اكثار الليمون المخرفش خارج الجسم الحي

صالح محسن بدر* فادية هشام طه** محمد شهاب حمد**

الملخص

اجري البحث في مختبرات زراعة الانسجة التابعة لقسم بحوث النخيل والتمور – الشركة العامة للبستنة والغابات – وزارة الزراعة. يهدف البحث الى اكثار اصل الليمون المخرفش *Citrus jambhiri Lush.* خارج الجسم الحي. استخدمت اجزاء نباتية مختلفة (اطراف الافرع **Shoot tips** وعقد مفردة **Single nodes** وسلاميات **Internodes**) من اشجار بالغة وفي مواعيد مختلفة. واستخدم الوسط الغذائي موراشيجي وسكوج **MS** في مراحل النمو كافة.

تبين من النتائج المتحققة في مرحلة النشوء ان افضل موعد لاستئصال الأجزاء النباتية والكفيل بتحقيق اعلى نسبة استجابة للنمو خارج الجسم الحي كان في الموعد الصيفي (تموز)، حيث وصلت نسبة الاستجابة فيه لكل من اطراف الفروع والعقد الى **80%** ، **77.77%**على التوالي، أما االسلاميات فلم تستجب للنمو خارج الجسم الحي، لذا فقد استبعدت في تجارب النشوء اللاحقة.

اما في مرحلة التضاعف الخضري فوجد ان اعلى معدل لعدد الافرع (**2.10**) فرع / جزء نباتي والطول (**0.98** سم) كان في وسط **MS** مجهز بـ **1** ملغم / لتر من حامض الجبريليك (**GA3**) + **1** ملغم / لتر من البنزل أدنين (**BA**).

وكانت على اعلى نسبة مئوية للتجذير واعلى معدل لاعداد الجذور ولاطوالها في وسط **MS** صلب بنصف قوة الاملاح مضافاً اليه **1** ملغم / لتر من نفثالين حامض الخليك (**NAA**) اذ بلغت النسبة **50%** اما اعلى معدل لاعداد الجذور فكان **0.8** جذر / فرع نباتي، وبلغ اعلى معدل طول جذر **0.98** سم.

نقلت الفروع المجذرة بعد ذلك الى اصص مملوءة بخليط من المزيج والبتموس المعقم بنسبة **1**: **1** بعد ان غسلت الجذور جيداً وعوملت بمبيد فطري وبعد اسبوعين كانت نسبة نجاح النباتات **60%** بعد الأقلمة. اظهرت هذه النتائج امكانية اكثار اصل الحمضيات الليمون المخرفش خارج الجسم الحي.

المقدمة

تعد الأمراض الفايروسية من محددات الأنتاج الزراعي والتي تسبب تدني الأنتاجية في مساحات شاسعة من البساتين والحقول. ومن أخطر الأمراض الفايروسية التي تصيب أشجار الحمضيات مرض التدهور السريع (**Quick Decline**) أو ما يسمى بالتريستيزا (**Tresteza**) مسببة ضعف نموها وقلة الحاصل وبالتالي موت الأشجار مبكرا، ويظهر المرض بشكل خاص على الأصول الحساسة للإصابة به ومنها أصل النارنج المعتمد كأصل لأصناف وأنواع الحمضيات التجارية في غالبية مناطق زراعة الحمضيات في العراق والعالم (**20**).

ولكون أغلب أصناف الحمضيات يتم إكثارها لا جنسيا عن طريق التطعيم وهي الطريقة الشائعة في المشاتل، لذا يتحتم علينا استخدام طعوم من أشجار سليمة لتطعيمها على أصول مقاومة. وفي هذه الحالة يشكل الأصل أهمية كبيرة في الحصول على أشجار سليمة مستقبلا. ومن هذه الأصول هو الليمون المخرفش ***Citrus jambhiri lush*** والذي

جزء من رسالة ماجستير للباحث الثاني.

* الهيئة العامة للبحوث الزراعية – وزارة الزراعة –بغداد،العراق.

**كلية الزراعة –جامعة بغداد–بغداد،العراق.

يتصف بصفات عدة من أهمها مقاومته للجفاف لكثرة تفرع جذوره وتعمقها ، قوة نمو الأشجار المطعمة عليه وإنتاجيتها الجيدة، وبسبب النمو السريع للطعوم في المشتل يمكن الحصول على شتلات جاهزة للبيع بوقت أقصر مقارنة بالأصول الأخرى، هذا بالإضافة إلى مقاومته الامراض الفايروسية وخاصة الفايروس المسبب لمرض التدهور السريع (**9**).

ونظرا الى ان كون الكثير من أشجار الفاكهة ومن ضمنها الحمضيات تكثر حاليا بزراعة الأنسجة النباتية التي يمكن بواسطتها إنتاج أعداد كبيرة جدا من النباتات دون التقيد بموسم أو موعد محدد (**7،3، 21،15،10**)، فان البحث الحالي يهدف إلى الوصول إلى برنامج عملي لإكثار أصل الليمون المخرفش بزراعة الأنسجة النباتية وتوفير أعداد كبيرة منه في حالة الحاجة المستقبلية إليه لإحلاله محل النارنج (كأصل) في البساتين المزمع انشاؤها.

المواد وطرائق البحث

نفذت التجارب بين عامي **2000** و**2001** في مختبرات زراعة الأنسجة النباتية التابعة لقسم بحوث النخيل والتمور / الشركة العامة للبستنة والغابات – وزارة الزراعة.

مرحلة النشوء

تحضير الأجزاء النباتية

جلبت الأجزاء النباتية من بساتين الأمهات في محطة أبحاث الفاكهة في اللطيفية في **24/ 7/ 2000** ، **31/ 10 /2000** ، **15/ 1 /2001** ، **24/ 4/ 2001**، حيث أُزيلت الأشواك والأوراق منها وقسمت إلى: (أ) أطراف فروع وبطول **0.5 -1** سم تقريبا (ب) عقل ساقية تحوي عقدة واحدة وبطول **0.5 - 1** سم (ج) سلاميات بطول **0.5 -1** سم تقريبا.

عقمت الأجزاء بغسلها بالماء ومنظف سائل لإزالة الأتربة والأوساخ العالقة بها ، وتركت تحت الماء الجاري لمدة ½ ساعة، بعد ذلك غمرت بمحلول كلوريد الزئبق $HgCl_2$ تركيز% **0.1** لمدة **5** دقائق مع الرج المستمر ، بعد ذلك غُسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات وبذلك أصبحت جاهزة للزراعة.

تحضير الوسط الغذائي

استعمل الوسط الغذائي موراشيجي وسكوج **MS** كوسط أساس لكل التجارب **Murashige , 1962 and Skoog**. وعُدل الرقم الهايدروجيني **pH** للوسط إلى **5.6**+ **1** بواسطة محلول واحد عياري من هايدروكسيد الصوديوم أو حامض الهايدروكلوريك قبل إضافة الاجار في حالة الأوساط الصلبة. وتم توزيع الوسط في أنابيب اختبار **25** × **150** ملم وبمعدل (**10** مل / انبوبة)، وعُقمت الأنابيب في جهاز الموصدة **Autoclave** لمدة **15** دقيقة وفي درجة حرارة **121** مْ وضغط **1.04**كغم / سم^3.

زُرعت الأجزاء النباتية على أوساط غذائية صلبة محتوية على **30** غم /لتر سكروز و **6**غم / لتر آجار وتراكيز مختلفة من الـ **BA** (**0** ، **0.5** ، **1** أو **1.5**) ملغم / لتر، حيث دُرس تأثير هذه التراكيز على تكشف الأجزاء النباتية.

مرحلة التضاعف الخضري

تأثير السايتوكاينين

تمت دراسة تأثير الـ **BA** بالتراكيز (**0.5** ، **1** ، **1.5** ، **2** ، **3** ، **5** ، 7) ملغم/لتر لمعرفة التركيز الأمثل على عدد الأفرع الناتجة وأطوالها.

تأثير حامض الجبرليك

تم اختبار تأثير إضافة الـ GA_3 في عدد النموات الناتجة وأطوالها، فقد أضيف **1** ملغم / لتر GA_3 إلى وسط

MS صلب مجهز بـ (**0.5** ، **1** ، **1.5** ، **2**) ملغم / لتر **BA**.

مرحلة التجذير

نقلت الأفرع الناتجة من مرحلة التضاعف إلى وسط جديد مجهز بنصف أملاح **MS** ومصلب بـ **6** غم / لتر آكر، وتم تزويد هذا الوسط بنوعين من الأوكسينات كل منهما على انفراد هما **IBA** ، **NAA** وبتركيزين لكل منهما **1** أو**2** ملغم / لتر لمعرفة الأوكسين الأفضل والتركيز الأمثل لإحداث أعلى نسبة تجذير.

تم تقويم هذه المرحلة بعد مرور شهرين على نقل النبيتات إلى الوسط الجديد وذلك بحساب النسبة المئوية للتجذير وعدد الجذور المتكونة وأطوالها. بعد ذلك نقلت النبيتات التي تكونت عليها جذور إلى وسط استطالة سائل يحتوي على الأملاح الكاملة لـ **MS** مضافاً إليه **2** ملغم / لتر GA_3.

ظروف التحضين

حضنت الزروعات في الحاضنة في درجة **25** $\pm$ **2** مْ وتحت شدة إضاءة **1000** لوكس لمدة **16** ساعة يعقبها **8** ساعات ظلام.

مرحلة الأقلمة

بعد شهر من نقل النبيتات إلى وسط الاستطالة وبعد وصولها إلى ارتفاع **3** سم أخرجت من الوسط وغُسلت جذورها جيداً للتخلص من بقايا الوسط الغذائي وعوملت بمبيد فطري **Rovral**، ثم زرعت في أصص مملوءة بخليط من المزيج والبتموس **1**: **1** المعقم بالموصدة. وغطيت النبيتات بأغطية زجاجية شفافة لتقليل الفقد الرطوبي وحضنت في الحاضنة تحت ظروف التحضين نفسها وشدة إضاءة **3000** لوكس، بعدها نقلت إلى البيت البلاستيكي ورفع الغطاء عنها تدريجياً.

وكانت النبيتات تسقى بمحلول يحتوي ربع قوة أملاح **MS** وحسب الحاجة، وتم حساب النسبة المئوية للنباتات الباقية بعد الأقلمة.

التحليل الإحصائي

نفذت الدراسة كتجارب عاملية باتباع التصميم العشوائي الكامل **CRD** ثم قورنت متوسطات المعاملات حسب اختبار دنكن المتعدد الحدود على مستوى احتمال **5%** (**5**) وكان عدد المكررات عشرة في كل معاملة، حيث عُدَّ كل أنبوب بمثابة مكرر.

النتائج والمناقشة

مرحلة النشوء

تعقيم الأجزاء النباتية

أظهرت نتائج تعقيم الاجزاء النباتية تأثرها بشكل كبير، ولوحظ ان لموعد الاستئصال تأثيراً في الاستجابة لمادة التعقيم، حيث لم تسجل أية حالة تلوث ولكل الأجزاء النباتية عند أخذ العقل في الموعد الصيفي في شهر تموز، في حين سجلت أعلى نسبة تلوث في الموعد الشتوي في شهر كانون الثاني والبالغة **85.26%** (جدول**1**).

أما معاملة المقارنة والتي لم تعامل فيها الأجزاء النباتية بمادة التعقيم فبلغت النسبة المئوية للتلوث **100%** ولكل الأجزاء النباتية المستأصلة في كل المواعيد.

جدول 1 تأثير كلوريد الزئبق في النسبة المئوية لتلوث الأجزاء النباتية وحسب المواعيد بعد مرور 20 يوماً على الزراعة

موعد أخذ الأجزاء النباتية موسم / شهر	للتلوث %			المعدل
	أطراف الفروع	عقد	سلاميات	
تموز 2000	0	0	0	0
ت1 2000	25	92.50	91.50	69.66
ك2 2001	74	90.90	89.90	85.26
نيسان 2001	36.95	46.59	45.50	43.01

يلاحظ من النتائج أعلاه وجود تأثير لموعد استئصال الجزء النباتي في استجابته لمادة التعقيم، إذ كان الموعد الصيفي الأفضل في الحصول على نسبة متدنية من التلوث وهذا ربما يعود إلى أن درجات الحرارة العالية ساهمت أصلا في القضاء على الملوثات الخارجية، بينما تحققت أعلى نسبة تلوث في الموعد الشتوي، وهذا قد يعزى إلى أن درجات الحرارة المنخفضة في هذا الفصل تجعل من الملوثات كامنة فلا تتأثر بمادة التعقيم، وعليه فعندما تتوفر لها فرص النمو المثالية تبدأ بالنمو مجدداً مسببة تلوث الجزء النباتي.

كما وجد أن للأجزاء النباتية تأثيراً في التعقيم فتحققت نسب تلوث متدنية في أطراف الفروع مقارنة بالعقد والسلاميات والبالغة 33.99%، وقد بلغت أعلى نسبة تلوث لأطراف الفروع 74% في موعد الاستئصال الشتوي كانون الثاني ، بينما وصلت أعلى نسبة تلوث في العقد والسلاميات إلى 90.50% و91.50 % على التوالي في الموعد الخريفي تشرين الأول.

استجابة الأجزاء النباتية

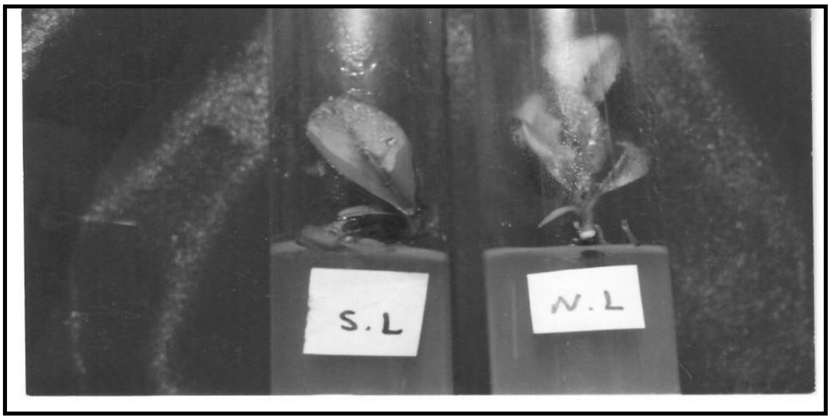
لوحظ وجود استجابات متباينة تبعاً لاختلاف موعد الاستئصال ونوع الجزء النباتي ، وقد تحقق أعلى معدل نسب إستجابة في الموعد الصيفي تموز والبالغة 52.59%، أما أدنى معدل تكشف فكان 38.49% في الموعد الشتوي كانون الثاني (جدول 2). كما يلاحظ في الجدول ذاته ان اعلى معدل تكشف بلغ 71.66 % في العقد وأدنى معدل نسب تكشف في السلاميات إذ لم تستجب، لقد أعطى موعد الاستئصال الصيفي أعلى نسب تكشف في كلٍ من العقد والسلاميات (شكل1)، إذ بلغتا 80 و77.77% على التوالي، في حين كانت أدنى نسبة تكشف لأطراف الفروع في الموعد الشتوي والبالغة 38.46 %، وفي العقد كانت النسبة % 65.21 في الموعد الربيعي.

وبناء على ما تقدم يتبين بأن أفضل موعد لاستئصال الأجزاء النباتية والكفيل بتحقيق أعلى نسبة تكشف هو الموعد الصيفي لأطراف الفروع والعقد. وهذه النتيجة تتماشى من حيث الاستجابة مع ما هو معروف من أن للحمضيات عدة دورات للنمو تتراوح بين 2 و4 في السنة وذلك تبعاً للظروف البيئية، غير أنها في الأغلب تكون ثلاث دورات هي دورة الربيع ودورة الصيف ودورة الخريف (2)، كذلك يؤثر موسم أخذ العقل في قابلية توالدها، فعندما تؤخذ العقل في موسم نمو فإن قابليتها على النمو والتطور خارج الجسم الحي تكون أعلى (12).

إن تحقق أعلى نسبة تكشف والتي تقع لأطراف الفروع والعقد قد يعود سببه إلى تجمع الهورمونات في هذه الأجزاء، بينما لم تستجب السلاميات للنمو خارج الجسم الحي لذلك استبعدت في تجارب النشوء اللاحقة.

جدول **2**: تأثير موعد أخذ العقل في النسبة المئوية لتفتح الأجزاء النباتية المختلفة بعد أربعة أسابيع على الزراعة

موعد أخذالأجزاء النباتية موسم / شهر	للأستجابة (%)			المعدل
	أطراف الفروع	عقد	سلاميات	
تموز 2000	**80**	**77.77**	**0**	**52.59**
ت1 2000	**66.66**	**66.66**	**0**	**44.44**
ك2 2001	**38.46**	**77.00**	**0**	**38.49**
نيسان 2001	**62.06**	**65.21**	**–**	**42.42**
المعدل	**61.79**	**71.66**	**0**	**–**



شكل **1**: تفتح الأجزاء النباتية بعد أربعة أسابيع على الزراعة والنامية في وسط **MS**
أطراف الفروع ⇐ **.S.L** / العقد المفردة ⇐ **.N.L**.

تأثير الـ BA في نمو الأجزاء النباتية

أظهرت الأجزاء النباتية المستأصلة استجابات متباينة تبعاً لاختلاف تراكيز الـ **BA** المضافة إلى وسط **MS** ، إذ يتضح من بيانات جدول (3) عدم وجود اتجاه واضح لتأثير الـ **BA** حيث يلاحظ انخفاض نسبة الاستجابة عند رفع تركيز الـ **BA** من **1** إلى **1.5** ملغم / لتر ولكنه عاد إلى الارتفاع عند التركيز **2** ملغم / لتر . أما أعلى نسبة استجابة تحققت في وسط **MS** خال من الـ **BA** والبالغة **50 %** ، وسجلت أدنى نسبة استجابة عند **1.5** ملغم / لتر **BA** وكانت **10%**.

من المعروف عن السايتوكاينين بأنه يقوم بتحفيز انقسام الخلايا وإن الـ **BA** يعد واحداً من السايتوكاينينات المستخدمة بشكل واسع في زراعة الأنسجة النباتية ، ويعود سبب استخدامه في تجارب نشوء هذه الدراسة دون غيره إلى فعاليته العالية قياساً للسايتوكاينينات الأخرى المعتمدة على عدد الأواصر المزدوجة في السلسلة الجانبية لحلقة الأدنين ، حيث يمتلك ثلاث أواصر مزدوجة وبالتالي فإن كفاءته أعلى في تحفيز انقسام الخلايا **(11)**.

وتتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه عدد من الباحثين بإمكانية إنشاء الزروعات في وسط **MS** خالٍ من أية إضافات هورمونية (**8**، **29**). ولم تتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه عدد من الباحثين الذين أكدوا على أهمية إضافة السايتوكاينين إلى الوسط الغذائي بغية تحفيز انقسام الخلايا (**3**،**4**، **6**، **7**، **10**، **27**).

جدول 3: تأثير تراكيز مختلفة من الـ BA في % لاستجابة الأجزاء النباتية

BA ملغم / لتر	للاستجابة %
0	50
1	20
1.5	10
2	30

مرحلة التضاعف الخضري

تأثير السايتوكاينينات

تأثير الـ BA

بلغ معدل التضاعف **1.28** فرع / جزء نباتي عند عدم المعاملة بال **BA** ، وسجل أعلى معدل تضاعف في التركيز **0.5** ملغم / لتر والبالغ **1.80** فرع / جزء نباتي والذي لم يختلف معنوياً عن معاملات التراكيز (**1.5** ، **2**، **3**) ملغم / لتر واختلفت معنوياً عن باقي المعاملات، بينما كان أدنى معدل تضاعف **1** فرع / جزء نباتي في التراكيز (**0** ، **1** ، **4** ، **5**) ملغم / لتر (جدول **4**).

يضاف الـ **BA** في مرحلة التضاعف الخضري للعديد من الأنواع النباتية كمصدر للسايتوكاينين لفعاليته في تحرير البراعم الإبطية من سيادة البرعم الطرفي دون الحاجة إلى قطعه حيث أنه يقاوم عمل الأوكسين في ذلك، ويعتقد بأن السايتوكاينين يقوم بتحفيز تكوين الأنسجة الخشبية للبراعم والساق مسهلاً بذلك انتقال الماء والمغذيات وبذلك ينمو البرعم الجانبي **(11)**. هذا بالإضافة إلى أن أهمية إضافة السايتوكاينين هي في تحفيز انقسام الخلايا وتحفيز تكوين ونمو الفروع العرضية والإبطية وكما ذكر سابقا.

جدول **4**: تأثير تراكيز مختلفة من الـ **BA** في معدل تضاعف وأطوال فروع الليمون المخرفش بعد شهرين من الزراعة

BA ملغم / لتر	معدل عدد الفروع	معدل طول الفرع (سم)
0	de1.00	bcd 0.50
0.5	ab 1.80	cd 0.45
1	de 1.00	bcd 0.50
1.5	bc 1.60	cde 0.30
2	bc 1.60	cd 0.40
3	bcd 1.30	de 0.25
4	de 1.00	de 0.25
5	de 1.00	bcd 0.50
7	cd 1.20	de 0.25
معدل النوع	1.28	0.38

* المعدلات التي تتبعها الاحرف نفسها لاتختلف عن بعضها معنويا حسب اختبار دنكن المتعدد الحدود.

إن النتائج المتحققة أعلاه تتفق مع ما توصل إليه عدد من الباحثين الذين أكدوا على أهمية احتواء الوسط الغذائي على الـ **BA** لتحقيق أعلى معدل تضاعف (**3**، **6** ، **14**، **23**، **26**)، ولم تتفق هذه النتائج مع آخرين تمكنا من تحقيق أعلى معدل تضاعف في وسط **MS** خالٍ من الـ **BA** (**19**).

أما بالنسبة لتأثير تراكيز مختلفة من الـ **BA** في معدلات أطوال الفروع الناتجة فوجد أن أعلى معدل أطوال تحقق في التراكيز (**0**، **1**،**5**) ملغم / لتر والبالغ **0.5** سم والتي لم تختلف معنوياً عن معاملات التاكيز **0.5** ، **1.5** ، **2**) ملغم /

لتر. وبلغ أدنى معدل أطوال 0.25 سم في التراكيز (3 ، 4 ، 7) ملغم / لتر. (جدول4).

إن النتائج المتحققة تشير إلى غياب الاتجاه المحدد والواضح في معدلات أطوال الفروع الناتجة تبعاً لتغير تراكيز الـ BA ، وأن القصر في أطوال الفروع الناتجة يعود إلى أن إضافة السايتوكاينينات يؤدي إلى زيادة تركيزها في الوسط الغذائي مما يؤدي إلى تقليل دور الأوكسين الداخلي المسؤول عن استطالة الخلايا باتجاه المحور الطولي مما يؤدي إلى تقليل أطوال الفروع (18).

تأثير حامض الجبريليك GA_3

لوحظ عند إضافة 1 ملغم / لتر GA_3 إلى وسط MS مجهز بتراكيز مختلفة من الـ BA أن أعلى معدل تضاعف تحقق في معاملة 1 ملغم / لتر GA_3 + 1 ملغم / لتر BA والبالغ 2.10 فرع / جزء نباتي والذي لم يختلف معنوياً عن باقي المعاملات ، بينما كان أدنى معدل تضاعف في معاملة المقارنة الخالية من الـ BA (جدول 5).

ويشير الجدول ذاته الى ان في تأثير إضافة 1 ملغم / لتر GA_3 إلى وسط MS مزود بتراكيز مختلفة من الـ BA على معدل أطوال الفروع الناتجة ، حقق أعلى معدل أطوال فروع في معاملة 1 ملغم / لتر GA_3 + 1 ملغم / لتر BA والبالغ 0.98 سم ولكن لم يختلف معنويا عن معاملة 1 ملغم / لتر GA_3 + 0.5 ملغم / لتر BA واختلف معنوياً عن باقي المعاملات ، بينما سجل أدنى معدل طول 0.30 سم في معاملة المقارنة الخالية من الـ BA.

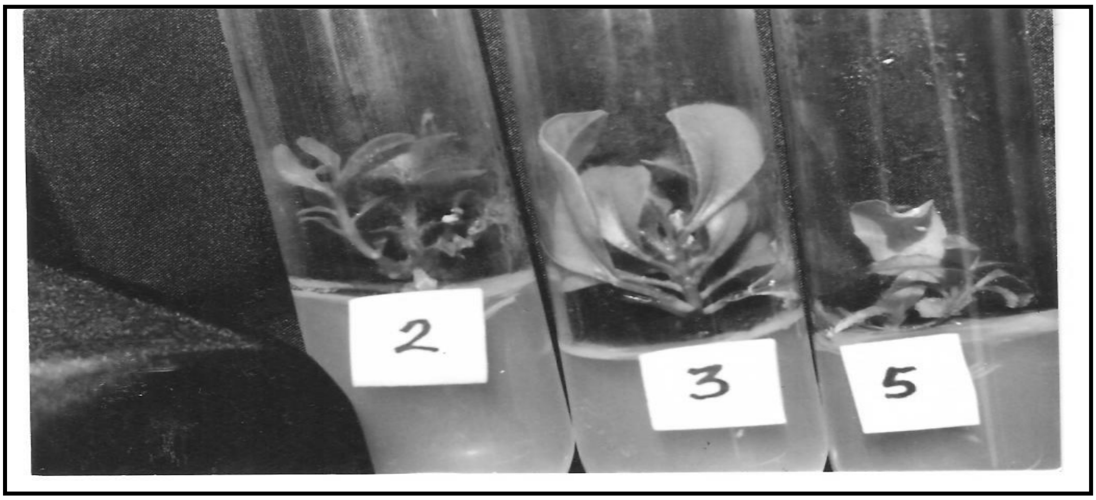
وسُجل تناقص تدريجي في معدل أطوال الفروع كلما ازداد تركيز الـ BA وبدءاً من 1 ملغم / لتر (شكل2). أما في التركيز الأدنى فكان أقل منه وأعلى من معاملة المقارنة.

جدول 5: تأثير التداخل بين GA_3 و الـ BA في معدل عدد وأطوال الفروع المتكونة

GA_3ملغم / لتر	BA ملغم / لتر	معدل عدد الفروع	معدل طول الفرع (سم)
1	0	b 0.40	c 0.30
	0.5	b 2.00	bc 0.58
	1	b 2.10	b 0.98
	1.5	b*1.80	c 0.50
	2	b 1.10	c 0.38
	معدل النوع	1.48	0.55

وبناء على ما تقدم نجد ان أفضل معاملة للتأثير في معدل تضاعف الفروع وفي معدل أطوالها كانت 1 ملغم / لتر GA_3 + 1 ملغم / لتر BA والتي تحقق فيها أعلى معدل تضاعف وأعلى معدل أطوال .

من المعروف عن الجبريلينات انها تساهم في استطالة الخلايا النباتية وبالتالي زيادة أطوال الفروع (1،25)، كما سجل بأن الجبريلينات تساعد في استطالة الفروع المتقزمة والتي لا تستطيل طبيعياً (27). هذه النتائج لا تتفق مع ما توصل إليه عدد من الباحثين بانعدام الحاجة إلى GA_3 لأنه يعمل على تثبيط تكوين الفروع (22، 24)، كما وجد أن إضافة تراكيز مختلفة من الـ GA_3 إلى الوسط الغذائي أدت إلى تشوه فروع البشملة (4). وتوصل عدد من الباحثين إلى أهمية أحتواء الوسط الغذائي على GA_3 (6،8) كما لوحظ زيادة في سرعة تفتح البراعم الجانبية للبرتقال وزيادة في طول السلاميات بوجود (3.0.3) ملغم / لتر GA_3 (13).



2 ⇒ 1 mg / l GA_3 + 0.5 mg / l BA
3 ⇒ 1 mg / l GA_3 + 1 mg / l BA
5 ⇒ 1 mg / l GA_3 + 2 mg /l

شكل 2: تأثير إضافة **1** ملغم / لتر **GA_3** بوجود تراكيز مختلفة من الـ **BA** الى وسط **MS** في تكوين الأفرع بعد **6** أسابيع.

مرحلة التجذير

اختبر نوعان من الأوكسينات وبتركيزين لكلٍ منهما على انفراد لمعرفة أيهما الأفضل في إحداث التجذير، وقد تبين أن **1**ملغم / لتر **NAA** والمجهز إلى وسط **MS** صلب بنصف قوة الأملاح هو الأفضل في تكوين الجذور والذي حقق أعلى نسبة تجذير بلغت **50%** (جدول **6**).

ولوحظ انعدام الاستجابة في معاملتي المقارنة ومعاملة **2** ملغم / لتر **IBA**، إذ بقيت الفروع على حالها لم تتغير، أما في معاملة **1** ملغم / لتر **IBA** فإن **20%** من الفروع كونت جذوراً قصيرة والبقية لم تستجب. وفي معاملة **1** ملغم / لتر **NAA** استجابت نصف الفروع للتجذير، ولوحظ أن **20%** منها تكونت جذورها من الكالس و**30%** حدث تكوين مباشر للجذور من قواعد الفروع . أما في معاملة **2** ملغم / لتر **NAA** فحدث تكوين مباشر للجذور في **30%**من الفروع والمتبقي منها لم يستجب.

يوضح شكل **(3)** تكون الجذور بعد شهر من النقل إلى وسط التجذير إذ أشارت النتائج المتحققة إلى أن الأفرع تأثرت بنوع وتركيز الأوكسين المضاف، وقد كان للـ **NAA** أفضل تأثير في الفروع وبالتركيزين المضافين مقارنة بتأثير الـ **IBA**.

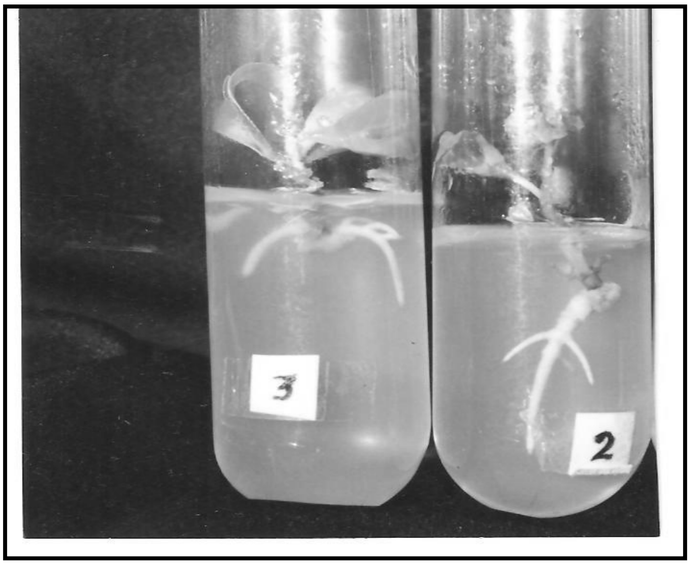
هذا الاستنتاج يتفق مع ما توصل إليه عدد من الباحثين إلى أن لنوع الأوكسين تأثير في نسبة التجذير **(7)**، في حين لم يجد باحثان آخران تأثيراً لنوع الأوكسين في نسبة التجذير **(4)**.

كما وجد أن لـ **NAA** دوراً في إحداث تجذير جيد لفروع وأصناف مختلفة من الحمضيات (**3**، **9**، **12**، **13**، **23**، **28**، **29**).

أما بالنسبة لتركيز الأوكسين المضاف فهو يختلف من نوع لأخر ومن محصول لأخر ، و لوحظ أن أفضل تركيز يحقق أعلى نسبة مئوية للتجذير كان **1** ملغم / لتر **NAA** ، وهذه النتيجة تتفق مع النتائج التي تم التوصل إليها من قبل الحافظ وجماعته (**3**)، **Maximos** وجماعته (**23**)، **Starrantiono** و**Carsuo** (**28**).

جدول 6: تأثير نوع وتركيز الأوكسين في الـ % للتجذير

نوع الأوكسين	تركيز الأوكسين ملغم/لتر	% للتجذير	الملاحظات
Control	0	0	عدم استجابة / بقيت الفروع على حالها لم تتغير
IBA	1	20	جذورها قصيرة والبقية لم تستجب
	2	0	بقيت الفروع على حالها لم تتغير
NAA	1	50	20% جذورها من الكالس 30% تجذير مباشر 50% بقيت على حالها
	2	30	تكوين مباشر للجذور/ البقية لم تستجب



2 ⇒ 1 / 2 Salt M S + 1 mg / l NAA
3 ⇒ 1 / 2 Salt M S + 1 mg / l NAA

شكل 3: تكوين الجذور في الليمون المخرفش بعد شهر من النقل إلى وسط التجذير الصلب.

حسبت أعداد الجذور المتكونة بعد شهر وقيست أطوالها وحللت إحصائياً، وتبين من نتائج التحليل الإحصائي لتأثير نوع وتركيز الأوكسين المضاف في معدل عدد الجذور المتكونة أن أعلى معدل لعدد الجذور المتكونة 0.80 جذر / فرع في معاملة 1 ملغم / لتر NAA والتي اختلفت معنوياً عن باقي المعاملات عدا معاملة 2 ملغم / لتر NAA (جدول 7).

جدول 7: تأثير نوع وتركيز الأوكسين في معدل عدد وأطوال الجذور المتكونة بعد مرور 4 أسابيع على الزراعة في وسط التجذير

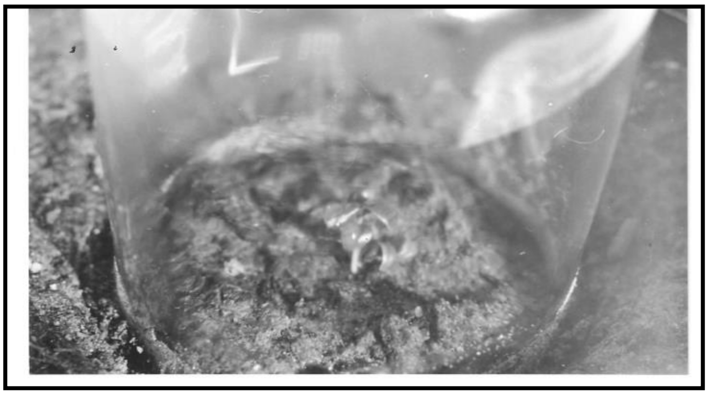
نوع الأوكسين	التركيز ملغم / لتر	معدل عدد الجذور	معدل طول الجذر (سم)
Control	0.0	c 0.0	b 0.00
IBA	1	bc 0.2	ab 0.70
	2	c 0.0	b 0.00
NAA	1	a 0.8	a 0.98
	2	abc 0.3	b 0.07

كما تشير بيانات الجدول ذاته إلى تأثير نوع وتركيز الأوكسين في معدل أطوال الجذور المتكونة، إذ كانت معاملة **1** ملغم / لتر **NAA** الأفضل تأثيراً في الحصول على أعلى معدل طول والبالغ **0.98** سم والتي اختلفت معنوياً عن باقي المعاملات عدا معاملة **1** ملغم / لتر **IBA** يتبين مما تقدم بأن المعاملة ب **1** ملغم / لترمن **NAA** كان الأفضل في تأثيره في معدل عدد الجذور المتكونة لكل فرع وأطوالها مقارنة بالـ **IBA** ، وهذا يعود إلى فعالية الـ **NAA** العالية لامتلاكه عدداً أكبر من الأواصر المزدوجة إضافة إلى قصر السلسلة الجانبية الحامضية المرتبطة به **(11)** وتتفق هذه النتيجة مع ما توصل الحافظ وجماعته (**3**)، **Starrantiono** و**Carsuo** (**28**) بأن **1** ملغم / لتر **NAA** يعطي أعلى معدل لأعداد وأطوال الجذور. بينما وجد **Maximos (23)** أن التركيز المثالي للحصول على أعلى معدل جذور هو **1** ملغم / لتر **NAA**. وللحصول على أعلى معدل أطوال كان **0.5** ملغم / لتر **NAA**.

ووجد بدر وجماعته (**7**) في إنتاج الكمثرى كالاريانا بالزراعة النسيجية أن أعلى معدل لعدد وأطوال الجذور المتكونة كان مع **1.5** ملغم / لتر **NAA**. كما توصل اليه الدباغ وسلمان (**4**) إلى أن **1.5** ملغم / لتر **IBA** أدى الى زيادة معدل عدد الجذور وأطوالها عند إنتاج البشملة بالزراعة النسيجية. نقلت النبيتات المجذرة بعد شهر من النقل إلى وسط جديد سائل حاوٍ على الأملاح الكاملة لـ**MS+1** ملغم/ لتر **GA_3** حيث تمت ملاحظة استطالة الجذور المتكونة.

أقلمة النبيتات

زرعت النبيتات بعد شهرين من نقلها إلى وسط التجذير وبعد وصول ارتفاعها إلى **3** سم تقريباً في أصص مملوءة بخليط من المزيج والبتموس بنسبة **1:1** بعد تعقيمه بالموصدة وكما هو موضح في شكل (**4**) وتمت تغطية النبيتات بأغطية شفافة لمنع فقدان الرطوبة ووضعت في غرفة النمو لمدة أسبوعين نقلت بعدها إلى البيت البلاستيكي. تمت أقلمة **60** نبات نجح منها **36** وبذلك بلغت النسبة المئوية **60%**، ومن هذه النتائج يتضح بأن قابلية الليمون المخرفش على التأقلم جيدة.



شكل **4**: صورة لنبات ليمون مخرفش بعد أسبوع من نقله إلى الأصيص.

المصادر

1– أبو زيد، الشحات نصر (**2000**). الهورمونات النباتية والتطبيقات الزراعية، الطبعة الثانية، الدار العربية للنشر والتوزيع، القاهرة.

2– آغا، جواد ذنون وداود عبد الله (**1991**). إنتاج الفاكهة المستديمة الخضرة، الجزء الثاني، جامعة الموصل، العراق.

3– الحافظ، عماد أحمد محمد؛ صالح محسن بدر وفاء إبراهيم حسين (**1999**). إكثار أصول الحمضيات بزراعة الأنسجة، مجلة الزراعة العراقية، **4(8)**:**6049**.

4- الدباغ، فرقد محمد ومحمد عباس سلمان (2000). الإكثار الخضري للبشملة *japonica* *Eriobotrya Lindle* باستخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية . 2 . التضاعف الخضري . التجذير والأقلمة، مجلة الزراعة العراقية، 5(3):152،163.

5- الساهوكي، مدحت وكريمة محمد وهيب (1990). تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب، جامعة بغداد،العراق.

6- العامري، لمياء خليفة جواد (2000). إكثار بعض الأصول والطعوم والتطعيم خارج الجسم الحي للحمضيات، رسالة ماجستير–كلية الزراعة– جامعة بغداد،العراق.

7- بدر، صالح محسن؛ عبد الأمير هبل رهيف؛ وفاء إبراهيم حسين وعماد أحمد محمد الحافظ (2000). إنتاج أصل الكمثرى كالاريانا *Pyrus calleryana* بالزراعة النسيجية، مجلة الزراعة العراقية، 5(3):191– 200.

8- هاني، مي عبد الكريم (1988). توالد النباتات من براعم وسلاميات وأجنة الحمضيات المزروعة خارج الجسم الحي، رسالة ماجستير –كلية الزراعة – جامعة بغداد،العراق.

9- زكي، سعد علي وعصمت خالد (1969). أمراض النبات الفايروسية والبكتيرية.

10- حميد، محمد خزعل (1994). إكثار أشجار الفستق. *Pistacia viral L.* خضرياً باستخدام تقنية زراعة الأنسجة، رسالة ماجستير –كلية الزراعة – جامعة بغداد،العراق.

11- محمد، عبد العظيم كاظم ومؤيد أحمد اليونس (1991). أساسيات فسيولوجيا النبات، الجزء الثالث، كلية الزراعة– جامعة بغداد،العراق.

12- سلمان، محمد عباس (1988). أساسيات زراعة الخلايا والأنسجة النباتية، جامعة بغداد،العراق.

13- Altman, A. and R. Goren (1974). Growth and dormancy cycles in citrus bud cultures and their hormonal control. Physiol . Plants, 30: 240–245.

14- Duran–Vila, N.; V. Ortega and L–Navarro (1989). Morphogensis and tissue culture of three citrus species. Plant Cell. Tiss. Org. Cult. 16: 123–133.

15- Ghorbel, R; L. Navarro and N. Duran – Vila (1998 a.). Morphogenesis and regeneration of whole plants of grape fruit (*Citrus paradisi*) Sour orange *C.aurantium*) and alemow (*C. macrophylla*). J. Hort. Sci. Biot, 73(3):323–327.

16- Ghorbel, R.; L. Navarro and N. Duran–Vila. (1998 b). Biological. Characterization. Of citrus tristeza virus solated by *in vitro* tissue cultures. Plant Path. 47:333–340.

17- Grosser, J. W. and J. L. Chandler (1986). *In vitro* multiplication of swingle Citromelo rootstock with coumarin. Hort. Sci., 21(3):i 518–520.

18- Grossoni, P. (1977). Problems concerning the invitro culture of *Olea europaea* Giornale Botannico Italiano. 113 (1-2):75–88.

19- Harada, H. and Y. murai (1996). Clonal propagation of *poncirus rifoliate* through culture of shoot primordial. J. Hort. Sci., 71(6):I 887–892.

20- Hartmann, H. T.; D. E. kester; F. T. Davies; R. L. Genever (1997). Plant Propagation : principles .

21- Kane, M. E. (1996). propagation from preexisting Meristems in : Plant Tissue Culture cocept and laboratory Exereises . Edited Trigiuno. R. N. and Gray D. J. CRC Press Boca Raton. New york. London. Tokyo. p.p.:61-72.

22- Maggon, R. and B. d. Singh (1995). Promotion of delventious bud regeneration by ABA in combination with BAP in epicotyl and ypocotyls explants of sweet orange *(Citrus sinensis. Osbeck*) Sic. Hort. 63 (1-2):123– 128.

23- Maximos, S. E.; A. Z. Bondok; H. El- Hennawy; S. A. El–Shazly and l. F. Guindy (1993). Better tissue culture protocol for the multiplication of some promising citrus rootstocks . Ann . Agric . Sci . Moshtohor. 31(2), 1075–1091.

24- Navarro, L; C. N. Roislacher and T. Murashige (1975). Improvement of shoot tip grafting *in vitro* for virus free citrus. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 100:471–469.
25- Pandey, S. N. and B. K. Sinha (1987). Plant Physiologg. Vikas pu lushing House PVT Ltd.
26- Pontikis. G. A. and Saputzaki (1984). Effect of phloroglucinol on successful propagtion *in vitro* of “Troyer citrange ‘Plant Propagator. 30(4):3-5.
27- Sutter. E. G. (1996). General laboratory reguiremnents media and sterilization methods. See reference, (28):11–26.
28- Starrantiono, A. and A. Carsuo (1987). Experiences on the *in vitro* propation of some citrus rootstocks, 212:471–478.
29- Starrantino, A. Carsuo (1988). The *in vitro* culture technique for the micropagation of citranges and trifoliate orange C.V. flying D. dragon Instituto sperimental part Agrumicoltura. Italy, 17(18):289–271.

Iraqi J. Agric. (Special Issue) Vol.14 No.6 2009

PROPAGATION OF ROUGH LEMON *(Citrus jambhiri lush)* IN *Vitro*

S. M. Bader* F. H. Taha M. S. Hammad****

ABSTRACT

This study was conducted in the tissue culture laboratories / Palm and Dates Department / State Company for Horticulture and Forestry / Ministry of Agriculture.

It aims to propagate the rough lemon (*Citrus jambhiri Lush*.) rootstock *in vitro*. Different explants from mature trees (shoot tips, single nodes and internodes) were used at different times. The medium Murashige and Skoog (MS) was used in all growth stages.

Results showed that the summer time (july) was the best in giving a high percentage of response, which was 80% for shoot tips and 77.77% for nodes at the initiation stage. While no response was recorded with internodes which then discarded .

For multiplication, the highest mean of shoots (2.1) and length (0.98 cm) was achieved using 1 mg / l for both Benzyl adenine (BA) and Gibberellic acid (GA_3).

In the rooting stage, the highest mean of rooting percentage 50%, mean of roots (0.8) root / explant and length (0.98) was found on solid medium containing 1/2 MS salts and 1 mg / L Naphthaleneacetic acid (NAA).

All rooted shoots were transplanted in small pots containing sterilized loam and peatmoss (1: 1) after the roots were washed with distilled water and then treated with fungicide. After two weeks the % of plants survived acclimatization was 60%.

Part of M. Sc. Thesis for second author.

*** State Board for Agric. Res.–Ministry of Agric.–Baghdad, Iraq.**

****College of Agric.- Univ. of Baghdad – Baghdad, Iraq.**