ISSN: 2790-5306 (Print), 2790-5314(Online)
مجلة الزراعة العراقية البحثية - وزارة الزراعة
متاح على الانترنت: www.ijarmoa.gov.iq
مجلد29 العدد (1) 2025
IJAR
IRAQI JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH

تأثير منظمات النمو BA وKin على استحداث تكوين الكالس في نبات اكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* خارج الجسم الحي

نبراس مهدي صالح[1]

E-mail: nbrasnb9@gmail.com

© 2025 Office of Agricultural Research, Ministry of Agriculture. This is an open-access article under the CC by Licenses http://creativecommons.org/licenses/by/4.0

الملخص

استخدمت تقنية الزراعة النسيجية لغرض اكثار نبات اكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* L. من خلال بدء استحداث الكالس وتكوينه وادامته من اجزاء العقد المفردة. اشتملت التجارب على استخدام نوعين من التعقيم كلوريد االزئبق ($HgCL_2$) بتركيز(0.1 و0.06%) ومدة تعقيم 15 و10 دقائق وهايبوكلورات الصوديوم (NaOCl) بتركيز(10%) ومدة تعقيم (10 و15) دقيقة وزرعت في الوسط الغذائي MS. كما درس تأثير اضافة BA وKinبالتراكيز(0.0، 0.5، 1.0، 2.0) ملغم.لتر$^{-1}$ لاستحداث الكالس واختبر تأثير تداخل بين BA بتركيز (1.0) ملغم.لتر$^{-1}$ وKin بتركيز (2.0) ملغم.لتر$^{-1}$ + (1.5، 2.0) ملغم.لتر$^{-1}$ 2,4-D في اعادة زراعة الكالس وادامته. اظهرت النتائج ان لنوع المادة المستعملة في التعقيم تأثير كبير في الحد من نسبة تلوث الجزء النباتي المزروع خارج الجسم الحي، اذ إدى استعمال هايبوكلورات الصوديوم (NaOCl) بتركيز(10%) حجم/حجم ولمدة 15 دقيقة كان فعالاً في خفض نسبة التلوث الى ادنى حد، أذ بلغت نسبة البقاء في الجزء النباتي المزروع والمعقم بهذه المادة 85 %. وبينت النتائج ان اعلى نسبة مئوية ومعدل وزن طري لاستحداث الكالس قيمة بلغت 80% و 4.56 غم عند الوسط المدعم بتركيز(1.0)ملغم.لتر$^{-1}$ BA، في حين حققت نسبة استجابة ومعدل وزناً طرياً قيمة بلغت 60% و 3.82 غم عند الوسط المزود بتركيز 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin، في حين لم تسجل معاملة المقارنة اي معدل استجابة ومعدل وزن طري للكالس المستحدث. اما عن تأثير تداخل الوسط الغذائي المزود بتركيز (1.0) ملغم.لتر$^{-1}$ BA + (2.0) ملغم.لتر$^{-1}$ 2,4-D فقد سجلت اعلى وزن طري بلغ 7.35 غم، إذ تفوقت معنوياً عن معاملة التداخل بين (2.0)ملغم.لتر$^{-1}$ Kin+(2.0) ملغم.لتر$^{-1}$ 2,4-D معدل وزن رطب مقداره5.37 غم على التوالي.

الكلمات الدالة: استحداث الكالس، منظمات النمو، اكليل الجبل

المقدمة

يوصف نبات اكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* L. بانه نبات عشبي معمر دائم الخضرة ينتمي الى العائلة الشفوية Lamiaceae موطنه الاصلي حوض البحر الابيض المتوسط وقد تمت زراعته في مناطق مختلفة من العالم [14]. اوراقها

[1]مديرية التربية في محافظة ديالى، ديالى، العراق.

- **تاريخ تسلم البحث:** 11/كانون اول/2024.
- **تاريخ قبول البحث:** 7/نيسان/2025.
- **متاح على الانترنت:** 30/حزيران/2025.

ابرية خضراء داكنة في سطحها العلوي وبيضاء فضية او رمادية في سطحها السفلي ناعمة الملمس لوجود شعيرات كثيفة وقصيرة تشبه الابر غزيرة على سطحها تمتاز بعدم احتوئها على عنق، اما الازهار انبوبية الشكل ذات لون ازرق داكن نادراً ما تكون بيضاء او وردية ، الاسم العلمي لـ *officinalis* كلمة لاتينية تعني طبي مما يدل على ان النبات قد استخدم لاغراض طبية [16,11]. ويمكن تسمية *Rosmarinus officinalis* ايضا بأكليل الجبل او الرجل العجوز او ما يعرف بعشبة البوصلة، فضلاً عن ذلك يسمى حصا البان حشيشة العرب وهناك اسماء اقل تداولاً مثل اكليل النفساء او ندى البحر المخزني او نبات الحور [20]. يكون الزيت العطري سائلاً عديم اللون تقريباً اي اصفر باهت وله رائحة منعشة وممتعة ومتميزة، إذ يستخدم على نطاق واسع في صناعة العطور عالية الجودة ومستحضرات التجميل والصابون والكريمات وفي الصناعات الدوائية نظراً لاحتواء النبات على مركب camphene، فقد اثبتت الدراسات إمكان استخدامه مضادا للاكسدة والميكروبات فضلاً عن اعطائه النكهة المميزة للاطعمة [31]. كما يستخدم اكليل الجبل في معالجة الاغذية كمادة حافظة، فهو مادة لعلاج امراض الجهاز الهضمي والتي لها تأثير كبير في حالات التشنج المختلفة مثل المغص الكلوي والصفراوي ويحفز عمل المرارة والعضلات الملساء في الجهاز الهضمي [24,19]. تم اجراء العديد من الدراسات الدوائية، إذ اشارت الدراسات الى ان نبات *Rosmarinus officinalis* L. قد يكون له امكانات علاجية عالية في امراض الامعاء الالتهابية [27]. من المفيد ايجاد طريقة للتكاثر السلالي السريع عن طريق زراعة انسجة بعض اجزاء النباتات مثل العقد المفردة والجذور والاوراق لاستحداث الكالس على نطاق واسع لانتاج نباتات خالية من المسببات المرضية والمشابهه للنبات الام وراثياً على مدار السنة [17]. إذ يعد الكالس كتلة من الخلايا البارنكيمية غير المنتظمة الشكل تنشأ الخلايا المرستيمية من مناطق القطع والجروح التي تحدث للاجزاء النباتية على مكونات الوسط الغذائي ومصدر الجزء النباتي المستخدم، إذ بالامكان الحصول على مظاهر مختلفة للكالس، قد يكون صلباً او هشاً يبدو احياناً ذا لون لون اصفرمخضر او ابيض اعتمادا على نوع النبات[18].من خلال تحفيز مواد النمو الداخلية او عن طريق اضافة منظمات نمو خارجية كالاوكسينات والسايتوكاينينات الى وسط المغذيات فيتم تحفيز انقسام الخلايا ونموها وتمايز الانسجة على النباتات الطبية المزروعة في المختبر[26]. نظراً لمحدودية الدراسات السابقة بخصوص الزراعة النسيجية لنبات اكليل الجبل يهدف هذا البحث الى تقويم كفاءة انواع مختلفة من محاليل التعقيم (مثل هيبوكلوريت الصوديوم وكلوريد الزئبق) في تعقيم اجزاء العقد المفردة، ودراسة تأثير مدة التعقيم وتركيز محاليل التعقيم في حيوية الاجزاء النباتية (نسب البقاء) ونسبة التلوث تحديد التوليفة المثلى للوسط الغذائي من منظمات النمو النباتية لتحقيق اعلى نسبة استحداث للكالس.

المواد وطرائق البحث

موقع الدراسة ومصدر الاجزاء النباتية

أجريت هذه الدراسة في مختبر بحوث زراعة الانسجة النباتية كلية التربية للعلوم الصرفة جامعة ديالى في عامي 2023-2022، إذ تم الحصول على النباتات من الاسواق المحلية في مدينة بعقوبة، وذلك بأختيار اجزاء نباتية من العقد المفردة من نبات اكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* L. ذات ازهار بيضاء او ارجوانية او زرقاء الاوراق التي تبدو وكأنها ابر تظهر في نورات زهرية. ثم استخدم الوسط الغذائي MS الموصى به من قبل Murashige and Skoog [25] الحاوي على المغذيات الكبرى والدقيقة والمدعم بالفيتامينات والكلايسين وبوزن 4.43 غم لتر$^{-1}$ واضيف 30 غم من السكروز واضيفت منظمات النمو النباتية بعد ان تم تحضيرها كمحاليل اساس حسب نوع التجربة، ثم عدلت الدالة الهيدروجينية pH الى 5.8+ 0.1 وذلك بأضافة واحد عياري من هيدروكسيد الصوديوم NaOH او حامض الهيدروكلوريك HCl، ثم اكمل الحجم الى لتر واضيف اكار من نوع (Agar-Agar) 8 غم.لتر$^{-1}$ الى الوسط، ولغرض تجانس المكونات وذوبان الاكار سخن الوسط الغذائي باستخدام جهاز التسخين الهزاز Hot plate magnetic stirrer لحين التجانس ووزع في انابيب الزراعة، ثم عقمت بجهاز المؤصدة Autoclave على درجة

حرارة 121مْ وتحت ضغط 104 كغم/سم^2 لمدة 20 دقيقة، ثم نقلت المزروعات الى غرفة النمو تحت شدة اضاءة 1000 لوكس ومدة 16 ساعة/ ضوء و8 ساعات ظلام يومياً مجهزة من انابيب الفلورسنت وبدرجة حرارة 25+2مْ.

تكوين الكالس ونموه

تأثير معاملات التعقيم في معدل بقاء وتلوث الاجزاء النباتية

تم استئصال العقد المفردة الناضجة بطول من 1.0-1.25سم، وتم وضعها تحت الماء الجاري لمدة 30 دقيقة، ثم بمحلول ديتول (3%) لمدة 40 دقيقة وغسلها تحت الماء الجاري لمدة ساعة. بعد ذلك نُقلت الاجزاء النباتية الى كابينة انسياب الهواء الطبقي وجرى تعقيمها بغمر العقد المفردة في الايثانول (70%) لمدة دقيقة [21]. ثم بعد ذلك تم تعقيمها باحدى محاليل التعقيم وعلى النحو التالي:

-كلوريد الزئبق نسبة 0.1 و0.06 % لمدة 15 و10 دقائق.

-هايبوكلورات الصوديوم (كلوركس) نسبة 10% لمدة 10 و 15 دقيقة.

مع اضافة قطرة او قطرتين من tween 20، ثم جرى غسلها بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات. بعدها قطعت اطراف العقدة مفردة لازالة الانسجة المتأثرة في محلول التعقيم. ثم زراعتها في مختبر زراعة الانسجة لمدة اربعة اسابيع في وسط MS المعقم لبدء زراعة الكالس في نهاية الحضانة لمدة (اربعة اسابيع) لكل معاملة تطهير [13]، تم تسجيل القياسات التالية 1-نسبة التلوث (%)، نسبة البقاء على قيد الحياة (%) واحتوت كل معاملة على خمس مكررات و10 عينات لكل مكرر.

بدء تكون الكالس من اجزاء العقد المفردة

تأثير BA في نشوء الكالس وتحفيزه

زرعت العقد المفردة لنبات اكليل الجبل .*Rosmarinus officinalis* L على الوسط الغذائي MS مزود بتراكيز مختلفة من BA (0.0، 0.5، 1.0، 2.0) ملغم.لتر$^{-1}$[11] ثم حضنت المزروعات في غرفة النمو تحت شدة اضاءة 1000 لوكس ومدة 16 ساعة/ ضوء و8 ساعات ظلام يومياً مجهزة من انابيب الفلورسنت وبدرجة حرارة 25+2مْ. وبعد اربعة اسابيع من الزراعة تم تقويم كل من نسبة استجابة الجزء النباتي لتكوين الكالس والوزن الطري للكالس النامي من خلال:

$$\text{النسبة المئوية لاستحثاث الكالس \%} = \frac{\text{عدد النبتات المكونة للكالس}}{\text{العدد الكلي للأجزاء المزروعة}} \times 100\%$$

قيس الوزن الطري للكالس (ملغم) بعد اربعة اسابيع من الزراعة باستخدام ميزان حساس، إذ استخرجت قطع الكالس الطري ووضعت على ورق ترشيح وازيلت بقايا الوسط الغذائي الملتصقة بالكالس باستخدام الشفرة الجراحية وحسب الوزن الطري للكالس[4].

تأثير Kin في نشوء الكالس وتحفيزه

زرعت العقد المفردة لنبات اكليل الجبل .*Rosmarinus officinalis* L على الوسط الغذائي MS المزود بتراكيز مختلفة من Kin (0.0، 0.5، 1.0، 2.0) ملغم.لتر $^{-1}$ [8]. ثم حضنت المزروعات غرفة النمو تحت شدة اضاءة 1000 لوكس ومدة 16 ساعة/ ضوء و8 ساعات ظلام يومياً مجهزة من انابيب الفلورسنت وبدرجة حرارة 25+2مْ.وبعد اربعة اسابيع من الزراعة. تم تقويم كل من نسبة استجابة الجزء النباتي لتكوين الكالس والوزن الطري للكالس النامي من خلال ما ذكره Alhasan [4].

أدامة الكالس

بعد تحفيز تكوين الكالس من اجزاء العقد المفردة لنبات اكليل الجبل .*Rosmarinus officinalis* L تم تقطيع الكالس الى اجزاء بوزن 1 غم وزراعتها مرة اخرى على وسط الادامة[30]، المتكون مـــن وسط MS الصلب المـــدعم بتراكيزات

D-2,4 (1.5، 2.0ملغم.لتر$^{-1}$) بالتزامن مع التركيز الامثل لكل من BA (1.0 ملغم.لتر$^{-1}$) وKin (2.0 ملغم .لتر$^{-1}$). زرعت الاجزاء في قناني زجاجية حجم 100 مل وتم حفظ المزروعات تحت الظروف نفسها المشار اليها سابقا قدر الوزن الطري للكالس النامي على اوساط الادامة بعد اربعة اسابيع من اعادة الزراعة باستخدام ميزان حساس.

التحليل الاحصائي

استخدام في هذه الدراسة، التصميم العشوائي الكامل Complete Randomized Design (CRD) لتحليل البيانات. وقد تم اجراء تحليل التباين (ANOVA) باستخدام برنامج MSTAT وتمت مقارنة المتوسطات باستخدام اختبار دنكن متعدد الحدود (DMRT) عند مستوى معنوية 1%[10].

النتائج والمناقشة

تأثير معاملات التعقيم في معدل بقاء وتلوث الاجزاء النباتية

بينت النتائج في جدول 1 ان اعلى نسبة تلوث سجلت (80%) عند استخدام كلوريد الزئبق لمدة 15 دقيقة عند التركيز 0.1 % بينما تم الكشف الى ادنى نسبة تلوث وصلت الى 15% عند استخدام هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 10% لمدة 15 دقيقة. اما مدة البقاء فقد اشارت البيانات الى ان اعلى نسبة بقاء كانت (85%) سجلت عند هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 10% لمدة 15 دقيقة ثم انخفضت الى ادنى نسبة بقاء بلغت 20 % عند كلوريد الزئبق بتركيز0.1% لمدة 15 دقيقة. كما موضح في جدول1 ان بقاء العقد المفردة قد ارتفع من 65% الى 85% عند زيادة مدة التعقيم لهايبوكلورات الصوديوم.

Table 1: Effect of sterilization treatments on the retention and contamination rate of single-nodule cultures of *Rosmarinus officinalis* L.

Retention (%)	Contamination %)	Duration(min)	Concentration (%)	Treatments
20	80	15	0.1	**$HgCl_2$**
45	55	10	0.06	**$HgCl_2$**
65	35	10	10	**NaOCl**
85	15	15	10	**NaOCl**

استحداث الكالس من اجزاء العقد المفردة

تأثير BA في نشوء الكالس وتحفيزه

يوضح جدول 2 تأثير BA في نشوء الكالس وتكوينه من زراعة العقد المفردة لنبات اكليل الجبل، إذ اوضحت النتائج ان اعلى نسبة مئوية بلغت 80% على وسط MS المزود بتركيز 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ BA، في حين تراوحت نسبة استحداث الكالس للعقد المفردة بين 30–40% في الوسط المدعم بـ 0.5 و2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ BA، في حين لم تظهر معاملة المقارنة الخالية من منظمات النمو أية استجابة لاستحداث الكالس. وتظهر نتائج جدول 2 ان اضافة BA في الوسط الغذائي المدعم بتركيز 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ قد ادت الى زيادة معنوية في صفة الوزن الطري للكالس المستحدث، فقد سجل اعلى قيمة بلغت 4.56 غم وانخفض الى 1.30 غم و 1.35 غم عند زراعتها على وسط MS المزود بـ 0.5 و2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ BA اي معدل للوزن الطري اتصف الكالس المستحدث من العقد المفردة بلونه الاصفر المخضر وقوامه الصلب (شكل 1) على التوالي.

Table 2: Effect of different concentration of BA on the percentage response and fresh weight of callus produced from single nodes of *Rosmarinus officinalis* L.

Callus formed	Average fresh weight g	Response rate (%)	Concentration BA ($mg.l^{-1}$)
-	c 0	c 0	**0.0**
++	b 1.30	b 30	**0.5**
+++	a 4.56	a 80	**1.0**
++	b 1.35	b 40	**2.0**

Numbers with similar letters within the same column do not differ from each other according to Duncan test at probability level 1% - No callus formed + average callus with a diameter of 1cm +++ good callus with a diameter of 1.5-2

Figure 1: Callus formed from single nodules of BA rosette at a concentration of 1.0 $mg.l^{-1}$ *Rosmarinus officinalis* L.

تأثير Kin في نشوء الكالس وتحفيزه

واظهرت نتائج جدول 2 ان افضل نسبة استحداث حصلت 60% عند التركيز 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin وتراوحت نسبة استحداث الكالس بين 35-45% في الوسط المزود بتركيز 0.5 و1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin في حين لم تظهر معاملة المقارنة الخالية من منظمات النمو أية استجابة لاستحداث الكالس.

Table 3: Effect of different concentrations of Kin on the percentage response and fresh weight of callus produced from single nodes of *Rosmarinus officinalis* L.

Callus formed	Average fresh weight g	Response rate (%)	Concentration Kin ($mg.l^{-1}$)
-	0 c	0 c	**0.0**
++	b 1.45	b 35	**0.5**
++	b 1.52	b 45	**1.5**
+++	a 3.82	a 60	**2.0**

Numbers with similar letters within the same column do not differ from each other according to Duncan test at probability level 1% - No callus formed + average callus with a diameter of 1cm +++ good callus with a diameter of 1.5-2 cm.

ويظهر التحليل الاحصائي ان معاملة التركيز 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin اعطت معدلاً للوزن الطري بلغ 3.82غم، اما المعاملتان 0.5 و1.0 ملغم.لتر فق$^{-1}$ Kin فقد أعطت معدلاً للوزن الطري بلغا 1.45 و1.52 غم، في حين لم تسجل معاملة المقارنة. اتصف الكالس المستحدث من العقد المفردة بلونه الاصفر (شكل2).

Figure 2: Callus formed from single nodules of Kin rosette at a concentration of 2.0 mg.l^{-1} *Rosmarinus officinalis* L.

تظهر النتائج في جدول 4 ان معاملة التداخل بين تركيز 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ BA+ 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ 2,4-D تفوقت معنوياً في التأثير في الوزن الرطب للكالس المستحدث من زراعة العقد المفردة فقد سجلت قيمة بلغت7.35 غم وبفارق معنوي سجل التداخل بين معاملة1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ BA + 1.5ملغم.لتر$^{-1}$ 2,4-D وزنا رطبا مقداره4.62غم . في حين بينت النتائج ان اعلى معدلاً للوزن الطري بلغ 5.37غم عند معاملة التداخل بين 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin + 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ 2.4-D، بينما سجلت معاملة التداخل بين 2.0ملغم.لتر$^{-1}$Kin + 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ 2.4-D معدلاً للوزن الطري بلغ 3.45 غم على التوالي. امتاز الكالس المستحدث بلونه الاخضر المصفر (شكل 3 A، B).

Table 4: Effect of BA and Kin interaction with 2,4-D on the maintenance of fresh weight of induced callus cultures Callus from single node parts of *Rosmarinus officinal* L.

Vegetative part of a single nodes	Growth regulator concentrate mg.l^{-1}	Concentration 2,4-D mg.l^{-1}
b 4.62	**1.0 BA**	**1.5 +**
a 7.35	**1.0 BA**	**2.0 +**
b 3.45	**2.0 Kin**	**1.5 +**
a 5.37	**2.0 Kin**	**2.0 +**

Numbers with similar letters within the same column do not differ from each other according to Duncan test at a probability level 1%

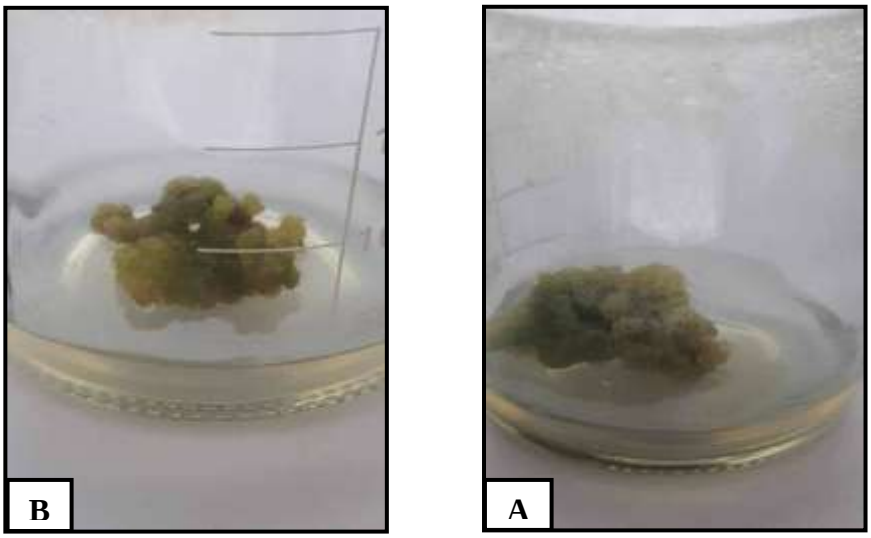

Figure 3: A- Effect of 2,4-D interference at a concentration of 2.0 mg.l^{-1} + BA at a concentration of 1.0 mg.l^{-1} single nodes. B- Effect of 2,4-D interference at a concentration of 2.0 mg.l^{-1} + Kin at a concentration of 2.0 mg.l^{-1} in replanting callus from single node parts of *Rosmarinus officinalis* L. on MS solid medium

واجهت في هذه الدراسة اجزاء العقد المفردة لنبات اكليل الجبل*Rosmarinus officinalis* L. تحديات في التعقيم، وذلك بسبب وجود شعيرات وبر غزيرة على سطحي الساق والاوراق. على الرغم من ان الدراسات السابقة [2] اشارت الى اهمية عوامل متعددة في نجاح التعقيم، مثل نوع مادة التعقيم المستخدمة، ومصدر الجزء النباتي، ونوعه، والمحتوى الهرموني الداخلي، بالاضافة الى منظمات النمو المضافة الى الاوساط الغذائية، الا ان استخدام محلول كلوريد الزئبق في هذه الدراسة لم يكن فعالاً. إذ ادت التراكيزات المرتفعة منه الى تلف الانسجة، وقد يعزى ذلك الى تأثيره الضار في الطبقة الدهنية، مما تسبب في موت الخلايا [28]. وعلى الرغم من صعوبة تحقيق نسبة تعقيم 100% باستخدام محلول هايبوكلورات الصوديوم NaOCl، إلا ان النتائج اظهرت انه الاكثر كفاءة في ازالة الملوثات والحصول على نباتات حية، إذ لم تلاحظ اي اضرار للأجزاء النباتية المعاملة به. سواء أكانت بتركيزات مرتفعة أم منخفضة، وبلغت اعلى نسبة تعقيم 85%، وهذا يتفق مع ما ذكره Sateesh [29] بخصوص اهمية هايبوكوريت الصوديوم وكلوريد الزئبق في تعقيم الاجزاء النباتية، إذ حيث اشار الى ان زيادة مدة التعقيم والتركيز قد يؤدي الى انخفاض معدلاً للبقاء على قيد الحياة، وأن تكرار التجربة ضروري لتحقيق اقصى معدل بقاء مع الحد الادنى من التلوث. وقد استخدم العديد من الباحثين محلول هايبوكلوريت الصوديوم للتعقيم السطحي لاجزاء النبات بنجاح [32]، إذ يمكن ان يكون التركيز العالي منه فعالاً في تعقيم الاجزاء النباتية المزروعة في المختبر. وتتأثر معدلات ازالة التلوث من نباتات اكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* L. في معالجات التعقيم المختلفة المختارة في التجارب، وهذا يتوافق مع ما تمت مراجعته سابقاً من قبل العديد من الباحثين بخصوص تأثير انواع المواد المطهرة فقد لاحظ Awad [12] ان تعريض نباتات اكليل الجبل لـ 0.5 % من هايبوكلوريت الصوديوم NaOCl ادى الى اعلى نسبة تلوث. وبين Al-Masoody [8] أن تعريض عينات قرصية من اوراق نبات اكليل الجبل الى هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز 0.75% لاطول مدة تعقيم 15 دقيقة ادى الى اعلى معدلاً للبقاء 96.4%. وفي اشارة الى تأثير مدة التعقيم لاحظ [4] Al-hasan ان تعريض عينات القمم النامية والبراعم الجانبية لنبات اكليل الجبل لهايبوكلوريت الصوديوم NaOCL بتركيز2% لمدة 15 دقيقة ادى الى افضل بقاء. واظهرت الدراسات السابقة لنباتات من العائلة الشفوية ان تعقيم سطح بذور النعناع البري

Mentha .pulegium بتركيز1.5% من هيبوكلوريت الصوديوم لمدة 7 دقائق ادى الى افضل نسبة بقاء للبذور[15]. وفي دراسة اخرى افاد Islam and Alam [23] ان تعقيم عينات نبات النعناع Mentha piperita لكلوريد الزئبق بنسبة 0.1% ومدة تعقيم (3-5) دقيقة ادى الى الحصول على نباتات جيدة للبقاء. في حين اشار Akram *et. al.* [3] ان تعقيم سطح بذور الزعتر Thymus vulgaris L. بتركيز1.5 من هيبوكلوريت الصوديوم لمدة 20 دقيقة.

يعود نجاح العقد المفردة في استجابتها لاستحداث الكالس لاسيما في الاوساط المحتوية على BA وKin الى اختلاف المحتوى الداخلي للهرمونات النباتية والفيتامينات والتركيب الوراثي للخلايا النباتية والاضافة الخارجية لمنظمات النمو بالتراكيز المناسبة الى الاوساط الغذائية [9]. وفقاً للنتائج المذكورة آنفاً تنقسم عملية تكوين الكالس من الجزء النباتي الى ثلاث مراحل نمو الحث وانقسام الخلايا، ويعتمد طول هذه المراحل بشكل أساس على الاختلافات الفسيولوجية في نسبة الاستجابة ومنظمات نمو النبات يعود الى تأثير تراكيز BA الى الوسط الغذائي في العقد المفردة لنمو اكليل الجبل وبالتالي تشجع نمو البراعم الجانبية [6]. يعزى تأثير Kin في احداث استجابة ضعيفة للعقد المفردة ذلك الى اختلال التوازن الهرموني للجزء النباتي بسبب ارتفاع تراكيز Kin المضافة الى الوسط الغذائي، وبالتالي أدت نتيجته الى احداث اضطراب في العمليات الحيوية لخلايا النسيج النباتي، إذ تزداد الاستجابة بزيادة التراكيز حتى تصل الى الحد الأمثل لحدوث التوازن الهرموني الذي أدى الى تنشيط عملية الخلايا ونموها، وبهذا فأن بزيادة التراكيز سببت تناقصاً في معدل الاستجابة للنمو وهذا لا يعني موت الخلية دائما وانما يكون ناتجا من التثبيط الهرموني [5]، إذ يعد الوزن الطري احد اهم المقاييس البايولوجية لنمو الكتلة الحيوية لخلايا الكالس المستحدث، اذ تؤدي منظمات النمو عملاً مهماً بتأثيره المباشر في بناء الحوامض النووية وبناء البروتينات من خلال تحفيزها في بناء الانزيمات [26].

ان تأثير تداخل الاوكسين مع السايتوكاينين كان واضحاً في زيادة وزن الكالس الرطب على اوساط الادامة المختبرة، ويعود السبب في ذلك ان استحداث الكالس وزيادة كميتها قد يكون ناتجاً عن التوازن الفسيولوجي بين السايتوكاينين والاوكسين واضافة كل منهما الى وسط الزراعة ضرورياً لاستحداثها [7]، إذ يعد 2,4-D من اكثر الاوكسينات نشاطاً وفعالية وتحفيزاً في استحداث الكالس وتكوينها، بينما يعد البنزل ادنين BA من اكثر السايتوكاينينات استخداما بشكل واسع في زراعة الانسجة النباتية ويعود سبب استخدامه الى فعاليته العالية المتأتية من تركيبها الكيميائي وعدد الاواصر المزدوجة في السلسلة الجانبية لاحتوائها ثلاث اواصر وبالتالي زيادة كفاءتها في تحفيز انقسام الخلايا[22].

REFERENCES

1- Abu Kabda, I. B. (2021). Encyclopedia of Herbal Medicine Rosemary. Part Five. P22.

2- Abu Zidei, M.; A. Bennici; S. Schiff; C. Tani and B. Mori (2000). Plant cell Tissueand organ culture, 61(1):69-79.

3- Akram, Z.; R. Farkhonde and S. Abbas (2010). *In vitro* selection for NaCl tolerance in *Thymus vulgaris* L. Journal of cell and Molecular Research, 2(2): 86-92.

4- Al-hasan, A. H. N. (2023). Effect of UV ray and Salicylic acid to increase the formation of active compound in *Rosmarinus officinalis* L. in vitro. Master thesis, College of Agriculture. University of Kerbala.

5- Al-Jawari, M. A. K. (2005). The emergence and multiplication of branches of *Zizyhus spina-christi* Willd, Malasi and Bambawi cultivars in vitro. Master thesis College of Agriculture, University of Baghdad, Iraq.

6- Al-Jibouri, A.A.M.; A. A. Hjairi and Al-Turfey (2002). *In vitro* propagation of three sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) Cultivar. Iraqi Journal of Agricultural Research-Ministry of Agriculture 7(8): 24-33.

7- Al-Maamari, A.; S. Muhmamed; K. B. Bashar and G. Al Iyad (2018). Determination of alkaloid callus in plant Catharanthus roseus L. in vitro. Syrian Journal of Agricultural Research, 5(3):21-36.

8- Al-Masoody, M. M. M. (2015). Effect of Growth Regulators in vitro callus formation of Rosemary plant (*Rosmarinus officinalis* L.) Faculty of Horticulture University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest 72(1): 131-137.

9- Al-Rifai, A. R. and S. A. R. Al-Shoubaki (2002). 21st Century Tissue Culture. Dar Al-Fikr Al-Arabi for Printing and Publishing, First Edition-Caio-Egypt.

10- Al-Sahoki, M. and M. W. Karima (1990). Application in the design and design and anlaysis of experiments Baghdad. University Ministry of Higher Education and Scientific Research

11- Amr, S. and S. Dordevic (2000). The investigation of the quality of sage (salvia officinalis) originating from Jordan. J. Facta Universitatis., 1: 103-1.

12- Awad, A. A. (1993). Studies on the vegetative propagation of guava tree. M. Sc. Thesis, Fac. Agric., Ain Shams Univ.

13- Borkowska, B. (1983). Micropropagation of sour cherry cultivars Schatten morelk. Fruit Sci. Rep., 10: 59-66.

14- Elaheh, D.; K. Elham; K. Danial; R. Ch. Sayed and K. Yasar (2014). Optimization of Callus Induction in Pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) Journal of Applied Biotechnology Reports. 1(3): 97-100.

15- Eva, S. B.; H. T. Maria; H. Attila; R. Csilla and V. Szollosi (2003). Antioxdant Effect of various rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) clones. Acta Biologica szegediensis, 47(1-4):111-113

16- Fahmy, F. J. M. (2003). Tissue Culture Book, Scientific Books House for Publishing and Distribution.

17- George, E. F. and P. D. Sherrington. (2008). Plant propagation by tissue culture Fourth edition. Ltd. England.

18- Gupta, S. D. and Y. IarakI (2006). Plant Tissue Culture Engineering. Vol. 6. The Background. Springer. 469 Pages

19- Halder, D; B. Barik; B. R K. Dasgupta; and Saumendu, D. (2018). Aroma therapy: healing. Indian Research Journal of Pharmacy and Science, 17, 1540-58.

20- Hammad, M. SH; S.M Bader and F. H. Taha; (2007). A study on the propagation of Volkameriana (*Citrus volkameriana* Pasq) Root stock in vitro. Iraqi Journal of Agricultural Research-Ministry of Agriculture. 12 (1) 62-74.

21- Hammer, M. and Junghanns, W. (2020). *Rosmarinus officinalis* L. Rosemary. in Medicinal, Aromatic and Stimulant Plants (pp. 501-521). Springer, Cham.

22- Hussein, E. A; M. S. Aref; and M. M. Ramadan; (2017). Physical elicitation of *Rosmarinus officinalis* L. callus culture for production of antioxidants activity. International Journal of Innovative Sciences, Engineering and Technology. 4 (7): 238-247.

23- Islam, A. T. M. R. and M. F. Alam, (2018). *In vitro* callus induction and indirect organogenesis of *Mentha piperita* L. an aromatic medicinal plant. GSC Biological and Pharmaceutical Sciences, 4(03): 049-060

24- Leena, T. and N. T. Jaindra (2003). Role of biotechnology in medicinal plants. Tropical Journal of Pharma. Res., 2(2):243-253.

25- Minaiyan, M.; A. R. Channadi; M. Afsharipour and P. Mahzouni (2011). Effects of extract and essential Oil of *Rosmarinus officinalis* L. on TNBS- induced colitis in rats, Research in Pharmaceutical Sciences: 6(1):13-21.

26- Mohamed, A.; H. Abdel and R. T. Yahya (2018). Differentiation of white lupine plants Lupinus from the callus of the stems under Al-rafidain Journal of Mesopotamian Sciences 18 (5): 99-102.

27- Murashige, T. and F. Skoog (1962). A revised medium for rapid and bioassays with *Tobacco* tissue culture. Physiol. Plant, 15: 473-497.

28- Pater, M.; E. Salonen; E. Terma; I. Vatlulainen; R .Faller; B .W. Lee; J. Holopainen and M. Kartluren, (2006). Under the Influence of Alcohol: the Effect of Ethanol and Methonol on Lipid Bilayers. Biophysical Journal. 90: 1121-1135.

29- Salih, N. M. (2024). The Effect of Benzyl adenine and Naphthalene Acetic Acid on Callus Generation and Perpetuation in *Momordica charantia* in vitro. Iraqi Journal of Agricultural Research-Ministry of Agriculture 28(1):22-30.

30- Sateesh, M. K. (2003). Biotechnology-5. New Age International Publishers.

31- Zhao, J.; L. Xu; D. Jin; Y. Xin; L. Tian; T. Wang and J. Wang, (2022). Rosmarinic acid and related dietary supplements: Potential applications in the prevention and treatment of cancer. Biomolecules, 12(10):1410.

ISSN: 2790-5306 (Print), 2790-5314 (Online)
IRAQI JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH - Ministry of Agriculture
Available online at: www.ijarmoa.gov.iq
VOL. 29 NO. (1) 2025
IJAR
IRAQI JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH

THE EFFECT OF BA AND KIN GROWTH REGULATORS ON CALLUS INDUCTION IN *Rosmarinus officinalis* L. in vitro

E- mail: nbrasnb9@gmail.com

N. M. Saleh[1]

© 2025 Office of Agricultural Research, Ministry of Agriculture. This is an open-access article under the CC by Licenses http://creativecommons.org/licenses/by/4.0

ABSTRACT

A tissue culture technique was used to micropropagation the *rosemary* plant *Rosmarinus officinalis* L. by initiating callus generation, formation and maintenance from single node parts. The experiments included the use of two types of sterilization, mercuric chloride ($HgCl_2$) at a concentration of (0.1 and 0.06%) and a sterilization period of (15 and 10) minutes and sodium hypochlorite (NaOCl) at a concentration of (10%) and a sterilization period of (10 and 15) minutes and planted in MS nutrient medium. The effect of adding BA and Kin at a concentrations of (0.0, 0.5, 1.0, 2.0) $mg.L^{-1}$ on callus initiation was also studied. The effect of the interaction between BA at a concentrations (1.0) $mg.L^{-1}$ and Kin at concentration (2.0) $mg.L^{-1}$ + (1.5, 2.0) $mg.L^{-1}$ 2,4-D was tested in replanting and maintaining callus. The results showed that the type of material used in sterilization has a significant effect in reducing the percentage of contamination of ex plant grown *in vitro*. The use of sodium hypochlorite (NaOCl) at a concentration of (10%) v\v for 15 minutes, was effective in reducing the percentage of contamination to the lowest level, as the percentage of survival in the planted and sterilized plant part reached this material 85%. The results showed that the highest percentage and fresh weight rate for callus induction value reached 80% and 4.56g in the medium supported with a concentration of (1.0) $mg.L^{-1}$ BA, while the response rate and fresh weight rate achieved a value of 60% and 3.82g in the medium supplied with a concentration of 2.0 $mg.L^{-1}$ Kin while the comparison treatment did not record any fresh weight rate for the induction callus. As for the effect of the interaction of the nutritional medium provided with a concentration of (1.0) $mg.L^{-1}$ BA+ (2.0) $mg.L^{-1}$ 2,4-D the highest fresh weight was recorded reaching7.35g which was significantly superior to the interaction between the treatment between (2.0) $mg.L^{-1}$ Kin+ (2.0) $mg.L^{-1}$ 2,4-D with an average fresh weight of 5.37g respectively.

Keywords: callus induction, growth regulators, *Rosmararinus officinalis*

[1] General Directorate for Education of Diyala, Diyala, Iraq.
➢ **Received:** December 11, 2024.
➢ **Accepted:** April 7, 2025.
➢ **Available online:** June 30, 2025.