

**إكثار نبات الشبو الشجيري *Cestrum nocturnum* L خارج الجسم الحي (*In vitro*)**

ليلى شعبان محمد المزوري  
كلية الزراعة/ جامعة دهوك/ العراق

عمار زكي قصاب باشي  
كلية الزراعة والغابات/ جامعة الموصل/ العراق

**الخلاصة**

في هذه الدراسة استخدمت تقنية زراعة الأنسجة لنسج وتضاعف أجزاء نباتية مختلفة لنبات الشبو الشجيري ومن ثم تجذير الأفرع الناتجة ونقلها إلى البيت الزجاجي بعد الأقامة . إذ درس خلال مرحلة النسج مقدرة الأجزاء النباتية أطراف الأفرع وعقل عقدة مفردة وبراعم نورية غير ناضجة ونصل الورقة، حامل الورقة والسلامية على إعادة تكوين راع عند زراعتها على وسط MS الصلب المجهز بـ صفر و١ و٢ BA / ، وتبين بعد مرور أربعة أسابيع من الزراعة بأن أفضل إستجابة حصلت من العقد المفردة ثم أطراف الأفرع ف نورية غير الناضجة على التوالي وخاصة في المجهز بـ ملغم/لتر في حين لم تستجب باقي الأجزاء النباتية . وهذا ما دفع إلى إختبار مقدرة أطراف الأفرع والعقد المفردة على التضاعف عند زراعتها على وسط مجهز بـ BA بتركيز صفر و١.٥ و٢ و٢.٥ ملغم/لتر NAA بتركيز . . . . لتر وتبين بعد مرور ثمانية أسابيع / في وسط التضاعف بأن أفضل النتائج حدثت عند الزراعة على الوسط المجهز بـ BA / + . . . . NAA / . فرع/ طرف فرع. الناتجة من مرحلة عند زراعتها على وسط تكون من نصف تركيز أملاح MS ومجهز بـ . IBA / ونمت بنجاح في البيت الزجاجي بعد أفلمتها .

**المقدمة**

تعد شجيرات الشبو الشجيري *Cestrum nocturnum* أحد أهم شجيرات الزينة العطرية المنتشرة زراعتها في العراق ، تتكاثر بالعقل وحيانا بالبذور لكن نباتاتها حساسة جدا لانخفاض درجات الحرارة وبالتالي عادة ماتت نمواتها الخضرية الغضة في الشتاء ، والتي تمثل المصدر الرئيس لإكثارها بالعقل (السلطان وآخرون ، ١٩٩٢) فضلا عن استبعاد إكثارها بالبذور من قبل العديد من الباحثين ربما بسبب بطيء نمو الشتلات النامية أو لإعطائها نباتات مغايرة وراثيا للام.

من جهة تعد تقنية زراعة الأنسجة واحدة من أحدث وأهم طرق الإكثار الخضري ، إذ تسمح بأستعمال أجزاء نباتية مختلفة لأكثر النباتات وبأعداد كبيرة وفي أي وقت من السنة من دون حدوث تغيرات وراثية (١) . فقد أشار Atta–Alla وآخرون (٢٠٠٣) عند زراعتهم العقد والقلم النامية

الديباج *Bombax malabricum* MS المزود بتركيز مختلفة من BA

BA / /

نامية و . / عقدة في حين حصلت أكبر استطالة للأفرع على الوسط المجهز بـ ١ BA / وبلغت ٤ و ٣.٤ سم على التوالي. وتمكن Roy وآخرون (٢٠٠٤) من إكثار شجيرة الورد *Rosa sp* وذلك بزراعة العقد والقلم النامية على وسط MS المجهز بتركيز مختلفة من BAP وتكونت الأفرع الخضرية من كلا الجزئين على الوسط المجهز بـ . / BAP إلا أن أكبر عدد من الأفرع تكون من العقد وبلغ . فرع/جزء نباتي مقارنة بالقلم النامية التي كونت ٥ فرع/جزء نباتي . ولاحظ Munshi وآخرون (٢٠٠٤) أن زراعة عقد شجرة المطاط البنغالي *Ficus benghalensis* على وسط MS المجهز بـ . و ٢ و ٣ و ٤ ملغم/لتر BA، أدت إلى تفتح البراعم الجانبية بعد ١-٢ أسبوع من أسابيع من الزراعة ووصل عددها . / جزء نباتي عند الزراعة

BA /

هدف البحث إلى تحديد أفضل الأجزاء النباتية لإنشاء الزروع وأفضل المعاملات التي يمكن أتباعها في مرحلة نشوء الزروع والتضاعف للحصول على أكبر عدد من النباتات .

## مواد البحث وطرائقه

أجريت الدراسة في مختبر زراعة الأنسجة والخلايا النباتية / كلية الزراعة والغابات/ جامعة ساقية غضة حديثة النمو بطول - أمهات - نامية في الحقل وخالية من المختبر حيث أزيلت المخرقة والمرضية خلال الفترة من تموز - تشرين الأول ٢٠٠٥ لرابعة وما تحتها من الأوراق وغسلت بالماء الجاري لمدة ٦٠ دقيقة بعدها نقلت منضدة انسياب الهواء الطبقي لإجراء التعقيم السطحي لها وذلك بغمرها في الكحول الايثيلي بتركيز لدقيقة واحدة ثم في محلول هايپوكلورات الصوديوم NaOCl بتركيز . % لعشرين دقيقة وبعد ذلك غسلت بالماء المقطر والمعقم خمسة مرات متتالية للتخلص من

استخدم وسط (MS Skoog و Murashige) النباتية في جميع مراحل الدراسة بعد تجهيزه بتركيز مختلف من BA خلال مرحلة النشوء و NAA + BA ولتجذير العقل استخدم وسط MS بنصف التركيز من (MS / ) مجهز بـ . IBA بعد تحضير الوسط أصيف له . ر وضبط أسه الهيدروجيني . . . . . أنابيب الزراعة وعقم لمدة عشرين دقيقة عند درجة حرارة ٥

عند الزراعة قطعت الفروع المعقمة إلى ستة أنواع من الأجزاء النباتية تمثلت باطراف الأفرع وعقل عقدة مفردة وبراعم زهرية غير ناضجة بطول ٠.٧ - ٠.٨ سم فضلاً عن أجزاء من نصل الورقة بطول ١ سم وعرض ٠.٥ سم تحوى في وسطها العرق الوسطي وحامل الورقة بطول ١ سم أخذت من الورقة الثالثة على الفروع ، فضلاً عن السلاميات التي جهزت من السلامة الرابعة والخامسة من الفروع وبطول ١ سم. زرعت الأجزاء النباتية بصورة عمودية في الوسط الغذائي باستثناء أجزاء نصل الورقة، زرعت بصورة أفقية ومن ثم حضنت في غرفة النمو عند

/ يوم.

بمرحلة النشوء عدد الأفرع/ جزء نباتي بعد مرور ٤ أسابيع من الزراعة / جزء نباتي وطول الفروع سم بعد مرور ٨ أسابيع من الزراعة. الفروع عت في وسط MS بنصف التركيز من الأملاح مجهز بـ ٠.٥ ملغم / لتر IBA أسابيع من الزراعة أقلمت الفروع المجذرة بزراعتها في وسط تكون من خليط المزيج النهري والبيتموس بنسبة : وتحضينها في غرفة النمو بعد تغطيتها بغطاء بلاستيكي شفاف خلال الأسبوعان الأوليان من الزراعة , تم رفعه تدريجياً مع بداية أزيل بالكامل في نهاية بعدها نقلت النباتات للنمو في البيت الزجاجي . نفذت التجارب باستخدام التجربة العملية بإتباع التصميم العشوائي الكامل CRD باستخدام ١٠ مكررات لكل معاملة وتمت المقارنة بين المتوسطات

## النتائج والمناقشة

## ١- مرحلة النشوء:

تأثير BA في تكوين الأفرع من الأجزاء النباتية : بينت النتائج اختلاف استجابة الأجزاء النباتية المستخدمة للإكثار في تكوين الأفرع ، إذ فشلت كل من السلاميات ، نصل الورقة وحامل الورقة في تكوين الأفرع عند جميع تراكيز BA المستخدمة أما أطراف الأفرع والعقد المفردة والبراعم الزهرية غير الناضجة فاستجابت وبدرجات مختلفة (الجدول ١ والأشكال ١ و ٢ و ٣) إذ حصلت الاستجابة الأكبر لتكوين الأفرع في كل من العقد ثم أطراف الأفرع واللتنين لم تختلفا معنوياً فيما بينهما لكنهما تفوقتا معنوياً على البراعم الزهرية غير الناضجة وأعطت بعد مرور ٤ أسابيع من الزراعة عدد أفرع بلغ معدله ٢.٠٤ و ٢.٠٢ و ١.٤٦ فرع/جزء نباتي على التوالي. قد يرجع فشل السلاميات ، نصل الورقة وحامل الورقة في تكوين الأفرع إلى خلوها من البراعم الطرفية والجانبية مقابل تواجدها مثل هذه البراعم في أطراف الأفرع والعقد المفردة والبراعم النورية غير الناضجة إذ أشار الرفاعي والشويكي (٢٠٠٢) إلى أن الأجزاء النباتية التي تحمل براعم جانبية تكون أفرع جانبية بسرعة خلال مرحلة النشوء أو قد يرجع إلى عدم ملائمة تراكيز BA المستخدمة أو إلى عدم كفاية مدة الزراعة ٤ أسابيع لتحفيز نشوء البراعم العرضية ونموها أو لتداخل أكثر من سبب من هذه الأسباب. إن سبب اختلاف مقدرة أطراف الأفرع والعقد المفردة والبراعم النورية غير الناضجة في تكوين الأفرع ربما يعود إلى اختلاف درجة نضج و تمايز الخلايا المكونة لهذه الأعضاء وما يتبعه من اختلاف محتوياتها الهرمونية والغذائية . إذا أشار Omura و Hidaka (١٩٩٢) إلى أن الأجزاء

النباتية الكبيرة الحاوية على نسيج البرنكيما والأوعية الناقلة والكامبيوم تظهر استجابة بغض النظر عن تراكيز كل من الأوكسين و السايبتوكاينين في الوسط الغذائي .

أما عن تأثير التراكيز المختلفة للـ BA في تكوين الأفرع من الأجزاء النباتية ، فيلاحظ بأن إضافة BA أدت إلى زيادة معدل عدد الأفرع النامية من الجزء النباتي مقارنة مع معاملة المقارنة وحصلت أفضل النتائج عند زراعة الأجزاء النباتية على الوسط المجهز بـ ٢ ملغم/لتر وبلغت ٢.٣٠ فرع/جزء نباتي والذي تفوق معنوياً على باقي المعاملات عدا المعاملة التي زرعت فيها الأجزاء النباتية على وسط احتوى على ٣ / BA لت ٢.٠٣ فرع/جزء نباتي في حين أعطت معاملة المقارنة أقل عدد من الأفرع بلغ . / . إن التأثير الإيجابي للـ BA في زيادة عدد الأفرع قد يرجع إلى الدور المهم الذي تلعبه السايبتوكاينينات في زيادة تخليق RNA والبروتينات والإنزيمات داخل الخلية والتقليل من تأثير السيادة القمية ( ) وهذا يتفق مع ما توصل له Munshi ( ) عند إكثاره خارج الجسم الحي أفضل تركيز لتكوين الأفرع لشج هو BA / .

يلاحظ من الجدول ذاته أن للتداخل بين الجزء النباتي وتراكيز BA تأثيراً معنوياً في زيادة عدد الأفرع ، إذ أعطت العقد المفردة المزروعة على الوسط المجهز بـ BA أعلى معدل لعدد الأفرع فرع/جزء نباتي واختلف معنوياً عن بقية المعاملات عدا المعاملات التي زرعت فيها العقد المفردة وسط MS المزود بـ ٣ و ٤ ملغم/لتر BA، والمعاملات التي زرعت فيها أطراف الأفرع على الوسط MS المجهز بـ ٢ و ٣ و ٤ ملغم/لتر BA. إن اختلاف استجابة أطراف الأفرع والعقد المفردة والبراعم الزهرية غير الناضجة للتراكيز المختلفة من BA لتكوين الأفرع قد يعود إلى اختلاف حاجة هذه الأجزاء من نسبة السايبتوكاينين إلى الأوكسين اللازمة لإحداث الاستجابة إذ أن ظهور الأفرع على النسيج النباتي المزروع يعتمد على التجهيز الخارجي للأوكسين و السايبتوكاينين ومن ثم حدوث حالة توازن هرموني بين تراكيز الأوكسين و السايبتوكاينين داخل الجزء النباتي (Skoog و Miller ، ١٩٥٧). تتفق هذه النتائج مع Atta-Alla ( ) عند إكثارهم لشجرة الديباج *Bombax malabicum* من حيث أن القمم النامية والعقد في أوساط مجهزة بـ BA يؤدي إلى تكوين أكبر عدد من الأفرع ومع ما توصل له القضاة ( ) من إمكانية نمو الأفرع الخضريّة من البراعم الزهرية غير الناضجة لنبات *Ghrysanthemum sp*. عند زراعتها على أوساط مجهزة بتراكيز IAA + BA .

( ) : تأثير الجزء النباتي وتراكيز مختلفة مـ BA تداخل بينهما في معدل عدد الأفرع النامية من أسابيع من الزراعة على وسط MS .

تأثير التركيز	معدل عدد الأفرع النامية :			تركيز / BA
	البراعم النورية غير الناضجة			
.	هـ .	هـ .	هـ .	.
.	هـ- .	هـ- .	هـ- .	.
.	هـ- .	.	.	.
.	هـ د .	.	- .	.
.	هـ- .	- .	- .	.
	.	.	.	تأثير الجزء النباتي

المعدلات التي تحمل أحرافاً متشابهة لا تختلف عن بعضها معنوياً حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال .



MS المجهر بتراكيز مختلفة من BA / لتكوين الأفرع بعد مرور أسابيع من الزراعة من اليمين إلى اليسار .

:( )



MS المجهر بتراكيز مختلفة من BA / لتكوين الأفرع بعد مرور أسابيع من الزراعة من اليمين إلى اليسار .

:( )



MS المجهر بتراكيز مختلفة من BA / لتكوين الأفرع بعد مرور أسابيع من الزراعة من اليمين إلى اليسار .

:( ) :استجابة البراعم الزهرية غير الناضج

-٢ مرحلة التضاعف الخضري:

٢-١- تأثير BA و NAA في معدل عدد الأفرع : يبين الجدول ( ) بأن للجزء النباتي تأثيراً معنوياً في عدد الأفرع النامية منه إذ تفوقت العقد المفردة معنوياً في معدل عدد الأفرع المتكونة منها . /

يعود إلى اختلاف درجة نضج وتميز خلايا وأنسجته ويتفق مع ما توصل له Roy ( ) إكثارهم لشجيرة *Rosa sp* إذ لاحظوا تفوق العقد المفردة على أطراف الأفرع في قدرتها على التضاعف وتكوين الأفرع عند زراعتها على أوساط احتوت تداخلات من الاوكسينات والساييتوكاينينات . كذلك يوضح الجدول بأن إضافة BA إلى الوسط الغذائي أدى إلى الحصول على فروقات معنوية في معدل عدد الأفرع النامية من الجزء النباتي ، إذ تفوقت الأجزاء النباتية المزروعة في الوسط المجهز بـ ٢ و ٢.٥ ملغم/لتر BA معنوياً على معاملة المقارنة التي خلقت منه وكونت ٢.٥٥ و ٣.٧٥ فرع/جزء نباتي على ي مقابل ١.٣٥ فرع/جزء نباتي في معاملة المقارنة. إن تفوق المعاملات المجهزة بـ ٢ و ٢.٥ ملغم/لتر BA في قدرتها على تكوين الأفرع من الجزء النباتي مقارنة مع معاملة المقارنة التي خلقت منه يمكن تفسيره ضوء ما ذكر في الفقرة ١ أعلاه، وهذا يتفق مع ما وجده Munshi وآخرون (٢٠٠٤) عند إكثارهم *Ficus bengalesis* L

أما فيما يخص تأثير إضافة NAA BA الأجزاء النباتية ، فيلاحظ نفسه بأنه أدى إلى زيادة متوسطات عدد الأفرع المتكونة من الجزء النباتي مقارنة مع معاملة المقارنة بنفس التركيز المستخدم BA

لعدد الأفرع ٥.٣٥ فرع/جزء نباتي في المعاملة المجهزة بـ ٢.٥ ملغم/لتر BA + NAA / والتي تفوقت معنوياً على باقي المعاملات عدا المعاملة التي احتوت ٢.٥ BA / + NAA / والتي كونت ٤.٦٠ فرع/جزء نباتي. إن التأثير الإيجابي لإضافة NAA BA في زيادة عدد الأفرع يمكن تفسيره على أساس إن حركة الساييتوكاينينات تنشيط بوجود الاوكسين وبالتالي تتيح الفرصة لتكوين ونمو أكبر عدد من البراعم (محمد و اليونس ، ١٩٩١) أو إلى اشتراك الاوكسين والساييتوكاينين في انقسام الخلية إذ يساعد الأول في انقسام النواة في حين يساعد الثاني في انقسام الساييتوبلازم وبالتالي تنشأ الأفرع ويسرع التمايز (شراقي وآخرون، ١٩٩٨) وهذا يتفق مع ما وجده Atta-Alla وآخرون (٢٠٠٣) عند إكثارهم لشجيرة فرشاة البطل ومع ما توصل له Rout وآخرون (٢٠٠٤) عند إكثارهم لنبات *Clitoria ternatea* .

كما يبين الجدول أن للتداخل المشترك بين الجزء النباتي وتراكيز (NAA + BA) تأثيراً في متوسط عدد الأفرع المتكونة من الجزء النباتي إذ يلاحظ بشكل عام أن متوسط عدد الأفرع لكل جزء نباتي ازداد عند استخدام التراكيز المختلفة من NAA + BA ولكل من أطراف الأفرع والعقد المفردة مقارنة مع معاملات المقارنة لكل منهما والتي خلقت من منظمات النمو وتم الحصول على أعلى معدل لعدد الأفرع /جزء نباتي في المعاملة التي زرعت فيها العقد المفردة على الوسط المزود بـ BA / + NAA / ملغم/لتر والتي تفوقت معنوياً على جميع التداخلات عدا المعاملة التي زرعت فيها العقد المفردة على الوسط المجهز بـ ٢.٥ ملغم/لتر BA + ٠.٥ ملغم/لتر NAA والتي أعطت ٦.٤٠ فرع/جزء نباتي. أما الحصول عليه عند الزراعة على الوسط المجهز /جزء نباتي . إن التأثير الإيجابي لإضافة NAA BA / + NAA / يتفق مع ما توصل له Hossain ( )

(٢٠٠٥) عند إكثاره لشجيرة السدر أيضا والذي فسّر نتائجه على أساس إن دور الساييتوكاينينات يزداد في إحداث عملية التضاعف عند وجودها مع الاوكسينات فضلاً عن إن حركة الساييتوكاينينات تنشيط بوجود الاوكسينات مما يتيح الفرصة لأكثر عدد من البراعم لان تتكون وتنمو.

٢-٢ تأثير BA و NAA في معدل أطوال الأفرع: يظهر من نتائج الجدول (٣) عدم وجود تأثير معنوي للجزء النباتي في معدل أطوال الأفرع النامية من زراعة العقد المفردة أو أطراف الأفرع. كذلك يبين الجدول BA في الوسط الغذائي لم يحدث زيادات معنوية في معدل أطوال الأفرع النامية من الجزء النباتي

أما فيما يخص تأثير إضافة NAA BA إلى وسط الزراعة فيلاحظ من الجدول ذاته بأنها سببت زيادات في أطوال الأفرع لبعض المعاملات مقارنة مع استخدام BA عند نفس التركيز المدروس لوحده لكن هذه الزيادات لم تكن معنوية .



**PLANT. *In vitro* PROPAGATION OF *Cestrum nocturnum* L**

L. S. AL- Mizory

A. Z. Kassab Bashi

Coll. of Agric./ Univ. of Dohuk / Iraq Coll. of Agric&amp; Forest./ Univ. of Mousl / Iraq

**ABSTRACT**

Tissues culture technique was conducted to initiate and multiply different explants of *cestrum nocturnum* plant. Rooting the shoots produced plants and transferred to greenhouse after acclimation. During initiation stage, ability of different explants Apical shoots, single node cuttings, immature inflorescence bud, leaf blades, leaf petioles and internodes were tested for shoots proliferation when cultured on solid MS medium supplemented with (0, 1, 2, 3, 4) mg/l BA , after 4 weeks of culturing, best results were obtained from single node cuttings, apical shoot and immature inflorescence buds respectively, in medium supplemented with 2 mg/L BA, while the other explants were failed to produce shoots. Depending on this result we tested the ability of single nodes and apical shoots for multiplication during culture on medium supplemented with (0, 1.5, 2.0, 2.5) mg/L BA alone or with NAA at concentration (0.1, 0.3, 0.5) mg/L, after 8 weeks from culturing in the multiplication medium the best result was achieved when subculturing in the medium supplemented with 2.5 mg/L BA + 0.3 mg/L NAA which produce 6.7 shoots/single nodes and 4.0 shoots/apical shoot. Shoots produced from multiplication stage were rooted at 90% when cultured on 1/2 MS salts medium supplemented with 0.5 mg/L IBA. Acclimated plants grew well under greenhouse conditions.

**المصادر***Zizyphus spina Christi* willd

محمد احمد كريم ( ) .

رسالة ماجستير، كلية

الرفاعي، عبد الرحيم توفيق و سمير عبد الرازق الشوبكي ( ) . تقنيات القرن لتحسين النبات  
القاهرة .رهيف الأمير هيل ، صالح محسن بدر ، وفاء إبراهيم حسين و ميساء عبد الكريم حسن ( ) .  
MM بزراعة الأنسجة ، مجلة الزراعة العراقية . ( ) :

( ) . الزينة .

شراقي، محمد محمود وعبد الهادي خضر وعلي سعدالدين سلامة ونادية كامل ( ) . فسيولوجيا النبات،  
الدار العربية للنشر والتوزيع، الطبعة الثانية، القاهرة، مصر

( ) .

ماجستير ، كلية الزراعة والغابات/  
الكناني، فيصل رشيد ( ) . زراعة الأنسجة والخلايا النباتية. مديرية دار الكتب للطباعة والنشر/

محمد، عبد العظيم كاظم ومؤيد احمد اليونس ( ) . أساسيات فسيولوجيا النبات .

التعليم العالي والبحث العلمي/

- Atta – Alla , H. K. ; E. I. Moghzy ; A. K. Waly & S. Mohammed (2003). Micropropagation of *Bombax malabricum* and *Callistemon lanceolatus* Alex . J. Agric. Res. 48 (1): 103 – 114 .
- Hossain , S. N. ; M. K. Munshi ; M. R. Islam ; L. Hakim & M. Hossain (2003) . *In vitro* propagation of Plum (*Ziziphus jujubalam* Lam.) Plant Tissue Cult. 13(1): 81–84 .
- Lundergan , C. A. & J. Janick (1980). Regeneration of Apple shoot proliferation and growth *in vitro* , Hort. Res. 20: 19 –24 .
- Munshi , M. K. ; L. Hakim ; M. R. Islam & G. Ahmed (2004) . *In vitro* clonal propagation of Banyan (*Ficus benghalensis* L.) Through Axillary Bud culture . International J. of Agriculture and Biology. 6(2) : 321 – 323 .
- Murashige, T. & F . Skoog (1962) . A revised medium for rapid growth and bio – assays with Tobacco tissue culture . Phsiologia plantarum . 15:473-497.
- Omura , M. & T. Hidaka (1992) . Shoot tip culture of Citrus : Longevity of culture shoots . Bull. Fruit Tree Research Station , Japan. 22: 37– 48 .
- Rout , G. R. (2004) . Effect of cytokinins and auxins on micropropagation of *Clitoria ternatea* L. Biol. Lett. 41 (1): 21 – 26.
- Roy , P. K. ; A. N. K. Mamun & G. Ahmad (2004) . *In vitro* plantlets regeneration of Rose . Plant Tissue Cult. 14 (2) : 149 – 154 .
- Skoog, F. & C. O. Miller (1957). Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue culture *In vitro*. Symp. Soc. Exp. Biol. 11: 118–148.