وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية الزراعة

تأثير البنزل أدنين واندول حامض البيوترك في الاكثار والتركيب الدقيق لبعض اصناف الكاردينيا خارج الجسم الحي

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية الزراعة-جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات درجة الماجستير في العلوم الزراعية

البستنة وهندسة الحدائق

من قبل

رويده قاسم عبدالله

باشراف

أ.د اياد عاصي عبيد

1444هـ

2022م

Scanned by TapScanner

بسم الله الرحمن الرحيم

فَتَعَالَى اللَّهُ الْمَلِكُ الْحَقُّ ۗ وَلَا تَعْجَلْ بِالْقُرْآنِ

مِن قَبْلِ أَن يُقْضَىٰ إِلَيْكَ وَحْيُهُ ۖ وَقُل رَّبِّ

زِدْنِي عِلْمًا ﴿١١٤﴾

صدق الله العظيم

سورة طه اية (١١٤)

Scanned by TapScanner

الخلاصة

نفذت التجربة في مختبر زراعة الانسجة التابع لقسم البستنة وهندسة الحدائق/ كلية الزراعة/ جامعة ديالى للفترة من بداية شهر آب 2021 – اواخر كانون الثاني 2021. بهدف تطوير طرق اكثار نبات الكاردينيا *Gardenia jasminoides* خضريا بتقنية زراعة الأنسجة ودراسة التركيب بقمة الفرع باستخدام تقنية التركيب الدقيق (Micrografting) عن طريق التركيب على شكل V ودور اضافة منظمات النمو في نجاح التركيب، تضمنت الدراسة عدة تجارب اولها الاكثار الدقيق بهدف التضاعف لأطراف افرع نبات الكاردينيا *Gardenia jasminoedis* للصنف Veitchii والصنف Ellis والاصل *G.thunbergia* المأخوذة من الحقل، عقمت الاجزاء النباتية بمحلول هايبوكلورات الصوديوم بالتراكيز 5% و10% على 3 فترات زمنية مختلفة 5،10،15 دقيقة، ودراسة تأثير البنزايل ادنين (BA) المضاف الى وسط MS بالتراكيز التالية (0.0،0.5،1.0،1.5،2.0) ملغم لتر$^{-1}$، فضلا عن تجربة تجذير الافرع الناتجة من التضاعف والافرع المأخوذة من الأصول النامية في الحقل للأصل *G.thunbergia* بخمس تراكيز من أندول حامض البيوتريك (IBA) (0.0،0.5،1.0،1.5،2.0) ملغم لتر$^{-1}$ بالتداخل مع قوة أملاح وسط MS بكامل ونصف قوة الأملاح، اضافة الى تجربة التركيب الدقيق للصنف Veitchii والصنف Ellis المستخدمة كطعوم على الاصل *G.thunbergia* المستخدم كأصل واضيفت الى منطقة التطعيم كمية قليلة من الوسط الغذائي المجهز بتركيز من BA لتشجيع الأنقسام الخلوي ومنع دخول الهواء الى منطقة الألتحام بالتراكيز (0.0،0.5،1.0،1.5). ثم أقلمة النبيتات الناتجة تشير نتائج التجارب الأولى، الحصول على افضل نسبة تعقيم عند تركيز 10% ولمدة 10 دقائق من هايبوكلورات الصوديوم أذ أعطى أعلى نسبة تعقيم 100% ، وأفضل تضاعف عند تركيز 2.0 ملغم لتر$^{-1}$ من BA لكل من الأصل *G.thunbergia* والصنف Ellis في حين أعطى التركيز 1.0 ملغم لتر$^{-1}$ أفضل تضاعف للصنف Veitchii، وكان لتركيز 1.0 ملغم لتر$^{-1}$ من IBA عند نصف قوة الأملاح أفضل النتائج في تجذير الافرع المأخوذة من النباتات النامية حيث ان الأوكسينات تعمل على زيادة نسبة التجذير بالأضافة الى تسريع تكوين الجذور، واعطى تركيز 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ من IBA عند نصف قوة الاملاح افضل النتائج في تجذير النباتات الناتجة من تجربة التضاعف، واعطى تركيز 0.5 ملغم لتر$^{-1}$ من BA افضل نتيجة لنجاح عملية التركيب صنف Veitchii على الأصل *G.thunbergia*، في حين اعطت معاملة المقارنة وتركيز 0.5 ملغم لتر$^{-1}$ من BA افضل نتائج لنجاح تركيب الصنف Ellis على الأصل *G.thunbergia*.

Scanned by TapScanner

List of Contents قائمة المحتويات

رقم الفقرة	الموضوع	الصفحة
-	الخلاصة	-
1	المقدمة Introduction	1
2	مراجعة المصادر Review of Literature	3
1-2	نبات الكاردينيا gardenia plant	3
2-2	التصنيف النباتي Plant taxonomy	3
3-2	الاكثار الدقيق باستخدام تقنيات زراعة الانسجة Micropropagation using tissue culture techniques	4
1-3-2	مرحلة النشوء Initiation stage	5
2-3-2	مرحلة التضاعف الخضري Multipliation stage	6
4-2	دور منظمات النمو في الاكثار الدقيق للكاردينيا	6
1-4-2	دور الاوكسين في التجذير	8
5-2	لتركيب الدقيقMicrografting	9
6-2	الاقلمة	11
3	المواد طرائق العمل	13
1-3	تحضير الاجزاء النباتية وتعقيمها Preparation and sterilization of explants	13
2-3	تعقيم الادوات Sterlization of Tools	14

Scanned by TapScanner

3-3	تحضير الوسط الغذائي وتعقيمه Preparation and sterilization of Nuteient Media	14
4-3	تجارب الاكثار الدقيق Micro propagation	17
1-4-3	دراسة تأثير BA في تضاعف اطراف الافرع	17
5-3	تجارب مرحلة التجذير Rooting stage	17
1-5-3	اختبار تأثير تداخل IBA مع كامل ونصف قوة املاح الوسط (MS) في نسبة التجذير للافرع المأخوذة من النباتات النامية في الحقل ومن الافرع الناتجة من مرحلة التضاعف.	17
6-3	تجربة التركيب الدقيق	18
7-3	الاقلمة	19
8-3	التحليل الاحصائي والتصميم التجريبي	19
4	النتائج والمناقشة	20
1-4	تجارب الاكثار الدقيق	20
1-1-4	تأثير هايبوكلورات الصوديوم في تعقيم الاجزاء النباتية	20
1-1-1-4	تأثير هايبوكلورات الصوديوم في تعقيم الاجزاء النباتية للاصل *G.thunbergia*	20
2-1-1-4	تأثير هايبوكلورات الصوديوم في تعقيم الاجزاء النباتية للصنف Ellis	21
3-1-1-4	تأثير هايبوكلورات الصوديوم في تعقيم الاجزاء النباتية للصنف Veitchii	21
2-4	تأثير تراكيز مختلفة من BA في تضاعف اطراف الافرع	23

Scanned by TapScanner

1-2-4	تأثير تراكيز مختلفة من BA في تضاعف اطراف الافرع للاصل *G.thunbergia*	23
1-1-2-4	عدد الافرع	23
2-1-2-4	طول الافرع (سم)	23
3-1-2-4	عدد الأوراق	23
2-2-4	تأثير تراكيز مختلفة من BA في تضاعف اطراف الافرع للصنف Ellis	24
1-2-2-4	عدد الأفرع	24
2-2-2-4	طول الأفرع (سم)	25
3-2-2-4	عدد الأوراق	25
3-2-4	تأثير تراكيز مختلفة من BA في تضاعف اطراف الافرع للصنف Veitchii	26
1-3-2-4	عدد الأفرع	26
2-3-2-4	طول الأفرع (سم)	26
3-3-2-4	عدد الأوراق	26
3-4	تجارب مرحلة التجذير Rooting stage	29
1-3-4	تأثير IBA وقوة املاح الوسط MS في تجذير الافرع المأخوذة من الاصل النامي في الحقل	29
1-1-3-4	النسبة المئوية للتجذير%	29
2-1-3-4	عدد الجذور	30
3-1-3-4	طول الجذور (سم)	31
4-1-3-4	عدد الأوراق	32
5-1-3-4	طول الأفرع (سم)	33
2-3-4	تأثير IBA وقوة املاح الوسط MS في تجذير الافرع الناتجة من تجربة التضاعف	34
1-2-3-4	النسبة المئوية للتجذير%	34
2-2-3-4	عدد الجذور	35

Scanned by TapScanner

3-2-3-4	طول الجذور (سم)	36
4-2-3-4	عدد الأوراق	37
5-2-3-4	طول الافرع (سم)	38
4-4	تجربة التركيب الدقيق	42
1-4-4	تجربة اتركيب الصنف Ellis على الاصل *G.thunbergia* وتأثير تراكيز BA في نجاح عملية التركيب	42
1-1-4-4	النسبة المئوية لنجاح التركيب	42
2-1-4-4	طول الطعم (سم)	42
3-1-4-4	عدد الافرع	42
4-1-4-4	عدد الاوراق	42
2-4-4	تجربة تركيب الصنف Veitchii على الاصل *G.thunbergia* وتاثير تراكيز BA في نجاح عملية التركيب	43
1-2-4-4	النسبة المئوية لنجاح التركيب	43
2-2-4-4	طول الطعم (سم)	43
3-2-4-4	عدد الافرع	44
4-2-4-4	عدد الاوراق	44
5-4	تجربة الاقلمة	45
6-4	الدراسة التشريحية	45
5	الاستنتاجات والتوصيات Conclusions and Recommendations	47
-	المصادر العربية	48
-	المصادر الاجنبية	50

Scanned by TapScanner

قائمة الجداول

الرقم	عنوان الجدول	الصفحة
1	مكونات الوسط الغذائي MS	15
2	الاجهزة والادوات المستخدمة في التجربة	16
3	تاثير تراكيز هايبوكلورات الصوديوم ومدة التعقيم في النسبة المئوية لنجاح التعقيم لافرع اصل نبات الكاردينيا *G.thunbergia* بعد مرور 4 اسابيع من الزراعة على وسط MS خال من منظمات النمو النباتية	20
4	تأثير تراكيز هايبوكلورات الصوديوم ومدة التعقيم في النسبة المئوية لنجاح التعقيم لافرع نبات الكاردينيا صنف Ellis بعد مرور 4 اسابيع من الزراعة على وسط MS خال من منظمات النموالنباتية	21
5	تاثير تراكيز هايبوكلورات الصوديوم ومدة التعقيم في النسبة المئوية لنجاح التعقيم لافرع نبات الكاردينيا صنف Veitchii بعد مرور 4 اسابيع من الزراعة على وسط خال من منظمات النموالنباتية	22
6	تاثير تراكيز مختلفة من BA في نمو وتضاعف اصل الكاردينيا *G.thunbergia* بعد مرور 4 و8 اسابيع من الزراعة على وسط MS.	24
7	تأثير تراكيز مختلفة من BA في نمو وتضاعف نبات الكاردينيا (صنفEllis) بعد مرور 4 و8 اسابيع من الزراعة على وسط MS.	25
8	تاثير تراكيزمختلفة من BA في نمو وتضاعف نبات الكاردينيا صنف (veitchii) بعد مرور4 و8 اسابيع من الزراعة على وسط MS.	27
9	تاثير تراكيز IBA وقوة املاح الوسط الغذائي في نسبة تجذير اصل الكاردينيا *G.thunbergia* بعد مرور 4 اسابيع من زراعة افرع النباتات النامية في الحقل على وسط MS	29
10	تاثير تراكيز IBA وقوة املاح الوسط الغذائي في عدد جذور اصل الكاردينيا *G.thunbergia* بعد مرور 4 اسابيع من زراعة افرع النباتات النامية في الحقل على وسط MS	30

Scanned by TapScanner

11	تاثير تراكيز IBA وقوة املاح الوسط في طول جذور(سم) نبات الكاردينيا *G.thunbergia* بعد مرور 4 اسابيع من زراعة افرع النباتات النامية في الحقل على وسط MS	31
12	تأثير تراكيزIBA وقوة املاح الوسط الغذائي في عدد الاوراق المتفتحة لأصل الكاردينيا *G.thunbergia* بعد مرور 4 اسابيع من زراعة افرع النباتات النامية في الحقل على وسط MS	32
13	تاثير تراكيز IBA وقوة املاح الوسط الغذائي في طول الافرع (سم) في اصل الكاردينيا *G.thunbergia* بعد مرور 4 اسابيع من زراعة افرع النباتات النامية في الحقل على وسط MS	33
14	تأثير تراكيز IBA وقوة أملاح الوسط الغذائي في نسبة تجذير اصل الكاردينيا *G.thunbergia* بعد مرور4 اسابيع من زراعة أفرع نبات الكاردينيا الناتجة من تجربة التضاعف على وسط MS	35
15	تأثير تراكيز IBAوقوة أملاح الوسط الغذائي في عدد جذور اصل الكاردينيا *G.thunbergia* بعد مرور 4 اسابيع من زراعة أفرع نبات الكاردِينيا الناتجة من تجربة التضاعف على وسط MS	36
16	تأثير تراكيز IBA وقوة أملاح الوسط الغذائي في نسبة طول جذور(سم) اصل الكاردينيا *G.thunbergia* بعد مرور4 اسابيع من زراعة أفرع نبات الكاردينيا الناتجة من تجربة التضاعف على وسط MS	37
17	تأثير تراكيز IBA وقوة أملاح الوسط الغذائي في عدد اوراق أصل الكاردينيا *G.thunbergia* بعد مرور 4 أسابيع من زراعة أفرع النباتات الناتجة من تجربة التضاعف على وسط MS	38
18	تأثير تراكيز IBA وقوة املاح الوسط الغذائي في طول الأفرع (سم) لأصل نبات الكاردينيا *G.thunbergia* بعد مرور 4 اسابيع من زراعة افرع النباتات الناتجة من تجربة التضاعف على وسط MS	39
19	تأثير اضافة الوسط الغذائي المجهز بمستويات مختلفة من BA على منطقة التركيب في نجاح عملية التركيب للصنف Ellis على الاصل	43

Scanned by TapScanner

	G.thunbergia لنبات الكاردينيا بعد مرور(4) اسابيع من عملية التركيب	
20	تأثير اضافة الوسط الغذائي المجهز بمستويات مختلفة من BA على منطقة التركيب في نجاح عملية التركيب للصنف Veittchi على الاصل *G.thunbergia* لنبات الكاردينيا بعد مرور(4) اسابيع من عملية التركيب	44

Scanned by TapScanner

قائمة الصور

الرقم	عنوان الصورة	الصفحة
1	نبات الكاردينيا المستعمل كمصدر للاجزاء النباتية.	13
2	التركيب الدقيق بعد نجاح عملية التركيب باستخدام طريقة V .	18
3	مراحل زراعة القمم النامية لنبات الكاردينيا وتأثير تراكيز الBA في نموها وتضاعفها.	28
4	تأثير التراكيز المختلفة من BA في نمو القمم النامية لنبات الكاردينيا بعد 4 اسابيع من الزراعة.	28
5	تأثير تراكيز IBA ونصف قوة أملاح الوسط في تجذير افرع اصل الكاردينيا *G.thunbergia*	34
6	نباتات الكاردينيا المؤقلمة بعد اجراء عملية التركيب.	45
7	(A) و(B) صور توضح منطقة الالتحام بين الطعم والاصل قبل اجراء عملية التشريح (B) (C) مقطع عرضي في الساق يوضح منطقة التحام الطعم بالاصل (قوة التكبير×210).	46

Scanned by TapScanner

المختصرات

MS	Murashige and Skoog medium	وسط موراشيج وسكوج
NaOCl	Sodium Hypochlorite	هيبوكلورات الصوديوم
pH	Potential of Hydrogen	الاس الهيدروجيني
UV	Ultra Violet	الاشعة فوق البنفسجية
BA	6-Bynzyladenine	البنزايل ادينين
2,4-D	2,4-Dichlorophenoxyacetic acid	حامض الخليك (ثنائي كلوريد فينوكسي)
NAA	Naphthaleneacetic acid	نفثالين حامض الخليك
IAA	indole-3-acetic acid	اندول حامض الخليك
IBA	Indole-3-butyric acid	اندول حامض البيوتريك
CRD	Completely Randomized Design	التصميم العشوائي الكامل
Z	Zeatin	الزياتين
HCl	Hydrogen Chloride	حامض الهيدروكلوريك
TDZ	Thidiazuron	ثيديا زورون
2ip	Iso pentenyladenin	أيزو بينتنايل ادنين
Kin	Kintin	كاينتين

Scanned by TapScanner

1- المقدمة Introduction

تعد شجيرة الكاردينيا من نباتات الزينة المهمة المنتشرة في العالم (Rauch،1996). تعود الكاردينيا الى العائلة Rubiaceae والجنس Gardenia الذي يضم من 100-200 نوع، ومن اهمها واكثرها انتشارا النوع *G.jasminoides* (Dirr، 1990)، والذي ينتشر في المناطق المدارية وشبه المدارية (البطل، 2003). تزهر الكاردينيا في الفترة ما بين منتصف ايار وحتى منتصف تموز، تكون اوراقها رمحية الى بيضوية مقلوبة ذات لون اخضر لماع متقابلة او في مجاميع ثلاثية، تحتاج الكاردينيا الى اضاءة قوية غير مباشرة لانتاج ازهار جيدة ودرجات حرارة معتدلة ما بين (15-25 م°)، تزرع الكاردينيا في الترب التي تميل الى الحامضية والغنية بالمواد العضوية وذات التهوية الجيدة، وتستعمل في بعض الدول لتجميل الشرفات الى جانب اهميتها الاقتصادية الكبيرة في الصين واليابان لكونه نبات مزهر ذو ازهار قابلة للقطف، كما ويمكن استخراج الزيت من ازهاره واستعماله في صناعة العطور (السلطان، 1992)؛ (Bailey، 1975).

يوفر الاكثار الدقيق لنباتات الزينة معدلات تكاثر عالية من النبات الام (George وآخرون،2008 وChavan وآخرون،2014). تم استخدام طريقة زراعة الافرع نسيجيا بنجاح في العديد من نباتات الزينة والنباتات الطبية، وهناك العديد من التجارب حول الاكثار الدقيق لانواع مختلفة من نباتات الزينة (Liu وLi،2001). يتم اكثار نبات الكاردينيا خضريا لان اكثارها بالطريقة الجنسية يعطي نباتات متباينة وراثيا وغير مرغوب بها لذلك يتم اكثارها خضريا عن طريق الاكثار بالعقل اوالتطعيم او بالتركيب على اصول مقاومة للنيماتودا مثل الاصل *G.thunbergia* (السلطان،1992) ؛(Bailey،1975).

واجهت الكاردينيا عدة مشاكل في الزراعة التقليدية كالنيماتودا التي تعد من المشكلات الرئيسية التي تسبب ضعف نمو الكاردينيا، كما ويؤدي انخفاض درجات الحرارة الى اقل من 19 م° لمدة اسبوعين الى تقليل امتصاص المعادن مما يؤدي الى الاصابة بداء الاخضرار في الاوراق لهذا السبب تنتشر طريقة اكثار الكاردينيا عادة عن طريق العقل او التطعيم على عقل *G.thunbergia* في اي وقت من السنة (Amer وآخرون،2019).

التركيب الدقيق Micrografting هي تقنية تركيب في المختبر تتضمن وضع قطعة من القمة النامية او من أطراف الأفرع على ساق مقطوع القمة ناتج من البذور أو مزارع الأكثار الدقيق، بعد التجارب المبكرة للتطعيم الدقيق على نبات اللبلاب والاقحوان، تم استخدام هذه التقنية

Scanned by TapScanner

في الأنواع الخشبية، وخاصة أشجار الفاكهة اذ تم تنفيذها بشكل رئيسي على انواع مختلفة من الحمضيات للقضاء على الأمراض الفيروسية المختلفة، وان لهذه التقنية القدرة على الألتحام السريع والأنتاجية المتزايدة الناتجة من تجارب التطعيم المتفوقة، تتمتع هذه التقنية بأمكانيات كبيرة للتطوير والتكاثر على نطاق واسع لنباتات الفاكهة، تم استخدام Micrografting في أنتاج نباتات خالية من الأمراض بشكل خاص ومقاومة لمسببات الأمراض التي تنتقل عن طريق التربة واكثار النباتات التي يصعب تجذيرها (Hussain وآخرون،2014). وضح (قصاب باشي،2010) حصوله على نسبة التحام بلغت 90% عند تركيب الصنف Veitchii على الأصل *G.thunbergia* عند المعاملة بالسايتوكاينينات.

اجريت العديد من التجارب عن انتاج شتلات كارديناا خالية من الفيروسات عن طريق زراعة المرستيم (Tyagi وآخرون،2010)، استخدمت عملية ال Micrografting المتقدمة التي تستخدم لتخليص الأجزاء النباتية من الأمراض. يمكن حل مشكلة امتصاص المعادن المنخفض لل *G.jasminoides* في درجات الحرارة المنخفضة عن طريق التطعيم على الأصل *G.thunbergia*، نظرا لأن *G.thunbergia* قادر على امتصاص الحديد في درجات الحرارة المنخفضة (Mastalerz،1977). تم الحصول على العديد من الطعوم الناجحة المركبة على الأصل *G.thunbergia* في المختبر بنسب ممتازة (Nower وآخرون،2013).

عادة لا يتم استخدام منظمات النمو في التركيب التقليدي، ولكن في ظروف المختبر وجد ان منظمات النمو وخاصة السايتوكاينينات والأوكسينات فعالة في تحسين معدل نجاح عملية التركيب، أذ تعمل منظمات النمو على زيادة معدل انقسام الخلايا، مما يساعد بدوره في زيادة النسبة المئوية لالتحام الطعم بالاصل.

تهدف الدراسة الى:

1- دراسة تأثير تراكيز مختلفة من Benzyladenin في نمو وتضاعف الاجزاء النباتية لأصناف الكارديناا المستعملة في التجربة والمزروعة على وسط MS.

2- دراسة تأثير تراكيز مختلفة من IBA في تجذير افرع أصل الكارديناا *G.thunbergia*.

3- التركيب بقمة الفرع على الأصل *G.thunbergia*، ودور أضافة منظمات النمو في نجاح التركيب باستخدام طريقة V.

Scanned by TapScanner

2-1 نبات الكاردينيا gardenia plant

تعد شجيرة الكاردينيا من النباتات دائمة الخضرة التي تنحدر من المناطق الحارة وشبه الحارة من قارتي آسيا وافريقيا، يتراوح ارتفاعها ما بين (100-200سم)، يتم أكثارها خضريا بالعقل أو بالتطعيم أو بالتركيب على أصول مقاومة للنيماتودا (السلطان وآخرون،1992) (Bailey،1975) .أصل شجيرة الكاردينيا من جنوب الصين واليابان وتشتهر بشكل خاص بأزهارها البيضاء العطرة للغاية وغالبا ما تكون بأزهار مطبقة (Graf،1981).

تعود شجيرة الكاردينيا *Gardenia jasminoides* الى (العائلة الروبية) Rubiacea أوتسمى عائلة القهوة وهي من مجموعة النباتات المحبة للوسط الحامضي (Acid-Loving plants) (Wilkins،1986). للكاردينيا استعمالات كثيرة أهمها لأغراض الزينة حيث يتم زراعة النوع *G.jasminoides* في الحدائق الخارجية في أوروبا وأمريكا حيث تتميز بالمنظر الجميل والرائحة العطرية المميزة كما تزرع كنباتات أصص مزهرة لتجميل النوافذ والشرفات كما تزرع كأزهار قطف (Jarvis وآخرون ،2014 والبطل وعوض،1994).

2-2 التصنيف النباتي Plant taxonomy

Kingdom: Plantae -Plant

Subkingdom: Tracheobionta-Vascular Plants

Superdivision: Spermatophyta-Seed Plants

Division: Magnoliophyta-Flowering Plants

Class: Magnoliopsida-Dicotyledons

Subclass: Asteridae

Order: Rubiales

Family: Rubiaceae-Madder family

Genus: Gardenia Ellis -gardenia

Species: Gardenia taitensis DC-Tahitian gardenia (USAD,2014)

Scanned by TapScanner