الحصول على نباتات تين *Ficus carica* L. سليمة من براعم مصابة بفيروس الموزائيك بتقانة الزراعة النسيجية

نبيل عزيز قاسم حميد حمود على قتيبة شعيب النعمة
قسم وقاية النبات / كلية الزراعة والغابات قسم علوم الحياة/ كلية التربية
جامعة الموصل / العراق

الخلاصة

تم الحصول على نباتات تين خالية من الإصابة بفيروس موزائيك التين (FMV) عن طريق الزراعة النسيجية وذلك بزرع ١ملم من البراعم الأبطية الورقية والمأخوذة من شتلات تم زراعتها والتأكد من أصابتها بالفيروس . تمت الزراعة على الوسط الزرعي MS والمدعم بمنظمات النمو التالية (NAA ٠.١٨ملغم/لتر + BA ٠.١ملغم/لتر + GA_3 ٠.٠٣ملغم/لتر) ، وحضنت البراعم المزروعة في غرفة الزرع على شدة إضاءة ١٠٠٠لوكس ومدة إضاءة ١٦ساعة. اذ تم الحصول على أول نمو بعد خمسة أيام من الزرع وتكونت الأوراق بشكل كامل بعد ثلاثة أسابيع من زراعتها على ذلك الوسط. ولقد لعبت المواد الفينولية المفرزة من قبل الجزء النباتي دورا" في التأثير على تكوين ونمو الجذور ، وأدى استخدام الفحم المنشط على أدمصاص تلك المواد ودفع النبيتات على تكوين الجذور.

المقدمة

تصاب أشجار التين بالعديد من الآفات ويعد مرض موزائيك التين Fig mosaic disease من أكثر الأمراض الفيروسية تأثيرا" وانتشارا" على هذه الأشجار في مناطق زراعتها في العالم مسببا" أعراض مختلفة على الأوراق والثمار (Al- Mughrabi و Anfoka ، ٢٠٠٠). وسجل هذا المرض لأول مرة في كاليفورنيا سنة ١٩٣٣ من قبل Condit و Horne . وينتشر هذا المرض بشكل واسع في محافظة نينوى اذ وصلت نسبة الإصابة به إلى ٧٨.٥ % (الكنو ، ٢٠٠١) وهو أيضا" واسع الانتشار في العالم إذ ذكر Blodgett و Gomec (١٩٦٧) بأن المرض مسجل في كل من البلدان التالية الجزائر وتونس وأستراليا والصين وإنكلترا وبورتو- ريكو ونيوزلاندة وسوريا وأسبانيا والأردن واليونان وفلسطين وتركيا. يتسبب هذا المرض عن فيروس يصيب الأشجار جهازيا" وتعتبر طرق الإكثار الخضري طريقة نقله الرئيسية بسبب استخدامها الواسع وخاصة الأقلام المأخوذة من أمهات مصابة. ونظرا" لعدم وجود دراسة لمقاومة هذا الفيروس في العقل المصابة فقد أجريت هذه الدراسة لإنتاج نباتات تين سليمة من براعم مأخوذة من أشجار تين مصابة باعتماد تقانة الزراعة النسيجية. علما" بأن تقانة الزراعة النسيجية لإنتاج نباتات خالية من الفيروس قد أستخدمت بنجاح للتخلص من العديد من أنواع الفيروسات (Dodds وRoberts ، ١٩٨٥).

مواد وطرق البحث

مصدر البراعم المصابة: تم أخذ (٢٥) قلم من أشجار تين صنف أسود ديالى بعمر ١- ٣ سنوات وطول ٢٠-٢٥سم وقطر ١-٢سم مصابة بالموزائيك ظهرت على أوراقها أعراض موزائيك وتشوه ، وتمت زراعتها في بداية الشهر الثاني في تربة مزيجية معقمة مخلوطة مع البتموس (١:٣) موضوعة في اصص بلاستيكية بقطر ٢٥سم داخل بيت بلاستيكي على درجة حرارة تراوحت من ٢٠-٢٥م ورطوبة نسبية ٧٠-٩٠%. وبعد شهرين من تجذير العقل ونموها والتأكد من أصابتها أولا" وذلك بمشاهدة أعراض الموزائيك الواضحة على الأوراق .

الكشف عن فيروس FMV في العقل: تم التأكد من إصابة العقل المزروعة بالفيروس وذلك بتلقيح نباتات كاشفة تستجيب للفيروس المعني (شتلات تين سليمة من نفس الصنف ونباتات داتورة *Datura stramonium* وبواقع خمسة نباتات لكل نوع وبمرحلة نمو ٥ أوراق) بعصير محضر من أوراق النباتات النامية وباستخدام طريقة الحقن بالعرق الوسطي بواسطة حقنة طبية حجم ١ ملليتر وتركت النباتات في البيت البلاستيكي وروقبت لمدة شهر ، وتم أخذ البراعم الموجودة في إبط الأوراق باستخدام

شفرة حادة معقمة وتم حفظها في أكياس بولي أثيلين ووضعها في الثلاجة والتي نفذت عليها كافة عمليات التجربة.

زراعة البراعم المصابة في الوسط الزرعي : أخذت البراعم الابطية وقطعت بطول ١ ملم باستخدام مشرط حاد معقم ، وعقمت سطحيا" بغمرها في الكحول الأثيلي ٧٠% لمدة دقيقتين أعقبها غمرها في محلول هايبوكلورايت

تاريخ تسلم البحث ٢٠٠٤/٩/١٤ وقبوله ٨ / ٩ / ٢٠٠٥

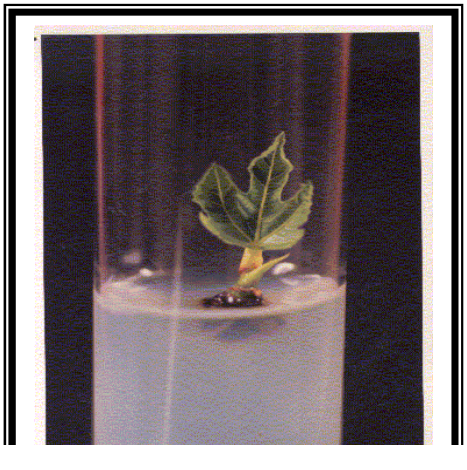
الصوديوم ٦% المخفف بنسبة ١ حجم من المعقم : ١ حجم من الماء المقطر لمدة ٥ دقائق (Ritchie وأخرون ، ١٩٨٩) . بعدها غسلت تلك القطع لثلاث مرات بالماء المعقم ثم وضعت بين ورقتي ترشيح معقمتين لتجفيف القطع. وأعتمد الوسط الغذائي MS (Murashige و Skoog ، ١٩٦٢) إذ أذيبت كافة المكونات الداخلة في تركيبه في الماء المعقم ، وتم إضافة الأجار بمقدار ٨غم/ لتر والسكروز بمقدار ٣٠ غم / لتر. وضبط الأس الهيدروجيني (P^H) للوسط بين (٥.٨-٦) ، ثم عقم بالمؤصدة (ضغط ١.٤كغم / سم^2 وحرارة ١٢١^{o}م لمدة ٢٠ دقيقة). والمدعم بإضافة (٠.١٨ملغم/لتر NAA + ٠.١ ملغم/لتر BA + ٠.٠٣ ملغم / لتر GA_3) بهدف تشجيع نمو البراعم الابطية وتكوين الأفرع الخضرية (Muriithi وأخرون ، ١٩٨٢) . إذ تم نقل كل برعم إلى قنينة زجاجية معقمة قطر ٥ سم وطول ١٥ سم احتوت ٣٠ مل من الوسط MS المعقم ، وتمت كافة إجراءات الزرع تحت شدة إضاءة ١٠٠٠ لوكس ومدة إضاءة ١٦ ساعة / ٨ ساعات ظلام . وتمت إدامة البراعم بعد نموها في الوسط الزرعي كل ثلاثة أيام وذلك بنقل البرعم النامي إلى وسط زرعي جديد. وتمت زراعة أفرع ابطية على وسط MS خالي من منظمات النمو (تجربة المقارنة).

تجذير الأفرع النامية : نقلت الأفرع الخضرية النامية بعد مرور ستة أسابيع من نموها على الوسط الزرعي MS وبعد أن كونت ٣ أوراق /برعم إلى وسط التجذير المكون من وسط MS المضاف أليه منظمات النمو التالية : (٠.٥ ملغم / لتر NAA + ٠.٥ ملغم / لتر IBA) . وتم إضافة الفحم المنشط في وسط التجذير وبنسبة ١% وذلك بعد ملاحظة استمرار تكون المادة الفينولية وعرقلتها تكوين ونمو الجذور.

الاختبار الحيوي للنباتات الناتجة من الزراعة النسيجية : تمت ملاحظة أوراق نباتات التين النامية من الزراعة النسيجية لمدة أسبوعين ، حضر عصير من تلك الأوراق ولكل نبات على انفراد إذ رشح العصير من خلال طبقة مزدوجة من قماش الشاش المعقم حقن ١مل من العصير الخام في العرق الوسطي لأوراق لكل نبات من نباتات الداتورة والتين بعمر ٥ أوراق والمستخدمة كنبات كاشف وأجري التلقيح الميكانيكي بطريقة الحقن باستخدام حقنة طبية حجم ١ مل وبعدها تركت النباتات الملقحة في البيت البلاستيكي وتم مراقبتها لمدة عشرين يوم من التلقيح (محمد على ، ١٩٩٥ والكنو ، ٢٠٠١) .

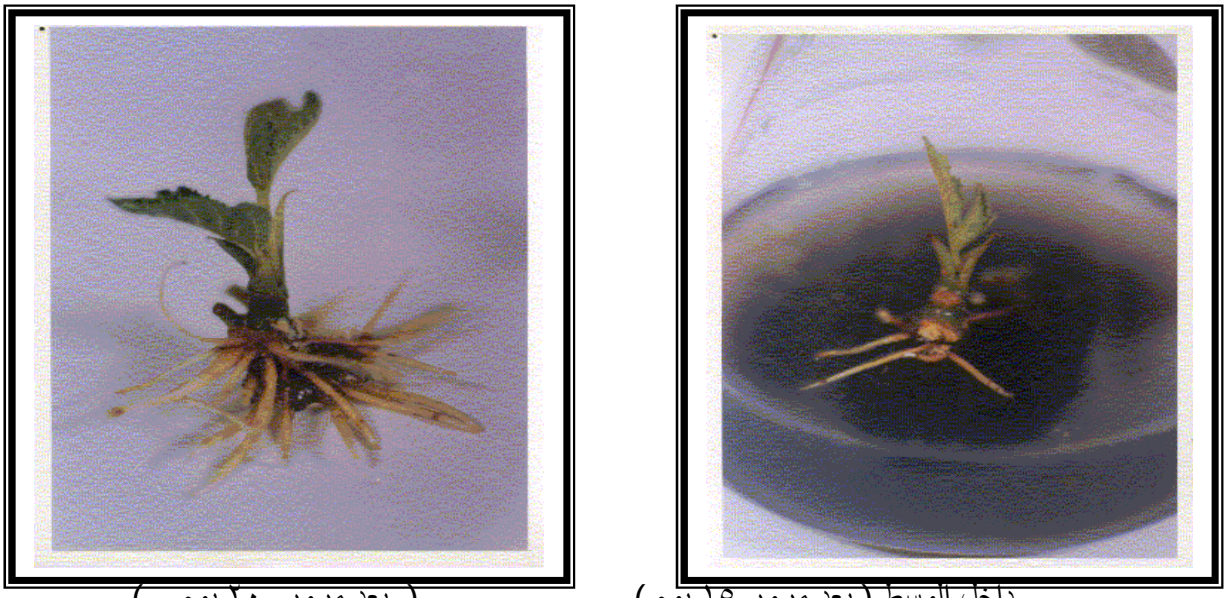
النتائج والمناقشة

نمو البراعم الابطية : نجحت البراعم في النمو بعد حوالي خمسة أيام من زراعتها على الوسط الزرعي MS والمدعم بالمنظمات (٠.١٨ملغم/لتر NAA + ٠.١ ملغم/لتر BA + ٠.٠٣ ملغم / لتر GA_3) إذ أظهرت أولى دلائل للنمو بتكوين كالس وبعد مرور ثلاثة أسابيع تكونت الأوراق بشكل كامل (الشكل ١) . أما الوسط الخالي من منظمات النمو فانه لم يشجع على نمو البراعم وقد نجح باحثون سابقون في أنتاج نباتات تين نسيجيا" من براعم مصابة ومنهم Muriithi وآخرون (١٩٨٢) وGella وآخرون (١٩٩٨).



الشكل (١) : نمو البرعم الابطي المزروع نسيجيا"على الوسط الزرعي MS المدعم (١٨.٠ملغم/لتر NAA + ٠.١ ملغم/لتر BA + ٠.٠٣ ملغم / لتر GA_3) وتكوين الورقة الأولى بعد مرور ٣ أسابيع.

الإدامة الدورية للبراعم النامية : لوحظ بعد زراعة البراعم بثلاثة أيام ظهور حلقة بنية اللون حول قاعدة البراعم المقطوعة والملامسة للوسط ، ويعتقد أنها إفرازات فينولية من قبل النبات اذ بين Muriithi وأخرون (١٩٨٢) بأن هذه الإفرازات مواد عديدة الفينول (Poly phenolic compounds) تفرز من القطع المزروعة على الوسط بعد يومين من زراعتها ولها دور كبير في عرقلة النمو. وللتخلص من أثارها الجانبية تم نقل البراعم كل ثلاثة أيام إلى وسط جديد للتخلص من هذه المواد المفرزة واستمرت هذه العملية حتى تكون ثلاثة أوراق لكل برعم بعد مرور ستة أسابيع من الزراعة ، إذ ذكر Muriithi وآخرون (١٩٨٢) أنه هناك إمكانية التخلص من المواد الفينولية المفرزة من قبل النبات وذلك بتكرار زراعة تلك القطع على وسط زرعي جديد . ولقد فشلت النباتات النامية الجديدة في تكوين الجذور على وسط التجذير (MS + ٠.٥ ملغم /لتر NAA + ٠.٥ ملغم /لتر IBA) ولعل السبب في هذا يعود إلى أكسدة المواد الفينولية في منطقة تكون الجذور وقد وجد Muriithi آخرون(١٩٨٢) Gella وأخرون (١٩٩٨) أن المواد الفينولية تعيق نمو الجذور، ولغرض تجاوز هذه المشكلة ولتشجيع تكوين الجذور فقد تم استخدام الفحم المنشط Charcoal وبنسبة ١% مع وسط التجذير إذ أدى ذلك إلى تشجيع تكوين الجذور وذلك بعد نقل الأفرع النامية مرتين إلى وسط التجذير بوجود الفحم المنشط وبالتركيز المذكور. وأستغرق تكوين الجذور مدة أسبوعين ويبين الشكل (٢) الجذور المتكونة وقد يعلل استعمال الفحم المنشط على تنشيط التجذير في قدرته على أدمصاص المواد الفينولية المعيقة للتجذير والتي ظهرت على القطع النباتية كذلك توفير الظلام في منطقة تكوين الجذور Hartmann وآخرون (٢٠٠٢)، ولقد أستخدم الفحم المنشط من قبل Ritchie وأخرون (١٩٨٩) في تشجيع نمو جذور نبات البنجر المزروع نسيجيا".



داخل الوسط (بعد مرور ١٥ يوم) (بعد مرور ٢٠ يوم)

الشكل (٢) : نشوء الجذور في نبيتات التين في وسط MS المدعم (MS + ٠.٥ ملغم /لتر NAA + ٠.٥ ملغم /لتر IBA) بوجود الفحم المنشط.

الحصول على نباتات تين ناتجة من زراعة براعم مصابة وخالية من فيروس FMV : أشارت النتائج عدم ظهور أعراض موزائيك سواء على أوراق نباتات الداتورة *Datura stramonium* أم التين *Ficus carica* L. مما يؤكد خلو تلك النباتات من الفيروس تحت الدراسة والذي يتميز بظهور أعراض واضحة جدا" على أوراق نباتات التين الفتية والمتمثلة بأعراض موزائيك واضح وتشوه شديد (Nitta وآخرون ، ١٩٩٥) أما على أوراق نبات الداتورة فأن هذا الفيروس يسبب أعراض جهازيه متمثلة باصفرار حواف الأوراق تتطور إلى ظهور بقع كبيرة مصفرة (الكنو ، ٢٠٠١) ، وعدم ظهور هذه الأعراض على النباتات الكاشفة المستخدمة يدل على نجاح تقانة الزراعة النسيجية لبراعم مأخوذة من نباتات تين مصابة في أنتاج شتلات تين سليمة ، وتشجع هذه النتائج إكثار هذا النبات في العراق بطريقة مضمونة وسهلة وبشكل واسع وهي خالية من هذا الفيروس.

OBTAINED HEALTHY FIG PLANTS *Ficus carica* L. FROM INFECTED BUDS BY USING TISSUE CULTURE TECHNIQUE.

Nabil A. Kassim Hameed H .Ali Qutaiba Sh. Al-Ne'ma College of Agric.and Forestry, Mosul Univ., Iraq College of Education

ABSTRACT

Fig trees free of fig mosaic virus were obtained by using tissue culture techniques. Cultured meristimatic axillary buds (1mm) length obtained from infected with the virus. Using MS medium supplemented with (0.18 mg/L NAA + 0.1mg/L BA + 0.03mg/L GA_3). They incubated in cultural room under light intensity 1000 LUX for 16 hours , then the first growth was achieved after five days from culturing and the leaves were completely developed after six weeks after culturing on this medium. The phenolic compounds prevented the formation and growth of roots , but when using charcoal these phenolic compounds were adsorbed and roots were initiated.

المصادر

الفرجي ، أحسان (٢٠٠١) . شجرة التين وتحسين زراعتها في المناطق الجافة. المركز العربي لدراسات المناطق الجافة والأراضي القاحلة (أكساد) ، جامعة الدول العربية.

الكنو ، حميد حمود علي (٢٠٠١) . وبائية وانتشار موزائيك التين في محافظة نينوى. رسالة ماجستير ، كلية الزراعة والغابات – جامعة الموصل.

محمد على ، أمنة (١٩٩٥). دراسة تشخيصية لفايروس موزائيك التين. رسالة ماجستير ، كلية الزراعة – جامعة بغداد.

Al- Mughrabi , K.I. and G.H. Anfoka (2000) . Distribution of fig mosaic In Jordan . Phytopathologyica Mediterranea 39: 263-270 .

Blodgett , E.C. and B. Gomec (1967). Fig mosaic . Plant Dis. Report 51: 893-896

Condit , I.J. and W.T. Horne (1933). A mosaic of the fig in california. Phytopathology 23: 887-896.

Dodds, J.H., and L.W. Roberts (1985) . Experiments in Plant tissue Culture . (2^{nd}.ed.) , Cambridge Univ. press.

Gella ,R., J.A. Marin , M. Lopez Corrales and F.Toribio (1998) .Elimination of fig mosaic from fig shoot-tip cultures by thermotherapy. Acta Hort. 480: 173-177.

Hartmann, H. T. , D. E. Kester, F. T. Davies and R. L. Geneve (2002). Plant Propagation. Principles and Practices, seventh edition, Prentice Hall, USA.

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

Muriithi, L.M., T.S. Rangan and B.H. Waite (1982). In vitro propagation fo fig through shoot tip culture . Hortscience 17: 86-87.

Nitta, H., J. Imada, T.Kano, K.Nakamoto and Sh. Ogasawara (1995). Occurrence and cause of fig mosaic symptoms in Hiroshima Prfectural Agriculture Research Center 62: 1-9.

Ritchie, G.A. , K.C. Short , and M.R.Davey (1989). In vitro shoot regenration from callus leaf axils and petoles of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) Exp. Botany 40: 277-283.