

تجذير افرع الزعرور الطبي *Crataegus japan L.* المكثرة بزراعة الانسجة باستخدام حامض الاندول بيوترك IBA

Rooting of *Crataegus Japan L.* in vitro using IBA

هاشم كاظم محمد العبيدي

كلية العلوم/ الجامعة المستنصرية

H. K. M. Al-Aubaidi*

College of Science/ Al-Mustansiriya University

Abstract

Shoots of *Crataegus japan L.* were propagated in vitro and cultured on half strength MS medium supplemented with different concentrations of IBA (0, 1, 2, 3, 4) mg/L. They were incubated at controlled conditions. Observations were recorded weekly for eight weeks. Results showed that the addition of IBA at 2 mg/L gave the highest percent of rooting reached 50% after six weeks from culturing. Addition of IBA to the medium increased the mean number of roots and the mean fresh and dry weight of the roots.

المستخلص

أخذت الافرع الخضرية للزعرور الطبي *Crataegus japan L.* المكثرة بزراعة الانسجة عن طريق العقل وزرعت على الوسط الغذائي MS بنصف القوة واضيف اليه الـ IBA بالتراكيز (0، 1، 2، 3، 4) ملغم / لتر . حضنت الزروعات في ظروف مسيطر عليها ، سجلت الملاحظات اسبوعياً عن نسبة التجذير ولغاية الاسبوع الثامن . اظهرت النتائج أن التركيز 2 ملغم / لتر IBA قد اعطى أعلى واسرع نسبة تجذير بلغت 50% بعد ستة اسابيع من الزراعة فضلاً عن اعطاء جميع تراكيز IBA نسبة تجذير بلغت 10% في الاسبوع الثاني من الزراعة باستثناء المحاييد الذي أعطى نسبة تجذير 10% في الاسبوع الخامس من الزراعة . كما سببت إضافة IBA إلى الوسط الغذائي بشكل عام زيادة في معدل عدد الجذور واطوالها ومعدل الوزن الطري والجاف للمجموع الجذري مقارنة بالمحاييد وكانت الزيادة معنوية بالتركيز 2 ملغم / لتر في معدل عدد الجذور ومعدل الوزن الطري والجاف للمجموع الجذري .

المقدمة

الزعرور *Howthorn* من نباتات العائلة الوردية *Rosaceae* وتوجد أنواع كثيرة منه تصل إلى 900 نوع إلا أن الزعرور البري المعروف علمياً باسم *Crataegus japan L.* يعد من النباتات الطبية المهمة . والزعرور شجيرة طبية مشهورة ذات قيمة في علاج امراض القلب ولذلك سميت بـ (عشبة القلب) [1] . يستعمل الزعرور حالياً لعلاج اضطرابات القلب ودوران الدم ومعالجة الذبحة الصدرية ، ويعتبر العشابون الغربيون نبات الزعرور غذاءً للقلب يزيد تدفق الدم إلى عضلاته ويعيد اعتدال الخفقان إلى القلب ، كما أن ثماره تقلل كولسترول الدم [2] .

الموطن الاصلي لنبات الزعرور بشكل طبيعي في الجزر البريطانية وفي كل الاقاليم المعتدلة في نصف الكرة الشمالي . الجزء المستخدم في النبات هي الأوراق ، الأزهار ، الثمار ومن المواد الفعالة التي يحتويها الزعرور هي الكلايكوسيدات (الفلافينويد) والسابونين ، *Luleoin* ، *Isoquercitrin* [3، 4] . ويصعب الحصول على هذا النوع من الزعرور في العراق بسبب عدم اهتمام اصحاب المشاتل باكثاره لقلة الاقبال عليه فضلاً عن وجود صعوبات في اكثار هذا النبات بالطرق التقليدية كالاقلام والبذور ، فالاقلام يصعب تجذيرها وهناك مشاكل في اكثاره عن طريق البذور وانخفاض نسبة انباتها . لذا كان من الضروري استخدام زراعة الانسجة لاكثر هذه الانواع الطبية ومنها *Crataegus japan L.* اختصاراً للوقت وتقليلاً للكلفة والأيدي العاملة .

لقد وظفت زراعة الانسجة في اكثار العديد من اشجار الفاكهة فقد قام [5] باكثار اصلين من اصول الحمضيات المقاومة لمرض التدهور السريع Tristaza في حين استخدم [6] هذه التقنية لأكثار أشجار السدر واستخدم [7] هذه التقنية لأكثار أصول الكمثرى كما استخدمت هذه التقنية في أكثار أنواع أخرى من الزعرور [8]. تكون الافرع الناتجة عن مرحلة التضاعف خالية من الجذور وعليه يجب نقلها إلى أوساط غذائية تحتوي على الاوكسينات لتشجيع الافرع على التجذير [9]. وجد [10] أن إضافة IBA بتركيز 2 ملغم / لتر إلى الوسط الغذائي MS قد ساعد الافرع الناتجة عن زراعة الانسجة على التجذير بنسبة عالية جداً ، أما [11] فقد تمكن من تجذير افرع نوع من الزعرور *Crataegus oxyacantha* على الوسط الغذائي MS بنصف القوة مضافاً إليه IBA بتركيز 0.2 ملغم / لتر مع NAA بتركيز 0.2 ملغم / لتر .

المواد وطرائق العمل

جهزت الافرع الخضرية للزعرور *Crataegus japon L.* المنتجة بزراعة الانسجة من قبل [12] وروعي ان تكون متجانسة قدر الامكان وذات نمو خضري جيد وزرعت على الوسط الغذائي الخاص بالتجذير والمكون من وسط (MS) بنصف القوة [13] مضافاً له Thiamine-HCl ، Inositol و Sucrose بالتركيز (10 ، 100 ، 30000) ملغم / لتر على التوالي كما أضيف الـ IBA (Indol Butyric Acid) بالتركيز (0 ، 1 ، 2 ، 3 ، 4) ملغم / لتر . عدل الاس الهيدروجيني إلى 5.7 وأضيف الاكار بمقدار 8 غم/ لتر . سخن الوسط الغذائي إلى درجة الغليان وجرى توزيعه في قناني الزراعة Universal tubes وعقمت بجهاز التعقيم Autoclave بدرجة حرارة 121م وضغط 1.04 كغم / سم² لمدة 20 دقيقة . زرعت الافرع على الوسط الغذائي بمعدل فرع واحد / قنينة وبواقع 10 قناني لكل معاملة . حضنت الزروع بدرجة حرارة 25 م + 1 م وأضاءة 1000 لوكس لمدة 16 ساعة يومياً . سجلت النتائج عن نسبة التجذير اسبوعياً كما سجلت النتائج عن عدد الجذور واطوالها والوزن الطري والجاف للمجموع الجذري بعد ثمانية اسابيع من الزراعة . نفذت التجارب باستخدام تصميم القطاعات العشوائية الكاملة RCBD وجرى تحليل النتائج ومقارنتها إحصائياً بموجب اختبار LSD على مستوى احتمال 0.05 [14] .

النتائج والمناقشة

1. تأثير IBA في سرعة التجذير

أظهرت النتائج في جدول (1) بان لتركيز IBA تأثيراً واضحاً في زيادة سرعة التجذير وقد بدأت الافرع بالتجذير في الأسبوع الثاني من الزراعة في جميع المعاملات باستثناء المحاييد الذي بدأت افرعه بالتجذير في الأسبوع الخامس، ويتضح من الجدول نفسه أن نسبة التجذير ازدادت مع مرور الوقت في جميع المعاملات . وكانت أعلى نسبة تجذير هي 50% عند المعاملة 2 ملغم / لتر IBA وقد تحققت هذه النسبة في الأسبوع السادس واستمرت إلى نهاية الأسبوع الثامن تلتها نسبة تجذير 40% وقد تحققت هذه النسبة في التراكيز 3 ملغم / لتر IBA إلا انها كانت في الأسبوع السابع ، أما بقية المعاملات فان نسبة التجذير تراوحت بين (10 – 30)% .

2. تأثير IBA في صفات المجموع الجذري

أظهرت النتائج في جدول (2) أن إضافة IBA قد أثرت في صفات المجموع الجذري للنباتات . ففي معدل عدد الجذور أظهرت المعاملة 2 ملغم / لتر IBA تفوقاً معنوياً على باقي المعاملات إذ بلغ المعدل 2.6 في هذه المعاملة أما أقل المعدلات فكان في معاملة المحاييد التي بلغ فيها معدل عدد الجذور 0.6 . وفي صفة معدل طول الجذر أعطت معاملة المحاييد أعلى معدل بلغ 4.5 سم تلتها معاملة 2 ملغم / لتر IBA وبلغ المعدل فيها 4.2 سم ولم تختلف المعاملتين معنوياً عن بعضهما ولكنها اختلفت معنوياً عن معاملة 4 ملغم / لتر IBA إذ بلغ المعدل فيها 2.9 سم . وربما يعود السبب في اعطاء معاملة المحاييد أعلى معدل لطول الجذر هو ان معدل عدد الجذور في هذه المعاملة قليل جداً لذا يميل النبات نحو زيادة طول الجذر لتوجه المواد الغذائية الى جذر واحد فقط بدلا من توجيهها الى عدة جذور .

أما في صفة معدل الوزن الطري للمجموع الجذري فقد اعطت معاملة 2 ملغم / لتر IBA أعلى معدل بلغ 34.2 ملغم واختلفت معنوياً عن جميع المعاملات الباقية ، أما أقل المعدلات فكانت في معاملة 4 ملغم / لتر IBA إذ بلغ المعدل 25.4 ملغم .

وفي صفة معدل الوزن الجاف للمجموع الجذري فقد اعطت معاملة 2 ملغم / لتر IBA أعلى المعدلات بلغ 6.8 ملغم وكانت أقل المعدلات في معاملة 4 ملغم / لتر IBA إذ بلغ المعدل 5.6 ملغم ولم تختلف المعاملات معنوياً عن بعضها.

يتضح بأن إضافة IBA بتركيز 2 ملغم / لتر له تأثير في نسبة وسرعة التجذير بلغت 50% في الاسبوع السادس كما أن هذه المعاملة قد أعطت أعلى المعدلات في الصفات المدروسة باستثناء صفة طول الجذر إذ لم تفرق معنوياً عن معاملة المحاييد التي أعطت أعلى المعدلات ، ان استخدام الاوكسينات ومنها IBA يعمل على زيادة نسبة التجذير عن طريق تحفيز ناشات الجذور وهذا ما اكده [15] وهذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه بعض الباحثين في استخدام IBA في تجذير الافرع الناتجة من زراعة الانسجة لبعض اشجار التفاح [16] ، لكنها تختلف عن النتائج التي توصل إليها [17] حيث وجدوا عند تجذيرهم أفرع الزعرور من نوع *Crataegus sinaica* الناتجة من زراعة الانسجة أن 9% فقط من الافرع المزروعة على وسط تجذير يحتوي على 1 ملغم IBA قد نجحت في التجذير في حين أن 6% من الافرع المزروعة على وسط التجذير أزهرت مباشرة بدون تجذير . أن الاختلاف في النتائج ربما يعود إلى الاختلافات الوراثية بين النوعين المدروسين من الزعرور .

واستناداً إلى النتائج المتحققة توصي الدراسة بإضافة IBA بتركيز 2 ملغم / لتر إلى وسط MS بنصف القوة ، حيث أعطت هذه المعاملة نسبة تجذير عالية بلغت 50% في الاسبوع السادس من الزراعة مقارنة بباقي التراكيز فضلاً عن أن النباتات الناتجة من هذه المعاملة كانت ذات مجموع جذري جيد يمكن اقلمتها لانتاج شتلات الزعرور . *Crataegus japan L.*

جدول (1): تأثير تراكيز IBA والوقت في النسبة المئوية لتجذير افرع الزعرور *Crataegus japan L.*

تراكيز IBA (ملغم / لتر)	1	2	3	4	5	6	7	8
نسبة التجذير % أسبوعياً	-	-	-	-	10	10	10	10
0	-	-	-	-	10	10	10	10
1	-	10	10	20	20	30	30	30
2	-	10	20	20	30	50	50	50
3	-	10	10	20	20	30	40	40
4	-	10	10	20	20	20	20	30

جدول (2): تأثير تراكيز مختلفة من IBA في الصفات المدروسة للمجموع الجذري

تراكيز الـ IBA ملغم / لتر	معدل عدد الجذور	معدل طول الجذر (سم)	معدل الوزن الطري للمجموع الجذري (ملغم)	معدل الوزن الجاف للمجموع الجذري (ملغم)
0	0.60	4.50	25.20	6.00
1	1.80	4.00	25.80	6.20
2	2.60	4.20	34.20	6.80
3	1.80	3.60	30.40	6.60
4	1.40	2.90	25.40	5.60
LSD 0.05	1.05	0.79	2.04	غ . م

المصادر

- Honguan Dai, Zhihong Zhang and Xinwn Gue, (2007). Adventitious bud regeneration from leaf and cotyledon explants of Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida* Bge. Var major N. E. Br) *In vitro* Cell. Dev. Biol. Plant. 43: 2 – 8.
- Fong, harry H. S and Bauman, Jerry L. Pharm, (2002). D. Alternative medicines for cardiovascular Diseases J. of Cardiovasculara Nursing. 16: 1 – 8.
- الزبيدي، زهير نجم ، هدى عبد الكريم بابان ، فارس كاظم فليح (1996) . دليل العلاج بالاعشاب الطبية العراقية .
- المنظمة العربية للتنمية الزراعية (1988) . النباتات الطبية والعطرية السامة في الوطن العربي .
- العبيدي ، هاشم كاظم محمد ، عبد الجاسم محيسن جاسم الجبوري ، اسعد خالد عثمان (2001) . اكثار أصليين من اصول الحمضيات خارج الجسم الحي . مجلة البحوث الزراعية العربية. المنظمة العربية للتنمية الزراعية. المجلد 5. العدد 1. ص 105 – 123 .
- خير الله، حسام سعد الدين محمد (1997) . الاكثار الخضري لأشجار السدر (البنق) *Zizyphus spina – Christi* Wild بواسطة تقنية زراعة الأنسجة النباتية . رسالة ماجستير. كلية الزراعة/ جامعة بغداد/ العراق .

7. الجبوري ، عبد الجاسم محيسن جاسم ، محمد خزعل حميد ، علي عبد الأمير الصالحي (1997) . أكثر أصول الكمثرى باستخدام تقنية زراعة الانسجة . مجلة الزراعة العراقية . المجلد (2) العدد (2) ص 68 – 82 .
8. Gokbunar, Leyla, (2007). *In vitro* micropropagation of Hawthorn (*Crataegus* sp.). MSc. Thesis. Dept.of Hort. Kahraman maras' sutco Imam University.
9. سلمان ، محمد عباس (1998) . أساسيات زراعة الخلايا والأنسجة النباتية . جامعة بغداد/ وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . العراق .
10. الجبوري ، عبد الجاسم محيسن جاسم ، هاشم كاظم محمد العبيدي ، اسعد خالد عثمان ، زينب عبد الجبار الحسيني (2000) . تأثير حامض الاندول بيبوترك IBA في تجذير أصلي الحمضيات Carrizo ، Troyer citrange خارج الجسم الحي . مجلة ابحاث التقانة الحيوية . المجلد (2) العدد (2) ص 5 – 16.
11. Rajesh Kumar and Bist, I. D., (2008). Micropropagation of hawthorn (*Crataegus oxyacath* Linn.) through shoot tip cultures. Horticultural Society of India. 32: 12 – 30.
12. *Crataegus japonica* L. هاشم كاظم محمد ، ميساء حامد أحمد وكاظم محمد إبراهيم . (2009) . أكثر الزعرور Murashige, T. and Skooge F (1962).. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473 – 497.
13. الراوي ، خاشع محمود ومحمد خليفة عبد العزيز (1980) . تصميم وتحليل التجارب الزراعية . جامعة الموصل. العراق .
14. محمد ، عبد العظيم كاظم ومؤيد احمد اليونس (1991). اساسيات فسيولوجيا النبات ، الجزء الثالث ، كلية الزراعة جامعة بغداد ، العراق
15. Hutchison, J. F. and Zimmerman R. H., (1984). Factors affecting shoot proliferation and root initiation in organ cultures of the apple northern spy. *Sci. Hort.* 22: 347 – 358.
16. Mahrik, N; Sauad, E and Hussein, T., (2009). *In vitro* mass propagation of the endangered Sinai Hawthorn *Crataegus sinaica* Bioss. *Inter. J. of Academic Research.* Vol (1). No (1). 24 – 29.