تأثير بعض منظمات النمو النباتية في إكثار أصلي الحمضيات السكتان سترومیلو والترویر سترینج خارج الجسم الحي.

محمد عباس سلمان إسراء رفعت خيري

* قسم البستنة وهندسة الحدائق – كلية الزراعة – جامعة بغداد. Israa_sonic86@yahoo.com

المستخلص

نفذ البحث في مختبر الزراعة النسيجية التابع لقسم البستنة وهندسة الحدائق كلية الزراعة / جامعة بغداد للمدة من أيلول 2013 و لغاية آب 2014، لدراسة تاثيربعض منظمات النمو النباتية في إكثار أصلي الحمضيات السكتان سترومیلو ((*Citrus paradise* Macf x *Poncirus trifoliate* (L.)) والترویرسترینج (*Citrus sinensis* (L.) *Osb* x *Poncirus trifoliate* (L.) Raf) خارج الجسم الحي بزراعة العقد المفردة أو أطراف الأفرع باستخدام وسط MT في مرحلة النشوء ووسط MS في مرحلتي التضاعف والتجذير والمجهزه بتراكيز مختلفة من منظمات النمو بهدف زيادة عدد التفرعات واطوالها وتجذيرها ثم اقلمة النبيتات الناجحة.بينت النتائج في مرحلة نشوء الزروعات تفوقت العقد المفردة على أطراف الأفرع في النسبة المئوية للاستجابة،، وإن أفضل استجابه للعقد المفردة حصلت عند زراعتها في الوسط MT المجهز بـ 1.5 ملغم / لتر BA + 40 ملغم / لتر $AdSo_4$ + 0.2 ملغم / لتر IAA اذ بلغت 100 % ولكلا الاصلين. في مرحلة التضاعف أظهرت النتائج تفوق BA على 2ip اذ بلغ اعلى معدل لعدد الافرع عند زراعته في وسط MS وبتركيز 2 ملغم/لتر BA+0.2 ملغم/لترNAA 5.48 فرع/جزء نباتي. وفي مرحلة التجذير أظهرت النتائج إن وسط MS بقوة كاملة لتركيز الاملاح مضافا له 2 ملغم/لتر NAA كان ذا تأثير معنوي في تجذير الاصلين ، اذ اعطت هذه المعاملة اعلى نسبة تجذير ومعدل عدد الجذور بلغت90%،3.96 جذر على التوالي للسكتان و100%،4.14 جذر على التوالي للترویر. بلغت نسبة النبيتات المتأقلمة 90% و84 % لأصلي الترویر والسكتان على التوالي عند الزراعة في وسط زرعي مكون من 1:1 مزيج وبيتموس .

الكلمات المفتاحية: سكتان سترومیلو ، ترویر سترینج ، خارج الجسم الحي.

المقدمة

تضم العائلة السذبية Rutaceae 33 جنساً يقع تحتها 203 انواع مختلفة موطنها الأصلي مناطق المحيط الهندي وجنوب آسيا إذ تنمو معظم أنواع الحمضيات المنزرعة حالياً في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية الواقعة بين خطي عرض 40 درجة شمال وجنوب خط الاستواء (Paull وNakasone ، 1998). وتشمل العديد من الاجناس اهمها الجنس Poncirus، الجنس Fortunella والجنس Citrus الذي يعد اهم الاجناس من الناحية الاقتصادية، ولتسهيل دراسة الأنواع وحصر الأصناف التجارية المهمة بصورة مفصلة قسمت الأنواع إلى أربع مجاميع هي مجموعة البرتقال ومجموعة اليوسفي (اللالنكي) ومجموعة الكريب فروت وأخيراً المجموعة الحامضية (المنيسي ، 1975 ؛ Ohgawera واخرون ، 1997).

شهد القرن الماضي تطوراً تقنياً وعلمياً كبيرين كانت احد نتائجه التوصل الى تقنيات يمكن استعمالها في الاكثار الخضري الواسع لمعظم النباتات خارج الجسم الحي (*in vitro*) الى الحد الذي يمكن فيه زراعة مختلف الاجزاء النباتية على اوساط غذائية ، والحصول منها على نباتات كاملة ولكثير من الانواع فضلاً عن استعمالها في مجالات بحثية وتطبيقية ، منها تربية النبات وتحسينة وانتاج الادوية والعقاقير الطبية، وانتاج شتلات خالية من الاصابات المرضية والإكثار الدقيق اذ يعد الاخير من

تاريخ تسلم البحث 16 / 12 / 2014 .
تاريخ قبول النشر 12 / 5 / 2015 .
البحث جزء من رسالة ماجستير الباحث الثاني
http://www.agriculmag.uodiyala.edu.iq/

التطبيقات ذات الاهمية الكبيرة والرئيسة لتقنية زراعة الانسجة (George واخرون ، 2008). الاوكسينات عبارة عن مجموعة من الاحماض العضوية ذات أوزان جزيئية عالية، وتستخدم بتراكيز قليلة جداً لتحدث تأثيراً في الجزء المزروع . وهناك العديد من الاوكسينات التي يمكن تحضيرها صناعيا مثل 2,4-D وNAA و 2,4,5T، اما الاوكسينات التي يمكن الحصول عليها بصورة طبيعية هي IAA و IBA (شكري والمعيقل ، 2013). والاوكسينات مسؤولة عن استطالة الخلايا وتطور الاعضاء أو تكوينها (Kepinski و Layser ، 2005). كما إن لها دور في تكوين الجذور (Liang و Skinner ، 2004). وتعد الأنسجة الفتية التي تنمو بنشاط مثل المرستيمات القمية والبراعم الجانبية والاوراق الفتية أهم مراكز بناء الاوكسينات (Taiz و Zeiger ، 2006).

السايتوكاينينات فهي عبارة عن قواعد عضوية ذات أوزان جزيئية عالية وتستعمل بتراكيز واطئة لتعطي تاثيرات في الجزء المزروع ، وتؤدي السايتوكاينينات دوراً كبيراً في زراعة الانسجة النباتية اذ انها تشجع على انقسام الخلايا النباتية وتمايزها وكذلك تحوير السيادة القمية ونمو البراعم الجانبية (شكري والمعيقل ، 2013). تستعمل عدة أنواع منها في تنشئة المزارع النسيجية للكثير من النباتات المختلفة مثل الـ Zeatin و Kinetin 6-furfuryL-aminopurine)وisopentenyladenine (2ip) و TDZ (Thidiazuron) و Benzyl adenine(BA) (George واخرون، 2008 ؛ شكري والمعيقل ، 2013). ويعد BA الأكثر فعالية في احداث عمليات النمو والانقسام لأحتوائه على أواصر مزدوجة أكثرفي سلسلته الجانبية قياساً الـ Kinetin و 2ip اللذان يحتويان على اصرتين واصرة مزدوجة واحدة على التتابع (Krishnamurthy واخرون ، 1984 ؛ Davies ، 2004) .

قسم George واخرون (2008) مراحل الاكثار خارج الجسم الحي الى خمس مراحل :

1-مرحلة الصفر Zero stage او مرحلة التحضير Preparation stage

2-مرحلة نشوء الزروعات Initiation stage

3-مرحلة التضاعف Shoot multiplication stage

4-مرحلة التجذير Rooting stage

5-مرحلة الأقلمة Acclimatization stage

المواد وطرائق البحث

تحضير الاجزاء النباتية

تم اختيار اقلام ساقية غضة بطول 10 سم من شتلات السكتان ستروميلو والترويرسترينج البالغة من العمر 6 أشهر والمزروعة في اكياس بلاستيكية سعة 4 كغم، ومنماة في الظلة الخشبية. نقلت الأجزاء النباتية الى المختبر وتركت تحت الماء الجاري مدة نصف ساعة أعقبها الغسل بالماء والصابون السائل للتخلص من الأتربة والمواد العالقة بها، بعد ذلك أزيلت الأوراق والأشواك وقسمت الى الأجزاء الآتية التي استخدمت كأجزاء نباتية :

أ- اطراف الأفرع Terminal shoots بطول 1.5 سم.

ب- اقلام ساقية ذات عقدة واحدة Single Nodal Segments تم اختيارها من المنطقة الوسطية للفرع، للحصول على براعم جيدة الحجم بطول 1.5 سم، ثم عقمت الاجزاء النباتية بعد نقعها بتركيز3 % من القاصر التجاري الذي يحتوي على 6% هايبوكلورات الصوديوم NaOCl لمدة 20 دقيقة، بعدها غسلت الأجزاء النباتية بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات لمدة 10 دقائق لازالة تأثير المادة المعقمة ، بعدها نقلت الى اطباق بتري معقمة لاستئصال القمم النامية والعقد ، وتم استخدام 10 مكررات لكل معاملة وبمعدل انبوبة أختبار لكل مكرر، وسجلت النتائج عن نسبة التلوث بعد 7 أيام من الزراعة .

إعداد الوسط الغذائي

استخدم الوسط الغذائي MT (Murashige وTucker ، 1969) في مرحلة نشوء الزروعات اما مرحلة التضاعف والتجذير فقد استخدم الوسط الغذائي MS (Murashige و Skoog ، 1962) واضيفت اليه منظمات النمو وكانت المعاملات المستخدمة كالاتي:

1- في مرحلة تنشأة الزروعات تم دراسة تأثير التداخل السايتوكاينين BA والاوكسينIAA وكبريتات الادنين $ADSO_4$ على استجابة الأجزاء النباتية المزروعة ، فقداضيف BA بتراكيز0، 0.25، 0.5 ، 1.0 ،1.5 ملغم/لتر و0 ،0.1 ،0.2 ملغم / لتر IAA و 40 ملغم/ لتر كبريتات الادنين.
2 - في مرحلة التضاعف تم دراسة تأثير BA بالتراكيز 0،1.0،1.5،2.0،2.5 ملغم/لتر و2ip بالتراكيز 0،1.0،1.5،2.0،2.5 ملغم/لتر + 0.2 ملغم/لترNAA.
3 – في مرحلة التجذير اضيف الNAA و IBA كلاً على إنفراد بالتراكيز 0،2،4،6 ملغم/لتر.

وزعت المعاملات في انابيب الزراعة وبواقع 10 مل لكل انبوبة، وجرى تعقيمها باستخدام المعقام (Autoclave)على درجة حرارة 121ْم وضغط 1.04 كغم / سم^2 لمدة 15- 20 دقيقة.

استناداً الى النتائج المتحصل عليها من تجارب مرحلة النشوء أستخدمت الأفرع الناتجة من نمو العقد في تجارب التضاعف، اذ قطعت الافرع الخضرية بطول 2.5 سم وزرع فرع واحد في كل انبوب ، وبواقع عشر مكررات لكل معاملة اذ عد كل انبوب مكرراً واخذت القياسات بعد 6 أسابيع من الزراعة . تم اختيار الأفرع الناتجة من مرحلة التضاعف الخضري ونقلها الى انابيب الاختبار الحاوية على اوساط التجذير وبواقع فرع واحد لكل انبوبة وبعشرة انابيب لكل معاملة ،واخذت النتائج بعد 6 اسابيع من الزراعة. حضنت الزروعات في جميع مراحل الاكثار درجة حرارة 25 $\pm$ 2ْم وتحت شدة اضاءة 1000 لوكس لمدة 16 ساعة ضوء و8 ساعة ظلام.

اختيرت النبيتات المتجانسة قدر الامكان التي تم الحصول عليها من مرحلة التجذير ونقلت الى وسط زراعي لغرض الاقلمة اذ استخرجت النبيتات من اوعية الزراعة وغسلت بماء الحنفية للتخلص من بقايا الاكار الملتصق بجذورها ، بعدها غمرت النبيتات لمدة 10 ثوان بمحلول مبيد البيلتانول (مبيد فطري بكتيري) بتركيز 1 مل/لتر لوقايتها من الاصابة الفطرية .وزرعت النبيتات في أصص بلاستيكية بقطر5سم مملوءة بوسط مكون من البيتموس والزميج بنسبة 1:1 وبواقع عشرة مكررات لكل معاملة، وقد عقم الوسط الزراعي مسبقاً بجهاز المعقام على درجة حرارة 121ْم وضغط 1.04 كغم / سم^2 لمدة 20 دقيقة واعادة تعقيمه في اليوم الثاني لمدة 20 دقيقة ايضاً، لضمان التخلص من المسببات المرضية. وللمحافظة على نسبة الرطوبة العالية في محيط الزراعة غطيت الأصص بأغطية بلاستيكية شفافة، وحضنت في غرفة النمو تحت نفس الظروف البيئية التي حضنت عليها العينات المزروعة.

وبعد مرور اسبوعين من الزراعة ،تم فتح الأغطية بصورة تدريجية مع مراعاة السقي بمحلول MS بربع قوة املاحه، وبعد مرور 4 اسابيع رفعت الأغطية البلاستيكية نهائياً و نقلت الى البيت البلاستيكي. نفذت التجارب بأستخدام التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design (CRD) وبتجارب عاملية ، وحللت النتائج باستخدام البرنامج الإحصائي الجاهز SAS (2004) وقورنت المتوسطات على وفق اختبار أقل فرق معنوي (LSD) وعلى مستوى احتمال 0.05 (الساهوكي ووهيب ، 1990).

النتائج والمناقشة

تنشئة الزروعات

يتبين من خلال نتائج الجدول(A-1) ان نسبة استجابة القمم النامية كانت منخفضة مقارنة باستجابة العقد المفردة إذ بلغت 5.33% لأطراف الافرع وللعقد بلغت 51.33%، وقد يعود السبب في ذلك الى تجمع المواد الغذائية والهرمونية في أنسجة العقد بكمية أكبر مقارنة باطراف الأفرع ، وتتفق هذه النتائج مع Rani واخرون (2003) ؛ Miah واخرون (2008) ؛ Sen وDhawan (2009) ؛ الجبوري (2011) . ولا تتفق هذه النتائج مع Salman واخرون (1994) والعبيدي واخرون (2001) و Sharma واخرون (2009) الذين وجدوا ان البراعم الطرفية اكثر استجابة من البراعم الجانبية.أماعن تأثير تراكيز BA فيشير الجدول نفسه الى تفوق التركيز 1.5ملغم/لتر BA في إعطائه اعلى نسبة استجابة بلغت 48.33 %. ويلاحظ من خلال نتائج الجدول نفسه إن لتراكيز IAA تأثيراً معنوياً في نسبة إستجابة الاجزاء النباتية لأصل السكتان إذ تفوق التركيز 0.2 ملغم /لتر معنوياً في اعطائه أعلى نسبة إستجابه بلغت 32% ، وبالنسبة لتأثير التداخل الثنائي بين الجزء النباتي وتركيز BA فيلاحظ من خلال

نتائج الجدول نفسه تفوق التركيز 1.5ملغم/لتر BA للعقد في إعطائه اعلى نسبة استجابه بلغت 93.33% مقارنة مع التركيزين 0.0 و 0.25 ملغم/لتر BA اللذين أعطيا أدنى نسبة إستجابة لأطراف الافرع بلغت 0.0% ،أما تأثير التداخل بين الجزء النباتي وتراكيز IAA فيلاحظ إن تركيز 0.2 ملغم/لتر IAA أعطى أعلى نسبة إستجابة للعقد بلغت 58% في حين أعطت المعاملة 0.0 ملغم/لترIAA أقل نسبة إستجابة لأطراف الافرع بلغت 4% .كما أثر التداخل بين تراكيز BA وتراكيز IAA معنوياً في نسبة استجابة الاجزاء النباتية فيلاحظ إن التركيز 1.5ملغم/لتر BA بالتداخل مع التراكيز (0.0+0.1 +0.2) ملغم/لتر IAA أعطت اعلى نسبة إستجابة مقارنة مع الوسط الغذائي الخالي من BA و IAA والذي لم يعطِ أي إستجابة.أما بالنسبة لتأثير التداخل الثلاثي فيتبين من خلال نتائج الجدول نفسه تفوق المعاملة 1.5ملغم/لتر BA بالتداخل مع التركيز 0.2 ملغم /لتر IAA في إعطائه أعلى نسبة إستجابه للعقد بلغت 100% ، أما أدنى نسبة إستجابة فكانت عند الوسط الخالي من BA وIAA والتي لم تعطِ أي إستجابة للعقد أو أطراف الافرع والتي لم تختلف معنوياً عن معاملة الوسط الخالي من BA بالتداخل مع 0.1+ 0.2 ملغم/لتر IAA لأطراف الافرع والمعاملات 0.25 ملغم/لتر BA بالتداخل مع 0.0+ 0.1+0.2 ملغم/لتر IAA لأطراف الافرع والمعاملات 1.5ملغم/لتر BA بالتداخل مع0.1 +0.2 ملغم/لتر IAA لأطراف الافرع

جدول A-1. تأثير تراكيز مختلفة من الBA وIAA والتداخل بينهما في إستجابة الاجزاء النباتية المأخوذه من أصل الحمضيات سكتان سترومیلو المزروعة في وسط MT بعد مرور 6 اسابيع من الزراعة.

الجزء النباتي	تراكيز BA (ملغم/لتر)	نسبة الاستجابة (%) تراكيز IAA (ملغم/لتر) 0.00	0.10	0.20	تراكيز BA ×الجزء النباتي
عقدة	0.00	0.00	10.00	10.00	6.66
	0.25	20.00	30.00	40.00	30.00
	0.50	40.00	60.00	60.00	53.33
	1.00	70.00	70.00	80.00	73.33
	1.50	90.00	90.00	100.00	93.33
طرف فرع	0.00	0.00	0.00	0.00	0.0
	0.25	0.00	0.00	0.00	0.0
	0.50	0.00	10.00	10.00	6.66
	1.00	10.00	20.00	20.00	16.66
	1.50	10.00	0.00	0.00	3.33
BA×IAA	0.00	0.00	5.00	5.00	معدل BA 3.33
	0.25	10.00	20.00	5.00	15.00
	0.50	20.00	35.00	35.00	30.00
	1.00	40.00	45.00	50.00	45.00
	1.50	50.00	45.00	50.00	48.33
الجزء النباتي × IAA	عقدة	44.00	52.00	58.00	معدل الجزء النباتي 51.33
	طرف فرع	4.00	6.00	6.00	5.33
معدل IAA		24.00	29.00	32.00	
L.S.D 0.05		1.033 = IAA 34.14 = BA×IAA 16.87 = IAA×جزء نباتي 1.33=BA 3.27 =الجزء النباتي×BA×IAA 5.59=BA×الجزء النباتي 0.843=الجزء النباتي			

وقد يعود سبب إرتفاع نسبة إستجابة العقد المفردة والمزروعة على وسط يحتوي على 1.5ملغم/لتر BA بالتداخل مع التركيز 0.2 ملغم /لتر IAA إلى توفر النسبة المثالية بين السايتوكاينين والاوكسين لاحداث الاستجابة .

أما بالنسبة لأصل الترويز سترينج فيتبين من خلال نتائج الجدول 1- B ان نسبة استجابة القمم النامية كانت منخفضة مقارنة باستجابة العقد المفردة إذ بلغت 4.66% لأطراف الافرع وللعقد بلغت 52%، أماعن تأثير تراكيز BA فيشيرالجدول نفسه الى تفوق التركيز 1.5ملغم/لترBA في إعطائه اعلى نسبة استجابة بلغت 45 %،ويلاحظ من خلال نتائج الجدول نفسه إن لتراكيز IAA تأثيراً معنوياً في نسبة إستجابة الاجزاء النباتية لأصل الترويز إذ تفوق التركيز0.2 ملغم/ لتر معنوياً في اعطائه أعلى نسبة إستجابه بلغت 33% ، وبالنسبة لتأثير التداخل الثنائي بين الجزء النباتي وتركيز BA فيلاحظ من خلال نتائج الجدول نفسه تفوق التركيز 1.5ملغم/لتر BA للعقد في إعطائه اعلى نسبة استجابه بلغت 86.66% مقارنة مع التركيزين 0.0 و 0.25 ملغم/لترBA اللذين أعطيا أدنى نسبة إستجابة لأطراف الافرع بلغت 0.0% ،أما تأثير التداخل بين الجزء النباتي وتراكيز IAA فيلاحظ إن تركيز 0.2ملغم/لتر IAA أعطى أعلى نسبة إستجابة للعقد بلغت 62% في حين أعطت المعاملات 0.0 + 0.1 + 0.2 ملغم/لترIAA أقل

جدول B-1. تأثير تراكيز مختلفة من الBA وIAA والتداخل بينهما في إستجابة الاجزاء النباتية المأخوذه من أصل الحمضيات ترويز سترينج المزروعة في وسط MT بعد مرور 6 اسابيع من الزراعة.

الجزء النباتي	تراكيز BA (ملغم/لتر)	نسبة الاستجابة (%)			تراكيز BA ×الجزء النباتي
		تراكيز IAA (ملغم/لتر)			
		0.00	0.10	0.20	
عقدة	0.00	0.00	10.00	20.00	10.00
	0.25	20.00	40.00	50.00	36.66
	0.50	50.00	50.00	60.00	53.33
	1.00	70.00	70.00	80.00	73.33
	1.50	80.00	80.00	100.00	86.66
طرف فرع	0.00	0.00	0.00	0.00	0.0
	0.25	0.00	0.00	0.00	0.0
	0.50	0.00	10.00	10.00	6.66
	1.00	10.00	20.00	10.00	13.33
	1.50	10.00	0.00	0.00	3.33
BA×IAA					معدل BA
	0.00	0.00	5.00	10.00	5.00
	0.25	10.00	20.00	25.00	18.33
	0.50	25.00	30.00	35.00	30.00
	1.00	40.00	45.00	45.00	43.33
	1.50	45.00	40.00	50.00	45.00
الجزء النباتي × IAA					معدل الجزء النباتي
	عقدة	44.00	50.00	62.00	52.00
	طرف فرع	4.00	6.00	4.00	4.66
معدل IAA		24.00	28.00	33.00	
L.S.D 0.05	0.99 = IAA 14.93 = جزء نباتي×IAA 34.14= BA×IAA 1.28=BA 3.13 =الجزء النباتي×BA×IAA 6.65=BA× الجزء النباتي 0.81= الجزء النباتي				

نسبة إستجابة لأطراف الافرع بلغت 4% عند التركيزين 0.0 و0.2 ملغم/لترIAA و6% عند التركيز 0.1 ملغم/لتر IAA. كما أثر التداخل بين تراكيزBA وتراكيز IAA معنوياً في نسبة استجابة الاجزاء النباتية فيلاحظ إن التركيز 1.5ملغم/لتر BA بالتداخل مع التراكيز (0.0+0.1+ 0.2) ملغم/لترIAA أعطت اعلى نسبة إستجابة مقارنة مع الوسط الغذائي الخالي من BA وIAA والذي لم يعطِ أي إستجابة.أما بالنسبة لتأثير التداخل الثلاثي فيتبين من خلال نتائج الجدول نفسه تفوق المعاملة 1.5ملغم/لتر BA بالتداخل مع التركيز 0.2 ملغم /لترIAA في إعطائه أعلى نسبة إستجابه للعقد بلغت 100% ، أما أدنى نسبة إستجابة فكانت عند الوسط الخالي من BA وIAA والتي لم تعطِ أي إستجابة للعقد أو أطراف الافرع والتي لم تختلف معنوياً عن معاملة الوسط الخالي من BA بالتداخل مع 0.1+ 0.2 ملغم/لتر IAA لأطراف الافرع والمعاملات 0.25 ملغم/لتر BA بالتداخل مع 0.0+ 0.1+0.2 ملغم/لترIAA لأطراف الافرع والمعاملات 0.5 ملغم/لترBA بالتداخل مع0.1 +0.2 ملغم/لتر IAA لأطراف الافرع .

أطراف افرع عقد مفردة

الصورة 1. استجابة العقد المفردة واطراف الافرع للزراعة خارج الجسم الحي بعد6 أسابيع مرحلة تضاعف الزروعات

تأثير الـ BA:

يتبين من نتائج جدول 2 تحقق اعلى معدل تضاعف عند التركيز 2.0ملغم/لتر BA بلغ 5.48 فرع/جزء نباتي والذي اختلف معنويا عن باقي المعاملات، وكان اقل معدل لعدد الافرع عند التركيز 1.0ملغم/لترBA إذ بلغ 2.41 فرع/جزء نباتي والذي اختلف معنويا عن باقي المعاملات. لم تسجل اية اختلافات معنوية بين اصلي التروير سترينج والسكتان ستروميلو نتيجة اضافة تراكيز مختلفة من ال BA في معدل عدد الفروع الناتجة من زراعة العقد، اذ بلغ 2.77 و2.80 فرع/جزء نباتي للتروير والسكتان على التوالي.كما يبين الجدول نفسه تاثير التداخل بين الاصل والتراكيز المختلفة من الBA ، فقد بلغ اعلى معدل لعدد الافرع الناتجة 5.62 فرع/جزء نباتي عند التركيز 2.0 ملغم/لترBA والذي اختلف معنويا عن باقي المعاملات. وربما يعزى سبب تفوق BA في معدل عدد الافرع الى الفعل التحفيزي للسايتوكاينين في حث الخلايا على الانقسام والتمايز وينتج من ذلك تمايز الانسجة المزروعة خارج الجسم الحي الى أفرع خضرية . وأشار الكثير من الباحثين الى الدور الذي تؤديه السايتوكاينينات في التراكيز الملائمة في الزراعة النسيجية من حيث فعلها في كسر السيادة القمية وانشائها مناطق جذب (Sinks) في البراعم الجانبية ، تحفز من سرعة انتقال المغذيات إليها التي ينتج منها تحفيز نمو البراعم (Devlin و Witham ، 1983).

ان النتائج المتحققة اعلاه لا تتفق مع Murai وآخرون (1997) اللذان اكدا على ان اقصى تضاعف حصل في وسط MS خالٍ من الـ BA، الا انها تتفق مع العامري (2000) و الحافظ وآخرون (1999) الذين اكدوا على ضرورة احتواء الاوساط الغذائية على الـ BA بغية تحقيق معدل تضاعف عالٍ.

الصورة 2. تضاعف أفرع السكتان المزروعة على وسط MS المجهز ب 2 ملغم / لتر BA + 0.2 ملغم / لتر NAA .

جدول 2. تأثير نوع الأصل وتراكيز الـ BA والتداخل بينهما في معدل عدد الأفرع المتضاعفة لأصلي الحمضيات السكتان والترويز بعد 6 أسابيع من الزراعة على وسط MS.

تراكيز BA (ملغم/لتر)	نوع الأصل		المعدل
	سكتان	ترويز	
0.0	0.00	0.00	0.00
1.0	2.37	2.44	2.41
1.5	2.56	2.70	2.63
2.0	5.62	5.34	5.48
2.5	3.44	3.37	3.41
المعدل	2.80	2.77	2.79
L.S.D 0.05	للاصل = 0.118 للتركيز = 0.186 للاصل × التركيز = 0.264		

تشير النتائج الموضحة في الجدول 3 الى عدم وجود اختلاف معنوي بين الاصلين في معدل اطوال الافرع المتكونة حيث بلغ 1.29 و 1.31 سم للسكتان والترويز على التوالي،اما بالنسبة لمستويات ال BA فقد اثرت معنويا في معدل اطوال الافرع اذ اعطت الافرع المزروعة في وسط MS المجهز ب 1.0ملغم/لتر اعلى معدل لاطوال الافرع بلغ 2.08 سم والذي تفوق على بقية المعاملات كافة.أمامعاملة التركيز 2.0 ملغم/لتر BA فانها اعطت ادنى معدل طول بلغ 1.06سم. كما يلاحظ من النتائج المبينة في الجدول نفسه ان هناك اختلافا معنويا بين الاصل ومستويات الBA في معدل اطوال الافرع الناتجة،فقد تفوق اصل الترويز سترينج معنويا على اصل السكتان سترومیلو اذ بلغ معدل طول الافرع 2.14 سم عند تركيز 1.0ملغم/لتر اما ادنى معدل طول للافرع كان عند تركيز 2.0 ملغم/لتر BA حيث بلغ 1.01 و 1.11 سم للسكتان والترويز على التوالي. وقد يعود سبب قصر اطوال الافرع الى زيادة انقسام الخلايا، وتشجيع نمو البراعم بفعل السايتوكاينين مما يزيد من أعدادها ومن ثم فإن هذه الزيادة في العدد تعمل على زيادة تنافسها على الغذاء مما ينعكس على نموها مؤدياً الى قصر أطوالها .

جدول 3 .تأثير نوع الأصل وتراكيز الـ BA والتداخل بينهما في معدل أطوال الأفرع (سم) المتضاعفة لأصلي الحمضيات السكتان والترويز بعد 6 أسابيع من الزراعة على وسط MS.

تراكيز BA ملغم/لتر	نوع الأصل		المعدل
	سكتان	ترويز	
0.00	0.00	0.00	0.00
1.0	2.02	2.14	2.08
1.5	1.89	1.78	1.84
2.0	1.01	1.11	1.06
2.5	1.54	1.52	1.53
المعدل	1.29	1.31	1.30
قيمة L.S.D	0.052 للاصل = 0.083 للتركيز = للاصل × التركيز= 0.117		

تأثير الـ 2ip:

تشير نتائج الجدول 4 الى اختلاف الاصول النباتية معنويا في عدد الافرع،اذ بلغ في السكتان 2.62 فرع/ جزء نباتي والذي تفوق معنويا على الترويز الذي اعطى 2.40 فرع/ جزء نباتي وقد يعود سبب ذلك الى اختلاف التركيب الوراثي لكلا الاصلين. اما بالنسبة لتاثير مستويات 2ip فقد اثرت معنوياً في معدل عدد الافرع إذ اعطت الافرع المزروعة في الوسط المجهز بـ 2.0 ملغم/لتر2ip اعلى معدل لعدد الافرع بلغ 4.12 فرع/جزء نباتي والذي تفوق معنويا على بقية التراكيز في حين لم تعطي معاملة المقارنة اي تضاعف في عدد الافرع، واعطى التركيز 1.0ملغم/لتر 2ip ادنى معدل لعدد الافرع بلغ 2.33 فرع /جزء نباتي.كما اثر التداخل بين الاصل وتراكيز 2ip معنويا في عدد الافرع اذ يبين الجدول نفسه ان زراعة افرع اصل السكتان في وسط MS المجهز ب2.0 ملغم/لتر 2ip اعطت اعلى معدل لعدد الافرع بلغ 4.55 فرع/ جزء نباتي الذي اختلف معنويا عن باقي المعاملات، واعطى تركيز 1.0ملغم/لتر2ip ادنى معدل لعدد الافرع بلغ 2.20 فرع/ جزء نباتي لاصل الترويز.

جدول 4. تأثير نوع الأصل وتراكيز الـ 2ip والتداخل بينهما في معدل عدد الافرع المتضاعفة لأصلي الحمضيات السكتان والترويز بعد 6 أسابيع من الزراعة على وسط MS.

تراكيز 2ip (ملغم/لتر)	نوع الأصل		المعدل
	سكتان	ترويز	
0.00	0.00	0.00	0.00
1.0	2.47	2.20	2.33
1.5	2.69	2.71	2.70
2.0	4.55	3.68	4.12
2.5	3.37	3.41	3.39
المعدل	2.62	2.40	2.51
L.S.D 0.05	للاصل = 0.111 للتركيز = 0.175 للاصل× التركيز = 0.248		

يلاحظ من الجدول 5 تفوق التركيز 1.0ملغم/لتر 2ip في معدل اطوال الافرع اذ بلغ 2.01 سم والذي اختلف معنويا عن بقية التراكيز، وانخفض معدل طول الأفرع بزيادة تراكيز 2ip أي ان لتراكيز 2ip في الوسط الغذائي تأثيراً سلبياً في معدل أطوال الأفرع المتكونة على الأجزاء النباتية المزروعة وقد يعود السبب في ذلك الى زيادة انقسام الخلايا، وتشجيع نمو البراعم بفعل السايتوكاينين مما يزيد من أعدادها ومن ثم فإن هذه الزيادة في العدد تعمل على زيادة تنافسها على الغذاء مما ينعكس على نموها مؤدياً الى قصر أطوالها .بينت نتائج الجدول نفسه عدم وجود اختلافات معنوية بين الاصلين في معدل اطوال الافرع ، اذ بلغ المعدل في السكتان 1.23سم وفي الترويز 1.18سم.وفيما يتعلق بتاثير التداخل بين الاصل وتراكيز 2ip اذ تحقق اعلى معدل لطول الافرع في المعاملة 1.0 ملغم/لتر بلغ 2.04 و1.97سم للسكتان والترويز على التوالي والذي اختلف معنويا عن بقية المعاملات، وكان اقل معدل لطول الافرع في المعاملة 2.5 ملغم/لتر2ip الذي بلغ 1.13سم للترويز و 1.23سم للسكتان وربما يعود السبب الى ان زيادة تركيز السايتوكاينينات في الوسط الغذائي يقلل دور الاوكسين المتراكم في داخل الأفرع المسؤول عن استطالة خلايا الساق باتجاه المحور الطولي ومن ثم تقصير طول الفرع (خير الله ، 1997).

جدول 5. تأثير نوع الأصل وتراكيز الـ 2ip والتداخل بينهما في معدل أطوال الافرع (سم) لأصلي الحمضيات السكتان والترويز بعد 6 أسابيع من الزراعة على وسط MS.

تراكيز 2ip (ملغم/لتر)	نوع الأصل		المعدل
	سكتان	ترويز	
0.00	0.00	0.00	0.00
1.0	2.04	1.97	2.01
1.5	1.62	1.50	1.56
2.0	1.29	1.29	1.29
2.5	1.23	1.13	1.18
المعدل	1.23	1.18	1.21
L.S.D 0.05	للاصل = 0.069 للتركيز = 0.109 للاصل × التركيز = 0.155		

مرحلة التجذير

أ- تاثير الاوكسين NAA باستخدام وسط MS بقوة كاملة الاملاح في النسبة المئوية للتجذير

يوضح الجدول 6 عدم وجود فروق معنوية بين الاصول النباتية في نسبة استجابة الافرع المزروعة في وسط MS بقوة كاملة الاملاح وباستخدام تراكيز مختلفة من NAA للتجذير،اذ اعطى السكتان نسبة تجذير بلغت 43% والترويز 48%. كما يبين الجدول نفسه ان الافرع المعاملة بالتركيز 2 ملغم/لتر NAA اعطت اعلى نسبة تجذير بلغت 95% والتي اختلفت معنويا عن بقيةالمعاملات وقد يعود السبب في ذلك الى كفاءة التركيز 2ملغم/لترNAA في تشجيع نشوء الجذور على الافرع مقارنة بالتراكيز الاخرى. اما عن تاثير التداخل بين نوع الاصل وتراكيز NAA فيلحظ ان افرع الترويز والسكتان المعاملة بالتركيز 2ملغم/لترNAA قد اعطت اعلى نسبة تجذير بلغت 100% و 90% على التوالي والتي اختلفت معنويا عن بقية المعاملات.

جدول 6 . تأثير نوع الأصل والاوكسين NAA والتداخل بينهما في النسبة المئوية (%) لتجذير افرع السكتان و الترويز المزروعة على وسط MS بقوة كاملة الاملاح بعد مرور 6 اسابيع من الزراعة.

تراكيز NAA (ملغم/لتر)	نوع الأصل		المعدل
	سكتان	ترويز	
0	0	0	0
2	90	100	95
4	60	60	60
6	20	30	25
المعدل	43	48	45
0.05 L.S.D	للاصل = 16.1% للتركيز = 23% للاصل× التركيز = 32.2%		

ب - **تاثير الاوكسين NAA باستخدام وسط MS بقوة كاملة الاملاح في معدل عدد الجذور**

أشارت النتائج المتحققة في الجدول 7 الى ان اعلى معدل لعدد الجذور بلغ 4.05 جذر كان للافرع المزروعة على الوسط الغذائي MS بقوة كاملة الاملاح والمزود ب2 ملغم/لتر NAA والذي تفوق معنويا على بقية التراكيز،اما ادنى معدل لعدد الجذور فكان عند التركيز 6 ملغم/لتر NAA حيث بلغ 0.95 جذر. كما يوضح الجدول نفسه عدم وجود اختلافات معنوية بين الاصلين في معدل عدد الجذور، اذ بلغت في اصل السكتان 1.86جذر وللترويز 1.91جذر. اما بالنسبة لتاثير التداخل بين نوع الاصل وتراكيز ال NAA فقد اعطت افرع الترويز والسكتان المزروعة في وسط MS بقوة كاملة الاملاح والمجهز ب 2 ملغم/لتر NAA اعلى معدل لعدد الجذور بلغ 4.14 و 3.96 جذر على التوالي والذي اختلف معنويا عن بقية التراكيز.اما معاملة المقارنة فلم تعطي اي جذر، وكان اقل معدل لعدد الجذور بعد معاملة المقارنة عند التركيز 6 ملغم/لترNAA حيث بلغ 0.97 و 0.93 جذر للترويز والسكتان على التوالي.

صورة 3. تكون الجذور على الافرع المزروعة في وسط MS بكامل قوة الاملاح المزود بـ 2 ملغم/لتر NAA.

جدول 7. تأثير نوع الأصل والاوكسين NAA والتداخل بينهما في معدل عدد الجذور المتكونة لأصلي الحمضيات السكتان والترويز بعد مرور 6 اسابيع من الزراعة في وسط MS بقوة كاملة لتركيز الاملاح.

تراكيز NAA (ملغم/لتر)	نوع الأصل		المعدل
	سكتان	ترويز	
0	0.00	0.00	0.00
2	3.96	4.14	4.05
4	2.55	2.51	2.53
6	0.93	0.97	0.95
المعدل	1.86	1.91	1.88
L.S.D 0.05	للاصل = 0.197 للتركيز = 0.279 للاصل × التركيز= 0.394		

الاقلمة

تمت اقلمة 50 نبات لكلا الاصلين نجح منها 45 نباتاً لاصل الترويز فتكون النسبة المئوية 90%، ولاصل السكتان نجح 42 نباتاً وبذلك تكون النسبة المئوية 84% كما هو موضح في الجدول9.

جدول 9. النسبة المئوية للنباتات المؤقلمة.

نوع الاصل	عدد النباتات المؤقلمة	عدد النباتات الناجحة	النسبة المئوية للنباتات الناجحة (%)
سكتان سترومیلو	50	42	84
ترويز سترينج	50	45	90

صورة 4 .أقلمة نباتات أصلي الحمضيات بعد مرور 3 اشهر من نقلها الى البيت البلاستيكي.

تم استخدام الوسط الزراعي المكون من المزيج والبتموس بنسبة 1:1 في اقلمة النباتات لكونه افضل الاوساط الزرعية لاقلمة ونمو النباتات مقارنة بالمزيج لوحده او البتموس لوحده، وهذه النتائج تتفق مع الحافظ واخرين (1999) ؛العامري (2000) ؛الحوشبي (2004) ؛الجبوري (2011) الذين وجدوا ان الزراعة على وسط مكون من المزيج والبتموس يزيد من نسبة نجاح النباتات المتأقلمة.

المصادر

الجبوري، ميادة طارق علوان. 2011. تأثير البراسينولايد والبنزل أدينين و الاوكسينات في إكثار أصلي الحمضيات السوينكل سترومیلو والترويرسترانج خارج الجسم الحي.رسالة ماجستير،كلية الزراعة/جامعة بغداد. جمهورية العراق.

الحافظ ، عماد احمد محمد وبدر ، صالح محسن وحسين ، وفاء ابراهيم. 1999. اكثار اصول الحمضيات بزراعة الانسجة. مجلة الزراعة العراقية ، مجلد 4 ، عدد 8 ص 49- 60.

الحوشبي ، سعيد سالم محمد عبدالله. 2004. اكثار بعض انواع الحمضيات وتطعيمها على اصل الترويز سترينج. اطروحة دكتوراه . كلية الزراعة . جامعة بغداد. جمهورية العراق.

خيرالله ، حسام سعدالدين محمد. 1997. الاكثار الخضري لاشجار السدر (النبق) Zizyphus spina-christi Willd بوساطة تقنية زراعة الانسجة النباتية. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد . جمهورية العراق.

الساهوكي ، مدحت ووهيب ، كريمة احمد. 1990. تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جمهورية العراق.

سلمان، محمد عباس.1988. اساسيات زراعة الخلايا والانسجة النباتية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة بغداد . جمهورية العراق.

شكري، وفاء محمد والمعيقل، ريم محمد 2013. زراعة الخلايا والانسجة النباتية. وزارة التعليم العالي-كلية العلوم .جامعة المنصورة. المملكة العربية السعودية.

العامري، لمياء خليفه جواد.2000. إكثار بعض الاصول والطعوم والتطعيم الدقيق خارج الجسم الحي. رسالة ماجستير. كلية الزراعة-جامعة بغداد. جمهورية العراق.

العبيدي ، هاشم كاظم محمد والجبوري ، عبدالجاسم محيسن جاسم وعثمان ، اسعد خالد والحسيني ، زينب عبدالجبار حسين. 2001. تأثير البنزل ادنين (BA) في تضاعف اصلي الحمضيات Troyer citrange و Carrizo citrange خارج الجسم الحي. المجلة العلمية لمنظمة الطاقة الذرية ، مجلد 3 ، العدد 1 ، ص 63-73.

المنيسي، فيصل عبد العزيز.1975. الموالح: الاسس العلمية لزراعتها. الطبعه الاولى. دار المطبوعات الجديده. الاسكندريه.

Davies, P.J. 2004. Plant Hormones. Biosynthesis, Signal Transduction, Action. Kluwer Academic Publishers.

Devlin, R.M. and F. H. Witham. 1983. Plant Physiology. (4th ed) Wadsworth Publishing Company Belmont California.

George, E.F.; M.A. Hall and G.J. De Klerk. 2008. Plant Propagation by tissue culture. Vol. 1. The Background, 3rd Edition, published by Springer, Dordrecht, the Netherlands.

Hartmann, H . J ; Kester, D . E . ; Geneve, R.L. and Davies, Jr. F. T. .1997. Plant Propagation: Principles and Practices. 6th ed., Prentice - Hall Inc., New Jersey, USA

Kepinski, S. and O. Layser. 2005. Plant development: Auxin in Loops. Curr. Biol., 15: 208-210.

Krishnamurthy, K.V.; D.A. God bole, and A.F. Mascarenhas. 1984. Studies on a drought resistant legume: The moth bean Vigna acouitifoliu -1-protoplast culture and Organogenesis. Plant Cell Rep., 3: 30-32.

Liang, G.H. and D.Z. Skinner. 2004. Genetically Modified Crops, Their Development, Uses and Risks. New York. London – Oxford.

Miah, Md. N.; S. Islam and S. Hadiuzzaman. 2008. An Improved protocol for multiple shoot regeneration from seedling and mature explants of C. macroptera Mont. Plant tissue cult&, Biotech. 18 (1): 17-24.

Murai, Y.; H. Harada and H. Yamashita. 1997. In vitro propagation of apricot Prunes armeniaca L. c. v. Bakough – Junkyou, Journal of the Japanese Society for Horticultural Science. 66 (3-4): 475-480.

Murashige, T. and D.P.H. Tucker. 1969. Growth factor requirements of citrus tissue culture. Proc. Ist Int. Citrus Symp. 3: 1155-1161.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant., 15: 473-497.

Nakasone, H. Y. and R. E. Paull .1998. Tropical Fruits. Biddles Ltd. U.K. pp 12.

Ohgawera, T; Saito, W. and S. Kobayashi. 1997. Production of somatic hybrids and cybrids in the Rutaseae family and application to citrus breeding. Plant Biotechnology, 14(3): 141-144.

Salman, M.A.; M.A. Hani and S.M. Bader. 1994. In vitro shoot multiplication of sour orange (C. aurantium L.) buds. Iraqi J. Agric. Sci. 25 (1): 42-51.

SAS, 2004. SAS Users Guide for personal computers. SAS Inst. Inc. Cary, NC. USA.

Sen,S. and V. Dhawan. 2009. Micropropagation of troyer citrange (P. trifoliate (L.) Rat. X C. sinensis (L.) Osbeck). Acta Hort. (839): 63-70

Sharma, S.; A. Prakash and A. Tele. 2009. In vitro propagation of Citrus Rootstock. Not, Bot. Hort. Agrobot. Cluj, 37 (1): 84-88.

Taiz, L. and E. Zeiger. 2006. Plant Physiology 4th. Sinauer Assciates, Inc. Publishers. Sunderland.

EFFECT OF SOME PLANT GROWTH REGULATORS ON *IN VITRO* PROPAGATION OF TWO CITRUS ROOTSTOCKS (SACATON CITRUMELO AND TROYER CITRANGE)

Muhammad Abbass Salman **Israa Rifaat Khairi**

*Hort .Dept. – Collage of Agriculture –Unv. of Baghdad - israa_sonic86@yahoo.com

ABSTRACT

A study on in vitro micropropagation of two citrus Rootstocks (Sacaton Citrumelo and Troyer Citrange) was conducted at the tissue culture laboratory textile of the Department of Horticulture and landscaping College of Agriculture / University of Baghdad, for the period from September 2013 till August 2014.Single nodal segments or terminal shoots were explanted on MT and MS media supplemented with different concentrations of some plant growth regulators. The aims of the study were increasing number and length of shoots,

rooting and acclimatized plantlets enhancement. Results showed in establishment stage, single nodal segments responded better than terminal shoots. MT medium supplemented with 1.5 mg / L BA + 40 mg / L ADS + 0.2 mg / L IAA was superior on single nodal segments response and the percentage was 100% for both rootstocks. At Multiplication stage results showed superiority of BA on 2ip and the highest rate of shoot proliferation at the concentration 2mg/l BA+0.2mg/l NAA which reached 5.48 shoots / explants .In the rooting stage results showed that the MS medium with full strength of the concentration of salt with a 2 mg / l NAA increased the rooting percentage and the number of roots per shoot up to (90%, 3.96) respectively for Sacaton and (100%,4.14) respectively for Troyer .Most plantlets 90% , 84% for Troyer and Sacaton respectively were acclimatized when cultured on soil consist of 1:1 sand: peat moss.

Key words: Sacaton Citrumelo, Troyer Citrange, *IN Vitro*.