وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعـــة ديالى
كليــة التربيـــة للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

استجابة نبات الشليك للإكثار، ونشوء الكالس ، وإنتاج بعض المركبات الطبية خارج الجسم الحي

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة . جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات درجة الماجستير

علوم الحياة / علم النبات

من قبل

عماد خلف نجم العزاوي

بإشراف

أ.د وسام مالك داؤود　　م.د إياد عاصي عبيد

1433هـ　　2012م

الفصل الأول : المقدمة

الشليك نبات عشبي معمر يمتاز بشكله الجميل وطعم ثماره اللذيذ ويعد من الفواكه ذات الثمار الصغيرة المنتشرة في العالم لما يتمتع به من قيمة غذائية وعلاجية جيدة ، اشتق اسمه من الكلمة اللاتينية (*fragrant , fragrance*) واسمه الانكليزي Strawberry ويسمى في تركيا chilliak (الابراهيم ، 2002) ومنه اتت تسميته في العراق بالشليك وينتمي الشليك إلى رتبة Rosales والعائلة الوردية Rosaceae وتحت العائلة Rosaideae والى الجنس Fragaria (السعيدي ، 2000).

وتقسم أصناف الشليك وفق طبيعة التزهير والحمل إلى أصناف ذات نهار قصير أو ربيعية الحمل June Bearers or short-day varieties وتحتاج هذه النباتات إلى فترة ضوئية اقل من 14 ساعة من طوال اليوم أو عندما تكون درجة الحرارة اقل من 15مْ لنشوء الأزهار، وكما تدل التسمية إن الشليك يزهر مرة واحدة في السنة ، ويتركز الإثمار في الربيع وبعد الصيف و أصناف دائمة الحمل Ever bearing varieties وهذه الأصناف تزهر وتثمر بشكل رئيس مرتين في السنة الأولى في فصل الربيع ، والثانية في أشهر الخريف عندما تسمح الظروف بذلك (Izhar ، 1997 ; Taylor، 2002) .

تتميز ثمار الشليك بكونها غنية بالمواد الغذائية لاحتوائها على بعض العناصر المعدنية كالبوتاسيوم ، والكالسيوم والفسفور ، والصوديوم ، والمغنسيوم ، والنحاس ، والزنك و باحتوائها على الكثير من البروتينات ، والكاربوهيدرات ، فضلاً عن فيتامين C والثيامين والرايبوفلافين وحامض البانتوثيتيك (Shoemaker، 1975 ; Watt و Merriu ، 1964) .

تؤكل ثمار الشليك طازجة ، ويصنع منها العصير و الحلويات والمربى و الشراب وتستخدم أوراقها في خلطة الشاي، ويعتقد إن للأوراق والجذور خصائص طبية أو دوائية ، كما إن عصير الثمار يستخدم علاجاً للإنسان (Aprona، 2006) .

تنتشر زراعة الشليك في الوقت الحاضرً في أكثر من 64 دولة وبلغ الإنتاج العالمي منه (4.1) مليون طن وبلغت المساحات المزروعة به 255.000 هكتار (FAO ،2008)، يزرع الشليك في العديد من الدول العربية وخاصة في مصر وسوريا وفلسطين ولبنان وأقطار المغرب العربي (الخفاجي ، 2000) ، ولا تزال زراعة الشليك في العراق محدودة في بعض المناطق الشمالية (محافظتي نينوى واربيل) والزراعة مقتصرة على محطات التجارب العلمية وبعض الحدائق المنزلية ومساحات زراعية صغيرة (طه ، 2004) وفي السنتين الماضيتين بدأ يزرع في محطات البستنة في بغداد وديالى بإدخال أصناف تجارية جيدة .

يمكن إكثار نباتات الشليك بطريقتين أساسيتين هما الطريقة الجنسية وفيها يتم استخدام البذور لإنتاج شتلات بذرية لزراعتها في المكان المستديم أو لإنتاج النباتات الأم المنتجة للمدادات ، أما الطريقة الثانية من طرائق الإكثار فهي الطريقة غير الجنسية (التكاثر الخضري) ، إذ تستخدم هذه الطريقة على نطاق واسع في إكثار معظم أصناف الشليك المرغوبة ذات الأهمية الاقتصادية أما بواسطة تقسيم النباتات السليمة بعمر سنة أو الإكثار بالمدادات والتي تعد من الطرائق الأكثر استعمالاً في إكثار نباتات الشليك على المستوى التجاري (الدجيلي ،1993 والسعيدي ،2000) وغالباً ما تواجه النباتات المكثرة بالطرائق الخضرية بعض المشاكل كإصابة هذه النباتات بواحد أو أكثر من المسببات المرضية وخاصة الفايروسية والتي تنتقل من الشتلات المصابة إلى السليمة عن طريق حشرات المن وان إصابة النباتات بالامراض الفايروسية يؤدي إلى اصفرار النبات وضعف النمو ومن ثم انخفاض إنتاجيته من الثمار كماً ونوعاً . تعد تقنية زراعة الأنسجة النباتية وسيلة مهمة لإكثار العديد من النباتات بإعداد كبيرة ومدة زمنية قصيرة إذ أن خلايا الجزء النباتي بإمكانها التضاعف إلى آلاف النباتات في اقل من سنة (George وآخرون ، 2008) .

تستخدم التقنيات الحياتية في المجالات الزراعية والصناعية والطبية وفي إنتاج مركبات مفيدة في ظل ظروف مسيطر عليها واستخراج مواد فعالة ذات استخدامات طبية من كالس النباتات طيلة أيام السنة دون التقيد بموسم النمو (Park وآخرون، 2008 ; Sree وآخرون ، 2010 ; Ramawat،2004). إن نجاح زراعة الخلية والنسيج يعتمد على تكوين مزارع الكالس الجيد للنبات (Khatun وآخرون، 2003) . أن

الحصول على المركبات الطبية في تقنية الزراعة النسيجية يتم من خلال التحكم في المسارات الايضية للخلايا النباتية في مزارع الأنسجة لإنتاج هذه المركبات ومن ضمنها الدوائية ، الذي يصعب أحداثه في النباتات النامية في بيئاتها الطبيعية (Purohit ، 1999 والزبيدي ،2004) ، فقد تم عزل أكثر من 200 مركباً من المركبات الاروماتية من مزارع المعلقات الخلوية للشليك فقد تمكن Hong وآخرون (1990) من الحصول على البيوتانول والالفاكيتوفالريت كأمثله أخرى على المركبات الاروماتية المستحصلة من المزارع الخلوية للشليك ، فضلاً عن الحصول على الاستيل الديهايد والايثانول المستحصلة من المزارع الخلوية للشليك (Drawert و Berger ،1983)

تعد المركبات الفينولية من المواد الطبية المهمة التي تستخدم في مجالات عديدة أهمها في مقاومة أورام السرطان(Mohan وآخرون ،2007) و تتضمن المركبات الفينولية (phenolic acid، anthocyanins، flavonols، ellagtannins and condensed tannis) والتي درست بشكل واسع من حيث تأثير الأنواع المفيدة منها على صحة الانسان (Hannum، 2004) فقد أمكن استخلاص المركبات الفينولية من ثمار الشليك من قبل(A haroni وآخرون ، 2002 و Maatta-Riihinen وآخرون، 2004 و Aaby وآخرون، 2007) ومن الأوراق Hukkanen وآخرون ، 2007) وتمكن Hanhineva واخرون، 2008) من استخلاصها من الأزهار .

يهدف البحث إلى دراسة تأثير كل من :

1- الجبرلين والبنزيل ادنين والكاينتين في إنبات البذور ونمو بادرات الشليك .

2- السايتوكاينينات BA و .Kin في تضاعف الفروع .

3- الاوكسينات 2,4-D و NAA وتداخلها مع السايتوكاينينات .Kin و BA في تحفيز نشوء الكالس .

4- إنتاج الفينولات من الكالس والأوراق والجذور والأزهار لنبات الشليك .

الخلاصة

نُفذت الدراسة في البيت البلاستيكي والظلة الخشبية التابعة لكلية الزراعة جامعة ديالى ، أما التجارب النسيجية فقد أجريت في مختبر زراعة الأنسجة النباتية التابع لقسم البستنة وهندسة الحدائق / كلية الزراعة / جامعة ديالى للفترة من 1 / 10/ 2011 إلى 1/ 7/ 2012 .

وهدف البحث دراسة تأثير منظمات النمو النباتية في إنبات ونمو البادرات وتضاعف الفروع للشليك *Fragaria vesca* و*Fragaria ananassa* Duch صنف Salwan ونشوء الكالس وأنتاج المركبات الفينولية من الكالس ومقارنتها بالنباتات النامية في الحقل. بينت النتائج أن إضافة الجبرلين GA_3 الى الوسط الغذائي MS بالتراكيز 0 ، 0.5 ، 1 ، 2 و 3 ملغم/ لتر في نمو بادرات الشليك *Fragaria vesca* إن الوسط المجهز بتركيز 1 ملغم/ لتر كان الأفضل في زيادة طول الرويشة وعدد الأوراق وعدد الجذور إذ بلغت 8.08 ملم و 3.50 ورقة/ بادرة و 1.88 جذر/ بادرة على التوالي ، وحصلت أفضل استطالة للجذور في معاملة 2 ملغم/ لتر إذ بلغت 6.40 ملم .

وأظهرت النتائج وجود تأثير للبنزيل ادنين BA في تضاعف الفروع للشليك *F. vesca* بالتراكيز 0 ، 0.25 ، 0.5 و 1 ملغم/ لتر إن الوسط المجهز بتركيز 1 ملغم/ لتر أعطى متوسط لعدد الفروع بلغ 11.90 فرع/ بادرة بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة ، في حين أعطى الوسط الخالي من منظم النمو أعلى متوسطاً لطول الفروع بلغ 28.75 ملم . أما عند زراعة بادرات الشليك *F .vesca* على وسط مجهز بالكاينتين .Kin بالتراكيز 0 ، 1 ، 2 و 3 ملغم/ لتر وجد أن الوسط الغذائي المجهز بتركيز 1 ملغم/ لتر أدى إلى زيادة عدد الفروع بنسبة 100% قياساً بالوسط الخالي من الكاينتين ، في حين تفوق الوسط الخالي من منظم النمو في زيادة طول الفروع إذ بلغت 33.75 ملم .

بينت نتائج تأثير إضافة NAA إلى الوسط الغذائي بالتراكيز 0.5 ، 1 ، 2 و4 ملغم/ لتر في نشوء الكالس من القطع الورقية بمساحة 1 سم^2 أن الوسط المجهز بتركيز 0.5 ملغم/ لتر أظهر أعلى نسبة تكون للكالس بلغت 100% ومعدل ووزن طري بلغ 0.484 غم ، في حين أعطى الوسط الغذائي المجهز بتركيز 0.5 ملغم/ لتر متوسط وزن جاف بلغ 0.018 غم ، أما نتائج تأثير تداخل NAA بالتراكيز 1 ، 2 و 4 ملغم/ لتر مع BA أو .Kin بتركيزي 1 و 2 ملغم/ لتر وجد أن إضافة 1 ملغم/ لتر BA + 2 ملغم/ لتر NAA أعطى أعلى نسبة تكون للكالس بلغت 90% ، وأعطت معاملة 1.5 ملغم/ لتر .Kin + 1 ملغم/ لتر NAA أعلى متوسط للوزن الطري والجاف بلغ 2.107 و 0.127 غم على التوالي .

أما تأثير 2,4-D بالتراكيز 0.5 ، 1 ، 2 و 4 ملغم/ لتر في نشوء الكالس من أوراق الشليك صنف Salwan فقد بينت النتائج إن الوسط الحاوي على 0.5 ملغم/ لتر أعطى أعلى نسبة تكون للكالس بلغت70% وبلغ معدل ووزنه الجاف 0.039 غم ، في حين أعطت معاملة 4 ملغم/ لتر أعلى متوسط للوزن الطري بلغ

0.699 غم ،أما عن تأثير تداخل 2,4-D بالتراكيز 1 ، 2 و4 ملغم/ لتر مع .Kin أو BA بتركيزي 1 و 1.5 ملغم/ لتر، وجد إن أعلى نسبة تكون للكالس بلغت 100% في الوسط المجهز بـ 1.5 ملغم/ لتر BA + 4 ملغم/ لتر 2,4-D ، في حين أعطت الأوساط الغذائية المحتوية على 1 ملغم/ لتر .Kin + 1 أو 2 ملغم/ لتر 2,4-D أعلى متوسط للوزن الطري والجاف بلغ 2.560 و 0.146 غم على التوالي.

وفي تجارب تقدير الفينولات من الكالس والأنسجة المزروعة في الحقل ، بينت النتائج إن الأنسجة المتخصصة أعطت مستويات عالية في معظم المركبات الفينولية قياساً بأنسجة الكالس إذ أعطت أوراق الشليك vesca أعلى قيم في مركبات Meryctin و Caffic acid و Gallic acid وأعطت إزهار النوع نفسه أعلى قيم لمركبات Alpha penine و Comarins و Quercetin ، وأعطت جذور النوع نفسه أعلى كمية لمركبي P-hydroxy benzoic acid و Ferulic acid ، في حين أعطى كالس النوع نفسه أعلى كمية لمركب Camphene و Ellagic acid وأعطى كالس الشليك Salwan أعلى كمية لمركب Catachin .