تأثير الاوكسين (NAA) والسايتوكاينين (BA) في الاكثار الدقيق للورد الدمشقي (*Rosa damascene* Mill) خارج الجسم الحي[+]

*IN VI*TRO EFFECT OF AUXIN (NAA) AND CYTOKININ (BA) ON MICROPROPAGATION OF (*ROSA DAMACENA* MILL)

موسى محمد حمزة [*]

المستخلص:

نفذت التجربة في مختبر زراعة الأنسجة النباتية العائد لقسم الإنتاج النباتي/ الكلية التقنية- المسيب للمدة من 2009 – ٢٠١٠ لدراسة قابلية اكثار نباتات الورد الدمشقي، باستعمال تقنية زراعة الأنسجة النباتية عن طريق البراعم (العقد المفردة) بطول (٠,٥ ــ ١,٠ سم)، عقمت العقل بالكحول الاثيلي تركيز 70% لمدة 30 ثانية مع التحريك المستمر، غسلت بعدها بالماء المقطر المعقم لمرة واحدة لمدة 5 دقائق لضمان ازالة التأثير الضار للكحول، بعدها غمرت بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (NaOCl) بتركيز 1.5% لمدة 15 دقيقة. زرعت العقل على الوسط الغذائي MS يحتوي على مستويات مختلفة من الـ NAA (0.0 ، 0.5 و 1.0 ملغم/ لتر) مع (0.0 ، 0.5 ، 1.0 أو 2.0 ملغم/لتر من BA). حضنت الزروعات في المختبر على درجة حرارة ٢٥° م ± ٢ وفترة إضاءة ١٦ ساعة / يوم وشدة أضاءه ١٠٠٠ لوكس ولمدة ٦٠ يوم. قطعت النبيتات الناتجة من الزراعة النسيجية الى العقل بطول(٠,٥ سم) وزرعت على نفس مكونات الوسط الغذائي MS السابق لافضل تركيز لغرض الاكثار الدقيق للنباتات المزروعة. تضمنت التجربة الاولى تأثير مستويات الـ NAA وBA على عقل الورد الشجيري في نسبة العقل النابتة، عدد الاوراق / نبات وعدد الافرع الخضرية / نبات وعدد العقد / نبات وطول النبات (سم) وطول الجذر/ نبات (سم). اما التجربة الثانية فقد تضمنت تأثير التراكيز نفسها على العقل الناتجة من الزراعة النسيجية في تحديد البراعم النابتة ومعدل عدد الاوراق وعدد الافرع الخضرية وعدد العقد / نبات وطول النبات (سم) وطول الجذر/ نبات (سم) بعد ٤٥ يوم من الزراعة. أظهرت النتائج عن وجود تأثير معنوي لأضافة الـ NAA وBA في الصفات المدروسة، الا ان التداخل بين المستوى ١,٠ ملغم/ لتر من NAA مع المستوى ٢,٠ ملغم/ لتر من الـ BA قد اعطاء اعلى نسبة عقل نابتة واعلى معدل في عدد الاوراق وعدد الافرع الخضرية وعدد العقد / نبات وطول النبات (سم) واعلى معدل لطول الجذر/ نبات بلغت (٩٩,٩١%، ٧,٨٦، ٢,٧٣، ٤,٦٦، ٧,٤١ سم و ٢,٦٨ سم) على التوالي. كما يظهر التداخل بين مستويات الـ NAA وBA على العقل الناتجة من الزراعة النسيجية تأثيرا معنويا في الصفات المدروسة. أذ تفوق معنويا المستوى ١,٠ ملغم/ لتر من NAA مع المستوى ٢,٠ ملغم/ لتر من الـ BA في اعطاء اعلى نسبة براعم نابتة ومعدل عدد الاوراق وعدد الافرع الخضرية وعدد العقد / نبات وطول النبات (سم) واعلى معدل لطول الجذر/ نبات بلغت (٩٩,٩٧%، ٦,١٦، ٢,٢٢، ٣,٨٨، ٥,١١ سم و٢,٠١ سم) على التوالي.

Abstract:

[+] تاريخ استلام البحث :٢٠١٠/٦/٣٠ ، تاريخ قبول النشر ٢٠١١/١/١١

[*] مدرس /المعهد التقني / المسيب

This experiment was carried out during year 0f 2009 – 2010 in the tissue culture lab./ Technical college / Musaib to study the ability micropropagation of *Rosa damacena* used single nodes at (0.5 – 1.0 cm) long. They sterilized by Ethyl alcohol (70%) for 30 second with vibration, then washing with double distile water for 5 minutes, finaly soacking in sodium hypochlorite (1.5%) for 15 minutes. The nodes cultured on MS medium which contains NAA at (0.0, 0.5 or 1.0 mg /l) with BA at (0.0, 0.5, 1.0 or 2.0 mg / l). Cultures were incubated at 25°C ± 2 and 16 h / day photoperiod with 1000 lux light intensity for 60 day. The plantlets produced from tissue culture had been cutted with micro cuttings with (0.5 cm) long and cultured on MS medium of best concentration. The first experiment was to study the effect of different levels of NAA and BA on percentage of successful nodes, leaves number, shoot number, nodes number/ plant, plant length (cm) and root length (cm). The second experiment was to study the effect of different levels of NAA and BA on percentage of growing buds, leaves number, shoot number, nodes number/ plant, plant length (cm) and root length (cm), after 45 day from culture. Results showed that the addition of NAA and BA BA had a significant effect on properties studies. But the interaction among different levels of The concentration of 1.0 mg/ l of NAA with 2 mg / l of BA gave the highest percentage of successful cuttings, leaves number, shoot number, nodes number/ plant, plant length (cm) and root length (cm) they were (99.91%, 7.86, 2.73, 4.66, 7.41cm. and 2.68cm.) repectively. Also the same interaction of 1.0 mg/ l of NAA with 2 mg / l of BA had super passed to gave the highest average of percentage of growing buds, leaves number, shoot number, nodes number/ plant, plant length (cm) and root length (cm) they were (99.97%, 6.61, 2.22, 3.88, 5.11cm. and 2.01cm.) respectively.

المقدمـــــة :

زراعة الأنسجة النباتية Plant tissue culture تشمل على جميع التقنيات الحياتية التي يتم خلالها استئـصال او عزل خلية او نسيج او عضو نباتي تحت ظروف خالية من المسببات المرضية وتعقيمه ومن ثم زراعته فـي اوسـاط غذائية اصطناعية معقمة ايضاً وتحضين الجزء المزروع في ظروف بيئية محددة من حيث الحرارة والـضوء بهـدف توجيه الجزء النباتي المزروع بالاتجاه المطلوب من زراعته[1]. يكثر الورد الشجيري العائد الـى العائلـة الورديـة Rosaceae عن طريق زراعة البذور مباشرة في تربة المشتل او في اكياس نايلون، حيث تستعمل الشتلات الناتجة منها كأصول للتطعيم او التركيب عليها بالأصناف المرغوبة أو قد تستعمل في مجال تربية النبات لانتاج اصـناف جديـدة، اوعن طريق الإكثار الخضري اما ان يكون بالتطعيم او بزراعة العقل الساقية التي تعد الطريقة الأكثر شيوعاً في إكثار الورد الشجيري[2]. وقد استخدامت تقنيات زراعة الأنسجة النباتية في الاكثار الدقيق للورد الشجيري لما تـوفره مـن امكانية انتاج اعداد كبيرة من النباتات بمساحة صغيرة في المختبر وبوقت قليل نسبيا [3]. أذ ادى الاكثار خارج الجسم الحي in vitro propagation السريع دورا مهما فـي الاكثـار الـسلالي الـسريع Clonal micropropagation للاصناف المرغوبة وتضاعف السلالات وانتاج نباتات خالية من المسببات المرضية والانتاج على مدار الـسنة، لهـذا انشئت المئات من مختبرات زراعة الانسجة في العالم لهذا الغرض[4].استخدم الاكثار الدقيق للـورد الـشجيري فـي الزراعة النسيجية عن طريق تحفيز تكوين الأفرع الخضرية الجانبية بزراعة البراعم الطرفية والابطية بشكل آمن دون حصول اختلافات وراثية محتملة للأفرع الناتجة عن النبات الأم إذا ما طبقـت المـسارات الأخـرى[5]. ان إضـافة السايتوكاينينات والاوكسينات إلى الأوساط الغذائية من الامور الاساسية والمهمة لحث وتحفيز الاجزاء النباتية على النمو والتطور وتكوين الجذور. الاوكسينات هي عبارة عن حوامض عضوية لها القابلية التأثير في العمليات الحيوية داخـل

النبات وبتراكيز قليلة جداً، ويعد الاوكسين Indol acetic acid (IAA) من اول الهرمونات النباتية الطبيعية التي تم اكتشافها، كما صنعت الاوكسينات مختبرياً والتي تؤدي عمل الأوكسين الطبيعي نفسه ومنها Indol butyric acid (IBA) وNaphthalene acetic acid (NAA) و 2,4-Dichlorophenoxy acetic (2,4-D)، والاوكسين موجود وبوفرة في الانسجه الفتية كالاوراق والبراعم القمية والجانبية[6]. وتختلف الاستجابة لمنظمات النمو اعتماداً على نوع الجزء النباتي فتستجيب اجزاء السيقان الى مدى واسع من تراكيز الاوكسين، إذ يكون الاخير محفزاً للنمو بالتراكيز الواطئة ومثبطاً للنمو بالتراكيز العالية، وقد وجد ان الجذور هي اكثر الاعضاء النباتية تأثراً بالاوكسين ثم البراعم والسيقان، وتضاف الاوكسينات الى المزارع النسيجية لتحفيز استحثاث الكالس او تشجيع تكوين الجذور على الافرع المكثرة نسيجياً [3]. اما السايتوكاينينات فهي مركبات عضوية ذات قواعد نيتروجينية ينتجها النبات او تحضر صناعياً لتؤدي العديد من العمليات التنظيمية داخل النسيج النباتي، وتلعب دوراً كبيراً في تحفيز الخلايا على الانقسام وكسر السيادة القمية للافرع مما يساعد على ظهور نموات من البراعم العرضية [7]. ومن اكثر هذه المركبات شيوعاً واستعمالاً في زراعة الانسجة النباتية هي Benzyl adenine (BA) والكاينتين Furfuryl amine purine (Kin)، ويعد Zeatin من السايتوكاينينات الطبيعية في حين ان Kin وBA مركبات مصنعة مختبرياً ولاهميتها فقد اكد العديد من الباحثين على ضرورة اضافتها الى الاوساط الغذائية لغرض الاكثار الدقيق لاغلب النباتات المكثرة نسيجيا [٨]. ومن الضروري ان يكون هناك توازن بين تركيز الاوكسينات والسايتوكاينينات في الوسط الغذائي اذ ان الزيادة الحاصلة في تركيز السايتوكاينين نسبة الى الاوكسين تحفز تكوين الافرع الخضرية في حين النسب العالية من الاوكسين الى السايتوكاينين تشجع تكوين الجذور والمستويات المتوازنة تؤدي الى نشوء نسيج الكالس [٩]. تهدف هذه الدراسة الى دراسة تاثير تراكيز مختلفة من الاوكسين NAA و السايتوكاينين BA في الاكثار الدقيق لنباتات الورد الدمشقي العائد الى مجموعة الورد الشجيري عن طريق الزراعة النسيجية واعتمادها في الاكثار الخضري لهذه النباتات.

المواد وطرائق العمل :

نفذت تجربة البحث في مختبر زراعة الانسجة النباتية التابع لقسم التقنيات الحياتية النباتية في الكلية التقنية – المسيب للمدة بين أذار ٢٠٠٩ الى شباط ٢٠١٠.

المادة النباتية:

استعمل الورد (الدمشقي) وهو من انواع الورد الشجيري الذي يتميز بأعطاء افرع قاعدية عديدة، ويعطي ازهاراً على مدار السنة وخاصة في فصلي الربيع والخريف وازهارها مفرده وردية اللون وذات رائحة عطرية مميزة تحمل على فرع زهري قصير غير منتصب ، والشجيرة دائمة الخضرة يصل ارتفاعها (١,٥ – ٢,٠ م) قوية النمو، افرعها خضراء اللون غير مشربة بالحمرة تحمل اشواك كثيرة صغيرة الحجم، ذات اوراق مركبة ريشية، الورقة البالغة في الغالب مكونه من سبعة وريقات خضراء اللون قاتمة تحوي على اذينات كبيرة اما الاوراق الحديثة النمو مكونه من خمسة وريقات خضراء فاتحة اللون (صورة رقم ١) [10].

التعقيم:

تعقيم الادوات والمواد المستخدمة في الزراعة النسيجية :

عقمت الادوات من ملاقط وشفرات واطباق زجاجية ودوارق بوضعها في المعقام البخاري (Autoclave) على درجة 121°م وضغط 1.04 كغم/سم^2 لمدة 15 دقيقة. غلفت الادوات قبل تعقيمها برقائق الالمنيوم (Aluminum foil) ووضعت بعد التعقيم في فرن كهربائي على درجة 120°م لمدة ساعة قبل الاستعمال. استعمل الكحول الاثيلي تركيز

95% مع الحرق باللهب في تعقيم الشفرات والملاقط في اثناء العمل، اما تعقيم الايدي ومنضدة العمل فكان بواسطة الكحول الاثيلي بتركيز 95%.

تحضير الوسط الغذائي:

استعمل الوسط الغذائي الاساسي لموراشيج وسكوج Murashige and Skooge,1962 (MS) [11] المحضر مختبرياً والمكون من الاملاح المغذيات الكبرى (Macronutrients) والصغرى (Micronutrients) مضافاً اليها الفيتامينات ومادة المايوانوسيتول (Myoinositol) والسكروز جدول رقم (١)، ثم اكمل الوسط الى الحجم المطلوب بالماء المقطر وعدل الاس الهيدروجيني (pH) الى 5.7 ± 0.1 باضافة محلول واحد عياري من هيدروكسيد الصوديوم NaOH او حامض الهيدروكلوريك HCl، ثم اضيفت مستويات مختلفة من الاوكسين (NAA) بمستوى (٠,٠، ٠,٥ و١,٠ ملغم/ لتر)، والبنزل ادنين BA (٠,٠ ، ٠,٥، ١,٠ و ٢,٠ ملغم/ لتر). كذلك أضيف الاكار Agar بمقدار 7 غم/لتر الى المحلول لغرض تصلب الوسط الغذائي ووضع على جهاز الخلاط المغناطيسي الحراري (Magnetic stirrer hot plate) الى درجة الغليان لاذابة الاكار وتجانس الوسط الغذائي ثم صب في انابيب اختبار (150 × 15) ملم بمقدار 10 مل/ انبوبه. غطت فوهات الانابيب بالقطن ورقائق الالمنيوم وعقمت في جهاز المعقام على درجة حرارة 121 °م وضغط 1.04 كغم/ سم^2 لمدة 15 دقيقة، بعدها اخرجت الانابيب وتركت في المختبر لتبرد وتصبح جاهزة للزراعة.

تحضير الاجزاء النباتية:

أختيرت قمم الافرع الخضرية الغضه والقليلة الخشب والمتجانسة في النمو، الخالية من الاصابات المرضية و الحشرية بطول ٣ ــ ٥ سم من الورد الشجيري الدمشقي والمزروع في حدائق المعهد التقني – المسيب. أزيلت عنها جميع الأوراق والأشواك وتم غسلها بالماء والصابون السائل عدت مرات ثم قطعت الى عقل بطول (٠,٥ ــ ١,٠ سم) تحوي على عقدة واحدة (صورة رقم ٢) ثم غسلت بماء الحنفية الجاري مدة 20 - 30 دقيقة تلى ذلك وضعها في محلول مانع الاكسدة المكون من (١٠٠ ملغم / لتر حامض الاسكوربيك + ١٥٠ ملغم / لتر حامض الستريك) لمدة ساعة واحدة لتقليل تاثير المواد الفينولية التي يفرزها الجزء النباتي المزروع [12]، ثم نقلت إلى كابينة الهواء الطبقي (Laminar Air Flow Cabinet) للمباشرة بعملية التعقيم السطحي لها.

تعقيم الأجزاء النباتية:

اجريت عملية تعقيم الاجزاء النباتية داخل كابينة الهواء الطبقي Laminar air flow cabinet وكما يلي تم غمر عقل الورد الشجيري بالكحول الاثيلي تركيز 70% لمدة 30 ثانية مع التحريك المستمر، غسلت بعدها بالماء المقطر المعقم لمرة واحدة لمدة 5 دقائق لضمان ازالة التأثير الضار للكحول، بعدها غمرت بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (NaOCl) بتركيز 1.5% مضافاً له قطرتان من المادة الناشرة Tween – 20 لمدة 15 دقيقة، ثم غسلت الاجزاء النباتية بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات لازالة تاثير المادة المعقمة.

زراعة العقل النباتية على الوسط الغذائي MS حاو على منظمات النمو NAA و BA:

زرعت العقل بخمسة مكررات لكل تركيز وبمعدل عقلة واحدة لكل انبوبة زراعة ، وحضنت الزروعات في الحاضنة Incubator (Sanyo Electric CO. Ltd) على درجة حرارة 25 ْم واضاءة 1000 لوكس ولمدة 16ساعة

/ يوم وبعد مرور ٢ ــ ٣ أسبوع (صورة رقم ٣)، تم أحتساب نسبة الاستجابة (نسبة العقل النابته) وحسب المعادلة التالية: نسبة العقل النابته = عدد العقل النابته \عدد العقل الكلى × 100

نمت البراعم الخضرية على العقل المزروعه واصبحت بطول (٦ ــ ٧ سم) صورة رقم (٤) تحوي على عدد من الافرع الخضرية والعقد، بعد مرور ٦٠ يوم من الزراعة أخذت القراءات التالية، عدد الاوراق / نبات ، عدد الافرع الخضرية / نبات، عدد العقد/ نبات طول النبات (سم) وطول الجذر (سم). ثم أخذت النباتات النامية من افضل معاملة الى وسط MS الخاص بتحفيز عملية تضاعف الافرع، اذ قطعت الى عقل بطول 0.5 سم وزرعت بواقع عقلة واحد لكل انبوب وحضنت بدرجة حرارة 25 ºم ± 2 وتحت شدة اضاءة 1000 لوكس ولمدة 16 ساعة ضوء 8 ساعة ظلام لغرض زيادة اعداد النبتات والوصول الى العدد الكافي لاجراء التجارب الاحقة عليها.

زراعة البراعم الناتجة من الزراعة النسيجية على الوسط الغذائي حاو على NAA وBA :

حضرت توليفات مختلفة من NAA مع BA المضافة الى الوسط MS حاو على ٢ غم / لتر من الفحم النباتي الفعال لتعتيم الوسط الغذائي، وبهدف الحصول على افضل توليفة من التراكيز في تحفيز البراعم على النمو والتضاعف الخضري وتكوين الجذور، اضيف NAA بالتراكيز (0.0، 0.5 و 1.0 ملغم/لتر)، بالتداخل مع (0.0، 0.5، 1.0 أو 2.0 ملغم/لتر) من BA وزرعت العقل النسيجية بطول (٠,٥ سم) تحوي على عقده واحدة وحضنت في المختبر بنفس الظروف السابقة. نمت البراعم الخضرية واصبحت بطول (٤ ــ ٥ سم) صورة رقم (٥) تحوي على عدد من الافرع الخضرية والعقد، بعد 45 يوماً من تاريخ الزراعة أخذت القراءات التالية. نسبة البراعم النابتة ومعدل عدد الاوراق / نبات، عدد الافرع الخضرية / نبات، عدد العقد/ نبات طول النبات (سم) وطول الجذر (سم).

جدول (١) مكونات الوسط الغذائي المستعمل في زراعة القمم النامية وأكثار النباتات الناتجة

المادة	الاسم الانكليزي	الكمية ملغم/ لتر
مجموعة أملاح MS	Murashige and Skoog salts (1962)	قوة كاملة
أنوسيتول	Inostol	١٠٠
ثيامين حامض الهيدروكلوريك	Thiamine – HCl	٠,٥
بايرودوكسين	Pyridoxine – HCl	٠,٥
حامض النكوتين	Nicotinic acid	٠,٥
الكلايسين	Glycine	٢,٠
البنزل ادنين BA	Benzyl adenine	٠,٠، ٠,٥، ١,٠ و٢,٠
الاوكسين NAA	Naphthalene acetic acid	٠,٠، ٠,٥ و١,٠
الفحم النباتي الفعال	Activated Charcoal	٢٠٠٠
السكروز	Sucrose	٣٠٠٠٠
الاكار	Agar	٧٠٠٠

التحليل الاحصائي:

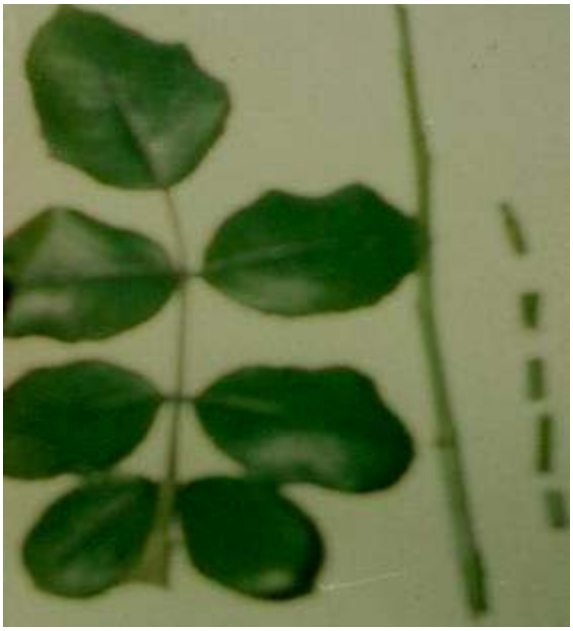
نفذت التجربة باستخدام التصميم العشوائي الكامل Completely randomized design (CRD). حللت النتائج بأستعمال النظام الاحصائي SAS 2001 الحاسوب[13]. وقورنت المتوسطات حسب اختبار اقل فرق معنوي (LSD) على مستوى احتمالية 0.05 [14].

(١)

صورة رقم (١) ازهار الورد الشجيري صنف الدمشقي(١)

(٢)

الورقة البالغة للورد الشجيري الدمشقي(٢)



صورة (٢)

الاجزاء النباتية للورد الشجيري الدمشقي

صورة (٣)

عقل الورد الشجيري الدمشقي بعد ٢١ يوم من الزراعة

صورة رقم (٤)
عقل الورد الشجيري بعد ٦٠ يوم من الزراعة

صورة رقم (٥)
البراعم النسيجية بعد ٤٥ يوم من الزراعة

<u>النتائج والمناقشة:</u>

١ــ تأثير مستويات مختلفة من منظم النمو الاوكسين (NAA) والسايتوكاينين (BA) في الصفات المدروسة في نمو العقل المزروعة للورد الدمشقي

تظهر نتائج الجدول (٢) الى وجود فروقات معنوية بين مستويات منظم النمو الاوكسين (NAA) في الصفات المدروسه للورد الدمشقي، وقد تفوقت المعاملة ١,٠ ملغم/ لتر من لـ NAA معنويا وأعطت أعلى معدل نسبة عقل نابتة، واعلى معدل عدد اوراق، وعدد الافرع الخضرية، وعدد العقد / نبات، وطول النبات (سم) وأعلى معدل لطول الجذر / نبات (سم) بلغت (٨٣,٧٢%، ٤,٦٣، ٢,١٥، ٢,٩٩، ٣,٧٨ سم و١,٦٥سم) على التوالي، بالمستويات الاخرى وأعطت معاملة المقارنة اقل النتائج بلغت (٧٦,٠٢%، ٢,٤٨، ٠,٩٢، ١,٤٤، ٢,٤٠ سم و ٠,١٩ سم) على التوالي. وهذه النتائج تتفق مع [15] اللذان ذكرا ان افرع الورد الجوري المتكونة خارج الجسم الحي يمكن ان تحفز على التجذير باستخدام NAA أو IAA بتركيز (١ ملغم / لتر). في حين وجدت[12] ان الـ NAA بتركيز ٠,٢ ملغم / لتر قد أثر معنويا في معدل أطوال الافرع الخضرية وعدد الاوراق وطول الجذر وعدد الجذور لصنفين من الورد الشجيري. وهذا ما أكده [16] على ضرورة أضافة الاوكسينات الى الوسط الغذائي مع حاله من التوازن بينها وبين السايتوكاينين عند مضاعفة أفرع الورد الشجيري، وان زيادة تركيز الـ NAA قد يؤدي الى احتمالية حدوث خلل بين تراكيز الاوكسين والسايتوكاينين المثالية داخل الجزء النباتي وبالتالي يؤثر على طبيعة نمو الجزء النباتي المزروع. أما البنزل ادنين (BA) فكان له تأثير معنوي ايجابي ايضا أذ حققت المعاملة ٢ ملغم / لتر أعلى نسبة عقل خضرية نابتة، واعلى معدل عدد اوراق، واعلى معدل عدد افرع خضرية، وعدد العقد / نبات، وطول النبات (سم) وأعلى معدل لطول الجذر / نبات (سم) بلغت (٩٥,٥٣%، ٦,١٢، ١,٨٣، ٣,٣٨، ٥,٧٦ سم و ١,٦٢ سم) على التوالي، وبذلك تفوقة معنويا على المستويات الاخرى وعلى معاملة المقارنة التي أعطت اقل النتائج بلغت (٥٨,١٨%،

١,٦١، ٠,٨٥، ١,١٨، ٠,٨٢ سم و٠,٤٢ سم) على التوالي.

جدول (٢) تأثير مستويات مختلفة من (NAA) و (BA) والتداخل بينهما في الصفات المدروسة للورد الدمشقي

تركيز NAA ملغم/ لتر	تركيزBA ملغم/ لتر	نسبة العقل النابتة %	عدد الاوراق /نبات	عدد الافرع الخضرية/ نبات	عدد العقد / نبات	طول النبات (سم)	طول الجذر / نبات (سم)
٠,٠	٠,٠	٥٤,٥٧	١,٠١	٠,٨١	١,٠	٠,٧٩	٠,٠١
	٠,٥	٧٦,٩٨	١,٨٤	٠,٨٩	١,٠٣	١,٧١	٠,١٠
	١,٠	٨١,٦٥	٢,٣٢	٠,٩٦	١,٤٤	٢,٣٦	٠,٣١
	٢,٠	٩٠,٩١	٤,٧٦	١,٠٣	٢,٣٢	٤,٧٧	٠,٣٧
٠,٥	٠,٠	٥٨,٨٧	١,٨٢	٠,٨٧	١,١١	٠,٨١	٠,٤٩
	٠,٥	٧٩,٥٤	٢,٤٣	٠,٩١	١,٧٦	١,٨٨	٠,٧٩
	١,٠	٨٤,٤٣	٣,٦٣	١,٣٢	٢,١٢	٢,٧٦	١,٣١
	٢,٠	٩٥,٧٧	٥,٧٦	١,٧٥	٣,١٦	٥,١٢	١,٨٢
١,٠	٠,٠	٦١,١١	٢,٠٢	٠,٨٨	١,٤٣	٠,٨٨	٠,٧٦
	٠,٥	٨٠,٣٣	٣,١٣	٠,٩٩	٢,٠٣	٢,٠٧	١,٣١
	١,٠	٩٣,٥٤	٥,٥٢	١,٨٧	٣,٨٦	٤,٧٧	١,٨٧
	٢,٠	٩٩,٩١	٧,٨٦	٢,٧٣	٤,٦٦	٧,٤١	٢,٦٨
LSD 0.05		٢,٨٢	٠,٢٣	٠,٠٧	٠,١٩	٠,٢٠	٠,٠٤
تركيز NAA ملغم/ لتر	٠,٠	٧٦,٠٢	٢,٤٨	٠,٩٢	١,٤٤	٢,٤٠	٠,١٩
	٠,٥	٧٩,٦٥	٣,٤١	١,٢١	٢,٠٣	٢,٦٤	١,١٠
	١,٠	٨٣,٧٢	٤,٦٣	٢,١٥	٢,٩٩	٣,٧٨	١,٦٥
LSD 0.05		٢,٣١	٠,٢٠	٠,٠٥	٠,١٤	٠,١٧	٠,٠٣
تركيز BA ملغم/ لتر	0.0	٥٨,١٨	١,٦١	٠,٨٥	١,١٨	٠,٨٢	٠,٤٢
	0.5	٧٨,٩٥	٢,٤٦	٠,٩٣	١,٦٠	١,٨٨	٠,٧٣
	1.0	٨٦,٥٤	٣,٨٢	١,٣٨	٢,٤٧	٣,٢٩	١,١٦
	2.0	٩٥,٥٣	٦,١٢	١,٨٣	٣,٣٨	٥,٧٦	١,١٦
LSD 0.05		٢,١٦	٠,١٨	٠,٠٤	٠,١٢	٠,١٤	٠,٠١

وقد يعزى السبب في ذلك الى دور السايتوكاينينات بتأثيرها التحفيزي لانقسام الخلايا وانتقال المغذيات وكسر السيادة القمية وتكوين المرستيمات الطرفية النشطة والتطور الزهري وكسر سكون البراعم وإنبات البذور[17]، وتشجيع عدد التفرعات فيها فضلا عن حث تكوين وتمايز الفروع العرضية من نسيج الكالس [3]. وهذه النتائج تتفق مع [18] اللذين حصلوا على تضاعف جيد للافرع بعد زراعة عقد ١٠ اصناف من الورد الشجيري على وسط MS المزود بـــ ٢ ملغم / لترBA. أما[19] فقد اشاروا على ان التركيز المثالي من BA هو ٥ ملغم / لتر في تحفيز نشوء الافرع على اصناف نوعي الورد الشجيري Rosa damascena و Rosa bourboniana. وقد استخدم [20] لاكثار الورد الشجيري R. damascena تراكيز مختلفة من BA (1 و٢ و٣ و٤ ملغم/لتر) في تضاعف الاجزاء المزروعة ووجدا ان التركيزين ١ و٣ ملغم/لتر اعطت افضل النتائج. تمكن [9] من الحصول على توالد جيد للافرع بعد زراعة العقد المفرده لثلاثة اصناف من الورد الشجيري على وسط MS المزود بتراكيز (٠,٥ – ١ملغم / لتر) من BA. أما

للتداخل بين الاوكسينات والسايتوكاينينات تأثير معنوي في الصفات المدروسة للورد الشجيري، أذ تفوق تداخل ١,٠ ملغم / لتر NAA مع ٢,٠ ملغم / لتر من الـــ BA معنويا على المستويات الاخرى وأعطت أعلى نسبة عقل نابتة، واعلى معدل عدد اوراق، وعدد الافرع الخضرية، وعدد العقد / نبات، وطول النبات (سم) وأعلى معدل لطول الجذر / نبات (سم) بلغت (٩٩,٩١%، ٧,٨٦، ٢,٧٣، ٤,٦٦، ٧,٤١ سم و ٢,٦٨ سم) على التوالي، في حين أعطت معاملة المقارنة اقل النتائج والتي بلغت (٥٤,٥٧%، ١,٠١، ٠,٨١، ١,٠٠، ٠,٧٩ سم و٠,٠١ سم) على التوالي. وقد يعزى السبب في ذلك الى أهمية الاوكسينات السايتوكاينينات بالوسط الغذائي وتأثيرها في تحفز وتكوين الافرع الخضرية وزيادة أعدادها نتيجة لزيادة تركيز السايتوكاينين نسبة الى الاوكسين في حين النسبة المعكوسة تشجع تكوين الجذور العرضية على الافرع المتضاعفة، وغالبا ما تكون الأفرع المتكونة قصيرة نوعا ما نتيجة للدور الذي تلعبه السايتوكاينينات في تحفيز نموها من البراعم الابطية لذا وجب اضافة الاوكسينات بانواع وتراكيز تختلف باختلاف الانواع والاصناف النباتيه بهدف تحفيز استطالة الافرع وجعلها بالطول التي يمكنها من الانتقال الى مرحلة التجذير[3]. وهذه النتائج تتفق مع [21] اللذان حصلا على معدلات عالية لتضاعف الافرع على الاجزاء النباتية المزروعة على وسط MS المجهز بـــ ٣ ملغم / لترBA مع ٠,٥ ملغم / لتر NAA . كذلك تتفق مع[18] الذين حصلوا على تضاعف جيد للافرع بعد زراعة عقد ١٠ اصناف من الورد الشجيري على وسط MS المزود بـــ ٢ ملغم / لترBA و ٠,٢ ملغم / لترIAA. بينما وجدا [2] ان تضمين وسط التضاعف MS بالاوكسين NAA والسايتوكاينين BA وبتراكيز مختلفة منهما له اهمية كبيرة على تكوين الافرع والجذور على العقل المزروعة وحسب نوع وصنف الورد الشجيري. أذ ان نمو الانسجة او الاجزاء النباتية خارج الجسم الحي ودرجة استجابتها تختلف باختلاف الانواع النباتية والاجناس ضمن العائلة الواحدة [4]، هذا بالاضافة الى نوعية وتركيبة الوسط الغذائي المستخدم في تنشأت الجزء النباتي المزروع وهنا تظهر أهمية تركيبة الوسط الغذائي في تزويد الجزء النباتي بما يحتاجه من المغذيات الضرورية لنموه، وتختلف احتياجات الجزء النباتي اعتمادا على نوع النبات والجزء النباتي المأخوذ منها.

٢ ــ تأثير مستويات مختلفة من منظم النمو الاوكسين(NAA) والسايتوكاينين (BA) في الصفات المدروسة في نمو العقل النسيجية للورد الدمشقي

تبين النتائج في الجدول رقم (٣) الى وجود فروقات معنوية بين مستويات الـــ NAA في الصفات المدروسه للورد الدمشقي، فقد حققت المعاملة ١,٠ ملغم/ لتر من لـــ NAA أعلى معدل نسبة براعم نابتة، واعلى معدل عـــدد اوراق، وعدد الافرع الخضرية، وعدد العقد / نبات، وطول النبات (سم) وأعلى معدل لطول الجذر / نبـــات (ســـم) بلغـــت (٩٦,٦٦%، ٣,٥٦، ١,٤٠، ٣,١٣، ٢,٨٠ سم و١,٥٩ سم) على التوالي، وبذلك تفوقة معنويا على المستويات الاخرى وعلى معاملة المقارنة التي أعطت اقل النتائج بلغت (٩٢,٦٥%، ١,٤٥، ٠,٨٥، ١,٣١، ١,٦٤ سم و ٠,٠٩ سم) على التوالي. وقد يعزى السبب في ذلك الى دور الاوكسينات في عملية انقسام الخلايا وتكوين الجذور العرضية حيث تعمـــل على زيادة عدد المناطق المرستيمية في قواعد العقل النسيجية وبعملية فقدان التمايز تكون مناشئ الجذور التـــي تنمـــو وتتطور الى مبادئ الجذور ثم الى جذور عرضية تخرج من انسجة العقل [22] . وهذه النتائج تتفق مـــع[12] التـــي وجدت عند اضافة الـــ NAA الى الوسط الغذائي بتركيز ٠,٢ ملغم / لتر قد أثر معنويا في عدد واطـــوال الافـــرع الخضرية والجذور لصنفين من الورد الشجيري. كذلك حصل [23] على تضاعف جيد فـــي عـــدد واطـــوال الافـــرع الخضرية والجذور لصنف الورد الشجيري (*Rosa damascene* Mill). اما [24] وجدا ان افضل تجذير للافـــرع المتضاعفة للورد الشجيري *Rosa roxburghii* Tratt تم الحصول علية بزراعة العقل الدقيقة بطول ٤ – ٥ سم في وسط MS بنصف قوة املاحه ومجهز بـــ ١,٦ مـــايكرومول NAA و ٢,٥ – ٣,٥ مـــايكرومول بـــاكلوبيوترازول

paclobutrazol و ٣٠٠ –٤٠٠ ملغم /لتر فحم فعال. ويلاحظ من الجدول نفسه ان البنزل ادنين (BA) له تأثير معنوي ايجابي ايضا أذ حققت المعاملة ٢ ملغم / لتر أعلى نسبة براعم نابتة، واعلى معدل عدد اوراق، وعدد الافرع الخضرية، وعدد العقد / نبات، وطول النبات (سم) وأعلى معدل لطول الجذر / نبات (سم) بلغت (٩٨,٢٤%، ٤,٥١، ١,٥٩، ٢,٨١، ٤,٠٦ سم و١,٤٤ سم) على التوالي، وبذلك تفوقة معنويا على المستويات الاخرى وعلى معاملة المقارنة التي أعطت اقل النتائج بلغت (٩٠,٩٨%، ١,٠٣، ٠,٧٦، ١,٠٤، ٠,٨٣ سم و ٠,٥٦ سم) على التوالي. وقد يعزى السبب في ذلك الى دور الـ BA كمنظم نمو الاكثر فعالية في كسر سكون البراعم وتحفيز توالد وتضاعف الافرع على الاجزاء النباتية على الورد الشجيري [25]. وتتفق هذه النتائج مع ما جاء به [19] الذين أشاروا إلى أن التراكيز المنخفضة من الـ BA تكون ملائمة لتحفيز البراعم الابطية على النمو، وعزوا ذلك الى الفعل التحفيزي للـ BA في حث الخلايا على الانقسام والتمايز وينتج عن ذلك تمايز الانسجة المزروعة خارج الجسم الحي الى فروع خضرية. وحصل[26] على تضاعف جيد للافرع بعد زراعة البراعم الطرفية والعقد لنبات الورد الشجيري على وسط MS المجهز بنوعين من السايتوكينات هما BA (تركيز ١,٥ ملغم / لتر) وZeatin (تركيز ٠,٢٥ ملغم / لتر). أما بالنسبة للتداخل بين الاوكسينات والسايتوكاينينات فكان له تأثيرا معنويا في الصفات المدروسة للورد الدمشقي، أذ تفوق تداخل ١,٠ ملغم / لتر NAA مع ٢,٠ ملغم / لتر من الـ BA معنويا على المستويات الاخرى وأعطت أعلى نسبة براعم نابتة، واعلى معدل عدد اوراق، وعدد الافرع الخضرية، وعدد العقد / نبات، وطول النبات (سم) وأعلى معدل لطول الجذر / نبات (سم) بلغت (٩٩,٩٧%، ٦,١٦، ٢,٢٢، ٣,٨٨، ٥,١١ سم و ٢,٠١ سم) على التوالي، في حين أعطت معاملة المقارنة اقل النتائج والتي بلغت (٨٩,٨٨%، ١,٠٠، ٠,٦١، ١,٠٠، ٠,٤٩ سم و٠,٠٣ سم) على التوالي. وهذه النتائج تتفق مع [8] اللذين حصلوا على افضل توالد لافرع الورد الشجيري بزراعة الاجزاء النباتية على وسط مجهز بـ ٢ ملغم / لترBA و تركيز ٠,٠١ ملغم / لترNAA. في حين حصل [27] على اعلى معدل للنمو في عدد الافرع الجانبية المتكونه وعدد الاوراق الجديدة في الجزء النباتي المزروع في وسط مجهز بتركيز ٤ مايكرومول BA و ٠,٥ مايكرومول NAA. نستنتج من هذا البحث الى أهمية أضافة منظمات النمو كالاوكسينات والسايتوكاينينات الى الاوساط الغذائية وبمستويات مختلفة لزراعة البراعم الخضرية لنباتات الورد الشجيري وأكثارها خضريا وأعتمادها كخطوط انتاج واسع في الاكثار الدقيق حيث أعطت نتائج ايجابية في النمو والتضاعف الخضري، وان العقل الناتجة من الزراعة النسيجية يمكن اكثارها وزيادة اعدادها بأستخدام تقنية زراعة الانسجة النباتية. وان أضافة منظمات النمو الى الاوساط الغذائية لها تأثير واضح على هذه الصفات عند المستوى ١,٠٠ ملغم / لترمن الـ NAA و٢,٠ ملغم / لتر من الـ BA . لذا نوصي باستخدام هذه التراكيز في الاوساط الغذائية الخاصه بالاكثار الدقيق للورد الدمشقي وأجراء دراسات أخرى على تراكيز مختلفة لبيان تأثيرها على عملية الاكثار لأن التراكيز العالية قد تؤثر على طبيعة نمو الاجزاء النباتية المزروعة وتحد من عملية التضاعف وتكوين الجذور.

جدول (٣) تأثير مستويات مختلفة من (NAA) و (BA) والتداخل بينهما في الصفات المدروسة للورد الدمشقي

تركيز NAA ملغم/ لتر	تركيزBA ملغم/ لتر	نسبة البراعم النابتة %	عدد الاوراق /نبات	عدد الافرع الخضرية/ نبات	عدد العقد / نبات	طول النبات (سم)	طول الجذر / نبات (سم)
٠,٠	٠,٠	٨٩,٨٨	١,٠٠	٠,٦١	١,٠٠	٠,٤٩	٠,٠٣
	٠,٥	٩٠,١٢	١,٠٤	٠,٨٨	١,٠١	١,٠١	٠,٠٩
	١,٠	٩٤,٤٤	١,١٢	٠,٩١	١,٢٤	١,٣٣	٠,١٠
	٢,٠	٩٦,١٠	٢,٦٦	١,٠١	٢,٠٢	٣,٧٤	٠,١٧
	٠,٠	٩٠,٧٧	١,٠٢	٠,٨٠	١,٠١	٠,٧٧	٠,٦٩
	٠,٥	٩٣,٤٢	١,١٣	٠,٨٧	١,٤١	١,٧١	٠,٨٧

٠,٥	١,٠	٩٥,٩١	٢,٦١	١,١٢	١,٦٦	٢,٠١	١,٠١
	٢,٠	٩٨,٦٦	٤,٧١	١,٥٥	٢,٥٤	٤,٣٣	١,٦٢
١,٠	٠,٠	٩٢,٣١	١,٠٨	٠,٨٧	١,١١	٠,٨٠	٠,٩٦
	٠,٥	٩٥,٦٥	٢,٥٣	٠,٩٤	١,٧٨	٢,٠١	١,٦١
	١,٠	٩٨,٧١	٤,٤٨	١,٥٧	٢,٦٤	٣,٣١	١,٧٩
	٢,٠	٩٩,٩٧	٦,١٦	٢,٢٢	٣,٨٨	٥,١١	٢,٠١
LSD 0.05		٢,١٩	٠,٢٦	٠,٠٨	٠,٢١	٠,٢٣	٠,٠٦
تركيز NAA ملغم/ لتر	٠,٠	٩٢,٦٥	١,٤٥	٠,٨٥	١,٣١	١,٦٤	٠,٠٩
	٠,٥	٩٤,٦٩	٢,٣٦	١,٠٩	١,٦١	١,٩٥	١,٠٤
	١,٠	٩٦,٦٦	٣,٥٦	١,٤٠	٣,١٣	٢,٨٠	١,٥٩
LSD 0.05		٢,٠٣	٠,٢٣	٠,٠٤	٠,١٩	٠,٢١	٠,٠٣
تركيز BA ملغم/ لتر	٠,٠	٩٠,٩٨	١,٠٣	٠,٧٦	١,٠٤	٠,٨٣	٠,٥٦
	٠,٥	٩٣,٠٦	١,٥٦	٠,٩١	١,٤٠	١,٥٧	٠,٨٥
	١,٠	٩٦,٣٥	٢,٧٣	١,٢٠	١,٨٤	٢,٢١	٠,٩٦
	٢,٠	٩٨,٢٤	٤,٥١	١,٥٩	٢,٨١	٤,٠٦	١,٤٤
LSD 0.05		٢,٠١	٠,٢١	٠,٠٣	٠,١٥	٠,٢٠	٠,٠٢

المصـــــــادر:

١ــ الرفاعي، عبد الرحيم توفيق و الشوبكي، سمير عبدالرازق. *زراعة الانسجة والاكثـــار الـــدقيق للنبـــات*. المكتبـــة المصرية للطباعة والنشر. جمهورية مصر العربية، ٢٠٠٧ .

2-Senapati, S. K. and G. R. Rout . "Study of culture conditions for improved micropropagation of hybrid rose". *Hort. Sci. (Prague)*, 35 (1): 27-34, 2008.

3-George, E. F. ; M. A. Hall and G.-J. De Klerk . *Plant Propagation by Tissue Culture.* Volume 1. The Background, 3rd Edition, Published by Springer, Dordrecht, The Netherlands, 2008.

4-Ozel, C. and O. Arslan. "Efficient micropropagation of english shrub rose "Heritage" under *in Vitro* conditions". *International Journal of Agriculture & Biology* . 8(5)626–629, 2006.

5-Hameed, N. ; A. Shabbir ; A. Ali and R. Bajwa. *In vitro* micropropagation of disease free rose (*Rosa indica* L.). Mycopath, 4 (2)35-38, 2006 .

6-Pati, P. K. , Rath, S. P , Sharma, M. , Sood, A. and Ahuja, P.S. "*In vitro* propagation of rose—a review" . *Biotechnology Advances*, 24 : 94-114, 2006.

٧ــ محمد، عبد العظيم كاظم ومؤيد احمد اليونس. *اساسيات فسيولوجيا النبات*. الجزء الثاني. كلية الزراعة، جامعـــة بغداد. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي،1991 .

8-Kim, C.K. : J.Y. OH : Jee, S.O.; Chung, J.D." *In vitro* micropropagation of *Rosa hybrida* L. " *J. Plant Biotechnolog.*, 5: 115-119, 2003.

9-Mohapatra, A.,G.R. Rout and P. Das. "Rapid clonal propagation from nodal explants and *in vitro* flowering of three rose cultivars". *Propagation of Ornamental Plant*, 5 (4) 219 – 223, 2005.

10-Roberts, A. V. ; Debener, T. and Gudin, S. (eds). *Encyclopedia of Rose Science*. London, Elserier academic press : 199 – 227, 2003

11-Murashige,T., and F.Skoog. "A revised medium for rapid growth and bioasseys with tobacco tissue cultures" *Physiologia Plantarum* ,15 : 473 – 497, 1962.

١٢ــ المعموري، كوثرهادي عبود. *الاكثار الدقيق للورد الشجيري .Rosa sp خارج الجسم الحي*. رسالة ماجـــستير، قسم التقنيات الحياتية النباتية ، الكلية التقنية المسيب، ٢٠٠٩.

13-SAS , . SAS guide for personal computers . Release 6.12 . SAS institute inc. Cary , Nc.USA, 2001.

١٤ــ الراوي، خاشع محمود وعبدالعزيز خلف الله. *تصميم وتحليل التجارب الزراعية*. جامعة الموصل. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جمهورية العراق، 1980.

15-Ibrahim, R.; DEBERGH, P.C. "Factors controlling high efficiency adventitious bud formation and plant regeneration from in vitro leaf explants of roses (*Rosa hybrida* L.)". *Scientia Horticulturae* 88: 41-57, 2001.

16-Schneider F. "Effect of different cultural conditions on micropropagation of rose (Rosa sp. L.) and globe artichoke (*Cynara scolymus* L.)" *Ph .D. Dissertation* pp.148, 2005.

17-Taiz, L. and Zeiger, E.. *Plant Physiology*. Redwood City: The Benjamin/Cumings Publishing,١٩٩٨.

18-Chakrabarty, D.; A. K. Mandal, and S.K. Datta." *In vitro* propagation of rose cultivars" *Ind.J. plant physoil,* 5 (2) : 189 – 192, 2002.

19-Pati P.K. : M. Sharma and P.S. Ahuja. "Micropropagation, protoplast culture and its implications in the improvement of scented rose." *Acta Hortic*;547:147–58, 2001.

20-Bhoomsiri,C. and N. Masoboom." Multiple shoot induction and plant Regeneration of (*Rosa damascena* Mill.)." *International journal* , Vol. 3, No. (2), pp.77 – 84, 2003.

21- Carelli B. P., Echeverrigaray S. "An improved system for the in vitro propagation of rose cultivars." *Scientia Horticulturae,* 92: 69-74, 2002.

22- Rout GR. and Jain SM. "Micropropagation of ornamental plants–cut flowers." *Propag Ornam Plants*;4(2):3–28, 2004.

23-Assareh, M.H. : M. Ghorbanli,: B. Allahverdi Mamaghani.,. A. Ghamari Zare, and S. Shahrzad. "Effects of culture media and plant growth regulators on in vitro shoot proliferation of Damask rose(*Rosa damascena* Mill.)." *Pajouhesh & Sazandegi*, No:72: 45-57, 2006.

24-Wen, X.P. and X. X. Deng "Micropropagation of chestnut rose (*Rose roxburghii* Tratt) and assessment of genetic stability in *in vitro* plants using RAPD and AFLP markers" *J. Hort. Sci. and Biotechnol.*, 80 (1) 54 – 60,2005.

25- Hasegawa, PM. "Factors affecting shoot and root initiation from cul- tured rose shoot tips." *J Am Soc Hortic Sci;*105(2):216–20, 1980.

26-Roy, P. K. ; A. N. K. Mamun and G. Ahmed." *In vitro* Plantlets Regeneration of Rose." *Plant Tissue Cult.* 14(2) 149-154, 2004.

27- Khosravi, P. : M. J. Kermani : G. A. Nematzadeh and M. R. Bihamta. "A protocol for mass production of Rosa hybrida cv. Iceberg through in vitro propagation." *Iranian Journal of Biotechnology,* 5(2) 100-104, 2007 .