اكثار نبات بربين الماء *Bacopa monnieri* L. خارج الجسم الحي

حليمة جبار عبد الرزاق العرادي *انسام مهدي صالح *خيون علي محسن جهاد مكي مجيد الزوار

قسم التطور الاحيائي في شمال غرب الخليج العربي، مركز علوم البحار– جامعة البصرة–بصرة، العراق
*مركز ابحاث النخيل–جامعة البصرة–بصرة، العراق
Email: Halema.gabar@yahoo.com

الخلاصة

أجريت الدراسة الحالية بهدف اكثار نبات بربين الماء خارج الجسم الحي استعمل في هذا البحث 2,4-D وNAA لاستحثاث الكالس، معطياً أعلى نسبة في استحثاث الكالس عند استخدامهما معاً بتركيز 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ لكليهما مسجلاً 93% وبنوعية ممتازة لكونه متماسك ومحتوي على عقد كثيرة تلته المعاملات 3 ملغم.لتر$^{-1}$ 2,4-D و 3 ملغم.لتر$^{-1}$NAA مسجلةً 85 % و 53 % على التوالي، في حين لم يستحث الكالس في المقارنة الخالية من الهرمونات، كما بحث تأثير السايتوكاينينات في تكوين الأفرع الخضرية، اذ تفوقت المعاملة (0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ من BA البنزل أدنين و 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin من الكاينتين) معنوياً على باقي المعاملات في عدد الأفرع الخضرية مسجلةً 40 فرعاً خضرياً تتبعها المعاملة 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ BA بنزل أدنين فالمعاملة (0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ BA بنزل أدنين و 0.5ملغم.لتر$^{-1}$ كاينتين Kin و 0.5 NAA نفثالين أستيك أسد) وأخيرا المعاملة 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin كاينتين مكونةً 14.7 و10.3 و 10.0 على التوالي بينما سجلت المقارنة 2.5 فرعاً خضرياً، في حين تفوقت المقارنة معنوياً في طول الأفرع الخضرية مسجلةً 15.33 سم تلتها المعاملة 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$من البنزل أدنين BA و 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ من الكاينتين Kin مسجلةً 13.00 سم فالمعاملة 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ بنزل أدنين BA 8.33 سم ثم المعاملة 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ بنـزل أدنين BA و 0.5 ملغم.لتـر$^{-1}$ كاينتين Kin و 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ نفثالين أستيك أسدNAA 6.67 سم وأخيرا سجلت المعاملة 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ كاينتين Kin 4.67 سم كمعدل لطول الفرع كما جذرت الأفرع وأقلمت داخل المختبر ثم نقلت الى المزرعة المائية.

كلمات مفتاحية: بربين الماء، اكثار دقيق، منظمات النمو النباتية.

المقدمة

يعود نبات بربين الماء *Bacopa monnieri* L. الى العائلة Scorphulariaceae ويطلق عليه في العراق بربين الجداول لنموه على حواف الجداول والأنهار، أما في الهند فيطلق عليه نبات الزوفا أو أشنان داوود أو Brahmi وينمو هذا النبات في المناطق الحارة الرطبة أو الدافئة، يكثر أنتشاره في قارة آسيا وأستراليا وأمريكا اذ تواجد

في المناطق الرطبة وفي الأهوار (Bharti *et al.,* 2013). ونظراً للظروف البيئية القاسية التي يمر بها العراق وأهمها تجفيف الأهوار الذي أنعكس سلباً على معظم الأحياء المائية مما أدى الى انقراضها والنباتات المائية من الأحياء الأكثر أهمية والتي تعد أساسا للحياة في بيئة الأهوار ومن جهة أخرى انخفاض مستوى المياه في شط العرب وارتفاع نسبة الملوحة سبب هلاك العديد من النباتات المائية ومن ضمنها بربين ألماء اذ كان يغطي سواحل شط العرب والكثير من ألأنهار وله أهمية كبيرة في حماية سواحل الأنهار من الانجراف اذ ينمو على حافة السواحل ويكون طبقة واقية للتربة لامتلاكه جذوراً متشابكة و يمتد في التربة لمسافات كبيره ويحمي السواحل من الانجراف اثناء عملية المد والجزر (Khaliel *et al.*,2005)، فضلاً عن أهميته في التنوع الاحيائي لان معظم الحشرات وبعض الاسماك تلجأ اليه بغية وضع بيضوها ويرقاتها، إضافة الى أهميته الطبية، فهو من النباتات الحاوية على العديد من المواد الفعالة التي تستخدم كعقاقير خام أهمها القلويدات، و الصابونيين و Bacoside A&B المهم في معالجة مرض فقدان الذاكرة كما و يحسن من الإدراك ونمو العقل (Naik *et al.*, 2013) ويزيد من مقاومة الجسم للأمراض ويدعم مستويات السكر في الدم (Kapoor, 1990)، بالإضافة الى أهميتها من الناحية الجمالية.

ان ارتفاع نسبة الملوحة في مياه الأهوار وكذلك ترب السواحل النهرية أدى الى تثبيط نموها واقتصار تواجدها على مساحات قليله، وكمحاولة لمكافحة هذا التناقص أجريت هذه الدراسة بهدف اكثار نبات بربين الماء نسيجياً، وإيجاد طريقة سريعة للتضاعف بأجراء بعض التحويرات للأوساط ألغذائية واقلمة نبات بربين الماء تحت الظروف المختبرية ومن ثم اعادة زراعتها على ضفاف الانهار.

المواد وطرق العمل

مصدر الجزء النباتي

جمعت نماذج نبات بربين الماء من ضفاف نهر شط العرب المتواجدة في قضاء شط العرب، جلبت الى المختبر وفصلت البراعم القمية Shoot tip التي تراوح طولها بين 2-4 ملم، وبعد الفصل وضعت في محلول مضاد للأكسدة (Antioxidant solution) المتكون من حامض الستريك وحامض الاسكوربك بتركيز 150 و 100 ملغم.لتر$^{-1}$ لكل منهما على التوالي ولمدة 30 دقيقة (Tisserat & Zaid,1983)، بعد ذلك أُجريت عملية التعقيم داخل منضدة انسياب الهواء الطبقي (Laminar air flow cabinet) باستعمال القاصر التجاري 20% (حجم/حجم) ونسبة المادة الفعالة فيه 5–6 % مع اضافة قطرة واحدة من المادة الناشرة (Tween 20) لكل 100سم^3 من محلول التعقيم ولمدة 15 دقيقة مع الرج والتحريك ومن ثم جرى غسلها بالماء المقطر المعقم عدة مرات، لإزالة آثار المادة المعقمة وبذلك أصبحت الأجزاء النباتية جاهزة للزراعة في الوسط الغذائي.

الوسط الغذائي

استخدم وسط غذائي مكون من مجموعة أملاح (Murashige and Skoog, 1962) ويطلق عليه اختصارا أملاح MS اذ تم الحصول عليها من شركة Zist Arman Sabz (ZAS) بلغت 4330 ملغم.لتر$^{-1}$ مع اضافة مواد اخرى حسب المقياس ملغم.لتر$^{-1}$، وهي (40000 سكروز و 170 أرثروفوسفات الصوديوم الحامضية و100 مايواينوسيتول و 1 لكل من الكلايسين، البيرودوكسين، الثيامين، البايوتين والنيكوتين اماید و 5000 أكار)، وبعد

تم ضبط الاس الهيدروجـــيني على 5.8 عيـاري، أضـيف الأكار وجرى تسخين الوسـط الغذائـي على درجـة حـرارة 90 م^{o}، وبـــعدهـا وزع الوسط الغذائي في أنابيب اختبار قياس 20×5.2 سم بواقع 25 مل للأنبوبة الواحدة ومن ثم اغلقت فوهة الانابيب بالقطن المعقم وورق الألمنيوم ثم اجريت عملية التعقيم في جهاز التعقيم البخاري (المعقام)، على درجة حرارة 121 م^{o} وضغط بخار 1.5 بار لمدة 20 دقيقة وبعد انتهاء التعقيم جرى رج الانابيب جيدا ثم تركت لتبرد الى ان تصلب الوسط الغذائي و اصبح جاهزا لزراعته بالأنسجة النباتية، وقد أضيفت قبل التعقيم الى الوسط الغذائي منظمات النمو النباتية كل من الأوكسينات والسايتوكاينينات حسب المعاملات المدروسة في التجربة وكما يلي:

1- استحثاث الكالس

أستعمال 2,4-dichloro phenoxy acetic acid (2,4-D) و α-Nephthaline acetic acid (NAA) وحسب التراكيز التالية:

1- 3 ملغم.لتر$^{-1}$ 2,4-D

2 - 3 ملغم.لتر$^{-1}$ NAA

3 - 1.5ملغم.لتر$^{-1}$ 2,4-D و 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ NAA

4- المقارنة (خالية من منظمات النمو)

استعملت 10 مكررات لكل معاملة ودرست الصفات الآتية كمؤشر للنمو:

أ- النسبة المئوية للكالس المتكون

وتم حسابها حسب المعادلة التالية:

$$\% \text{ للكالس المتكون} = \frac{\text{عدد أنابيب الاختبار التي أستحث فيها الكالس}}{\text{العدد الكلي للأنابيب المزروعة}} \times 100$$

ب- لون الكالس

ج- صفات الكالس

2-انتاج الاجنة الجسمية Somatic Embryos

نقل الكالس الاولي الذي بعمر اربعة اشهر المتكون من البراعم الطرفية المزروعة في اوساط غذائية مزودة بمنظمات النمو النباتية، نقل الى أوساط غذائية خالية من منظمات ألنمو بهدف انتاج الأجنة الخضرية وانباتها، إن عمليات اعادة الزرع اجريت مرة كل شهرين.

3- انتاج البراعم العرضية Adventious Buds من الكالس

نقل الكالس الاولي وهو بعمر شهرين المتكون على اوساط غذائية مزودة بمنظمات النمو النباتية الى وسط غذائي MS خالي من منضمات النمو، اجريت عمليات اعادة الزراعة مرة في كل شهرين.

4- توالد الأفرع الخضرية المباشر Direct regeneration من الافرع الطرفية

أستعمل نوعان من السايتوكاينينات هما البنزل أدنين Benzyl Adenine (BA) والكاينتين kinetin (Kin) لمعرفة تأثيرهما على انتاج الأفرع الخضرية ألمباشرة وأضيفت الى وسط MS أثناء التحضير وحسب المعاملات التالية واستخدمت 10 مكررات لكل معاملة كما يأتي:

1- 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ BA

2- 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin

3- 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ BA و 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin

4-0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ BA و 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$Kin و 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$NAA

5- المقارنة الخالية من الهرمونات

ودرست الصفات الآتية كمؤشر للنمو:

أ- عدد الأفرع المتكونة

ب- طول الأفرع

ج- عدد الأفرع الجانبية المتكونة على العقدة

5- التجذير

جذرت النبيتات بعد مرور شهر من زراعتها في وسط MS خالي من منظمات النمو.

6- الأقلمة

أجريت عملية أقلمة النبيتات داخل المختبر حيث استخرجت النبيتات بعد تجذيرها من الانابيب الزرعية وبعد وصولها الى 10 سم كمعدل للطول غسلت بالماء الجاري عدة مرات لغرض ازالة المواد العالقة بالجذور ومن ثم وضعت في محلول التعقيم المتكون من 1غم.لتر$^{-1}$من المبيد الفطري السا (Elsa) لمدة 30 دقيقة بعدها زرعت في وسط الاقلمة المتكون من الرمل والبيت موس المعقم بنسبة 1:2 وتم تغطيتها بأغطية بلاستيكية شفافة لمدة اسبوعين للمحافظة على الرطوبة العالية المحيطة بالنباتات بعد ذلك تم رفع الاغطية بصورة تدريجية وسقيت النبيتات كل 10 ايام بسماد NPK 0.5 غم.لتر$^{-1}$ وحسب (محسن ، 2013) استعملت شمعات فلورسنت(LED) باللونين الأحمر والأزرق من الطيف الشمسي لمدة 16ساعة و8 ساعات ظلام، وامتدت عملية الأقلمة أربعة أشهر وبعدها نقلت النباتات الى الحقل.

التصميم التجريبي و التحليل الاحصائي:

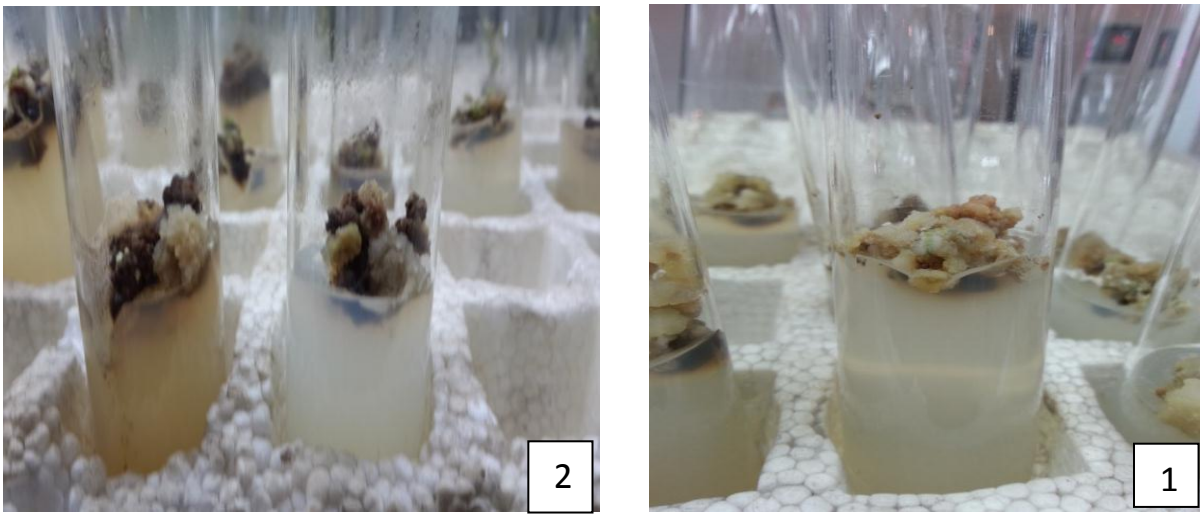
جرى تحليل نتائج التجربة باستخدام التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design (C.R.D) أستخدم برنامج Gen Stat 2007 في تحليل النتائج واختبرت معنوية المتوسطات باستخدام اختبار أقل فرق معنوي معدلRLSD (الراوي وخلف الله، 1980).

النتائج والمناقشة

1-تأثير الأوكسينات في استحثاث الكالس:

يتضح من الجدول (1)، ان الكالس تكون في المعاملات الحاوية على منظمات النمو مقارنةً بمعاملة المقارنة الخالية من منظمات النمو حيث لم تنتج الكالس مطلقاً خلال فترة ألدراسة، وأستحث الكالس بعد خمسة اسابيع عند استخدام 3 ملغم.لتر$^{-1}$ 2,4-D في الوسط الغذائي بنسبة 85% كما امتاز الكالس بلونه ألأصفر وقوامه المتماسك وبعد ستة اسابيع تكون الكالس عند استخدام 3 ملغم.لتر$^{-1}$ NAA بنسبة 53%، حيث امتاز الكالس بلونه الأصفر أيضاً لكنه كان ذا قواما هشاً، بينما أستحث الكالس بعد اربعة اسابيع عند استخدامهما معاً في المعاملة الحاوية على 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ 2,4-D و 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ NAA وبنسبة 93% منتجة كالس أبيض اللون، محبب ومتماسك وبذلك تكون قد تفوقت معنويا على جميع المعاملات مسجلةً أعلى نسبة مئوية لتكون الكالس و بأقل فترة زمنيه، وان السبب في ذلك يعود الى وجود الاوكسين في الوسط الغذائي والذي ساعد الخلايا النباتية على الانقسام والنمو، اذ حفز تكوين الحامض النووي الرايبوزي RNA، حيث يعمل mRNA بتوفير الطاقة من خلال نشاطه في أكسدة المواد الغذائية وتكوين الانزيمات المتعلقة بالنمو ومنها انزيمات التنفس التي ينتج عنها مركب الطاقة ATP والذي يتم استغلاله من قبل الأنسجة لغرض الانقسام والنمو (المعري، 1995) كما في لوحة (1).

أشارت نتائج الدراسة الى التفوق المعنوي للاوكسين 2,4-D على الاوكسين NAA في استحثاث انسجة الكالس من البراعم الطرفية لنبات بربين الماء، وقد يعود ذلك الى فعالية الاوكسين 2,4-D وتأثيره في استحثاث الكالس، اما زيادة استحثاث الكالس عند تداخل اوكسيني 2,4-D و NAA قد يعزى الى زيادة انقسام وتوسع خلايا الجزء النباتي المزروع لتكوين الكالس الاولي (El-Hammady, 1999).



لوحة (1): تأثير الأوكسين في انتاج الكالس 1- 2,4-D 2- NAA

جدول (1): تأثير نوع الأوكسين وتركيزه في صفات كالس نبات بربين الماء

المعاملات ملغم.لتر$^{-1}$	النسبة المئوية للكالس المتكون	لون الكالس	صفات الكالس	الفترة الزمنية لظهور الكالس (اسبوع)
2,4-D 3	%85	أصفر	متماسك	6
NAA 3	%53	أصفر	هش	4
2,4- D -1.5 و NAA 1.5	%93	أبيض	متماسك حاوي على عقد كثيرة	5
المقارنة	%0			–
أ . ف . م	6.2	–	–	–

أ-انتاج البراعم العرضية Adventious Buds من الكالس

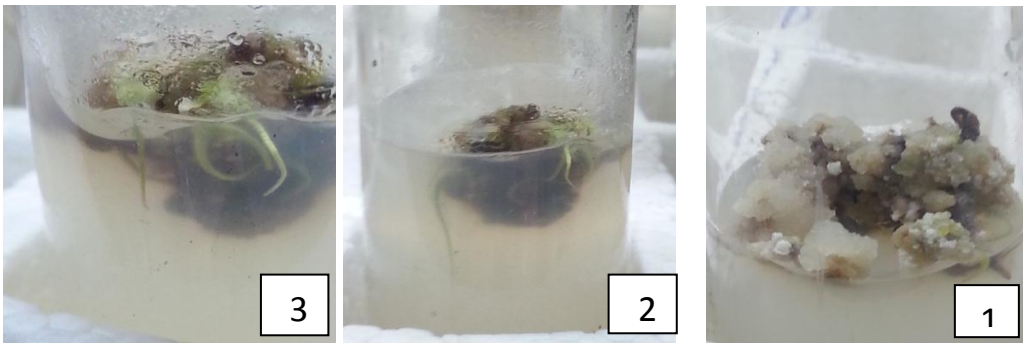
نقل الكالس الاولي وبعمر شهرين الى وسط غذائي خالي من منظمات النمو النباتية، وعند الاستمرار بتجزئة الكالس ونقله على ذلك الوسط ظهرت عقد خضراء على اسطحه بعد مرور ستة اشهر(لوحة 2-1) والتي استطالت وجذرت على نفس الوسط وأصبحت جاهزة للأقلمة (لوحة 2-2).

لوحة 2: 1-بداية ظهور العقد الخضراء 2-استطالة البراعم العرضية وتجذيرها

قد يعزى تطور البراعم العرضية من الكالس الى الدور الذي يؤديه التوازن بين الاوكسين والسايتوكاينين في تحديد نمط التمايز الخلوي وتكوين الاعضاء خارج الجسم الحي (Jasim, 2000) او قد يعود تطور البراعم العرضية من الكالس الى وجود السايتوكاينين الطبيعي بنسبة عالية في خلايا نبات بربين الماء مما شجع من استحثاث البراعم العرضية من الكالس عند نقلها الى وسط خالي من منظمات النمو النباتية، اذ يعد السايتوكاينين من الهرمونات النباتية المشجعة على التضاعف (محمد وعمر، 1990).

ب-انتاج الاجنة الخضرية

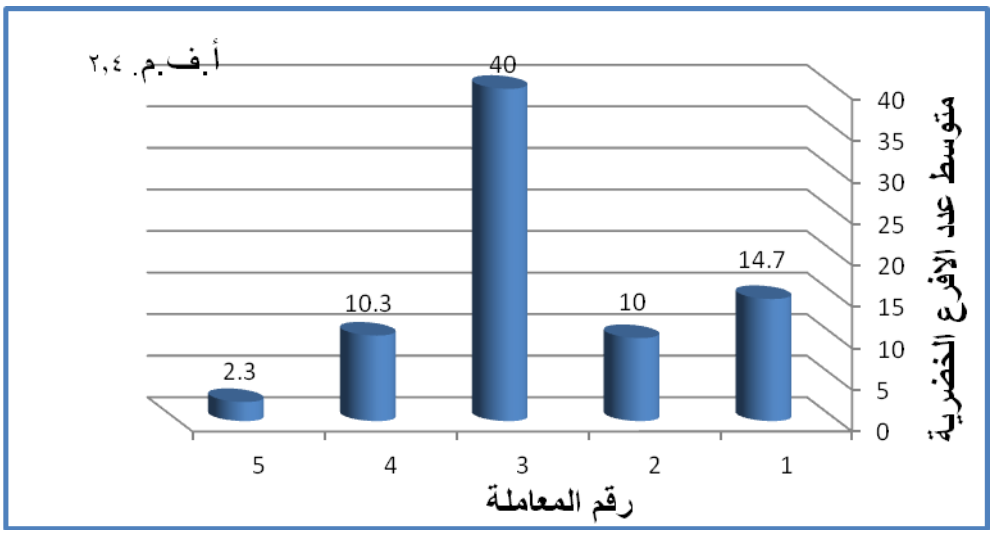
نقل الكالس الاولي بعمر اربعة اشهر والنامي على اوساط مزودة بمنظمات النمو النباتية الى اوساط غذائية مشابهه وخالية من منظمات النمو، وبعد مرور اربعة اشهر من النقل، تطور الكالس الاولي الى كالس عقدي (لوحة 3-1)، وهذه العقد ما هي إلا بادئات للأجنة الخضرية (مطر، 1986)، وبعد مرور شهر من انتاج العقد الجنينية تطورت الى اجنة خضرية (لوحة 3-2) والتي انبتت على ذلك الوسط كما موضح في لوحة (3-3). ان تطور العقد الجنينية الى اجنة خضرية يحدث نتيجة لاستهلاك الاوكسين من قبل خلايا النسيج النامي وبعد نفاذ الاوكسين من الوسط الغذائي يحدث توقف للعقد الجنينية عن الانقسام ومن ثم استطالة الفلقة وظهور الشكل الكروي او الاسطواني للجنين الخضري (Brackpool *et al.*, 1986).



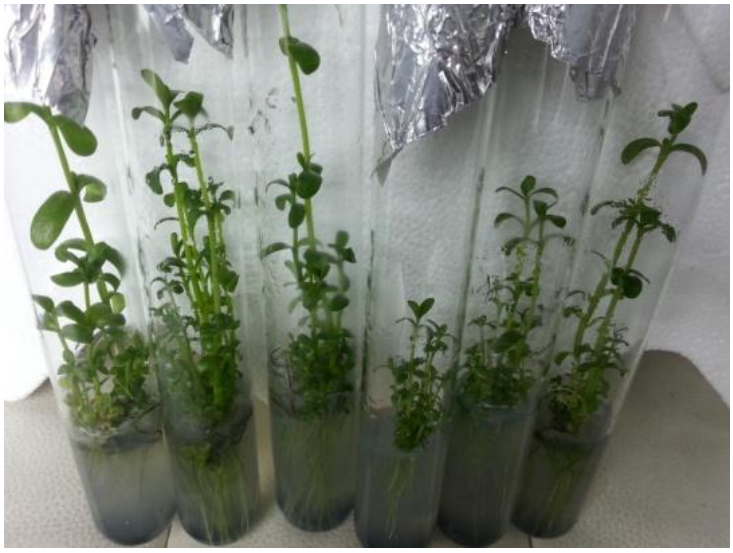
لوحة(3): 1-الكالس العقدي 2-بداية ظهور الاجنة الخضرية 3-انبات الجنين الخضري

2-تأثير السايتوكاينينات في تكون الأفرع الخضرية المباشر

تشير النتائج في الشكل (1) الى تفوق المعاملة 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ BA و 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin وبفارق معنوي على باقي المعاملات في عدد الأفرع الخضرية المتكونة، مسجلةً 40 فرعاً. تلتها في التأثير المعاملة 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ BA مسجلة 14.7 فرعا خضريا مع فارق معنوي مع المعاملات الاخرى في حين بلغ عدد الافرع 10.3 فرعا خضريا في معاملة 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$BA و0.5 ملغم.لتر$^{-1}$Kin و 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$NAA وبلغ معدل عدد الافرع 10 فرعاً في المعاملة 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$Kin، بينما سجلت المقارنة أدنى معدلاً حيث بلغ 2.5 فرعاً، وقد يعزى السبب الى ان تأثير السايتوكاينينات المختلفة في احداث التضاعف الخضري يأتي من خلال دورها في انقسام الخلايا والقضاء على ظاهرة السيادة القمية، اذ يعتقد بان وجود السايتوكاينين كجزء من الحامض النووي الناقل t-RNA وبالقرب من الشفرة المضادة Anti-codon له دور مهم في ربط t-RNA مع m-RNA اثناء تكوين البروتينات اذ ان t-RNA الخالي من سلسلة الـ Isopenteny l الجانبية التابعة للـ Adenine يكون غير فعال وان اضافة الـ BA و Kin تؤدي الى تنشيط RNA (محمد ويونس، 1991)، وهذا بدوره ادى الى التضاعف السريع للأفرع الخضرية لوحة 4. كما توصلت الدراسات الحديثة الى ان السايتوكاينينات تنظم التعبير الجيني على مستوى الاستنساخ Transcription level (Schmulling *et al.*, 1997). اتفقت نتائج الدراسة مع ما توصل اليه عمر وآخرون، 1994 و Liljana *et al.*, 2012 و Bekheet, 2013 في اهمية احتواء الوسط الغذائي علي السايتوكاينينات والخاص بنشوء وتضاعف الافرع الخضرية.



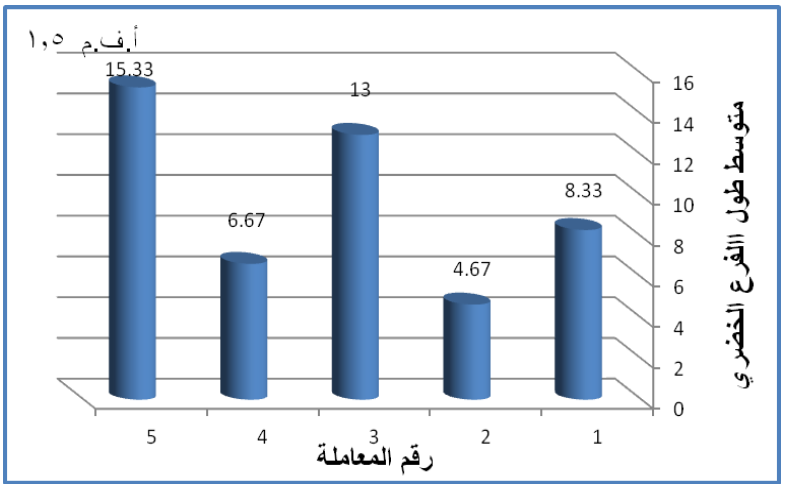
شكل 1: تأثير السايتوكاينينات في متوسط عدد الأفرع الخضرية لنبات بربين الماء



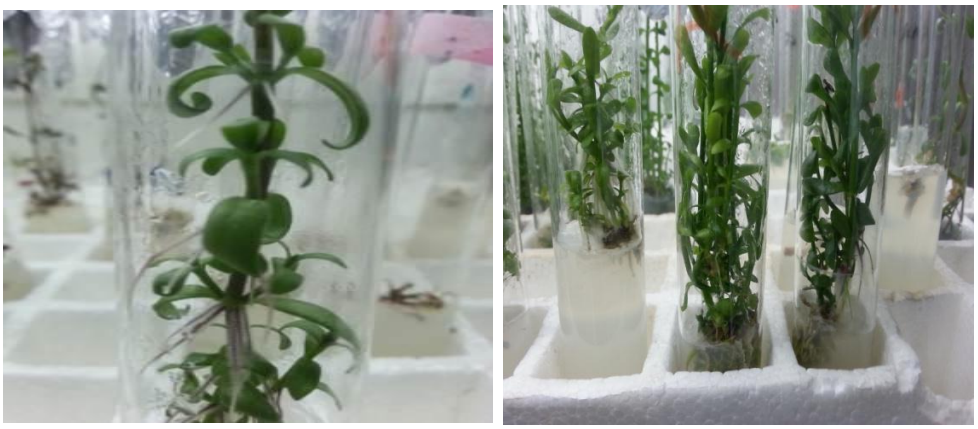
لوحة(4): الافرع الخضرية المباشرة

تشير نتائج الشكل (2) الى تفوق معاملتي المقارنة وتداخل 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ BA مع 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin معنوياً على باقي المعاملات في طول الأفرع الخضرية التي بلغ طول الافرع فيهما 15.33 و13.00 سم على ألتوالي وتلتها في التأثير المعاملات 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$BA و وتداخل 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$BA مع 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ NAA ومعاملة 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin ، اذ بلغ طول الافرع الخضرية فيهما 8.33 و 6.67 و 4.67 سم على ألتوالي وقد يعزى السبب في ذلك الى احتواء نبات بربين الجداول على الهرمونات الطبيعية ومن ضمنها الاوكسينات التي تسبب زيادة انقسام الخلايا وبالتالي زيادة النمو.

سجلت جميع المعاملات فرعاً جانبياً واحداً من كل عقدة عدا معاملة 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ BA و 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ NAA التي أنتجت فرعين من كل عقدة (لوحة 5)، ربما يعود السبب في ذلك الى ان تداخل الأوكسين NAA مع السايتوكاينين BA احدث توازنا لمنظمي النمو داخل انسجة النبات والذي بدوره شجع على استحثاث البراعم من العقد الساقية.



شكل 2: تأثير السايتوكاينينات في متوسط طول الفرع الخضرية لنبات بربين الماء



لوحة(5): ظهور فرعين من كل عقدة لنبات بربين الماء

3- التجذير والأقلمة

بعد وصول الافرع الخضرية الى طول اكثر من 5 سم تقريبا تم نقل تلك الأفرع الخضرية الى وسط غذائي خالي من منظمات النمو النباتية لغرض التجذير، وبعد مرور شهر من زراعتها على ذلك الوسط تم الحصول على نبيتات مجذرة 100% وقد يعود السبب في ذلك الى احتواء النبيتات على منظمات النمو وبصورة طبيعية ومن ضمنها الاوكسينات التي شجعت من ظهور الجذور من قواعد البراعم العرضية او ربما يعزى سبب ذلك الى ان نبات بربين الجداول من النباتات المائية التي تنمو في الأهوار والمستنقعات حيث التركيز العالية من ألمغذيات ولما كانت الأخيرة منخفضة في الأوساط الغذائية فأن النبات يقوم بمد الجذور وتفرعاتها بدرجة كبيرة سعياً وراء العناصر المغذية المفقودة

عند زراعته خارج الجسم الحي، ولهذه الميزة أهمية في استخدام النبات في تجارب معالجة المياه والتربة من التلوث بالعناصر الثقيلة.

تمت عملية الأقلمة داخل المختبر بنجاح باستعمال شمعات فلورسنت (LED) باللونين الأحمر والأزرق من الطيف ألشمسي والتي استخدمت لأول مرة في عملية الاقلمة واثبتت نجاحها، وامتدت عملية الأقلمة أربعة أشهر حتى نقلت النباتات الى المزرعة المائية (لوحة 6).

لوحة (6): أقلمة نباتات بربين الماء داخل المختبر

نستنتج من الدراسة الحالية، ان بالإمكان اكثار نبات بربين الماء نسيجيا عن طريق استحثاث الكالس وتكوين الاجنة الخضرية منه او استحثاث البراعم العرضية غير المباشر من الكالس، وكذلك التكوين المباشر للبراعم الخضرية من البراعم القمية المزروعة بالاعتماد على تركيز منظمات النمو المستخدمة في الاوساط الغذائية واقلمة النبيتات الناتجة، لذا توصي الدراسة بإجراء المزيد من الدراسات لجعل نباتات بربين الماء تتحمل الظروف الملحية العالية المتزايدة في البيئة المائية لجنوب العراق وكذلك جعلها متحملة لظروف الجفاف.

المصادر

الراوي، خاشع محمود و خلف الله، محمد عبدالعزيز (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل 488 صفحة.

عمر، مبشر صالح و جرجيس، ميسر مجيد و الراوي، عادل رفيق (1994). انتاج تقاوي البطاطا محليا 1- انتاج تقاوي البطاطا الاساس باستخدام زراعة المرستيم القمي. مجلة اباء للابحاث الزراعية –المجلد 4، العدد 1.

محمد، عبدالمطلب سيد وعمر، مبشر صالح (1990). المفاهيم الرئيسية في زراعة الخلايا والاعضاء للنبات، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، مطبعة الموصل العراق.

المعري، خليل وجيه (1995). اكثار نخيل التمر بوساطة تقنية زراعة الانسجة النباتية، جامعة دمشق، كلية الزراعة، سوريا 1995.

محسن، خيون علي (2013). تاثير السكروز وPEG وABA في الاسراع من بلوغ الاجنة الخضرية وانباتها واقلمة النبيتات الناتجة منها لصنفي النخيل البرحي والنيرسي. اطروحة دكتوراه، قسم البستنة وهندسة الحدائق كلية الزراعة جامعة البصرة، العراق.

محمد، عبد العظيم كاظم و يونس، مؤيد احمد (1991). اساسيات فسيولوجيا النبات، الجزء الثالث دار الحكمة للطباعة والنشر.

Bharti N, Yadav D, Barnawal D, Maji D, Kalra A (2013) Exiguo bacterium oxido tolerans, a halotolerant plant growth promoting rhizobacteria, improves yield and content of secondary metabolites in Bacopa monnieri (L.) Pennell under primary and secondary salt stress. World J Micro bioliotechnol 29: 379-388.

Brackpool, A.; Branton, R. and Black, J. (1986). Regeneration in palms (chapter 10) culture and somatic cell genetic of plants, academic press, inc., 3: 207-222.

Bekheet,S. (2013). Direct Organogenesis of Date Palm (Phoenix dactylifera L.) for propagation of tru to type plant. Sci. Agri. 4(3): 85-92.

Binita, B.; Ashok, D. and Yogesh, J. (2005). Bacopa monnieri (L) Pennell: A rapid, efficient and cost effective micro propagation. Plant Tissue Cult Biotech 15(2): 167-175.

El-Hammady, A. M.; Wanas, W. H.; Abo-rawash, M. and Awad, A. A. (1999). Regeneration of date palm sewy cv. Plantlets by somatic embryogenesis through callus with refrence to the genetic stability. In: Pro. The int. Conf. Date palm, Nov. 1999. Assiut Univ. Egypt.pp:117-131.

Jasim, A. M. (2000). Production of somatic embryos of date palms (phoenix dactylifera L.) in in vitro by liquid media culture. J. Basra researchs, Vol.24, part 1, 1-6.

Khaliel, A.; Shine, K. and Vijayakumar, K. (2005) Salt tolerance a mycorrhization of *Bacopa monneiri* grown under sodium chloride saline conditions. Afri. J. Micro. Res., 5(15): 2034-2040.

Liligana, K. G.; Sasa, M. ; Trajkova, F. and Llivski, M. (2012). Micropropagation of potato Solanum tuberosum L. Electronic Journal of Biology 8(3): 45-49.

Murashige ,T. and Skoog , F. (1962). Arevised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physi. Plantarum 15: 473-497.

Schmulling, T.; Schafers, S. and Romonov, G. (1997). Cytokinins as regulators of gene expression. Physio. Plant 100(3): 505.

Naik, P.; Patil, B.; Jaggal, L. and Jangid, V. (2013).The Effect of Subculture on the Bacoside A Content in Adventitious Shoot Cultures of *Bacopa monnieri*(L) Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical, 4(4): pp 111.

Tisserat, B. and Zaid, A. (1983). *In vitro* shoot-tip differentiation in *phoenix dactylifera* L. Date Palm J. 2(2): 163-182.

Tiwari, V.; Tiwari, K. and Singh, B. (2001). Comparative studies of cytokinins on in vitro propagation of Bacopamonniera. Plant Cell, Tissue Organ Cult 66: 9–16

Propagation of water hyssop (*Bacopa monnieri* L.) in vitro

Haleemah J. Al-Aradi, *Ansam M. S. *Khaun A. M. Jihad M. Al-Zewar

Biological Development of Shatt Al-Arab & N. Arabian Gulf Departmen – Marine Science Center –University of Basra, Basra,Iraq
*Date Palm Research Center – University of Basra, Basra, Iraq

Abstract

The study aimed to examine the ability of propagation of water hyssop *Bacopa monnieri* L. in vitro. To induce callus, two auxin , NAA and 2,4-D are used. They showed the highest percentage of 93% callus induction when 1.5 mg .l $^{-1}$ was used for both. The induced callus was distinguished by its white compact color containing a lot of nodes. After that another treatment with 3 mg . l $^{-1}$ 2,4-D was conducted to score 85% , the callus was compact yellow. The treatment by 3 mg/l $^{-1}$ NAA scored 53%. The callus was yellow and soft, where as the callus was not induced by hormones free treatment. The effect of cytokines on the formation of vegetative buds was also examined in this study. The results showed that the interaction between treatment by (0.5 mg .l $^{-1}$) of BA and (0.5 mg.l $^{-1}$) KN was significantly increased in the number of the vegetative buds; the number was 40 vegetative buds. Then another treatment followed (0.5 mg . l $^{-1}$) BA, the interaction of (0.5 mg.l $^{-1}$) BA, KN and NAA and (0.5 mg. l $^{-1}$) of KN to form (14.7, 10.3, 10.0) vegetative buds respectively. The control treatment scored 2.5 vegetative buds to show a significant increase in the length of the vegetative buds (15.33 cm) followed by the treatment of the interaction between (0.5 mg .l $^{-1}$) BA and KN to score (13.00 cm) and the treatment of (0.5 mg.l $^{-1}$) BA , (8.33 cm). The interaction between (0.5 mg. l^{-1}) of BA, KN and NAA, (6.67 cm). The length of the vegetative buds was (4.67 cm) in the treatment by (0.5 mg.l $^{-1}$) KN. The plants were acclimatized then transformed into the water field successfully.

Key words: *Bacopa monnieri*, micro propagation, plant growth regulators