# تأثير الاوكسين 2,4-D والسايتوكاينين BA في استحثاث الكالس وتوليد الافرع العرضية وتضاعف الافرع الخضرية من زراعة قطع الالواح لنبات الصبار عيد الميلاد *Schlumbergera russelliana*

أ.م.د. هدى عبد الكريم الطه

صفا محمد حسن

أ.م.د. سميرة عبد الكريم مطرود

قسم البستنة وهندسة الحدائق

كلية الزراعة – جامعة البصرة

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في مختبر زراعة الأنسجة النباتية التابع لكلية الزراعة جامعة البصرة، العراق خلال الفترة ٢٠١٦ – ٢٠١٧ بهدف دراسة تاثير كل من الاوكسين ٢،٤-D والسايتوكاينين BA في استحثاث الكالس وتوليد الافرع العرضية والتضاعف الخضري لنبات الصبار عيد الميلاد Christmas cactus وذلك بزراعة قطع الالواح (Cladodes) في الوسط الغذائي MS ، تشير النتائج الدراسة الى امكانية استحثاث الكالس من زراعة قطع الالواح وبنسبة ١٠٠ % في الوسط الغذائي MS والمزود بالاوكسين ٢،٤-D بتركيز ٣,٠ ملغم . لتر $^{-1}$ مع وجود السايتوكاينين BA بتركيز ٠,٢ ملغم . لتر $^{-1}$ وفي مدة ١٠ – ١٥ يوماً في الظلام وقد تم اعادة زراعة الكالس الاولي في نفس الوسط الغذائي ولمدة ٤ اسابيع اخرى في الظلام . ادى ذلك الى زيادة حجم كتلة الكالس وتحولة الى كالس متماسك مضغوط ، ابيض اللون مع وجود بقع منخورة متلونة باللون البني ، فضلاً عن وجود بقع حمراء متناثرة في نسيج الكالس دلالة على تكون صبغة الانثوسيانين بعد الكشف عنه تحت المجهر الضوئي ، ولم يولد هذا الكالس افرع عرضية عند نقله الى وسط غذائي MS ومزود بالسايتوكاينين BA بتركيز ٥,٠ . لتر $^{-1}$ مع وجود NAA بتركيز ٠,٢ ملغم . لتر $^{-1}$ بعد مرور ٨ اسابيع من الحضانة في الضوء . وقد اظهرت النتائج ايضاً تكون كالس مفكك ، اخضر اللون حول مناطق القطع في الوسط الغذائي MS والمزود بالسايتوكاينين BA بتركيز ٣,٠ ملغم . لتر $^{-1}$ مع وجود ٢،٤-D بتركيز ٠,٢ ملغم . لتر $^{-1}$ وبنسبة ٧٠ % ولمدة ٢٢ –٢٧ يوماً وبنفس الوقت لوحظ تضاعف الافرع الخضرية وتكوين الواح جديدة من قمة و جوانب قطع اللوح ، اضافة الى استمرار نمو الكالس

مخضر اللون مع ظهور جذور اسفل الالواح بعد مرور ٨ اسابيع من الحضانة في الضوء . وعند نقل هذا الكالس الى وسط غذائي MS جديد ومزود بالسايتوكاينين BA بتركيز ٥,٠ ملغم . لتر -١ مع وجود NAA بتركيز ٠,٢ ملغم . لتر -١ ولمدة ٨ اسابيع في الضوء ، لوحظ انه عند الكشف عن كتلة الكالس تحت المجهر الضوئي ظهور الواح صغيرة مستديرة الشكل ، محتوية على اشواك صغيرة الحجم ، وفي نهاية فترة الحضانة تضخمت هذه الالواح مع بروزها فوق اسطح الكالس مكونه افرع عرضية مع وجود كالس مفكك حولها .

الكلمات الدالة : كالس ، افرع عرضية ، تضاعف الافرع الخضرية ، نبات الصبار Cactuc Christmas

---

* البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثاني

**المقدمة**

ينتمي نبات الصبار عيد الميلاد *Schlumbergera russelliana* الى العائلة الصبارية Cactuceae والى الجنس *Schlumbergera* وهي نباتات عصارية يمكنها ان تخزين كميات جيدة من الماء اذ تعتبر صباريات غير حقيقية ، نباتات صغيرة غير مرتفعة ذات سيقان غير ورقية خضراء وهي تعمل كأعضاء للتمثيل الضوئي ، وهذه السيقان تتكون من قطع مسطحة تسمى الواح (Cladodes )، تحتوي على عدد قليل من الاشواك على طول حافتها ، طول كل قطعة ١,٠ – ٣,٨ سم وعرضها ٠,٢ – ٠,٨ سم McMillan and Horobin ، ١٩٩٥ ) ) .

تتميز سيقان هذه النباتات بالاستدارة وذات حافة وردية واسنانها متشابهة ومنتظمة وازهارها وردية وتكون محمولة الى الاسفل من اعلى اطراف السيقان ، حبوب اللقاح وردية اللون وهذه النباتات تكون اكثر مقاومة للجفاف من النباتات الاصص الاخرى ، اشواك هذه النباتات ( الصباريات) ينتج من منطقة معينة على طول حافات الالواح وتسمى) Areoles) وهي منطقة مرستيمية ، فضلاً عن انتاجها للأشواك فان الـ Areoles ينتج الافرع الجديدة (الالواح) وكذلك البراعم الزهرية تظهر فيها بصورة عمودية ومتدلية الى الاسفل كما موضح في لوحة (١ – A ، B ، C) ، Anderson، ٢٠٠١) و Hunt *et al* .، ٢٠٠٦ ) .

يتكاثر هذا النبات بأخذ قطع السيقان او الالواح ، لكن هذه العملية تطلب خبره ومهارة ووقت محدد ، هذا ما حدد من عملية تكاثر هذا النبات ، فضلاً عن ذلك فان هذه العملية (Shoot cutting) تعد عملية بطيئة في تكاثر النبات الى جانب تعرضها الى الامراض الفطرية والتأثيرات البيئية فلهذا كان من الضروري البحث عن طريقة اخرى للتكاثر ، لذلك استعملت حديثاً تقنيات زراعة الأنسجة والخلايا النباتية بنجاح في اعداد كثير من الصباريات ، هذه التقنية جعلتنا قادرين على الحصول على نباتات صحية وبأعداد كبيرة يمكن الاستفادة منها تجارياً (( Qureshi *et*

*al* .، ١٩٩٣، وقد استعملت هذه التقنية لأستحثاث الكالس من الاجزاء النباتية ، اذ يعد الكالس مصدراً جيداً للإكثار، ولوحظ من خلال الدراسات ان للاوكسينات والسايتوكانينات تأثيراً كبير في تحفيز الكالس ولكي يتم الحصول على الكالس الاولي خارج الجسم الحي لا بد من اضافة منظمات النمو الى الوسط الغذائي بنسب متوازنة يعتمد ذلك على التركيب الوراثي للنبات وكذلك على الجزء النباتي المزروع ومحتواه الداخلي من الهرمونات ) فهمي، ٢٠٠٣) ، وبين Staba( ٢٠٠٠) ان الاوكسين D-٢،٤ يعد اكثر فعالية في استحثاث الكالس ، فيما يعد الـ BA من اكثر السايتوكانينات استعمالاً في زراعة الانسجة النباتية وذلك لأنه الاكثر تأثيراً لاحتوائه على اكثر من اصره مزدوجة (Krishnamurthy *et al* .، ١٩٨٤) .

كذلك بين Elias *et al* .، ( ٢٠١٤ ) عملية تضاعف الافرع من زراعة البراعم الأبطية لنبات الصبار *cinerasceus Echinocereus* في الوسط الغذائي MS ومزود بالسايتوكاينين BAP بتراكيز ٥,٠ ، ١,٠ ، ١,٥ ، ٢,٠ ملغم . لتر -١، فقد اوضحوا ان التراكيز ٢,٠ ، ١,٥ ملغم . لتر-١ BAP قد تفوقت معنوياً على باقي التراكيز ، فقد اعطت اعلى معدل للأفرع المتضاعفة بلغ ٢,٧٧ ± ٠,١٩ و٠,٠٠ ± ٢,٥٧ فرع / برعم لكل منهما على التوالي ، واعلى نسبة مئوية لاستحثاث الكالس وتوليد الافرع العرضية بلغ ٠,٠٠ ± ١٠٠,٠٠ % لكل منها على التوالي ، فضلاً عن ذلك اوضحوا عملية استحثاث الكالس من زراعة قطع السيقان لنبات الصبار *cinerasceus Echinocereus* في الوسط الغذائي MS ومزود بالسايتوكاينين BAP بتراكيز ٥,٠ ، ١,٠ ، ١,٥ ، ٢,٠ ملغم . لتر -١ فقد اوضحوا ان التراكيز ١,٥ ، ٢,٠ ملغم . لتر -١ اعطت اعلى نسبة مئوية لاستحثاث الكالس وتوليد الافرع العرضية بلغ ٠,٠٠ ± ١٠٠,٠٠ % و ٠,٠٠ ± ١٠٠,٠٠ % لكل منهما على التوالي ،فضلاً على ذلك اعطى التركيز ٢,٠ ملغم . لتر-١ اعلى معدل لطول الافرع بلغ ١,٤٣ ± ٠,٠٩ سم وقطر الساق ١,٢٥ ± ٠,٠٥ سم وقد كان اللون الغالب على الكالس هو اللون الاخضر مع وجود بعض حبيبات الكالس ذات لون اخضر او وردي .

اشار ( ٢٠١٥ ) seron and Thinesh الى زراعة البراعم الابطية وقطع السيقان لنبات الصبار Dragon Fruit *undatus Hylocereus* الفتية وبعمر سنة واحدة على الوسط الغذائي MS مع وجود السايتوكاينين TDZ وBAP بتراكيز ٣,٠ ، ٢,٠ ملغم . لتر-١ لكل منهما مع وجود NAA بتركيز ثابت ٠,٥ ملغم . لتر-١ فقد كانت النسبة المئوية لتكشف البراعم من زراعة البراعم الأبطية ٦٢,٠ % في الوسط الغذائي المزود بـ ٣,٠ ملغم . لتر-١TDZ ثم تليها المعاملة ٣,٠ ملغم . لتر-١BA فقد بلغت النسبة المئوية للاستجابة ٤٨,٤ % ، كذلك تم استحثاث الكالس ذو لون ابيض مصفر وقوام مفكك من زراعة قطع السيقان على الوسط الغذائي MS ومزود بـ ٣,٠ ملغم . لتر -١ TDZ اذ كانت نسبة الاستجابة لاستحثاث الكالس ٦٥,٠ % ثم يليها التركيز ٣,٠ ملغم . لتر -١ BA اذ بلغت النسبة المئوية ٤٥,٠ % بعد مرور اربع اسابيع من الزراعة .

اشار Aruna *et al* .، ( ٢٠١٤ ) عند زراعة قطع الساقية لنبات الصبار *lasiantha Caralluma* في الوسط الغذائي MS ومزود بالاوكسين ٢،٤ – D بتراكيز ٠,١ ، ١,٠ ، ٢,٠ ، ٣,٠ ، ٥,٠ ، ٧,٠ ملغم . لتر-١ الى ان افضل وسط لاستحثاث الكالس عند التركيز ٣,٠ ملغم . لتر -١ اذ بلغت نسبة الاستجابة ٧٣ % ثم ولد هذا الكالس افرع عرضية عند زراعته على الوسط الغذائي MS ومزود بمنظمات النمو Zeatin و Kin و ip٢ و BA و TDZ بتراكيز مختلفة وقد اعطت التراكيز العالية من BA متداخلاً مع ip٢ ٠,٥ + ١,٠ ملغم . لتر -١ اعلى معدل لعدد الافرع العرضية المتولدة بلغت ٤,٦٧ ± ٠,٢٢ فرع / جزء نباتي وكانت النسبة المئوية لتوليد الافرع ٦٠ % .

تهدف هذه الدراسة الى امكانية استحثاث الكالس من زراعة قطع الالواح لنبات الصبار عيد الميلاد ، فضلاً عن اختبار نوعين من منظمات النمو ٢،٤ – D و BA لتحديد افضل منظم نمو في ، استحثاث الكالس وتوليد الافرع العرضية وتضاعفها.

لوحه (١) توضح نبات الصبار عيد الميلادChristmas Cactus المنتج نسيجيا (A) برعم زهري غير متفتح (B ) ازهار وردية محمولة للأسفل (C)

المواد وطرائق العمل

اجريت الدراسة في مختبر زراعة الانسجة النباتية التابع لكلية الزراعة – جامعة البصرة خلال المدة ٢٠١٦ ولغاية ٢٠١٧ بهدف دراسة تأثير بعض منظمات النمو وهي الاوكسين ٢،٤–D و السايتوكاينيناتBA في

تضاعف الافرع الخضرية ، استحثاث الكالس الاولي وتوليد الافرع العرضية لنبات الصبار عيد الميلاد *russelliana Schlumbergera* وقد استعملت في هذه الدراسة قطع الافرع الخضرية (الالواح) الفتية والمعقمة والتي تم الحصول عليها من تجارب نشوء المستعمرات .

اخذت الالواح ( السيقان الفتية ) من تجارب نشوء الزروعات ( معقمة ) وقطع الجزء السفلي منها مع بقاء الاجزاء النباتية Explants بطول ( ١- ٢ سم ) لوحة (٢ – A ، B) تحت منضدة سريان الهواء الطبقي Laminar flow air cabinet ، هذه الاجزاء لا تحتاج الى التعقيم لكونها نامية تحت ظروف معقمة ، تم زراعتها في الوسط الغذائي MS (Skoog & Murshige، ١٩٦٢) وذلك بأخذ وزن ٤,٣٣ غم . لتر $^{-1}$ والمواد العضوية هي السكروز بتركيز ٣٠ غم . لتر $^{-1}$ و pyrolidon Poly vinyl ( PVP ) بتركيز ٥٠٠ ملغم . لتر $^{-1}$ ومجموعة من الفيتامينات والكلايسين والبرولين بتركيز ١ ملغم . لتر $^{-1}$ اضيفت منظمات النمو حسب الهدف من التجربة، ضبط PH الوسط الغذائي ضمن مدى ٥,٧ – ٥,٨ ، ثم اضيف الـ Agar بتركيز ٥ غم . لتر $^{-1}$ .

سخن الوسط الغذائي وصولاً الى درجة حرارة ٩٠ م$^{o}$ ، ثم وزع في انابيب الزراعة ابعادها ٢,٥ × ١,٨ سم وسدت فوهات بالقطن الطبي وغلفت بأوراق الالمنيوم ثم عقمت بجهاز التعقيم Autoclave تحت ضغط ١,٠٤ كغم . سم $^{2}$ ودرجة حرارة ١٢١ م $^{o}$ ولمدة ٢٠ دقيقة وحفظت بالحاضنة لحين الزراعة وشملت الدراسة ما يلي :

- تاثير الاوكسين D–٢،٤ في استحثاث الكالس

زرعت قطع الالواح لنبات الصبار *russelliana Schlumbergera* مثلثة الشكل وبطول( ١,٠ – ١,٢ ) سم وبصورة عمودية في الوسط الغذائي السابق مع اضافة الاوكسين D–٢،٤ بتركيز ٣,٠ ملغم . لتر $^{-1}$ مع وجود السايتوكينين BA بتركيز ثابت ٠,٢ ملغم . لتر$^{-1}$ وبواقع قطعة واحدة في كل انبوبة اختبار لغرض استحثاث الكالس واكثاره ، تمت عملية الزراعة على منضدة انسياب الهواء الطبقي ، وعقمت اسطح المنضدة والادوات المستعملة بالزراعة بواسطة الكحول الاثيلي ٧٠ % والكلور المخفف ، حضنت الزروعات في غرفة النمو على درجة حرارة ٢٥ ± ٢ م$^{o}$ في الظلام ولمدة ٤ اسابيع اخذت القياسات التالية :

١ – عدد الايام لنشوء الكالس / يوم .

٢ – النسبة المئوية للاستجابة القطع = $\frac{\text{عدد القطع المستحثة للكالس}}{\text{عدد القطع المزروعة الكلية}} \times ١٠٠$

٣– كثافة كتلة الكالس .

تم اعادة زراعة الكالس Reculture المستحث من قطع الالواح الفتية على نفس الوسط الغذائي وبنفس التراكيز السابقة ولمدة اربع اسابيع في الظلام لغرض اكثاره .

٢ – تاثير السايتوكاينين BA في استحثاث الكالس وتضاعف الافرع الخضرية

تم زراعة قطع الالواح وبصورة عمودية في الوسط الغذائي السابق مع اضافة الاوكسين D-٢،٤ بتركيز ٠,٢ ملغم . لتر $^{-1}$ والسايتوكاينين BA بتركيز ٣,٠ ملغم . لتر $^{-1}$ لغرض استحثاث الكالس وتضاعف الافرع الخضرية ، تمت عملية الزراعة على منضدة انسياب الهواء الطبقي ، وعقمت اسطح المنضدة والادوات المستعملة بالزراعة بواسطة الكحول الأثيل ٧٠ % والكلور المخفف حضنت الزروعات في غرفة النمو على درجة حرارة ٢٥ ± ٢ م$^{o}$ في الضوء ولمدة ٨ اسابيع واخذت نفس القياسات في التجربة السابقه .

٣ – تأثير السايتوكاينين والاوكسين في توليد الافرع العرضية

جزء الكالس الناتج من التجربتين السابقتين وبواقع ١٠٠ ملغم لكل انبوبة وزرع في وسط توليد الافرع العرضية والمؤلفة من مكونات الوسط الغذائي السابق مع وجود السايتوكاينين BA بتركيز ٥,٠ ملغم . لتر $^{-1}$ والاوكسين NAA بتركيز ٠,٢ ملغم . لتر $^{-1}$ ، حضنت الزروعات على درجة حرارة ٢٥ ± ٢ م$^{o}$ وشدة اضاءة ١٠٠٠ شمعة . قدم ولمدة ٨ اسابيع في الضوء ثم سجلت ملاحظات حول توليد الافرع .

التحليل الاحصائي Experiment Design and Statistical Analysis

صممت تجارب هذه الدراسة بحسب التصميم العشوائي الكامل Randomized Complete Design(C.R.D.) وحللت النتائج الدراسة باستعمال تحليل التباين وقورن بين المتوسطات المعاملات بموجب اختبار اقل فرق معنوي المعدل Least Significant Difference test Revised (R.L.S.D) عند مستوى احتمال ٠,٠٥ ( الراوي وخلف الله ، ٢٠٠٠ ) .

النتائج والمناقشة

– 1تأثير الاوكسين 2,4-D في استحثاث الكالس

توضح النتائج في لوحة (٢) تأثير الاوكسين D-٢،٤ بتركيز ٣,٠ ملغم . لتر $^{-1}$ مع وجود السايتوكاينين BA بتركيز ٠,٢ ملغم . لتر $^{-1}$ في استحثاث الكالس من زراعة قطع السيقان ( الالواح ) المعقمة مثلثة الشكل وبصورة عمودية على الوسط الغذائي بعد مرور ٤ اسابيع في الظلام لوحة ( ٢ – A ، B ، C ) ، اذ يلاحظ تضخم وزيادة حجم الالواح نتيجة لامتصاص المواد الغذائية الموجودة في الوسط الغذائي ، مع تكون كالس حبيبي الشكل مضغوط كريمي الى مسمر اللون حول حافات الجزء السفلي مع وجود بعض التلون البني في اسفل منطقة القطع لوحة ( ٢ – D ، E ) وهذا ما اكده Perez *et al* .، ١٩٩٨ ) (حول ظهور كالس مسمر اللون مضغوط في مناطق القطع للأجزاء النباتية لبعض انواع من الصباريات Mammillari عند وجود D-٢،٤ في الوسط الغذائي ، ثم استمرت عملية استحثاث الكالس ابتداء من اسفل القطع الى الاعلى حتى غطى معظم اجزاء قطع السيقان في نهاية فترة

الحضانة لوحة ( ٢ – E ) وقد كانت النسبة المئوية في استجابة القطع لنشوء الكالس ١٠٠% ، كذلك قلت المدة الزمنية لنشوء الكالس اذ بلغت ١٠ – ١٥ يوم جدول (١) وقد يعود السبب في استحثاث الكالس في الوسط الغذائي المزود بالـ ٢،٤ –D بتركيز ٣,٠ ملغم . لتر -١ الى ان الاوكسين٢،٤ – D يعد من اكثر الاوكسينات نشاطاً وتهيئة للانقسام وتكوين الكالس Staba ، ٢٠٠٠) و فهمي، ٢٠٠٣ ).

فضلاً عن ذلك ان النمو الجيد للكالس في وسط النمو يحصل بفعل التوازن الفسيولوجي ما بين الاوكسين والسايتوكاينين وان زيادة تركيز اي منهما على حساب الاخر سوف يؤثر سلباً على نمو الكالس ( Mineo ، ١٩٩٠ ) ، فضلاً عن ذلك فان اضافة كلا منظمي النمو الى الوسط الزراعي ضروري لاستحثاث الكالس اذ يعمل السايتوكاينين بوجود الاوكسين كمفتاح لبدء الانقسام الخلوي ، وقد يكون الادنين الذي يكون جزيئة السايتوكاينين هو الجزء الذي يؤدي الى اختلال التوازن الامثل .

جدول (١) يوضح تاثير الاوكسين ٢،٤–D في استحثاث الكالس الاولي بعد مرور اربع اسابيع من الزراعة في الظلام

| المعاملة بالاوكسين 2,4–D بتركيز ٣,٠ ملغم . لتر-١ | |
|---|---|
| 100 % | لاستحثاث الكالس النسبة المئوية |
| 10 – 15 | معدل عدد الايام |
| +++ | كثافة كتلة الكالس |
| مضغوط مع وجود بقع حمراء اللون | الكالس شكل كتلة |

كثيف جداً +++

توضح النتائج ايضاً في لوحة ( G , F – 2 ) عملية اعادة زراعة الكالس Reculture المستحث من زراعة قطع السيقان لنبات الصبار عيد الميلاد في الوسط الغذائي المزود 2,4–D بتركيز ٣,٠ ملغم . لتر -١مع وجود BA بتركيز ٠,٢ ملغم . لتر -١لمدة 4 اسابيع في الظلام اذ يلاحظ زيادة في حجم كتلة الكالس وتحوله الى متماسك مضغوط Compact callus ، ابيض اللون مع وجود بقع منخورة من الكالس متلونة باللون البني الغامق اسفل كتلة الكالس الملامس للوسط الغذائي وسبب ذلك موت جزء من الكالس في نهاية فترة الحضانة وقد يعود السبب الى وجود بعض المركبات الفينولية المؤكسدة حول الاجزاء النباتية لنبات الصبار والتي تسبب تنخر و ظهور

تلون بني للأجزاء النباتية او الكالس وهذه تعتبر ايضاً من المشاكل المجهدة لنبات الصبار (perez *et al* ., 1998 و Vidican 2012).

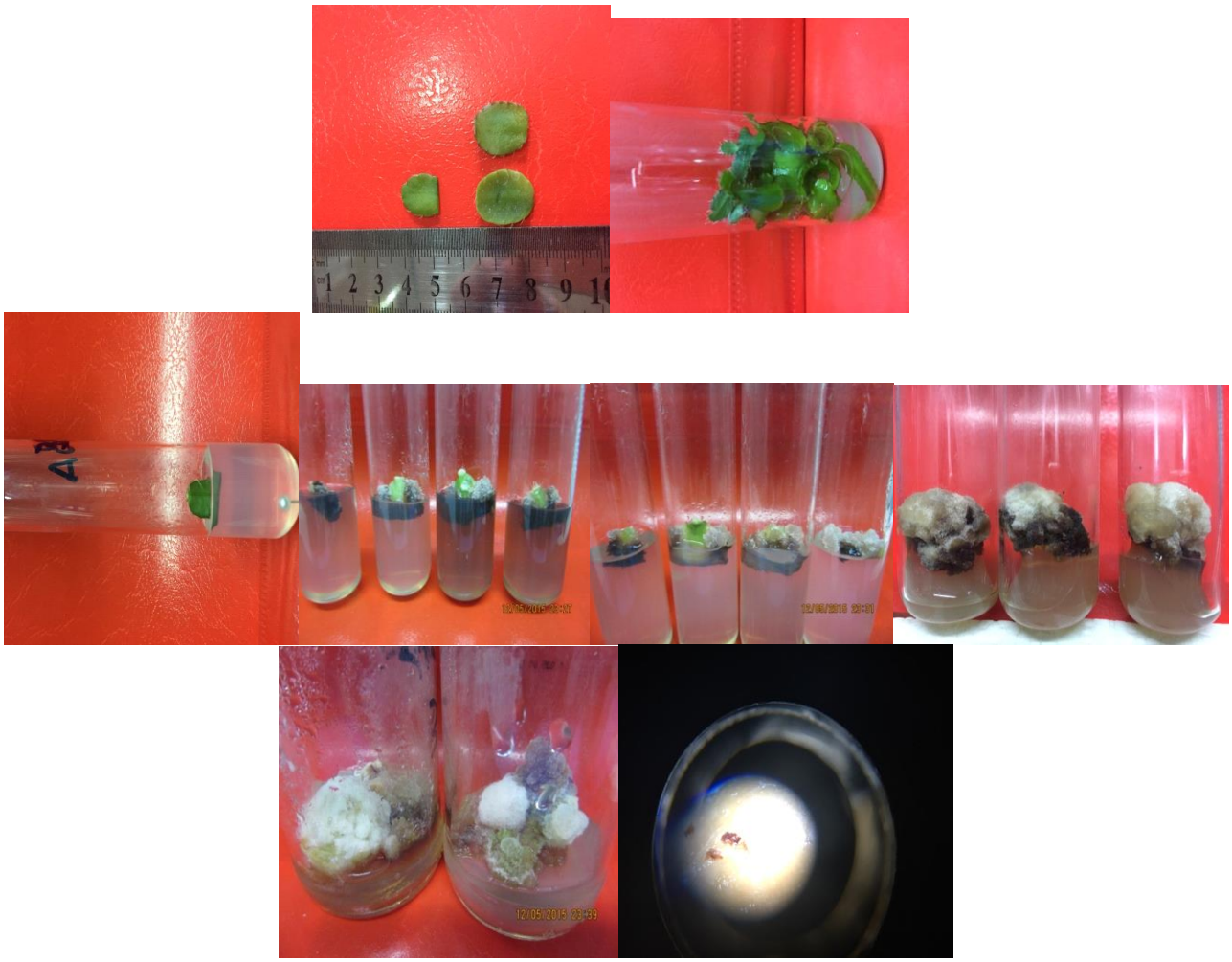
وعند الكشف عن كتلة الكالس تحت المجهر الالكتروني لوحظ تكون بقع حمراء متناثرة على الكالس المضغوط النامي في نفس الوسط الغذائي لوحة ( ٢ –H) ، وقد يعود السبب ربما الى فعل الاوكسين D–٢،٤ اذ يصطبغ الكالس باللون الاحمر او الوردي والذي يعود الى المحتوى العالي من الانثوسيانين الذي يتجمع في خلايا الكالس بسبب نظام النمو او النوع او الاصل او العمر Cachita ، ٢٠٠٤ ) ).

تتفق هذه النتائج مع AAMIR *et al* .، ( ٢٠٠١ ) حول استحثاث الكالس من زراعة قطع الواح نبات الصبار *bridesii Schlumbergera* في الوسط الغذائيMS ومزود بتراكيز مختلفة من D–٢،٤ ولاحظ ان اكبر كتلة كانت عند التركيز ٣,٠ و ٤,٠ ملغم . لتر -١ وكذلك بلغت نسبة الاستجابة لاستحثاث الكالس ١٠٠ و ٩٠ % على التوالي.

كذلك اتفقت مع حمد وجاسم ( ٢٠١١ ) في استحثاث الكالس الاولي من زراعة الاجزاء النباتية ( القمة النامية ، الاوراق الفتية ، السويقة الجنينية السفلى ) المأخوذة من بادرات لنبات البلادونا في الوسط الغذائي MS ومزود بالاوكسينات D–٢،٤ و BA بالتراكيز ٠,٠ ، ١,٥ ، ٣,٠ ،٤,٥ ملغم . لتر -١ كل منهما ، وقد اعطى الكالس المستحث من السويقة الجنينية السفلى في الوسط MS والمزود بتركيز ٣,٠ ملغم . لتر-١ من D–٢،٤ اعلى معدل في الوزن الطري والجاف بلغ ٤٤,٣ و ٥,٠ ملغم على التوالي بينما اعطى الوسط نفسه والمزود بالتركيز ٣,٠ ملغم . لتر -١ منBA اعلى معدل لوزن طري وجاف بلغ ١٨,٩ و ٢,٥ ملغم على التوالي .

كذلك اتفقت هذه النتائج مع ما اشار اليه (Teodora ( ٢٠١٢ عند زراعة قطع السيقان من نبات الصبار *mihanovichii Echinocactus* في الوسط غذائي MS ومزود بالاوكسين D–٢،٤ بتركيز ٢,٥ ملغم . لتر -١ حول ظهور كالس محمر اللون بعد مرور(٦٠ ) يوم من الزراعة وازدادت كتلة الكالس وقطرها بعد زيادة الفترة الزمنية الى ( ٩٠ ) يوم من الحضانة واتفقت ايضا مع Saritha and Mohan Reddy ( ٢٠١٢ ) الى تفوق التركيز ٣,٠ ملغم . لتر -١ من الاوكسين D–٢،٤ في استحثاث الكالس من زراعة قطع الاوراق لنبات الكاردينيا الطبي *latifolia Gardenia* Ait وكانت النسبة المئوية لتكوين الكالس ٠,١٠ ± ٨٠ % بعد مرور ٨ اسابيع ، كذلك اتفقت مع Aruna *et al* .،( ٢٠١٤) عند زراعة قطع السيقان لنبات الصبار *lasiantha Caralluma* في الوسط الغذائي MS ومزود بالاوكسين D–٢،٤ بتراكيز مختلفة ، وكان افضل وسط لاستحثاث الكالس هو التركيز ٣,٠ ملغم . لتر-١ اذ بلغت نسبة الاستجابة لاستحثاث الكالس ٧٣% ، وكذلك اتفقت مع الطه والمازني (

٢٠١٦ ) حول استحثاث الكالس من زراعة قطع اوراق نبات الكاردينيا في الوسط الغذائي MS مزود بالـ D-٢،٤ بتركيز ٣،٠ ملغم . لتر-١ مع وجود BA بتركيز ٠،٢ ملغم . لتر-١ وفي مدة بلغت ١٠ – ١٥ يوماً بالظلام .



لوحة (2) توضح تاثير الاوكسين 2,4-D بتركيز ٣،٠ ملغم .لتر ١-مع وجود السايتوكاينينات BA بتركيز ٠،٢ ملغم . لتر ١-في استحثاث الكالس الاولي من قطع الواح نبات الصبار عيد الميلاد ، ( A)و ( B)افرع معقمة مأخوذة من تجارب نشوء الزروعات و (C)قطع الالواح مزروعة بصورة عمودية في الوسط الغذائي D) و(Eاستحثاث الكالس الاولي من من زراعة قطع الالواح ، F)و (G ظهوركالس متماسك ومضغوط مع وجود بقع منخورة بنية اللون (H) الكشف المجهري لكتلة الكالس وظهور البقع الحمراء.

٢ – تاثير السايتوكاينين BA في استحثاث الكالس وتضاعف الافرع الخضرية

توضح النتائج في لوحة (٣ – A) عملية استحثاث الكالس الاولي من زراعة قطع الالواح لنبات صبار عيد الميلاد *Schlumbergera russeliana* في الوسط الغذائيMS والمزود بالسايتوكاينين BA بتركيز ٣,٠ ملغم . لتر $^{-1}$ مع وجود الاوكسين٢،٤– D بتركيز ٠,٢ ملغم . لتر $^{-1}$ بعد مرور ٨ اسابيع من الحضانة في الضوء ، اذ يلاحظ تكوين كالس حبيبي تميز بقوامه اللزج وكثير التفكك فضلاً عن لونه الاخضر البراق وفي اجزاء اخرى يكون الكالس المستحث اصفر اللون ، نامي حول حافات الجزء السفلي المقطوع من اللوح كما يتميز الكالس النامي في هذا الوسط بثبوت اللون من بداية تكوينه حتى نهاية فترة الحضانة ، وقد لوحظ ان الكالس النامي على هذا الوسط بطئ جدا مقارنة مع الكالس المستحث من زراعة قطع الالواح على الوسط الغذائي المزود بالاوكسين ٢،٤–D اذ بلغت المدة الزمنية لنشوء الكالس حوالي (٢٢ – ٢٧ ) يوم وكانت النسبة المئوية في استجابة القطع لاستحثاث الكالس ٧٠ % جدول ( ٢ ) وقد يعود السبب في تأخير استحثاث الكالس بوجود BA بتركيز ٣,٠ ملغم . لتر $^{-1}$ مع وجود تركيز منخفض من ٢،٤–D ٠,٢ ملغم . لتر $^{-1}$ الى ان استحثاث الكالس يعتمد على نسبة معينة من الاوكسينات والسايتوكاينينات في الوسط الغذائي وان اختلال التوازن بينهما يؤثر على نشوء الكالس ( Collin and Edward ، ١٩٩٨ ) او بسبب التراكيز العالية من BA وعدم توافقها مع المحتوى الداخلي من الهرمونات النباتية للقطع النباتية المستعملة مسببا تأخير او احيانا توقف حدوث الانقسامات المتكررة مما يترتب عليها انخفاض في قابليتها على استحثاث الكالس( صالح والملاح ، ١٩٨٨ ) وهذا ما اكدة خضير وامين (٢٠١٣) حول استحثاث الكالس من زراعة قطع سيقان نبات القرنفل على الوسط الغذائي MS ومزود بالـ BA بتركيز ٣,٠ ملغم . لتر $^{-1}$ مع وجود ٢،٤–D بتركيز ٠,١ ملغم . لتر $^{-1}$ ، وبعد مرور ٨ اسابيع على الحضانة في الوسط الغذائي MS والمزود بالـ BA بتركيز ٣,٠ ملغم . لتر $^{-1}$ في الضوء لوحظ تضاعف الافرع الخضرية وتكوين اللواح جديدة من قمة قطع الالواح فضلاً عن تحفيز نمو البراعم الجانبية للقطع الالواح و استمرار نمو الكالس مخضر اللون من اسفل اللوح الى اعلى اللوح اذ غطت تقريباً اكبر جزء من قطعة الالواح لوحة ( ٢ – B و C ) ، ثم استمرت هذه الافرع الخضرية بالنمو والتضاعف والتضخم نتيجة لامتصاص المواد الغذائية من الوسط الغذائي مع ظهور جذور اسفل الالواح بعد مرور ١٢ اسبوع من الحضانة في الضوء لوحة (٢ – D و E ) وقد يعود السبب في تضاعف الافرع الخضرية الى وجود BA الذي له الاثر المهم في تشجيع النمو الخضري عن طريق تحفيز انقسام الخلايا وتمايزها واستقطاب المغذيات الى الاجزاء النباتية المعاملة بها( Hartmaun *et al* .، ١٩٩٧) فضلاً عن دور الاوكسين المنخفض الذي ادى الى تحفيز تكوين الجذور Auge ، ١٩٨٤ ) (.

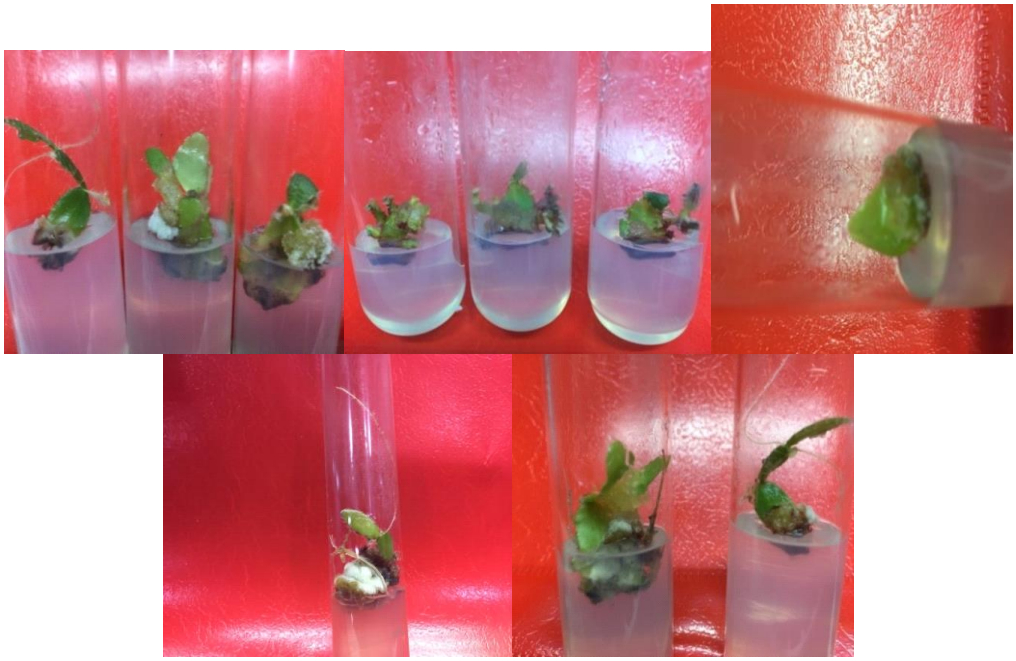
اتفقت هذه النتائج مع ما اشار اليه الباحثونElias *et al* .، (٢٠١٤) في تضاعف الافرع الخضرية وكذلك استحثاث الكالس من زراعة قطع السيقان لنبات الصبار *Echinocereus cinerascens* في الوسط الغذائيMS ومزود بتراكيز مختلفة من السايتوكاينينBA ، وتميز اللون الغالب على الكالس المستحث هو اللون المخضر مع

وجود بعض الحبيبات ذات اللون اصفر او وردي ، كذلك اتفقت معseran and Thinesh( ٢٠١٥) الى استحثاث الكالس في الوسط الغذائي MS والمزود بالـ BA ٣,٠ ملغم . لتر -١ من زراعة قطع السيقان الناتجة من نبات *Hylocereus undatus* fruit Drajon بعمر سنة .

جدول ( ٢ ) يوضح تاثير السايتوكاينين BA في استحثاث الكالس الاولي بعد مرور ٨ اسابيع من الزراعة في الضوء

| المعاملة بالسايتوكاينين BA بتركيز ٣,٠ ملغم . لتر-١ | |
|---|---|
| النسبة المئوية لاستحثاث الكالس | ٧٠ % |
| معدل عدد الايام | 22– ٢٧ |
| كثافة كتلة الكالس | ++ |
| شكل الكالس | كالس حبيبي اخضر براق مع وجود حبيبات صفراء او وردية |

متوسط الكثافة ++



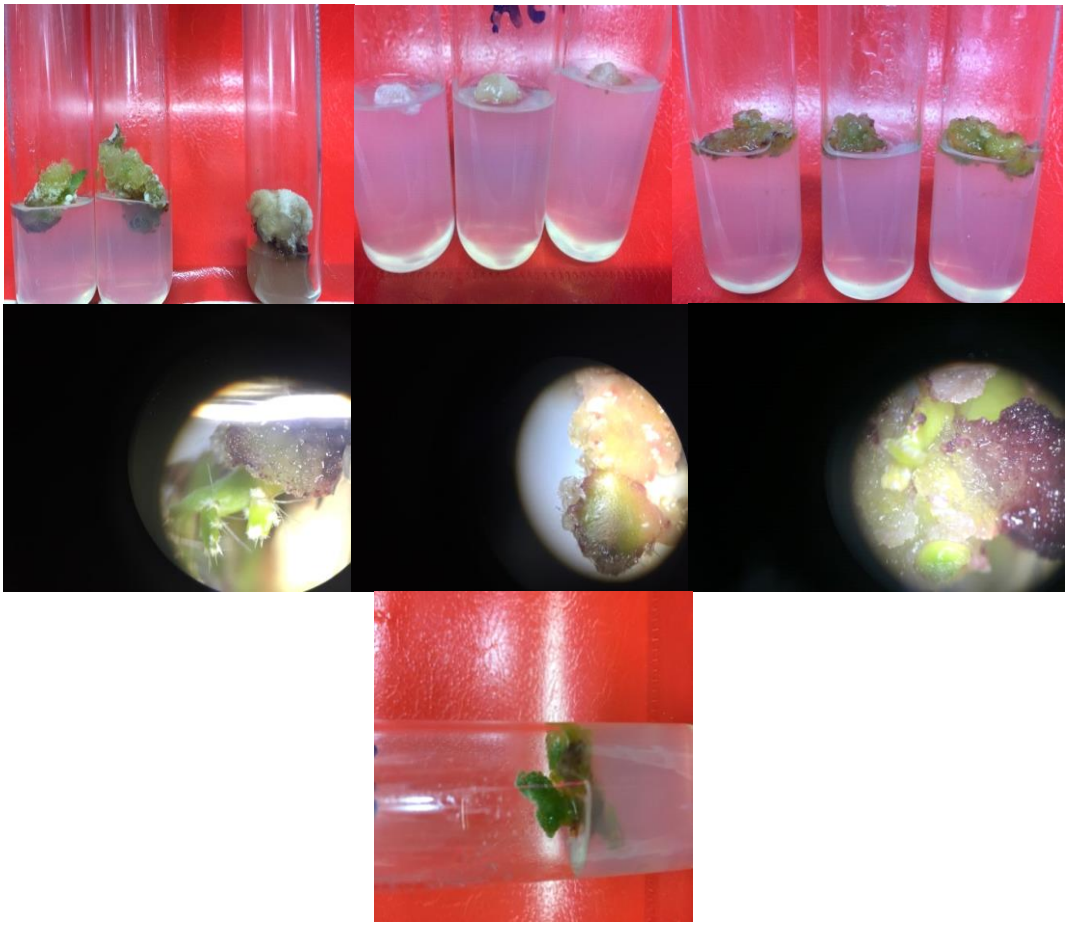
لوحة ( ٣ ) توضح تاثير BA بتركيز ٣,٠ ملغم .لتر-١ مع وجود الاوكسين D-٢،٤ بتركيز ٠,٢ ملغم .لتر-١ ( A ) زراعة قطع الالواح لنبات الصبار عيد الميلاد مع ظهور الكالس اسفل اللوح وبعد مرور ٤ اسابيع في الضوء (B وC) تضاعف الافرع الخضرية من زراعة قطع الالواح مع وجود الكالس المخضر اللون بعد مرور (٨ ) اسابيع في الضوء (D و E ) ظهور الكالس والافرع الخضرية والجذور على القطع المزروعة .

٣ – تاثير السايتوكاينين والاوكسين في توالد الافرع العرضية

توضح النتائج ايضا في لوحة (٤ –A ، B) نقل جزء من الكالس الاولي الذي استحث من الوسط الغذائي المزود بالاوكسين D-٢،٤ بتركيز ٣,٠ ملغم . لتر-١ مع وجود السايتوكاينين BA ٠,٢ ملغم. لتر -١ (MS 1) وكذلك تم زراعة جزء من الكالس المستحث من الوسط الغذائي المزود بالسايتوكاينين BA بتركيز ٣,٠ ملغم . لتر -١ مع وجود الاوكسين D-٢،٤ بتركيز ٠,٢ ملغم . لتر -١ وبعمر ٨ اسابيع (MS 2 ) في الوسط الغذائي MS ومزود بالسايتوكاينين BA بتركيز ٥,٠ ملغم . لتر -١ مع وجود الاوكسين NAA بتركيز ٠,٢ ملغم . لتر -١ في الضوء لكل منهما ولمدة ٨ اسابيع ، لوحظ استمرار نمو الكالس الابيض المصفر مضغوط الشكل غير نشط ولم يولد هذا الكالس اية افرع عرضية حتى نهاية فترة الحضانة والمنقول من الوسط الغذائي (MS١) ، في حين استمر الكالس المنقول من الوسط الغذائي M2 ) ) في النمو عن طريق زيادة كتلة الكالس مع وجود تفصصات واضحة مخضرة اللون في نسيج الكالس بعد ثلاثة اسابيع لوحة ( ٤ – C ) ، عند الكشف عن كتلة الكالس تحت المجهر الالكتروني لوحة (٤ – D وE وF) والمستحث من الوسط الغذائي MS١) ) و المزروع في الوسط الغذائي المزود بالسايتوكاينين BA بتركيز ٥,٠ ملغم . لتر -١ مع وجود NAA بتركيز ٠,٢ ملغم . لتر -١ لوحظ ظهور الواح خضراء مستديرة الشكل صغيرة الحجم منتشرة في كتلة الكالس و في اعلى كتلة الكالس المخضر اللون وتحوله الى لون ارجواني في مناطق اخرى بعد مرور خمسة اسابيع من الحضانة في الوسط الاخير ، ثم استمر هذا الالواح بالتضخم بالحجم نتيجة لامتصاص المواد الغذائية من الوسط الغذائي ، وفي نهاية فترة الحضانة لوحة (٤ –G) ظهرت بروزات متضخمة مكونه الواح صغيرة مع تكون اشواك واضحة وصغيرة حول اللوح فضلاً عن وجود حبيبات الكالس حول اللوح المتولد من الكالس وقد يعود السبب في توليد الافرع العرضية من الكالس الى ان اضافة السايتوكاينينات الى الوسط الغذائي له اهمية في تحفيز وتكوين الافرع العرضية من خلال زيادة تضاعف DNA الذي يشجع عملية انقسام الخلايا ، كذلك فان وجود الاوكسينات تعمل على انقسام الخلايا واستطالتها والى دور السايتوكاينينات في نشوء وتمايز الافرع Auge ( ١٩٨٤ ) هذا ما اكده Zhu *et al*.، ٢٠٠٧ ) ) ، حول تداخل الاوكسينات والسايتوكاينينات في تكوين كالس نشط من زراعة قطع اوراق الشليك ولاحظ

كذلك ان هذه التوليفة مفيدة لعملية تمايز الافرع من هذا الكالس النشط واثبتوا ايضاً ان الكالس الذي يولد الافرع العرضية يكون مفصصاً ، مفككاً ومخضر اللون .

تتفق هذه النتائج مع AAMR *et al* .، ٢٠٠١) و الحمداني واخرون ، ٢٠٠٧ و غزال واخرون ، ٢٠٠٩ و Garla *et al* .، ٢٠١١ و الطه والمازني ، ٢٠١٦ ) واكدوا ان التركيز ٥,٠ ملغم . لتر $^{-1}$ من BA هو التركيز المثالي لتوليد الافرع العرضية من الكالس المستحث من زراعة قطع الاجزاء النباتية لنبات الصبار *Schumbergera bridesii* ونبات الثوم ونبات القديفة و نبات *Ephedra gerardiana* ونبات الكاردينيا *Gardenia jasminoides* صنف Radcians .



لوحة ( ٤ ) تاثير السايتوكاينين BA بتركيز ٥,٠ ملغم . لتر$^{-1}$ مع وجود NAA بتركيز ٠,٢ ملغم . لتر$^{-1}$ في توليد الافرع العرضية في الضوء، (A و B ) كالس منقول من وسط MS1 و MS2 مزروع في وسط توليد الافرع يلاحظ تفصص الكالس في (A)وتكون كالس مضغوط في (B ) ،(C ) استمرار نمو الكالس حبيبي مخضر اللون مأخوذ من وسط MS2 ، (D وE وF) صوره ميكروسكوبية يظهر فيها توليد الافرع العرضية مع وجود كالس اخضر

وارجواني بعد مرور ٥ اسابيع (G ) نمو الفرع الخضري فوق الوسط الغذائي مع وجود كالس بعد مرور ٨ اسابيع من الحضانة في الضوء.

**المصادر العربية :**


الحمداني ، قاسم محمود و عمار عمر الاطرقجي و مزاحم قاسم الملاح (٢٠٠٧ ) . تكوين نباتات القديفة *patula Tagetes* بالزراعة الانسجة . مجلة زراعة الرافدين ٣٥ (٢ ) .

الراوي ، خاشع محمود وعبد العزيز محمد خلف الله ( ٢٠٠٠ ) . تصميم وتحليل التجارب الزراعية . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل – العراق ، ٤٨٨ صفحة .

الطه ، هدى عبد الكريم و المازني ، لمياء حسين موسى ( ٢٠١٦ ) . تاثير مصدر الجزء النباتي والسايتوكاينين TDZ والاوكسين

IBA في اخلاف نبيتات نبات الكاردينيا المتقزم *jasminoides Gardenia* Ellis صنف Radicans" " بتقنية زراعة الانسجة. مجلة البصرة للعلوم الزراعية .٢٩ .

حمد ، محمد ونورا جبر جاسم ( ٢٠١١ ) . تاثير مكونات الوسط الغذائي والجزء النباتي في استحثاث الكالس لنبات البلادونا خارج الجسم الحي . مجلة العلوم الزراعية العراقية ، ٤٢ ( ٣ ) : ٥٩ – ٧٠ .

خضير ، فراس حميد وخزعل علي امين ( ٣٠١٣ ) . تاثير منظمات النمو النباتية في استحثاث كالس نبات القرنفل *caryaphllus Dianthus* L. . مجلة التربية والعلوم . ٢٦ ،( ٤ ) .

صالح ، شفاء مهدي ومزاحم قاسم الملاح ( ١٩٨٨ ) . مجلة التربية والعلوم ، المجلد ٢٨ : ١٣ – ٢٣ .

غزال ، محمد عبد النبي وكاظم ، حمزه موسى نشات علي يعقوب ( ٢٠٠٩ ) . استخدام تقنية زراعة الانسجة النباتية في اكثار نبات الثوم (*Allium sativum* L . ) الصنف المحلي . رسالة ماجستير – الكلية التقنية – المسيب – العراق .

فهمي ، فكري جلال محمد (٢٠٠٣ ) . زراعة الانسجة النباتية – دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع . مصر – القاهرة – كلية الزراعة جامعة اسيوط .

محمد ، عبد المطلب سيد ومبشر صالح عمر ( ١٩٩٠ ) . المفاهيم الرئيسية في زراعة الخلايا والانسجة والاعضاء النباتية . مديرية دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل – العراق .

**المصادر الأجنبية**

Callogenesis .(I. (2001 ،Javed S and .A ،Fayyaz ؛ N ، Shagufta ؛. A ، AAMIR

*Bridesi Schlumbergeea* ) cactus christmas and organogenesis in ،Embryogenes . Pak , J . (

. ( Bot . 33 (special issue

Oregon : Timber press ،pentland ، The cactus family . (Anderson , Edward . F . (2001 . PP 625. ٥ – ٤٩٨ – ٨٨١٩٢ – ٠ – ٩٧٨ , ISBN

Aruna ، V ؛Kiranmai،C and pullaiah،T .(٢٠١٤) . callus culture and *in vitro* of Endemic and Medicinally Important *Carallma lasiantha*) wight . ( N . E . Br . International Journal of Science and Research . 5. (١ ) ،

Auge ، R .(1984 . (Les phenomenes physiologigueslies alarealisation des culture.

biotechnologie de Tratat . (٢٠٠٤) . A،Ardelean . R.L،Tican ؛ C،Delia ؛C. D ،Cachita . ١٥٤ – ٢٩ :PP ، Napoea – Cluj ، Dacia Editura . Vol . 1 vegetala

Colliu ، A. and Edwards, S. (1998 .( plant Cell Culture . production , Editor : Andrea Bosher .

. Harcourt , UK Stauton Electronic publishing chandos Typeset by

؛ N ; Mohamed , N ; Abdul Manan , A ، Hasbullah Azlina ؛ R ، Taha Elias , H ; Mat ، Mahmad

Effects of plant growth regulators on shoot The . ( S . ( 2014 ، er Mohaj N . and ، formation

*in vitro cinerasceus Echinocereus* callus production coloured and Regereration plant .

. organ cult tiss Cell

callus induction *In- vitro*.(٢٠١١ ) . Shivani and Shruit .S ، Amit,K.Sunil .M.P، Garla and shoot

plant . Annals of Biological Amedicinal – *geradiana Ephedra* Regeneration in Research , 2

. ٦٥١ – ٦٤٥ : (٦)

. (١٩٩٧) .F.T، avies and F, T. D Geneve .H . J ; D , E. Kester ; R, L ، Haetmann :plant propagation

. New Jersey , USA ،.Inc Hall – prentice ، edn Principles and practices . 6th

The .(Hunt , D ; Taylor , N. and Charles , G.(Compilers and editors ) .(2006 New Cactus

.port . UK Millborne ، Lexicon , dh Book

on studies . (١٩٨٤) . Mascarenhas .and A . F Godbote . Krishnamurthy , K. V ; D . A protoplast – 1 – foliu aconite vigna resistant legume : the moth bean adrougl

. culture and organogenesis . plant cell Rep . , 3 : 30 – 32

McMillan , A. J . S .and Horobin , J. F . (١٩٩٥).Christmas Cacti : The genus Schlumbergera And its hybrid (p / b ed . ) Sherbourue , Derset . David Hunt , ISBN 978 – 6 – 9517274-6-3, PP : 18 – 23 .

Mineo , L. (1990) . Plant tissue culture techniques , C . A . Gold man Editor , PP : 151 – 174 .

Mohan Reddy, y and Saritha ,K.(2012).Callus induchion and somatic embryogensisnof *Gardenia Latifolia* Ait . Intjcurr Sci., 4:83 – 89 .

Murashige,T.and skoog,F.(1962).A vised medium for rapid growth and bioassays with tobaccoTissue cltures.Physiol.plant,15,473-492.

Perez – Molphe Balch, E; Perez – Reyes ME ; ViL- lalobos Amador , E; Meza rangel, E;Meza rangl, E ; DE ; Roico Morones rvizl , Lizalde viramontes,Hj. (1998). Micropropagation

of 21 species of mexicam cacti by axillary prolifreation . *In vitro celluar* and Developmental Biology – plant 34 : 131 – 135 .

Qureshi , A., Hidayat vllah,U; M. Bhathtli , M . and Ahmad,S . (1993) . An improved method for *In vitro* multiplication of potato Advances in plant tissue culture pakistenr . pp 55 – 60 .

Staba , E, J. (2000) . Plant Tissue Culture asa sonrce of biochemical . CRC press , INC . Boco Raton , florida . pp : 1 – 271 .

Teodora , V. I. (2012) . Investigation on the of 2,4-D dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) on The process of callus from *in vitro* cultures *Echinocactus* (Pfiff) *mithanovichii* . Analele Universitatii din oradea , fascicula protectia medinlni . vol .11.

Thiesh, A, and H, Seran. (2015) . *In vitro* callogensis from bnd and stem Explants of Dragon

Fruit ( *Hylocereus undatus* ) . Asian journal of pharmacentical science and technology . 5 . ( 4 ) .

Vidican TL. (2012) . studies on the influeuce of acid on cantration – B – indolilbutrytic acid ( IBA ) On hegenerative capacity and organogenesis of explants of opuntia ( Tournef . ) Mill Fragilis var . fragilis Analele universitdtii oradea . Fascicula prota Mediulu 19 : 312 – 319 .

Zhu ,H. S; Pan D. M;Lin,Y.Z;Zhang , Z.Z and wen Q.F. (2007). .*In vitro* Efficient Regeneration

System of Strawbrry . Acta Boreali – Occidentalia sinica . Aub ., China Htt :// en. cuki. com. cn A rticle en / CJFDT OTAL – DNY X200705010 htm.

# Effect of 2,4-D and BA on callus induction , adventitious Shoot regeneration, and vegetative shoot multiplication from cladodes segments culture Of Christmas cactus (*Schlumbergera russelliana* )

Huda . A . Al-Taha Safa .M. Hasan * Samera . A. Matrood

Department of Horticulture and Landscape design – College of Agriculture – Basrah University

Corresponding author: H. Al-Taha altahahuda@gmai.com

Summary :

This study was conducted in plant tissue culture laboratory .college of Agriculture – Basra University, Iraq during the period 2016-2017, to study the effect of Auxin 2,4-D and cytokinin on callus induction , adventitious Shoot regeneration, and vegetative shoot multiplication of Christmas cactus (*Schlumbergera russelliana* ). Results revealed that 100 %of primary callus can be induced from cladodes segments cultured in MS medium containing 3.0 mg . L-1 of 2,4-D with 0.2 mg . L-1 of Cytokinin BA in 10

-15 days in dark .When the primary callus was recultured in the same medium for four weeks in dark conditions , a callus mass was increased and became white and more compact with brown spots . In addition, a red spots were formed in callus tissue, The macroscopic examination indicates formation of Anthocynin pigments. This callus did not show any adventitious Shoot regeneration when it was transferred into Ms medium containing cytokinin BA in concentration of 5 .0 mg. L-¹ with 0.2 mg. L-¹ NAA after 8 weeks culture in light . Results also showed a 70% of friable calli , with green color around the cut in base of cladodes segments were induced in MS medium containing 3 .0 mg . L-¹ of cytokinin BA with 2,4-D in concentration 0.2mg. L -¹ for 22- 27 days . In the same time, a shoot multiplication was observed in tip and cladodes sides . Green callus growth was continued with root transferred into a new MS medium containing 5.0 mg. L-¹cytokinin BA with 0.2mg . L-¹ NAA and incubation for 8 weeks in light conditions , a small rounded in shape cladodes were observed under microscopic examination. These cladodes had a small spine. The cladodes were enlarged at the end of incubation period and appeared at callus surface forming adventitious Shoots bounded with friable callus.

Key words : callus , adventitious Shoots, shoot multiplications, Christmas cactus .

*This research is a part of Msc study of the second author