

تأثير نوع الوسط الغذائي ومنظمات النمو على الاكثار الدقيق

Bauhinia purpurea L. لنبات خف الجمل

عبد الكريم جمعة التائب ، نعيمة محمد بن خليفة وزهير مصطفى بن سعد

قسم البستنة – كلية الزراعة – جامعة طرابلس

المستخلص

أجريت هذه الدراسة في مختبر زراعة الأنسجة النباتية بمركز البحوث الزراعية / محطة سيدي المصري طرابلس، ليبيا في الفترة من 2016-2017، بهدف تأسيس نظام للإكثار الدقيق لنبات خف الجمل *Bauhinia purpurea* L. أخذت النموات الخضرية من باذرات نامية في البيئة الغذائية بعد 45 يوما من زراعة البذور، وجهزت منها مستأصلات نباتية (عقد مفردة) بطول 1.0 سم بها برعم إبطي. زرعت العقد المفردة على الوسط الغذائي (MS) Murashige and Skoog أو (WPM) Loyd and McCown يحتوي على تراكيز مختلفة من منظم النمو Benzyl adenine (BA) منفردا أو مع 1.0 ملجم/لتر من منظم النمو Naphthalene acetic acid (NAA) من أجل التضاعف. لتجذير النموات الخضرية الناتجة زرعت على ¼ أو ½ أو كامل تركيز أملاح وسط MS مدعوما بعدة تراكيز من Indole butyric acid (IBA) مع أو بدون فحم نشط (0.3%). أشارت النتائج إلى أن وسط MS مدعوما بتركيز 1.5 ملجم/لتر من BA منفردا أو مع 1.0 ملجم/لتر NAA أعطى أفضل النتائج من حيث عدد وطول النموات الخضرية (4.5 فرع ، 7.3 سم) وأعلى عدد للأوراق. النتائج الخاصة بالتجذير أوضحت أن النموات الخضرية المستزرعة على الوسط الغذائي الذي يحتوي على ½ تركيز الأملاح مدعوما بتركيز 5 ملجم/لتر IBA ويحتوي على 0.3 % من الفحم النشط حقق أعلى نسبة تجذير بلغت 88.8 % وأعلى عدد للجذور (6.6 جذر) وأكبر طول للجذور (3.6 سم). أمكن أقلمة النباتات بزراعتها في خليط من التربة مع البيت موس (1 : 1 حجم/حجم) حيث كانت نسبة الشتلات الحية 75% بعد ستة أسابيع من الأقلمة.

الكلمات الدالة: الإكثار الدقيق، نبات خف الجمل، الوسط الغذائي، منظمات النمو.

المقدمة

متساقطة الأوراق، أوراقها بسيطة كاملة الحافة متبادلة مفصصه إلى فصين كبيرين قلبية الشكل ذات ملمس جلدي لونها أخضر فاتح، أما الأزهار فهي عطرية قطرها حوالي 1-2 سم توجد في نورات راسمية ذات لون أحمر وأبيض تظهر في الشتاء والربيع، والثمرة عبارة عن قرن طويل منبسط، ومن الناحية التنسيقية فهي شجرة جميلة جدا نظرا لجمال أزهارها التي تشبه زهرة الأوركيد، إضافة إلى أنها تنجح زراعتها في أنواع كثيرة من

تعدّ أشجار وشجيرات الزينة من النباتات الهامة في الحدائق والميادين العامة، فهي توفر الظل في المناطق المشمسة وتساعد على تنقية الهواء من التلوث، كما تستعمل كمصدات للرياح، بالإضافة إلى أنها تعطي شكل جمالي عند تقليمها، كما أنها تزرع لجمال أزهارها (كذلك، 2007). من هذه الأشجار شجرة خف الجمل والتي تتبع العائلة البقولية (Fabaceae) وأسمها الدارج (Orchid tree) يتراوح ارتفاعها ما بين 5-8 متر

للاتصال: زهير مصطفى بن سعد، قسم البستنة، كلية الزراعة، جامعة طرابلس - ليبيا

البريد الإلكتروني: Z.bensaad@uot.edu.ly

هاتف: 218916543961 +

أجيزت بتاريخ: 2022/11/27

استلمت بتاريخ: 2022/8/8

ظروف درجة حرارة $25 \pm 2^\circ\text{C}$ وشدة إضاءة 2000 لوكس (تعادل 24 ميكرومول م⁻² ث⁻¹ تقريباً) وفترة إضاءة 16 ساعة لمدة 45 يوماً. استخرجت البادرات وأخذ منها مستأصلات نباتية (عقد مفردة) بطول حوالي 1.0 سم تحمل برعم إبطي واحد قبل زراعتها على وسط MS أو WPM يحتوي على تراكيز من منظمات النمو BA : 0, 0.5, 1, 1.5 و 2 ملجم/ لتر قط أو مع 1.0 ملجم/ لتر من NAA وذلك من أجل تضاعف المستأصلات. حضنت المزارع النسيجية تحت نفس الظروف السابق ذكرها، وتم تسجيل البيانات المتعلقة بعدد وطول النموات الخضرية الناتجة، وعدد الأوراق على تلك النموات بعد 45 يوماً من الزراعة.

من أجل تجذير النموات الخضرية، زرعت تلك النموات المتحصل عليها من الزراعة على $\frac{1}{4}$ أو $\frac{1}{2}$ أو كامل تركيز أملاح وسط MS مع أو بدون 0.3 % من الفحم النشط مدعوماً بتراكيز من منظم النمو : IBA 0, 3, 4, 5 و 6 ملجم/لتر. حضنت المزارع النسيجية تحت نفس ظروف التحضين سائلة الذكر. أخذت البيانات عن المستأصلات المجذرة بحساب نسبة التجذير (معادلة 1)، وعدد وطول الجذور لتلك النموات، ولأقلمة النباتات، تم استخراجها من الوسط الغذائي وزرعت في أصص بلاستيكية تحتوي على 1:1 أو 2:1 حجم/حجم من خليط من التربة مع بيت موس مزودة بغطاء بلاستيكي شفاف به عدد متساو من الفتحات، مع زيادة تلك الفتحات كل ثلاثة أيام لخفض الرطوبة النسبية تدريجياً حول النباتات. تركت الأصص المزروعة لمدة ستة أسابيع في غرفة النمو قبل زراعتها في أصص أكبر حجماً تحتوي على تربة معقمة فقط ووضعها تحت ظروف الصوبة البلاستيكية مع ريه بالماء لتحديد نسبة الشتلات الحية.

صممت التجربة بالنظام العشوائي الكامل Completely Randomized Design (CRD) بتجارب عاملية بحيث تحتوي كل معاملة على 4 مكررات وكل مكرر يشتمل على مزرعتين نسيجيتين (وعائين بكل وعاء مستأصل واحد) للمعاملة الواحدة. أخذت بيانات

الأراضي، غير أنها لا تتحمل الصقيع (القيعي وآخرون، 1993). أما من حيث إكثار هذه الشجرة فأنها في أغلب الأحيان يتم إكثارها عن طريق البذور، والتي يعاب عليها أنها تعاني من السكون عند وصولها لمرحلة النضج، ومن علاماته تلون البذور باللون البني، مما يتطلب الإسراع في زراعتها قبل اكتمال نضجها. كما أن إكثارها عن طريق البذور يعتبر غير اقتصادي؛ حيث أن بذورها تنتج باذرات صغيرة من حيث الحجم، وتحتاج لفترة طويلة لكي تصل الشتلة إلى الحجم المناسب لنقلها إلى المكان المستديم، وخلال هذه الفترة فإن البادرات تحتاج إلى العناية الفائقة لعدم تحملها الجفاف والعطش (Rajanna et al., 2011). أما من حيث إكثارها خضرياً عن طريق العقل الساقية فإنها تجري على نطاق محدود نظراً لصعوبة تجذير العقل، إضافة إلى أن الإكثار بتلك الطرق الخضرية يعتبر غير اقتصادي من حيث عدد النباتات الناتجة مقارنة بطريقة إكثارها عن طريق زراعة الأنسجة النباتية، ومن أجل ذلك اتجهت بعض الدراسات الحديثة لاتباع أسلوب زراعة الأنسجة النباتية لإكثار تلك النباتات (باشي والحديدي، 2016)، ومن مراجعة الأبحاث السابقة تبين عدم وجود دراسات محلية تتعلق بالإكثار الدقيق لهذا النبات.

يهدف هذا البحث إلى إيجاد أفضل طريقة لإكثار شجرة خف الجمل *Bauhinia purpurea* L. باستخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية، وذلك بدراسة تأثير نوع الوسط الغذائي ومنظمات النمو على التضاعف والتجذير وإنتاج النباتات.

المواد وطرائق البحث

أخذت البذور من شجرة نامية بحديقة كلية الزراعة بجامعة بطرابلس، وأجري لها التعقيم السطحي حسب ما اتبعته بن خليفة، (2022)، وذلك بغمرها لفترة 15 دقيقة في محلول هيبوكلورات الصوديوم بتركيز 3%، ثم زرعت البذور المعقمة على وسط MS خال من منظمات النمو من أجل إنباتها، وحضنت في غرفة النمو تحت

وجدت الباحثة (Gupta et al., 2020) علاقة تأزرية بين السيتوكينين والأوكسين خاصة عند استعمال تراكيز منخفضة منهما في تحفيز وتشكل ونمو البراعم الإبطية في نبات المورينجا.

هذه النتائج تتفق مع نتائج بعض الدراسات التي أشارت إلى أن الوسط الغذائي MS يعد من أهم الأوساط الغذائية في زراعة الأنسجة النباتية بما يحويه من المتطلبات الضرورية لنمو وتطور النسيج المزروع عليها (Gamborg and Phillips, 1995 ; Murashige, 1974)

كما يتفق مع ما ذكره باشي والحديدي (2016) في دراسة على نبات *Bauhinia alba* L. أن الوسط الغذائي MS الذي يحتوي تركيز 1.5 ملجم/لتر من منظم النمو BA كان الأفضل في زيادة الأفرع النامية على العقد المفردة، كما يتفق مع ما وجدته (Akhter et al., 2012) حيث أوضحوا أن توليفة من BA و NAA بتركيز مختلفة كان لها تأثير في زيادة طول النموات الخضرية الناتجة من العقد المفردة. كما تتفق نتائج البحث مع نتائج الدراسة التي أشارت إلى أن استخدام بعض منظمات النمو ينتج عنه زيادة امتصاص الماء، مما يساعد على زيادة حجم الخلايا، والذي يؤدي إلى زيادة الوزن الرطب (Hangarter et al., 1978)، ويتفق كذلك مع نتائج الدراسة التي دلت على أن الوزن الطري يزداد في وجود تراكيز مناسبة من منظمات النمو ربما بسبب زيادة الانقسام الخلوي وزيادة حجم الخلايا، ويتناقص في المعاملات التي تخلو من وجود منظمات النمو (Fraternal et al., 2002).

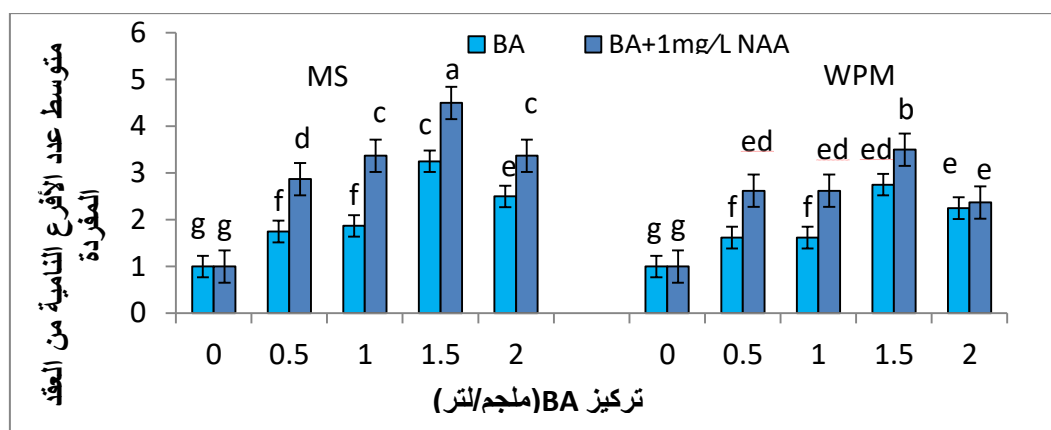
الوعائين لكل خاصية وحسبت متوسطاتها. حولت بعض النتائج الصفرية إلى قيم محورة قبل إجراء عملية التحليل الإحصائي مع عرض ومناقشة النتائج كمتوسطات للقراءات الأصلية.

حساب نسبة التجذير: حسب نسبة التجذير حسب المعادلة الآتية:

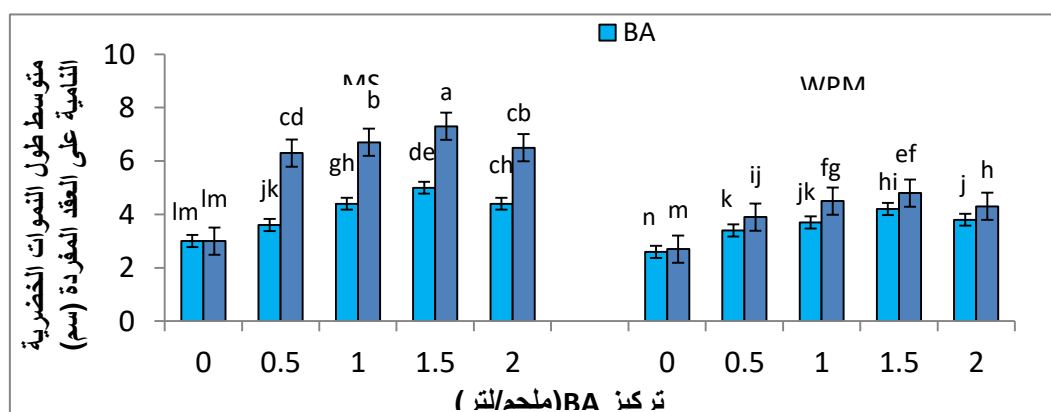
$$\% \text{ التجذير} = \frac{\text{عدد المستأصلات المجذرة لكل مكرر}}{\text{عدد المستأصلات الكلية}} \times 100 \quad (1)$$

النتائج والمناقشة

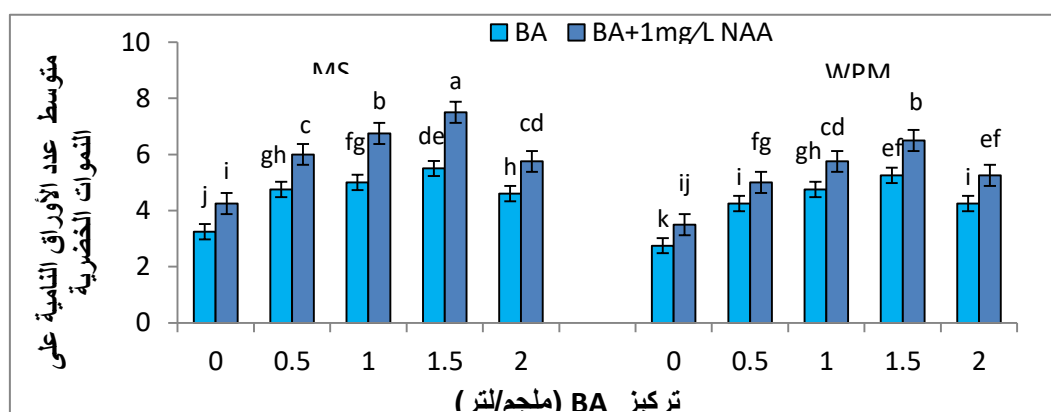
من خلال النتائج الموضحة في الأشكال (1، 2، 3) يتضح أن الوسط الغذائي MS المدعوم بمنظم النمو BA بتركيز 1.5 مع منظم النمو NAA بتركيز 1.0 ملجم/لتر قد أعطى أعلى معدل وبفروق معنوية لعدد وطول النموات الخضرية وعدد الأوراق التي تحملها تلك النموات؛ حيث كانت (4.5، 7.3 سم، 7.5 ورقة) على التوالي مقارنة بالوسط الغذائي WPM مدعوما بنفس توليفة منظمات النمو سالفة الذكر؛ حيث كان معدل عدد وطول النموات الخضرية وعدد الأوراق المحمولة على تلك النموات (3.5، 4.8 سم، 6.5 ورقة) على التوالي. من المعروف في زراعة الأنسجة تأثير وتداخل منظمات النمو على نمو وتشكل الأنسجة المستزرعة من حيث التأزر (synergism) أو التضاد (antagonism) وذلك حسب نوع وتركيز منظمات النمو المستخدمة. عادة ما تستخدم السيتوكينينات لتحفيز النمو والتطور؛ حيث أنها تشجع على الانقسام الخلوي خاصة مع الأكسين (Pierik, 1993)، والتحكم في السيادة القمية والتفرع الجانبي على مستوى النبات ككل أو في مزارع الأنسجة (Srivastava, 2002). في دراسة حديثة



شكل 1. تأثير التداخل بين الوسط الغذائي MS و WPM مع تراكيز من BA فقط أو مع 1 ملجم/لتر NAA على متوسط عدد الأفرع النامية من العقد المفردة لنبات خف الجمل. الأعمدة التي تشترك في نفس الحرف لا توجد بينها فروقات معنوية حسب اختبار دنكن عند مستوى 5%.



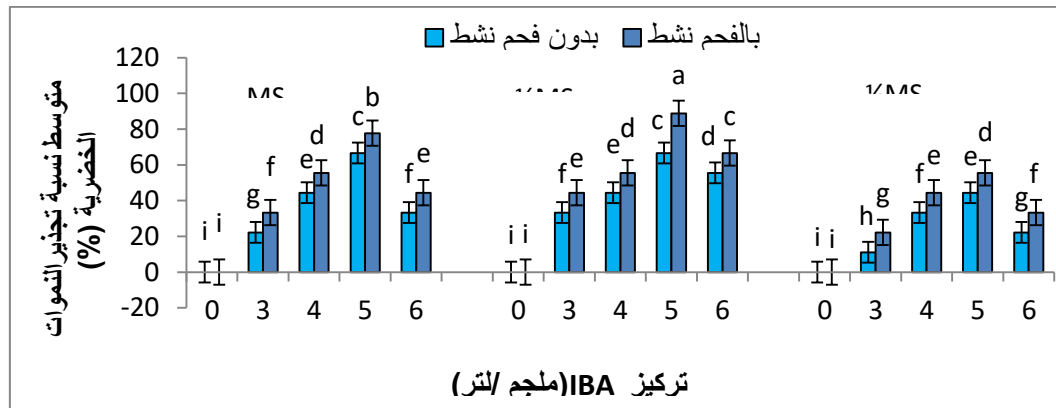
شكل 2. تأثير التداخل بين الوسط الغذائي MS و WPM مع تراكيز من BA فقط أو مع 1 ملجم/لتر NAA على متوسط طول النموات الخضرية النامية من العقد المفردة لنبات خف الجمل. الأعمدة التي تشترك في نفس الحرف لا توجد بينها فروقات معنوية حسب اختبار دنكن عند مستوى 5%.



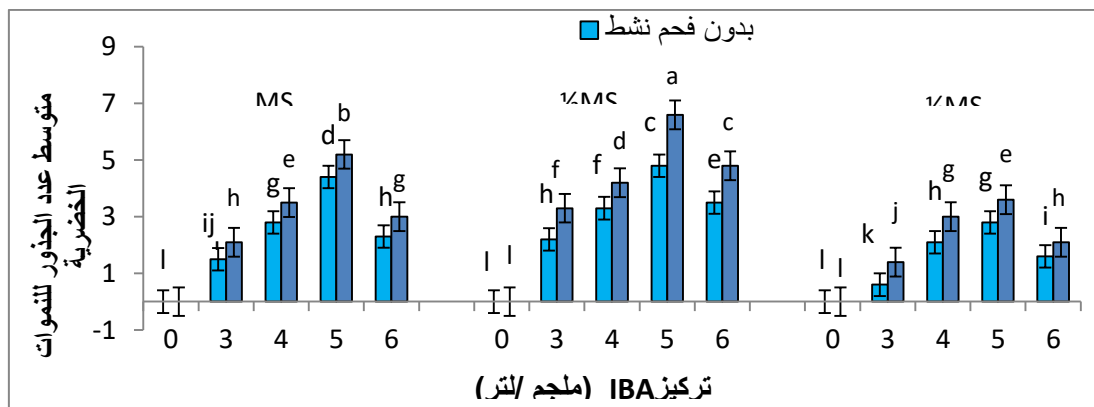
شكل 3. تأثير التداخل بين الوسط الغذائي MS و WPM مع تراكيز من BA فقط أو مع 1.0 ملجم/لتر NAA على متوسط عدد الأوراق النامية على النموات الخضرية الناتجة من العقد المفردة. الأعمدة التي تشترك في نفس الحرف لا توجد بينها فروقات معنوية حسب اختبار دنكن عند مستوى 5%.

سم) وهذا يتفق مع ما وجدته Papafotiou *et al.*, (2010) من أن النموات الخضرية الناتجة من العقد المفردة لنبات *Bauhinia variegata* L. كانت أعلى نسبة تجذير عند زراعتها على وسط MS ½ يحتوي على 2 ملجم/لتر من IBA ، كما يتفق مع ما وجدته كلا من Aikaterini and Papfotiou (2021) حيث ذكرا أن أعلى نسبة وعدد وطول الجذور عندما زرعت النموات الخضرية لنبات *Limoniastrum monopetalum* على وسط غذائي MS ½ يحتوي على 1.0 ملجم/لتر من IBA.

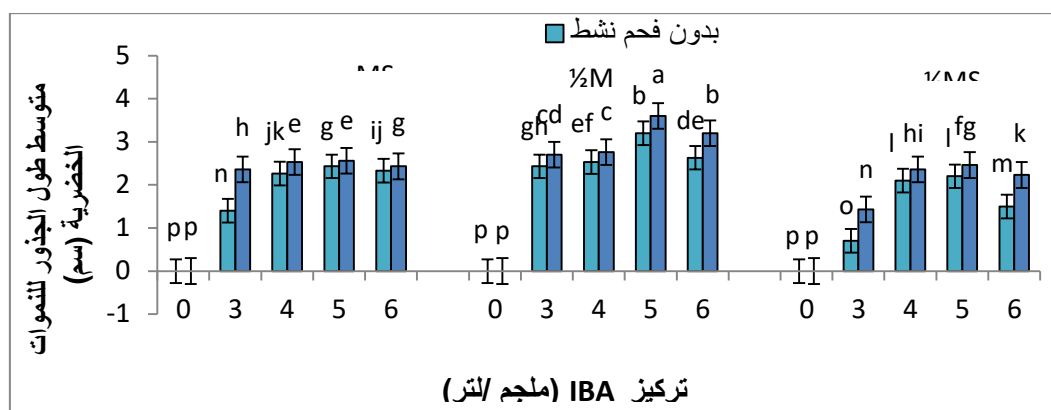
أما من حيث تجذير النموات الخضرية فقد أوضحت النتائج أن الوسط الغذائي MS الذي يحتوي على ½ تركيز أملاح الوسط الغذائي مدعوما بتركيز 5 ملجم/لتر من منظم النمو IBA و 0.3 % من الفحم النشط قد أعطى وبفروق معنوية أعلى معدل من حيث نسبة التجذير وعدد وطول الجذور (شكل 4، 5 و 6) حيث كان متوسط نسبة التجذير وعدد وطول الجذور (88.8% ، 6.6 جذر/نبات، 3.6 سم على التوالي) مقارنة بالمعاملات الأخرى التي تراوحت فيها نسبة التجذير (0 – 77.7%) وعدد الجذور (0 – 5.2 جذر) وطول الجذور (0 – 2.35



شكل 4. تأثير التداخل بين كلا من تراكيز من منظم النمو IBA وتراكيز مختلفة من MS تحتوي أو لا تحتوي على الفحم النشط (0.3%) على نسبة التجذير للنموات الخضرية. الأعمدة التي تشترك في نفس الحرف لا توجد بينها فروقات معنوية حسب اختبار دنكن عند مستوى 5% .



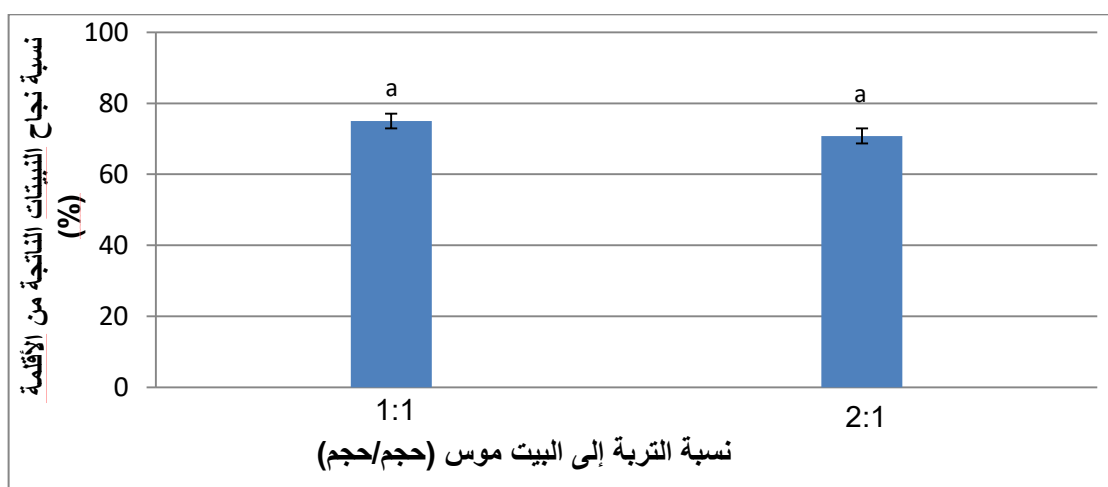
شكل 5. تأثير التداخل بين كلا من تراكيز من منظم النمو IBA وتراكيز مختلفة من MS تحتوي أو لا تحتوي على الفحم النشط (0.3%) على عدد جذور النموات الخضرية الناتجة من العقد المفردة. الأعمدة التي تشترك في نفس الحرف لا توجد بينها فروقات معنوية حسب اختبار دنكن عند مستوى 5% .



شكل 6. تأثير التداخل بين تراكيز IBA مع تراكيز أملاح الوسط الغذائي MS يحتوي أولا يحتوي على الفحم النشط على طول جذور النموات الخضرية. الأعمدة التي تشترك في نفس الحرف لا توجد بينها فروقات معنوية حسب اختبار دنكن عند مستوى 5%.

أسابيع من الأقلمة، وهذا يتفق مع دراسة قام بها باشي والحديدي (2016) على إكثار نبات *Bauhinia alba* L. عن طريق زراعة الأنسجة؛ حيث تحصل على 90% من النباتات الحية والتي وصلت لحالة الأقلمة التامة خلال أسبوعين.

أما من حيث أقلمة النباتات فقد بينت النتائج أنه على الرغم من عدم وجود فروق معنوية بين وسطي النمو 1:1 ، 1:2 (حجم/حجم) من التربة والبيت موس على التوالي (شكل 7) إلا أنه توجد إمكانية لأقلمة النباتات وبنسبة نجاح 75% ، 70.8% على التوالي خلال ستة



شكل 7. تأثير نسبة التربة والبيت موس (1:1 ، 2:1) على نسبة نجاح الأقلمة. الأعمدة التي تشترك في نفس الحرف لا توجد بينها فروقات معنوية حسب اختبار دنكن عند مستوى 5%.

النسيجية الخالية من التلوث. وأن أفضل توليفة للإكثار والتضاعف كانت بتقسيم الأجزاء الخضرية إلى عقد مفردة وزراعتها على وسط غذائي MS مدعوما بتركيز 1.5 ملجم/لتر من منظم النمو بنزيل أدينين (BA) مع 1.0 ملجم/لتر من منظم النمو نفتالين حمض الخليك (NAA) لإنتاج النموات الخضرية من العقد

الاستنتاج
من النتائج المتحصل عليها أتضح أنه بالإمكان إكثار نبات خف الجمل *Bauhinia purpurea* L. بتقنية زراعة الأنسجة النباتية، وذلك بتعقيم البذور بغمرها في محلول التعقيم هيبوكلورات الصوديوم بتركيز 3% لمدة 15 دقيقة للحصول على نسبة عالية من المزارع النسيجية

- Gamborg, O. L. and Phillips, G. C. 1995. Media preparation and handling. In: Plant Cell, Tissue and Organ Culture- fundamental methods. (Gamborg, O. L. and Phillips G. C. (eds)). Springer-Verlage, Berlin. Pp: 21-34.
- Gupta, S.; Kachhwaha, S.; Kothari, S. L. and Rohit, J. 2020. Synergistic effect of cytokinins and auxins enables mass clonal multiplication of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.): a wonder. In Vitro Cellular and Developmental Biolology-Plant, 56:458–469 .
- Hangarter, R.; Ries, S .K. and Carlson, P. 1978. Effect of triacontanol on plant cell cultures in vitro. Plant Physiology Communication, 61: 855–857.
- Lloyd, G. and McCown, B. H. 1981. Commercially-Feasible micropropagation of mountain laurel *Kalmia latifolia*, by Shoot Tip Culture. Proceedings of the International Plant Propagation Society, 30: 421-427.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium For arpid growth and bioassays with tobacco cultures. Physiological Plantarum, 15: 473–497.
- Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue cultures. Annual Review on Plant Physiology, 25: 135-166.
- Papafotiou, M.; Antoniou, I. and Akoumianki-loannidou, A. 2010. Studies on in vitro propagation of *Bauhinia variegata* L. Acta Horticulturae, 885: 35.
- Pierik, R. L. M. 1993. In vitro culture of higher plants. Marthinus Nijhoff Publishers, The Neherlands. p: 70.
- المفردة. وأن أفضل وسط لتجذير النموات الخضرية كان باستخدام MS ½ مدعوماً بتركيز 5 ملجم/لتر من منظم النمو إندول حمض البيوتريك (IBA) مع 0.3 % من الفحم النشط لتجذير النموات الخضرية. أمكن أقلية النباتات بنجاح بنسبة 75%.
- ### المراجع
- القبيعي، طارق محمود، محمد هشام خميس وفيصل سعداوي . 1993 . الأشجار والشجيرات والنخيل ودورهم في التوازن البيئي. دار المريخ للنشر – المملكة العربية السعودية.
- باشي، بشار زكي قصاب وصمود حسين علي الحديدي. 2016 . تضاعف أطراف وعقد نبات البوهينيا *Bauhinia alba* L . خارج الجسم الحي . مجلة تكريت للعلوم الزراعية، 16 (4): 8-16.
- بن خليفة، نعيمة محمد. 2022. اكثار نبات خف الجمل *Bauhinia purpurea* L. بتقنية زراعة الأنسجة النباتية، رسالة ماجستير، قسم البستنة ، كلية الزراعة ، جامعة طرابلس – ليبيا.
- كذلك، محمد . 2007 . أسس وقواعد تشجير وتجميل المدن – منشأة المعارف بالأسكندرية، جمهورية مصر العربية، ص: 179 – 180 .
- Aikaterini, N. and Papafotiou, M. 2021. In Vitro preparation and NaCL tolerance of the multipurpose medicinal halophyte *Limoniastrum monopetalum*. HortScience. 4 (55): 436 - 443.
- Akhter, S.; Rahman, M . and Rahman, H. 2012. Micropropagation of *Bauhinia acuminata* L. . International Research Journal of Applied Life Sciences, 1(3): 35-43.
- Fraternal, D.; Giamperi, L.; Ricci, D. and Rocchi, M.B.L. 2002. Micropropagation of *Bupleurum fruticosum*: The effect of triacontanol. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 69: 135–140.

Srinivastava, L. M. 2002. Cytokinins. In: Plant Growth and Development: Hormones and Environment. Academic Press. P: 202.

Rajanna, L. N.; Sharanabasappa, G.; Seetharam, Y. N.; Arayind, B. and Mallikharjuna, P. B. 2011. In vitro regeneration of cotyledonary node explant of Bauhinia racemosa . Botany Research International, 4(4): 75-80.

Effect of basal medium and growth regulators on Micro propagation of *Bauhinia purpurea* L.

Abdulkarim Giuma Taeb , Naima Mohamed Ben Khalifa and
Zuher Mostafa Bensaad

Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Tripoli.

ABSTRACT

This study was conducted during the years 2016 – 2017 in Plant Tissue Culture Laboratory at the Agriculture Research Center in Sidi El-Massri Station, Tripoli. The objective of this study was to establish a micropropagation protocol for *Bauhinia purpurea* L. Shoots were taken from in vitro grown seedlings after 45 days of culture and prepared into single nodes of 1.0cm length carrying a single bud, cultured on Murashige and Skoog medium (MS) or Loyd and McCown medium (WPM) containing different concentrations of Benzyl adenine (BA) alone or in combination with 1 mgL^{-1} Naphthalene acetic acid (NAA) for multiplication. For rooting, shoots which were produced from single nodes, were cultured on $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$ or full strength MS basal salts media supplemented with different concentrations of Indole butyric acid (IBA) or NAA with or without 0.3% activated charcoal. The results showed that MS Medium containing 1.5 mgL^{-1} BA alone or in combination with 1 mgL^{-1} of NAA gave the best results based on shoot number and shoot length (4.5 and 7.3 cm) and highest leaf number. Rooting results showed that, shoots which were cultured on $\frac{1}{2}$ MS medium supplemented with 5 mgL^{-1} IBA containing 0.3% activated charcoal had the highest rooting percentage (88.8 %), number of roots (6.6) and length of root (3.6cm). Plantlets were successfully acclimatized in a sterile growing mixture composed of soil with peat moss at 1:1 (v\ v) with a survival rate 75% after 6 weeks.

Keywords: Micro propagation, *Bauhinia purpurea* L., Culture medium, Growth regulators.