and
Mosul Univ., Iraq OmarAl-Mukhtar Unv., Technology,Iraq
Libya

ABSTRACT

Propagation of *Pyrus communis* L. rootstock by tissue culture methods using MS medium with different concentrations of growth regulators was examined. Experiments showed that BA and IBA at concentrations of 10 and 1.0 mg / L alternatively were most effective in vegetative multiplication. Different auxins (IAA , IBA) were added to MS medium with different salt strength. Results showed that addition of IAA at 10 mg / L, to MS medium with ¼ salt strength ,was most effective in root formation.This study showed that by using tissue culture methods and suitable growth regulators it is possible to obtain more than 60.000.000 plants from single segment in a year, these plants could be easily transfer to soil and grown in the field

المصادر

قصاب باشي ، بشار زكي (١٩٩٨) .الاكثار الخضري لنبات الداليا *Dahlia hybrid* بطريقة الزراعة النسيجية .اطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة والغابات ، جامعة الموصل ، العراق.

محمد ، عبد المطلب سيد وهناء سعيد الصالح (١٩٩٦). استحداث ونمو الكالس واخلاف الافرع الخضرية من المرستيم القمي لنبات الفستق *Pistacia vera*.مجلة علوم الرافدين٧ (١):١١ -٢٤.

Al – Chalabi, T. M. (1984). Studies of poinsettia (*Euphorbia spweies*) in tissue culture . PhD. Thesis, University College of WALES Aberystury Ph, U. K.

Barghchi ,M. and P. G. Alderson (1983) . *In Vitro* propagation of *Pistacia vera* L. from seedling tissues . J. Horti. Sci. , 58 (3) : 435 – 445.

Cheung , T. Y. (1979) . Micropropagation of clonal fruit tree rootstocks , Compact . Fruit Trees ., 12 : 127 – 137.

Dodds , J. H. (1983) . " Tissue Culture of Trees " Croom Helm Ltd. Provident House . Backenham– Avi publishing Company U. S. A.

Hartman ,H.T.and D.E Kester (2002)."Plant Propagation :Principles and Practices".Person education,Inc.USA.

Lane , W. D. (1979) . Regeneration of pear plants from shoot meristem tips . Plant Sci . Lett.,16 : 337 – 342.

Miller, C. O.(1961).
Kinetin and related compounds in plant growth. Ann. Rev. Plant Physiol., 12: 395-407.

Mott , R. L. , (1981) . Trees . In cloning Agriculturral plants via in vitro techniques , B. V. conger (Edt.) CRC press Inc. Florida.Mott, and R. H. Zimmerman (1981) . “Trees “– Round Table Summery , Enviro . Experi . Bot ., 21(314) : 415 – 420.

Murashige , T. (1974) .Plant propagation through tissue culture. Ann. Rev. Plant Physiol., 25 : 135 – 166.

Murashige, and F. Skoog (1962) . A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture . Plant Physiol., 5 : 475 – 497.

Pierik, R.L.M. (1987).”***In vitro*** culture of higher plants”. Martinus Nighoff Publishers. Canada.

Scott , T. K. (1972) Auxins and Roots . Ann. Rev. Plant Physiol., 23 : 235 – 258.

Shen , X. S. and M. G. Mullins (1984) . Propagation in vitro of Pear (*Pyrus communis*) cultivars .Williams Bon . chretien , Packams. Triumph and Beurre Bose , Sci.Horti., 23 : 51 – 57.

Skoog , F . and D. J. Armstrong (1970) . “Cytokinins” . Ann. Rev. Plant Physiol., 21 : 359 – 384.

Street, H. E. (1977). "Plant Tissue and Cell Culture " . BlackWell Scientific Publication, Oxford, London, Edinburgh, Melbourne.

Wilkins , C. P. and J. H. Dodds (1982) . Effect of Physical Support on Rooting of Prunus and Pyrus shoots in vitro . In Dodds , J. " Tissue Culture of Trees " . 1983 . Croom Helm Ltd. London.