وزارة التعليـــــم العالـــــي
والبحـــــــث العـــــلمـــي
جامعة ديالى / كـــلية الزراعة
قسم البستنة وهندسـة الحدائق

الإكثار الدقيق لنبات الستيفيا وتأثير الكلوتامين والارجنين والبيوترسين في تحسين النمو وزيادة إنتاج الستفيوساید

رسالة مقدمة إلى

مجلس كلية الزراعة – جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في العلوم الزراعية

(البستنة وهندسة الحدائق)

من قبل

علي طالب إبراهيم العنبكي

باشراف

أ.م.د. هبة احمد جواد

1445 هـ 2024 م

الخلاصة

اجريت هذه الدراسة على نبات الستيفيا في مختبر زراعة الانسجة النباتية التابع لقسم البستنة وهندسة الحدائق، كلية الزراعة، جامعة ديالى للفترة من ايلول/ 2022- حزيران/ 2023 اشتملت الدراسة تجارب نسيجية وتجربة حقلية . طبقت التجارب وفق التصميم تام التعشية (CRD) بعشرة مكررات للتجارب المختبرية، بتصميم القطاعات الكاملة المعشاة (RCBD) بخمسة مكررات للتجربة الحقلية ، ابتداءً من تجربة تعقيم الأجزاء النباتية وتجارب دراسة تأثير منظمات النمو النباتية في إكثار النباتات نسيجياً، فضلاً عن تجارب زيادة محتوى النبات من الستفيوسايد باستخدام تراكيز مختلفة من الاحماض الامينية (الكلوتامين والارجنين)، وعديد الامين (البيوترسين) خارج الجسم الحي وحقلياً . بينت نتائج تجربة التعقيم فروقات معنوية بين المعاملات إذ استخدمت هايبوكلورات الصوديوم (NaOCl) بثلاثة تراكيز 5 و10 و15%، ولثلاث مدد زمنية 5 و10 و15 دقيقة، تفوق التركيز 15% إذ أعطى أعلى نسبة تعقيم بلغت 100% متفوقاً على التركيزين 5 و10 % للمدد الزمنية الثلاث، وأعطى التركيز 5% لمدة 15 دقيقة أعلى نسبة استجابة بلغت 80% متفوقاً على التراكيز الاخرى بالمدد الزمنية الثلاث.

في تجربة التضاعف باستخدام تراكيز مختلفة من السايتوكاينين BA (0.0 ، 1.0 ، 2.0 ،3.0 ملغم لتر$^{-1}$) بالتدخل مع تراكيز مختلفة من الاوكسين IBA (0.0 ، 0.3 ، 0.6 ملغم لتر$^{-1}$) إذ أعطت معاملة المقارنة أعلى متوسط طول الافرع بلغ 5.927 سم اما IBA ايضا أعطت معاملة المقارنة أعلى متوسط طول الافرع بلغ 4.015 سم . تفوق التركيز 1.0 ملغم لتر$^{-1}$ إذ أعطى أعلى متوسط لصفة عدد التفرعات بلغ 3.13 فرع نبات$^{-1}$ وأعلى متوسط لصفة عدد الأوراق بلغ 12.60 ورقة نبات$^{-1}$ و قد تفوق التركيز 3.0 ملغم لتر$^{-1}$ إذ أعطى أعلى متوسط لكل من صفتي الوزن الطري والوزن الجاف بلغت متوسطاتهما 0.9330 و0.0677 غم على التتابع . وتفوق التركيز 0.3 ملغم لتر$^{-1}$ IBA إذ أعطى أعلى متوسط لصفة عدد الأفرع بلغ 2.75 فرع نبات$^{-1}$ وصفة عدد الأوراق بلغ 11.35 ورقة نبات$^{-1}$ وعدد العقد بلغ 5.55 عقدة نبات$^{-1}$ وكل من الوزنين الطري والجاف بلغا 0.8900 و0.0596 غم على التتابع .

بخصوص تجربة التداخل بين تراكيز مختلفة من Kin (0.0، 2.0، 4.0، 6.0 ملغم لتر$^{-1}$) وتراكيز مختلفة من IBA (0.0، 0.3، 0.6 ملغم لتر$^{-1}$) تفوقت معاملة المقارنة في متوسط صفة طول الافرع بلغ 3.63 سم ومتوسط صفة عدد الأوراق بلغ 15.2 ورقة نبات ومتوسط صفتي الوزن الطري والجاف إذ بلغا 0.4060 و 0.0246 غم على التتابع ، اما

متوسط صفة عدد الأفرع تفوقت معاملة التركيز 2.0 ملغم لتر$^{-1}$ إذ أعطت افضل عدد أفرع بلغ 3.46 فرع نبات$^{-1}$ وتفوق التركيز 0.3 ملغم لتر$^{-1}$IBA إذ أعطى أعلى متوسط لصفة طول الافرع بلغ 2.42 سم وأعلى متوسط لصفة عدد لتفرعات بلغ 2.80 فرع نبات$^{-1}$ ومتوسط صفة عدد الأوراق بلغ13.15 ورقة نبات$^{-1}$ ومتوسط صفتي الوزن الطري بلغ 0.3578 غم . اما بالنسبة لتأثير تراكيز IBA (0.0، 0.3، 0.4 ملغم لتر$^{-1}$) وتراكيز NAA (0.0، 0.2، 0.4 ملغم لتر$^{-1}$) على صفات التجذير أعطى NAA عند التركيز 0.4 ملغم لتر$^{-1}$ أعلى متوسط لصفة طول الجذور بلغ 1.940 سم وأعلى متوسط لصفة عدد الجذور بلغ 7.2 جذر نبات$^{-1}$ عند التركيز 0.6 ملغم لتر$^{-1}$ IBA ، ونجاح عملية الاقلمة لجميع المعاملات .

بالنسبة لتجارب الاحماض الامينية وعديد الامين ، استخدم الحامضين الامينيين الكلوتامين والارجنين وعديد الامين البيوترسين بتراكيز مختلفة (0.0 ، 50 ،100 ،150 ملغم لتر$^{-1}$) ، في التجربة النسيجية أعطى البيوترسين بتركيز 50 ملغم لتر$^{-1}$ أعلى متوسط لصفة طول الافرع بلغ 12.60 سم وأعطى الارجنين عند التركيز 50 ملغم لتر$^{-1}$ والبيوترسين عند التركيز 150 ملغم لتر$^{-1}$ أعلى متوسط لصفة عدد الأفرع بلغ 2.2 فرع نبات$^{-1}$، وأعطت المعاملة 150 ملغم لتر$^{-1}$ أعلى محتوى للستفيوسايد عند جميع تراكيز الاحماض الامينية وعديد الامين المستخدمة في الدراسة كان أعلى القيم عند التركيز 150 ملغم لتر$^{-1}$ بيوترسين بلغ 251.6 مايكرو غرام مل$^{-1}$ في التجربة النسيجية، وكذلك في التجربة الحقلية فان محتوى الستفيوسايد يزداد بزيادة تراكيز الاحماض الامينية وعديد الامين المرشوشة ورقياً ، إذ أعطى الرَّش الورقي بالبيوترسين بتركيز 150ملغم لتر$^{-1}$ أعلى متوسط لمحتوى الأوراق من الستفيوسايد بلغ 462.4 مايكرو غرام مل$^{-1}$.

1. المقدمة

نبات الستيفيا الذي ينتمي الى العائلة النجمية *Asteraceae* هو نبات عشبي حلو المذاق ، اسمه العلمي *Stevia rebaudiana* Bertoni موطنه الأصلي مناطق أمريكا الجنوبية (البارغواي والبرازيل) معروف بمذاقه الحلو ويعتبر مُحلي طبيعي حيوي خالٍ من السعرات الحرارية والذي يوفر حلاً لمشاكل السمنة عند البشر (Khiraoui وآخرون، 2021) .

تحتوي أوراق نبات الستيفيا على عناصرغذائية عدة فضلاً عن بعض المركبات الكيميائية غير السامة مما يجعلها مصدراً مناسبا لاستخراج المكونات الغذائية والدوائية وانتاجها ، وتشير الدراسات الكيميائية إلى إمكانية استخدام مكونات نبات الستيفيا في المجالات العلاجية والدوائية كونها غير سامة وتحتوي على مضادات لمرض السكر ومضادات الأكسدة و ومركبات خافضة لضغط الدم ، ومضادات الميكروبات وللالتهابات وللأورام (Ruiz-Ruiz ، وآخرون ،2017). فان الستفيوسيدات والمركبات ذات الصلة بما في ذلك الريبوديوساید A وإيزوستيفيول ، هي المسؤولة عن هذه الفوائد العلاجية اضافة الى تكوين مضادات للإسهال ، ومدر للبول، ورفع المناعة (Ferrazzano، وآخرون ،2015) .

يكثر نبات الستيفيا أما جنسياً بالبذور أو خضرياً بالعقل الساقية أو بتفصيص الجذور ، و تكتنف طريقة الأكثار بالبذور العديد من المشاكل أهمها نسبة الأنبات المنخفضة التي تعد المشكلة الأكبر في اكثار الستيفيا، كذلك وجود حالة عدم التوافق الذاتي في هذا النوع والذي يؤدي الى فشل الأخصاب (Miyazaki و Wantenabe، 1974). فضلاً عن ان نسبة الأنبات للبذور في الستيفيا واطئة جداً فانها لا تعطي نفس التركيب الوراثي و حلاوة الاوراق نفسها من ناحية الكمية و النوعية بسبب عدم التجانس الوراثي للبذور (Miyagawa وآخرون ،1986). أما الأكثار عن طريق العقل فأنه يتطلب جهوداً كبيرة وعدد النباتات المنتجة منه محدوداً جداً. أما الأكثار عن طريق تفصيص الجذور تبدأ نبتة الستيفيا مِن عُمر سنة، في تكوين 3 إلى 5 أجزاء جذرية، تعطي كل واحدة منها بعد ذلك نبتةً كاملة ، إلا أن لهذه الطريقة عيوباً تتمثل في قلة عدد النباتات الناتجة عن عملية التفصيص (Miyazaki و Wantenabe،1974). بناء على ما تقدم وللتغلب على جميع هذه المشاكل فقد قام الباحثون بمحاولات لتسخير تقانة زراعة الانسجة النباتية في الاكثار الواسع لنبات الستيفيا في مختلف الدول مثل ماليزيا (Noordin وآخرون 2012، Abdul Razak وآخرون 2014) وتونس (Laribi وآخرون 2012) ومصر (Hassanen و Khalil،2013).

في الوقت الحاضر أصبح من الضروري زيادة كميات مركبات الايض الثانوي ومنها الستفيوسايد كونها دواء فعال ومصدر مضاف للغذاء بالإضافة إلى دورها المهم في تكيف النباتات مع البيئة، وقد تم استخدام تقنيات زراعة الخلايا والانسجة النباتية لانتاج وزيادة مركبات الأيض الثانوية منذ أوآخر الستينيات قد يؤدي تحسين مقاومة الإجهادات ، وإختيار خطوط الخلايا عالية الانتاج واستخدام العوامل المؤثرة مثل منظمات نمو النبات اضافة إلى زيادة انتاج مركبات الأيض الثانوي (Turkyilmaz، 2021) .

ظهرت زراعة الخلايا او زراعة الانسجة النباتية كتقانة بديلة لانتاج مركبات الايض الثانوية النشطة بيولوجيًا ذات القيمة العالية في المختبر يمكن ان يؤدي تنفيذ العديد من البروتكولات الى تحسين الانتاجية واختيارنسيج محدد من النبات وكذلك التغلب على القيود التي تواجهها تقانة زراعة الخلايا النباتية التي تحول دون انتاجها على نطاق واسع (Narayani وآخرون، 2017).

ومن التطبيقات المهمة التي تعزز الانتاج الكمي والنوعي للنبات وهي الاحماض الامينية، اذ تساهم في الحد من تأثير الإجهاد الناتج عن الجفاف والملوحة من خلال الانشطة الفسيولوجية المختلفة عن طريق تغيير القدرة التناضحية للانسجة النباتية كما انها تقلل بشكل كبير من الإصابات الناجمة عن الاجهادات الحيوية. انها تحفز العمليات الفسيولوجية والكيميائية الحيوية والمشاركة في تخليق البروتين والكربوهيدرات كما يعتقد ان الأحماض الأمينية مسؤولة عن انقسام الخلايا وانتاج بعض هرمونات النمو الطبيعي مثل IAA و GA3 ومن ثم زيادة الحاصل وتحسين جودته (Baqir وآخرون ، 2019) .

عديدات الامين هي الأمينات الأليفاتية الموجودة في جميع الخلايا الحية وهي ضرورية للعديد من نشاطات الخلايا الأساسية ، لها دور وقائي في الاجهادات غير الاحيائية في حين ان الآلية التي يعمل بها عديد الامين أثناء التفاعل بين النبات والميكروبات لا تزال غير مفهومة جيدًا (Nandy وآخرون، 2022) . تعتبرعديدات الامين هرمونات نمو نباتية لان النباتات الراقية والبدائية تصنعها داخل انسجتها ولا تستغني عنها في دورة حياتها يتم بنائها الحيوي من احماض امينية معروفة ومشخصة في النبات وهي ضرورية لنمو الخلايا وتطورها (الاسدي والخيكاني، 2019).

نظراً لأهمية نبات الستيفيا من الناحيتين الاقتصادية والعلاجية كونه بديل صحي واعد لمصادر السكر التقليدية وبصيص امل للتخلص من الامراض التي تسببها السكريات ذات السعرات الحرارية العالية، فان هذه الدراسة تهدف الى :-

1- المشاركة في نشر زراعة هذا المحصول في القطر من خلال اكثاره خارج الجسم الحي .
2- تحديد افضل توليفة من منظمات النمو BA مع IBA و Kin مع IBA و في تضاعف الستيفيا ودور IBA و NAA في تجذير الافرع.
3- تحسين صفات النبات الكمية والنوعية بأستخدام الاحماض الامينية وعديد الامين ، وتحديد التركيز الامثل لها .