تضاعف العقد واستحداث وتمايز كالس نبات ست الحسن *Atropa belladonna* L.

هبة نواف أحمد العكيدي[1] وبشار زكي قصاب باشي
قسم البستنة وهندسة الحدائق– كلية الزراعة والغابات– جامعة الموصل

الخلاصـة

زرعت عقد نبات ست الحسن *Atropa belladonna* L. الناتجة من الزراعة النسيجية على وسط MS المجهز بالبنزايل ادنين بالتراكيز (0,0، 0,25، 0,5، 0,75، 1,0) ملغم/لتر وأخذت البيانات بعد أربعة وثمانية اسابيع من الزراعة، لتجذير اطراف الافرع الناتجة من التضاعف زرعت على وسط MS المزود بـ IBA و IAA بالتراكيز (0,0، 0,5، 1,0، 1,5، 2,0) ملغم/لتر، كما زرعت أطراف الأفرع وأجزاء من الأوراق الحقيقية والأوراق الفلقية والسويقة الجنينية السفلى والجذور على وسط MS الصلب المزود بالتراكيز (0,0، 0,25، 0,5، 0,75، 1,0) ملغم/لتر 2,4-D بهدف إستحداث الكالس وتمايزه وأخذت بياناتها بعد 4 و 8 أسابيع من الزراعة. تشير النتائج الى ان زراعة العقد على وسط MS المزود بـ 0,75 ملغم /لتر BA كونت اعلى معدل لعدد الأفرع 7 فرع/جزء نباتي بعد 8 أسابيع من الزراعة والحصول على اعلى المعدلات لعدد الافرع 1 فرع/جزء نباتي من زراعة القمم النامية عند التركيز 0،25 ملغم/لتر 2,4-D وذلك بعد 8 أسابيع من الزراعة، وتم الحصول على اعلى معدل لعدد الافرع 1 فرع/جزء نباتي من زراعة الأوراق الحقيقية على وسط MS المزود بـ 0,75 و 1,0 ملغم/لتر 2,4-D وذلك بعد 8 أسابيع من الزراعة، وحصل على اعلى معدل لعدد الافرع 1 فرع/جزء نباتي من زراعة الأوراق الفلقية على وسط MS المزود بـ 0,25 و 0,5 ملغم/لتر 2,4-D وذلك بعد 8 اسابيع من الزراعة، وحصل على اعلى معدل لعدد الافرع 1 فرع/جزء نباتي من زراعة السويقة الجنينية السفلى على وسط MS المزود بـ 0,25 و 0,5 و 0,75 ملغم/لتر 2,4-D وذلك بعد 8 اسابيع من الزراعة، وكان اعلى معدل لعدد الجذور 51,30 جذر/ جزء نباتي من زراعة الافرع على وسط MS المزود بـ 1,5 ملغم/لتر IBA، وكان اعلى وزن طري للكالس 2,17 غم من زراعة الأوراق الحقيقية على وسط MS المزود بـ 1,0 ملغم/لتر 2,4-D بعد 8 اسابيع من الزراعة.

الكلمات المفتاحية:
ست الحسن، عقد، كالس.
للمراسلة:
بشار زكي قصاب باشي
البريد الالكتروني:
bashybashar@yahoo.com
الاستلام: 2016/3/9
القبول: 2017/5/2

Nodes Multiplication, Callus Initiation and Differentiation of *Atropa belladonna* L.

Hiba N. A. Al-Akaidi and **Bashar Z. Kassab Bashi**
College of Agriculture and Forestry –Mosul Univ. Iraq

ABSTRACT

Nodes of Atropa belladonna L. produced in vitro cultured on MS medium supplemented with different concentration of BA for multiplication, multiple shoots cultured on MS medium supplemented with different concentrations of IBA or IAA for rooting, also cultured Shoot tips, True leaves, Cotyledon leaves, Hypocotyle and parts of root on MS medium supplemented with different concentrations of 2,4-D for callus initiation and differentiation. Data refers that highest shoots number 7.00 shoot/explant achieved from cultured nodes on MS medium supplemented with 0.75 ml/l BA after 8 weeks, highest shoots number 1.00 shoot/explant achieved from cultured shoot tips on MS medium supplemented with 0.25 ml/l 2,4-D after 8 weeks, highest shoots number 1.00 shoot/explant obtained from True leaves cultured on MS medium supplemented with 0.75 and 1.0 mg/L 2,4-D after 8 weeks while highest shoots number 1.00 shoot/explant achieved from cultured

Key words:
Belladonna, Nodes, Callus.
Corresponding Author:
Bashar Z. Kassab Bashi
E-mail:
bashybashar@yahoo.com
Received: 9/3/2016
Accepted: 2/5/2017

[1] البحث مستل من أطروحة دكتوراه للباحث الاول

Cotyledon leaves on MS medium supplemented with 0.25 and 0.5 mg/L 2,4-D after 8 weeks while highest shoots number 1.00 shoot/explant achived from cultured Hypocotyle on MS medium supplemented with 0.25 ,0.5 and 0.75 mg/L 2,4-D after 8 weeks. Shoots produced in vitro rooting from cultured on MS medium supplemented with different concentration of IBA or IAA, highest roots number 51.30 root/explant obtained from cultured shoots on MS medium supplemented with 1.5 ml/l IBA after eight weeks, highest fresh weight of callus 2.17 were achived from culture True leaves on MS medium supplemented with 1.00 mg/L 2,4-D after 4 weeks.

المقدمة:

يعود نبات ست الحسن *Atropa belladonna* L. والمعروف باسم Belladonna الى عائلة Solanaceae التي تضم 90 جنساً و2000 نوع من النباتات، ويعد وسط أوربا وجنوبها الموطن الأصلي للنبات ومنه أنتشر الى وسط أسيا وغربها وصولاً الى الهملايا وإلى المغرب والجزائر جنوباً، ويزرع في أنكلترا، فرنسا، والولايات المتحدة الأمريكية. ونبات البلادونا نبات معروف منذ القدم إذ إن أول تشخيص للنبات كان في عام 1504م (سعد الدين وأخرون، 2005). وتسمية النبات Atropa يعتقد بأنه أشتق من الألهة اليونانية Atropos أما Belladonna فهو مشتق من اللغة الأيطالية وتعني السيدة الجميلة (Spiegl وFritz، 1996). وإن تسميتها بلادونا يشير الى إستخدامها من قبل النساء الإيطاليات لتوسيع حدقات عيونهن مما يجعلهن أكثر جاذبية (الدجوي، 1996). ولست الحسن أسماء عديدة منها الشب الظريف، بلادونا، عشبة الأتروبين واللفاح (العرقاوي، 2009)، ومن أسمائه أيضاً deadly nightshade، dwale ، banewort ، devils cherries و devils herb (Spiegl و Frtiz،1996). نبات البلادونا عشبي شجيري معمر دائم الخضرة له جذور سميكة والأوراق بسيطة معنقة متقابلة الوضع في الجزء العلوي من النبات ومتبادلة الوضع في الجزء السفلي منه بيضاوية أو قلبية الشكل قمتها حادة وحافتها ملساء ولونها أخضر داكن، الأزهار صغيرة فردية أو مزدوجة نادراً، تخرج من أبط الأوراق وشكلها جرسي ولونها أخضر قرمزي خفيف، الثمار كروية صغيرة كرزية الشكل لونها أخضر يتحول الى الأحمر فالأسود عند النضج وتحتوي بداخلها الكثير من البذور ذات لون أصفر رمادي، يبلغ إرتفاع النبات 100 سم وأحياناً يصل الى 150 سم، يتكاثر النبات بالبذور وأفضل موعد لنثر البذور أول الربيع في المناطق المعتدلة وأول الصيف للمناطق الباردة، وتكون صعبة الانبات بسبب صلابة غلاف البذرة ويحدث الانبات خلال عدة اسابيع من الزراعة (العرقاوي، 2009 والمنظمة العربية للتنمية الزراعية، 1988 والشحات،1986). تعد تقانة الزراعة النسيجية إحدى التقانات الحيوية التي لعبت ولازالت تلعب دوراً مهماً في خدمة الأنسان في مجالات عديدة ومنها لاسيما في مجال إكثار أنواع عديدة من النباتات لما تمتاز به هذه الطريقة من ميزات لعل من أهمها الحصول على أعداد هائلة من النباتات الخالية من المسببات المرضية والمشابهة للنبات الأم في وقت قصير نسبياً وفي أي وقت من أوقات السنة، فضلاً عن استعمال هذه التقانة في مجالات بحثية وتطبيقية منها تربية وتحسين النبات وإنتاج العقاقير الطبية والأدوية والإكثار السلالي السريع الذي يعد من التطبيقات ذات الأهمية الكبيرة التي تتم بإتباع طرائق مختلفة للتمايز والتكوين الشكلي مثل تكوين البراعم العرضية وتحفيز نمو البراعم الأبطية وإستحداث الأجنة اللاجنسية (الأجنة الجسمية) فضلاً عن دراسة الجوانب الأساسية لنمو وتطور النبات والأيض الثانوي (Gupta وأخرون، 2006 و Kasumi وأخرون، 2004 و Ford، 2000 والكناني، 1987). إن النباتات ومنذ زمن بعيد لها أهمية بالغة ليس بوصفها مصدراً للغذاء فحسب وإنما تعد مصدراً للحصول على مدى واسع من المواد الكيميائية كالمركبات الدوائية، ومبيدات الأعشاب، والمطيبات، والعطور، والألوان (Dixon، 1985). حسب ماذكره Ober (2003) وTripathi وTripathi (2003) تشير تقارير منظمة الصحة العالمية إلى إن 80 ٪ من سكان العالم لازالو يعتمدون على العلاج بالنباتات ومنها الأعشاب، وأثبتت التجارب إن المادة الفعالة المصنعة مختبرياً لاتؤدي التأثير الفسيولوجي الذي تؤديه نفس المادة الفعالة المستخلصة من النباتات الطبية (حسين، 1981)، ومن المواد الطبية المهمة قلويدات التروبان التي تم التعرف على أكثر من 18 قلويداً منها (Zayed و Wink، 2004) المستخدمة في تنبيه وتنشيط الجهاز العصبي المركزي كما

تقوم بتقليل وتخفيض الإفرازات الغدية وخاصة اللعابية والعرقية، كما تعمل على تسكين الام الربو وتخفيف حالات الكحة والسعال الديكي وأيضاً تعمل على تهدئة حركات المعدة والأمعاء وتسكينها وإزالة المغص الذي يحدث منها عندما تتناول السموم بأنواعها المعدنية أو العضوية أو التعرض بتناول المبيدات الحشرية السامة يمكن وقف فعاليتها السمية مباشرة بإعطاء المتسمم (المريض) مادة كبريتات الأتروبين أو مشتقاتها المختلفة ويستعمل الأتروبين في طب العيون وفي الطب الشعبي تضاف الأوراق الجافة لنباتات ست الحسن مع أوراق التبغ أو الدخان لعمل لفائف علاجية بتدخينها مثل السيجار أو الغليون لتخفيف الالام الصدرية وضيق التنفس الناتجة من أمراض الربو الشعبي كما تستخدم لتهدئة الحالات العصبية والتشنجية الناتجة من أمراض الصرع والحالات النفسية الحادة ولبعض أنواع من الجنون والهياج العصبي وحالات الأزمات التنفسية الحادة (سعد الدين وأخرون،2005 و الشحات،1986). إذ أوضح Rodr وأخرون (1991) إن زراعة عقد نبات *Datura insignis* الناتجة من الزراعة النسيجية والمزروعة على وسط MS المجهز بـ 0,004 ملغم/لتر NAA مع 0,25 ملغم/لتر BA أعطت أعلى معدل للتضاعف 14,81 فرع/جزء نباتي بعد 4 أسابيع من الزراعة. ووجد Deliu وأخرون (2002) إن زراعة عقد نبات *Scopolia carniolica* الناتجة من الزراعة النسيجية والمزروعة على وسط MS المجهز بـ 0,5 ملغم/لتر TDZ مع 0,1 ملغم/لتر NAA أدت الى الحصول على أعلى نسبة إستجابة للزراعة النسيجية 100 ٪ وبمعدل عدد أفرع 3– 5 فرع/جزء نباتي بعد 4 أسابيع من الزراعة. وبين Loc و Kiet (2011) إن زراعة عقد نبات *Solanum hainanense* الناتجة من الزراعة النسيجية والمزروعة على وسط MS المجهز بـ 0,7 ملغم/لتر BA كونت أعلى معدل لطول الأفرع 2,11 سم بعد 4 أسابيع من الزراعة. وذكر Otroshy وأخرون (2011) إن زراعة عقد نبات الفلفل *Capsicum annuum* L. الناتجة من الزراعة النسيجية والمزروعة على وسط MS المجهز بـ 2 ملغم/لتر BA أعطت أعلى معدل لعدد الأفرع 0,26 فرع/جزء نباتي بعد 4 أسابيع من الزراعة. وعادةً تستخدم عدة أنواع من الاوكسينات لغرض تجذير أطراف الأفرع مثل: IAA و NAA، وأكثرها شيوعا IBA، إذ ذكر Al-Wasel (2000) إن زراعة أطراف أفرع نبات البلادونا *Atropa belladonna* L. الناتجة من الزراعة النسيجية على وسط MS الخالي من الهرمون كانت نسبة تجذيرها 100 ٪. وذكر Deliu وأخرون (2002) إن أطراف أفرع نبات *Scopolia carniolica* الناتجة من الزراعة النسيجية والمزروعة على وسط MS المجهز بـ 0,5 ملغم/لتر BA مع 1,5 ملغم/لتر IBA أعطت أعلى نسبة تجذير 97 ٪. وبين Ashrafuzzaman وأخرون (2009) إن زراعة أطراف أفرع نبات الفلفل *Capsicum annuum* الناتجة من الزراعة النسيجية على وسط MS المجهز بـ 0,1 ملغم/لتر NAA مع 0,05 ملغم/لتر IBA أدت الى الحصول على أعلى معدل لعدد الجذور 12 جذر/فرع. وأوضح Amiri وأخرون (2011) إن أطراف أفرع نبات الداتورة *Datura stramonium* L. الناتجة من الزراعة النسيجية والمزروعة على وسط MS المجهز بـ 0,5 ملغم/لتر IBA أعطت أعلى معدل لعدد الجذور 3–6 جذر/ فرع وبمعدل طول 6– 9,5 سم. وبين Loc و Kiet (2011) إن زراعة أطراف أفرع نبات *Solanum hainanense* الناتجة من الزراعة النسيجية والمزروعة على وسط MS المجهز بـ 0,5 ملغم/لتر IBA كونت أعلى معدل لعدد الجذور 3,29 جذر/فرع. بين حمد وجاسم (2011) إن زراعة القمة النامية والأوراق الفلقية والسويقة الجنينية السفلى المأخوذة من بادرات ناتجة من الزراعة النسيجية لنبات البلادونا *Atropa belladonna* L. على وسط MS المجهز بتراكيز مختلفة من 2,4-D كانت أفضل في إستحداث الكالس من الوسط المجهز بتراكيز مختلفة من NAA، إذ حصل على أعلى كمية كالس من الزراعة عند معاملة 1,5 ملغم/لتر 2,4-D 177,5 ملغم و 1,87 ملغم لكل من القمة النامية والأوراق الفلقية على التوالي، في حين حصل على أعلى كمية كالس 44,3 ملغم من زراعة السويقة الجنينية السفلى على وسط MS المجهز بـ 3,0 ملغم/لتر 2,4-D وذلك بعد 5 أسابيع من الزراعة. وذكرت الساعدي والكعبي (2012) إن زراعة القمة النامية والأوراق الفلقية والسويقة الجنينية السفلى المأخوذة من بادرات ناتجة من الزراعة النسيجية لنبات البلادونا *Atropa belladonna* L. على وسط MS المجهز بـ 0,8 ملغم/لتر BA مع 1,5 ملغم/لتر 2,4-D أدت إلى الحصول على أعلى كمية كالس 167,12 ملغم و 97,00 و 59,63 ملغم لكل من القمة النامية والأوراق الفلقية والسويقة الجنينية السفلى على التوالي وذلك بعد 5 أسابيع من الزراعة. وحصل Khater وأخرون (2013) على أعلى كمية كالس 1840 ملغم من زراعة اوراق نبات البلادونا *Atropa belladonna* L. على وسط MS المجهز بـ 2

ملغم/لتر 2,4-D بعد 4 أسابيع من الزراعة. ووجد Rodr وأخرون (1991) إن أعلى كمية كالس حصل عليه من زراعة عقد نبات *Datura insignis* على وسط MS المجهز بـ BA بتراكيز أعلى من 0,25 ملغم/لتر مع 0,25 ملغم/لتر NAA بعد 4 أسابيع من الزراعة. وبين Deliu وأخرون (2002) إن زراعة الجذور والساق والأوراق المأخوذة من بادرات ناتجة من الزراعة النسيجية لنبات *Scopolia carniolica* على وسط MS المجهز بـ 1,5 ملغم/لتر بكلورام مع 0,2 ملغم/لتر BA كونت أعلى كمية كالس 4.72 غم 3,065 غم و4,213 غم لكل من الجذور والساق والأوراق على التوالي. وذكر Saidon (2008) إمكانية إستحداث الكالس من زراعة الأوراق الفلقية والسويقة الجنينية السفلى المأخوذة من بادرات ناتجة من الزراعة النسيجية لنبات *Hyoscyamus niger* على وسط MS المجهز بـ 6 ملغم/لتر BA مع 0,5 ملغم/لتر NAA ومن ثم تمايز الكالس الى الأجنة الجسمية Embryogenesis. وحصل Ibrahim وأخرون (2009) على الكالس من زراعة الأوراق الفلقية والسويقة الجنينية السفلى والجذور المأخوذة من بادرات ناتجة من الزراعة النسيجية لنبات السكران *Hyoscyamus mutics* L. على الوسط الغذائي MS الذي يحتوي على تراكيز مختلفة من NAA متداخلة مع تراكيز مختلفة من Kin وتم الحصول على أعلى كمية كالس من الزراعة عند معاملة 2 ملغم/لتر NAA مع 0,5 ملغم/لتر Kin 5,59 غم و 6,13 غم و2,15غم لكل من الأوراق الفلقية والسويقة الجنينية السفلى والجذور على التوالي بعد 4 أسابيع من الزراعة ومن ثم تمايز الكالس المستحدث من الجذور والذي أعطى أفضل نسبة لتكوين الجذور 32,25 ٪ في حين أعطى الكالس المستحدث من الأوراق الفلقية أفضل نسبة لتكوين الأفرع 60,25 ٪ وذلك من تداخل تراكيز مختلفة NAA و Kin. وأشار Ashrafuzzaman وأخرون (2009) الى إمكانية تمايز الكالس المستحدث من زراعة السويقة الجنينية السفلى والأوراق الفلقية المأخوذة من بادرات ناتجة من الزراعة النسيجية لنبات الفلفل *Capsicum annuum* على وسط MS المجهز بـ 4 ملغم/لتر BA وبنسبة 80 ٪ 65 ٪ لكل من السويقة الجنينية السفلى والأوراق الفلقية على التوالي وذلك بعد 20 يوم من الزراعة. وذكر Amiri وأخرون (2011) إن زراعة أوراق نبات الداتورة *Datura stramonium* L. على وسط MS المجهز بـ 2 ملغم/لتر 2,4-D مع 0,5 ملغم/لتر Kin أعطت أعلى كمية كالس بعد 28 يوم من الزراعة ومن ثم تمايز الكالس الى أفرع خضرية من زراعتها على وسط MS المزود بـ 3 ملغم/لتر BA مع 1 ملغم/لتر NAA وكان أعلى معدل لعدد الأفرع 3–6 فرع /جزء نباتي بعد 22 يوم من الزراعة. وتمكن Aljibouri وأخرون (2012) من الحصول على أعلى كمية كالس 798 ملغم من زراعة أوراق نبات السكران *Hyoscyamus niger* L. على الوسط الغذائي MS المجهز بـ 2 ملغم/لتر NAA مع 0,5 ملغم/لتر BA بعد 6 أسابيع من الزراعة. وحصل Abdel Rahman وأخرون (2013) على الكالس من زراعة أوراق نبات الداتورة *Datura metel* على الوسط الغذائي MS الذي يحتوي على تراكيز مختلفة من BA متداخلة مع تراكيز مختلفة من NAA وكانت أعلى كمية كالس من الزراعة عند معاملة 1 ملغم/لتر BA مع 1 ملغم/لتر NAA بعد 4 أسابيع من الزراعة، في حين حصل على أعلى كمية كالس من زراعة أوراق نبات الداتورة *Datura stramonium* على وسط MS المجهز بـ 3 ملغم/لتر Kin مع 1 ملغم/لتر 2,4-D بعد 4 أسابيع من الزراعة.

المواد وطرق العمل:

وضعت بذور نبات ست الحسن المستحصل عليها من وحدة النباتات الطبية والعطرية التابعة لكلية الزراعة – جامعة بغداد تحت الماء الجاري لمدة 15 دقيقة، ثم غسلت بمسحوق الغسيل العادي لمدة 5 دقائق مع التحريك المستمر، بعدها غسلت بوضعها في مصفاة تحت الماء الجاري لمدة 5 دقائق، ثم نقلت الى منضدة الزراعة وأضيف إليها محلول هيبوكلورات الصوديوم NaOCl بنسبة 25 ٪ حجم : حجم ولمدة 15 دقيقة، (تم تحضيرها من محلول القاصر التجاري المحتوي 0,6٪ هيبوكلورات الصوديوم) بعدها غسلت بماء مقطر ومعقم لثلاث مرات متتالية لمدة 5 دقائق لكل مرة لإزالة التأثير الضار للمادة المعقمة، وبعد الانتهاء من عملية التعقيم نقلت البذور الى أطباق بتري معقمة فيها ورق ترشيح تركت لمدة خمس دقائق لتجف، وبذلك أصبحت البذور معدة للزراعة، وبعدها زرعت في وسط MS خالٍ من منظمات النمو وعند نمو البادرات أخذت العقد Nodes بطول 0,5 سم بهدف التضاعف بعد إزالة الأوراق الموجودة عليها عدت المرحلة الاولى من الزراعة لمدة 4 أسابيع مرحلة نشوء، وتم فيها زراعة الأجزاء النباتية (العقد)

على وسط MS المجهز بتراكيز مختلفة من منظمات النمو وأعيدت زراعة هذه الأجزاء (Reculture) لأربعة أسابيع أخرى على نفس أوساط مرحلة النشوء وعدت مرحلة تضاعف، وسجلت بيانات عن الجزء النباتي وتطوره عند نهاية كل مرحلة وشملت هذه المرحلة دراسة تأثير إضافة BA الى وسط MS بالتراكيز (0,0، 0,25، 0,5، 0,75، 1,0) ملغم/لتر في نشوء وتضاعف العقد المأخوذة من بادرات ناتجة من الزراعة النسيجية وأخذت بياناتها بعد 4 و 8 أسابيع من الزراعة، وتم دراسة تأثير تواجد IBA و IAA في وسط MS بالتراكيز (0,0، 0,5، 1,0، 1,5، 2,0) ملغم/لتر في تجذير الأفرع الناتجة من التضاعف وأخذت بياناتها بعد 4 أسابيع من الزراعة. استعملت لزراعة الاجزاء النباتية قناني زجاجية سعة 125 مل وضع بها 20 مل من الوسط الغذائي وضبطت الدالة الهيدروجينية عند 5,7 وغُطِّيت فوهة القنينة برقائق الألمنيوم، تم تعقيم الوسط الغذائي بجهاز المؤصدة (Autoclave) عند درجة حرارة 121مْ وتحت ضغط 1,04 كغم / سم^2 لمدة 20 دقيقة، بعد زراعة جميع الاجزاء النباتية للتجارب المختلفة نقلت الزروعات الى غرفة النمو تحت شدة اضاءة 3000 لوكس وبتعاقب يومي 16 ساعة ضوء يتبعها 8 ساعة ظلام مجهزة من أنابيب الفلورسنت البيضاء وبدرجة حرارة 25 ± 1 م°، أُستخدم التصميم العشوائي الكامل Complete Randomized Design في تحليل بيانات التجارب وتمت مقارنة المتوسطات حسب اختبار دنكن متعدد الحدود Duncan's multiple range test تحت مستوى احتمال 5٪ (الراوي وخلف الله، 1980). وكل معاملة ضمت عشرة مكررات، وكل مكرر احتوى على جزء نباتي واحد.

النتائج والمناقشة:

يبين الجدول (1) أن عقد نبات ست الحسن المزروعة على وسط MS المجهز بتراكيز مختلفة من BA فضلاً عن معاملة المقارنة إستجابت للزراعة النسيجية بنسبة 100٪ وإن الزراعة عند معاملة 0,75 ملغم/لتر BA أدت الى الحصول على أعلى معدل لعدد الأفرع 3,53 فرع/جزء نباتي متفوقة معنوياً عن باقي المعاملات وهذه بدورها أعطت أعلى معدل لطول الأفرع وعدد الأوراق إذ كانت 3,50 سم و6,70 ورقة/جزء نباتي على التوالي هذا لمرحلة النشوء، عند إعادة الزراعة 4 أسابيع أخرى (مرحلة التضاعف) كونت العقد المزروعة عند الوسط المزود بـ 0,75 ملغم/لتر BA أعلى معدل لعدد الأفرع وعدد الأوراق إذ كانت 7,00 فرع/جزء نباتي و 9,00 ورقة/جزء نباتي ومن الزراعة عند المعاملة نفسها تم إستحداث الكالس بنسبة 90 ٪ وبأعلى كمية للكالس المستحدث الشكل (1)، في حين تم الحصول على أعلى معدل لطول الأفرع 6,00 سم ومن الزراعة عند معاملة المقارنة، وتشير النتائج الى تجذير العقد المزروعة عند معاملة المقارنة بنسبة 100 ٪ وبمعدل 11 جذر/ جزء نباتي.

تفسر نتائج الجدول (1) في تضاعف الأجزاء المزروعة على أساس ان BA هو أحد السايتوكاينينات التي تلعب دورا في السيطرة على السيادة القمية وبالتالي زيادة عدد الأفرع ونتيجة لحصول حالة التوازن ما بين الهرمونات الداخلية ومنظمات النمو المضافة تم الحصول على أعلى القيم وان زيادة التركيز تؤدي إلى تقليل القيم لعدد الأفرع لان تأثيره يصبح عكسيا (Smith، 2000 و Hopkins و Hiiner، 2004)، وإن تكوين الأفرع والأوراق للأجزاء المزروعة عند معاملة المقارنة في مرحلة النشوء يعود إلى المحتوى الداخلي في أنسجة الجزء النباتي من الهرمونات النباتية (Murashige وSkoog، 1962)، وقد تفسر زيادة أطوال وعدد الأوراق للمعاملات المختلفة الى تأثير السايتوكاينينات في إنقسام وإستطالة الخلايا والذي بدوره ينعكس على صفات النمو فضلاً عن تأثيره على بناء الأحماض النووية (وصفي، 1995)، وقد يشير ظهور الكالس في بعض المعاملات الى ان استحداث الكالس على القطعة النباتية يعتمد على الهرمونات الداخلية، في حين ان قسما من القطع النباتية لاتستجيب لاستحداث الكالس ما لم يضاف الى الوسط بعض من منظمات النمو وذلك يعود أساسا الى المستوى الداخلي لهرمونات النمو فيها ومنظمات النمو التي تنظم استحداث الكالس (محمد وعمر، 1990). وهذا يتماشى مع Otroshy وأخرون (2011).

الجدول (1): تأثير BA في نشوء وتضاعف عقد نبات ست الحسن *Atropa belladonna* L. الناتجة من الزراعة النسيجية من زراعتها على وسط MS.

	مرحلة النشوء (بعد 4 أسابيع)			مرحلة التضاعف (بعد 8 أسابيع)						
BA (ملغم/لتر)	عدد الأفرع	طول الأفرع(سم)	عدد الاوراق	عدد الأفرع	طول الأفرع (سم)	عدد الاوراق	استحداث الكالس (٪)	حجم الكالس	التجذير (٪)	عدد الجذور
صفر	1,00 هـ	3,50 أ	5,00 د	1,20 هـ	6,00 أ	7,10 هـ	0,0 ج	–	100	11,00
0,25	1,90 د	2,75 ج	5,30 ج	3,10 د	4,00 ج	8,21 ب	40 ب	++	0,0	0,0
0,5	2,56 ب	2,90 ب	6,00 ب	4,00 ج	3,30 د	8,00 ج	80 أ	++	0,0	0,0
0,75	3,53 أ	3,50 أ	6,70 أ	7,00 أ	5,00 ب	9,00 أ	90 أ	+++	0,0	0,0
1,0	2,50 ج	2,50 د	6,00 ب	5,00 ب	4,00 ج	7,50 د	60 أ ب	+	0,0	0,0

*الأرقام ذات الأحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد المدى تحت مستوى احتمال 5٪.

الشكل (1): تأثير BA في تضاعف عقد نبات ست الحسن *Atropa belladonna* L. الناتجة من الزراعة النسيجية بعد 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS.

يبين الجدول (2) إن جميع معاملات IBA ومن ضمنها معاملة المقارنة كونت جذور وبنسبة 100 ٪ عدا معاملة 2,0 ملغم/لتر IBA التي كونت الجذور بنسبة 80 ٪، في حين أعطت الأجزاء النباتية المزروعة عند التركيز 1,5 ملغم/لتر IBA أفضل معدل لعدد الجذور 51,30 جذر/فرع الشكل (2) والتي بدورها تفوقت معنوياً على باقي معدلات المعاملات، كما يبين الجدول الحصول على أعلى معدل لطول الجذور 12,00 سم من الزراعة عند معاملة المقارنة والتي بدورها تفوقت معنوياً على معدلات باقي المعاملات، وتفسر هذه النتائج على أساس أن IBA هو أحد الأوكسينات التي تلعب دوراً هاماً في تنشيط إنقسام الخلايا فضلاً عن دوره في تحفيز تكوين الجذور في مناطق القطع، وإن إضافة منظمات النمو يؤدي الى زيادة معدلات عدد الجذور وأطوالها وصولاً الى التركيز الأمثل وإن زيادة التركيز تؤدي الى تأثيرات عكسية (Hartmann وأخرون، 2002)، وقد يعود السبب الى الحصول على نسبة تجذير 100٪ في الأجزاء المزروعة عند معاملة المقارنة الى أن هذه الأجزاء كانت تحتوي على الأوكسين لكونها أخذت من زروعات

بعمر شهرين التي بدورها إعتمدت على تصنيع الغذاء بنفسها ومن ثم زيادة معدل تصنيع الهرمونات الداخلية ومن ضمنها الأوكسين (Hopkins وHiiner، 2004).وهذا يتوافق مع كل من Amiri وأخرون (2011) وLoc و Kiet (2011).

الجدول (2): تأثير IBA في تجذير أفرع نبات ست الحسن *Atropa belladonna* L. الناتجة من الزراعة النسيجية من زراعتها على وسط MS الصلب بعد 4 أسابيع من الزراعة.

IBA (ملغم/لتر)	التجذير (٪)	عدد الجذور	طول الجذور (سم)
0,0	100 أ	13,00 هـ	12,00 أ
0,5	100 أ	32,10 ج	5,40 ب
1,0	100 أ	43,20 ب	2,70 هـ
1,5	100 أ	51,30 أ	4,50 د
2,0	80 ب	30,00 د	5,00 ج

*الأرقام ذات الأحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى احتمال 5 ٪ .

الشكل (2): تأثير IBA في تجذير أفرع نبات ست الحسن *Atropa belladonna* L. الناتجة من الزراعة النسيجية من زراعتها على وسط MS الصلب بعد 4 أسابيع من الزراعة.

يبين الجدول (3) إن جميع معاملات IAA ومن ضمنها معاملة المقارنة كونت جذور وبنسبة 100 ٪ عدا معاملة 0,5 و 1,0 ملغم/لتر IAA التي كونت الجذور بنسبة 90 ٪، في حين أعطت الأجزاء النباتية المزروعة عند التركيز 2,0 ملغم/لتر IAA أفضل معدل لعدد الجذور 21,20 جذر/فرع والتي بدورها تفوقت معنوياً على باقي معدلات المعاملات، كما يبين الجدول الحصول على أعلى معدل لطول الجذور 12,00 سم من الزراعة عند معاملة المقارنة والتي بدورها تفوقت معنوياً على معدلات باقي المعاملات.

الجدول (3): تأثير IAA في تجذير أفرع نبات ست الحسن *Atropa belladonna* L. الناتجة من الزراعة النسيجية من زراعتها على وسط MS الصلب بعد 4

IAA (ملغم/لتر)	التجذير (٪)	عدد الجذور	طول الجذور (سم)
0,0	100 أ	13,00 هـ	12,00 أ
0,5	90 أسابيع من الزراعة .أ	15,30 د	7,00 ب
1,0	90 أ	17,00 ج	4,60 ج
1,5	100 أ	18,30 ب	3,00 هـ
2,0	100 أ	21,20 أ	3,70 د

*الأرقام ذات الأحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى احتمال 5 ٪ .

ومن مراجعة نتائج الجدولين (2 و 3) نلاحظ اختلاف استجابة الأجزاء النباتية لمنظمات النمو المختلفة (IBA وIAA) وتراكيزها معتمداً على محتواها من الهرمونات الداخلية أو إلى نشاط فعالية الاوكسينات المضافة (Hartmann وآخرون ، 2002) وعموماً نجد ان IBA كان أفضل من IAA من حيث النسبة المئوية للتجذير وعدد الجذور قد يعود السبب في ذلك إلى أن IAA سهل التحلل سواءً بالأنزيمات أو الأكسدة بالإضاءة مقارنة مع IBA الذي يتحلل ببطء نسبياً بواسطة الأنزيمات التي تحطم الاوكسينات وهي صفة مرغوبة لبقاء الاوكسينات فترة أطول في الأنسجة (وصفي، 1995).

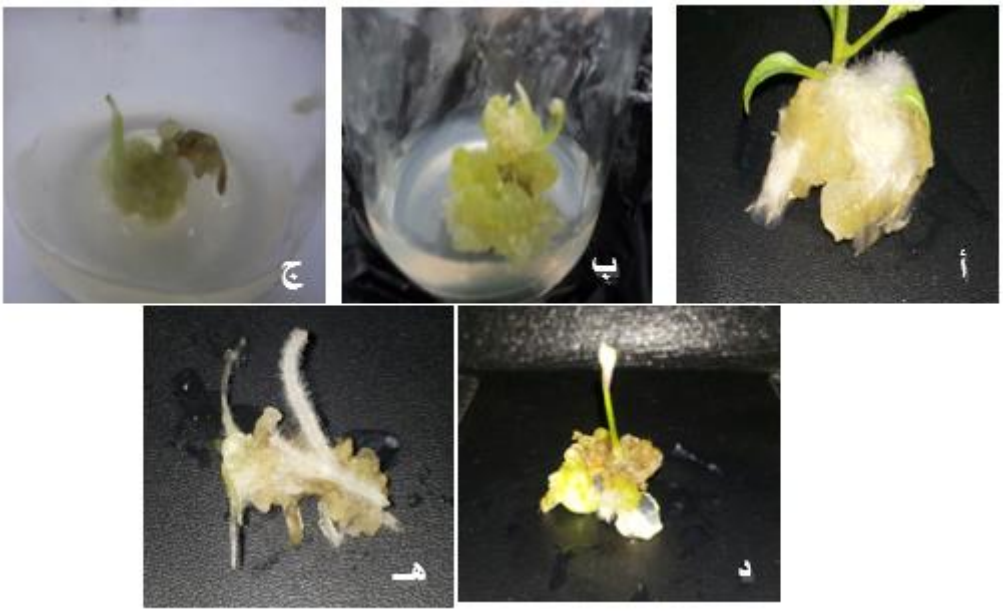
يبين الجدول (4) تأثير 2,4-D في إستحداث مزارع الكالس وتمايزه من زراعة أجزاء القمم النامية الناتجة من الزراعة النسيجية، إذ تم إستحداث الكالس وبنسبة 100 ٪ من معاملة 0,5 ملغم/لتر 2,4-D وبوزن رطب 0,90 غم/جزء نباتي بعد 4 أسابيع من الزراعة متفوقة معنوياً عن باقي المعاملات وهذه المعاملة بدورها أعطت أعلى وزن رطب 1,92 غم/جزء نباتي بعد 8 أسابيع من الزراعة الشكل (3– أ) وكان محتواها من البروتين 0,20 ملغم/غرام، في حين أعطت الأجزاء النباتية المزروعة عند معاملة 0,25 ملغم/لتر 2,4-D أعلى نسبة مئوية لتكوين الأفرع 10 ٪ بمعدل عدد أفرع 1 فرع/جزء نباتي وأعطت أعلى نسبة مئوية للأجزاء التي كونت جذور 100٪ وذلك بعد 8 أسابيع من الزراعة.

الجدول (4): تأثير 2,4-D في إستحداث وتمايز الكالس من زراعة أجزاء القمم النامية الناتجة من الزراعة النسيجية لنبات ست الحسن *Atropa belladonna* L. على وسط MS الصلب بعد 4 و8 أسابيع من الزراعة.

2,4-D (ملغم/لتر)	بعد 4 أسابيع		بعد 8 أسابيع				
	استحداث الكالس (٪)	وزن الكالس الرطب(غم)	وزن الكالس الرطب(غم)	الأجزاء التي كونت أفرع (٪)	عدد الأفرع / جزء نباتي	الأجزاء التي كونت جذور (٪)	محتوى البروتين (ملغم/غم)
0,0	**0,0** ج	**0,0** هـ	**0,0** أ	**0,0**	**0,0**	**0,0** ج	**0,0**
0,25	**40** ب	**0,50** ب	**1,68** ب	**10** أ	**1,0**	**100** أ	0,48
0,5	**100** أ	**0,90** أ	**1,92** أ	**0,0** أ	**0,0**	**80** ب	0,20
0,75	**70** أ ب	**0,32** ج	**0,44** ج	**0,0** أ	**0,0**	**0,0** ج	0,46
1,0	**70** أ ب	**0,26** د	**0,41** د	**0,0** أ	**0,0**	**0,0** ج	0,51

* الأرقام ذات الأحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى احتمال 5 ٪.

قد تفسر عملية تكوين الكالس على أساس الطاقة الكامنة (Totipotency) للخلايا مقترنة بوجود العوامل الداخلية المتعلقة بالتركيب الوراثي للخلايا النباتية ومستوى الهرمونات والفيتامينات فضلا عن توافق الوسط الغذائي والإضافة الخارجية لمنظمات النمو بالتراكيز الملائمة التي تعزز انقسام خلايا الأجزاء النباتية المختلفة التي قد تتباين قابليتها اعتمادا على مصدرها (Margl واخرون ،2002). وقد يعود السبب في تكوين الأفرع في إحدى المعاملات إلى حدوث حالة توازن بين الهرمونات الداخلية للجزء النباتي المزروع مع ما مضاف من منظمات خارجية وحصول حالة توازن بينها مما أدى إلى تكوين الأفرع (محمد و الريس، 1982)، أو ربما يعود السبب إلى أن حث تكون ونمو الكالس والتمايز اللاحق وتكوين الأعضاء ينجز بوساطة الإضافات المختلفة لمنظمات النمو، وبوجود التحفيز الناتج من مواد النمو ذاتية المنشأ، أو بالإضافة الخارجية لمنظمات النمو لمواد الوسط الغذائي سوف تنقسم الخلية وتنمو ويتمايز النسيج النباتي الناتج، وقد اثبت العلماء أن عدد الأفرع الخضرية الناتجة من تمايز القطعة النباتية يعتمد على تركيز منظمات النمو والتركيب الجيني للقطعة النباتية نفسها (Bryant و Chianante، 1997)، أو ربما يرجع سبب تكون الأفرع إلى توافر مستويات مثلى من منظمات النمو في الوسط، فضلا عن كفاءة وقدرة الخلايا المؤهلة للتمايز (النعيمي و الملاح، 1996 و Purohit، 1999). أما السبب في تكوين الشعيرات الجذرية قد يعود الى أن 2,4-D هو أحد الأوكسينات التي شجعت تكوين الجذور نتيجة لإنقسام الخلايا وإستطالتها نتيجة لإستقطاب المواد الغذائية والمواد المحفزة للتجذير وبناء الأحماض النووية في الخلايا مما يساعد على ظهور أو تكوين مبادئ الجذور (Hartmann وأخرون، 2002). وهذا يتماشى مع حمد وجاسم (2011).



الشكل (3): إستحداث الكالس وتمايزه من زراعة أجزاء مختلفة لنبات ست الحسن *Atropa belladonna* L. على وسط MS الصلب بعد 8 أسابيع من الزراعة أ- قمة نامية (0,5 ملغم/لتر 2,4-D) ب- ورقة حقيقية (1,0 ملغم/لتر 2,4-D) ج- ورقة فلقية (0,25 ملغم/لتر 2,4-D) د- سويقة الجنينية السفلى (0,25 ملغم/لتر 2,4-D) هـ- أجزاء الجذر (0,25 ملغم/لتر 2,4-D).

يبين الجدول (5) تأثير 2,4-D في إستحداث مزارع الكالس وتمايزه من زراعة أجزاء الأوراق الحقيقية الناتجة من الزراعة النسيجية، إذ تم إستحداث الكالس وبنسبة 100 ٪ من معاملة 1,0 ملغم/لتر 2,4-D وبوزن رطب 0,97 غم/جزء نباتي بعد 4 أسابيع من الزراعة متفوقة معنوياً عن باقي المعاملات وهذه المعاملة بدورها أعطت أعلى وزن رطب 2,17 غم/جزء نباتي بعد 8 أسابيع من الزراعة والتي أعطت أعلى كمية من البروتين 0,29 ملغم/غرام، في حين أعطت الأجزاء النباتية المزروعة عند المعاملة نفسها بالإضافة لمعاملة 0,75 ملغم/لتر 2,4-D أعلى نسبة مئوية لتكوين الأفرع 10 ٪ بمعدل عدد أفرع 1 فرع/جزء نباتي وبنسبة مئوية للأجزاء

التي كونت جذور 20٪ وذلك بعد 8 أسابيع من الزراعة الشكل (3– ب)، قد تفسر هذه النتائج على ضوء ما ذكر في تفسير نتائج الجدول (4).

الجدول (5): تأثير 2,4-D في إستحداث وتمايز الكالس من زراعة أجزاء الأوراق الحقيقية الناتجة من الزراعة النسيجية لنبات ست الحسن *Atropa belladonna* L. على وسط MS الصلب بعد 4 و 8 أسابيع من الزراعة.

2,4-D (ملغم/لتر)	بعد 4 أسابيع		بعد 8 أسابيع				
	استحداث الكالس (٪)	وزن الكالس الرطب(غم)	وزن الكالس الرطب(غم)	الأجزاء التي كونت أفرع (٪)	عدد الأفرع / جزء نباتي	الأجزاء التي كونت جذور (٪)	محتوى البروتين (ملغم/غم)
0,0	50 ج	0,33هـ	0,47هـ	0,0 أ	0,0	0,0 أ	0,0
0,25	60 ب ج	0,37 د	0,53 د	0,0 أ	0,0	30 أ	0,26
0,5	80 أ ب ج	0,51 ب	1,15 ب	0,0 أ	0,0	30 أ	0,27
0,75	90 أ ب	0,48 ج	0,77 ج	10 أ	1,0	20 أ	0,20
1,0	100 أ	0,97 أ	2,17 أ	10 أ	1,0	20 أ	0,29

* الأرقام ذات الأحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى احتمال 5 ٪.

يبين الجدول (6) تأثير 2,4-D في إستحداث مزارع الكالس وتمايزه من زراعة أجزاء الأوراق الفلقية الناتجة من الزراعة النسيجية، إذ تم إستحداث الكالس وبنسبة 70٪ من معاملة 0,25 ملغم/لتر 2,4-D وبوزن رطب 0,44 غم/جزء نباتي بعد 4 أسابيع من الزراعة متفوقة معنوياً عن باقي المعاملات وهذه المعاملة بدورها أعطت أعلى وزن رطب 0,92 غم/جزء نباتي بعد 8 أسابيع من الزراعة وكان محتواها من البروتين 0,37 ملغم/غرام، في حين أعطت الأجزاء النباتية المزروعة عند المعاملة نفسها بالإضافة لمعاملة 0,5 ملغم/لتر 2,4-D أعلى نسبة مئوية لتكوين الأفرع 10 ٪ بمعدل عدد أفرع 1 فرع/جزء نباتي وبنسبة مئوية للأجزاء التي كونت جذور 20٪ و30٪ على التوالي وذلك بعد 8 أسابيع من الزراعة الشكل (3– ج)، تفسر هذه النتائج على ضوء ما ذكر في تفسير نتائج الجدول (4). وهذا يتماشى مع حمد وجاسم (2011).

الجدول (6): تأثير 2,4-D في إستحداث وتمايز الكالس من زراعة أجزاء الأوراق الفلقية الناتجة من الزراعة النسيجية لنبات ست الحسن *Atropa belladonna* L. على وسط MS الصلب بعد 4 و 8 أسابيع من الزراعة.

2,4-D (ملغم/لتر)	بعد 4 أسابيع		بعد 8 أسابيع				
	استحداث الكالس (٪)	وزن الكالس الرطب(غم)	وزن الكالس الرطب(غم)	الأجزاء التي كونت أفرع (٪)	عدد الأفرع / جزء نباتي	الأجزاء التي كونت جذور (٪)	محتوى البروتين (ملغم/غم)
0,0	50 أ	0,22هـ	0,29 هـ	0,0 أ	0,0	0,0 ب	0,0
0,25	70 أ	0,44 أ	0,92 أ	10 أ	1,0	20 أ ب	0,37
0,5	90 أ	0,34 ب	0,82 ب	10 أ	1,0	30 أ	0,22
0,75	70 أ	0,27 د	0,70 ج	0,0 أ	0,0	0,0 ب	0,27
1,0	70 أ	0,29 ج	0,50 د	0,0 أ	0,0	0,0 ب	0,49

* الأرقام ذات الأحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى احتمال 5 ٪.

يبين الجدول (7) تأثير 2,4-D في إستحداث مزارع الكالس وتمايزه من زراعة أجزاء السويقة الجنينية السفلى الناتجة من الزراعة النسيجية، إذ تم إستحداث الكالس وبنسبة 100٪ من معاملة 0,25ملغم/لتر 2,4-D وبوزن رطب 0,88 غم/جزء نباتي بعد 4 أسابيع من الزراعة متفوقة معنوياً عن باقي المعاملات وهذه المعاملة بدورها أعطت أعلى وزن رطب 2,15 غم/جزء نباتي بعد 8 أسابيع من الزراعة وكان محتواها من البروتين 0,23 ملغم/غرام، في حين أعطت الأجزاء النباتية المزروعة عند المعاملة نفسها أعلى نسبة مئوية لتكوين الأفرع 30 ٪ بمعدل عدد أفرع 1 فرع/جزء نباتي وبنسبة مئوية للأجزاء التي كونت جذور 30٪ وذلك بعد 8 أسابيع من الزراعة الشكل (3– د)، تفسر هذه النتائج على ضوء ما ذكر في تفسير نتائج الجدول (4). وهذا يتماشى مع حمد وجاسم (2011)، كما يبين الجدول إن معاملة 1 ملغم/لتر 2,4-D إحتوت على أعلى كمية للبروتين 0,52 ملغم/غم من الكالس المتكون ربما يعود السبب في ذلك إلى إن هذه المعاملة لم يتم تمايز الكالس فيها إلى أفرع وجذور كما في المعاملات الأخرى والذي أدى إلى إستخدام البروتين في عمليات تمايز الخلايا الى أفرع وجذور إذ من المعلوم إن البروتين يتحلل بفعل الأنزيمات إلى أحماض أمينية التي يحتاجها النبات لبناء بعض الهرمونات في الخلايا النباتية من أجل تمايزها إلى أفرع أوجذور (وصفي، 1995).

الجدول (7): تأثير 2,4-D في إستحداث وتمايز الكالس من زراعة أجزاء السويقة الجنينية السفلى الناتجة من الزراعة النسيجية لنبات ست الحسن *Atropa belladonna* L. على وسط MS الصلب بعد 4 و 8 أسابيع من الزراعة.

2,4-D (ملغم/لتر)	بعد 4 أسابيع		بعد 8 أسابيع				
	استحداث الكالس (٪)	وزن الكالس الرطب(غم)	وزن الكالس الرطب(غم)	الأجزاء التي كونت أفرع (٪)	عدد الأفرع / جزء نباتي	الأجزاء التي كونت جذور (٪)	محتوى البروتين (ملغم/غم)
0,0	0,0 ج	0,0 هـ	0,0 هـ	0,0 ب	0,0	0,0 ب	**0,0**
0,25	100 أ	0,88 أ	2,15 أ	30 أ	1,0	30 أ	0,23
0,5	100 أ	0,45 ب	0,87 ب	10 أ ب	1,0	0,0 ب	0,20
0,75	90 أ ب	0,38 ج	0,55 د	10 أ ب	1,0	0,0 ب	0,30
1,0	70 ب	0,29 د	0,67 ج	0,0 ب	0,0	0,0 ب	0,52

* الأرقام ذات الأحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى احتمال 5 ٪.

يبين الجدول (8) تأثير 2,4-D في إستحداث مزارع الكالس وتمايزه من زراعة أجزاء الجذور الناتجة من الزراعة النسيجية إذ إن جميع معاملات 2,4-D كونت الكالس وتفوقت معنوياً على الأجزاء المزروعة عند معاملة المقارنة، وتم إستحداث الكالس بنسبة 80٪ من معاملة 0,25ملغم/لتر 2,4-D الشكل (3– هـ) وبوزن رطب 0,67 غم/جزء نباتي بعد 4 أسابيع من الزراعة متفوقة معنوياً عن باقي المعاملات وهذه المعاملة بدورها أعطت أعلى وزن رطب 1,71 غم/جزء نباتي بعد 8 أسابيع من الزراعة وكان محتواها من البروتين 0,22 ملغم/غرام، كما يلاحظ من الجدول إن الكالس المتكون عند معاملة 0,5ملغم/لتر و0,75ملغم/لتر 2,4-D أحتوت أعلى كمية بروتين 0,54 و 0,51ملغم/غرام على التوالي، وكونت الأجزاء النباتية المزروعة عند المعاملات المختلفة الجذور بنسبة 100٪ بعد 8 أسابيع من الزراعة في حين لم تتكون الجذور للأجزاء المزروعة عند معاملة المقارنة، تفسر هذه النتائج على ضوء ما ذكر في تفسير نتائج الجدول (4).

الجدول (8): تأثير 2,4-D في إستحداث وتمايز الكالس من زراعة أجزاء الجذور الناتجة من الزراعة النسيجية لنبات ست الحسن *Atropa belladonna* L. على وسط MS الصلب بعد 4 و8 أسابيع من الزراعة.

2,4-D (ملغم/لتر)	بعد 4 أسابيع		بعد 8 أسابيع				
	استحداث الكالس (٪)	وزن الكالس الرطب(غم)	وزن الكالس الرطب(غم)	الأجزاء التي كونت أفرع (٪)	عدد الأفرع / جزء نباتي	الأجزاء التي كونت جذور (٪)	محتوى البروتين (ملغم/غم)
0,0	0,0 ب	0,0 هـ	0,0	0,0	0,0	0,0 ب	0,0
0,25	80 أ	0,67 أ	1,71 أ	0,0	0,0	100 أ	0,22
0,5	70 أ	0,17 ج	0,59 ب	0,0	0,0	100 أ	0,54
0,75	100 أ	0,26 ب	0,44 د	0,0	0,0	100 أ	0,51
1,0	70 أ	0,16 د	0,45 ج	0,0	0,0	100 أ	0,31

* الأرقام ذات الأحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى احتمال 5 ٪.

قد تفسر اختلاف استجابة الاجزاء النباتية المختلفة (القمم النامية، الأوراق الحقيقية، الأوراق الفلقية، السويقة الجنينية السفلى والجذور) لاستحداث الكالس معتمدة على تراكيز منظمات النمو هو ان عملية استحداث الكالس تعتمد على عدة عوامل منها ظروف الزراعة ونوع الجزء النباتي المستخدم ومصدره بالإضافة الى محتوى وسط الزراعة من منظمات النمو (محمد وعمر،1990). نستنتج من هذه الدراسة الحصول على أعلى معدل لعدد الأفرع 7,00 فرع/جزء نباتي من زراعة العقد على وسط MS المزود بـ 0,75ملغم/لتر BA وذلك بعد 8 أسابيع من الزراعة، ومن ثم زراعة أطراف الأفرع الناتجة من التضاعف على وسط MS المزود بـ 1,5 ملغم/لتر IBA أدت الى الحصول على نسبة تجذير 100 ٪ وبأعلى معدل لعدد الجذور 51,30 جذر/فرع وذلك بعد 4 أسابيع من الزراعة، وبالاضافة الى إستحداث الكالس وتمايزه من أجزاء مختلفة للبادرات الناتجة من الزراعة النسيجية.

المصادر:

حسين، فوزي طه قطب (1981). النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها. دار المريخ للنشر، الرياض– السعودية.

حمد، محمد شهاب ونورا جبر جاسم (2011). تأثير مكونات الوسط الغذائي والجزء النباتي في إستحثاث الكالس لنبات البلادونا خارج الجسم الحي. مجلة العلوم الزراعية العراقية، 42 (3) : 59 – 70.

الدجوي، علي (1996). موسوعة النباتات الطبية والعطرية. مكتبة مدبولي، مطبعة أطلس (الكتاب الثاني).

الراوي، خاشع محمود وعبد العزيز محمد خلف الله (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. مطابع دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، العراق.

الساعدي، نورا جبر جاسم وظافر هادي الكعبي (2012). تأثير 2,4-D والـ BA والجزء النباتي في إستحثاث كالس نبات البلادونا خارج الجسم الحي. مجلة جامعة كربلاء العلمية، 10 (4) : 57– 65.

سعد الدين، شروق محمد كاظم وعادل يوسف نصر الله ومدحت الساهوكي (2005). نمو وحاصل وقلويدات البلادونا . *Atropa belladonna* L تاثير مواعيد الزراعة والشتل في صفات نمو وحاصل النباتات في الحقل المكشوف. مجلة العلوم الزراعية العراقية، 36 (1) :80-75.

الشحات، نصر أبو زيد (1986). النباتات والأعشاب الطبية. دار البحار بيروت، لبنان.

العرقاوي، نبيل (2009). موسوعة النباتات الطبية المصورة. الطبعة الأولى. إتحاد الناشرين السوريين.

الكناني، فيصل رشيد (1987). زراعة الأنسجة والخلايا النباتية. مديرية دار الكتب والطباعة/جامعة الموصل– العراق.

محمد، عبد العظيم كاظم وعبد الهادي الريس (1982). فسلجة النبات. دار الكتب للطباعة والنشر / بغداد– العراق.

محمد، عبد المطلب سيد ومبشر صالح عمر (1990). المفاهيم الرئيسية في زراعة الخلايا والأعضاء للنبات. مديرية دار الكتب للطباعة والنشر/ جامعة الموصل – العراق.

المنظمة العربية للتنمية الزراعية (1988). النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي. جامعة الدول العربية، الخرطوم - السودان.

النعيمي، عبد الله نجم ومزاحم قاسم الملاح (1996). استحداث وتمايز كالس الأوراق، القمم النامية والأوراق الابتدائية لبادرات فول الصويا *Glycine max*. مجلة التربية والعلم، 25: 32–40.

وصفي، عماد الدين حسين (1995). منظمات النمو والأزهار واستخدامها في الزراعة. الأكاديمية. القاهرة ـ مصر.

Abdel Rahman, R.; S. E. Gomma; N.R. Abdel Salam; H.M.F. El-Wakil; A.S. Khaled and H.M. Hassan (2013). Effect of sodium chloride on tropan alkaloids accumulation and proline content in *Datura metel* and *D.stramonium* callus cultres. International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research , 1(2) : 197-210.

Aljibouri, A. M. J. ; K. W. Al- Samarrai; A. S. Abd; D. M. Mageed and A. J. A. Ali (2012). Alkaloids production from callus of *Hyoscyamus niger* L. *In Vitro*. Journal of Life Sciences, 6 : 874 – 882.

Al-Wasel, A .S. A. (2000). *In Vitro* regeneration of *Atropa belladonna* L. from leaf discs. Bulletin of Faculty of Agriculture, 51 (4) : 489 – 500.

Amiri, S. ; S. K. Kazemitabar ; G.A. Ranjbar and M. Azadbakht (2011). *In Vitro* propagation and whole plant regeneration from callus in Datura (*Datura stramonium* L.). African Journal of Biotechnology, 10(3) : 442 – 448.

Ashrafuzzaman, M.; M. M. Hossain; M. R. Ismail; M. S. Haque; S. M. Shahidullah and S. Uz – Zaman (2009). Regeneration potential of seedling explant of Chilli (*Capsicum annuum*). African Journal of Biotechnology, 8 (4) : 591 – 596.

Bryant, J. and D. Chianante (1997) . " Plant Cell Proliferation and its Regulation in Growth and Development". Jhon Wiley and Sons., NewYork.

Deliu, C.; A. Keul; C. Munteanu –Deliu; A. Coste; C. Stefanescu and M. Tamas (2002). Tropane alkaloid biosynthesisin tissue culture of *Scopolia carniolica* Jaco. Contributii Botanice, XXXVII.

Dixon, R.A. (1985). Plant Cell Culture; A Practical Approach. IRL Press. Oxford,UK.

Ford, K. G. (2000). Biological and Biomedical Science. Plant Science, Botany- General. McGraw – Hill com. pp. 1-6.

Gupta, S.; A. Dutta and Y. Ibarakl (2006). Plant Tissue Culture Engineering. Vol. 6. The Background. Springer. 496 pages.

Hartmann, H.T. ; D.E. Kester ; F.T. Davies and R.L. Geneve (2002). Plant Propagation Principles and Practices. 7 th. ed., Perntice Hall, Inc. New Jersey. USA.

Hopkins, W. G. and N. P. A. Hiiner (2004). Introduction to Plant Physiology. Third Edition. John Wiley and Sons. Inc.

Ibrahim, A.I.; A.E.K. Mostafa; N. Ahmwd; A.M. Amira and A.E.A. Asmaa (2009). Alkaloids production and organogenesis from callus of *Hyoscyamus muticus* L. *In Vitro*. Journal of Applied Sciences Research, 5 (1) : 82-92.

Kasumi, M.; Y. Takastu; K . Suzuki; T. Gonai; M. Nogi; T. Yamada and T. Manabe (2004). Callus formation and plant regeneration from root explant of Gladiolus (*Gladiolus* X *grandiflora* Hort.). J. JPN. Soc., 4(1).

Khater M.A.; S. S. A. Soliman; M. S. Abdel-Hady; and A .H. Fayed (2013). Tropane alkaloid production via new promising *Atropa belladonna* L. lines by *In Vivo* and *In Vitro*. Nature and Science, 11 (3).

Loc, N.H. and H.V. Kiet (2011). Micropropagation of *Solanum hainanense* Hance. Annals of Biological Research, 2(2) : 394-398.

Margl, L.; A. Tei ; I. Gyurjan and M. Wink (2002). GLC – MS analysis of thiophene derivatives in plant and in *In vitro* culture of *Tagetes patula* (Asteraceae). Z. Naturforsch, (57) : 63 – 71.

Murashige, T. and F. A. Skoog (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum, 15: 473 – 497.

Ober, D. (2003). Chemical ecology of alkaloids exemplified with the pyrrolizidiner In: J.T. Romeo, Ed., Intergrative Phytochemistry : from Ethuo Botany to Molecular Ecology. 37. Pergamon, Amsterdam 203 – 230.

Otroshy, M.; K. Moraadi and M.K. Nekouei (2011). The effect of different cytokenins in propagation of *Capsicum annuum* L. by *In Vitro* nodal cutting. Takia Journal of Sciences, 9 (3) : 21 – 30.

Purohit, S.S. (1999). Agricultural Biotechnology. Printed at Anis Offest Press, New Delhi.

Rodr, B.; S. F. Figueiredo and M. A. Esquibel (1991). Gallogenesis, organogenesis and micropropagation of *Datura insignis.* R. Bras. Fisiol. Veg., 3 (2) : 63-68.

Saidon, N. A. (2008). The establishment of embryogenic callus culture of *Hyoscyamus niger* and *the* detection of Hyoscyamine in the culture. University Sains Malaysia.

Sas, copyright © 2002. Institutc Inc. Cary, Nc 27513, U.S.A.

Smith R.H.(2000) .Plant Tissue Culture, Academic Press. Har. S. and Tec. C., San Diego.

Spiegl, F. and S. Fritz (1996). Sick nots An Alphabetical Browsing –Book of Derivatives Abbreviations, Mnemonics and Slang for Amusemen. Washington, DC: Taylor & Franci, pp. 21-22. ISBN 1-85070-627-1.

Tripathi, L. and J. N. Tripathi (2003). Role of Biotechnology in Medicinal Plant. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 2(2) : 243-253.

Zayed, R. and M. Wink (2004). Introduction of Tropane alkaloids formation in transformed root culture of *Brugmansia suaveolens* (Solanaceae). 59 P: 863-867.