

تأثير الساييتوكاينين BA والاكسين NAA والجبرلين و عرق السوس في تضاعف افرع الورد الشجيري خارج الجسم الحي

د. مهدي ناهي شيال د. مسلم عبد علي عبد الحسين كوثر هادي عبود المعموري
الكلية التقنية /المسيب
* بحث مستل من رسالة ماجستير للباحثة .

الخلاصة

نفذ البحث في مختبر زراعة الأنسجة النباتية العائد الى قسم الإنتاج النباتي/ الكلية التقنية- المسيب للمدة من 2007 - 2008 لدراسة تأثير تراكيز مختلفة من منظمات النمو البنزيل ادنين (BA) Banzyl Adenin والنفثالين حامض الخليك -1 Naphthalen acetic acid (NAA) وحامض الجبرليك Gibberellic acid (GA₃) و مستخلص عرق السوس في تضاعف واستطالة الافرع المتكونة خارج الجسم الحي لصفين من الورد الشجيري الهجين Peace و Eugen. اظهرت النتائج أن افضل تركيز للـ BA في إحداث تضاعف فروع صنفى الورد الشجيري هو التركيز 3 ملغم/لتر الذي أعطى أكبر معدل لعدد الفروع بلغ 2.8 و 2.3 فرعاً للصفين Peace و Eugen، على التوالي. كما ان تراكيز NAA المضافة الى وسط التضاعف MS الحاوي على 3 ملغم / لتر BA قد اثرت بشكل معنوي في معدل عدد واطوال الافرع الخضرية وكان افضل تركيز هو 0.2 ملغم /لتر NAA + 3 ملغم /لتر BA مقارنة مع التراكيز الاخرى. ان اضافة الجبرلين الى الوسط الغذائي المتضمن 3 ملغم/ لتر BA + 0.2 ملغم / لتر NAA كان له تأثير معنوي في معدل طول الفروع المتضاعفة، وان التركيز 0.01 ملغم / لتر GA₃ قد أعطى أعلى معدل لطول الفروع بلغ 24.0 ملم مقارنة مع التراكيز الأخرى. كما إن إضافة مستخلص عرق السوس الى الوسط الغذائي MS الحاوي على 3 ملغم/ لتر BA + 0.2 ملغم / لتر NAA قد اثر معنوياً في عدد الأفرع واطوالها خاصة عند التركيز 2 مل /لتر مقارنة ببقية التراكيز.

Abstract

The present research was conducted at Plant Tissue Culture Laboratory/ Department of plant production techniques / AL-Musaib Technical College during of 2007-2008 . The aim was studying the effect of different concentrations of plant growth regulators Banzyl adenin (BA), 1-Naphthalen Acetic Acid (NAA), Cibberellic Acid (GA₃) and also studying the effect of liquorice extract on shoot multiplication and elongation of two cultivars of hydrid rose " Eugen and Eugen " . The addition of BA to the medium significantly increased number of shoots/explant as compared with control and the best concentration was 3mg/L which gave the largest number. Inclusion of NAA in proliferation medium MS + 3 mg /L BA significantly increased shoots number and length, and the best concentration was 0.2 mg/ L NAA + 3 mg / L BA compared with the other concentrations. Addition of GA₃ to the proliferation medium MS +3 mg/L BA + 0.2 mg/L NAA showed a significant effect on shoots length and the concentration 0.01 mg/l gave the highest shoot length "15 mm" compared with the others. Inclusion of liquorice extract in proliferation medium MS +3 mg / L BA + 0.2 mg / L NAA significantly increased shoots number and length, especially at the concentration of 2 ml/l, compared with the other concentrations.

المقدمة : INTRODUCTION

اهتم الإنسان منذ القدم بإكثار وتربية نباتات الورد الشجيري *Rosa spp* التي تجمع ازهارها بين جمال الشكل والعطر والفائدة الطبية والصناعية والبقاء مدة طويلة بعد القطف، وتصل قيمة منتجاتها الى 8 مليارات دولار سنوياً [1 و 2]. تكثر نباتات الورد الشجيري بطريقتين، جنسياً وذلك بزراعة البذور وخضرياً بالتطعيم والتركيب والترقيد والعقل الساقية وهي الطريقة المفضلة في الإكثار إلا إنها قد تنطوي على بعض الصعوبات والمخاطر ومنها انخفاض نسبة نجاح العقل [3 و 4]. وقد استعملت تقنية زراعة الانسجة النباتية لاكثار الورد الشجيري في الاكثار السلالي الدقيق (Clonal micropropagation) للاصناف المرغوبة ومضاعفة السلالات وانتاج نباتات خالية من المسببات المرضية والانتاج على مدار السنة، لهذا انشئت المئات من مختبرات زراعة الانسجة التجارية في العالم لهذا الغرض [5 و 6].

تحتاج تقنية زراعة الانسجة ادخال تحسينات جديدة على برامج الاكثار لزيادة عدد الافرع الخضرية المتكونة على الاجزاء النباتية المزروعة واهمية وسط الاكثار في تحفيز تكوين الافرع التي تعد من الخطوات المهمة في اكثار وتحسين النبات [7]. من نتائج البحوث والدراسات التي بدأت منذ زمن ليس بالقليل بات واضحا ان التوازن الدقيق بين تركيز الاوكسين والساييتوكاينين

بالوسط الغذائي ذو أهمية قصوى إذ ان الزيادة الحاصلة في تركيز الساييتوكاينين نسبة الى الاوكسين تحفز تكوين الافرع الخضرية، كما ان الأفرع المتكونة نتيجة للدور الذي تؤديه الساييتوكاينينات في تحفيز نموها من البراعم الابطية غالبا ما تكون قصيرة لذا وجب اضافة الاوكسينات بانواع وتركيز تختلف باختلاف الانواع والاصناف النباتية بهدف تحفيز استطالة الافرع وجعلها بالطول الذي يمكنها من الانتقال الى مرحلة التجذير.

تشير المصادر الى ان اضافة الجبرلينات في المزارع النسيجية قد ينتج عنه تأثيرات متناقضة فقد تكون له احيانا تأثيرات تثبيطية وتحفيزية في احيان اخرى [8]. وبين [9] ان توالد الافرع خارج الجسم الحي مبني بصورة رئيسية على وجود الساييتوكاينينات باعتباره منظم نمو رئيس ولكن يفضل اضافة الاوكسينات والجبرلينات وبتراكيز قليلة لتشجيع ذلك.

تضاف في بعض الأحيان إلى الأوساط الغذائية المستعملة في الزراعة خارج الجسم الحي بعض المواد الطبيعية التي يتم استخلاصها من النبات [10] فقد لوحظ من الدراسات المتوافرة التأثير الايجابي لهذه المواد في المزارع النسيجية للعديد من الانواع النباتية ومن هذه المواد حليب جوز الهند (Coconut Milk) في المزارع النسيجية للحمضيات [11 و 12] ومستخلص الشعير في المزارع النسيجية للحمضيات [13 و 14] وعصير الطماطة وعصير البرتقال [10 و 15] ومستخلص البطاطا والموز [16]. لقد وجدت [17] ان استعمال مستخلص مسحوق جذور السوس بعد مرور شهرين من زراعة أطراف الأفرع لأصل الحمضيات (تروبيرسترنج) ادى إلى زيادة أطوال الأفرع مقارنة بمعاملة المقارنة إذ أمكن الحصول على أعلى معدل لأطوال الأفرع عند استعمال مستخلص جذور السوس والذي بلغ 4.22 سم عند التركيز 6 مل / لتر.

تهدف التجربة الحالية الى دراسة تأثير تضمين وسط التضاعف بمستخلص عرق السوس في تضاعف واستطالة الافرع. ودراسة تأثير تراكيز من BA والاوكسين NAA والجبرلين GA₃ في تضاعف واستطالة الافرع لصنفين من الورد الهجين هما صنف Peace العائد الى مجموعة ورد الشاي الهجين وصنف Eugen العائد الى مجموعة الورد الدائمي الهجين.

المواد وطرائق العمل : MATERIALS AND METHODS

نفذ البحث في مختبر زراعة الأنسجة النباتية التابع لقسم التقنيات الحياتية النباتية في الكلية التقنية – المسيب في عامي 2007 و2008. استعمل في الدراسة صنفان من الورد الشجيري هما الصنف (Peace) و الصنف (Eugene)

زرعت العقد المفردة بعد تغطيسها بمحلول كلوريد الزئبق (HgCl₂) بتركيز 0.1% لمدة 5 دقيقة في وسط MS المجهز ب 3 ملغم/لتر BA وحظنت الزروعات لمدة 21 يوم في غرفة النمو. نقلت الافرع الناتجة منه الى الوسط MS [18] الخاص بتحفيز عملية تضاعف الافرع (المزود بمنظمات النمو وبحسب التجارب المستعملة في البحث)، اذ قطعت بطول 1.5سم وزرعت بواقع فرع واحد لكل انبوب بعشرة مكررات لكل معاملة وحضنت بدرجة حرارة 25 ± 2°م وتحت شدة اضاءة 1000 لوكس ولمدة 16 ساعة ضوء يتبعها 8 ساعات ظلام. اخذت النتائج من حيث عدد الافرع وأطوالها بعد اربعة اسابيع من الزراعة وللتجارب كافة.

التجربة الأولى : تأثير تراكيز الساييتوكاينين BA :

درس تأثير تراكيز مختلفة من الساييتوكاينين BA في نمو وتضاعف الافرع الخضرية لصنفي الورد الشجيري المدروسة ، اذ اضيف BA بتركيز (0 ، 1 ، 2 ، 3 او 4) ملغم /لتر لبيان تأثيرها في عدد الأفرع المتكونة وأطوالها . اخذت البيانات بعد مرور 4 اسابيع.

التجربة الثانية : تأثير الاوكسين في التضاعف :

وفق النتائج المستحصلة من التجربة الاولى اختير تركيز BA (3ملغم/لتر) الذي اتضح ان الافرع الناتجة منه كانت قصيرة بالرغم من كون عددها اكبر . تم اجراء تجربة لدراسة تأثير تضمين الوسط الغذائي MS المجهز ب 3 ملغم BA (باعتبارها افضل معاملة من التجربة السابقة) والاوكسين NAA بتركيز مختلفة (0 ، 0.1 ، 0.2 ، 0.3 او 0.4) ملغم /لتر في نمو وتضاعف الافرع الخضرية لصنفي الورد الشجيري المدروسة، اخذت البيانات بعد مرور 4 اسابيع.

التجربة الثالثة : تأثير الجبرلين في اطوال الافرع المتضاعفة :

وفق نتائج التجربة الثانية اختيرت معاملة التوليفة (3 ملغم / لتر BA + 0.2 ملغم NAA) باعتبارها أفضل معاملة من التجربة السابقة في إعطائها أعلى معدل لأعداد الأفرع واطوالها تم اجراء تجربة لدراسة تأثير تضمين الوسط الغذائي MS بالجبرلين GA₃ بتركيز مختلفة (0 ، 0.01 ، 0.02 ، 0.03 او 0.04) ملغم / لتر والمجهز ب (3 ملغم / لتر BA + 0.2 ملغم NAA) في معدل أطوال الأفرع الخضرية لصنفي الورد الشجيري المدروسة ، أخذت البيانات بعد مرور 4 اسابيع من التحضين في غرفة النمو .

التجربة الرابعة : تأثير عرق السوس في التضاعف :

في هذه التجربة اجريت دراسة تأثير مستخلص عرق السوس في معدل عدد الأفرع وأطوالها من خلال اضافته الى وسط MS إذ اضيف مستخلص عرق السوس إلى وسط التضاعف بالتركيز (1 ، 2 ، 3 او 4) مل/ لتر . فضلا عن معاملة المقارنة (وسط التضاعف مجهز بالسكرور من دون إضافة مستخلص). اخذت البيانات بعد مرور 4 اسابيع. وقد تم تحضير مستخلص مائي لعرق نبات السوس وذلك بنقع مسحوق العروق بالماء المقطر البارد بنسبة 1 : 1 (وزن: حجم) لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة الغرفة ثم رشح المستخلص باستعمال أوراق الترشيح وحفظ المستخلص في الثلاجة لحين الاستعمال. وعد هذا المستخلص قوة كاملة (تركيز 100 %) حضرت منه التراكيز المستعملة في البحث.

التصميم التجريبي :

نفذت التجارب السابقة كتجارب عاملية باتتبع التصميم العشوائي الكامل (CRD) Completely Randomized Design وبواقع عشرة مكررات لكل معاملة لجميع التجارب. وقد حلت البيانات وفق برنامج التحليل الاحصائي الـ[SAS]19 في الحاسوب وقد قورنت المعدلات باستعمال اختبار دنكن Duncan test عند مستوى احتمال 0.05.

النتائج والمناقشة : Results and Discussion

تأثير الـ BA في معدل عدد الافرع :

تظهر البيانات في الجدول (1) تأثير التراكيز المختلفة من BA في تضاعف الافرع إذ أظهرت هذه النتائج أن افضل تركيز للـ BA في إحداث تضاعف افرع الصنفين المزروعين هو التركيز 3 ملغم/لتر الذي أعطى أكبر معدل لعدد الافرع بلغ 2.55 فرعاً / جزء نباتي الذي اختلف معنوياً عن بقية الأجزاء النباتية مقارنة بـ 0.35 فرعاً / جزء نباتي لمعاملة المقارنة التي لم تختلف معنوياً عن التركيزين 1 و 4 ملغم/لتر BA . وبالنسبة لتأثير الصنف النباتي في عدد الافرع فلم يكن له تأثير معنوي في معدل عدد الافرع.

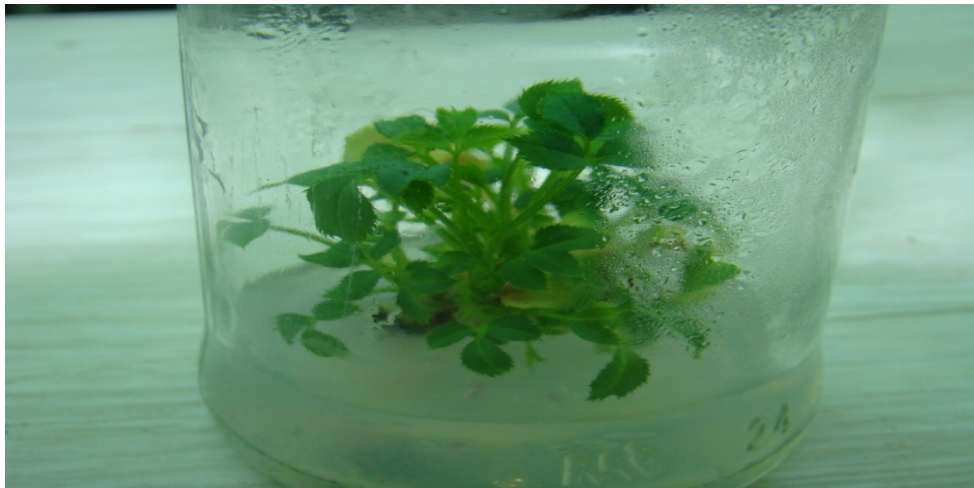
وفيما يتعلق بتأثير التداخل بين التراكيز المختلفة للـ BA والصنف فقد أظهرت نتائج الجدول نفسه أن أكبر معدل لعدد الافرع كان في الأجزاء النباتية للصنفين المزروعين Peace و Eugen في وسط مجهز بـ 3 ملغم/ لتر BA إذ بلغ 2.8 و 2.3 فرع ، على التوالي الذي اختلف معنوياً عن بقية التداخلات عدا التداخل بين الصنف Peace والتركيز 2 ملغم/لتر BA الذي أعطى 2 فرعاً / جزء نباتي وكان اقل معدل لعدد الافرع في الأجزاء النباتية للصنفين Eugen و peace المزروعة في الوسط المجهز بـ 0 ملغم/لتر BA إذ بلغ 0.5 و 0.2 فرعاً / جزء نباتي ، على التوالي .

لقد أشار العديد من الباحثين الى الدور الذي تؤديه السايونوكاينينات في التراكيز الملائمة في الزراعة النسيجية إذ تعمل على كسر السيادة القمية وتنشئ مناطق جذب (Sinks) في البراعم الجانبية تحفز من سرعة انتقال المغذيات اليها التي ينتج عنها تحفيز نشوء ونمو البراعم [20]. ان هذه النتائج مشابهة لما جاء به كل من [21 و 22 و 23] من حيث إن تضمين الوسط بتراكيز من BA هو ضروري لزيادة أعداد الأفرع في الأجزاء النباتية للورد الشجيري.

جدول (1) تأثير الـ BA في معدل عدد افرع صنف الورد الشجيري (Eugen و Peace) المزروعة على الوسط الغذائي MS بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة

تأثير معدل التراكيز	معدل عدد الافرع		الصفة المدروسة (الصنف) تراكيز الـ BA (ملغم/لتر)
	Eugen	Peace	
0.35c	0.2c	0.5c	0.0
1.50bc	1.3b	1.7ab	1
1.75b	1.5b	2.0a	2
2.55a	2.3a	2.8a	3
1.25c	0.7c	1.8b	4
	1.2a	1.76a	تأثير معدل عدد الافرع

الأرقام التي تحمل أحرفاً متشابهة لا تختلف عن بعضها معنوياً وفق اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 0.05



شكل (1) : الأفرع المتضاعفة لصنف الورد الشجيري Eugen المزروعة على وسط MS المجهز بتركيز 3 ملغم/لتر BA

تأثير الـ BA في معدل طول الفرع (ملم) :

يتضح من النتائج في الجدول (2) أن الأجزاء النباتية في معاملة المقارنة (الوسط الغذائي الذي يفتقر لوجود الـ BA قد أعطت أعلى معدل لطول الفرع بلغ 24.5 ملم الذي اختلف معنوياً عن بقية التراكيز وكان اقل معدل لطول الفرع عند التركيز (4 ملغم/لتر) BA إذ بلغ 10.5 ملم. ومن حيث تأثير صنف الورد الشجيري في الصفة فلم تظهر بين الصنفين أي فروق معنوية.

جدول (2) : تأثير الـ BA في معدل اطوال افرع صنفى الورد الشجيري المزروعة على الوسط الغذائي MS بعد مرور 4 اسابيع من الزراعة

معدل تأثير التراكيز	معدل اطوال الافرع (ملم)		الصفة المدروسة (الصنف) تراكيز الـ BA (ملغم/لتر)
	Eugen	Peace	
24.5a	24.0 a	25.0 a	0.0
19.5b	20.0 b	19.0bc	1
17.7bc	17.0 bcd	18.4 bcd	2
14.6c	15.0 cde	14.3 def	3
10.5d	10.1f	11.0 ef	4
	17.22a	17.54 a	معدل الطول

الأرقام التي تحمل أحرفاً متشابهة لا تختلف عن بعضها معنوياً وفق اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 0.05 وبالنسبة لتأثير التداخل بين تراكيز الـ BA والصنفين المدروسين فإن نتائج الجدول نفسه تظهر تفوق الأجزاء النباتية لمعاملة المقارنة في إعطاء أعلى معدل لطول الفرع إذ بلغت 24.0 و 25.0 ملم لكل من صنفى الورد الشجيري "Eugen و Peace" على التوالي، في حين أعطى التركيز 1 ملغم/لتر BA أفضل النتائج مقارنة ببقية تراكيز الـ BA إذ بلغ أعلى معدل لطول الفرع 20 و 19 ملم لكل من "Eugen و Peace" على التوالي مقارنة ببقية المعاملات المحتوية على الـ BA، ومن الجدول نفسه يلاحظ ان زيادة تركيز الـ BA في الوسط الغذائي ارتبط بإنتاج أفرع قصيرة. إن انخفاض معدل طول الفرع المزروع في أوساط غذائية صناعية محتوية على الـ BA ربما يرجع إلى زيادة عدد الأفرع المتكونة من الجزء المزروع (لاحظ الجدول 1) نتيجة لكسر السيادة القمية للفرع وتحرر الأفرع الموجودة في أباط الأوراق مما أدى إلى حدوث منافسة بين الأفرع المتكونة على المواد الغذائية في الوسط الغذائي التي ينتج عنها تكون افرع قصيرة.

تأثير تراكيز NAA بثبات الـ BA في معدل عدد الأفرع :

من ملاحظة النتائج في الجدول (3) وجد أن الأجزاء النباتية المزروعة على الوسط الغذائي MS المجهز بـ 0.2 ملغم /لتر NAA المضمن 3 ملغم /لتر BA قد تفوقت معنوياً في معدل عدد الأفرع المتكونة منها 4.15 فرع/جزء نباتي على الأجزاء النباتية المزروعة على الوسط المجهز بالتراكيز الأخرى من الـ NAA بليه التركيز 0.3 ملغم /لتر NAA، وكان اقل معدل لعدد الأفرع للأجزاء النباتية المزروعة على الوسط المجهز بـ 0.4 ملغم /لتر NAA إذ بلغ 2.0 فرع/جزء نباتي، في حين أعطت معاملة المقارنة (2.5 فرعاً / جزء نباتي) التي لم تختلف معنوياً عن المعاملة بالتركيز 0.1 ملغم /لتر NAA.

جدول (3) : تأثير تراكيز الـ NAA في معدل عدد افرع صنفى الورد الشجيري "Eugen و Peace" المزروعة على الوسط الغذائي MS المجهز بـ 3 ملغم / لتر BA بعد 4 اسابيع من الزراعة

تأثير معدل التراكيز	معدل عدد الافرع		الصفة المدروسة (الصنف) تراكيز الـ NAA (ملغم/لتر)
	Eugen	Peace	
2.5c	2.5 cd	2.5 cd	0.0
2.25c	2.1 cd	2.4 cd	0.1
4.15a	3.5 b	4.8 a	0.2
3.2b	2.6c	3.8 b	0.3
2.0d	2.0 d	2.0 d	0.4
	2.54 b	3.1 a	تأثير معدل عدد الافرع

الأرقام التي تحمل أحرفاً متشابهة لا تختلف عن بعضها معنوياً وفق اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 0.05

كما تشير النتائج إلى وجود فروق معنوية بين صنفى الورد الشجيري المدروسين بتفوق الصنف Peace على الصنف Eugen في معدل عدد الأفرع المتكونة على الجزء النباتي فقد أعطى صنف Peace أكبر معدل لعدد الأفرع بلغ 3.1 فرعاً في حين أعطى الصنف Eugen معدل عدد أفرع مقداره 2.54 فرعاً. وقد يرجع سبب ذلك إلى اختلاف التركيب الوراثي للأصناف المستعملة ومحتواها من المواد الغذائية والهرمونية.

أما بالنسبة لتداخلات تراكيز NAA في الوسط الغذائي وأصناف الورد الشجيري فيتبين من النتائج في الجدول نفسه ان هنالك تأثيراً معنوياً لهذا التداخل في هذه الصفة إذ أعطت الأجزاء النباتية للصنف Peace المزروعة في الوسط الغذائي الحاوي على 0.2 ملغم/ لتر NAA التي اختلفت معنوياً عن جميع التداخلات الأخرى أكبر معدل لعدد الأفرع المتكونة على الأجزاء النباتية بلغ 4.8 فرعاً ، يليه الوسطان الغذائيان المحتويان على 0.3 و 0.2 ملغم/ لتر NAA للصنفين Peace و Eugen اللذان اعطيا معدلا بلغ 3.8 و 3.5 فرعاً على التوالي. اما اقل عدد للتفرعات فقد بلغ 2.0 فرعاً للأجزاء النباتية المزروعة في الوسط الحاوي على 0.4 ملغم/لتر NAA لكلا الصنفين والذي لم يختلف معنوياً عن تراكيز 0 و 0.1 ملغم/لتر NAA لكلا الصنفين ايضاً.

يعتمد تكوين الأفرع على الأجزاء النباتية النامية على التجهيز الخارجي للاوكسين و السايوتوكاينين ومن ثم حدوث حالة توازن هرموني بين تراكيز الاوكسين والسايوتوكاينين داخل الجزء النباتي النامي [24] وعليه فان تفوق زراعة الأجزاء النباتية على وسط مجهز بـ 0.2 ملغم/لتر NAA في معدل عدد الأفرع قد يرجع الى التوازن بين تركيز السايوتوكاينين داخل الجزء النباتي النامي والاوكسين والذي ادى الى تحرير البراعم من السيادة القمية مما حفزها على النمو [25]. وهذا ما أكدته [26] على ضرورة التوازن بين الاوكسين والسايوتوكاينين عند مضاعفة أفرع الورد الشجيري . أما سبب قلة أو عدم تكون الأفرع بزيادة تركيز الـ NAA التركيز 0.4 ملغم /لتر فقد يعود سببه الى احتمالية حدوث خلل بين تراكيز الاوكسين والسايوتوكاينين المناسبة داخل الجزء النباتي النامي . وتتفق نتائج هذه الدراسة مع ماوجده [27 و 28] من حيث اهمية تضمين وسط التضاعف MS بالاوكسين NAA والسايوتوكاينين BA وبتراكيز مختلفة منهما حسب نوع وصنف الورد الشجيري.

تأثير تراكيز NAA بثبات الـ BA في معدل طول الأفرع (ملم) :

يظهر من النتائج الواردة في الجدول (4) ان تراكيز NAA المضافة الى وسط التضاعف MS الحاوي على 3 ملغم/لتر BA قد اثرت بشكل معنوي في معدل اطوال الافرع الخضرية، فقد تفوقت معاملة التوليفة 0.2 ملغم/لتر NAA + 3 ملغم/لتر BA معنوياً واعطت اعلى معدل لاطوال الافرع بلغ 19.0 ملم مقارنة بالمعاملات الاخرى حيث أعطت توليفة 0.4 ملغم/ لتر NAA + 3 ملغم/لتر BA اقل معدل لطول الافرع بلغ 8.0 ملم.

بينت النتائج في الجدول نفسه وجود فروقات معنوية في معدل طول التفرعات بين الصنفين المدروسين للورد الشجيري اذ اعطى الصنف Peace أعلى معدل لطول الافرع بلغ 15.04 ملم في حين اعطى الصنف Eugen طولاً بلغ 14.08 ملم. ان اختلاف معدل التضاعف بين الصنفين في وسط غذائي متشابه ربما يعود الى اختلاف التركيب الوراثي بينهما من حيث محتوى انسجتهما من الهرمونات النباتية وخاصة الاوكسينات والسايوتوكاينينات والذي ينعكس في تباين تأثيرهما في مستوى الاوكسين المضاف الى وسط تضاعف افرعهما.

جدول (4) : تأثير تراكيز الـ NAA في معدل طول أفرع صنف الورد الشجيري (Peace و Eugen) المزروعة على الوسط الغذائي MS المجهز بـ 3 ملغم / لتر BA بعد 4 أسابيع من الزراعة

تأثير معدل التراكيز	معدل طول الأفرع (ملم)		الصفة المدروسة (الصنف) تراكيز الـ NAA (ملغم/لتر)
	Eugen	Peace	
14.9c	14.3 d	15.5 cd	0.0
15.3bc	15.4 bc	15.2 bc	0.1
19.0a	19.0 a	19.0 a	0.2
15.6b	15.7 bc	15.5 bc	0.3
8.0 d	6.0e	10.0 e	0.4
	14.08b	15.04 a	معدل الطول

الأرقام التي تحمل أحرفاً متشابهة لا تختلف عن بعضها معنوياً وفق اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 0.05

كما لوحظ من النتائج في الجدول نفسه ان هنالك تداخلات معنوية في معدل اطوال الافرع الخضرية، اذ حققت معاملتنا التداخل 0.2 ملغم/لتر NAA + 3 ملغم/لتر BA مع كلا الصنفين المدروسين اعلى معدل اطوال للفروع الخضرية بلغ 19.0 ملم اللتان تفوقتا على جميع الأجزاء النباتية في معاملات التداخلات الأخرى، في حين اعطت معاملتنا التداخل 0.4 ملغم/لتر NAA + 3 ملغم/لتر BA مع كلا الصنفين المدروسين اقل معدل لطول الفروع الخضرية.

تأثير تراكيز الـ GA₃ بثبات الـ BA والـ NAA في معدل طول الأفرع (ملم) :

يلاحظ من النتائج الواردة في الجدول (5) التأثير المعنوي لتراكيز GA₃ المضافة الى الوسط الغذائي الخاص بتضاعف الافرع المتضمن 3 ملغم/لتر BA + 0.2 ملغم/لتر NAA في معدل طول الفروع المتضاعفة بعد 4 أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي ، وقد تباين هذا التأثير اذ لوحظ ان التركيز 0.01 ملغم/لتر GA₃ قد اعطى اعلى معدل لطول الافرع الذي بلغ 24.00 ملم وقد تفوق معنوياً على جميع الأجزاء النباتية في التراكيز المختلفة الأخرى.

وقد يعود السبب الى دور الجبرلين في استطالة الخلايا وانعكاسه في استطالة الافرع نتيجة للتوازن الملائم بين هذا التركيز من الجبرلين وتركيز منظمي النمو BA و NAA في الوسط الغذائي. تتفق هذه النتائج مع مجاء به كل من [28 و 29 و 30] من حيث تحسين عدد وطول الافرع المتضاعفة للورد الشجيري باستعمال توليفة من منظمات النمو الثلاثة (الاوكسين والسايوتوكاينين

والجبرلين). في حين ادى استعمال تراكيز اعلى من ذلك وخاصة التركيز 0.04 ملغم/لتر الى تشوه في الاجزاء النباتية النامية وهذا قد يعود الى عدم حصول التوازن الهرموني المطلوب لتحقيق الفائدة من اضافة الـ GA₃ الى الوسط الغذائي . كما تبين نتائج الجدول نفسه ان للصنفين تأثيرا معنوياً في معدل طول الافرع المتكونة، اذ تفوق صنف Peace معنوياً على الصنف Eugen في هذه الصفة ، فقد بلغ معدل طول الافرع 18.34 ملم لصنف Peace في حين بلغ صنف Eugen 17.88 ملم. وربما يعود سبب ذلك الى الاختلافات الوراثية بين الصنفين في نموها وتطورهما ومحتواهما الغذائي والهرموني مما انعكس في تباين طول الافرع المتضاعفة على اجزائها النباتية النامية . ويلاحظ في الجدول نفسه ان للتداخلات بين كل من الصنفين وتراكيز الـ GA₃ تأثيراً معنوياً في معدل طول الافرع اذ بلغ اعلى معدل لطول الافرع 24.80 و 23.20 ملم للصنفين " Eugen و Peace " النامية أفرعها في الوسط الغذائي المزود بـ 0.01 ملغم/لتر GA₃ على التوالي والذي اختلف معنوياً عن بقية التداخلات . أما اقل معدل لطول الافرع فبلغ 9.00 ملم لكلا الصنفين المزروعين في الوسط الغذائي المزود بـ 0.04 ملغم/ لتر GA₃، في حين لم تختلف تداخلات الصنفين مع تركيزي الجبرلين 0.02 و 0.03 ملغم/ لتر GA₃ عن تداخل الصنفين في معاملة المقارنة الخالية من الجبرلين.

جدول (5) : تأثير تراكيز الـ GA₃ في معدل طول أفرع صنفى الورد الشجيري (Eugen و Peace) المزروعة على الوسط الغذائي MS المجهز بـ 3 ملغم/لتر BA + 0.2 ملغم/لتر NAA بعد 4 أسابيع من الزراعة

تأثير معدل التراكيز	معدل طول الافرع (ملم)		الصفة المدروسة (الصنف)
	Eugen	Peace	تراكيز الـ GA ₃ (ملغم/لتر)
19.35b	19.10 b	19.60 b	0.0
24.00a	23.20 a	24.80 a	0.01
18.75b	18.40 b	19.10 b	0.02
19.45b	19.70 b	19.20 b	0.03
9.00c	9.00 c	9.00 c	0.04
	17.88b	18.34 a	تأثير معدل الطول

الأرقام التي تحمل أحرفاً متشابهة لا تختلف عن بعضها معنوياً وفق اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 0.05



شكل (2) : الأفرع النامية في وسط MS المجهز بتركيز 0.01 ملغم/لتر GA₃ + 3 ملغم/لتر BA + 0.2 ملغم/لتر NAA بعد 4 أسابيع من الزراعة .

تأثير مستخلص عرق السوس في معدل عدد الأفرع :

حقق التركيزان 1 و 2 مل / لتر من مستخلص عرق السوس اللذان لم يختلفا فيما بينهما معنوياً أكبر معدل لعدد الأفرع الخضرية بلغ 5.65 و 6.10 فرع على التوالي مقارنة بالأجزاء الخضرية النامية تحت التراكيز الأخرى ومن ضمنها الأجزاء النباتية في معاملة المقارنة التي لم تختلف عن المعاملة بالتركيز 4 مل/لتر التي أعطت أقل معدل لعدد الأفرع بلغ 3.15 فرعاً. وقد تعزى هذه الزيادة في عدد الأفرع الناجمة عن إضافة التراكيز الواطئة من مستخلص عرق السوس الى احتوائه على العناصر المعدنية والسكريات والمادة الاساس في بناء الجبرلين وحامض الميفالونيك وهذه المواد تساهم وتتداخل بشكل ايجابي مع ما يحتويه الوسط من منظمي النمو الـ BA و NAA في تحفيز تكوين ونمو الأفرع الخضرية على الأجزاء النباتية النامية .

جدول (6) : تأثير تراكيز عرق السوس في عدد افرع صنفى الورد الشجيري Eugen و Peace النامية على الوسط الغذائي MS المجهز بـ 3 ملغم/لتر BA + 0.2 ملغم/لتر NAA بعد 4 أسابيع من الزراعة .

معدل تأثير التراكيز	معدل عدد الأفرع		الصفة المدروسة (الصنف) تراكيز عرق السوس (مل/لتر)
	Eugen	Peace	
4.25c	4.10 c	4.40c	0.0
5.65a	4.50bc	6.80ab	1
6.10a	5.20abc	7.00a	2
4.45b	4.00 c	4.90 abc	3
3.15c	3.00 c	3.30 c	4
	4.16 b	5.28 a	معدل عدد الأفرع

الأرقام التي تحمل أحرفاً متشابهة لا تختلف عن بعضها معنوياً وفق اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 0.05

كما يلاحظ من الجدول نفسه التفوق المعنوي للصنف (Peace) على الصنف (Eugen) في هذه الصفة إذ أعطت أجزاءه النامية أكبر معدل لعدد أفرع بلغ 5.28 فرعاً مقابل 4.16 فرعاً للصنف (Eugen) . وقد يعزى ذلك الى اختلاف المحتوى الهرموني والغذائي لأفرع الصنفين والذي تجلى في اختلاف قابليتهما الوراثية على الموازنة بين ما تحتويه أفرعها والوسط الغذائي من منظمات نمو و مواد وعناصر غذائية.

وتشير نتائج الجدول السابق أيضاً الى وجود تأثيرات معنوية للتداخلات بين اصناف الورد الشجيري المدروسة وتركيز مستخلص عرق السوس، إذ ان معاملة تداخل التركيز 2 مل/لتر عرق سوس مع الصنف (Peace) (التي لم تختلف معنوياً عن معامليتي تداخل التركيزين 1 و 3 مل/لتر مع الصنف نفسه ومعاملة تداخل التركيز 2 مل/لتر مع الصنف Eugen) أعطت أكبر معدل لعدد الأفرع بلغ 7.00 فرعاً في حين أعطت معاملتنا تداخل التركيز 4 مل/لتر مع الصنفين اوطا المعدلات والتي لم تختلف معنوياً عن الأجزاء النباتية في معامليتي تداخل المقارنة لكلا الصنفين .



شكل (3) : الأفرع المتضاعفة للصنف Eugen على وسط MS المجهز بـ 3 ملغم/لتر BA + 0.2 ملغم/لتر NAA مضاف اليه 2 مل/لتر مستخلص عرق السوس .

تأثير مستخلص عرق السوس في معدل طول الأفرع :

أعطت الأجزاء المزروعة في الوسط الغذائي المحتوي على 2 و 3 مل/لتر أعلى معدل لاطوال الأفرع الخضريّة بلغت 32.53 و 31.16 ملم التي اختلفت معنوياً عن جميع التراكيز المستعملة الأخرى جدول (7) . تلاهما التراكيزان 4 و 1 مل/لتر على التوالي ، في حين أعطت الأجزاء النباتية المزروعة في وسط MS الخالي من المستخلص أقل معدل طول للأفرع الخضريّة بلغ 19.60 ملم. وتتفق هذه النتيجة في أطوارها العام مع ما وجدته [17] من تأثير إيجابي لمستخلص عرق السوس في زيادة أطوال أفرع أصل الحمضيات تروپرسترنج المكثّر خارج الجسم الحي. وقد تعزى هذه النتيجة إلى ما يحتويه المستخلص من مواد أولية تدخل في بناء الجبرلين الحيوي مثل حامض الميفالونيك والمعروف عن الجبرلين تحفيزه استطالة الأفرع من خلال زيادة استطالة الخلايا وكبير حجمها [31]، فضلاً عن احتواء المستخلص على مصادر الطاقة والعناصر الغذائية التي تساهم في دعم واسناد نمو الأفرع .

جدول (7) : تأثير عرق السوس في معدل طول أفرع صنفى الورد الشجيري Peace و Eugen النامية على الوسط الغذائي MS المجهز بـ 3 ملغم/لتر BA + 0.2 ملغم/لتر NAA بعد 4 أسابيع من الزراعة

معدل تأثير التراكيز	معدل طول الأفرع(ملم)		الصفة المدروسة (الصنف) تراكيز عرق السوس (مل/لتر)
	Eugen	Peace	
19.60 d	19.40d	19.80d	0.0
24.28 c	19.50d	29.06bc	1
32.53 a	29.20bc	35.86a	2
31.16 a	33.22ab	29.10bc	3
27.53b	27.50c	27.56c	4
	25.76 b	28.27 a	معدل الطول

الأرقام التي تحمل أحرفاً متشابهة لا تختلف عن بعضها معنوياً وفق اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 0.05

ويلاحظ من النتائج في الجدول نفسه تفوق الصنف (Peace) في معدل أطوال الأفرع الخضريّة معنوياً على الصنف (Eugen) فقد أعطى معدلاً بلغ 28.27 ملم مقابل (25.76 ملم). أما التداخلات فقد أثرت معنوياً في هذه الصفة فقد أعطت الأجزاء النباتية العائدة للصنف (Peace) المزروعة في الوسط الغذائي MS المضاف إليه 2 مل/لتر من مستخلص عرق السوس أعلى معدل بلغ 35.86 ملم والذي اختلف معنوياً في الأجزاء الخضريّة النامية عن بقية التداخلات باستثناء معاملة تداخل التركيز 3 مل/لتر مع الصنف (Eugen) وبلغ أقل معدل في أطوال الأفرع في معاملي التداخل بين التركيز 4 مل/لتر عرق سوس وكلا الصنفين Peace و Eugen 27.56 و 27.50 ، على التوالي .

يُستنتج من نتائج هذه التجربة أن تضمين الوسط الغذائي بالتراكيز الواطئة من حامض الجبرليك GA₃ قد أثر إيجابياً في أطوال الأفرع لصنفى الورد الشجيري قيد الدراسة في حين أدت إضافته بتراكيز عالية إلى حدوث حالات تشوهات في الأفرع. وأن تضمين الوسط الغذائي MS بمستخلص عرق السوس المائي قد حسن معدل تضاعف والأفرع وأطوالها لصنفى الورد الشجيري قيد الدراسة .

المصادر : References

1. Rout G.R . , Jain , S.M. 2004 . Micropropagation of ornamental plants–cut flowers. Propagation of ornamental Plants;4(2):3–28.
2. Schneider, F. 2005. Effect of different cultural conditions on micropropagation of rose (*Rosa* sp. L.) and globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) PH . Ph . D. Dissertation pp.148.
3. Hartmann, H . J ; Kester , D . E . ; Geneve, R.L. and Davies , Jr. F. T. 1997. Plant Propagation : Principles and Practices . 6th ed Prentice - Hall Inc., New Jersey , USA.
4. Senapati, S. K. and G. R. Rout . 2008. Study of culture conditions for improved micropropagation of hybrid rose . Hort. Science.,35 (1): 27-34
5. Devi, P. 2003. Principles and Methods in Plant Molecular Biology Biochemistry and Genetics. 3rd ed. Updesh purohit pub., Jodhpur, India.
6. Ozel, C. and O. Arslan. 2006. Efficient micropropagation of English shrub rose “Heritage” under *in vitro* conditions. International Journal of Agriculture & Biology, 8.5. 626-629
7. Pati, P. K. , Rath, S. P , Sharma, M. , Sood, A. and Ahuja, P.S.(2006) *In vitro* propagation of rose: a review . Biotechnology Advances, 24 : 94-114.

8. **Razdan, M.K. 1993.** An introduction to plant tissue culture. Andover. Hampshire READ , P.E; PREECE , J . E . 2003 Environmetal inagement for optimizing Micropropagation Acta Horticultrae 616:129-133 .
9. **Kim, C.K.; J.Y. OH ; Jee, S.O.L and Chung, J.D. 2003.** *In vitro* micropropagation of *Rosa hybrida* L. J. Plant Biotechnolo., 5: 115-119
10. **سلمان , محمد عباس , 1988 .** أساسيات زراعة الخلايا والأنسجة النباتية . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي , جامعة بغداد .
11. **Jain,S.M;S.K.Sopory and R.E.Veillevx.199** *In Vitro* Haploid Production in Higher Plants . Volume 5. Dordrecht .Boston. London .
12. **طه , فادية هشام , 2002.** بعض العوامل المؤثرة في نمو وتضاعف اصلي الليمون المخرفش. *Citrus jambhiri* Lush والفولكاماريانا *Citrus volkameriana* pasq خارج الجسم الحي . رسالة ماجستير. كلية الزراعة , جامعة بغداد , العراق .
13. **Rangan,T.S.;T.Murashig, and W.A.Bitters.1968.** *In vitro* initiation of nucellar embryos in monoembryonic citrus. Hort Science .3:226-227.
14. **الحافظ, عماد احمد محمد , 2002.** إكثار واخلاف أصول من الحمضيات خارج الجسم الحي . أطروحة دكتوراه . كلية الزراعة . جامعة بغداد .
15. **الكناني , فيصل رشيد ناصر , 1987 .** زراعة الأنسجة والخلايا النباتية . مديرية دار الكتب للطباعة والنشر . جامعة الموصل , العراق .
16. **Smith, R.H,2000 .**Plant Tissue Culture: Techniques and Experiments. 2nd ed .Academic Press .SanDiego, New York. PP:53-54 .
17. **الشمري , ماجدة عبد الكاظم سالم. 2003.** تأثير مستخلصي بذور وكوالح الذرة الصفراء وجذور عرق السوس في نمو الأجزاء النباتية للتروبير سترنج (*Poncirus trifoliata* L.Raf × *Citrus sinensis* L.Osbeck) المزروعة خارج الجسم الحي . رسالة ماجستير , كلية الزراعة , جامعة بغداد .
18. **Murashige T , and Skoog F . A . 1962 .** Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures . *Physiol plant* 1962 ; 15 : 473 – 97 .
19. **SAS, 2001.** SAS guide for personal computers. Release 6.12.SAS institute inc., Cary, NC. USA.
20. **Delvin, R.M and F.H. Witham (1983).** Plant Physiology ed. Wadsworth publishing company. Belmont California .
21. **Roy, P. K. ; A. N. K. Mamun and G. Ahmed. 2004.** *In vitro* Plantlets Regeneration of Rose. *Plant Tissue Cult*;14(2) : 149-154.
22. **Mohapatra, A. ; G. R. Rout and P. Das . 2005.** Rapid clonal propagation from nodal explants and *in vitro* flowering of three rose cultivars. *Propagation of Ornamental Plants*, 5 (4) : 219-223.
23. **Bhoomsiri, C. and Masomboon, N, 2003.** Multiple shoot induction and plant Regeneration of *Rosa damascena* Mill. *International Journal* Vol. 3.
24. **Skoog, F . and Miller, C.O 1957.** Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. *Sym. Soc. Exp. Biol.*, 11:118-130.
25. **Pilate, B. G. ; Scott, B. ; Maldiney, R.: Jacques, M. ; Sossountzov, L. and E. Miginiaie. 1989.** Abscisic acid ; IAA and cytokinins changes in bud of *Pseudotsuga menziesii* during bud quiescence release. *Physiol. Plant* , 76: 100-106.
26. **Pati, P.K ; Rath, S.P;Sharma, M., and Ahuja, P.S. 2005.** *In Vitro* propagation of rose-areview *Biotechnology Adv.*
27. **Carelli B. P., Echeverrigaray S. 2002.** An improved system for the *in vitro* propagation of rose cultivars. *Scientia Horticulturae*, 92: 69-74.
28. **Singh, S.K., and syamal, M.M. 1999.** Critical studies on the effect of growth regulators on *in vitro* shoot proliferation in *Rosa x hybrida* L.CV Sonia for micropropagation. *J. Appl. Hortic.* Lucknow, 1:91-93.
29. **Davies, D.R. 1980;** Rapid propagation of roses *in vitro*. *Scientia Horticulture*, 13: 385-389.
30. **Sahoo, S, and Debata, B.K. 1997.** A note on *in vitro* micropropagation and induction of flowering in the miniature rose "The Fairy" Orissa *J. Hort* ; 25:87-89.
31. **Taiz, L. and E. Zeiger . 1998.** *Plant Physiology*. 2nd ed. Sinaure Associats, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts, PP: 621- 651 .
32. **المرسومي, حمود غربي خليفة. 1999.** تأثير بعض العوامل في صفات النمو الخضري وحاصل البذور في ثلاثة اصناف من البصل (*Allium cepa* L.) اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق.