تأثير السايتوكاينين BA والاوكسين NAA والجبرلين وعرق 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 Banzyl Adenin (BA) والنفثالين حامض الخليك -1 Naphthalen acetic acid (NAA) وحامض الجبرليك Gibberellic acid (GA_3) و مستخلص عرق السوس في تضاعف واستطالة الافرع المتكونة خارج الجسم الحي لصنفين من الورد الشجيري الهجين Peace و Eugen .اظهرت النتائج أن افضل تركيز للـBA في إحداث تضاعف فروع صنفي الورد الشجيري هو التركيز 3 ملغم/لتر الذي أعطى أكبر معدل لعدد الفروع بلغ 2.8 و 2.3 فرعاً للصنفين 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 /لترNAA + 3 ملغم /لترBA 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 GA_3 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/ لترBA + 0.2 ملغم / لتر NAA قد اثر معنويا في عدد الأفرع واطوالها خاصة عند التركيز2 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 (GA_3) 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 GA_3 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 سنويا [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 و6].

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 بدات منذ زمن ليس بالقليل بات واضحا ان التوازن الدقيق بين تركيز الاوكسين والسايتوكاينين

بالوسط الغذائي ذو اهمية قصوى اذ ان الزيادة الحاصلة في تركيز السايتوكاينين نسبة الى الاوكسين تحفز تكوين الافرع الخضرية، كما ان الأفرع المتكونة نتيجة للدور الذي تؤديه السايتوكاينينات في تحفيز نموها من البراعم الابطية غالبا ما تكون قصيرة لذا وجب اضافة الاوكسينات بانواع وتراكيز تختلف باختلاف الانواع والاصناف النباتيه 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 تاثيرات تثبيطية وتحفيزيه في احيان اخرى [8]. وبين [9] ان توالد الافرع خارج الجسم الحي مبني بصورة رئيسة على وجود السايتوكاينينات 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 التاثير الايجابي لهذه المواد في المزارع النسيجية للعديد من الانواع النباتية ومن هذه المواد حليب جوز الهند (Coconet Milk) في المزارع النسيجية للحمضيات [11 و 12] ومستخلص الشعير في المزارع النسيجية للحمضيات [13 و 14] وعصير الطماطة وعصير البرتقال [10 و 15] ومستخلصا البطاطا والموز [16] . لقد وجدت [17] ان استعمال مستخلص مسحوق جذور السوس بعد مرور شهرين من زراعة أطراف الأفرع لأصل الحمضيات (ترويرسترنج) ادى إلى زيادة أطوال الأفرع مقارنة بمعاملة المقارنة إذ أمكن الحصول على أعلى معدل لاطوال الأفرع عند استعمال مستخلص جذور السوس والذي بلغ 4.22 سم عند التركيز 6 مل / لتر.

تهدف التجربة الحالية الى دراسة تاثير تضمين وسط التضاعف بمستخلص عرق السوس في تضاعف واستطالة الافرع. ودراسة تاثير تراكيز من BA والاوكسين NAA والجبرلين GA_3 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 ($HgCl_2$) 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 بمنضمات النمو وبحسب التجارب المستعملة في البحث)، اذ قطعت بطول1.5سم وزرعت بواقع فرع واحد لكل انبوب بعشرة مكررات لكل معاملة وحضنت بدرجة حرارة 25 مº± 2 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 السايتوكاينين BA :

درس تأثير تراكيز مختلفة من السايتوكاينين BA في نمو وتضاعف الافرع الخضرية لصنفي الورد الشجيري المدروسة ، اذ اضيف BA بتراكيز (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 بـ 3 ملغم BA (باعتبارها افضل معاملة من التجربة السابقة) والاوكسين NAA بتراكيز 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 إجراء تجربة لدراسة تأثير تضمين الوسط الغذائي MS بالجبرلين GA_3 بتراكيز مختلفة (0 ، 0.01 ، 0.02 ، 0.03 او 0.04) ملغم / لتر والمجهز بـ (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 اذ أضيف مستخلص عرق السوس إلى وسط التضاعف بالتراكيز (1 ، 2 ، 3 او 4) مل/ لتر . فضلا عن معاملة المقارنة (وسط التضاعف مجهز بالسكروز 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 باتباع التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design (CRD) وبواقع عشرة مكررات لكل معاملة لجميع التجارب. وقد حللت البيانات وفق برنامج التحليل الاحصائي الـSAS[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 للـBA 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/لترBA . وبالنسبة لتأثير الصنف النباتي في عدد الافرع فلم يكن له تأثير معنوي في معدل عدد الافرع.

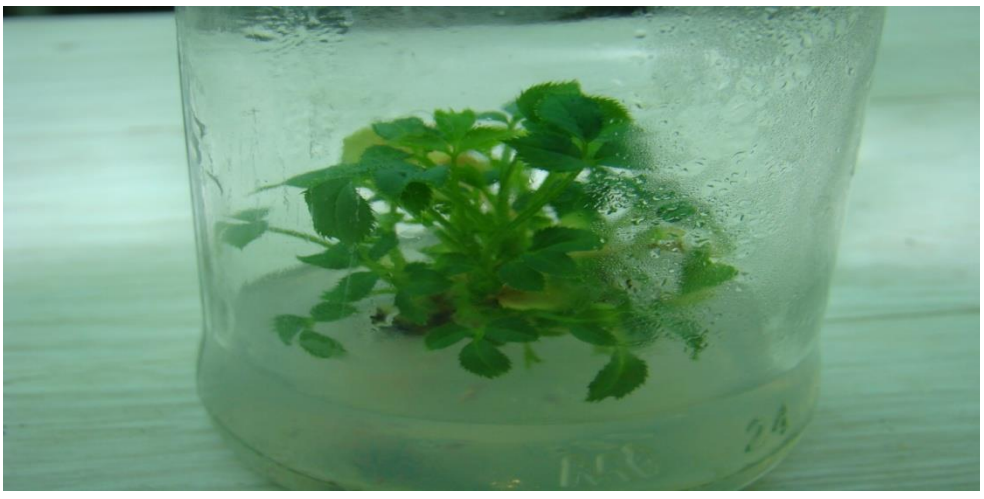
وفيما يتعلق بتأثير التداخل بين التراكيز المختلفة للـ BA والصنف فقد أظهرت نتائج الجدول نفسه أن أكبر معدل لعدد الافرع كان في الأجزاء النباتية للصنفين المزروعين Peace و Eugen في وسط مجهز بـ 3 ملغم/ لتر BA إذ بلغ 2.8 و 2.3 فرع ، على التوالي الذي اختلف معنوياً عن بقية التداخلات عدا التداخل بين الصنف Peace والتركيز 2 ملغم/لتر BA الذي أعطى 2 فرعاً / جزء نباتي وكان اقل معدل لعدد الافرع في الاجزاء النباتية للصنفين peace و Eugen 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 السايتوكاينينات 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 صنفي الورد الشجيري (Peace وEugen) المزروعة على الوسط الغذائيMS بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة

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

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 الاجزاء 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 اشجيري في الصفة فلم تظهر بين الصنفين أي فروق معنوية.

جدول (2) : تأثير الـ BA في معدل اطوال افرع صنفي الورد الشجيري المزروعة على الوسط الغذائيMS بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة

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

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 فان نتائج الجدول نفسه تظهرتفوق الاجزاء النباتية لمعاملة المقارنة في إعطاء أعلى معدل لطول الفرع إذ بلغت 24.0 و 25.0 ملم لكل من صنفي الورد الشجيري "Eugen وPeace"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 وPeace" على التوالي مقارنة ببقية المعاملات المحتوية على الـ BA، ومن الجدول نفسه يلاحظ ان زيادة تركيز الـBA 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 الافرع المتكونة من الجزء المزروع (لاحظ الجدول 1) نتيجة لكسر السيادة القمية للفرع وتحرر الافرع الموجودة في آباط الأوراق مما أدى إلى حدوث منافسة بين الافرع المتكونة على المواد الغذائية في الوسط الغذائي التي ينتج عنها تكون افرع قصيرة.

تأثير تراكيز NAA بثبات الـ BA في معدل عدد الافرع :

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 /لترBA قد تفوقت معنويا" في معدل عدد الأفرع المتكونة منها 4.15 فرع/جزء نباتي على الأجزاء النباتية المزروعة على الوسط المجهز بالتراكيز الأخرى من الـ NAA يليه 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 معنويا عن المعاملة بالتركيز 0.1 ملغم /لتر NAA.

جدول (3) : تأثير تراكيز الـ NAA في معدل عدد أفرع صنفي الورد الشجيري "Peace و Eugen" المزروعة على الوسط الغذائيMS المجهز بـ 3 ملغم / لتر BA بعد 4 أسابيع من الزراعة

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

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 صنفي الورد الشجيري المدروسين بتفوق الصنف Peace على الصنف Eugen في معدل عدد الافرع المتكونة على الجزء النباتي فقد أعطى صنف Peace أكبر معدل لعدد الافرع 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 تاثيراً معنوياً لهذا التداخل في هذه الصفة اذ أعطت الأجزاء النباتية للصنف Peace المزروعة في الوسط الغذائي الحاوي على 0.2 ملغم/ لتر NAA التي اختلفت معنويا عن جميع التداخلات الأخرى أكبر معدل لعدد الأفرع المتكونة على الاجزاء النباتية بلغ 4.8 فرعاً ، يليه الوسطان الغذائيان المحتويان على 0.3 و0.2 ملغم/ لتر NAA للصنفين Peace و Eugen اللذان اعطيا معدلا بلغ 3.8 و 3.5 فرعا على التوالي. اما اقل عدد للتفرعات فقد بلغ 2.0 فرعا للاجزاء النباتية المزروعة في الوسط الحاوي على 0.4 ملغم/لتر NAA لكلا الصنفين والذي لم يختلف معنويا عن تراكيز 0 و 0.1 ملغم/لتر NAA لكلا الصنفين ايضا.

يعتمد تكوين الأفرع على الأجزاء النباتية النامية على التجهيز الخارجي للاوكسين و السايتوكاينين ومن ثم حدوث حالة توازن هرموني بين تراكيز الاوكسين والسايتوكاينين 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 السايوكاينين داخل الجزء النباتي النامي والاوكسين والذي ادى الى تحرير البراعم من السيادة القمية مما حفزها على النمو [25].وهذا ما أكده [26] على ضرورة التوازن بين الاوكسين والسايتوكاينين 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 والسايتوكاينين المناسبة داخل الجزء النباتي النامي . وتتفق نتائج هذه الدراسة مع ماوجده [27 و 28] من حيث اهمية تضمين وسط التضاعف MS بالاوكسين NAA والسايتوكاينين BA وبتراكيز مختلفة منهما حسب نوع وصنف الورد الشجيري.

تاثير تراكيز NAA بثبات الـ BA في معدل طول الافرع (ملم) :

يظهرمن 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/لترNAA + 3 ملغم/لتر BA معنويا واعطت اعلى معدل لاطوال الافرع بلغ 19.0 ملم مقارنة بالمعاملات الاخرى حيث أعطت توليفة 0.4 ملغم/ لترNAA +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 15.04ملم في حين اعطى الصنف Eugen طولا 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 والسايتوكاينينات والذي ينعكس في تباين تاثرهما في مستوى الاوكسين المضاف الى وسط تضاعف افرعهما.

جدول (4) : تأثير تراكيز الـ NAA في معدل طول أفرع صنفي الورد الشجيري (Peace و Eugen) المزروعة على الوسط الغذائيMS المجهز بـ3 ملغم / لتر BA بعد 4 أسابيع من الزراعة

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

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 معاملتا التداخل 0.2 ملغم/لترNAA + 3 ملغم/لتر BA مع كلا الصنفين المدروسين اعلى معدل اطوال للفروع الخضرية بلغ 19.0 ملم اللتان تفوقتا على جميع الاجزاء النباتية في معاملات التداخلات الاخرى، في حين اعطت معاملتا التداخل 0.4 ملغم/لترNAA + 3 ملغم/لتر BA مع كلا الصنفين المدروسين اقل معدل لطول الفروع الخضرية.

تأثير تراكيز الـ GA_3 بثبات الـ BA والـ NAA في معدل طول الافرع (ملم) :

يلاحظ من النتائج الواردة في الجدول (5) التاثير المعنوي لتراكيز GA_3 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 التاثير اذ لوحظ ان التركيز 0.01 ملغم/لتر GA_3 قد اعطى اعلى معدل لطول الافرع الذي بلغ 24.00 ملم وقد تفوق معنويا على جميع الاجزاء النباتية في التراكيز المختلفة الاخرى.

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 ماجاء به كل من [28 و 29 و 30] من حيث تحسين عدد وطول الافرع المتضاعفة للورد الشجيري باستعمال توليفة من منظمات النمو الثلاثة (الاوكسين والسايتوكاينين

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 GA_3 الى الوسط الغذائي .

كما تبين نتائج الجدول نفسه ان للصنفين تاثيرا معنويا في معدل طول الافرع المتكونة، اذ تفوق صنف Peace معنويا 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 نموهما 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 GA_3 تأثيراً معنوياً في معدل طول الافرع اذ بلغ اعلى معدل لطول الافرع 24.80 و 23.20 ملم للصنفين " Peace و Eugen" النامية أفرعها في الوسط الغذائي المزود بـ 0.01 ملغم/لتر GA3 على التوالي والذي اختلف معنويا عن بقية التداخلات .أما اقل معدل لطول الافرع فبلغ 9.00 ملم لكلا الصنفين المزروعين في الوسط الغذائي المزود بـ 0.04 ملغم/ لتر GA_3، في حين لم تختلف تداخلات الصنفين مع تركيزي الجبرلين 0.02 و 0.03 ملغم/ لتر GA_3 عن تداخل الصنفين في معاملة المقارنة الخالية من الجبرلين.

جدول (5) : تأثير تراكيز الـ GA_3 في معدل طول أفرع صنفي الورد الشجيري (Peace و Eugen) المزروعة على الوسط الغذائيMS المجهز بـ3 ملغم/لترBA + 0.2 ملغم/لترNAA بعد 4 أسابيع من الزراعة

الصفة المدروسة (الصنف) / تراكيز الـ GA3 (ملغم/لتر)	معدل طول الافرع (ملم)		تأثير معدل التراكيز
	Peace	Eugen	
0.0	19.60 b	19.10 b	19.35b
0.01	24.80 a	23.20 a	24.00a
0.02	19.10 b	18.40 b	18.75b
0.03	19.20 b	19.70 b	19.45b
0.04	9.00 c	9.00 c	9.00c
تأثير معدل الطول	18.34 a	17.88b	

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 GA_3 + 3 ملغم/لترBA + 0.2 ملغم/لتر NAA بعد 4 أسابيع من الزراعة .

تأثير مستخلص عرق السوس في معدل عدد الأفرع :

حقق التركيزان 1 و2 مل / لتر من مستخلص عرق السوس اللذان لم يختلفا فيما بينهما معنويا أكبر معدل لعدد الافرع الخضرية بلغ 5.65 و6.10 فرع على التوالي مقارنة بالاجزاء الخضرية النامية تحت التراكيز الاخرى ومن ضمنها الاجزاء النباتية في معاملة المقارنة التي لم تختلف عن المعاملة بالتركيز 4 مل/لتر التي اعطت اقل معدل لعدد الافرع بلغ 3.15 فرعا. وقد تعزى هذة الزيادة في عدد الافرع الناجمة عن اضافة 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 وNAA في تحفيز تكوين ونمو الأفرع الخضرية على الاجزاء النباتية النامية .

جدول (6) : تأثير تراكيز عرق السوس في عدد افرع صنفي 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 .

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

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 أجزاؤه 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 أفرعهما والوسط الغذائي من منظمات نمو ومواد وعناصر غذائية.

وتشير نتائج الجدول السابق أيضاً الى وجود تأثيرات معنوية للتداخلات بين اصناف الورد الشجيري المدروسة وتركيز مستخلص عرق السوس، اذ ان معاملة تداخل التركيز 2 مل/لتر عرق سوس مع الصنف (Peace) (التي لم تختلف معنويا عن معاملتي تداخل التركيزين 1 و3 مل/لتر مع الصنف نفسه ومعاملة تداخل التركيز2 مل/لتر مع الصنف Eugen) أعطت أكبر معدل لعدد الافرع بلغ 7.00 فرعاً في حين أعطت معاملتا تداخل التركيز 4 مل/لتر مع الصنفين اوطا المعدلات والتي لم تختلف معنويا عن الأجزاء النباتية في معاملتي تداخل المقارنة لكلا الصنفين .

شكل (3) : الافرع 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 اللأفرع الخضرية بلغتا 32.53 و 31.16 ملم التي اختلفت معنويا عن جميع التراكيز المستعملة الاخرى جدول (7) . تلاهما التركيزان 4 و1 مل/لتر على التوالي ، في حين اعطت الاجزاء النباتية المزروعة في وسط MS الخالي من المستخلص اقل معدل طول للافرع الخضرية بلغ 19.60 ملم. وتتفق هذه النتيجة في اطارها العام مع ماوجدته [17] من تاثير ايجابي لمستخلص عرق السوس في زيادة أطوال أفرع أصل الحمضيات ترويرسترنج المكثر 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 وكبر حجمها [31]، فضلا عن احتواء المستخلص على مصادر الطاقة والعناصر الغذائية التي تساهم في دعم واسناد نمو الافرع .

جدول (7) : تأثير عرق السوس في معدل طول أفرع صنفي 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

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

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 الافرع الخضرية معنويا على الصنف (Eugen) فقد أعطى معدلا بلغ 28.27 ملم مقابل (25.76 ملم). اما التداخلات فقد اثرت معنوياً في هذه الصفة فقد أعطت الأجزاء النباتية العائدة للصنف (Peace) المزروعة في الوسط الغذائي MS المضاف اليه 2 مل/لتر من مستخلص عرق السوس اعلى معدل بلغ 35.86 ملم والذي اختلف معنوياً في الاجزاء الخضرية النامية عن بقية التداخلات باستثناء معاملة تداخل التركيز 3 مل/لتر مع الصنف (Eugen) وبلغ اقل معدل في أطوال الأفرع في معاملتي التداخل بين التركيز 4 مل/لتر عرق سوس وكلا الصنفين Peace وEugen 27.56 و 27.50 ، على التوالي .

يُستنتج من نتائج هذه التجربة ان تضمين الوسط الغذائي بالتراكيز الواطئة من حامض الجبرليك GA_3 قد اثر ايجابيا في اطوال الافرع لصنفي الورد الشجيري قيد الدراسة في حين ادت اضافته بتراكيز عالية الى حدوث حالات تشوهات في الافرع. وان تضمين الوسط الغذائي MS بمستخلص عرق السوس المائي قد حسن معدل تضاعف والافرع وأطوالها لصنفي 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 inanagement for optimizing Micropropagation Acta Horiculturae 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 pasq *Citrus volkameriana* 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 للترويز 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. Miginiae. 1989.** Abscisic acid **;** IAA and cytokinins changes in bud of *Pseudotsuga menziesii* during bud quiescence reiease. 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 الخضرية وحاصل البذور في ثلاثة اصناف من البصل (*Allium cepa* L.) اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق.