جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى – كلية الزراعة

تأثير الكولشسين في احداث التغاير الوراثي وبعض صفات نمو وحاصل نبات الشليك المزروع تحت البيئة المحمية وبالزراعة النسيجية

رسالة مقدمة من قبل

يوسف عبد الرحمن محمود العاني

إلى

مجلس كلية الزراعة- جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في العلوم الزراعية
(البستنة وهندسة الحدائق)

بإشراف

أ.د. إياد عاصي عبيد
أ.م.د. نزار سليمان علي

1439 هـ
2019 م

﴿يُنبِتُ لَكُم بِهِ الزَّرعَ وَالزَّيتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالأَعنَابَ وَمِن كُلِّ الثَّمَرَاتِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ لَآيَةً لِّقَومٍ يَتَفَكَّرُونَ﴾

صَدَقَ اللهُ العَظيم

سورة النحل الاية 11

المستخلص:

اجريت الدراسة الحالية لمعرفة تاثير الكولشسين في أحداث التغاير الوراثي لنبات الشليك *Fragaria ananassa* صنف Festival، اذ تضمنت هذه الدراسة تجربتين رئيستين حقلية ونسيجية، نفذت التجربة الحقلية في البيت البلاستيكي التابع لكلية الزراعة / جامعة ديالى خلال الموسم 2016-2017، لمعرفة تأثير معاملة قمة نبات الشليك بالكولشسين بالتراكيز 0، 0.05، 0.1 % وعدد مرات المعاملة (معاملة واحدة ، معاملتان) في بعض صفات النمو الخضري والحاصل والصفات الكيميائية والتغايرات الوراثية للنباتات، في حين أُجريت التجارب النسيجية في مختبر زراعة الأنسجة النباتية التابع لقسم البستنة وهندسة الحدائق/ جامعة ديالى بتاريخ 2017-2018 بهدف اكثار النبات نسيجياً، إذ اضيف BA بالتراكيز 2 و3 ملغم.لتر$^{-1}$ منفردًا ومضاف له NAA بالتركيز 0.2 ملغم لتر$^{-1}$، واستخدم IBA بالتراكيز 0، 0.5، 1 و1.5 ملغم لتر$^{-1}$، مع تراكيز إملاح الوسط الغذائي (MS) في تجذير الفروع. نقعت الأفرع المجذرة بتراكيز مختلفة من الكولشسين 0، 0.1، 0.2، 0.3% ولمدتين (24 و48 ساعة)، وبعدها أقلمت النباتات الناشئة وزرعت في البيت البلاستيكي للتحقق من الصفات المظهرية والجزيئية، أظهرت نتائج التجربة الحقلية تميز النباتات المعاملة بالكولشسين تركيز 0.1% في صفة المساحة الورقية ، محتوى ألاوراق من الكلوروفيل، محتوى الأوراق من المادة الرطبة، محتوى الأوراق من المادة الجافة، عدد الثمار، حجم الثمرة، وزن الثمرة الواحدة (9.683 غم)، كمية الحاصل للنبات الواحد (108.233 غم نبات$^{-1}$)، النسبة المئوية للحموضة، كمية فيتامين ج، طول الثغر، عرض الثغر، قياسا بمعاملة المقارنة والتي تفوقت في عدد الثغور، وأدت المعاملة بالتركيز 0.05% بإعطاء أعلى معدل للنسبة المئوية للسكريات إذ بلغت. تفوقت النباتات المعاملة قمتها لمرتين في المساحة الورقية، ومحتوى الأوراق من الكلوروفيل، الوزن الجاف، حجم الثمرة، طول الثغر، عرض الثغر، مقارنة بمعاملة واحدة. وأدى التداخل بين التركيز وعدد مرات المعاملة إلى حصول زيادة معنوية في صفات النمو الخضري وصفات الحاصل والصفات الكيميائية وطول وعرض الثغر قياسا بمعاملة المقارنة.

التجارب النسيجية أدت اضافة NAA + BA إلى الوسط الغذائي MS تفوق الـBA بتركيز 2 و 3 ملغم لتر$^{-1}$ في تسجيل أعلى متوسط لعدد الأفرع وعدد الأوراق للأجزاء النباتية وبلغت 9.200 و 9.500 فرعاً.جزء نباتي$^{-1}$ على التتابع و 11.300 و 11.700 ورقة جزء نباتي$^{-1}$ على التتابع، في حين اعطى الوسط الحاوي على BA تركيز 3 ملغم لتر$^{-1}$ مع NAA تركيز0.2 ملغم لتر$^{-1}$ أكبر متوسط لطول الأفرع بلغ 1.896 سم. اما مرحلة تجذير الأفرع أتضح إن

الأوساط الغذائية المجهزة بـIBA بتركيز 1 و1.5 ملغم لتر$^{-1}$ أعطت اعلى نسبة تجذير بلغت 100% وأكبر عدد من الجذور بلغ 9.600 جذر جزء نباتي$^{-1}$ وبطول 2.844 سم.

أظهرت تجربة نقع الأفرع المجذرة بالكولشسين وجود فروقات في نسبة الأفرع الحية بعد معاملتها بتراكيز مختلفة من الكولشسين إذ كانت اعلى نسبة للأفرع الحية 90% عند نقع بالماء المقطر فقط، واقل نسبة للأفرع الحية عند النقع بتركيز 0.3% لمدة 48 ساعة بلغت 40%، وأختلفت نسبة الافرع الحية بين هاتين النسبتين. تفوقت النباتات المعاملة بتركيز 0.3% في صفات عدد الأوراق، المساحة الورقية، عدد الثمار، حجم الثمرة، كمية الحاصل بالنبات، طول وعرض، قياسا بمعاملة المقارنة التي سجلت أقل القيم، كما أدى معاملة النباتات بتركيز 0.1% الى تفوق في صفة محتوى الأوراق من الكلوروفيل، طول الثمرة، وتفوقت النباتات المعاملة بتركيز 0.2% في صفة قطر الثمرة، بينما تفوقت نباتات معاملة المقارنة في صفة عدد الثغور لطبقة السفلى لأوراق نبات الشليك. تفوقت النباتات المنقوعة بالكولشسين لمدة 48 ساعة في صفة محتوى الأوراق من الكلوروفيل، قطر الثمرة، عدد الثمار، حجم الثمرة، كمية الحاصل بالنبات، طول الثغر، مقارنة بمدة 24 ساعة التي تميزت فيها صفة طول الثمرة وعدد الثغور في الطبقة السفلى لأوراق نبات الشليك. أما التداخل بين التركيز ومدة المعاملة فقد تفوقت جميع المعاملات العاملية على معاملة المقارنة بجميع الصفات المدروسة بأستثناء أرتفاع النبات وعدد الثغور في الطبقة السفلى لورقة الشليك إذ أنخفضت نباتات معاملة الكولشسين عن معاملة المقارنة.

أظهرت نتائج اختبار الـ DNA وجود تغاير وراثي بين النباتات المعاملة بالكولشسين والنباتات غير المعاملة من التجربتين الحقلية والمختبرية وبدرجة متباينة ووصلت أعلى نسبة للتباين الوراثي عند معاملة الأفرع المجذرة بتركيز 0.3% لمدة 48 ساعة مقارنة بمعاملة المقارنة الخاصة بها إذ بلغت نسبته 30.8%، وقد تماشت النتائج الحقلية للصفات المظهرية لهذه المعاملة مع التباينات التي أظهرتها المادة الوراثية، إذ تفوقت نباتات الأفرع المجذرة والمعاملة بـ0.3% كولشسين ولمدة 48 ساعة على باقي التراكيز والمقارنة في صفات (المساحة الورقية، عدد الأوراق، نسبة الكلوروفيل، طول الثغر، عدد الثغور، طول وعرض الثمر، عدد الثمار، حجم الثمرة). وهو مؤشر واضح لحدوث تغاير وراثي وبالإتجاه المرغوب مع أحتمالية حدوث التضاعف الكروموسومي بفعل استخدام مادة الكولشسين.

قائمة المحتويات

تسلسل	العنـــــــوان	الصفحـة
	المستخلص	أ - ت
	قائمة المحتويات	ث - د
	قائمة الجداول	ذ - ز
	قائمة الأشكال	س - ش
-1	**المقـــدمة**	2-1
-2	**مراجعة المصـــادر**	18-3
-1-2	نبات الشليك	3
-2-2	أهمية معاملة النباتات بمادة الكولشسين وتأثيره في صفات النبات واستحثاث التغايرات الوراثية	4-3
-3-2	الكولشسين ودوره في احداث التضاعف الكروموسومي	7-4
-4-2	الأكثار الدقيق Micro Propagation	8
-5-2	دور السايتوكاينينات مع الاوكسينات في أكثار النباتات خارج الجسم الحي	11-8
-6-2	دور الأوكسين في تجذير افرع نبات الشليك	12-11
-7-2	تأثير الكولشيسن في النباتات الناتجة من الزراعة النسيجية واستحثاث التغايرات الوراثية	14-12
-8-2	دور المؤشرات الخلوية والجزيئية في الكشف عن التضاعف الكروموسومي	18-15
-3	**المواد وطرائق العمل**	37-19
-1-3	التجارب الحقلية	22-19
-1-1-3	زراعة شتلات الشليك صنف Festival	19
-2-1-3	تحضير الكولشسين	19
-3-1-3	معاملة الشتلات نبات الشليك بالكولشسين	19
-4-1-3	الصفات المدروسة	20
-1-4-1-3	المساحة الورقية ($سم^2$)	20
-2-4-1-3	محتوى الأوراق من الكلوروفيل (SPAD UNIT)	20

-3-4-1-3	الوزن الطري والوزن الجاف للاوراق (غم)	20
-4-4-1-3	نسبة المادة الجافة لأوراق النبات (%)	20
-5-4-1-3	عدد الثمار نبات$^{-1}$	20
-6-4-1-3	حجم الثمرة (سم^{3})	20
-7-4-1-3	وزن الثمرة الواحدة (غم)	21
-8-4-1-3	حاصل النبات الواحد (غم)	21
-9-4-1-3	النسبة المئوية للحموضة الكلية	21
-10-4-1-3	النسبة المئوية للسكريات الكلية	21
-11-4-1-3	مقدار فيتامين ج بالثمرة (ملغم 100غم$^{-1}$)	22
-5-1-3	التصميم التجريبي والتحليل الاحصائي للتجارب الحقلية	22
-2-3	التجارب النسيجية (الزراعة خارج الجسم الحي)	29-22
-1-2-3	تهيئة الاجزاء النباتية وتعقيمها	22
-2-2-3	تحضير الوسط الغذائي	23
-3-2-3	ظروف التحضين	23
-4-2-3	تعقيم الادوات المستخدمة في الزراعة	23
-5-2-3	التجارب والمعاملات	25
-1-5-2-3	تاثير تراكيزمن BA وNAA في نمو الفروع وتضاعفها	25
-2-5-2-3	تأثير إضافة الاوكسين IBA في تجذير الفروع النسيجية	26
-3-5-2-3	التصميم التجريبي والتحليل الاحصائي للتجربة النسيجية	26
-6-2-3	معاملة الافرع المجذرة الناتجة من الزراعة النسيجية بالكولشسين	27-26
-1-6-2-3	تحضير الكولشسين Colchicine	26
-2-6-2-3	معاملة الافرع المجذرة بالكولشسين	26
-3-6-2-3	أقلمة النبيتات المعاملة بالكولشسين	26
-7-2-3	الصفات المدروسة	29-27
-1-7-2-3	عدد الاوراق (ورقة نبات$^{-1}$)	27

-2-7-2-3	ارتفاع النبات (سم)	27
-3-7-2-3	المساحة الورقية (سم^2)	27
-4-7-2-3	المحتوى الاوراق من الكلوروفيل (SPAD)	27
-5-7-2-3	عدد الثمار نبات$^{-1}$	27
-6-7-2-3	حجم الثمرة (سم^3)	27
-7-7-2-3	حاصل النبات الواحد (غم)	28
-8-7-2-3	طول الثمرة وقطرها(سم)	28
-8-2-3	دراسة صفات النظام الثغري للورقة للتجربتين الحقلية والمختبرية	28
-9-2-3	التصميم التجريبي والتحليل الاحصائي للتجارب المختبرية	28
-3-3	تقدير التغايرات الوراثية للنباتات الحقلية والمختبرية المعاملة بالكولشسين حسب مؤشرات الدنا بتقنية PCR-RAPD	35-29
-1-3-3	استخلاص الحامض النووي المنقوص الأوكسجين DNA	30
-2-3-3	قياس نقاوة وتركيز الدنا	31
-3-3-3	تحضير البوادئ	31
-4-3-3	التفاعل التضاعفي لسلسلة الدنا (PCR)	32
-5-3-3	تحضير هلام الاكروز	33
-6-3-3	الترحيل الكهربائي	33
-7-3-3	تحليل نتائج مؤشرات الـRAPD احصائياً	34
-8-3-3	تقييم البادئات لايجاد الافضل	35
-1-8-3-3	كفاءة البادئ	35
-2-8-3-3	النسبة المئوية للقدرة التميزية لكل بادئ	35
-3-8-3-3	النسبة المئوية للحزم ذات التعدد الشكلي	35
-4	**النتائج والمناقشة**	84-38
-1-4	التجارب الحقلية	55-38
-1-1-4	تاثير المعاملة بالكولشسين في صفات النمو الخضري لنبات الشليك	38
-1-1-1-4	المساحة الورقية (سم^2)	38

-2-1-1-4	محتوى الاوراق من الكلوروفيل (SPAD)	39
-3-1-1-4	محتوى الاوراق من المادة الرطبة (غم)	40
-4-1-1-4	محتوى الاوراق من المادة الجافة (غم)	40
-2-1-4	تاثير المعاملة بالكولشسين في صفات النظام الثغري للطبقة السفلى لورقة نبات الشليك	42
-1-2-1-4	عدد الثغور في الطبقة السفلى للورقة (ثغر ملم$^{-2}$)	42
-2-2-1-4	طول الثغر في الطبقة السفلى للورقة (مايكرون)	42
-3-2-1-4	عرض الثغر في الطبقة السفلى للورقة (مايكرون)	43
-3-1-4	تاثير المعاملة بالكولشسين في صفات الحاصل لنبات الشليك	46
-1-3-1-4	عدد الثمار (ثمرة نبات$^{-1}$)	46
-2-3-1-4	حجم الثمرة (سم^{3})	47
-3-3-1-4	وزن الثمرة (غم)	48
-4-3-1-4	كمية الحاصل بالنبات (غم نبات$^{-1}$)	49
-5-3-1-4	النسبة المئوية للحموضة الكلية القابلة للتعادل بالثمرة	50
-6-3-1-4	النسبة المئوية للسكريات الكلية بالثمرة	51
-7-3-1-4	كمية فيتامين ج بالثمرة (ملغم لكل100غم)	52
-2-4	التجارب النسيجية	57-53
-1-2-4	الاكثار الدقيق لنبات الشليك	53
-1-1-2-4	تاثير السايتوكاينينات والأوكسين في تضاعف الأفرع	53
-2-1-2-4	تاثير الاوكسين IBA في نسبة التجذير وطول الجذور وعددها	56
-1-2-2-4	تاثير نقع الافرع المجذرة بالكولشسين في نسبة البقاء	58
-2-2-2-4	تاثير نقع الافرع المجذرة بالكولشسين في صفات النمو الخضري نبات الشليك	59
-1-2-2-2-4	عدد الاوراق (ورقة لنبات$^{-1}$)	59
-2-2-2-2-4	ارتفاع النبات (سم)	59
-3-2-2-2-4	المساحة الورقية (سم^{2})	60

-4-2-2-2-4	محتوى الأوراق من الكلوروفيل (SPAD)	61
-3-2-2-4	تاثيرنقع الافرع بالكولشسين في صفات النظام الثغري للطبقة السفلى لورقة نبات الشليك	62
-1-3-2-2-4	عدد الثغور في الطبقة السفلى للورقة (ثغر ملم$^{-2}$)	62
-2-3-2-2-4	طول الثغر في الطبقة السفلى للورقة (مايكرون)	63
-3-3-2-2-4	عرض الثغر في الطبقة السفلى للورقة (مايكرون)	64
-4-2-2-4	تاثير نقع الافرع المجذرة بالكولشسين في صفات الحاصل لنبات الشليك	68
-1-4-2-2-4	طول الثمرة (سم)	68
-2-4-2-2-4	قطر الثمرة (سم)	68
-3-4-2-2-4	عدد الثمار(ثمرة نبات$^{-1}$)	69
-4-4-2-2-4	حجم الثمرة (سم^{3})	71
-5-4-2-2-4	كمية الحاصل (غم نبات$^{-1}$)	71
-3-4	نتائج تحليل مؤشرات الـDNA(RAPD) لنباتات الشليك المعاملة بتراكيز مختلفة من الكولشسين	86-75
-1-3-4	نتائج تفاعلات الـRAPD	82-74
-2-3-4	تاثير الكولشسين في احداث التغايرات الوراثية لنبات الشليك في الحقل وخارج الجسم الحي	84-82
-5	**الاستنتاجات والتوصيات**	86-85
-1-5	الأستنتاجات	85
-2-5	التوصيات	86
-6	**المصادر**	101-87
-1-6	المصادر العربية	89-87
-2-6	المصادر الاجنبية	101-90
	الملاحق	104-102
	المستخلص باللغة الأنكيزية	I-III

قائمة الجداول

التسلسل	عنـــــوان الجدول	الصفحـة
1	مكونات وسط Murashige و Skoog ، 1962 (MS) من Hi-media المستعمل في الدراسة	24
2	رموز معاملات نبات الشليك المختارة في أيجاد البعد الوراثي	29
3	تتابع البادئات وتسلسلها النيوكليوتيدي المستعملة في تقنية RAPD–PCR	31
4	تاثير المعاملة بالكولشسين وعدد مرات المعاملة والتداخل بينهما في مساحة الورقة (سم^2) لنبات الشليك صنف Festival.	38
5	تاثير المعاملة بالكولشسين وعدد مرات المعاملة والتداخل بينهما في محتوى الاوراق من الكلوروفيل (SPAD) لنبات الشليك صنف Festival.	39
6	تاثير المعاملة بالكولشسين وعدد مرات المعاملة والتداخل بينهما في محتوى الاوراق من المادة الرطبة (غم) لورقة لنبات الشليك صنف Festival.	40
7	تاثير المعاملة بالكولشسين وعدد مرات المعاملة والتداخل بينهما في محتوى الأوراق من المادة الجافة (غم) لورقة لنبات الشليك صنف Festival.	41
8	تأثير المعاملة بالكولشسين وعدد مرات المعاملة والتداخل بينهما في نسبة المادة الجافة لأوراق النبات (%) لورقة لنبات الشليك صنف Festival	42
9	تاثير المعاملة بالكولشسين وعدد مرات المعاملة والتداخل بينهما في عدد الثغور(ثغر ملم$^{-2}$) في الطبقة السفلى لورقة نبات الشليك صنف Festival.	42
10	تاثير المعاملة بالكولشسين وعدد مرات المعاملة والتداخل بينهما في طول الثغر(مايكرون) في الطبقة السفلى لورقة نبات الشليك صنف Festival.	43
11	تاثير المعاملة بالكولشسين وعدد مرات المعاملة والتداخل بينهما في عرض الثغر(مايكرون) في الطبقة السفلى لورقة نبات الشليك صنف Festival.	44
12	تاثير المعاملة بالكولشسين وعدد مرات المعاملة والتداخل بينهما في عدد الثمار بالنبات (ثمرة نبات$^{-1}$) لنبات الشليك صنف Festival.	47

13	تاثير المعاملة بالكولشسين وعدد مرات المعاملة والتداخل بينهما في حجم الثمرة (سم^3) لنبات الشليك صنف Festival.	48
14	تاثير المعاملة بالكولشسين وعدد مرات المعاملة والتداخل بينهما في وزن الثمرة الواحدة (غم) لنبات الشليك صنف Festival.	49
15	تاثير المعاملة بالكولشسين وعدد مرات المعاملة والتداخل بينهما في كمية الحاصل بالنبات (غم نبات$^{-1}$) لنبات الشليك صنف Festival.	50
16	تاثير المعاملة بالكولشسين وعدد مرات المعاملة والتداخل بينهما في النسبة المئوية للحموضة الكلية القابلة للتعادل بالثمرة لنبات الشليك صنف Festival.	51
17	تاثير المعاملة بالكولشسين وعدد مرات المعاملة والتداخل بينهما في النسبة المئوية للسكريات الكلية بالثمرة لنبات الشليك صنف Festival.	52
18	تاثير المعاملة بالكولشسين وعدد مرات المعاملة والتداخل بينهما في كمية فيتامين ج بالثمرة (ملغم لكل100 غم) لنبات الشليك صنف Festival.	53
19	تاثير BA و NAA في عدد الافرع المتضاعفة واطولها وعدد الاوراق الناتجة بعد مرور 6 اسابيع من زراعة الشليك على وسط MS	56
20	تاثير تراكيز مختلفة من IBA في عدد الجذور وطول الجذر للافرع المجذرة لنبات الشليك بعد مرور 4 اسابيع من الزراعة على وسط MS	57
21	تأثير تراكيز الكولشسين ومدة النقع للأفرع المجذرة والتداخل بينهما في عدد الأوراق (ورقة نبات-1) لنبات الشليك صنف Festival.	59
22	تأثير تراكيز الكولشسين ومدة النقع للأفرع المجذرة والتداخل بينهما في ارتفاع (سم) نبات الشليك صنف Festival.	60
23	تأثير تراكيز الكولشسين ومدة النقع للأفرع المجذرة والتداخل بينهما في مساحة الورقة (سم^2) لنبات الشليك صنف Festival.	61
24	تأثير تراكيز الكولشسين ومدة النقع للأفرع المجذرة والتداخل بينهما في محتوى الأوراق من الكلوروفيل (سباد) لنبات الشليك صنف	62

	.Festival	
25	تأثير تراكيز الكولشسين ومدة النقع للأفرع المجذرة والتداخل بينهما في عدد الثغور (ثغر ملم$^{-2}$) في الطبقة السفلى لورقة نبات الشليك صنف . Festival	63
26	تأثير تراكيز الكولشسين ومدة النقع للأفرع المجذرة والتداخل بينهما في طول الثغر (مايكرون) في الطبقة السفلى لورقة نبات الشليك صنف .Festival	64
27	تأثير تراكيز الكولشسين ومدة النقع للأفرع المجذرة والتداخل بينهما في عرض الثغر (مايكرون) في الطبقة السفلى لورقة نبات الشليك صنف .Festival	66
28	تأثير تراكيز الكولشسين ومدة النقع للأفرع المجذرة والتداخل بينهما في طول الثمرة (سم) لنبات الشليك صنف Festival.	68
29	تأثير تراكيز الكولشسين ومدة النقع للأفرع المجذرة والتداخل بينهما في قطر الثمرة (سم) لنبات الشليك صنف Festival.	69
30	تأثير تراكيز الكولشسين ومدة النقع للأفرع المجذرة والتداخل بينهما في عدد الثمار بالنبات (ثمرة نبات$^{-1}$) لنبات الشليك صنف Festival.	70
31	تأثير تراكيز الكولشسين ومدة النقع للأفرع المجذرة والتداخل بينهما في حجم الثمرة (سم^{3}) لنبات الشليك صنف Festival.	71
32	تأثير تراكيز الكولشسين ومدة النقع للأفرع المجذرة والتداخل بينهما في كمية الحاصل بالنبات (غم نبات-1) لنبات الشليك صنف Festival.	72
33	نقاوة وتراكيز الدنا المستخلص من العينات العشرة	73
34	نواتج البادئات من حزم الدنا ونسبة التعدد الشكلي وكفاءة البادئ والقدرة التميزية	80
35	عدد الحزم الكلية للبوادئ الثمانية مع احجامها الجزيئية لنبات الشليك المعامل بالكولشسين	82-80
36	النسبة للبعد الوراثي بين معاملات الكولشسين لنبات الشليك الناتجة من استخدام ثمانية بادئات في تقانة الـRAPD	82

قائمة الصور و الأشكال

التسلسل	عنوان الشكل	الصفحة
1	التركيب الكيميائي لمركب الكولشسين	7
2	عمل جهاز الترحيل الكهربائي	34
3	ترقيم النباتات وجمع العينات من النبات قبل المعاملة بالكولشسين	36
4	معاملة النباتات الحقلية بالكولشسين بوضع القطن على قمة النبات والتقطير بالكولشسين	36
5	ألافرع المجذرة الناتجة من الزراعة النسيجية وعملية نقع الافرع بتراكيز واوقات مختلفة من الكولشسين	37
6	عملية الأقلمة للأفرع المجذرة والنباتات بعد ألاقلمة	37
7	المقطع التشريحي لخلايا البشرة السفلى لاوراق الشليك التي توضح الحجم وعدد الثغور للنباتات المعاملة بتراكيز ومدد مختلفة من الكولشسين للتجربة الحقلية	45
8	تكون الثمار للنباتات المعاملة بالكولشسين للتجربة الحقلية	46
9	تراكيز مختلفة من البنزل ادنين BA منفردا ومضافا له الاوكسين NAA بفي تضاعف الافرع الخضرية لنبات الشليك صنف Festival بعد مرور ستة اسابيع من الزراعة	55
10	تجذير افرع نبات الشليك المزروعة على وسط MS مضاف له IBA بتركيز (1، 1.5 ملغم لتر$^{-1}$)	57
11	النسبة المئوية لبقاء الأفرع المجذرة الناتجة من زراعة الانسجة لنبات الشليك بعد معاملتها بتراكيزالكولشسين ولفترت زمنية مختلفة	58
12	المقطع التشريحي لخلايا البشرة السفلى لاوراق الشليك الذي يوضح حجم وعدد الثغورللافرع المجذرة المعاملة بالكولشسين	67
13	مرحلة الأثمار لنباتات الشليك الناتجة من الزراعة النسيجة والمعاملة بالكولشسين	70
14	يبين نواتج التفاعل التضاعفي لسلسلة الدنا لمؤشرات الـRAPD باستخدام البادئ OP-K12	76
15	يبين نواتج التفاعل التضاعفي لسلسلة الدنا لمؤشرات الـRAPD باستخدام البادئ OP-v19	76
16	يبين نواتج التفاعل التضاعفي لسلسلة الدنا لمؤشرات الـRAPD باستخدام البادئ OP-T19	77
17	يبين نواتج التفاعل التضاعفي لسلسلة الدنا لمؤشرات الـRAPD باستخدام البادئ OP-I02	77
18	يبين نواتج التفاعل التضاعفي لسلسلة الدنا لمؤشرات الـRAPD باستخدام البادئ OP-V14	78

التسلسل	عنوان الشكل	الصفحة
19	يبين نواتج التفاعل التضاعفي لسلسلة الدنا لمؤشرات الـRAPD باستخدام البادئ OP-T20	78
20	يبين نواتج التفاعل التضاعفي لسلسلة الدنا لمؤشرات الـRAPD باستخدام البادئ OP-H01	79
21	يبين نواتج التفاعل التضاعفي لسلسلة الدنا لمؤشرات الـRAPD باستخدام البادئ OP-M14	79
22	التحليل العنقودي لعينات نبات الشليك المعاملة بالكولشسين اعتماداً على مؤشرات الـRAPD	84
23	أكمال عملية الزراعة لشتلات نبات الشليك لتجربة الحقلية	102
24	تكوين النبات المعامل بالكولشسين للمداد والثمار للتجربة الحقلية	102
25	النمو الخضري للنباتات الناتجة من الزراعة النسيجية والمعاملة بالكولشسين في الحقل	103
26	تكون الثمار لنباتات الشليك الناتجة من الزراعة النسيجية (نبات المقارنة مع النباتات المعاملة بالكولشسين)	104

1- المقدمة

يعد الشليك (الفراولة) *Fragaria ananassa* من الفاكهة ذات الثمار الصغيرة الواسعة الانتشار حول العالم (Zhao، 2007). وهو نبات عشبي معمر يمتاز بشكله الجميل وطعم ثماره اللذيذ، اشتق أسمه من الكلمة اللاتينية (Fragrance، Fragrant) واسمه الانكليزي Strawberry ويسمى في تركيا Chilliak (الابراهيم، 2002) ومنه أتت التسمية في العراق بالشليك، وينتمي نبات الشليك إلى رتبة Rosales والعائلة الوردية Rosaceae وتحت العائلة Rosaideae وإلى الجنس Fragaria (السعيدي، 2000). يتكاثر الشليك بالبذور وهي الطريقة الجنسية كما يتكاثر خضريًا بواسطة تقسيم التاج والمدادات وهي الطريقة الاكثر شيوعًا بالاكثار على النطاق التجاري (Dickerson، 2004)، وكذلك أستعملت تقنية زراعة الإنسجة النباتية في اكثار الشليك، يعد الاكثار بالزراعة النسيجية أحدى الطرائق المتبعة في أكثار أنواع عديدة من النباتات لما تمتاز به من مميزات عدة أهمها الحصول على أعداد كبيرة من الشتلات المشابهة لنبات الإم وفي وقت قصير وفي أي وقت من السنة فضلاً عن إنتاج شتلات خالية من الأصابات بالأفات الحشرية والمرضية المختلفة (Azura و Motoza، 1990).

تنتشرزراعته حاليًا في اكثر من 63 دولة، بين خطي العرض 28-60 شمال خط الاستواء (Hancock، 1999)، ثمار نبات الشليك من الثمار ذات الأهمية الأقتصادية والغذائية والصحية، إذ ان ثمارها غنية بفيتامينC والفلوفونيد وحامض الايلاجيك (Suvalaxmi وآخرون، 2015).

يعد من الثمار ذات الاهمية الاقتصادية والغذائية والصحية وتاتي اهميته الاقتصادية لعديد من الدول من خلال تزايد الأنتاج فقد وصل الأنتاج العالمي سنة 2012 إلى 4.516810 مليون طن مقارنة بسنة 2009 إذ بلغ 4.178125 مليون طن وبلغت المساحت المزروعة به 241109 هكتار (FAO، 2014). بينت البحوث الحديثة إن ثمار الشليك تحتوي على نسبة عالية من المواد المضادة للأكسد (Antioxidant) التي لها الدور كبير ومؤثر فعليًا ضد أمراض الإوعية والشرايين القلبية وكذلك الإمراض السرطانية (California strawberry commission، 2006). وللأهمية الغذائية والصحية العالية لهذا النبات أنجذب الباحثين لتطوير اصناف وتراكيب وراثية متباينة جديدة للحصول على الصفات المرغوبة (Mercado و Quesada، 2007).

تمثل التباينات الوراثية (Genetic variability) الركيزة ألاساس في برامج التربية، إذ يمكن الحصول على هذه التباينات مباشرة من المصادر الوراثية الموجودة في الطبيعة، او تكوين تباينات جديدة من خلال عملية الانتخاب والتهجين، او من خلال عمليات التطفير للنباتات المكثرة بذريًا وخضريًا، إذ تعد عملية التطفير للنباتات وسيلة سهلة وسريعة وغير مكلفة لإستحداث التباينات الوراثية في صفات النباتات الكمية

والنوعية، وبذلك فان استحداث تباينات وراثية جديدة لها دور فعال في توسيع القاعدة الوراثية للنوع وزيادة احتمال الحصول على أصناف جديدة بصفات جيدة (خوجه وآخرون، 2016).

من اهم وسائل عملية التطفير المتبعة استخدام الكولشسين (Colchicine) وهو مادة كيميائية تساعد في منع تكوين خيوط المغزل اثناء الأنقسام الاعتيادي للخلايا الجسمية مما يمنع سحب الكروموسومات إلى إقطاب الخلية فتنتج عن ذلك خلية متضاعفة العدد الكروموسومي، وتستخدم هذه المادة بتراكيز وازمنة وطرائق مختلفة بحسب الجزء النباتي المراد مضاعفته (Petersen وآخرون، 2002). وأمكن الحصول على التضاعف الكروموسومي من خلال إستخدام مواد مطفرة اخرى مثل Oryzalin و Colcemid و Trifluralin (Kazi، 2015). ويمكن تطوير عملية التضاعف الكروموسومي بأستخدام أستيراتيجيات مختلفة مثلاً في الجسم الحي وخارج الجسم الحي بأستخدام مادة الكولشسين (Hannweg، 1999). وبينت دراسات عديدة أمكانية حث النباتات النامية في الحقل وخارج الجسم الحي على أحداث التضاعف الكروموسومي وأنتاج نباتات متغايرة وراثيا بالمعاملة بالكولشسين، منها التي أجراها (Thumilan و Dandin، 2009) على نبات (*Morus indica and Morus alba*) و(Baig واخرون، 2016) على نبات (*Rosa SPP*) و (حسين، 2016) على نبات (*Cassia angustifolia*).

هدفت الدراسة إلى :-

1. معرفة تاثير معاملة نبات الشليك بتراكيز مختلفة من الكولشسين، وامكانية حدوث تغايرات وراثية بأمكانها اعطاء افضل صفات نوعية وزيادة انتاجية للنباتات المعاملة.
2. الكشف عن التغيرات الوراثية الناتجة من معاملة شتلات الشليك والأفرع المجذرة الناتجة من الزراعة النسيجية بالكولشسين من خلال عزل وتنقية الـDNA والكشف المبكر عنها بتقانة الـRAPD.