

جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى
كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

الاكثار الدقيق لنبات *Conocarpus erectus* في الوسط الزرعي ودور الكينوكاربس

بعض المركبات في اكسدة المواد الفينولية

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى وهي جزء من

متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة

من قبل

نبراس مهدي صالح البياتي

بإشراف

الاستاذ المساعد

الدكتور مثنى محمد ابراهيم

1438هـ 2017 م



أَلَمْ تَرَوْا كَيْفَ خَلَقَ اللَّهُ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ طِبَاقًا ﴿15﴾
وَجَعَلَ الْقَمَرَ فِيهِنَّ نُورًا وَجَعَلَ الشَّمْسَ سِرَاجًا ﴿١٦﴾
وَاللَّهُ أَنبَتَكُم مِّنَ الْأَرْضِ نَبَاتًا ﴿١٧﴾



الإهداء

إلى من خلقني واوجدني وجعل كل شيء في متناول يدي ربي وخالقي . . . . . .الله (جل وعلا)

الى الحبيب المصطفى معلم الإنسانية وخير البشرية. . . . . محمد (صلى الله عليه وسلم)

الى القمر الذي استلهمت منه قيم الإنسانية، وكان مثالاً يحتذى به للمضي في الحياة. . . . الى روح (ابي الغالية)

إلى التي بدفئها حضنتني وبفيض حنانها غمرتني ،إلى من استقيت منها دروس الحياة في أي لحظة من لحظات

عمري. . . . . .امي

الى من كان يضيء لي الطريق ويساندني . . . . . الى روح (اخي طارق) الشهيد وهو حي يرزق

إلى الشواطيء التي ارسوا اليها ، ومنابع الحنان عندما تقسو الأيام وقلبي الكبير عندما أفقد كل القلوب والأرواح

لجسدي، والماء لصحرائي. . . . . أخوتي

وأخواتي

إلى الذين ساعدوني لأقطف ثمرة جهدي. . . . . .أصدقائي

إلى أعمدة العلم والمعرفة الذين خطوا لي وللآخرين صفحات الإبداع. . . . . أساتذتي الأفاضل

إلى كل باحث عن فكرة مضيئة تنير له الطريق. . . . . .

وإلى أصحاب العقول النيرة، والبصائر المستنيرة، ومن زرع فيّ ارواحنا المبادرة. . . . .

إليكم جميعاً أهدي هذا البحث المتواضع

نبراس

شكر وتقدير

الحمد لله باسط الأرض والسماء والمُدخل في رحمته من يشاء، والصلاة والسلام على المصطفى (محمد صلى الله عليه وسلم) سيد النصحاء والداعي الى شرع ربه بالكلم السواء وعلى آله وصحبه ومن تبعهم بأحسان الى يوم الدين، الشكر لله عز وجل الذي انار لي الدرب، وفتح لي أبواب العلم وامدني بالصبر والإرادة ،حتى تمكنت من إتمام هذه الرسالة.

وفائق شكري وتقديري الى استاذي الفاضل الأستاذ المساعد الدكتور مثنى محمد إبراهيم لما بذله من جهود كبيرة بالإشراف على هذه الرسالة من خلال توجيهاته القيمة ومتابعته الدائمة خلال مرحلة اعدادها فلا يسعني الا ان ادعو له، والدعاء له اجدى من كل كلمات الشكر وزاده الله تمكينا واسبغ عليه افضال العفو والعافية وصفاء الذهن ونقاء النفس ما يؤنسه ويقربه عينا، اطال الله في عمره وجزاه الله عني خير جزاء.

يسعدني وانا اختم هذا الجزء من عملي هذا ان أتقدم بالشكر والامتنان الى رئاسة جامعة ديالى وعمادة كلية التربية للعلوم الصرفة لإتاحتهم الفرصة لأكمل دراستي العليا والحصول على الشهادة.

ومن دواعي الاحترام والعرفان ان أتقدم بالثناء والتقدير الى قسم علوم الحياة رئيسا وأساتذة ومنتسبين لما قدموه من تسهيلات في مواصلة إتمام هذا العمل.

كما أتقدم بخالص شكري وامتناني للدكتور حسين علي البياتي اطال الله في عمره لما قدمه لي من مساعدة ومساندة وتزويدي بالمصادر، وارى من الوفاء ان اشكر الدكتور تلفان عناد احمد لما قدمه لي من مساعدة فله جزيل الشكر والتقدير.

كما يسرني ان اشكر زملائي وزميلاتي طلبة الدراسات العليا واخص بالذكر منهم (بتول محمد علوان وسارة مطشر حاتم وإخلاص متعب)، وعرفانا بالجميل ان اشكر خالي اكرم وخالي محمد لتعاونهم خلال فترة الدراسة.

وأخيرا وليس اخرا شكري وحبي وامتناني الى اسرتي الغالية لما تحملوه معي من أعباء في هذا الطريق. وشكري موصول لكل من زودني ولو بنصيحة او بكلمة طيبة كانت املا لي طوال رحلة البحث.

نبراس

بسم الله الرحمن الرحيم

إقرار المشرف

نشهد انّ إعداد هذه الرسالة الموسومة بـ(الاكثار الدقيق لنبات الكونوكاربس *Conocarpus erectus* L. في الوسط الزرعي ودور بعض المركبات في اكسدة المواد الفينولية) التي قدمتها الطالبة (نبراس مهدي صالح البياتي) قد جرت بأشرافنا في كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة.

التوقيع:

المشرف : **أ. م. د مثنى محمد ابراهيم**

التاريخ : / / 2017 م

إقرار رئيس قسم علوم الحياة

بناء على التوصيات المتوافرة أرشح هذه الرسالة للمناقشة التوقيع :

الاسم:**أ. م. د عمار احمد سلطان**

رئيس قسم علوم الحياة

التاريخ : / /2017 م

بسم الله الرحمن الرحيم

إقرار المقوم اللغوي

أشهد انّ هذه الرسالة الموسومة بـ (الاكثار الدقيق لنبات الكونوكاربس *Conocarpus erectus* L. في الوسط الزرعي ودور بعض المركبات في اكسدة المواد الفينولية) التي قدمتها طالبة الماجستير (نبراس مهدي صالح البياتي) قد تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وصُحّحَ ما ورد فيها من أخطاء لغوية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة اللغة.

التوقيع :

الاسم: **أ.م.د نوافل يونس سالم**

التاريخ : / / 2017 م

بسم الله الرحمن الرحيم

إقرار الخبير العلمي

أشهد بأنّنا هذه الرسالة الموسومة بـ (الاكثار الدقيق لنبات الكونوكاربس *Conocarpus erectus* L.في الوسط الزرعي ودور بعض المركبات في اكسدة المواد الفينولية) التي قدمتها طالبة الماجستير (نبراس مهدي صالح البياتي) قسم علوم الحياة قد تم مراجعتها من الناحية العلمية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة.

التوقيع :

الاسم : **أ.م.د أياد عاصي عبيد**

التاريخ : / / 2017 م

اقرار لجنة المناقشة

نشهد باننا اعضاء لجنة المناقشة ، اطلعنا على هذه الرسالة الموسومة بـ (الاكثار الدقيق لنبات الكونوكاربس.L *Conocarpus erectus* في الوسط الزرعي ودور بعض المركبات في اكسدة المواد الفينولية) وقد ناقشنا الطالبة (نبراس مهدي صالح البياتي) في محتوياتها وفيما لها علاقة بها، ونعتقد بانها جديرة بالقبول لنيل درجة ماجستير في علوم الحياة بتقدير (أمتياز).

رئيس اللجنة

التوقيع :

الاسم : **عبد الجاسم محيسن جاسم**

المرتبة العلمية : **أ. د**

التاريخ : / /2017

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم : **وسام مالك داود**

المرتبة العلمية : **أ. د**

التاريخ : / /2017

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم : **شروق محمد كاظم**

المرتبة العلمية : **أ. م. د**

التاريخ : / /2017

عضو مشرف

التوقيع :

الاسم : **مثنى محمد ابراهيم**

المرتبة العلمية: **أ. م. د**

التاريخ : / /2017

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

التوقيع :

الاسم : **غالب ادريس عطية**

المرتبة العلمية : **أ. م. د**

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في مختبر زراعة الخلايا والانسجة النباتية التابع لقسم علوم الحياة في كلية التربية للعلوم الصرفة، بجامعة ديالى للفترة من 2015/9/1 ولغاية 2016/6/5 بهدف التوصل الى افضل الظروف لأكثار نبات الكونوكاربس *Conocarpus erectus* باستعمال تقنية الزراعة النسيجية وذلك من خلال تنفيذ عدة تجارب خلال مراحل الاكثار المختلفة وكما يأتي.

أولا: مرحلة التعقيم: تم خلالها اختبار تأثير معاملات التعقيم في معدل بقاء وتلوث الأجزاء النباتية المستخدمة في الزراعة، باستعمال هايبوكلورات الصوديوم (القاصر التجاري) بالتراكيز 50,20,10% ولمدة 15 دقيقة، كذلك استعمل محلول الكحول الاثيلي بالتركيز 70% ولمدة(1،2) دقيقة+ هايبوكلورات الصوديوم بالتركيزين20 و50% لمدة 30 دقيقة واستعمال كلوريد الزئبق بتركيز 0.5 ،0.1% ولمدة 30,15 دقيقة. أظهرت من النتائج ان استخدام كلوريد الزئبق كان الأفضل في الحد من التلوث إذ أعطى اقل نسبة تلوث، وبلغت 2.5% عن التركيز 0.5% ولمدة 15 دقيقة.

ثانيا: الافرازات الفينولية: أجريت عدة تجارب للحد من تأثير المواد الفينولية، إذ تضمنت الدراسة استعمال مضادات الاكسدة مثل حامضي الاسكوربيك بتركيز 100 ملغم.لتر$^{-1}$ و الستريك بتركيز 150 ملغم.لتر$^{-1}$ ومادة Poly vinyl pyrolidon (PVP) بتركيز 3 غم. لتر$^{-1}$ كل على انفراد والتداخل فيما بينها. أظهرت النتائج ان معاملة التداخل الثلاثي هي الأفضل في معالجة ظاهرة الاسمرار إذ بلغت نسبتها صفر%، وذلك عند غمر الأجزاء النباتية بمحلول حامض الاسكوربيك بتركيز 100 ملغم.لتر$^{-1}$+حامض الستريك150 ملغم.لتر$^{-1}$ لمدة ساعة قبل اجراء عملية التعقيم ثم زراعتها على الوسط الغذائي المدعم بمادة Poly vinyl pyrolidon (PVP) بتركيز 3غم.لتر$^{-1}$، أعطت هذه المعاملة افضل استجابة للأجزاء الحية بلغت90% . وتلتها معاملات التداخل الثنائي.

ثالثا: الاكثار الدقيق

أ: تأثير إضافة 6-Benzyl adenine (BA) و6-Furfurl amino purine (Kin) الى وسط Murashige and Skoog (MS)1962 في نشوء وتضاعف العقد المفردة

1- مرحلة النشوء: تم خلالها اختبار مدى استجابة العقد المفردة للنمو عند زراعتها على أوساط (MS) والمجهز بـBA بالتراكيز 0.0 ،0.5 ، 1.0، 1.5 ، 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ وKin بالتراكيز 0.0 ،1.0,2.0,3.0 ملغم.لتر$^{-1}$ كل على انفراد، وبعد مرور 4 أسابيع من الزراعة. أظهرت النتائج ان اعلى نسبة استجابة للأجزاء الحية بلغت 60% على وسط MS المدعم بتركيز 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ من BA .

2- مرحلة التضاعف: بينت النتائج الفرق المعنوي للتركيز 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ من BA في متوسط عدد الافرع الكلي، إذ سجلت 1.55 فرع. جزء نباتي$^{-1}$متفوقا على جميع المعاملات و معاملة المقارنة التي لم تبد أي استجابة، وسجلت اعلى متوسط لطول الفرع بلغ 2.50 سم عند التركيزين 1.0 و1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ ، وتفوق المعاملة 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ BA معنويا في إعطاء اعلى متوسط لعدد للأوراق بلغ 14.0 ورقة.فرع$^{-1}$، ولم تختلف معنويا عن المعاملة 1.5 ملغم .لتر$^{-1}$.

ب: تأثير تداخل 6-Benzyl adenine (BA) مع 6-Furfurl amino purine(Kin) المضافة الى وسط (MS) على نشوء وتضاعف العقد المفردة.

1- مرحلة النشوء: اظهرت النتائج ان افضل استجابة حصلت للعقد المفردة بلغت 80% عند معاملة التداخل بين BA بتركيز 2,0 ملغم.لتر$^{-1}$ +0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin بعد أربعة أسابيع من الزراعة.

2- مرحلة التضاعف: تم الحصول على اعلى متوسط لعدد الافرع الناتجة من زراعة العقد المفردة والبالغ 4.00 فرع. جزء نباتي$^{-1}$ واكثر عدد من الأوراق وبلغت 17.50 ورقة. جزء نباتي$^{-1}$عند التركيز 4.0 ملغم.لتر$^{-1}$BA+0.3 ملغم.لتر$^{-1}$Kin، في حين كان اعلى متوسط

لطـول الفـرع 2.00 سـم، سـجل علـى الوسـط المـدعم بـتركيز 3.0 ملغـم. لتـر$^{-1}$ 0.5+BA ملغم.لتر$^{-1}$ Kin.

3- مرحلة التجذير: بينت النتائج تفوق الوسط MS بكامل قوة الاملاح في صفة متوسط طول الجذر ومتوسط ارتفاع النمو الخضري، و سجلت القيمتان 3.58 سم و 2.31 سم على التوالي، وأدى استخدام IBA بتركيز 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ حصول اعلى نسبة تجذير بلغت 75% وبمتوسط عدد جذور بلغ 2.62 جذرا. فرع$^{-1}$ ومتوسط طول جذر بلغ 4.28 سم، وتشير نتائج التداخل الثنائي ان اعلى نسبة تجذير بلغت 75% من تداخل الوسط MS بكامل قوة الاملاح مع المعاملات بالتراكيز 1.5,1.0,0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA، واعلى متوسط لعدد الجذور بلغ 2.75 جذرا سجل من تداخل الوسط MS بنصف قوة الاملاح مع المعاملة 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA ، واعلى متوسط لطول الجذر بلغ 5.01 سم، وسجل من تداخل الوسط MS بكامل قوة الاملاح عند التركيز 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA ، واعلى متوسط في ارتفاع النمو الخضري بلغ 2.50 سم عند التركيز 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA في وسط MS بكامل قوة الاملاح.

4- مرحلة الاقلمة : نجحت عملية اقلمة الافرع المجذرة بالبقاء على قيد الحياة والنمو بنسبة 90% عند الزراعة على وسط زراعي يتكون من البتموس.

ثبت المحتويات

ت	الموضوع	رقم الصفحة
	الخلاصة	أ-ج
	ثبت المحتويات	د-هـ
	ثبت الجداول	و
	ثبت الاشكال	ز
	ثبت المختصرات	ح
1-	**المقدمة**	**2-1**
2-	**استعراض المراجع**	**22-3**
2-1	نبات الكونوكاربس *Conocarpus erectus*	5-3
2-2	زراعة الانسجة النباتية plant tissue culture	6-5
اولا	تأثير منظمات النمو المستخدمة في الزراعة النسيجية	7-6
ثانيا	مرحلة تأسيس وانشاء مزارع نسيجية معقمة	8
	أ: انتخاب وتعقيم الأجزاء النباتية	9-8
	ب: انتخاب الوسط الزرعي وتنشئة المزارع النسيجية المعقمة	11-9
ثالثا	مرحلة التضاعف الخضري	15-11
رابعا	مرحلة التجذير	18-16
خامسا	مرحلة الاقلمة	19-18
2-3	المركبات الفينولية وظاهرة الإسمرار	22-19
3-	**المواد وطرائق العمل**	**28-23**
3-1	تحضير الأوساط الغذائية	23
3-2	تعقيم الأدوات المستعملة	25
3-3	تعقيم الأجزاء النباتية	25
3-4	الإفرازات الفينولية	26
3-5	تهيئة الأجزاء النباتية للزراعة	26
3-6	تأثير السايتوكاينينات المنفردة في نشوء وتضاعف العقد المفردة	27
3-6-1	مرحلة النشوء	27
3-6-2	مرحلة التضاعف	27

ت	الموضوع	رقم الصفحة
3-7	تأثير التداخل بين السايتوكاينينات في نشوء وتضاعف العقد المفردة	27
3-7-1	مرحلة النشوء	27
3-7-2	مرحلة التضاعف	28
3-8	مرحلة التجذير	28
3-9	مرحلة الاقلمة	28
3-10	التحليل الاحصائي	28
4-	**النتائج والمناقشة**	**29-52**
4-1	تأثير معاملات التعقيم في معدل بقاء وتلوث الأجزاء النباتية	29-31
4-2	تأثير مضادات الاكسدة في ظاهرة الإسمرار	31-35
4-3	تأثير السايتوكاينينات المفردة في نشوء وتضاعف العقد المفردة	35
4-3-1	تأثير BA في نشوء وتضاعف العقد المفردة	35-39
4-3-2	تأثير Kin في نشوء وتضاعف العقد المفردة	39-40
4-4	تأثير التداخل بين السايتوكاينينات في نشوء وتضاعف العقد المفردة	40
4-4-1	تأثير تداخل BA مع Kin في نشوء العقد المفردة	40-42
4-4-2	تأثير تداخل BA مع Kin في تضاعف العقد المفردة	42-45
4-5	مرحلة التجذير	45
4-5-1	تأثير IBA واملاح الوسط الغذائي في النسبة المئوية للتجذير	45-46
4-5-2	التأثير في متوسط عدد الجذور	46-48
4-5-3	التأثير في متوسط طول الجذر(سم)	48-50
4-5-4	التأثير في ارتفاع النمو الخضري	50-51
4-6	مرحلة الاقلمة	51-52
7-	**الاستنتاجات والتوصيات**	**53**
7-1	الاستنتاجات	53
7-2	التوصيات	53
8-	**ثبت المصادر**	**54-69**
8-1	المصادر العربية	54-60
8-2	المصادر الأجنبية	61-69
	الخلاصة الانكليزية	**A-B-C**

1. المقدمة

يعد نبات الداماس.*Conocarpu erectus* L احد الأنواع التابعة الى الجنس *Conocarpus* من ذوات الفلقتين يعود للعائلة Combertacea وتعود تسميته في الأصل الى الاشكال المخروطية للثمرة، فأشتق اسم الجنس من Cono وتعني مخروطي وكلمة Carp وتعني ثمرة (التحافي وآخرون،2014). يعرف باللغة الإنكليزية buttonwood او Abdel- Mangrove (Hameed وآخرون،2012). ويعرف في المنطقة العربية بأسماء منها داماس في السودان واليمن والغلاب في الصومال ودمس في دول الخليج (قاسم،2012). أشجاره دائمة الخضرة سريعة النمو كثيرة التفرع محبة للضوء بشدة وقد يصل ارتفاعها الى 6 م طولا، قلف سيقانها خشن، وأوراق النبات بسيطة متبادلة رمحيه معنقة، ريشية التعرق، والعرق الوسطي بارز والسطح مغطى بشعيرات مع وجود غدد رحيقية على جانبي عنق الورقة، أما النورات رأسية تتكون من عدة أزهار مكتظة خضراء مصفرة اللون (العيداني والربيعي،2012). تنتشر زراعته في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية (Abdl-Hameed وآخرون، 2012). الموطن الأصلي لأشجار الداماس هو شواطئ وانهار الصومال وجيبوتي واليمن وشرق أفريقيا وأرتيريا (Venema، 2009).

تعد تقنية زراعة الأنسجة النباتية من التقنيات الحياتية المهمة ، ولاسيما في اكثار أنواع عديدة من النباتات لما تمتاز به هذه الطريقة من مميزات لعل من اهمهما الحصول على أعداد هائلة من النباتات الخالية من المسببات المرضية فضلا عن ان النباتات المكثرة بهذه الطريقة مشابهه للنبات الام وفي أي وقت من أوقات السنة، وبهذا كان للإكثار خارج الجسم الحي الدور المهم في الاكثار السلالي السريع بأتباع طرائق مختلفة للتمايز والتكوين الشكلي كنشوء البراعم العرضية أو تحفيز نمو البراعم الإبطية أو استحداث الاجنة الجسمية (Gupta و Ibarakl، 2006). من خلال التحكم باستخدام بعض منظمات النمو كالأوكسينات والسايتوكاينينات (Hartmann وآخرون ، 2002). وقد وظف الاكثار الدقيق بنجاح على المستوى التجاري كاستخدامه بشكل واسع في اكثار نباتات الغابات ونباتات الزينة المختلفة (Ahmed، 2010).

تعد المركبات الفينولية واحداً من اكبر المجاميع لمركبات الايض الثانوي التي تحتويها النباتات وتشمل الفلافونيدات والتانينات والكاروتينات والحوامض الفينولية وتوجد تقريبا في جميع الأجزاء النباتية (الموسوي وآخرون، 2011). وتتميز المواد الفينولية بخصائص وظيفية متعددة على مستوى النبات

والحيوان على حد سواء (Veroneca وآخرون ، 2006). أو تعمل على تنشيط النمو في النباتات ، كما تعمل على جذب الحشرات الى النباتات المزهرة لزيادة عملية التلقيح بالإضافة الى ذلك تسهم في زيادة صلابة الأنسجة الدعامية للنباتات نتيجة تكوين مركبات اللكنين من وحدات Phenylproponoid خلال عملية البلمرة (الشحات ، 2000). يوجد مدى واسع من المواد الفينولية التي تفرزها الأجزاء النباتية عند استعمالها في زراعة الأنسجة في العديد من النباتات كأشجار المانجو والموز والنخيل وتؤدي الى تلون الوسط الزرعي باللون البني وينتج هذا اللون من أكسدة المركبات الفينولية غير الملونة الى مركبات ملونة ذات لون بني أو أرجواني نتيجة الأكسدة وتكوين مركب Quinones الذي يعتبر من المواد السامة للأنسجة . ويعتقد بعض الباحثين أن التثبيط الناتج عن اللون البني يرجع الى ربط الفينولات مع البروتين وبذلك تفقد الأنسجة بعض الانزيمات أو أنها تعمل كمحفز إنزيمي Co-enzyme لبعض انزيمات الأكسدة مثل IAA oxidase والكتاليز والبيراوكسديز والتي تعمل على هدم الاوكسينات ، وللتقليل من تأثير المواد الفينولية يعامل الجزء النباتي بمضادات للأكسدة كحامض الاسكوربيك و حامض الستريك واضافة Poly vinyl pyrolidon(PVP) الى الوسط الزرعي (الرفاعي والشوبكي ، 2002). ومن أهم العوائل التي تنتج المركبات الفينولية العائلة العنبية Vitaceae كالعنب (إبراهيم و آخرون، 2012). العائلة الغارية أو القرفية Lauraceae نبات الغار (عجينة ، 2012). العائلة Lamiaceae كنبات اكليل الجبل (الزبيدي ومحمد، 2013). وعائلة المانجو Anacardiaceae كنبات الفستق (Nezami و آخرون، 2015). والعائلة Ericaceae كنبات الرودودندريون (Bagratishvili و Jikia، 2014). تهدف هذه الدراسة الى:

1- تحديد برنامج متكامل لإكثار النبات نسيجيا على مدار السنة.

2- إمكانية انتاج اعداد كبيرة من النباتات المتجانسة خلال وقت قصير.

3- معرفة تأثير بعض المركبات في اكسدة المواد الفينولية.

2.استعراض المراجع

2-1: نبات كونوكاربس *Conocarpus erectus*

يعود نبات الكونوكاربس الى العائلة Combretaceae التي تضم حوالي 18 جنسا وما يقارب من 600 نوعا من الأشجار والشجيرات ، ويضم جنس *Conocarpus* 20 نوعا (IPNI، 2005). الا ان اكثرها انتشارا الأنواع النامية في المناطق الاستوائية والمتمثلة بالنوع *C. ererctus* الذي ينتشر نموه في الغابات الساحلية (المانغروف)، والنوع *C. Lancifolius* الذي ينحصر تواجده الطبيعي بمنطقة صغيرة قرب السواحل الجنوبية للبحر الأحمر (IUCN ، 2012).

يصنف نبات *Conocarpus erectus* L. في المملكة النباتية بحسب التصنيف الاتي

Kingdom – Plantae- Plant

Sub kingdom _ Tracheobionta – Vascular Plan

Divison _ Magnoliophyta-Flowering Plant

Superdivision _ Spermatophta- Seed Plants

Class – Equisetopsida C. Agardh Dicolyledons

Sub class – Rosidae

Order – Myrtales Juss . ex Bercht . & J . Presl

Family – Combretaceae R. Br Indion almod

Genus – *Conocarpus* mangrove

Species – *erectus*

(Bashir وآخرون ، 2015).

واشجاره زاهية الخضرة مستديمة سريعة النمو يصل ارتفاعها 6 م طولا وقد يصل قطر ساقها الرئيس الى 20 سم (Hegazy وآخرون ، 2008). وتتميز بطراوة اغصانها ذات اللون الأخضر

والمشرب بالحمرة في بعض الأحيان، وتتصف اوراقها بأنها طويلة رمحيه اهليجية الشكل، ذات حافات ملساء، في حين تكون قمتها حادة، والتعرق ريشي، اما الازهار فتتشكل بنورات زهرية متجمعة في عناقيد خضراء اللون مائله الى البياض وذات موقع ابطي وطرفي، ويكون القلف بني به شقوق عميقة في الأشجار المسنة (Allen، 1998 و البيضاني ، 2010)، اما جذورها من النوع الوتدي والجذور الجانبية كثيفة وقوية ومتشعبة غامقة اللون يمكنها ان تنمو بشكل عمودي لتصل الى عمق 10 امتار (Abdel – Hameed وآخرون ، 2012)، اما بذور النبات فتكون صغيرة بيضوية او مقوسة الشكل يصعب فصلها من اغطيتها (Mahoney ، 1994).

ينمو النبات طبيعيا بين خطي عرض10°–11° شمالا وعلى ارتفاع صفر – 1220م فوق مستوى سطح البحر(Baumer،1983). ويمكن زراعته في جميع الترب الطينية والرملية والمزيجية وكذلك في الترب الضحلة ويعيش في الترب القاعدية عالية pH ويتحمل ارتفاع درجات الحرارة ومستوى الماء الأرضي العالي(Shirazi وآخرون ، 2006). ويعد النبات من نباتات المناطق الجافة وشبه الجافة بسبب قدرة النبات الفائقة في تحمل الجفاف وتحمل ملوحة التربة (El-Juhany وآخرون،2008). لذا ينتشر في مناطق كثيرة منها أمريكا الوسطى والجنوبية وجنوب ولاية فلوريدا وغرب افريقيا الاستوائية والهند وباكستان(IUCN ، 2012). ولقابلية النبات على تحمل الظروف البيئية القاسية للمناطق الجافة وشبه الجافة أدخلت زراعته الى المملكة العربية السعودية ودولة الامارات المتحدة وعمان والكويت والعراق (TERC، 2003 و Hammer وآخرون،2008). وقد استعمل النبات في بعض دول الخليج كعلف اخضر للماشية والجمال خاصة الاغصان الطرية منه (Al- koaik وآخرون ، 2014).

يتم اكثاره اما جنسيا بواسطة البذور او خضريا بواسطة العقل الطرفية وان انباتها بالأجواء العراقية قليلة حيث تزرع في شهري شباط واذار وعند توفر الظروف الملائمة يمكن اكثارهُ في معظم مواسم السنة (البيضاني ، 2010).

يحتوي نبات الداماس على العديد من المركبات الفعالة حيويا، ما أضفى عليه أهمية طبية وصيدلانية مهمة، إذ اظهر النبات خاصية التثبيط للمايكروبات لوجود المركبات الفينولية مثل الفلافونيدات والتاينينات المضادة للبكتريا والاحياء المجهرية الأخرى (Hameed وآخرون، 2013).

ولاحتوائها العالي من مضادات الاكسدة أظهرت فعاليتها بشكل كبير في تثبيط نمو خلايا سرطان الكبد وخلايا سرطان الثدي في الانسجة الاصلية (الزبيدي ومحمد، 2013). واستخدم في الطب البديل (الطب الشعبي) في علاج فقر الدم والزكام والتهاب الملتحمة والسيلان ومرض السكري والاسهال والحمى والصداع والنزيف والاورام والزهري (Bashir وآخرون، 2015).

ولأجزاء النبات أهمية اقتصادية مهمة إذ تستخدم أوراقه الغنية بالمواد التاينينة في معامل دباغة الجلود (Hegazy وآخرون ، 2008). في حين يستخدم خشب النبات في صناعة السفن و القوارب وفي بناء المنازل وفي انتاج الفحم (Morton، 1981). وتزرع نباتات *Conocarpus erectus* في بعض الترب لتحسين خواصها إذ يمتاز النبات بأن له القابلية على امتصاص العناصر السامة والثقيلة بمستويات عالية وتركيزها في الأوراق وفي أجزاء النبات الأخرى كالكروم والفانديوم والالمنيوم (Shirazi ، 2006 و Al –Surrayai وآخرون، 2009).

وتظهر نباتات الداماس العديد من المواصفات الجمالية التي أهلتها لأن يكون احد أشجار نباتات الزينة التي تضفي الروعة والجمال على مكان تواجدها، ولسرعة نموه تزرع الاشجار في معظم دول الخليج حول مواقف السيارات وعلى طول الشوارع والحدائق لأكساء الخضرة(عبد الغفار ، 2006). وكذلك يزرع النبات كمصدات للرياح بسبب تشابك فروعه الكثيفة واوراقه التي تغطيها زوائد البشرة (الشعيرات) وكأشجار ظل في واجهات المنازل والمجمعات السكنية، وتمتاز بقابيلته على القص والتشكيل لذا يعد من نباتات الاسيجة الخضراء المهمة (البيضاني ، 2010). فضلا عن زيارة نحل العسل لأزهار النبات الوفيرة لكونها مصدرا طبيعيا مهما لحبوب اللقاح والرحيق (Satti ، 2008). وبالرغم من مزايا النبات الكثيرة يمكن زراعتها في المناطق الصحراوية القاحلة بطريقة فعالة في صد الزحف الصحراوي، وبالتالي مساهمتها في تشجير الكثبان للتخفيف من التغيرات المناخية في الأراضي الصحراوية، وكذلك في المساحات العامة والجزرات الوسطية ومداخل المدن (البيضاني، 2010).

2-2: زراعة الانسجة النباتية Plant Tissue Cultuer

يقصد بزراعة الانسجة النباتية فصل أو عزل خلية أو عضو أو جزء من عضو وتعقيمه وزراعته على أوساط غذائية اصطناعية ومن ثم تحضين الجزء المزروع في ظروف بيئية محددة من

الحرارة والرطوبة والضوء بهدف توجيه الجزء النباتي بالاتجاه المطلوب زراعته (George وآخرون ، 2008).

بدأت تقنية زراعة الانسجة النباتية بالظهور معتمدة على مفهوم الطاقة الكامنة الذاتية للخلايا Totipotency الذي اطلقه العالم Haberlandt عام 1902 "على أن لكل خلية حية من خلايا النبات القدرة على الانقسام والنمو والتطور الى نبات كامل مطابقا لنبات الأصل اذا ما توفرت لها الظروف الملائمة من حيث الحرارة والضوء والرطوبة فضلا عن المواد الغذائية ومنظمات النمو" (Smith ، 2000).

أصبحت اليوم تقنية زراعة الانسجة النباتية من أهم التقنيات المستخدمة في العديد من المجالات الزراعية والصناعية والتجارية والصحية وغيرها (Haq ، 2007). فقد اختصرت هذه التقنية الوقت امام المهتمين بزراعة النبات لتطوير وتحسين النبات وفي حفظ الأصول الوراثية، فضلا عن انتاج نباتات مطابقة في صفاتها الوراثية للنبات الام من خلال الاكثار السلالي السريع لمدى واسع من النباتات خصوصا الهجن والاصناف الجيدة من النباتات الاقتصادية (الخفاجي ، 1990 و Bran و Jain ، 1998 و Zaid ، 2002 و Neumann وآخرون ، 2009). واستخدامها على المستوى التجاري من قبل عدة شركات عالمية متخصصة في هذا المجال (Amin ،2001). وذلك من خلال التلاعب بأنواع وتركيز منظمات النمو النباتية التي تعمل على أحداث التأثير الفسلجي المطلوب لتوجيه الأجزاء النباتية نحو الهدف المقصود من استعمالها (بإصلاح ، 2008).

ووفقا لما ذكره Hartmann وآخرون (2002)، يمكن تقسيم مراحل الاكثار الدقيق الى خمسة مراحل رئيسة تشمل على:

أولا: تأثير منظمات النمو المستخدمة في الزراعة النسيجية:

تعرف منظمات النمو على انها مركبات عضوية غير غذائية يتم بناؤها طبيعيا في داخل النبات، أو انها تصنع تجارياً في مختبرات، مؤسسات مخصصة والتي بتراكيز قليلة تؤثر في عمليات النمو والتطور للنبات من خلال تثبيطها، أو تحفيزها، أو تحويرها للعمليات الحيوية الفسلجية في أنسجة

النبات(Davies ،1995). يعد استعمال منظمات النمو من المتطلبات الأساسية لنجاح الزراعة خارج الجسم الحي ومنها.

السايتوكاينينات وهي عبارة عن قواعد نتروجينية ذات أوزان جزيئية عالية لها تأثيرات فسيولوجية عديدة في النبات، أذ انها تشجع انقسام الخلايا النباتية وتمايزها ونمو البراعم الابطية وتعمل على تحويل الخلايا البرنكيمية الى خلايا مرستيمية لتعطي فروع جديدة بعد القضاء على ظاهرة السيادة القمية (Ramawat، 2004). وقد أشارت الدراسات العلمية الى ان السايتوكاينينات تنتج في النبات طبيعياً مثل Zeatin والتي تتألف من N^6-D-ribos Phosphoric substitused Adenine

وتكون اما حرة أو مرتبطة مع t-RNA للسايتوبلازم والكلوروبلاست أو تصنع مختبرياً مثل Benzel adinin و Thidiazuron(TDZ)(George وآخرون، 2008).

الاوكسينات عبارة عن مجموعة من الاحماض العضوية ذات الأوزان الجزيئية العالية، تحدث تأثيراً كبيراً في العمليات الفسلجية في النبات عند استخدامها بتراكيز قليلة جداً وذلك عن طريق تشجيع او تثبيط او تحوير احدى العمليات الفسلجية في النبات، وتعد المرستيمات القمية والبراعم الجانبية والأوراق الفتية أهم مراكز بناء الاوكسينات(Hayat و Ahmed، 2007).

تشتمل الاوكسينات على أنواع عدة، منها الطبيعية مثل Indole acetic acid (IAA) والصناعية مثل Naphthalene acetic acid (NAA) و Indole Butric acid (IBA) و 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid(Smith، 2000). ولها عمل في تحفيز الأنزيمات المسؤولة عن بناء الجدار الخلوي وتحلله ومن التأثير في الخصائص الميكانيكية(Taiz و Zeiger، 2010). وتحفيز ليونة الجدار الخلوي عن طريق كسر روابط الجدار الخلوي واعادتها تحت تأثير الضغط الانتفاخي مما يسهم في زيادة حجم الخلية واتساعها(Hopkins و Hiiner، 2009).

ثانيا: مرحلة تأسيس وانشاء مزارع نسيجية معقمة وتشمل :

أ) انتخاب وتعقيم الأجزاء النباتية:

تعد هذه المرحلة من اهم مراحل زراعة الانسجة حيث تؤخذ أجزاء نباتية صغيرة تعرف بالجزء النباتي Explant باعتباره مصدرا لنشوء الزروعات (Ahloowatia وآخرون، 2003). إذ تستخدم عدة أجزاء نباتية للزراعة خارج الجسم الحي مثل عقدة، نصل او عنق الاوراق، اطراف الافرع وغيرها لغرض الاكثار الدقيق Micropropagation وتختلف هذه الأجزاء في استجابتها للنمو وتكوين مبادئ البراعم أو تكوين الكالس (Jasim ، 2002 ومحسن ، 2007 و Salhi وآخرون، 2014).

وتعد عملية تعقيم الجزء النباتي المستخدم في الزراعة من اهم الخطوات التي يعتمد عليها نجاح زراعة الانسجة إذ يتم خلالها ازالة الملوثات الخارجية العالقة بالأجزاء النباتية كالفطريات والبكتريا قبل زراعتها بالوسط الغذائي، ويعزى تلف وموت الأجزاء النباتية الى تلوثها بالكائنات الدقيقة أو بفعل ما تفرزه من النواتج الايضية أو المركبات السامة أو الانزيمات(المعماري ، 2009 و المياحي وآخرون، 2010).

لقد استعملت العديد من المواد الكيمائية في تعقيم الاجزاء النباتية كهايبوكلورات الصوديوم ($NaOCl$) ، وهايبوكلورات الكالسيوم ($CaOCl_2$) وكلوريد الزئبق ($HgCl_2$) والكحول الاثيلي وماء البروم(C_2H_5OH) وبيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) ويختلف تركيز المادة الفعالة على مدى نظافة الجزء النباتي المراد زراعته وظروف نموه وغالبا ما تكون النباتات النامية في البيت الزجاجي أقل عرضة للملوثات من تلك التي تنمو في الحقل فأن عملية التعقيم تكون أسهل وأكثر نجاحا (الحديدي ، 2002 ، و Neumann وآخرون ، 2009). ففي دراسة Arene وآخرون (1993) أشار الى ان التعقيم الأمثل لبراعم نبات الورد *Rosa* hybrid كانت بالنقع في الكحول الاثيلي بتركيز 70% لمدة دقيقة واحدة ويتبعها النقع في محلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 15% ولمدة 15 دقيقة ثم الغسل بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات . ووجد Han وآخرون (2000) أن التعقيم الأفضل لأطراف الافرع والأوراق لنبات القوغ *Cottonwood* hybrids كان باستخدام محلول Chlorox بتركيز 20% ولمدة 20 دقيقة ثم الغسل بالماء المقطر والمعقم خمس مرات . وحصل AbouDahab (2006) عند

تعقيم اطراف افرع نبات الهيدرانجيا *Hydrangea macrophylla* Thunb على اعلى نسبة بقاء عند استخدام Chlorox بتركيز 50% ثم النقع في محلول كلوريد الزئبق بتركيز 0.2% . وتوصل Jarrar و Bayerly (2011) ان تعقيم عقل من نبات الكاردينيا *Gardenia jasminoides* بمحلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 15% لمدة 10 دقائق ثم النقع بكلوريد الزئبق بتركيز 0.5% لمدة 1 دقيقة بإضافة مادة ناشرة Tween 20 بتركيز 0.1% تلاها غسل الأجزاء النباتية ثلاث مرات متتالية بالماء المقطر المعقم ولمدة خمس دقائق أعطى اعلى معدل بقاء للأجزاء النباتية . وتمكن أبراهيم وآخرون (2012) من الحصول على مزارع نسيجية خالية من الملوثات لأصناف العنب الأوربي *Vitis vinifera* عند تعقيم الأجزاء النباتية باستعمال مادة هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 10% ولمدة 15 دقيقة . وتمكنت الشمري (2014) من الحصول على اطراف افرع وعقد مفردة معقمة لنبات الاجاص ماريانا *Prunus marrianna* من خلال معاملتها بمحلول هايبوكلورات الصوديوم المجهز من محلول القاصر التجاري بتركيز 0.5% ولمدة 25 دقيقة اعقبه الغسل بالماء المقطر المعقم خمس مرات .

ب) انتخاب الوسط الزرعي وتنشئة المزارع النسيجية المعقمة :

ان نسبة نجاح الزراعة بعد اختيار الجزء النباتي وتعقيمه تعتمد على عوامل منها ما متعلق بتركيب الأوساط الغذائية، ومنها ما متعلق بالحالة الصحية والحالة الفسيولوجية للنبات الام والتي يجب ان تكون خالية من الإصابات المرضية، وتتصف بالحيوية والنشاط فضلا عن نموها في ظروف بيئية ملائمة (El-Sabrout ، 2002). ومن خلال الدراسات التي اجراها الباحثون على العديد من النباتات. فقد لاحظ الحسيني (2001) عند زراعة اطراف الافرع والعقد المفردة لإكثار اصلي الكمثرى والسفرجل ونوعين من طعوم الكمثرى هما الليكونت و منتخب الزعفرانية على وسط MS مدعم بتراكيز 0، 0.2 ،0.3 ، 0.5 ، 1 ملغم .لتر$^{-1}$ BA . ان الأوساط المجهزة بالتركيزين 0.3 و0.5 ملغم . لتر$^{-1}$ أعطت افضل استجابة لأطراف الافرع المزروعة اذ بلغت نسبة الاستجابة 90% لأصلي الكمثري والسفرجل ، في حين بلغت 80% للطعمين الليكونت ومنتخب الزعفرانية وذلك بعد مرور أربعة أسابيع من الزراعة .

و لاحظ Amin وآخرون (2002) عند زراعة القمم النامية لأحدى شجيرات الزينة *Lxora fulgena* على وسط مزود بتراكيز مختلفة من BA 0.1 ،0.2 ،0.5 ،1.0 ،2.0 ،3.0 ملغم .لتر$^{-1}$ ان الوسط المدعم 0.5 ملغم . لتر$^{-1}$ اعطى اعلى تضاعف وبلغ 4 فرع . جزءنباتي$^{-1}$.

وكذلك أوضح Silva وآخرون (2003) عند زراعتهم إطراف الافرع والعقد لأصل الخوخ صنف Capdedaseq على وسط املاح (Lepoivera) المزود بتراكيز مختلفة من السايتوكاينينات 6-Benzyl adenine(BA) و N-isopentenyl amino purine(2ip) و 6-Furfurl amino purine(Kin) . وبالتراكيز 0.1 ، 0.5 ، 1 ، 2 ملغم . لتر$^{-1}$ لكل منهم، ان العقد قد تفوقت على اطراف الافرع في استجابتها للنمو .

و توصل النعيمي ومحمد (2006) من تجربته على نبات السدر *Zizyhus mauritiana* L. عند زراعة اطراف الافرع والعقد المفردة على أوساط MS مدعمة بتراكيز مختلفة من BA و Kin و 2ip فوجد ان اعلى نسبة استجابة لتحفيز ونمو نشوء الافرع بلغت 100% في اطراف الافرع عند زراعتها على الوسط MS المدعم بتركيز 3.0 ملغم.لتر$^{-1}$ BA، وسجل التركيز 3.0 ملغم . لتر$^{-1}$ Kin نسبة استجابة بلغت 90% لأطراف الافرع في حين بلغت نسبة الاستجابة 80% لأطراف الافرع عند زراعتها على أوساط مدعمة بتركيز 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ من 2ip، ولم تكن هناك استجابة لأجزاء العقد في كل الأوساط المدعمة بمنظمات النمو المذكورة أعلاه بعد مرور 6 أسابيع من الزراعة.

واجرى القضاة وآخرون (2008) دراسة لإكثار أصل الخوخ رين كلود (P3116) تورنيل وهو هجين بين سلالتين من الخوخ رين كلود Xpgg4 و رين كلود 24 في وسط MS مدعم بـ BA او TDZ n-phenyl-N-1,2,3-thiadiazol-5-urea او Kin كل على حدى بتراكيز 0، 0.5 ، 1,2 ملغم . لتر$^{-1}$ ووجدوا أن أفضل استجابة حدثت عند زراعة القمم النامية على وسط MS المزود بـ 1 ملغم . لتر$^{-1}$ BA والتي أعطت 1.66 فرع . جزء نباتي$^{-1}$.

ومن جهة أخرى درس القضاة وآخرون (2009) تأثير تواجد منظمات النمو المختلفة من BA و TDZ و Kin المدعم لوسط MS بالتراكيز 0، 0.5 ، 1، 2 ملغم . لتر$^{-1}$ كل على حدة في اكثار المشمش العجمي من البراعم الخضرية فوجدوا ان BA كان الأفضل من TDZ و Kin حيث أعطت

اعلى معدل من النموات الخضرية بلغت 5.4 فرعاًعند الوسط المزود بـ 2 ملغم . لتر$^{-1}$ واعلى معدل استطالة عند التركيز 0.5 ملغم .لتر$^{-1}$الذي وصل الى 3.9 سم.

وأشار عبيد (2009) عند زراعته اطراف الافرع والعقد المفردة الأصل الخوخ *Prunus persica* صنف محلي بيضاوي على وسط MS الصلب المزود بتراكيز 0، 1، 2، 3، 4 ، 5 ملغم . لتر$^{-1}$ لكل من BA او2ip ان أفضل استجابة حدثت للعقدة المفردة عند التركيز2 ملغم . لتر$^{-1}$BA.

وأوضحت المزوري وقصاب باشي (2010) ان زراعة افرع وعقد وبراعم نورية غير ناضجة ونصل الورقة وحامل الورقة والسلامية لنبات الشبو الشجيري .*Cestrum nocturnum* L على وسط MS الصلب المزود بـ 0، 1، 2، 3، 4 ملغم . لتر$^{-1}$ BA بأن افضل استجابة حصلت من العقدة المفردة ثم اطراف الافرع فالبراعم النورية غير الناضجة على التتابع وخاصة في الوسط المزود بـ 2 ملغم . لتر$^{-1}$ بعد مرور4 أسابيع من الزراعة في حين لم تستجب باقي الأجزاء النباتية .

في حين توصل احمد (2011) من اكثار نبات الكمثرى *Pyrus commnis* صنف عثماني باستخدام اطراف الافرع والعقدة المفردة من زراعتها على أوساط MS احتوت تراكيز مختلفة من 0، 1، 2، 3 ملغم .لتر$^{-1}$ BA و0، 2، 4، 6 ملغم . لتر$^{-1}$ Kin كل على انفراد وأتضح من النتائج ان اعلى نسبة استجابة لنمو اطراف الافرع حصلت على وسط مدعم بـ 1 ملغم . لتر$^{-1}$ BA وبلغت 100%، في حين سجلت أعلى نسبة استجابة للعقدة المفردة في الوسط المجهز بـ 2 ملغم . لتر$^{-1}$ Kin وبلغت 70% وذلك بعد مرور4 أسابيع من الزراعة .

ثالثا: مرحلة التضاعف الخضري Multiplication stage :

تعد هذه المرحلة من مراحل الاكثار المهمة، وهي مرحلة حرجة إذ يتقرر في ضوئها نجاح أو فشل عملية الاكثار، اذ يتم خلالها اختيار أوساط زراعية مختلفة من اجل تحفيز الجزء النباتي للوصول الى أقصى درجة من التضاعف وإعادة تكوين للفروع الحديثة (Razdan ، 2003). والتي يمكن تحقيقها من خلال تشجيع نمو البراعم الجانبية أو العرضية ثم تجزئة النباتات الصغيرة الناتجة عنها وزراعتها بهدف زيادة اعدادها وتختلف استجابة الأجزاء النباتية للتضاعف اعتمادا على منظمات النمو المجهزة للوسط الغذائي ونوع الجزء النباتي المستخدم (الرفاعي والشوبكي، 2007).

وتعد السايتوكاينينات من اهم مكونات الوسط الغذائي المؤثرة في نجاح عملية التضاعف إذ تلعب دورا كبيرا في تحفيز الخلايا على الانقسام والتمايز ، وكسر السيادة القمية للأفرع ونمو البراعم العرضية من نسيج الكالس والأعضاء النباتية الأخرى (George وآخرون ، 2008).

لقد أثبتت العديد من الدراسات بأن للسايتوكاينينات تأثيرا مهما في نشوء وتضاعف المزارع النسيجية .

ففي دراسة لـ Sudherson وآخرون (2001) وجدا أن زراعة اطراف الأفرع لشجرة النبق *Zizyphus mauritiona* على وسط MS الصلب الحاوي على تراكيز مختلفة من BA 0، 0.01، 0.1، 1.0 ملغم . لتر$^{-1}$ قد اعطت اعلى معدل لطول الافرع بلغ 3.8 سم ونسبة تفرع بلغت 82% في الأوساط المزودة بـ 1.0ملغم .لتر$^{-1}$ BA بعد ثلاثين يوما من الزراعة .

وأوضح حميد وآخرون (2001) ان زراعة اطراف الفروع المأخوذة من أشجار بالغة وشتلات بعمر سنة واحدة من الفستق على وسط MS المجهز بتراكيز 0، 0.5 ، 1 ، 2 ، 4 ملغم . لتر$^{-1}$ من 2ip وBA كل على انفراد ان 2 ملغم . لتر$^{-1}$ BA أعطت 4.88 فرعا للأجزاء المأخوذة من الأشجار البالغة و5.49 فروع للأجزاء المأخوذة من الشتلات، في حين حفزه تراكيز 2ip الى استحثاث الكالس على الأجزاء النباتية.

وكذلك حصل Chuenboonngarm وآخرون (2001) على أفضل تضاعف عند زراعة اطراف الافرع لنبات الكاردينيا Ellis *Gardenia jasminoides* على وسط MS المجهز بتراكيز مختلفة من BA هي0، 2.5,5.0، 7.5، 10.0 ملغم . لتر$^{-1}$ ، اذ بلغ عدد الافرع 5.3 فرع جزء. نباتي و متوسط طول الفرع 1.6 سم في الوسط الغذائي المدعم بـ 2.5 ملغم . لتر$^{-1}$ BA.

وأشار Silva وآخرون (2003) ان زراعة اطراف الافرع والعقد لأصل الخوخ (("Capdedoseq") على وسط يحتوي املاح Lepoivre المزود بتراكيز مختلفة من السايتوكاينينات BA و2ip وKin هي 0.1 ، 0.5 ، 1 ،2 ملغم .لتر$^{-1}$ كل على انفراد ان أفضل استجابة للتضاعف كانت في الأوساط التي احتوت 1ملغم. لتر$^{-1}$BA اذ بلغ عدد الفروع 24.3 فرع عقدة$^{-1}$ ، في حين

اعلى معدل للزيادة في طول الافرع بلغ 9.9سم سجل في الأوساط المزودة بالتركيز 0.1 ملغم . لتر$^{-1}$ Kin بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة.

وتمكن Atta-Alla وآخرون (2003) عند زراعتهم القمم النامية والعقد لشجرة الديباج *Bombax malabricum* في وسط مجهز بتراكيز مختلفة من BA هي 0 ، 1.0 ، 2.0 ، 3.0 ملغم . لتر$^{-1}$ من الحصول على افضل تضاعف عند الوسط المجهز بـ 2.0 ملغم . لتر$^{-1}$ BA، إذ اعطى اكبر عدد من الافرع بلغت 2.2 فرع . قمة نامية$^{-1}$ و 3.4 فرع . عقدة$^{-1}$ في حين سجلت اكبر استطالة للأفرع على الوسط المزود بـ 1.0 ملغم . لتر$^{-1}$ BA و بلغت 3.4,4 سم.

وذكر Roy وآخرون(2004) ان زراعة عقد نبات الورد *Rosa sp* على وسط MS حاوي تراكيز مختلفة من BA وهي 1.0، 1.5 ، 2.0 ملغم . لتر$^{-1}$، أذ ان التركيز 1.5 ملغم . لتر$^{-1}$BA أعطى أعلى تضاعف بلغ 8.0 فرع . جزء نباتي$^{-1}$ بعد مرور 7 أسابيع من الزراعة.

وأشار الجواري (2005)عند زراعة اطراف الافرع لشجرة السدر *Zizphus spinachrisiti* willd من صنفي الملاسي و البمباوي ان الوسط MS المزود بـ 2.0 ملغم . لتر$^{-1}$ Kin أعطى اكبر عدد للأفرع بلغ 1.9 و 1.5 فرع . جزء نباتي$^{-1}$ بالتتابع، في حين حصلت اكبر استطالة للأفرع 2.68 و2.79 سم في الوسط المدعم بـ Kin بتركيز1.0ملغم .لتر$^{-1}$ عند الصنفين على التوالي.

وتوصل Fotopoulos و Sotiropulos (2005) عند زراعتهما أجزاء نباتية لأصل الخوخ الهجين PP2041/84 الناتج عن تهجين الخوخ واللوز (*Prunus persica* x *prunus* amygdalus) على وسط MS مضافا اليه 0 ،0.1 ، 0.5 ، 1 ،2 ملغم . لتر$^{-1}$ BA ، او 0.05 ، 0.2 ،0.5 ، 1 ملغم . لتر$^{-1}$2ip، ان افضل معدل لتضاعف الافرع تم الحصول عليه في الأوساط الحاوية على 0.5 و1 ملغم . لتر$^{-1}$ BA، بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة.

وتمكن قصاب باشي (2007) من اكثار اللوز صنف Fournated باستخدام العقدة المزروعة على وسط MS الصلب المجهز بتراكيز 0 ، 1 ، 2 ، 3 ، 4 ملغم . لتر$^{-1}$من BA ووجد ان اعلى عدد للأفرع الناتجة من التضاعف كانت في المعاملة 4 ملغم . لتر$^{-1}$، إذ بلغت 7.5 فرعا . عقدة$^{-1}$ ، في حين بلغ أطول فرع 2.86 سم في المعاملة 1 ملغم . لتر$^{-1}$.

وبينت المزوري (2007) عند زراعة اطراف الافرع لنبات الشبو الشجيري *Cestrum nocturnum* على وسط MS المدعم بتراكيز 0 ، 1.5 ، 2.0 ، 2.5 ملغم . لتر$^{-1}$ من BA، إذ ان الوسط المزود بـ 2.0 ملغم . لتر$^{-1}$ BA أعطى 2.5 فرع . جزء نباتي$^{-1}$ و بمعدل طول 1.84 سم بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة.

وكذلك أوضحت النوح (2008) ان استخدام البراعم الزهرية لغرض التضاعف كان أفضل من استخدام العقد واطراف الافرع لنبات الكاردينيا *Gardenia jasminoides* عند زراعتها على وسط MS المدعم بتراكيز مختلفة من BA كانت 0 ، 0.5 ، 1.0 ، 1.5 ملغم . لتر$^{-1}$ و Kin بتركيز 0 ، 2.5 ، 5.0 ، 7.5 ملغم . لتر$^{-1}$ اذ تم الحصول على اعلى متوسط لعدد الافرع بلغ 16.9 فرع . جزء نباتي$^{-1}$ على وسط مجهز بـ 4.5 ملغم . لتر$^{-1}$ BA، في حين اعطى الوسط المدعم بتركيز 7.5 ملغم . لتر$^{-1}$ من Kin تضاعف لعدد افرع للتضاعف بلغ 9.2 فرع . جزء نباتي$^{-1}$.

وفي دراسة للباحثين Anirdudh و Kanwar (2008) لتضاعف أشجار الكمثرى البرية *Pyrus pyrifolia* (Burn F.) Nakai على وسط MS المحتوي على تراكيز مختلفة من BA هي 0 ، 0.5 ، 1 ، 1.5 ، 2 ، 2.5 ملغم . لتر$^{-1}$. استنتج بأن أفضل تضاعف كان في الأوساط المدعمة بـ 2 ملغم . لتر$^{-1}$ لكن لم تكن اطوال هذه الافرع ملائمة لعملية التجذير لكون أطوالها أقل من 2 سم وذلك بعد مرور 6 أسابيع من الزراعة.

وأوضح Akbas وآخرون (2009) خلال دراستهم لتأثير منظمات النمو في تضاعف فروع اللوز *Prunus dulcis* صنف Yaltisinki على وسط MS الصلب المدعم بتراكيز مختلفة من Kin او BA هي 0 ، 0.5 ، 1 ، 2 ، 4 ملغم . لتر$^{-1}$لكل منهما . ان اعلى متوسط للتضاعف حصل في الأوساط الحاوية على 1 ملغم . لتر$^{-1}$ Kin او BA إذ بلغت 16.10 و 2.25 فرع . جزء نباتي$^{-1}$ على التوالي، وبلغت اعلى زيادة في طول الفرع 2.02 سم و 2.38 سم بعد مرور 6 أسابيع من الزراعة لكل من منظمات النمو على التوالي.

ولاحظ عبيد (2009) عند زراعته القمم النامية والعقد المفردة لأصل الخوخ *Prunus persica* صنف محلي بيضاوي على وسط MS المجهز بتراكيز 0 ، 1 ، 2 ، 3 ، 4 ، 5 ملغم . لتر$^{-1}$ لكل

من BA او 2ip ، أن أفضل استجابة حدثت في الأوساط المزودة بـ 2 ملغم . لتر$^{-1}$ BA إذ سببت تفتح 2.6 فرع . عقدة$^{-1}$ مقابل 1 فرع . عقدة$^{-1}$ في معاملة المقارنة التي خلت من BA وذلك بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة للعقدة المفردة.

ووجد Abou Rayya وآخرون (2010) عند زراعة العقدة المفردة لنبات اللوز *Pruns dulcis* على وسط MS المزود بـ BA و Zeatin او Kin بالتراكيز 0 ، 0.5 ،1 ، 2 ، 4 ملغم . لتر$^{-1}$ لكل منهم ، الى ان افضل استجابة حدثت على الأوساط المزودة بتركيز 4 ملغم . لتر$^{-1}$ BA بلغ 36.33 فرع. جزء نباتي$^{-1}$ ، بيمنا أنخفض في الأوساط المزودة بـ 4 ملغم . لتر$^{-1}$ Kin و Zeatin وبلغ 8.33 او 23.33 فرع . جزء نباتي$^{-1}$ على التتابع وذلك بعد مرور 6 أسابيع من الزراعة.

وقام قصاب باشي (2010) بزراعة افرع وعقد *Gardenia thunbergia* صنف Veitchii خارج الجسم الحي على وسط MS أضيفت اليه تراكيز مختلفة من BA 0.0 ، 0.5 ، 1.0 ، 1.5 ، 2.0 ملغم . لتر$^{-1}$ او Kin بتركيز 0.0 ، 2.5 ، 5.0 ، 10.0 ، 15.0 ملغم . لتر$^{-1}$ وأظهرت النتائج ان الوسط المجهز بـ 1.0 ملغم . لتر$^{-1}$ BA أعطت أعلى متوسط لعدد الافرع بلغ 11.2 فرع . جزء نباتي$^{-1}$ في حين الوسط المزود بـ 10.0ملغم . لتر$^{-1}$ Kin أعطت اعلى متوسط لعدد الافرع بلغ 7.6 فرع .جزءنباتي$^{-1}$.

وتوصلت الشمري (2014) عند زراعة اطراف الافرع والعقدة المفردة لأصل الاجاص *Prunus marrianna* على وسط MS الصلب و المدعم بتراكيز مختلفة من BA هي0 ، 0.5 ، 1 ، 2 ،3 ملغم . لتر$^{-1}$ او Kin بتركيز 0 ، 2 ، 4 ، 8.6 ملغم . لتر$^{-1}$ ، ان إضافة 1 ملغم . لتر$^{-1}$ من BA أعطت اكبر متوسط لعدد الافرع الناتجة من زراعة العقدة المفردة اذ بلغ 3.44 فرع . عقدة$^{-1}$ وبمتوسط طول للأفرع بلغ 3.89 ملم مقارنة مع معاملة المقارنة التي أعطت متوسط عدد للأفرع بلغ 1.00 فرع . عقدة$^{-1}$ وبمتوسط طول بلغ 5.00 ملم، في حين أدت أضافة Kin بتركيز 4 ملغم . لتر$^{-1}$ الى ازدياد عدد الافرع الى 3.17 فرع . عقدة$^{-1}$ وبمتوسط طول للأفرع بلغ 6.03 ملم.

رابعا: مرحلة التجذير Rooting stage :

تهدف هذه المرحلة الى تكوين الجذور على الافرع الخضرية التي تكونت في مرحلة التضاعف ، من خلال نقل الافرع الخضرية من بيئة التضاعف التي تحتوي غالبا على احد السايتوكاينينات الى بيئة تكوين الجذور التي تحتوي غالبا على الأوكسينات او قد تخلو من منظمات النمو لتحفيز نشوء الجذور العرضية من قواعد الافرع (Hartmann وآخرون ، 2002).

وبينت الدراسات بأن نسبة وسرعة التجذير فضلا عن طول وقطر وعدد الجذور على الافرع الخضرية تختلف باختلاف نوع وتركيز الاوكسين المستخدم (القضاة وآخرون، 2008).

فقد لاحظ بدر وآخرون (2000) عند زراعة أفرع الكمثري كلاريانا *Pyrus calleryana* على وسط MS بنصف تركيز الاملاح مدعم بتراكيز مختلفة من IBA او NAA هي 0.1، 1، 1.5 ، 2 ملغم . لتر$^{-1}$ أن الأجزاء النباتية المزروعة على أوساط مزودة بـ 1.5 و2.0 ملغم . لتر$^{-1}$ NAA قد أعطت اعلى نسبة مئوية للتجذير بلغت 100% بعد اربعة أسابيع من الزراعة، بينما بلغ اعلى متوسط لعدد الجذور 2.7 جذر. فرع$^{-1}$ واعلى متوسط طول 2.9 سم في المعاملة المجهزة بالتركيز 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$، اما التركيز 1 ملغم .لتر$^{-1}$ IBA فقد سجل متوسط لعدد الجذور بلغ 1.1 جذر. فرع$^{-1}$ وبمتوسط طول جذر بلغ 0.8 سم مع تكوين الكالس عند قاعدة الافرع.

ومن جهة أخرى أوضح Atta-Alla وآخرون (2003) عند دراستهم لتأثير تواجد تراكيز مختلفة من IBA و NAA كلا على حدى في الوسط MS في تجذير افرع شجرة الديباج *Bombaax malaricum* ان جميع المعاملات جذرت بغض النظر عن وجود الاوكسين او عدمه الا ان المعاملة بالتركيز 0.1 ملغم . لتر$^{-1}$ IBA أدت الى زيادة عدد الجذور واطوالها إذ بلغ عدد الجذور 9.8 جذر. جزء نباتي$^{-1}$ وبمتوسط طول 3.2 سم.

ودرس Roy وآخرون (2004) تأثير تواجد تراكيز مختلفة من IBA ، IAA ، NAA بتركيز 0.5 ، 1.0 ، 1.5 ملغم . لتر$^{-1}$ كل على انفراد او تداخلاتهم في تجذير افرع نبات الورد *Rosa sp* الناتجة بالزراعة النسيجية على وسط MS ان الأوساط المحتوية على 1.0 ملغم . لتر$^{-1}$ IBA + 0.5 ملغم . لتر$^{-1}$ NAA أعطت اعلى نسبة تجذير بلغت 85% وذلك بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة.

ونجح Pijut و Michler (2006) في تجذير افرع من الكرز الأسود *Prunus serotina* Ehrh بزراعة الافرع على وسط MS مدعم بتراكيز 0 ، 0.5 ، 1.5 ، 2 ملغم . لتر$^{-1}$من IBA وأشارت نتائج الدراسة ان المعاملة 0.5 ملغم . لتر$^{-1}$ أعطت اعلى نسبة تجذير بلغت 27% في ظروف الظلام واكبر عدد للجذور إذ بلغت 2.3 جذراً. نباتياً$^{-1}$.

وكذلك وجد كل من Kouburis و Vasilakakis (2006) عند زراعة افرع نبات المشمش صنف Bebecou على وسط MS المدعم بتراكيز مختلفة من IBAهي 0 ،2 ،4 ، 6 ملغم . لتر$^{-1}$ و NAA بتركيز 0 ، 0.5 ، 1 ملغم . لتر$^{-1}$، ان التركيز 4 ملغم . لتر$^{-1}$ IBA أدت الى الحصول على اعلى متوسط لعدد الجذور . جزء نباتي$^{-1}$ في حين أدى التركيز 1 ملغم . لتر$^{-1}$ NAA الى الحصول على اعلى نسبة تجذير بلغت 100%.

واستطاع كل من Dabski و Parzymies (2007) من تجذير افرع نبات كل من *Hebe buchananii* و *Hebe canterbariensis* وهو من الشجيرات الدائمة الخضرة عند زراعتهاعلى وسط MS مضافا اليه IBA بالتراكيز0 ، 1 ، 2.5 ، 5 ملغم . لتر$^{-1}$ ولوحظ ان المعاملة بالتركيز 2.5 ملغم . لتر$^{-1}$ IBA أعطت افضل نسبة تجذير بلغت 95% في حين سجلت المعاملة بالتركيز 5 ملغم . لتر$^{-1}$ على اكبر عدد وطول للجذور بلغ 6.1 جذر لكل فرع 22.9 ملم على التوالي.

وتمكن Naghmouch وآخرون (2008) من تجذير افرع شجرة الخروب *Ceratonia siliqua* عند زراعتها على أوساط مزودة بتراكيز مختلفة من IBA 0 ، 0.5 ، 1 ، 2 ملغم . لتر$^{-1}$وقد اعطى التركيز 2 ملغم . لتر$^{-1}$ افضل نسبة مئوية للتجذير وافضل عدد من الجذور واعلى طول لها وذلك بعد مرور أسبوع من الزراعة وهذه النسبة ازدادت مع زيادة فترة بقاء الأجزاء النباتية على وسط التجذير كذلك ازداد معها عدد الجذور المتكونة.

وذكرت النوح (2008) ان افضل نسبة تجذير تم الحصول عليه من زراعة اطراف الافرع مختبريا لنبات الكاردينيا *Gardenia Jasminoides* على وسط MS مجهز بنصف تركيز املاح العناصر الغذائية مع تراكيز مختلفة من IBA 0 ،0.5 ، 1.0 ، 2.0 ملغم . لتر$^{-1}$ ، بلغت 100% وبمتوسط

عدد جذور 5.6 جذر. جزء نباتي$^{-1}$، وبمتوسط طول لأطول جذر بلغ 1.35 سم عند الوسط المدعم بـ 1.0 ملغم . لتر$^{-1}$ IBA.

وتوصل الخيبري (2008) عند دراسته تجذير افرع نبات التين *Ficus carica* صنف Brown Turkey على وسط MS بتركيز كامل الاملاح او نصف ومجهز بتراكيز مختلفة من IBA و IAA 0 ، 0.25 ، 0.5 ، 0.75 ، 1 ملغم . لتر$^{-1}$ ان الوسط المجهز بتركيز 0.25 ملغم .لتر$^{-1}$ IBA سجل متوسط عدد جذور بلغ4.4 جذراً رئيسا .جزءً نباتياً$^{-1}$ وبنسبة تجذير بلغت85% ، في حين سجل التركيز 0.5 ملغم . لتر$^{-1}$ من IAA 4.4 سجل جذراً رئيسا. جزءً نباتياً$^{-1}$ وبنسبة تجذير 80% .

وأستنتج العبيدي (2011) ان زراعة الافرع الخضرية للزعرور *Crataegus japan* L. الناتجة مختبريا على وسط غذائي MS بنصف قوة الاملاح مجهزة بتراكيز من IBA 0 ، 1 ، 2 ، 3 ، 4 ملغم . لتر$^{-1}$ ان الوسط المزود بـ 2 ملغم . لتر$^{-1}$IBA سجلت اعلى واسرع نسبة تجذير بلغت 50% بعد 6 أسابيع من الزراعة .

وتمكنLaurene (2013) من تجذير الافرع الناتجة من زراعة العقد الساقية لأشجار البيلسان الهندي *Viburnum tinus* L على وسط MS مجهز بتراكيز مختلفة من IBA 0 ، 0.5 ، 1 ، 1.5 ملغم . لتر$^{-1}$ إذ وجد ان اعلى نسبة تجذير حصلت 84.44% كانت عند التركيز 0.5 ملغم . لتر$^{-1}$ IBA وافضل متوسط لطول وعدد الجذور كان 2.7 سم ، 3.82 جذر وعلى التتابع .

وتمكنت الشمري (2014) من تجذير افرع نبات الاجاص *Prunus Marrianna* الناتجة من الزراعة النسيجية على وسط MS مضافا اليه التركيز 0 ، 0.5 ، 1 ، 2 ملغم . لتر$^{-1}$من IBA إذ لوحظت ان التركيز 0.5 ملغم . لتر$^{-1}$ IBA أعطت نسبة تجذير بلغ 80% وبمتوسط عدد الجذور بلغ 2.25 جذراً. فرعاً$^{-1}$.

خامسا: مرحلة الاقلمة Acclimatization stage :

تعرف الأقلمة بأنها تهيئة أو تكييف النبيتات الناتجة عن الزراعة النسيجية للتغيرات البيئية الخارجية التي تتمثل بقلة الرطوبة وإرتفاع شدة الإضاءة وقلة الماء في التربة الجافة،، إذ تحدث تغيرات كبيرة اثناء عملية الاقلمة منها زيادة طبقة الكيوتكل في الورقة وانتظام عمل الثغور وزيادة

نسبة المجموع الجذري وزيادة تحول بعض البروتينات الى احماض امينية مما يؤدي الى زيادة المحتوى الازموزي للخلايا الذي بدوره يساعد في امتصاص الماء والعناصر الغذائية (John وآخرون ، 2003) .

تمر الاقلمة بعدة مراحل وليس مرحلة واحدة اذ تجري بصورة تدريجية على النبات وهناك عدة أساليب وطرق مختلفة لأجراء الاقلمة ، اذ تعتبر المرحلة الأولى لأقلمة النبيتات المنتجة بالزراعة النسيجية تتم من خلال زيادة شدة الإضاءة بحدود 3000– 10000 لوكس لزيادة كفاءة عملية التمثيل الضوئي ، ومن ثم تقليل الرطوبة النسبية تدريجيا، فضلا عن نقل النبيتات من انابيب الاختبار الى أصص حاوية على خليط من الأوساط الزرعية وهذه المخاليط تكون ذات حموضة ملائمة وقدرة عالية لتحتفظ بالماء وذات صرف وتهوية جيدين وبعدها يتم تعريض النبتات الى اشعة الشمس غير المباشر (Meerow ، 2003 و John وآخرون ، 2003) .

وقام كل من Liu و Pijut (2008) بأقلمة نبيتات الكرز الأسود *Prunus Serotina* وذلك بزراعة النبيتات المجذرة في أقراص GV–7 مدعمة بنصف قوة املاح الوسط MS مع 2% سكروز بدون إضافة منظمات النمو لمدة 4 أيام قبل نقلها الى نظام الإضاءة الاعتيادية ، أذ تبين ان 70–76% من النبتات المجذرة بقت حية بعد اقلمتها في البيت الزجاجي .

وتمكن Amar وآخرون (2013) من أقلمة النبتات المجذرة للشبو الشجيري *Cestrum nocturnum* L. الناتجة من الزراعة النسيجية وذلك بزراعة النبتات المجذرة في خليط بيت موس والرمل (1:1 حجم)، أذ بلغت نسبة بقائها 100% تحت ظروف البيت الزجاجي .

2–3: المركبات الفينولية وظاهرة الاسمرار:

تعد المركبات الفينولية من المركبات الفعالة ذات الاوزان الجزيئية المنخفضة التي تمتلك حلقة اروماتيه Aromatic ring تحمل معها مجموعة هيدروكسيلية واحدة او اكثر وتوجد تقريبا في جميع الأجزاء النباتية (Jogan-Roy وآخرون ، 2005) . إذ تعد من ابرز مضادات الاكسدة الطبيعية التي تشمل الفلافونيدات والكاروتينات والتانينات والحوامض الفينولية (الغانمي وآخرون ، 2011) . وهي

توجد مرتبطة مع السكر على هيئة كلايكوسيدات وأغلب الفينولات تكون ذائبة في الماء(Devasagayam و Silins ، 2002) .

وتؤدي المركبات الفينولية دورا هاما في نمو وتطور وتكاثر النباتات فهي ضرورية في البناء الحيوي للكنين Lignin الذي يعد من اهم مكونات جدار الخلية النباتية، لذا تكون مسؤولة عن إعطاء صفة الصلابة للنباتات وبالتالي تزيد من قابلية النبات على المقاومة الطبيعية والكيمائية للإصابة بالأمراض والحشرات والفطريات والفيروسات (Butler ، 1992 و George وآخرون ، 2008). ومن اهم المركبات الثانوية الموجودة في نبات *C erectus* هي كلايكوسيدات وقلويدات ومركبات فينولية والتاينين (الموسوي، 2012) .

وتعد ظاهرة الاسمرار (Browning) من الظواهر التي تنتج في بعض المزارع النسيجية نتيجة للجروح التي تحدث عند تحضير وقطع الجزء النباتي ، إذ ان النبات يفرز مواد فينولية داخل وسط الزراعة فتتأكسد بوجود الضوء مما يؤدي الى ظهور اللون البني وعرقلة النمو (Fay، 1994) .

ومن الانزيمات المسؤولة عن ظاهرة الاسمرار انزيم البولي فينول أوكسيديز (PPO) Poly Phenol Oxides الذي يتفاعل مع المركبات الفينولية بوجود الاوكسجين الجوي فتتحول الفينولات الأحادية Mono phenol الى فينولات ثنائية Di phenol تكون الكينون Quinones والماء وتتجمع وتتبلمر Polymerize لتعطي مركبات ذات لون محمر مائل للبني إذ تحتوي جميع الانسجة النباتية تقريبا على PPO ولكن فعاليتها تختلف من نبات لأخر الى جانب اختلاف تركيز المركبات الفينولية من جزء لأخر (George و Sherrington ، 1993 و Newton ، 2007). ويعزى أغلب الباحثين سبب اسمرار الانسجة الى تراكم مواد سامة ناتجة من اكسدة المركبات الفينولية في مزارع الانسجة النباتية وتكون هذه المواد بتماس مع بعض انزيمات الاكسدة مثل انزيم البيروكسيديز التي تتحول فيها الى الكوينينات ذات سمية عالية للنبات الذي يؤدي الى التثبيط الحيوية للجزء النباتي ثم موته (المعري والغامدي ، 1998 و Beckman ، 2000) .

وتتأثر ظاهرة الاسمرار بعدة عوامل منها ما هو متعلق بالنبات نفسه كعمر الجزء النباتي المزروع وموعد زراعته وشدة الإضاءة وتركيز منظمات النمو النباتية والمواد الفينولية (Zaid،2002 وعبدالصمد،2008).

ويمكن التخلص او التقليل من ظاهرة التلون البني (الاسمرار) بعدة طرائق منها نقل الانسجة الى أوساط غذائية جديدة بعد فترة من الحضانة ، وكذلك إضافة الفحم المنشط Activated Choreoal (AC) الى الوسط الزرعي إذ يقوم بامتصاص المواد الفينولية على سطحه ويقلل من نشوء اللون البني الاسمرار (Browning) ، (Davey و Anthouy،2010) .

أوضح Mentell وآخرون (1998) ان سبب ظهور اللون الأسمر في الوسط الغذائي عند اكثار نبات الكاجو *Cashew* يعود الى اكسدة المواد الفينولية والتي تكونت نتيجة قطع النبات اثناء عملية إكثاره ، إذ تمكن من التغلب على هذه الظاهرة بزرع النبات في الظلام لمدة أسبوع ، مما أدى الى تقليل هذه المواد وزيادة نسبة بقاءها الى 90% ، في حين تمكن الباحثان Aliyu و Awopetu (2005) من التغلب على ظاهرة الاسمرار بنقل نبات الكاجو *Cashew* بصورة متسلسلة الى وسط غذائي جديد.

كما يمكن تجنب ظهور اللون البني في الوسط الغذائي من خلال استخدام الأجزاء الفتية من الأوراق والبراعم (George و Sherrington ، 1984) .

ومن أهم الطرق التي استخدمت لمعالجة ظاهرة الاسمرار هو من خلال استخدام مضادات الاكسدة والتي منها حامض الاسكوربيك Ascorbic acid والستريك Citric acid (البحر وآخرون،1999). لدورها الأساسي الذي تؤديه داخل النبات بأنها تؤثر في اكسدة ونشاط الانزيمات داخل النبات وتعد منظمة لحالات التأكسد والاختزال للبروتوبلازم (عبد الحافظ ، 2011) .

قامت نوح (2008) بمعاملة الأجزاء النباتية لأشجار الكاردينيا *Gardenia Jasminoides* من خلال غمرها بمحلول حامض الاسكوربيك Ascorbic acid بتركيز 150 ملغم.لتر$^{-1}$ لمدة 15 دقيقة قبل اجراء التعقيم للتخلص من الافرازات الفينولية للأجزاء النباتية وسط الزراعة .

وفي دراسة الخليفة وآخرون (2008) بينوا ان افضل معاملة للأجزاء النباتية المختلفة لنخيل التمر *Phoenix dactyifera* صنف الساير للتخلص من ظاهرة الاسمرار كانت من معاملة الأجزاء النباتية في محلول مضاد للأكسدة Antioxidant Solution الذي يتكون من 150 ملغم.لتر$^{-1}$ من حامض الستريك Citric acid و100 ملغم.لتر$^{-1}$من حامض الاسكوربيك Ascorbic acid وتم حفظها في الثلاجة على درجة 5مْ ولمدة 24 ساعة قبل تعقيمها وزراعتها .

وأثبت Othmani وآخرون (2009) ان المعاملة الأولية للجزء النباتي بمواد مانعة للأكسدة حامض الستريك والاسكوربيك بتركيز 150 ملغم.لتر$^{-1}$ كانت اكثر فعالية في تقليل اللون البني مقارنة باستخدام Poly vinyl pyrolidon(PVP) ونقل الجزء النباتي الى الوسط الزراعي كل 10 أيام لنخيل التمر.

ومن جهة أخرى استخدم إبراهيم وآخرون (2012) مواد مانعة للأكسدة مثل حامض الاسكوربيك بتركيز 100 ملغم.لتر$^{-1}$ وحامض الستريك بتركيز 150 ملغم.لتر$^{-1}$ معا إذ كانت كفوءه للحد من ظهور الاسمرار في الوسط الغذائي لنبات العنب الأوربي *Vitis vinifera* L .

كما يمكن إضافة بولي فينايل بايرودين (PVP) داخل الوسط الغذائي إذ تعمل على أحداث توازن لمنظمات النمو والمواد الأخرى المستخدمة في الاكثار النسيجي وكذلك تساهم في تحفيز وامداد الانسجة والتحوير والتمايز (Zaid ، 1993).

كما استطاع النعيمي ومحمد (2006) من التخلص من الافرازات الفينولية لشجرة السدر *Zizyphus mautitaral* باستخدام مواد مضادة للأكسدة حامض الاسكوربيك بتركيز100 ملغم.لتر$^{-1}$ او حامض الستريك بتركيز 150 ملغم.لتر$^{-1}$ واستخدام الفحم المنشط Activated Charcoal بتركيز 0.3% فضلا عن مادة Poly Vinyl Pyrolidon PVP بتركيز 0.3% واظهرت النتائج ان استخدام PVP كان الأكثر كفاءة للحد من مشكلة التلون البني.

3. المواد وطرائق العمل

أجريت هذه الدراسة في مختبر زراعة الخلايا والانسجة النباتية التابع لقسم علوم الحياة في كلية التربية للعلوم الصرفة . بجامعة ديالى للفترة من 2015/9/1 ولغاية 2016/6/5 .

3-1: تحضير الأوساط الغذائية : Preparation of nutrient media

استخدم الوسط الغذائي MS الجدول(1) بين مكونات الوسط الغذائي والمجهز في المختبر ولتحضير لتر واحد من الوسط تمت اذابة 7غم Agar-agar في 500 مل من الماء المقطر عند درجة الغليان باستعمال جهاز الهزاز المغناطيسي ذي الصفيحة الساخنة Hot plat magnetic stirrer، ثم أضيفت العناصر الغذائية الكبرى والسكروز والمايواينوسيتول myo-inosetol بشكل مسحوق الى المحلول وحسب الاوزان المطلوبة لكل منها . اما العناصر الغذائية الصغرى والفيتامينات ومنظمات النمو فقد أضيفت من محاليل قياسية تم تحضيرها مسبقا بعد ان خففت الى التراكيز المطلوبة لتحضير 1 لتر من الوسط الغذائي. بعدها اكمل حجم محلول الوسط الغذائي الى 1 لتر بإضافة ماء مقطر الى خليط مكونات الوسط ، تم ضبط الدالة الحامضيةpH ما بين 5.7-5.8 بواسطة محلول 1 عياري من هيدروكسيد الصوديوم NaOH او حامض الهيدروكلوريك المخفف HCl. بعد الانتهاء من تحضير الوسط الغذائي تم توزيعه على قناني زجاجية سعة 125 مل وبواقع 20 مل لكل قنينة . غطيت القناني بورق الالمنيوم وعقمت في جهاز المؤصدة Autoclave على درجة حرارة 121 مْ وضغط 1.04 كغم/سم^2 لمدة 20 دقيقة .

أضيفت مضادات الأكسدة ومنظمات النمو بشكل مفرد او متداخلة وذلك تماشيا مع الهدف من الدراسة وكما سيرد لاحقا

جدول(1) مكونات الوسط الغذائي MS:

ت	المادة	الصيغة	التركيز ملغم. لتر$^{-1}$
أ-	**العناصر الغذائية الكبرى**		
1-	نترات الأمونيوم	NH_4NO_3	1650
2-	نترات البوتاسيوم	KNO_3	1900
3-	كلوريد الكالسيوم المائي	$CaCl_2.2H_2O$	440
4-	فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين	KH_2PO_4	170
5-	كبريتات المغنسيوم المائية	$MgSO_4.7H_2O$	370
ب-	**العناصر الغذائية الصغرى**		
1-	حامض البوريك	H_3BO_3	6.2
2-	كبريتات المنغنيز المائية	$MnSO_4.4H_2O$	22.3
3-	كبريتات الخارصين المائية	$ZnSO_4.7H_2O$	8.6
4-	أيوديد البوتاسيوم	KI	0.83
5-	مولبيدات الصوديوم المائية	$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
6-	كبريتات النحاس المائية	$CuSO_4.5H_2O$	0.025
7-	كلوريد الكوبالت المائي	$CoCl_2.6H_2O$	0.025
8-	كبريتات الحديدوز المائية	$FeSO_4.7H_2O$	27.8
9-	أثلين ثنائي الامين رباعي حامض الخليك ثنائي املاح الصوديوم	Na_2EDTA	33.6
ج-	**الفيتامينات والأحماض الأمينية**		
1-	حامض النيكوتينيك	Nicotinic acid	0.5
2-	ثايمين حامض الهيدروكلوريك	Thiamine – HCl	0.1
3-	بايرودكسين حامض الهيدروكلوريك	Pyridoxine - HCl	0.5
4-	كلايسين	Glycine	2
5-	مايوانوسيتول	Myo – Inositol	100
د-	**سكروز**	Sucrose	30000
هـ-	**آكار**	Agar-Agar	7000
و-	**منظمات النمو (بما يتوافق واهداف الدراسة) .**	BA, Kin, IBA	
ز-	**ماء مقطر (واحد لتر)**		
ح-	**PH**	6.0-5.8	

3-2: تعقيم الأدوات المستعملة :Sterilization of Tools

عقمت جميع أدوات ولوازم الزراعة (من ملاقط ومشارط بتغليفها بورق الالمنيوم والماصات والبيكرات وأطباق بتري بوضعها داخل أكياس نايلون) باستخدام جهاز المعقام الحراري بالبخار Autoclave لمدة 25 دقيقة، فضلا عن استخدام الكحول الاثيلي بتركيز 95% مع الحرق في تعقيم الشفرات والملاقط و70% لتعقيم الايدي ومنضدة انسياب الهواء الطبقي Laminar-Air flow cabinet خلال العمل.

3-3 : تعقيم الأجزاء النباتية : Sterilization of explants

أخذت أجزاء نباتية متمثلة بعقد مفردة من افرع غضة حديثة النمو لنباتات كونوكاربس *Conocarpus erectus* مزروعة في حدائق كلية التربية للعلوم الصرفة ، ذات نموات خالية من الإصابات الحشرية والمرضية ونقلت الى المختبر، حيث ازيلت منها جميع الأوراق ثم غسلت بمسحوق الغسيل العادي، وتركت تحت الماء الجاري لمدة 15-20 دقيقة لضمان التخلص من الاتربة والمواد العالقة ثم نقعت بماء مقطر معقم لمدة 24 ساعة وتم حفظها في الثلاجة ثم استخرجت الأجزاء النباتية وتم وضعها في محلول مضاد للأكسدة Antioxidant Solution الذي يتكون من حامض الاسكوربيك Ascorbic-Acid بتركيز 100 ملغم.لتر$^{-1}$ وحامض الستريك Citric-Acid بتركيز 150 ملغم.لتر$^{-1}$ لمدة ساعة بعدها اخرجت من المحلول المضاد للأكسدة ثم نقلت الى منضدة انسياب الهواء الطبقي . حيث أجريت عليها معاملات التعقيم المنتخبة الاتية :

- هايبوكلورات الصوديوم NaOCl بالتراكيز 10% , 20% , 50% لمدة 15 دقيقة .
- المعاملة بالكحول الاثيلي C_2H_5OH بتركيز 70% مدة دقيقة + هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 20% مدة 30 دقيقة .
- المعاملة بالكحول الاثيلي C_2H_5OH بتركيز 70% مدة دقيقتين + هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 50% لمدة 30 دقيقة .
- المعاملة بكلوريد الزئبق $HgCl_2$ بالتركيزين 0.1% , 0.5% لمدة 15 و30 دقيقة .

مع التحريك المستمر لإزالة الفقاعات الهوائية في الأجزاء النباتية ، ثم غسلت بالماء المقطر والمعقم ثلاث مرات لمدة 3-5 دقائق مع التحريك المستمر بهدف إزالة التأثير الضار لمادة التعقيم والمحافظة على حيوية الأجزاء النباتية سجلت البيانات لصفة نسبة التلوث(%) ونسبة بقاء(%) للأجزاء النباتية بعد مرور 30 يوما من الزراعة.

3-4 : الافرازات الفينولية.

نفذت عدة تجارب للحد من تأثير المواد الفينولية ، اشتملت على استعمال محاليل مضادات الأكسدة Antioxidants Solution التي شملت حامض الاسكوربيك Ascorbic acid بتركيز 100 ملغم.لتر$^{-1}$ وحامض الستريك Citric acid بتركيز 150 ملغم.لتر$^{-1}$ او باستخدام مادة PVP-30 (Poly Vinyl Pyrolidon) بتركيز 3غم.لتر$^{-1}$ كل على انفراد والتداخل بينهما وكما يأتي:

1) معاملة المقارنة (عدم استخدام أي من مضادات الاكسدة)
2) حامض الستريك لوحده في الوسط بتركيز 150 ملغم. لتر$^{-1}$
3) حامض الاسكوربيك لوحده في الوسط بتركيز 100 ملغم. لتر$^{-1}$
4) PVP لوحده في الوسط بتركيز 3 غم. لتر$^{-1}$
5) التداخل بين الستريك + الاسكوربيك في داخل الوسط
6) التداخل بين الستريك + PVP في داخل الوسط
7) التداخل بين الاسكوربيك + PVP في داخل الوسط
8) النقع لمدة ساعة قبل التعقيم بالستريك + الاسكوربيك + PVP في الوسط

استعمل الوسط الغذائي MS المصلب بالأكار بنسبة 0.7% وحضنت الزروعات في غرفة النمو بدرجة حرارة 25±1 م^{o} وفي نظام الضوء والظلام المتعاقب 16 ساعة ضوء/8 ساعات ظلام وشدة اضاءة 2000 لوكس. استعملت 10 مكررات وبمعدل وعاء زراعي (قنينة) لكل مكرر وحسبت النسبة للاسمرار وظهور المواد الفينولية في الوسط الزرعي كما يأتي :

$$\text{النسبة المئوية للاسمرار} = \frac{\text{عدد النبات التي ظهر فيها الاسمرار}}{\text{عدد الكلي للمعاملة}} \times 100$$

النسبة المئوية للأجزاء النباتية الميتة

النسبة المئوية للأجزاء النباتية الحية غير المستجيبة

النسبة المئوية للأجزاء النباتية الحية المستجيبة

3-5 : تهيئة الأجزاء النباتية للزراعة

بعد الانتهاء من عملية التعقيم نقلت الأجزاء النباتية الى اطباق بتري معقمة وقطعت نهاياتها للتخلص من الأجزاء المتضررة وثم إخذت:

العقدة المفردة الثالثة التي تلي القمة النامية Single node بطول 1.0 – 1.25 سم كأجزاء نباتية مستخدمة في التجارب.

3-6 : تأثير السايتوكاينينات المنفردة في نشوء وتضاعف العقدة المفردة:

أجريت هذه التجربة لمعرفة تأثير إضافة BA او Kin كل على انفراد وبواقع 10 مكررات لكل معاملة وجزء نباتي واحد لكل مكرر.

3-6-1 : مرحلة النشوء Establishment Stage :

عدت المرحلة الأولى أربعة أسابيع بعد الزراعة مرحلة نشوء والتي تم فيها زراعة الأجزاء النباتية بعد تعقيمها على وسط MS المدعم بمنظمات النمو بتراكيز مختلفة من BA 0.0 ، 0.5 ، 1.0 ، 1.5 ، 2.0 او Kin بتركيز 0.0، 1.0، 2.0، 3.0 ملغم . لتر$^{-1}$ بحيث ثبت الثلث السفلي منها في الوسط الغذائي بعدها سدت قناني الزراعة بورق الألمنيوم ومن ثم حضنت الزروعات في غرفة النمو عند درجة حرارة 25 ±1 مْ وشدة اضاءة 2000 لوكس لمدة 16 ساعة ضوء و8 ساعات ظلام/يوم ، وشملت الدراسة الصفات التالية:

1- النسبة المئوية للأجزاء النباتية الحية غير المستجيبة للنمو .

2- النسبة المئوية للأجزاء النباتية الحية المستجيبة للنمو .

3-6-2 : مرحلة التضاعف Multiplication Stage :

عدت الأربعة اسابيع التي تلت مرحلة النشوء هي مرحلة لتضاعف الأجزاء النباتية بعد إعادة زراعتها على وسط MS المدعم بمنظمات النمو بتراكيز مختلفة من BA 0.0، 0.5 ، 1.0 ، 1.5، 2.0 ملغم . لتر$^{-1}$ او Kin بتركيز0.0، 1.0، 2.0، 3.0 ملغم.لتر$^{-1}$ وحفظت الزروعات تحت نفس الظروف وسجلت البيانات التي شملت قياس متوسط عدد الافرع الكلي، متوسط الافرع الأطول من 0.5 سم ، متوسط عدد الأوراق. جزء نباتي$^{-1}$ ومتوسط اطوال الافرع (سم).

3-7 : تأثير التداخل بين السايتوكانينيات في نشوء وتضاعف العقدة المفردة:

أجريت هذه التجربة لمعرفة تأثير التداخل بين BA وKin باعتماد تراكيز منتخبة من BA 4.0,3.0,2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ و Kin 0.5,0.3,0.2 ملغم.لتر$^{-1}$على ضوء نتائج التجارب تأثير السايتوكاينينات منفردة وبواقع 10 مكررات لكل معاملة وجزء نباتي واحد لكل مكرر.

3-7-1 : مرحلة النشوء:

ان التراكيز المعتمدة في التداخل انتخبت على ضوء نتائج تأثير السايتوكاينينات كل على انفراد في نشوء العقد المفردة والتي تم فيها زراعة الأجزاء النباتية بعد تعقيمها على وسط MS المدعم بمنظمات النمو بتراكيز مختلفة من BA 2.0، 3.0، 4.0 ملغم.لتر$^{-1}$ متداخلاً مع Kin بتركيز0.2،0.3،0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ حضنت الزروعات في غرفة النمو عند درجة حرارة 25±1 مْ وشدة اضاءة 2000 لوكس لمدة 16 ساعة ضوء و8 ساعات ظلام/يوم.

3-7-2: مرحلة التضاعف.

عدت الأربعة اسابيع التي تلت مرحلة النشوء مرحلة لتضاعف الأجزاء النباتية بعد إعادة زراعتها على وسط MS المدعم بمنظمات النمو بتراكيز مختلفة من BA 2.0، 3.0، 0.4 ملغم.لتر$^{-1}$ مع Kin بتركيز 0.2، 0.3، 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ وحفظت الزروعات تحت نفس الظروف وسجلت بياناتها إذ تم قياس متوسط عدد الافرع الكلي، متوسط الافرع الأطول من 0.5 سم، متوسط عدد الأوراق/ ورقة. جزء نباتي$^{-1}$نبيتة ومعدل اطوال الافرع (سم) بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة.

3-8 : مرحلة التجذير Rooting Stage :

الافرع الناتجة من مرحلة التضاعف اخذت بطول 2 سم تقريبا وعدد اوراقها التي تراوحت ما بين 1-5 ورقة وزرعت على وسط MS بكامل قوة الاملاح ووسط MS بنصف قوة الاملاح والمدعمة بتراكيز 0.0 ، 0.5 ، 1.0، 1.5 ملغم . لتر$^{-1}$ IBA بهدف التجذير واخذت بيانات الصفات والتي اشتملت على:

النسبة المئوية للتجذير، عدد الجذور، طول أطول جذر(سم)، ارتفاع النمو الخضري(سم).

3-9 : مرحلة الاقلمة Acclimatization Stage :

أجريت أقلمة النبتات (Plantlet) الناتجة من مرحلة التجذير من خلال غسل جذورها بشكل جيد بماء الحنفية الجاري لإزالة بقايا الاكار الملتصقة بها ثم غمرت في محلول المبيد الفطري(1 غم .لتر$^{-1}$) لمدة 5 دقائق ثم زرعت في الوسط الزراعي البتموس المعقم وغطيت الاصص بأكياس نايلون للحفاظ على الرطوبة ثم ثقبت هذه الاكياس تدريجيا وازيلت الاكياس تدريجيا بالكامل وتم تغذية النبتات بالوسط الغذائي (MS) بحالته السائلة وسقي النباتات بالماء المقطر وبعد 8 أسابيع من الاقلمة اخذت الصفات التي شملت على ما يأتي:

نسبة البقاء % ، ارتفاع النمو الخضري، عدد الأوراق/نبات، عدد العقد/نبات.

3-10: التحليل الاحصائي

استخدم التصميم العشوائي الكامل CRD،(Completely Randomized Design) في تنفيذ التجارب وتم المقارنة بين المتوسطات وفق اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5% لكافة المعاملات قيد الدراسة (الراوي وخلف، 1980).وأجري التحليل الاحصائي باستخدام الحاسوب عن طريق تحليلها ببرنامج الـ SAS (1999)

4.النتائج والمناقشة

4-1: تأثير معاملات التعقيم في معدل بقاء وتلوث الأجزاء النباتية:

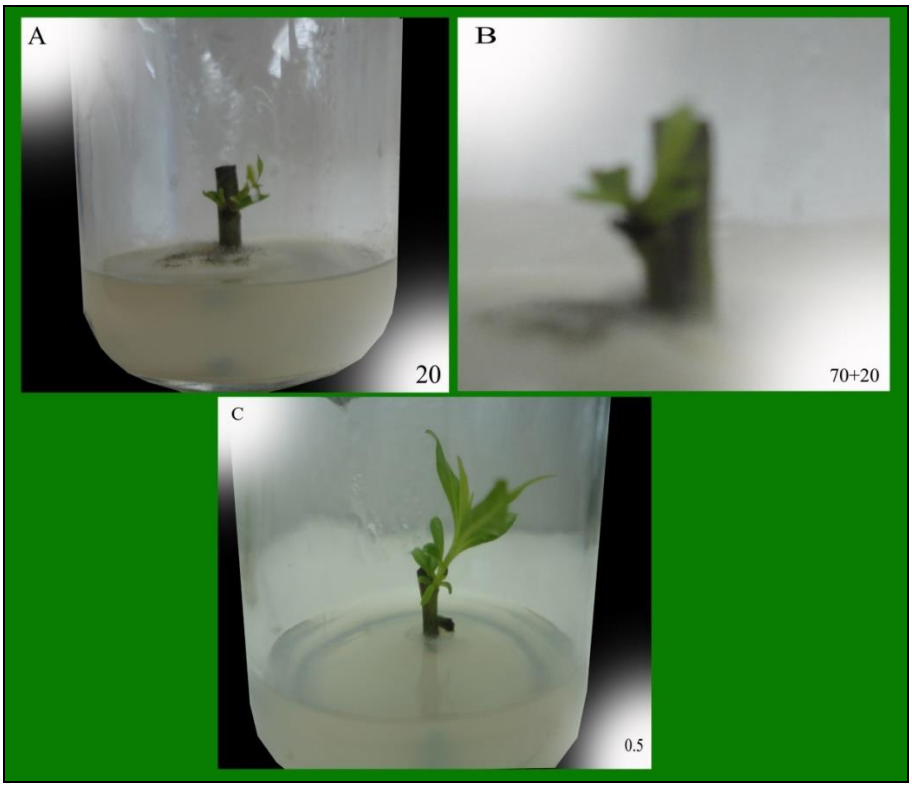
أظهرت نتائج التعقيم (جدول2) التي استعملت للتخلص من الملوثات السطحية لنبات *Conocarpus erectus* عدم فعالية هايبوكورات الصوديوم NaOCl بالتراكيز المستخدمة إذ بلغت اعلى نسبة مئوية للتلوث 90% عند التركيز 10% ونسبة 70% عند التركيز 20% و 50% ولمدة 15 دقيقة وقد اثرت المعاملة في تأخير استجابة العقد لتفتح البراعم الابطية. شكل(A:1)

في حين أشارت نتائج التعقيم عند استعمال التداخل بين الكحول الاثيلي وهايبوكلورات الصوديوم الى انخفاض النسبة المئوية للتلوث إذ بلغت 20% عند التعقيم لتركيز 70% +50% لمدتي التعقيم 2 و30 دقيقة وعلى التوالي، وانعكس تأثير المعاملة بالتراكيز والأوقات المدروسة الى تفتح البراعم بشكل جيد فقد سجلت نسبة بقاء بلغت 80% بالمقارنة بالمعاملة 70% +20% من الكحول الاثيلي وهايبوكلورات الصوديوم لمدتي التعقيم 1+30 دقيقة على التوالي إذ بلغت نسبة التلوث فيها الى 50% ونسبة بقاء 50% شكل(B:1).

اما تجربة التعقيم الثالثة أظهرت النتائج فعالية كلوريد الزئبق $HgCl_2$ في الحد من تلوث الأجزاء النباتية فقد بلغت نسبة التلوث2.5% عند التركيز 0.5% لمدة 15 دقيقة وسجلت اعلى نسبة بقاء للأجزاء النباتية الحية 97.5% اذ اعتبرت ذات كفاءة اعلى من باقي التراكيز المستخدمة ولم يظهر أي تأثير سلبي على الأجزاء النباتية شكل(C:1) عند تعقيمها في حين بلغت نسبة تلوث الأجزاء النباتية للعقد المفردة 13.3و17.5% عند معاملتها بتركيز 0.5 و0.1% ولمدة 30 دقيقة وسجلت نسبة بقاء للأجزاء الحية بلغت 86.6% و82.5%على التوالي.

الجدول(2): تأثير المعاملات المختلفة من التعقيم في نسبة بقاء وتلوث مزارع العقد المفردة لنبات *C. erectus*

المعاملات	التركيز(%)	المدة (دقيقة)	نسبة التلوث (%)	نسبة البقاء (%)
هايبوكلورات الصوديوم	10	15	90	10
هايبوكلورات الصوديوم	20	15	70	30
هايبوكلورات الصوديوم	50	15	70	30
الكحول الاثيلي+هايبوكلورات الصوديوم	20+70	30+1	50	50
الكحول الاثيلي +هايبوكلورات الصوديوم	50+70	30+2	20	80
كلوريد الزئبق	0.5	15	2.5	97.5
كلوريد الزئبق	0.5	30	13.3	86.6
كلوريد الزئبق	0.1	30	17.5	82.5



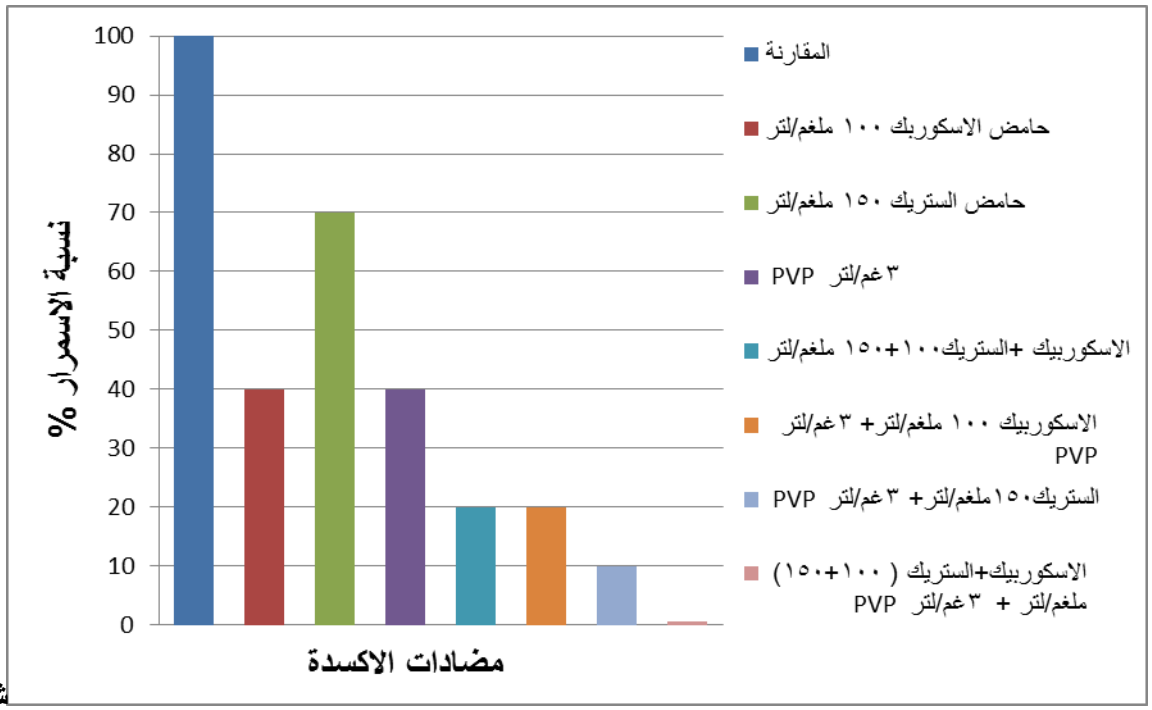
شكل(1): تأثير مواد التعقيم على تفتح البراعم الابطية لأجزاء العقد المفردة لنبات *C.erectus* (A):هايبوكلورات الصوديوم بتركيز20% لمدة15 دقيقة. (B):الكحول الاثيلي+هايبوكلورات الصوديوم بتركيز70%+20%لمدة 1+30دقيقة. (C):كلوريد الزئبق بتركيز0.5% ولمدة 15 دقيقة.

أبدت أجزاء العقد صعوبة في تعقيمها وذلك لأحتواء سطح البشرة للساق واوراق نبات الـ *C. erectus* زوائد شعرية لا غدية بسيطة التركيب شعرية وشعرية غدية عديدة الخلايا قريبة من القمة النامية(العيداني والربيعي ، 2012). وبالرغم من ان العديد من البحوث اشارت الى اهمية استعمال محلول هايبوكلورات الصوديوم في تعقيم اغلب الأجزاء النباتية المزروعة خارج الجسم الحي، للتطهير السطحي للجزء النباتي، فضلا عن تواجده ورخص ثمنه ولسهولة إزالة اثاره من الأجزاء النباتية(Panhwer، 2005). الا ان استخدام محلول هايبوكلورات الصوديوم في هذه الدراسة لوحده كان غير كفوء في التعقيم وادت التراكيز المرتفعة منها الى تلف الانسجة مقارنة بالكحول الاثيلي وقد يعزى السبب الى تأثيره الضار للأجزاء النباتية الى تلفها واذابة الطبقة الدهنية وبالتالي موت الخلية (Parter وآخرون، 2006).

وعلى الرغم من صعوبة الحصول على نسبة تعقيم 100% عند التعقيم بمحلول كلوريد الزئبق، الا ان النتائج أظهرت انه الأكثر كفاءة في التخلص من الملوثات والحصول على نباتات حية، إذ لم تحدث اضرار للأجزاء النباتية المعاملة بها سواء بالتركيز المرتفع او المنخفض، وبلغت اعلى نسبة بقاء للأجزاء النباتية الحية 97.5% مقارنة ببقية التراكيز.

4-2: تأثير مضادات الاكسدة في ظاهرة الاسمرار.

تظهر نتائج التحليل الاحصائي(الشكل2) ان نقع الأجزاء النباتية بمضادات الاكسدة للمركبات الفينولية والمتمثلة بتداخل حامض الاسكوربيك بتركيز 100 ملغم.لتر$^{-1}$ + حامض الستريك بتركيز 150 ملغم.لتر$^{-1}$ لمدة ساعة وزراعتها على الوسط الغذائي المدعم بتركيز 3 غم.لتر$^{-1}$ من ماده PVP كانت الأكثر كفاءة في الحد من ظهور الاسمرار في الوسط الغذائي إذ بلغت نسبتها صفر%(الشكل3:B) والتي تفوقت معنويا على معاملة المقارنة إذ سجلت اعلى نسبة اسمرار وصلت الى 100%(الشكل3:A)، كذلك بينت نتائج ان تدعيم الوسط الغذائي بالتداخلات الثنائية الممكنة بين عوامل الدراسة من مضادات الاكسدة قد خفضت من النسبة المئوية للاسمرار فقد تراوحت قيمها بين 10%-20% متفوقة بذلك على معاملات تدعيم الوسط بمضادات الاكسدة المعتمدة كل على انفراد حيث سجلت قيم تراوحت بين 40%-70%.



شك

ل(2):تأثير مضادات الاكسدة ومادة PVP في النسبة المئوية لظاهرة الاسمرار لأجزاء العقد المفردة لنبات *C.erectus* L.

وعند تسجيل بيانات صفة نسبة الأجزاء الميتة لأجزاء العقد المفردة (جدول3) فقد أظهرت النتائج ان لتداخل مضادات الاكسدة مجتمعة او لتداخلاتها الثنائية تأثيرا واضحا في نسبة الاجزاء الميتة، إذ سجلت نسبة بلغت 0% متفوقة بذلك على جميع معاملات لمضادات الاكسدة منفردة التي سجلت نسبة تراوحت بين 40%–60%، فضلا عن معاملة المقارنة التي سجلت اعلى نسبة للأجزاء الميتة والبالغة 100% جدول 3

وتفاوتت نتائج صفة النسبة المئوية للأجزاء الحية غير المستجيبة، فقد سجلت معاملة النقع بحامض الاسكوربيك بـ100 ملغم.لتر$^{-1}$ + حامض الستريك بـ150 ملغم.لتر$^{-1}$ لمدة ساعة + PVP بتركيز3غم.لتر$^{-1}$ كمادة مدعمة للوسط MS اقل النسب والبالغة 10% بالمقارنة بالمعاملات الأخرى التي تراوحت نسبة الأجزاء الحية غير المستجيبة فيها بين 20%–60%.

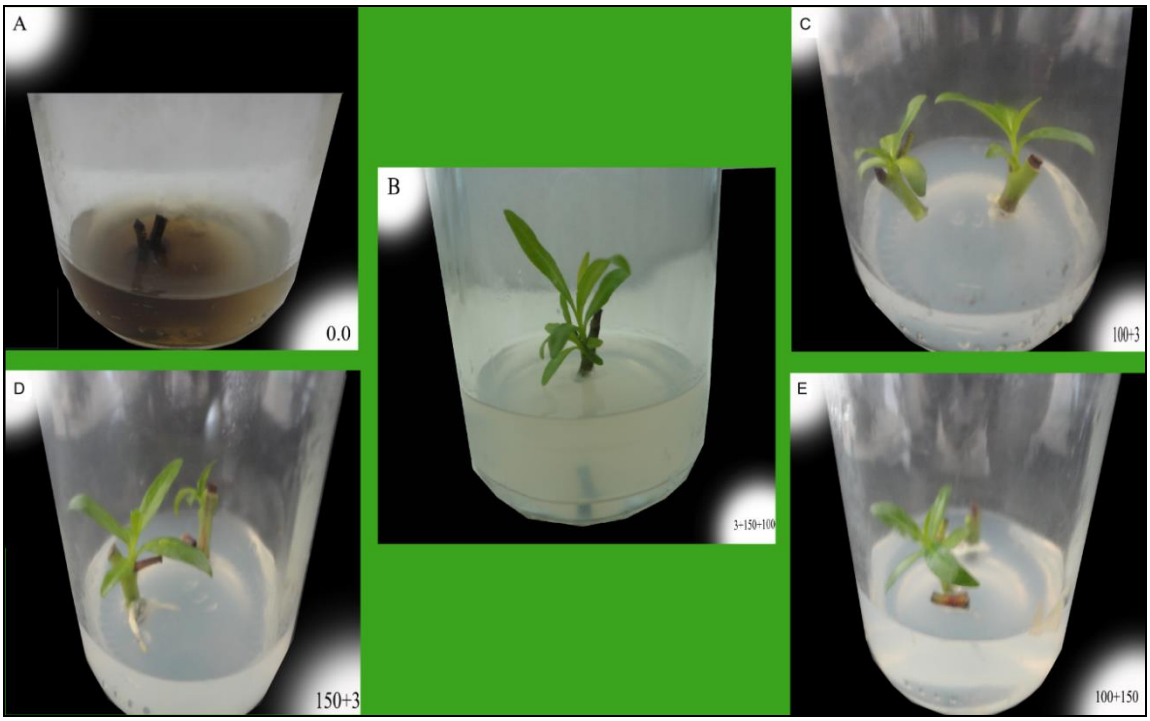
وجاءت نتائج صفة النسبة المئوية للأجزاء الحية المستجيبة لتأكد مرة أخرى تفوق معاملة التداخل الثلاثي بين مضادات الاكسدة المعتمدة في هذه التجربة بتسجيلها اعلى النسب والبالغة 90%، والتي لم تختلف معنويا عن معاملة التداخل الثنائي بين حامض الاسكوربيك بتركيز100 ملغم.لتر$^{-1}$ + 3غم.لتر$^{-1}$ PVP والبالغة 80%(الشكل3:C). ومعاملة التداخل بين حامض الستريك بتركيز150

ملغم.لتر$^{-1}$ +3 غم.لتر$^{-1}$ PVP والبالغة 60%(الشكل3:D). في حين سجلت معاملة التداخل بين حامض الاسكوربيك بتركيز100 ملغم.لتر$^{-1}$ +حامض الستريك بتركيز 150 ملغم.لتر$^{-1}$ قيمة بلغت 40%(شكل3:E). والتي لم تختلف معنويا عن معاملات العوامل منفردة والتي تراوحت نسبة الأجزاء الحية المستجيبة فيها قيمة بلغت 10%-30% .

جدول(3): تأثير مضادات الاكسدة المنفردة والتداخل بينها في صفات النسبة المئوية للاسمرار والاجزاء الميتة والحية غير المستجيبة والحية المستجيبة لعقد نبات *C. erectus*

مضادات الاكسدة	% الاسمرار	% للأجزاء الميتة	% للأجزاء الحية غير المستجيبة	% للأجزاء الحية المستجيبة
المقارنة (Control)	100 أ	100 أ	0 ج	0 ج
حامض الاسكوربيك100ملغم.لتر$^{-1}$	40 ب ج	60 ب	30 أب	10 ج
حامض الستريك150ملغم.لتر$^{-1}$	70 أب	50 ب	20 أب	30 ب ج
مادة PVP 3غم.لتر$^{-1}$	40 ب ج	40 ب	30 أب	30 ب ج
الاسكوربيك +الستريك 100+150ملغم.لتر$^{-1}$	20 ج د	0 ج	60 أ	40 ب ج
الاسكوربيك 100ملغم/لتر+ PVP 3غم.لتر$^{-1}$	20 ج د	0 ج	20 أب	80 أ
الستريك150ملغم/لتر + PVP 3غم.لتر$^{-1}$	10 ج د	0 ج	40 أب	60 أب
النقع بـ الاسكوربيك + الستريك 100+150ملغم.لتر$^{-1}$ لمدة ساعة +PVP3غم.لتر$^{-1}$	0 د	0 ج	10 ب	90 أ

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لا تختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 0.05 .



شكل(3): تأثير استعمال مضادات الاكسدة في ظهور ظاهرة الاسمرار في الوسط الغذائي(A):معاملة المقارنة. (B):حامض الاسكوربيك100ملغم.لتر$^{-1}$+حامض الستريك150ملغم.لتر$^{-1}$+PVP 3غم.لتر$^{-1}$.(C):حامض الاسكوربيك 100 ملغم.لتر$^{-1}$ +PVP 3غم.لتر$^{-1}$.(D):حامض الستريك150ملغم.لتر$^{-1}$+3PVPغم.لتر$^{-1}$.(E):حامض الاسكوربيك100ملغم.لتر$^{-1}$+حامض الستريك 150ملغم.لتر$^{-1}$.

يختلف محتوى الانسجة النباتية من المركبات الفينولية حسب نوع وعمر الجزء النباتي وموقعه على النبات الام (Al-Bakir وآخرون، 1989). ويعزى معظم الباحثين سبب حدوث الاسمرار في الانسجة النباتية الى اكسدة المركبات الفينولية الموجودة في الانسجة النباتية والتي تتحول الى الكوينينات (Quinones) ذات سمية عالية تحت تأثير أنزيمات الاكسدة بالأخص أنزيم البروكسيديز (Booij وآخرون،1993 والمعري والغامدي، 1998). وان التثبيط في النمو الناتج عن اللون البني يرجع الى ارتباط المواد الفينولية مع البروتين وبذلك تفقد الأنزيمات المهمة لفعالياتها داخل الانسجة، او قد تعمل المواد الفينولية كمحفز أنزيمي Co-enzyme لبعض انزيمات الاكسدة مثل IAA Oxidase والكتاليز والبيروكسديز التي تعمل على هدم الاوكسينات (الرفاعي والشوبكي، 2002).

وعند مقارنة نتائج استخدام مضادات الاكسدة او التداخل فيما بينها (جدول3) نجد ان لها أهمية وفعالية عالية في معالجة ظاهرة الاسمرار وزيادة نسبة الأجزاء الحية المستجيبة بالمقارنة مع معاملة المقارنة، وكان للتداخل الثلاثي (النقع بحامض الاسكوربيك بتركيز 100 ملغم.لتر$^{-1}$+ حامض الستريك

بتركيز 150 ملغم.لتر$^{-1}$ لمدة ساعة + PVP بتركيز 3 غم.لتر$^{-1}$ مضافا الى الوسط الغذائي) الأفضلية، تلتها معاملات التداخل الثنائي بين العوامل الدراسية. وقد تعزى الحصول على هذه النتائج الى دور كل من حامض الاسكوربيك والستريك كونها مواد طبيعية مضادة للأكسدة، إذ يعد حامض الاسكوربيك احد مضادات الاكسدة التي توجد في جميع أجزاء النبات بمستويات عالية وخاصة في الأوراق الخضراء يعمل كمنظم للعديد من الوظائف داخل الانسجة النباتية منها المقاومة للاجهاد من خلال دوره المهم في بناء hydroxyproline الذي يعمل على تنشيط الحماية الحيوية (Smirnoff و Wheeler، 2000).

ولوحظ ان إضافة حامض الاسكوربيك خارجيا تزيد من عملية بنائه داخل الانسجة الامر الذي قد يعكس على دوره في تحفيز وتشجيع النمو الخضري من خلال تأخير شيخوخة الانسجة النباتية وتأثيره المشابه لتأثير المنظمات المشجعة للنمو وحصول عملية انقسام وتوسع ونمو الخلايا النباتية (Smirnoff و Wheeler، 2000 و Ahmed و Morsy، 2001).

كما يعد حامض الستريك احد الحوامض العضوية الطبيعية التي تحتوي على ثلاثة مجاميع كاربوكسيلية يعمل كمضاد للأكسدة من خلال تسهيل انتاج الطاقة داخل الخلايا وله القدرة على خفض السمية داخل الخلايا(جرار، 1990 والنجدي وآخرون ،2006).

وان إضافة مادة PVP كان له دور في تقليل نسبة الاسمرار الى درجات كبيرة وقد يعود السبب الى صغر حجم دقائق المركب وقابليتها على امتصاص المواد السامة المتكونة من الأجزاء النباتية المزروعة فيها(النعيمي ومحمد، 2006). وقد أشار Zaid (1993) الى ان إضافة PVP الى الوسط الغذائي يحدث حالة من التوازن الهرموني بين منظمات النمو النباتية ومكونات الوسط الغذائي الأخرى والتي تساعد الأجزاء النباتية على الامتصاص الأفضل وبالتالي تحفيز وامداد الانسجة وتمايزها

3-4 : تأثير السايتوكاينينات المفردة في نشوء وتضاعف العقد المفردة :

4-3-1 : تأثير BA في نشوء وتضاعف العقد المفردة :

تشير نتائج تأثير BA في نشوء العقد المفردة،(جدول4) بعد أربعة أسابيع من الزراعة ظهور حالات موت للأجزاء النباتية المزروعة في بعض معاملات BA ومعاملة المقارنة إذ تراوحت بين

20%–30% وان اعلى نسبة استجابة للأجزاء الحية بلغت 60% في أجزاء العقد المزروعة على وسط MS المدعم بتركيز 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ من BA على الرغم من عدم اختلافها معنويا عن بقية المعاملات. في حين بلغت 20% في الأوساط المجهزة بالتراكيز 0.5 و 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ و 10% عند معاملة المقارنة بينما أعطت المعاملة 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ نسبة استجابة بلغت 40%.

وبالاتجاه ذاته نلاحظ ان النسبة المئوية للأجزاء الحية غير المستجيبة قد سجلت قيمة بلغت 20% عند أجزاء العقد المزروعة على وسط MS المدعم بتركيز 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ من BA وان هذه القيمة لم تختلف عن قيم هذه الصفة عند التراكيز المستخدمة من BA.

جدول(4): تأثير تراكيز مختلفة من BA في النسبة المئوية لاستجابة العقد المزروعة لنبات *C. erectus* بعد مرور 4 أسابيع على الزراعة.

تراكيز BA (ملغم . لتر$^{-1}$)	الصفات المدروسة		
	الأجزاء الميتة %	الأجزاء الحية المستجيبة%	الأجزاء الحية غير المستجيبة%
0.0	30 أ	10 أ	60 أ
0.5	20 أ	20 أ	60 أ
1.0	20 أ	20 أ	60 أ
1.5	20 أ	40 أ	40 أ
2.0	20 أ	60 أ	20 أ

*الأرقام التي تحمل احرفا متشابهة لا تختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 0.05.

أشارت العديد من البحوث الى ان تكوين التفرعات الجانبية من العقد والتي تعرف بزراعة العقد(nodal culture) هي من الاستراتيجيات الأفضل للمحافظة على الثبات الوراثي للنباتات الناتجة من الاكثار الدقيق (George، 1993، Cassells و Curry، 2001).

وقد يعزى تأثير التراكيز العالية من BA في إعطاء الاستجابة الأفضل مقارنة مع معاملة السيطرة الى حصوله على التراكيز المثلى والذي قد ينعكس على الزيادة في بناء RNA والبروتينات والانزيمات

داخل الخلية مما يشجع انقسام الخلايا النباتية فضلا عن دوره في تحفيز التفرعات الجانبية(الرفاعي والشوبكي، 2002).

وتشير البيانات الى تأثير BA في تضاعف العقد المفردة بعد مرور ثمانية أسابيع (جدول5)، أذ ان إضافة 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ كانت هي الأفضل في متوسط عدد الافرع الناتجة من العقد المفردة إذ سجلت1.55 فرعاً. جزءاً نباتياً$^{-1}$ متفوقة معنويا على جميع المعاملات وعن معاملة المقارنة التي لم تحدث أي استجابة.

لم تختلف نتائج المعاملات لصفة متوسط طول الفرع عن بعضها البعض وان اعلى متوسط لطول الافرع والبالغ 2.50 سم سجل في الافرع النامية من العقد النامية على وسط MS المدعم بتركيز1.0 و1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ من BA.

اما فيما يخص تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من BA في متوسط عدد الأوراق تبين النتائج تفوق المعاملة 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ معنويا في إعطاء اكبر عدد للأوراق بلغ 14.0 ورقة/فرع. ولم تختلف معنويا عن المعاملة 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ التي سجلت متوسط 13.0 ورقة/فرع. في حين سجلت معاملتي 0.5 و2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ متوسط عدد للأوراق بلغ 9.00 و8.00 ورقة/فرع على التوالي. ولم يختلفا معنويا فيما بينها.

الجدول(5): تأثير BA في تضاعف عقد نبات *C. erectus* بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS الصلب.

تراكيز BA (ملغم.لتر$^{-1}$)	الصفات المدروسة		
	متوسط عدد الافرع (فرع. جزء نباتي$^{-1}$)	متوسط طول الفرع (سم)	متوسط عدد الأوراق (ورقة.فرع$^{-1}$)
0.0	0.00 ج	0.00 أ	0.00 ج
0.5	1.00 ب	2.00 أ	9.00 ب
1.0	1.00 ب	2.50 أ	14.0 أ
1.5	1.00 ب	2.50 أ	13.0 أ
2.0	1.55 أ	2.00 أ	8.00 ب

*الأرقام التي تحمل احرف متشابهة لا تختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 0.05.

أن التأثير الإيجابي لـBA في مرحلة التضاعف (جدول5) لصفة عدد الافرع ربما يعود الى الدور الذي تلعبه السايتوكاينينات في التمايز الوعائي للبراعم الجانبية مما سهل نمو هذه البراعم وتفرعها(جندية ، 2003). فضلا عن دورها في تحفيز نمو البراعم الجانبية من خلال جذب وتجمع المواد الايضية عند موضع البراعم الجانبية، وكذلك في تحفيز بناء الـ RNA والبروتين والكلوروفيل(Devlin وWitham،1983). او قد يعود السبب الى حصول حالة من التوازن الهرموني بين ما اضيف من BA وبين المحتوى الداخلي لأنسجة النبات الذي أدى الى تضاعف الافرع(احمد،2011). إذ أشار Fay وThroop(2005) الى ان تفريع النبات ميزة تعكس التوازن بين نمو المرستيمات القمية والجانبية، وهذا التوازن تتحكم به عدة عوامل مورفولوجية وفسلجية وبيئية.

ويلاحظ ان قلة عدد الافرع على الجزء النباتي أدى الى زيادة متوسط طول هذه الافرع وبالتالي زيادة فرصة حصولها على المواد الغذائية والهرمونات اللازمة للنمو من الوسط (الشمري، 2014). وهذا بدوره يعود الى تأثير السايتوكاينينات في تحفيز الانقسام الخلوي واستطالة الخلايا واتساعها والمدعمة بنشاط الاوكسين الداخلي فضلا عن دورها في بناء السكريات المختزلة. والامر الذي انعكس أيضا على زيادة عدد الأوراق الذي ربما يعود الى فعالية السايتوكاينينات المحفزة في تفتح البراعم وقوة

نموها إذ ان التركيز المثالي من السايتوكاينينات في الافرع النشطة فسيولوجيا يؤدي الى تنظيم سريان المغذيات الى القمة النامية(Devlin وWitham،1983 وجندية، 2003).

4-3-2 : تأثير Kin في نشوء وتضاعف العقدة المفردة .

يبين الجدول(6) تأثير Kin في نشوء العقدة المفردة، بعد اربعة أسابيع من الزراعة، إذ أظهرت النتائج حالات موت في بعض الأجزاء النباتية لمعاملات Kin والمقارنة إذ تراوحت بين 20%-80%.

وان نسبة الاستجابة للأجزاء الحية للعقدة المفردة بلغت 20% في معاملة 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ في حين لم تحدث أي استجابة للعقد المفردة عند معاملة المقارنة وعند التركيز 2.0 و3.0 ملغم.لتر$^{-1}$.

اما فيما يخص النسبة المئوية للأجزاء الحية غير المستجيبة، فقد بينت النتائج ان معاملة المقارنة و المعاملة 1.0 و2.0 و3.0 ملغم.لتر$^{-1}$ سجلت اعلى النسبة للأجزاء الحية غير المستجيبة إذ بلغت 60% ولم تختلف معنويا عن معاملة المقارنة البالغة 20%.

جدول(6): تأثير تراكيز مختلفة من Kin في النسبة المئوية لاستجابة العقد المزروعة لنبات *C. erectus* بعد مرور 4 أسابيع على الزراعة.

تراكيز KIN (ملغم.لتر-1)	الصفات المدروسة		
	الأجزاء الميتة %	الأجزاء الحية المستجيبة%	الأجزاء الحية غير المستجيبة%
0.0	80 أ	0 أ	20 أ
1.0	20 أ	20 أ	60 أ
2.0	40 أ	0 أ	60 أ
3.0	40 أ	0 أ	60 أ

*الأرقام المتشابهة لا تختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال0.05.

وتشير بيانات تأثير Kin في تضاعف العقد المفردة بعد مرور 8 أسابيع (جدول7) لجميع الصفات المدروسة عدم حدوث استجابة للتراكيز المستخدمة الا استجابة ضعيفة للتركيز 1 ملغم. لتر$^{-1}$ Kin فقد

سجل قيم بلغت 1.00 فرع. جزء نباتي$^{-1}$ وبمعدل طول للفرع بلغ 1.00 سم و8.00 ورقة.فرع$^{-1}$ لصفة متوسط عدد الأوراق.

جدول(7): تأثير Kin في تضاعف عقد نبات *C.erectus* بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS الصلب.

تراكيز Kin (ملغم.لتر$^{-1}$)	الصفات المدروسة		
	متوسط عدد الافرع (فرع. جزء نباتي$^{-1}$)	متوسط طول الافرع (سم)	متوسط عدد الأوراق (ورقة.فرع$^{-1}$)
0.0	0.00 ب	0.00 ب	0.00 ب
1.0	1.00 أ	1.00 أ	8.00 أ
2.0	0.00 ب	0.00 ب	0.00 ب
3.0	0.00 ب	0.00 ب	0.00 ب

*الأرقام التي تحمل احرف متشابهة لا تختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 0.05

ان تأثير Kin في احداث استجابة ضعيفة للعقد المفردة في مرحلة التضاعف(الجدول7) ربما يعزى 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 ان مدى الاستجابة للسايتوكاينين تعتمد على التراكيز المستخدمة والحالة الفسيولوجية للخلايا المستلمة 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 تناقصا في معدل الاستجابة للنمو وهذا لا يعني موت الخلية دائما وانما يكون ناتجا من التثبيط الهرموني (الجواري، 2005).

وهذا ما تعززه نتائج تجارب تداخل BA وKin اللاحقة إذ استخدم Kin بتراكيز قليلة أحدثت استجابة واضحة بتداخلها مع التراكيز العالية من BA.

4-4 : تأثير التداخل بين السايتوكاينينات في نشوء وتضاعف العقد المفردة:

4-4-1 : تأثير تداخل BA مع Kin في نشوء العقد المفردة:

ان التراكيز المعتمدة في التداخل انتخبت على ضوء نتائج تجربة تأثير السايتوكاينينات كل على انفراد إذ أظهرت نتائج تأثير تداخل BA وKin في نشوء العقد المفردة بعد 4 أسابيع من الزراعة (جدول8) ظهور حالات موت في بعض الأجزاء النباتية لمعاملات التداخل إذ تراوحت بين 20%-60%.

وان نسبة استجابة الأجزاء الحية لمعاملات التداخل تراوحت بين 20%-80% إذ سجلت اعلى قيمة للاستجابة للعقد المفردة والبالغة 80% على وسط MS المدعم بتركيز2 ملغم.لتر$^{-1}$ BA+0.3 ملغم. لتر$^{-1}$ Kin في حين سجلت اقل نسبة استجابة للعقد المفردة وبلغت 20% على وسط MS المدعم بتركيز3 ملغم. لتر$^{-1}$ BA + 0.2 ملغم. لتر$^{-1}$ Kin.

اما فيما يخص صفة النسبة المئوية للأجزاء الحية غير المستجيبة للعقد المفردة إذ أوضحت نتائج بأن اعلى نسبة سجلت والبالغة40% كانت في الوسط المدعم بتركيز3 ملغم.لتر$^{-1}$ BA + 0.2 أو0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin والمعاملة 2 ملغم.لتر$^{-1}$ BA+0.5 ملغم.لتر$^{-1}$Kin اما اقل نسبة عدم استجابة حصلت في الوسط المزود بـ 4 ملغم. لتر$^{-1}$ BA + 0.2 ملغم. لتر$^{-1}$Kin وبلغت 20% اما بقية المعاملات لم يلاحظ أي استجابة فيها.

جدول (8): تأثير تداخل BA مع Kin في النسبة المئوية للأجزاء الحية المستجيبة وغير المستجيبة والاجزاء الميتة لنبات *C. erectus* على وسط MS الصلب.

تركيز BA ملغم.لتر$^{-1}$	تركيز KIN ملغم.لتر$^{-1}$	الصفات المدروسة		
		الاجزاءالميتة%	الأجزاء الحية المستجيبة%	الأجزاء الحية غير المستجيبة%
2	0.2	40 أ	60 أ	0 أ
	0.3	20 أ	80 أ	0 أ
	0.5	20 أ	40 أ	40 أ
3	0.2	40 أ	20 أ	40 أ
	0.3	60 أ	40 أ	0 أ
	0.5	20 أ	40 أ	40 أ

4	**0.2**	60 أ	40 أ	0 أ
	0.3	20 أ	60 أ	20 أ
	0.5	60 أ	40 أ	0 أ

*الأرقام المتشابهة لا تختلف معنويا فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمالية 0.05

ان التأثير الإيجابي لتداخل السايتوكاينينات BA مع Kin في إعطاء الاستجابة الأفضل لعقد نبات *C. erectus* في مرحلة النشوء(جدول8) قد يعود السبب الى التراكيز المستخدمة من السايتوكاينين والحالة الفسيولوجية للجزء النباتي من حيث محتواه من المواد الغذائية والهرمونات، فضلا عن دور تداخل السايتوكاينينات في تشجيع نمو البراعم الأبطية على الانسجة المزروعة نتيجة الى حصول حالة من التوازن الهرموني للأجزاء النباتية (عبدول،1987).

4-4-2: تأثير تداخل BA مع Kin في تضاعف العقد المفردة.

أظهرت نتائج تحليل البيانات (الجدول9) تأثير التداخل بين BA وKin في الصفات المدروسة لمرحلة التضاعف بعد 8 أسابيع من الزراعة، إذ سجل اعلى عدد للأفرع الناتجة من تضاعف العقد المفردة والبالغ 4.00 فرع .جزء نباتي$^{-1}$. سجل في الوسط المدعم بتركيز4 ملغم.لتر$^{-1}$ BA + 0.3 ملغم. لتر$^{-1}$ Kin (شكل4:A) والتي لم تختلف معنويا عن معاملات التداخل الأخرى، الا انها تفوقت معنويا على معاملتي 2 ملغم.لتر$^{-1}$ BA + 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin و3 ملغم.لتر$^{-1}$ BA + 0.2 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin اللتين اعطتا اقل عدد من الافرع وبلغت 1.00 فرعا(شكل4:B وC) على التتابع.

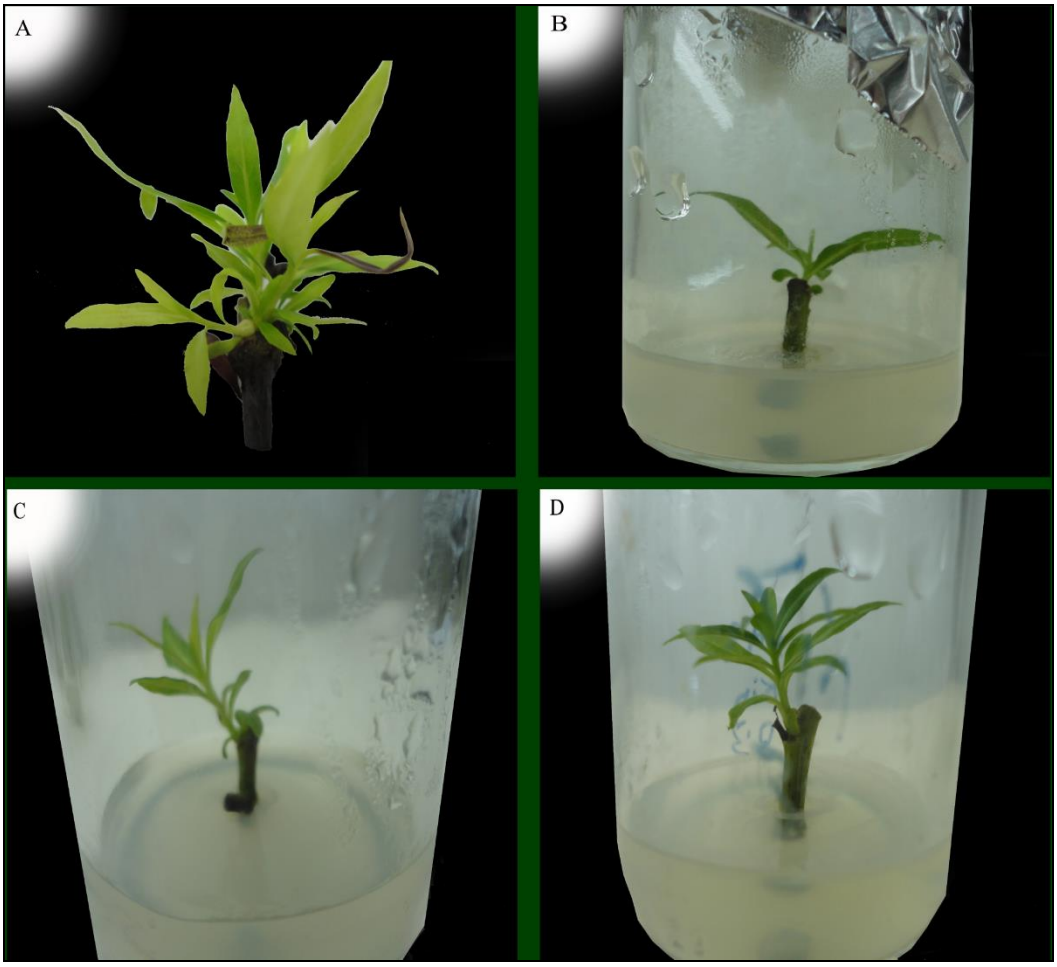
وتشير نتائج التحليل الاحصائي لصفة متوسط طول الفرع الى عدم وجود فروقا معنوية بين المعاملات الى ان اعلى القيم لصفة متوسط طول الفرع البالغة 2.00 سم سجلت في الوسط المدعم بتركيز 3 ملغم.لتر$^{-1}$ BA + 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$Kin(شكل4:D) وانحدرت هذه القيمة الى ادناها والبالغة0.75 سم في الوسط المدعم 2 ملغم.لتر$^{-1}$ BA + 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin(شكل4:B).

اما عن صفة متوسط عدد الأوراق فقد أوضحت النتائج ان الوسط الغذائي المزود بتركيز4 ملغم.لتر$^{-1}$ BA + 0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin سجلت اكبر عدد من الأوراق إذ بلغت 17.50 ورقة. جزء نباتي$^{-1}$ وسجلت اقل القيم لهذه الصفة والبالغة 6.00 ورقة. جزء نباتي$^{-1}$ عند الوسط المضاف اليه 2 ملغم.لتر$^{-1}$ BA + 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin.

الجدول(9): تأثير تداخل BA مع Kin في تضاعف العقد المفردة لنبات *C. erectus* على وسط MS الصلب.

تركيز BA ملغم.لتر$^{-1}$	تركيز Kin ملغم.لتر$^{-1}$	الصفات المدروسة		
		متوسط عدد الافرع (فرع .جزء نباتي$^{-1}$)	متوسط طول الفرع(سم)	متوسط عدد الأوراق (ورقة. فرع$^{-1}$)
2	0.2	1.33 أب	1.40 أ	9.33 ب ج
	0.3	1.25 أب	1.62 أ	10.00 ب ج
	0.5	1.00 ب	0.75 أ	6.00 ج
3	0.2	1.00 ب	1.50 أ	8.00 ب ج
	0.3	1.50 أب	0.87 أ	9.00 ب ج
	0.5	1.50 أب	2.00 أ	10.66 ب ج
4	0.2	1.50 أب	1.50 أ	12.00 أج
	0.3	4.00 أ	1.16 أ	17.50 أ
	0.5	2.00 أب	1.62 أ	15.50 ب

* الأرقام المتشابهة لا تختلف معنويا فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمالية 0.05



شكل(4): تأثير تداخل BA وKin في تضاعف العقد المفردة لنبات *C. erectus* (A): 4.0 ملغم.لتر$^{-1}$BA+0.3 ملغم. لتر$^{-1}$ kin.(B):2.0 ملغم.لتر$^{-1}$BA+0.5 ملغم.لتر$^{-1}$Kin.(C): 3.0 ملغم.لتر$^{-1}$BA + 0.2 ملغم.لتر$^{-1}$Kin(D): 3.0ملغم.لتر$^{-1}$ BA+ 0.5ملغم.لتر$^{-1}$Kin.

ان الزيادة في عدد الافرع عند التراكيز الملائمة من BA المتداخلة مع Kin قد يعود الى كون الـBA احد السايتوكاينينات الأكثر نشاطا لوجود حلقة البنزين في تركيبه الكميائي (وصفي،1995)، فضلا عن الدور المهم للـ Kin في إعاقة هدم البروتين، ودورهما في تحفيز الانزيمات في عملية البناء الضوئي والذي تنعكس اثاره في تشجيع عملية الانقسام والتمايز الشكلي وزيادة حجم الخلية، ووصولهما الى حالة من التوازن المثالية بين ما موجود في النسيج النباتي وبين ما اضيف الى الوسط

الغذائي (البياتي،2002). او قد يعزى الى دور السايتوكاينينات في تشجيع نمو البراعم الجانبية والتأثير المانع للأوكسينات (جندية،2003).

اما عن تأثير تداخل BA مع Kin في متوسط طول الافرع (جدول9) فنلاحظ ان اضافتهما في التراكيز المثالية زاد من نسبة عدد الافرع الخضرية وان انخفاض النمو الطولي للأفرع قد يعزى الى تنافسها فيما بينها على المواد الغذائية والهرمونية اللازمة للنمو في الوسط (الشمري،2014).

وفيما يخص التأثير الإيجابي لتداخل BA مع Kin في زيادة متوسط عدد الأوراق(جدول9) ربما يعود سببه الى دور السايتوكاينينات في انقسام الخلية التي أدت الى زيادة التفريع للجزء النباتي وبالتالي تزيد من معدل الامتصاص ودعم الأوراق النامية (Duhoky و Rasheed، 2009).

4-5: مرحلة التجذير.

4-5-1 : تأثير IBA واملاح الوسط الغذائي في النسبة المئوية للتجذير.

اشارت نتائج تحليل البيانات الموضحة في الجدول(10) ان اعلى نسبة تجذير حصلت في وسط MS بكامل قوة الاملاح وبلغت 62% بالرغم من عدم تفوقها المعنوي عن نسبة التجذير التي حصلت في وسط نصف تركيز املاح MS والبالغة 43%.

ولم تظهر النتائج أي فروق معنوية بين تراكيز IBA المستخدمة، بالرغم من تسجيل التركيز 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ اعلى نسبة تجذير للأفرع وبلغت 75% وكانت هذه النسبة في ادناها 25% في معاملة المقارنة.

وتشير نتائج التداخل الثنائي الى ان اعلى نسبة تجذير بلغت 75% سجلت من تداخل الوسط MS بكامل قوة الاملاح مع المعاملة بتراكيز IBA قيد الدراسة فضلا عن التداخل بين وسط نصف تركيز الاملاح MS المدعم بتركيز 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ من IBA.

جدول(10): تأثير تراكيز مختلفة من IBA واملاح الوسط الغذائي والتداخل بينهما في النسبة المئوية للتجذير لنبات *C. erectus*

المتوسط	تراكيز IBA ملغم.لتر$^{-1}$				تأثير المتوسط
	0.0	0.5	1.0	1.5	
MS كامل القوة	25 أ	75 أ	75 أ	75 أ	62 أ
MS نصف القوة	25 أ	25 أ	50 أ	75 أ	43 أ

تأثير منظم النمو	25 أ	50 أ	62 أ	75 أ	

* الأرقام المتشابهة لا تختلف معنويا فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمالية 0.05

يعد وجود الاوكسين مهم جدا في تحفيز النموات على التجذير، وتشجع نشوء الجذور واستطالتها، إذ تؤدي التراكيز المنخفضة منها الى استطالة الجذور في حين تسبب التراكيز العالية منها الى تشكل الكالس على الأجزاء النباتية (Edwin وGeorge، 1996). وتتأثر عملية نشوء الجذور بالنوع النباتي، إذ تعد الأنواع الخشبية عموما اكثر صعوبة في التجذير من الأنواع العشبية (Harbage وآخرون،1993). ان التأثير الإيجابي في إضافة الاوكسينات الى الوسط الغذائي ربما يعود سببه الى دورها بشكل ملحوظ في تكوين الجذور، إذ تؤدي الاوكسينات دورا مهما في تنشيط الانقسام الخلوي للطبقة المولدة للكامبيوم وبالتالي تزيد من تكوين الجذور وتكوين البادئات الجذرية (شلاهي وآخرون، 2013). وبشكل عام تعمل الاوكسينات بزيادة معدل التبادل الايوني والنشاط الانزيمي والنفاذية الخلوية ومعدل نقل الشوارد التي تزيد من معدل تكون الجذور للأفرع المزروعة نتيجة لدوره الأهم والمباشر في مرحلة الدفع الجذري (جرار وآخرون، 2014).

وان سبب الانخفاض في معدل نسبة التجذير في الوسط الخالي من منظمات النمو عدم وجود التركيز الملائم من الاوكسين لدفع الخلايا باتجاه الاستطالة والنمو الى بادئات بسبب افتقار الافرع الخضرية الى تكوين الجذور (سلمان،1988).

ان استجابة الافرع للتجذير في بعض الأوساط وتداخلها مع الاوكسين ربما يعود الى الظروف المثالية التي هيأتها تداخل املاح تلك الأوساط مع نوع الاوكسين المستخدم للتجذير والذي أدى الى تشجيع نشوء الجذور واستطالتها.

4-5-2 : التأثير في متوسط عدد الجذور.

تشير بيانات صفة عدد الجذور في جدول(11) ان اعلى قيمة سجلت في وسط MS بكامل قوة الاملاح والبالغة 1.93جذرا بالرغم من عدم تفوقها المعنوي عن معدل عدد الجذور التي ظهرت في وسط نصف قوة تركيز املاح MS والبالغة1.12 جذرا.

وقد أظهرت النتائج فروقاً معنوية بين تراكيزIBA المستخدمة، إذ سجل التركيز1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ اعلى قيمة لمتوسط عدد الجذر بلغت 2.62 جذرا، وانحدرت هذه النسبة الى ادناها 0.37 جذرا في معاملة المقارنة.

وتشير نتائج التداخل الثنائي الى ان اعلى قيمة لمتوسط عدد الجذور بلغت 2.75 جذرا سجلت من تداخل الوسط MS بنصف قوة الاملاح مع المعاملة 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ من IBA وانحدرت هذه القيمة الى ادناها وبفارق معنوي إذ بلغت0.25 جذرا في افرع معاملة المقارنة في وسط MS بنصف قوة الاملاح.

جدول(11): تأثير تراكيز مختلفة من IBA واملاح الوسط الغذائي في متوسط عدد الجذور لعقد نبات *C. erectus*

الوسط	تراكيز IBA ملغم.لتر$^{-1}$				تأثير الوسط
	0.0	0.5	1.0	1.5	
MS كامل القوة	0.50 ب ج	2.50 أ	2.25 أب	2.50 أ	1.93 أ
MS نصف القوة	0.25 ج	0.50 ب ج	1.00 أج	2.75 أ	1.12 أ
تأثير منظم النمو	0.37 ب	1.50 أب	1.62 أب	2.62 أ	

* الأرقام المتشابهة لا تختلف معنويا فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمالية 0.05

ان السبب في زيادة معدل عدد الجذور في وسط MS بكامل قوة الاملاح (جدول11) ربما يعود سببه الى احتوائه على المغذيات الأساسية للعناصر الكبرى والصغرى بالكمية المثالية (Naraynswamy، 1977).

وان الاختلاف في معدل عدد الجذور بين التراكيز المستخدمة من منظم النمو IBA قد يعود السبب الى اختلاف افرع نبات *Conocarpus erectus* في استجابتها للتجذير وفقا للتراكيز المختلفة المستعملة من الاوكسين IBA، والى التباين في محتواها الداخلي الهرموني ودورها في دفع النبات للتجذير، فضلا عن انقسام خلايا مناشيء الجذور(Root intial cell) التي تعتمد على تركيز الاوكسين الداخلي او المضاف الى الوسط الغذائي التي تحفز تكون الجذور العرضية من خلال تأثيرها الفسيولوجي في الخلايا البارنكيمية المتخصصة لتجعلها تفقد تمايزها وتعيدها الى حالتها المرستيمية بعملية فقدان التمايز De-differentiation ثم انقسامها مكونة منشأ الجذر Root initial التي تستمر بالنمو والتطور الى بادئات الجذور(Root primordium) التي تشق طريقها خلال خلايا الساق مكونة الجذر العرضي(Adventitous Root)(Hartmann،2002 والبو غربان وعبد الحسين،2012).

وان الزيادة في متوسط عدد الجذور ربما يعود الى الفعل الإيجابي للاوكسين الذي يعمل على زيادة عدد مواقع المناطق المرستيمية في قاعدة الفرع المعاملة بها بعملية فقدان التمايز للأنسجة المتخصصة وتحويلها الى خلايا مرستيمية التي تزيد من اعداد الجذور المتكونة (البو غربان وعبد الحسين،2012).

4-5-3 : التأثير في متوسط طول الجذر(سم).

تبين النتائج الموضحة في الجدول(12) لصفة متوسط طول الجذر تفوق وسط MS بكامل قوة الاملاح في معدل متوسط طول الجذر إذ سجل قيمة بلغت 3.58سم بالمقارنة بوسط MS بنصف قوة الاملاح الذي سجل معدل متوسط طول الجذر بلغ 1.29 سم.

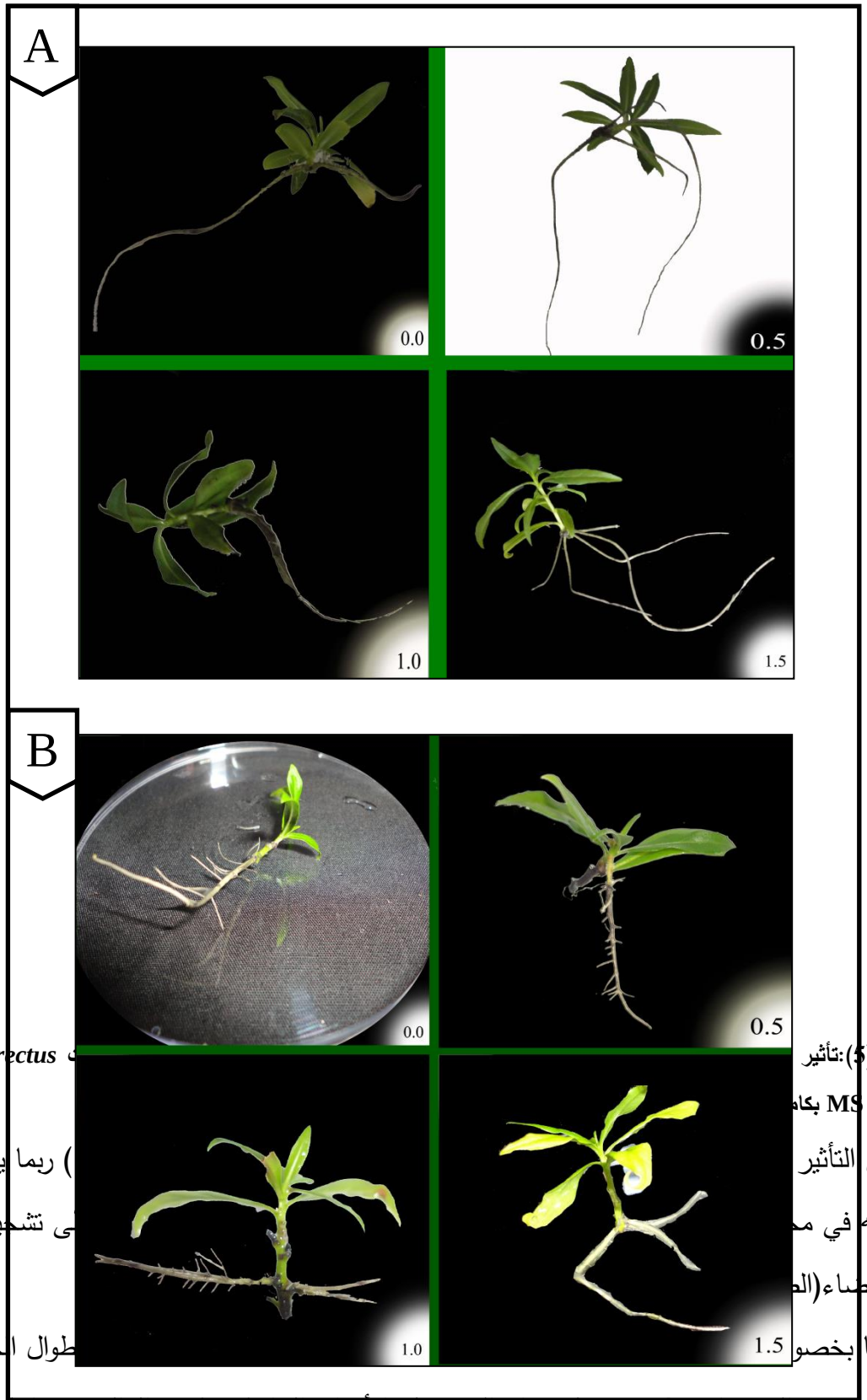
وقد اختلفت قيم هذه الصفة معنويا تحت تأثير التراكيز المختلفة لمنظم النمو IBA وقد سجل التركيز 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA اعلى القيم البالغة 4.28 سم بالمقارنة مع معاملة المقارنة التي سجلت اقل قيمة بلغت 1.06 سم.

وتشير بيانات التداخل الثنائي ان اعلى معدل لمتوسط طول الجذر بلغت 5.01 سم سجلت من تداخل الوسط MS بكامل قوة الاملاح عند التركيز 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA وانحدرت هذه القيمة الى ادناها إذ بلغت 0.12 سم في وسط MS بنصف قوة الاملاح المدعم بتركيز 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA وامتازت هذه الجذور بطولها وقلة تفرعها (شكل5:A). في حين سجلت قيمة بلغت 3.56 سم عند تداخل الوسط MS بنصف قوة الاملاح متداخلاً مع IBA بتركيز 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$. وامتازت الجذور المتكونة بقصرها عن سابقتها على وسط MS بكامل قوة الاملاح وكثرة تفرعاتها الجانبية (شكل5:B).

جدول(12): تأثير تراكيز مختلفة من IBA واملاح الوسط الغذائي في متوسط طول الجذر(سم) لعقد نبات *C. erectus*

الوسط	تراكيز IBA ملغم.لتر$^{-1}$				تأثير الوسط
	0.0	0.5	1.0	1.5	
MS كامل القوة	1.25 ب ج	4.31 أ	3.75 أب	5.01 أ	3.58 أ
MS نصف القوة	0.75 ج	0.12 ج	0.75 ج	3.56 أب	1.29 ب
تأثير منظم النمو	1.00 ب	2.21 ب	2.25 ب	4.28 أ	

* الأرقام المتشابهة لا تختلف معنويا فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمالية 0.05



شكل(5):تأثير ... في *C. erectus*
وسط MS بكا...

ان التأثير ...) ربما يعود الى
تفوقه في م... ى تشجيع تكون
الأعضاء(ال...

اما بخصو... طوال الجذور قد
يعود سببه الى كفاءة IBA وبطيء انتقاله خلال الأجزاء النباتيه وتثبيته العالي نسبيا لعدم تأثره بالأنزيمات المسؤولة عن هدم الاوكسينات (سلمان،1988). ولدور الاوكسينات في إعادة توزيع المواد

الغذائية من الأجزاء الخضرية الى الأجزاء النامية ودورها المهم بالعمليات الحيوية المرتبطة بتكوين مبادئ الجذور(Wiesman وآخرون، 1989).

ويلاحظ من نتائج التداخل بين الاوكسين واملاح الوسط الغذائي وسط MS بكامل قوة الاملاح والمدعم بـ IBA قد وفر للافرع الظروف المناسبة لاستطالة الجذور من خلال تحفيزها وتكوين مناشىء الجذور العرضية والحصول على انقسام اكبر لخلايا الكامبيوم وزيادة استطالتها(Lee وHackett، 1976 ومحمد،1985). وادى انخفاض تركيز الاملاح الى النصف الى زيادة طول الجذر بنسبة قليلة الامر الذي قد يعود الى ظاهرة الانتحاء الغذائي قياسيا بكامل تراكيزها (المفرجي،2005).

4-5-4 : التأثير في ارتفاع النمو الخضري.

تبين النتائج الجدول(13) لصفة ارتفاع النمو الخضري تفوق وسط MS بكامل قوة الاملاح إذ سجل قيمة 2.31سم بالمقارنة بوسط MS بنصف قوة الاملاح الذي سجل معدل ارتفاع للنمو الخضري بلغ 1.37 سم.

ولم تختلف قيم هذه الصفة معنويا تحت تأثير التراكيز المختلفة لمنظم النموIBA وقد سجل التركيز0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ اعلى القيم البالغة 1.93سم بالمقارنة بقيمة 1.81 سم المسجلة لبقية المعاملات.

وتشير بيانات التداخل الثنائي ان اعلى ارتفاع النمو الخضري بلغت 2.50 سم عند التركيز 0.5 ملغم،لتر$^{-1}$ IBA في وسط MS بكامل قوة الاملاح وانخفضت هذه القيمة الى ادناها إذ بلغت 1.25 سم في وسط MS بنصف قوة الاملاح والذي لم يدعم بأي تركيز من IBA.

جدول(13): تأثير تراكيز مختلفة من IBA واملاح الوسط الغذائي في ارتفاع النمو الخضري(سم) لعقد نبات *C. erectus*

الوسط	تراكيز IBA ملغم.لتر$^{-1}$				تأثير الوسط
	0.0	0.5	1.0	1.5	
MS كامل القوة	2.37 أ	2.50 أ	2.12 أ	2.25 أ	2.31 أ
MS نصف القوة	1.25 أ	1.37 أ	1.50 أ	1.37 أ	1.37 ب

تأثير منظم النمو	1.81 أ	1.93 أ	1.81 أ	1.81 أ	

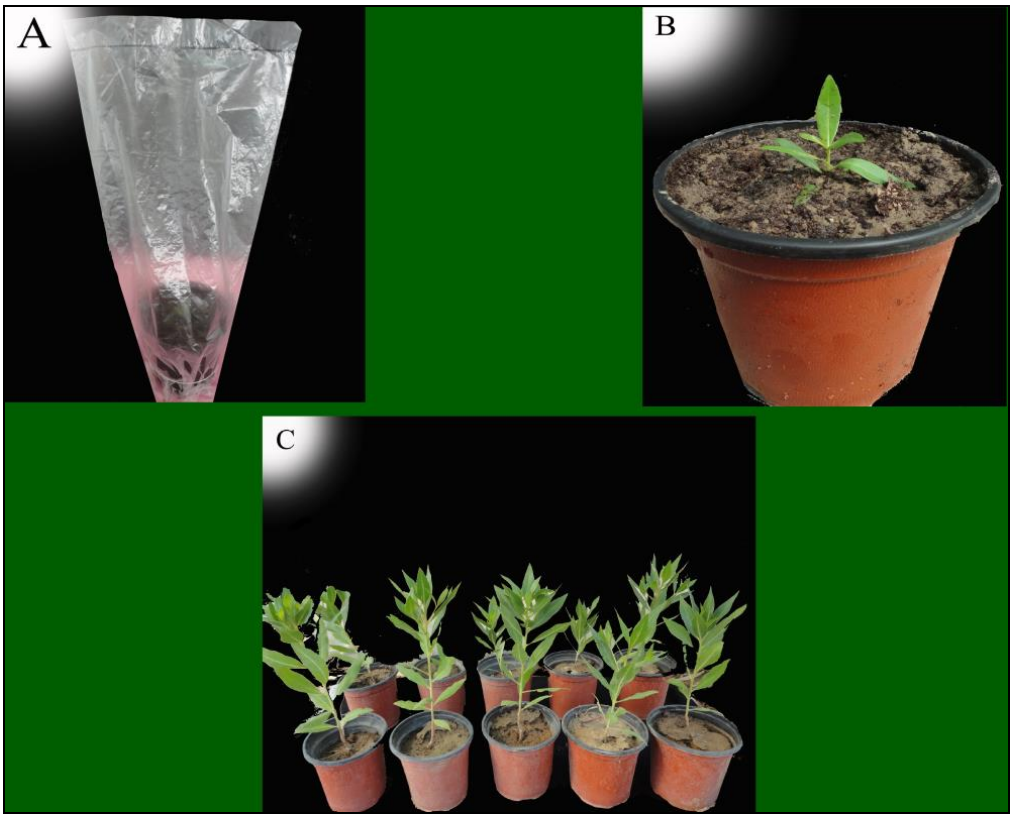
* الأرقام المتشابهة لا تختلف معنويا فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمالية 0.05

ان التأثير الإيجابي في زيادة معدل ارتفاع النمو الخضري(جدول13) ربما قد يعزى الى احتواء الوسط الغذائي بكامل قوة الاملاح على كافة تراكيز العناصر المعدنية الصغرى والكبرى (Laurene، 2013).

فضلا عن تأثير إضافة الاوكسين وذلك لكون IBA من الاوكسينات الثابتة نسبيا التي لا تتأثر بالأنزيمات المحطمة(IAA-peroxidaes) لذا تبقى مستوياته جيدة داخل النبات (Roy وآخرون ،2011).

4-6 : مرحلة الاقلمة Acclimatization Stage:

تمت المرحلة الأولى من عملية الاقلمة داخل المختبر إذ اخذت النبيتات المجذرة جيدة النمو والمتجانسة قدر الإمكان وغسلت جذورها بشكل جيد بالماء الجاري من اجل إزالة الاكار الملتصق بها ومن ثم غمرت بمحلول المبيد الفطري ولمدة 5 دقائق لوقايتها من الإصابة الفطرية، إذ نجحت عملية اقلمة الافرع المجذرة بعد نقلها الى اصص حاوية على الوسط الزرعي المتكون من البيتموس المعقم (شكلA:6) وبلغت نسبة النباتات التي اجتازت مرحلة الاقلمة 90% والتي استمرت بالنمو بعد نقلها الى الحقل وتدويرها في اصص حاوية على تربة نهرية تربة تكونت من الرواسب النهرية الغرين او الطمي الناعمة وهي من افضل الترب (شكلB:6) فقد بلغ معدل ارتفاعها 20.9 سم وبمعدل عدد أوراق 24.7 ورقة ومعدل عدد عقد للفرع الرئيسي بلغت 9.5 عقدة (شكلC:6)



شكل(6): مراحل اقلمه نباتات *Conocarpus erectus* (A): تغطية النباتات بأكياس البولي ايثلين.(B): النباتات المؤقلمه عند نقلها الى الحقل بعد اقلمتها. (C): نباتات بعد مرور 8 أسابيع من نقلها الى الحقل.

4.النتائج والمناقشة

4-1: تأثير معاملات التعقيم في معدل بقاء وتلوث الأجزاء النباتية:

أظهرت نتائج التعقيم (جدول2) التي استعملت للتخلص من الملوثات السطحية لنبات *Conocarpus erectus* عدم فعالية هايبوكورات الصوديوم NaOCl بالتراكيز المستخدمة إذ بلغت اعلى نسبة مئوية للتلوث 90% عند التركيز10% ونسبة 70% عند التركيز20% و50% ولمدة 15 دقيقة وقد اثرت المعاملة في تأخير استجابة العقد لتفتح البراعم الابطية. شكل(A:1)

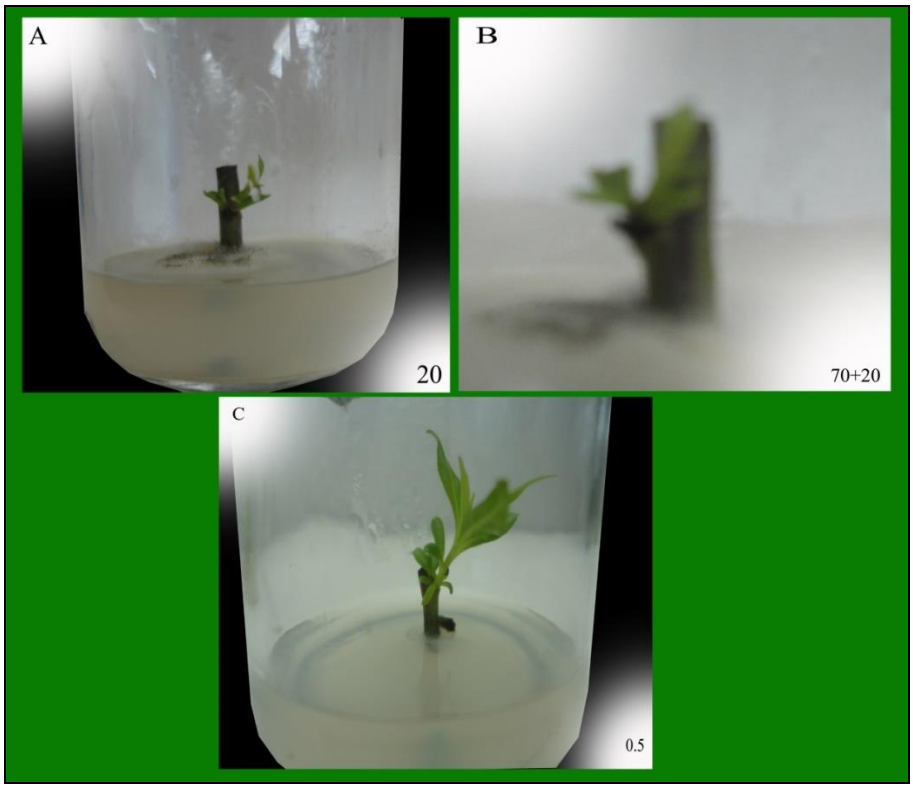
في حين أشارت نتائج التعقيم عند استعمال التداخل بين الكحول الاثيلي وهايبوكلورات الصوديوم الى انخفاض النسبة المئوية للتلوث إذ بلغت 20% عند التعقيم لتركيز70% +50% لمدتي التعقيم 2 و30 دقيقة وعلى التوالي، وانعكس تأثير المعاملة بالتراكيز والأوقات المدروسة الى تفتح البراعم بشكل جيد فقد سجلت نسبة بقاء بلغت 80% بالمقارنة بالمعاملة 70% +20% من الكحول الاثيلي وهايبوكلورات الصوديوم لمدتي التعقيم 1+30 دقيقة على التوالي إذ بلغت نسبة التلوث فيها الى 50% ونسبة بقاء 50% شكل(B:1).

اما تجربة التعقيم الثالثة أظهرت النتائج فعالية كلوريد الزئبق $HgCl_2$ في الحد من تلوث الأجزاء النباتية فقد بلغت نسبة التلوث2.5% عند التركيز0.5% لمدة 15 دقيقة وسجلت اعلى نسبة بقاء للأجزاء النباتية الحية 97.5% اذ اعتبرت ذات كفاءة اعلى من باقي التراكيز المستخدمة ولم يظهر أي تأثير سلبي على الأجزاء النباتية شكل(C:1) عند تعقيمها في حين بلغت نسبة تلوث الأجزاء النباتية للعقد المفردة 13.3و17.5% عند معاملتها بتركيز 0.5 و0.1% ولمدة 30 دقيقة وسجلت نسبة بقاء للأجزاء الحية بلغت 86.6% و82.5%على التوالي.

الجدول(2): تأثير المعاملات المختلفة من التعقيم في نسبة بقاء وتلوث مزارع العقد المفردة لنبات *C. erectus*

المعاملات	التركيز(%)	المدة (دقيقة)	نسبة التلوث (%)	نسبة البقاء (%)

هايبوكلورات الصوديوم	10	15	90	10
هايبوكلورات الصوديوم	20	15	70	30
هايبوكلورات الصوديوم	50	15	70	30
الكحول الاثيلي+هايبوكلورات الصوديوم	20+70	30+1	50	50
الكحول الاثيلي +هايبوكلورات الصوديوم	50+70	30+2	20	80
كلوريد الزئبق	0.5	15	2.5	97.5
كلوريد الزئبق	0.5	30	13.3	86.6
كلوريد الزئبق	0.1	30	17.5	82.5



شكل(1): تأثير مواد التعقيم على تفتح البراعم الابطية لأجزاء العقد المفردة لنبات *C.erectus* (A):هايبوكلورات الصوديوم بتركيز20% لمدة15 دقيقة. (B):الكحول الاثيلي+هايبوكلورات الصوديوم بتركيز70%+20%لمدة 1+30دقيقة. (C):كلوريد الزئبق بتركيز0.5% ولمدة 15 دقيقة.

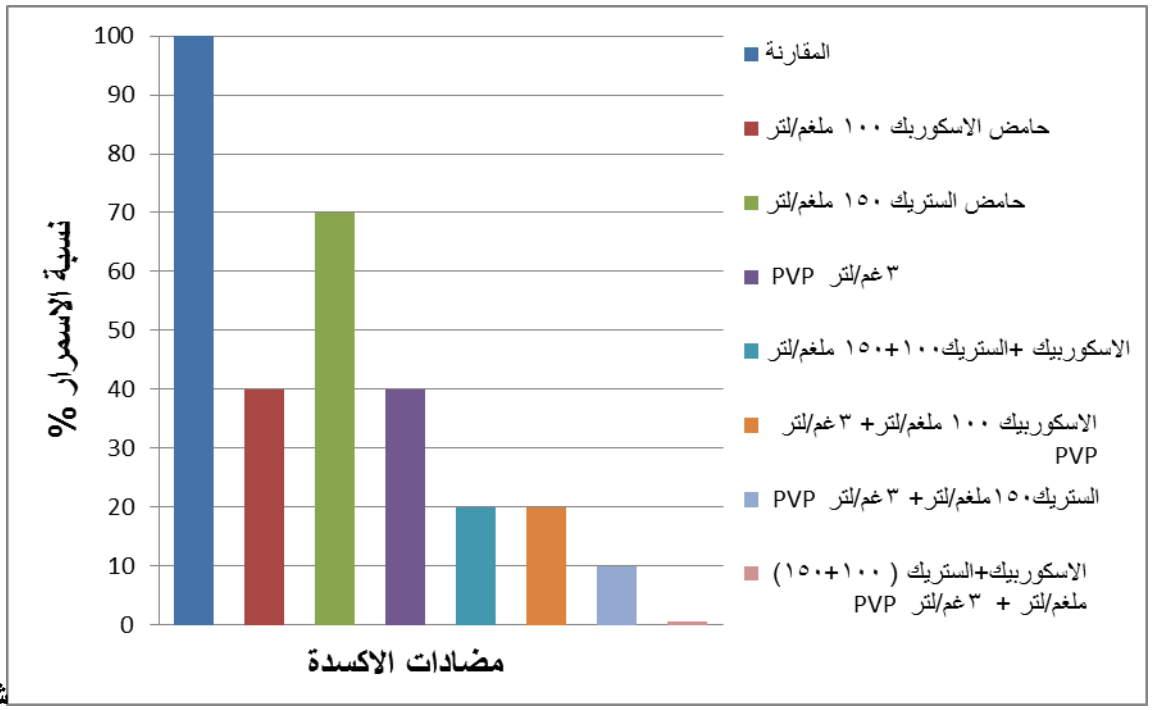
أبدت أجزاء العقد صعوبة في تعقيمها وذلك لأحتواء سطح البشرة للساق واوراق نبات الـ *C. erectus* زوائد شعرية لا غدية بسيطة التركيب شعرية وشعرية غدية عديدة الخلايا قريبة من القمة النامية(العيداني والربيعي ، 2012). وبالرغم من ان العديد من البحوث اشارت الى اهمية استعمال

محلول هايبوكلورات الصوديوم في تعقيم اغلب الأجزاء النباتية المزروعة خارج الجسم الحي، للتطهير السطحي للجزء النباتي، فضلا عن تواجده ورخص ثمنه ولسهولة إزالة اثاره من الأجزاء النباتية(Panhwer، 2005). الا ان استخدام محلول هايبوكلورات الصوديوم في هذه الدراسة لوحده كان غير كفوء في التعقيم وادت التراكيز المرتفعة منها الى تلف الانسجة مقارنة بالكحول الاثيلي وقد يعزى السبب الى تأثيره الضار للأجزاء النباتية الى تلفها واذابة الطبقة الدهنية وبالتالي موت الخلية (Parter وآخرون، 2006).

وعلى الرغم من صعوبة الحصول على نسبة تعقيم 100% عند التعقيم بمحلول كلوريد الزئبق، الا ان النتائج أظهرت انه الأكثر كفاءة في التخلص من الملوثات والحصول على نباتات حية، إذ لم تحدث اضرار للأجزاء النباتية المعاملة بها سواء بالتركيز المرتفع او المنخفض، وبلغت اعلى نسبة بقاء للأجزاء النباتية الحية 97.5% مقارنة ببقية التراكيز.

4-2: تأثير مضادات الاكسدة في ظاهرة الاسمرار.

تظهر نتائج التحليل الاحصائي(الشكل2) ان نقع الأجزاء النباتية بمضادات الاكسدة للمركبات الفينولية والمتمثلة بتداخل حامض الاسكوربيك بتركيز 100 ملغم.لتر$^{-1}$ + حامض الستريك بتركيز 150 ملغم.لتر$^{-1}$ لمدة ساعة وزراعتها على الوسط الغذائي المدعم بتركيز 3 غم.لتر$^{-1}$ من ماده PVP كانت الأكثر كفاءة في الحد من ظهور الاسمرار في الوسط الغذائي إذ بلغت نسبتها صفر%(الشكل3:B) والتي تفوقت معنويا على معاملة المقارنة إذ سجلت اعلى نسبة اسمرار وصلت الى 100%(الشكل3:A)، كذلك بينت نتائج ان تدعيم الوسط الغذائي بالتداخلات الثنائية الممكنة بين عوامل الدراسة من مضادات الاكسدة قد خفضت من النسبة المئوية للاسمرار فقد تراوحت قيمها بين 10%-20% متفوقة بذلك على معاملات تدعيم الوسط بمضادات الاكسدة المعتمدة كل على انفراد حيث سجلت قيم تراوحت بين 40%-70%.



شك

ل(2):تأثير مضادات الاكسدة ومادة PVP في النسبة المئوية لظاهرة الاسمرار لأجزاء العقد المفردة لنبات *C.erectus* L.

وعند تسجيل بيانات صفة نسبة الأجزاء الميتة لأجزاء العقد المفردة (جدول3) فقد أظهرت النتائج ان لتداخل مضادات الاكسدة مجتمعة او لتداخلاتها الثنائية تأثيرا واضحا في نسبة الاجزاء الميتة، إذ سجلت نسبة بلغت 0% متفوقة بذلك على جميع معاملات لمضادات الاكسدة منفردة التي سجلت نسبة تراوحت بين 40%–60%، فضلا عن معاملة المقارنة التي سجلت اعلى نسبة للأجزاء الميتة والبالغة 100% جدول 3

وتفاوتت نتائج صفة النسبة المئوية للأجزاء الحية غير المستجيبة، فقد سجلت معاملة النقع بحامض الاسكوربيك بـ100 ملغم.لتر$^{-1}$ + حامض الستريك بـ150 ملغم.لتر$^{-1}$ لمدة ساعة + PVP بتركيز 3غم.لتر$^{-1}$ كمادة مدعمة للوسط MS اقل النسب والبالغة 10% بالمقارنة بالمعاملات الأخرى التي تراوحت نسبة الأجزاء الحية غير المستجيبة فيها بين 20%–60%.

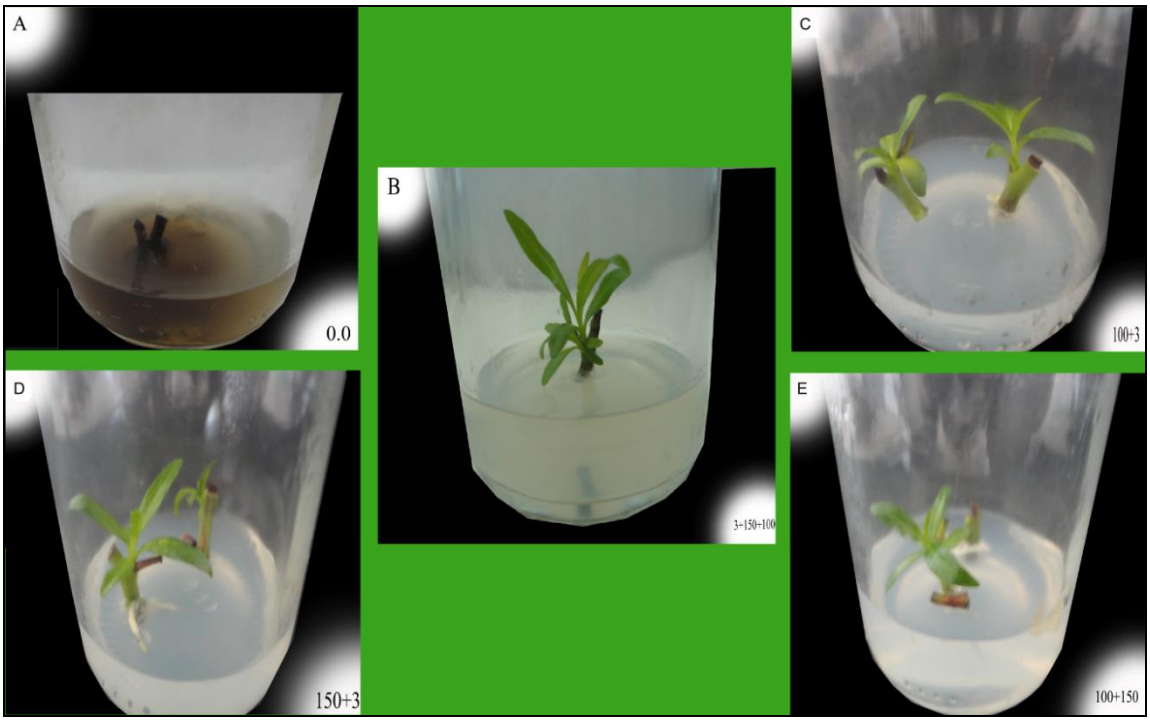
وجاءت نتائج صفة النسبة المئوية للأجزاء الحية المستجيبة لتأكد مرة أخرى تفوق معاملة التداخل الثلاثي بين مضادات الاكسدة المعتمدة في هذه التجربة بتسجيلها اعلى النسب والبالغة 90%، والتي لم تختلف معنويا عن معاملة التداخل الثنائي بين حامض الاسكوربيك بتركيز 100 ملغم.لتر$^{-1}$ + 3غم.لتر$^{-1}$ PVP والبالغة 80%(الشكل C:3). ومعاملة التداخل بين حامض الستريك بتركيز 150

ملغم.لتر$^{-1}$ +3 غم.لتر$^{-1}$ PVP والبالغة 60%(الشكل3:D). في حين سجلت معاملة التداخل بين حامض الاسكوربيك بتركيز100 ملغم.لتر$^{-1}$ +حامض الستريك بتركيز 150 ملغم.لتر$^{-1}$ قيمة بلغت 40%(شكل3:E). والتي لم تختلف معنويا عن معاملات العوامل منفردة والتي تراوحت نسبة الأجزاء الحية المستجيبة فيها قيمة بلغت 10%-30% .

جدول(3): تأثير مضادات الاكسدة المنفردة والتداخل بينها في صفات النسبة المئوية للاسمرار والاجزاء الميتة والحية غير المستجيبة والحية المستجيبة لعقد نبات *C. erectus*

مضادات الاكسدة	% الاسمرار	% للأجزاء الميتة	% للأجزاء الحية غير المستجيبة	% للأجزاء الحية المستجيبة
المقارنة (Control)	100 أ	100 أ	0 ج	0 ج
حامض الاسكوربيك100ملغم.لتر$^{-1}$	40 ب ج	60 ب	30 أب	10 ج
حامض الستريك150ملغم.لتر$^{-1}$	70 أب	50 ب	20 أب	30 ب ج
مادة PVP 3غم.لتر$^{-1}$	40 ب ج	40 ب	30 أب	30 ب ج
الاسكوربيك +الستريك 100+150ملغم.لتر$^{-1}$	20 ج د	0 ج	60 أ	40 ب ج
الاسكوربيك 100ملغم/لتر+ PVP 3غم.لتر$^{-1}$	20 ج د	0 ج	20 أب	80 أ
الستريك150ملغم/لتر + PVP 3غم.لتر$^{-1}$	10 ج د	0 ج	40 أب	60 أب
النقع بـ الاسكوربيك + الستريك 100+150ملغم.لتر$^{-1}$ لمدة ساعة +PVP3غم.لتر$^{-1}$	0 د	0 ج	10 ب	90 أ

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لا تختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 0.05 .



شكل(3): تأثير استعمال مضادات الاكسدة في ظهور ظاهرة الاسمرار في الوسط الغذائي(A):معاملة المقارنة. (B):حامض الاسكوربيك100ملغم.لتر$^{-1}$+حامض الستريك150ملغم.لتر$^{-1}$+PVP 3غم.لتر$^{-1}$.(C):حامض الاسكوربيك 100 ملغم.لتر$^{-1}$ +PVP 3غم.لتر$^{-1}$.(D):حامض الستريك150ملغم.لتر$^{-1}$+PVP3غم.لتر$^{-1}$.(E):حامض الاسكوربيك100ملغم.لتر$^{-1}$+حامض الستريك 150ملغم.لتر$^{-1}$.

يختلف محتوى الانسجة النباتية من المركبات الفينولية حسب نوع وعمر الجزء النباتي وموقعه على النبات الام (Al-Bakir وآخرون، 1989). ويعزى معظم الباحثين سبب حدوث الاسمرار في الانسجة النباتية الى اكسدة المركبات الفينولية الموجودة في الانسجة النباتية والتي تتحول الى الكوينينات (Quinones) ذات سمية عالية تحت تأثير أنزيمات الاكسدة بالأخص أنزيم البروكسيديز (Booij وآخرون،1993 والمعري والغامدي، 1998). وان التثبيط في النمو الناتج عن اللون البني يرجع الى ارتباط المواد الفينولية مع البروتين وبذلك تفقد الأنزيمات المهمة لفعالياتها داخل الانسجة، او قد تعمل المواد الفينولية كمحفز أنزيمي Co-enzyme لبعض انزيمات الاكسدة مثل IAA Oxidase والكتاليز والبيروكسديز التي تعمل على هدم الاوكسينات (الرفاعي والشوبكي، 2002).

وعند مقارنة نتائج استخدام مضادات الاكسدة او التداخل فيما بينها (جدول3) نجد ان لها أهمية وفعالية عالية في معالجة ظاهرة الاسمرار وزيادة نسبة الأجزاء الحية المستجيبة بالمقارنة مع معاملة المقارنة، وكان للتداخل الثلاثي (النقع بحامض الاسكوربيك بتركيز 100 ملغم.لتر$^{-1}$+ حامض الستريك

بتركيز 150 ملغم.لتر$^{-1}$ لمدة ساعة + PVP بتركيز 3 غم.لتر$^{-1}$ مضافا الى الوسط الغذائي) الأفضلية، تلتها معاملات التداخل الثنائي بين العوامل الدراسية. وقد تعزى الحصول على هذه النتائج الى دور كل من حامض الاسكوربيك والستريك كونها مواد طبيعية مضادة للأكسدة، إذ يعد حامض الاسكوربيك احد مضادات الاكسدة التي توجد في جميع أجزاء النبات بمستويات عالية وخاصة في الأوراق الخضراء يعمل كمنظم للعديد من الوظائف داخل الانسجة النباتية منها المقاومة للاجهاد من خلال دوره المهم في بناء hydroxyproline الذي يعمل على تنشيط الحماية الحيوية (Smirnoff و Wheeler، 2000).

ولوحظ ان إضافة حامض الاسكوربيك خارجيا تزيد من عملية بنائه داخل الانسجة الامر الذي قد يعكس على دوره في تحفيز وتشجيع النمو الخضري من خلال تأخير شيخوخة الانسجة النباتية وتأثيره المشابه لتأثير المنظمات المشجعة للنمو وحصول عملية انقسام وتوسع ونمو الخلايا النباتية (Smirnoff و Wheeler، 2000 و Ahmed و Morsy، 2001).

كما يعد حامض الستريك احد الحوامض العضوية الطبيعية التي تحتوي على ثلاثة مجاميع كاربوكسيلية يعمل كمضاد للأكسدة من خلال تسهيل انتاج الطاقة داخل الخلايا وله القدرة على خفض السمية داخل الخلايا(جرار، 1990 والنجدي وآخرون ،2006).

وان إضافة مادة PVP كان له دور في تقليل نسبة الاسمرار الى درجات كبيرة وقد يعود السبب الى صغر حجم دقائق المركب وقابليتها على امتصاص المواد السامة المتكونة من الأجزاء النباتية المزروعة فيها(النعيمي ومحمد، 2006). وقد أشار Zaid (1993) الى ان إضافة PVP الى الوسط الغذائي يحدث حالة من التوازن الهرموني بين منظمات النمو النباتية ومكونات الوسط الغذائي الأخرى والتي تساعد الأجزاء النباتية على الامتصاص الأفضل وبالتالي تحفيز وامداد الانسجة وتمايزها

3-4 : تأثير السايتوكاينينات المفردة في نشوء وتضاعف العقد المفردة :

4-3-1 : تأثير BA في نشوء وتضاعف العقد المفردة :

تشير نتائج تأثير BA في نشوء العقد المفردة،(جدول4) بعد أربعة أسابيع من الزراعة ظهور حالات موت للأجزاء النباتية المزروعة في بعض معاملات BA ومعاملة المقارنة إذ تراوحت بين

20%–30% وان اعلى نسبة استجابة للأجزاء الحية بلغت 60% في أجزاء العقد المزروعة على وسط MS المدعم بتركيز 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ من BA على الرغم من عدم اختلافها معنويا عن بقية المعاملات. في حين بلغت 20% في الأوساط المجهزة بالتراكيز 0.5 و 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ و 10% عند معاملة المقارنة بينما أعطت المعاملة 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ نسبة استجابة بلغت 40%.

وبالاتجاه ذاته نلاحظ ان النسبة المئوية للأجزاء الحية غير المستجيبة قد سجلت قيمة بلغت 20% عند أجزاء العقد المزروعة على وسط MS المدعم بتركيز 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ من BA وان هذه القيمة لم تختلف عن قيم هذه الصفة عند التراكيز المستخدمة من BA.

جدول(4): تأثير تراكيز مختلفة من BA في النسبة المئوية لاستجابة العقد المزروعة لنبات *C. erectus* بعد مرور 4 أسابيع على الزراعة.

تراكيز BA (ملغم . لتر$^{-1}$)	الصفات المدروسة		
	الأجزاء الميتة %	الأجزاء الحية المستجيبة%	الأجزاء الحية غير المستجيبة%
0.0	30 أ	10 أ	60 أ
0.5	20 أ	20 أ	60 أ
1.0	20 أ	20 أ	60 أ
1.5	20 أ	40 أ	40 أ
2.0	20 أ	60 أ	20 أ

*الأرقام التي تحمل احرفا متشابهة لا تختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 0.05.

أشارت العديد من البحوث الى ان تكوين التفرعات الجانبية من العقد والتي تعرف بزراعة العقد(nodal culture) هي من الاستراتيجيات الأفضل للمحافظة على الثبات الوراثي للنباتات الناتجة من الاكثار الدقيق (George، 1993، Cassells و Curry، 2001).

وقد يعزى تأثير التراكيز العالية من BA في إعطاء الاستجابة الأفضل مقارنة مع معاملة السيطرة الى حصوله على التراكيز المثلى والذي قد ينعكس على الزيادة في بناء RNA والبروتينات والانزيمات

داخل الخلية مما يشجع انقسام الخلايا النباتية فضلا عن دوره في تحفيز التفرعات الجانبية(الرفاعي والشوبكي، 2002).

وتشير البيانات الى تأثير BA في تضاعف العقد المفردة بعد مرور ثمانية أسابيع (جدول5)، أذ ان إضافة 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ كانت هي الأفضل في متوسط عدد الافرع الناتجة من العقد المفردة إذ سجلت1.55 فرعاً. جزءاً نباتياً$^{-1}$ متفوقة معنويا على جميع المعاملات وعن معاملة المقارنة التي لم تحدث أي استجابة.

لم تختلف نتائج المعاملات لصفة متوسط طول الفرع عن بعضها البعض وان اعلى متوسط لطول الافرع والبالغ 2.50 سم سجل في الافرع النامية من العقد النامية على وسط MS المدعم بتركيز1.0 و1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ من BA.

اما فيما يخص تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من BA في متوسط عدد الأوراق تبين النتائج تفوق المعاملة 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ معنويا في إعطاء اكبر عدد للأوراق بلغ 14.0 ورقة/فرع. ولم تختلف معنويا عن المعاملة 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ التي سجلت متوسط 13.0 ورقة/فرع. في حين سجلت معاملتي 0.5 و2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ متوسط عدد للأوراق بلغ 9.00 و8.00 ورقة/فرع على التوالي. ولم يختلفا معنويا فيما بينها.

الجدول(5): تأثير BA في تضاعف عقد نبات *C. erectus* بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS الصلب.

تراكيز BA (ملغم.لتر$^{-1}$)	الصفات المدروسة		
	متوسط عدد الافرع (فرع. جزء نباتي$^{-1}$)	**متوسط طول الفرع (سم)**	**متوسط عدد الأوراق (ورقة.فرع$^{-1}$)**
0.0	0.00 ج	0.00 أ	0.00 ج
0.5	1.00 ب	2.00 أ	9.00 ب
1.0	1.00 ب	2.50 أ	14.0 أ
1.5	1.00 ب	2.50 أ	13.0 أ
2.0	1.55 أ	2.00 أ	8.00 ب

*الأرقام التي تحمل احرف متشابهة لا تختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 0.05.

أن التأثير الإيجابي لـBA في مرحلة التضاعف (جدول5) لصفة عدد الافرع ربما يعود الى الدور الذي تلعبه السايتوكاينينات في التمايز الوعائي للبراعم الجانبية مما سهل نمو هذه البراعم وتفرعها(جندية ، 2003). فضلا عن دورها في تحفيز نمو البراعم الجانبية من خلال جذب وتجمع المواد الايضية عند موضع البراعم الجانبية، وكذلك في تحفيز بناء الـ RNA والبروتين والكلوروفيل(Devlin وWitham،1983). او قد يعود السبب الى حصول حالة من التوازن الهرموني بين ما اضيف من BA وبين المحتوى الداخلي لأنسجة النبات الذي أدى الى تضاعف الافرع(احمد،2011). إذ أشار Fay وThroop(2005) الى ان تفريع النبات ميزة تعكس التوازن بين نمو المرستيمات القمية والجانبية، وهذا التوازن تتحكم به عدة عوامل مورفولوجية وفسلجية وبيئية.

ويلاحظ ان قلة عدد الافرع على الجزء النباتي أدى الى زيادة متوسط طول هذه الافرع وبالتالي زيادة فرصة حصولها على المواد الغذائية والهرمونات اللازمة للنمو من الوسط (الشمري، 2014). وهذا بدوره يعود الى تأثير السايتوكاينينات في تحفيز الانقسام الخلوي واستطالة الخلايا واتساعها والمدعمة بنشاط الاوكسين الداخلي فضلا عن دورها في بناء السكريات المختزلة. والامر الذي انعكس أيضا على زيادة عدد الأوراق الذي ربما يعود الى فعالية السايتوكاينينات المحفزة في تفتح البراعم وقوة

نموها إذ ان التركيز المثالي من السايتوكاينينات في الافرع النشطة فسيولوجيا يؤدي الى تنظيم سريان المغذيات الى القمة النامية(Devlin وWitham،1983 وجندية، 2003).

4-3-2 : تأثير Kin في نشوء وتضاعف العقدة المفردة .

يبين الجدول(6) تأثير Kin في نشوء العقدة المفردة، بعد اربعة أسابيع من الزراعة، إذ أظهرت النتائج حالات موت في بعض الأجزاء النباتية لمعاملات Kin والمقارنة إذ تراوحت بين 20%-80%.

وان نسبة الاستجابة للأجزاء الحية للعقدة المفردة بلغت 20% في معاملة 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ في حين لم تحدث أي استجابة للعقد المفردة عند معاملة المقارنة وعند التركيز 2.0 و3.0 ملغم.لتر$^{-1}$.

اما فيما يخص النسبة المئوية للأجزاء الحية غير المستجيبة، فقد بينت النتائج ان معاملة المقارنة و المعاملة 1.0 و2.0 و3.0 ملغم.لتر$^{-1}$ سجلت اعلى النسبة للأجزاء الحية غير المستجيبة إذ بلغت 60% ولم تختلف معنويا عن معاملة المقارنة البالغة 20%.

جدول(6): تأثير تراكيز مختلفة من Kin في النسبة المئوية لاستجابة العقد المزروعة لنبات *C. erectus* بعد مرور 4 أسابيع على الزراعة.

تراكيز KIN (ملغم.لتر-1)	الصفات المدروسة		
	الأجزاء الميتة %	الأجزاء الحية المستجيبة%	الأجزاء الحية غير المستجيبة%
0.0	80 أ	0 أ	20 أ
1.0	20 أ	20 أ	60 أ
2.0	40 أ	0 أ	60 أ
3.0	40 أ	0 أ	60 أ

*الأرقام المتشابهة لا تختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال0.05.

وتشير بيانات تأثير Kin في تضاعف العقد المفردة بعد مرور 8 أسابيع (جدول7) لجميع الصفات المدروسة عدم حدوث استجابة للتراكيز المستخدمة الا استجابة ضعيفة للتركيز 1 ملغم. لتر$^{-1}$ Kin فقد

سجل قيم بلغت 1.00 فرع. جزء نباتي$^{-1}$ وبمعدل طول للفرع بلغ 1.00 سم و8.00 ورقة.فرع$^{-1}$ لصفة متوسط عدد الأوراق.

جدول(7): تأثير Kin في تضاعف عقد نبات *C.erectus* بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS الصلب.

تراكيز Kin (ملغم.لتر$^{-1}$)	الصفات المدروسة		
	متوسط عدد الافرع (فرع. جزء نباتي$^{-1}$)	متوسط طول الافرع (سم)	متوسط عدد الأوراق (ورقة.فرع$^{-1}$)
0.0	0.00 ب	0.00 ب	0.00 ب
1.0	1.00 أ	1.00 أ	8.00 أ
2.0	0.00 ب	0.00 ب	0.00 ب
3.0	0.00 ب	0.00 ب	0.00 ب

*الأرقام التي تحمل احرف متشابهة لا تختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 0.05

ان تأثير Kin في احداث استجابة ضعيفة للعقد المفردة في مرحلة التضاعف(الجدول7) ربما يعزى 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 ان مدى الاستجابة للسايتوكاينين تعتمد على التراكيز المستخدمة والحالة الفسيولوجية للخلايا المستلمة 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 تناقصا في معدل الاستجابة للنمو وهذا لا يعني موت الخلية دائما وانما يكون ناتجا من التثبيط الهرموني (الجواري، 2005).

وهذا ما تعززه نتائج تجارب تداخل BA وKin اللاحقة إذ استخدم Kin بتراكيز قليلة أحدثت استجابة واضحة بتداخلها مع التراكيز العالية من BA.

4-4 : تأثير التداخل بين السايتوكاينينات في نشوء وتضاعف العقد المفردة:

4-4-1 : تأثير تداخل BA مع Kin في نشوء العقد المفردة:

ان التراكيز المعتمدة في التداخل انتخبت على ضوء نتائج تجربة تأثير السايتوكاينينات كل على انفراد إذ أظهرت نتائج تأثير تداخل BA وKin في نشوء العقد المفردة بعد 4 أسابيع من الزراعة (جدول8) ظهور حالات موت في بعض الأجزاء النباتية لمعاملات التداخل إذ تراوحت بين 20%-60%.

وان نسبة استجابة الأجزاء الحية لمعاملات التداخل تراوحت بين 20%-80% إذ سجلت اعلى قيمة للاستجابة للعقد المفردة والبالغة 80% على وسط MS المدعم بتركيز2 ملغم.لتر$^{-1}$ BA+0.3 ملغم. لتر$^{-1}$ Kin في حين سجلت اقل نسبة استجابة للعقد المفردة وبلغت 20% على وسط MS المدعم بتركيز3 ملغم. لتر$^{-1}$ BA + 0.2 ملغم. لتر$^{-1}$ Kin.

اما فيما يخص صفة النسبة المئوية للأجزاء الحية غير المستجيبة للعقد المفردة إذ أوضحت نتائج بأن اعلى نسبة سجلت والبالغة40% كانت في الوسط المدعم بتركيز3 ملغم.لتر$^{-1}$ BA + 0.2 أو0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin والمعاملة 2 ملغم.لتر$^{-1}$ BA+0.5 ملغم.لتر$^{-1}$Kin اما اقل نسبة عدم استجابة حصلت في الوسط المزود بـ 4 ملغم. لتر$^{-1}$ BA + 0.2 ملغم. لتر$^{-1}$Kin وبلغت 20% اما بقية المعاملات لم يلاحظ أي استجابة فيها.

جدول (8): تأثير تداخل BA مع Kin في النسبة المئوية للأجزاء الحية المستجيبة وغير المستجيبة والاجزاء الميتة لنبات *C. erectus* على وسط MS الصلب.

تركيز BA ملغم.لتر$^{-1}$	تركيز KIN ملغم.لتر$^{-1}$	الصفات المدروسة		
		الاجزاءالميتة%	الأجزاء الحية المستجيبة%	الأجزاء الحية غير المستجيبة%
2	0.2	40 أ	60 أ	0 أ
	0.3	20 أ	80 أ	0 أ
	0.5	20 أ	40 أ	40 أ
3	0.2	40 أ	20 أ	40 أ
	0.3	60 أ	40 أ	0 أ
	0.5	20 أ	40 أ	40 أ

4	**0.2**	60 أ	40 أ	0 أ
	0.3	20 أ	60 أ	20 أ
	0.5	60 أ	40 أ	0 أ

*الأرقام المتشابهة لا تختلف معنويا فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمالية 0.05

ان التأثير الإيجابي لتداخل السايتوكاينينات BA مع Kin في إعطاء الاستجابة الأفضل لعقد نبات *C. erectus* في مرحلة النشوء(جدول8) قد يعود السبب الى التراكيز المستخدمة من السايتوكاينين والحالة الفسيولوجية للجزء النباتي من حيث محتواه من المواد الغذائية والهرمونات، فضلا عن دور تداخل السايتوكاينينات في تشجيع نمو البراعم الأبطية على الانسجة المزروعة نتيجة الى حصول حالة من التوازن الهرموني للأجزاء النباتية (عبدول،1987).

4-4-2: تأثير تداخل BA مع Kin في تضاعف العقد المفردة.

أظهرت نتائج تحليل البيانات (الجدول9) تأثير التداخل بين BA وKin في الصفات المدروسة لمرحلة التضاعف بعد 8 أسابيع من الزراعة، إذ سجل اعلى عدد للأفرع الناتجة من تضاعف العقد المفردة والبالغ 4.00 فرع .جزء نباتي$^{-1}$. سجل في الوسط المدعم بتركيز4 ملغم.لتر$^{-1}$ BA + 0.3 ملغم. لتر$^{-1}$ Kin (شكل4:A) والتي لم تختلف معنويا عن معاملات التداخل الأخرى، الا انها تفوقت معنويا على معاملتي 2 ملغم.لتر$^{-1}$ BA + 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin و3 ملغم.لتر$^{-1}$ BA + 0.2 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin اللتين اعطتا اقل عدد من الافرع وبلغت 1.00 فرعا(شكل4:B وC) على التتابع.

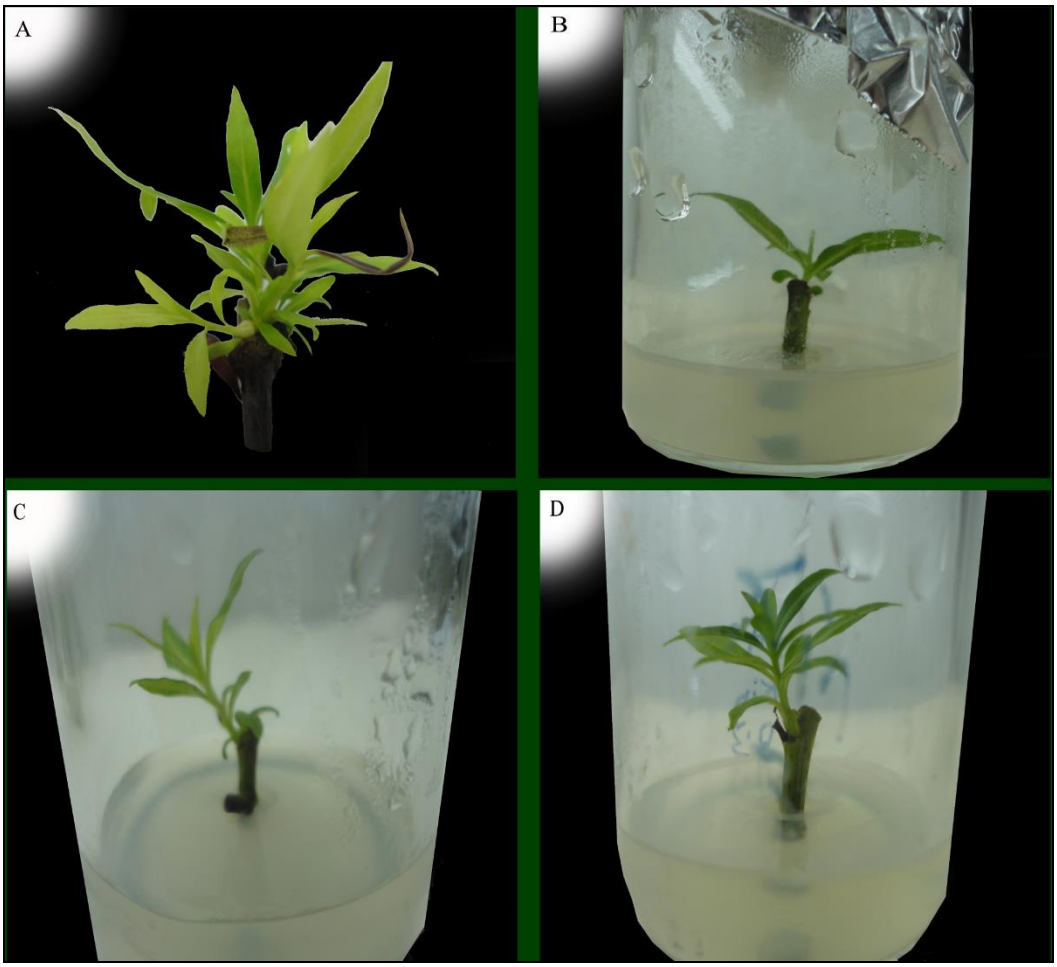
وتشير نتائج التحليل الاحصائي لصفة متوسط طول الفرع الى عدم وجود فروقا معنوية بين المعاملات الى ان اعلى القيم لصفة متوسط طول الفرع البالغة 2.00 سم سجلت في الوسط المدعم بتركيز 3 ملغم.لتر$^{-1}$ BA + 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$Kin(شكل4:D) وانحدرت هذه القيمة الى ادناها والبالغة0.75 سم في الوسط المدعم 2 ملغم.لتر$^{-1}$ BA + 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin(شكل4:B).

اما عن صفة متوسط عدد الأوراق فقد أوضحت النتائج ان الوسط الغذائي المزود بتركيز4 ملغم.لتر$^{-1}$ BA + 0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin سجلت اكبر عدد من الأوراق إذ بلغت 17.50 ورقة. جزء نباتي$^{-1}$ وسجلت اقل القيم لهذه الصفة والبالغة 6.00 ورقة. جزء نباتي$^{-1}$ عند الوسط المضاف اليه 2 ملغم.لتر$^{-1}$ BA + 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin.

الجدول(9): تأثير تداخل BA مع Kin في تضاعف العقد المفردة لنبات *C. erectus* على وسط MS الصلب.

تركيز BA ملغم.لتر$^{-1}$	تركيز Kin ملغم.لتر$^{-1}$	الصفات المدروسة		
		متوسط عدد الافرع (فرع .جزء نباتي$^{-1}$)	متوسط طول الفرع(سم)	متوسط عدد الأوراق (ورقة. فرع$^{-1}$)
2	0.2	1.33 أب	1.40 أ	9.33 ب ج
	0.3	1.25 أب	1.62 أ	10.00 ب ج
	0.5	1.00 ب	0.75 أ	6.00 ج
3	0.2	1.00 ب	1.50 أ	8.00 ب ج
	0.3	1.50 أب	0.87 أ	9.00 ب ج
	0.5	1.50 أب	2.00 أ	10.66 ب ج
4	0.2	1.50 أب	1.50 أ	12.00 أج
	0.3	4.00 أ	1.16 أ	17.50 أ
	0.5	2.00 أب	1.62 أ	15.50 ب

* الأرقام المتشابهة لا تختلف معنويا فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمالية 0.05



شكل(4): تأثير تداخل BA وKin في تضاعف العقد المفردة لنبات *C. erectus* (A): 4.0 ملغم.لتر$^{-1}$BA+0.3 ملغم. لتر$^{-1}$kin.(B):2.0 ملغم.لتر$^{-1}$BA+0.5 ملغم.لتر$^{-1}$Kin.(C): 3.0 ملغم.لتر$^{-1}$BA + 0.2 ملغم.لتر$^{-1}$Kin(D): 3.0ملغم.لتر$^{-1}$ BA+ 0.5ملغم.لتر$^{-1}$Kin.

ان الزيادة في عدد الافرع عند التراكيز الملائمة من BA المتداخلة مع Kin قد يعود الى كون الـBA احد السايتوكاينينات الأكثر نشاطا لوجود حلقة البنزين في تركيبه الكميائي (وصفي،1995)، فضلا عن الدور المهم للـ Kin في إعاقة هدم البروتين، ودورهما في تحفيز الانزيمات في عملية البناء الضوئي والذي تنعكس اثاره في تشجيع عملية الانقسام والتمايز الشكلي وزيادة حجم الخلية، ووصولهما الى حالة من التوازن المثالية بين ما موجود في النسيج النباتي وبين ما اضيف الى الوسط الغذائي (البياتي،2002). او قد يعزى الى دور السايتوكاينينات في تشجيع نمو البراعم الجانبية والتأثير المانع للأوكسينات (جندية،2003).

اما عن تأثير تداخل BA مع Kin في متوسط طول الافرع (جدول9) فنلاحظ ان اضافتهما في التراكيز المثالية زاد من نسبة عدد الافرع الخضرية وان انخفاض النمو الطولي للأفرع قد يعزى الى تنافسها فيما بينها على المواد الغذائية والهرمونية اللازمة للنمو في الوسط (الشمري،2014).

وفيما يخص التأثير الإيجابي لتداخل BA مع Kin في زيادة متوسط عدد الأوراق(جدول9) ربما يعود سببه الى دور السايتوكاينينات في انقسام الخلية التي أدت الى زيادة التفريع للجزء النباتي وبالتالي تزيد من معدل الامتصاص ودعم الأوراق النامية (Duhoky و Rasheed، 2009).

4-5: مرحلة التجذير.

4-5-1 : تأثير IBA واملاح الوسط الغذائي في النسبة المئوية للتجذير.

اشارت نتائج تحليل البيانات الموضحة في الجدول(10) ان اعلى نسبة تجذير حصلت في وسط MS بكامل قوة الاملاح وبلغت 62% بالرغم من عدم تفوقها المعنوي عن نسبة التجذير التي حصلت في وسط نصف تركيز املاح MS والبالغة 43%.

ولم تظهر النتائج أي فروق معنوية بين تراكيز IBA المستخدمة، بالرغم من تسجيل التركيز 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ اعلى نسبة تجذير للأفرع وبلغت 75% وكانت هذه النسبة في ادناها 25% في معاملة المقارنة.

وتشير نتائج التداخل الثنائي الى ان اعلى نسبة تجذير بلغت 75% سجلت من تداخل الوسط MS بكامل قوة الاملاح مع المعاملة بتراكيز IBA قيد الدراسة فضلا عن التداخل بين وسط نصف تركيز الاملاح MS المدعم بتركيز 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ من IBA.

جدول(10): تأثير تراكيز مختلفة من IBA واملاح الوسط الغذائي والتداخل بينهما في النسبة المئوية للتجذير لنبات *C. erectus*

المتوسط	تراكيز IBA ملغم.لتر$^{-1}$				تأثير المتوسط
	0.0	0.5	1.0	1.5	
MS كامل القوة	25 أ	75 أ	75 أ	75 أ	62 أ
MS نصف القوة	25 أ	25 أ	50 أ	75 أ	43 أ
تأثير منظم النمو	25 أ	50 أ	62 أ	75 أ	

* الأرقام المتشابهة لا تختلف معنويا فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمالية 0.05

يعد وجود الاوكسين مهم جدا في تحفيز النموات على التجذير، وتشجع نشوء الجذور واستطالتها، إذ تؤدي التراكيز المنخفضة منها الى استطالة الجذور في حين تسبب التراكيز العالية منها الى تشكل الكالس على الأجزاء النباتية (Edwin وGeorge، 1996). وتتأثر عملية نشوء الجذور بالنوع النباتي، إذ تعد الأنواع الخشبية عموما اكثر صعوبة في التجذير من الأنواع العشبية (Harbage وآخرون،1993). ان التأثير الإيجابي في إضافة الاوكسينات الى الوسط الغذائي ربما يعود سببه الى دورها بشكل ملحوظ في تكوين الجذور، إذ تؤدي الاوكسينات دورا مهما في تنشيط الانقسام الخلوي للطبقة المولدة للكامبيوم وبالتالي تزيد من تكوين الجذور وتكوين البادئات الجذرية (شلاهي وآخرون، 2013). وبشكل عام تعمل الاوكسينات بزيادة معدل التبادل الايوني والنشاط الانزيمي والنفاذية الخلوية ومعدل نقل الشوارد التي تزيد من معدل تكون الجذور للأفرع المزروعة نتيجة لدوره الأهم والمباشر في مرحلة الدفع الجذري (جرار وآخرون، 2014).

وان سبب الانخفاض في معدل نسبة التجذير في الوسط الخالي من منظمات النمو عدم وجود التركيز الملائم من الاوكسين لدفع الخلايا باتجاه الاستطالة والنمو الى بادئات بسبب افتقار الافرع الخضرية الى تكوين الجذور (سلمان،1988).

ان استجابة الافرع للتجذير في بعض الأوساط وتداخلها مع الاوكسين ربما يعود الى الظروف المثالية التي هيأتها تداخل املاح تلك الأوساط مع نوع الاوكسين المستخدم للتجذير والذي أدى الى تشجيع نشوء الجذور واستطالتها.

4-5-2 : التأثير في متوسط عدد الجذور.

تشير بيانات صفة عدد الجذور في جدول(11) ان اعلى قيمة سجلت في وسط MS بكامل قوة الاملاح والبالغة 1.93جذرا بالرغم من عدم تفوقها المعنوي عن معدل عدد الجذور التي ظهرت في وسط نصف قوة تركيز املاح MS والبالغة1.12 جذرا.

وقد أظهرت النتائج فروقاً معنوية بين تراكيزIBA المستخدمة، إذ سجل التركيز1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ اعلى قيمة لمتوسط عدد الجذر بلغت 2.62 جذرا، وانحدرت هذه النسبة الى ادناها 0.37 جذرا في معاملة المقارنة.

وتشير نتائج التداخل الثنائي الى ان اعلى قيمة لمتوسط عدد الجذور بلغت 2.75 جذرا سجلت من تداخل الوسط MS بنصف قوة الاملاح مع المعاملة 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ من IBA وانحدرت هذه القيمة الى ادناها وبفارق معنوي إذ بلغت0.25 جذرا في افرع معاملة المقارنة في وسط MS بنصف قوة الاملاح.

جدول(11): تأثير تراكيز مختلفة من IBA واملاح الوسط الغذائي في متوسط عدد الجذور لعقد نبات *C. erectus*

الوسط	تراكيز IBA ملغم.لتر$^{-1}$				تأثير الوسط
	0.0	0.5	1.0	1.5	
MS كامل القوة	0.50 ب ج	2.50 أ	2.25 أب	2.50 أ	1.93 أ
MS نصف القوة	0.25 ج	0.50 ب ج	1.00 أج	2.75 أ	1.12 أ
تأثير منظم النمو	0.37 ب	1.50 أب	1.62 أب	2.62 أ	

* الأرقام المتشابهة لا تختلف معنويا فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمالية 0.05

ان السبب في زيادة معدل عدد الجذور في وسط MS بكامل قوة الاملاح (جدول11) ربما يعود سببه الى احتوائه على المغذيات الأساسية للعناصر الكبرى والصغرى بالكمية المثالية (Naraynswamy، 1977).

وان الاختلاف في معدل عدد الجذور بين التراكيز المستخدمة من منظم النمو IBA قد يعود السبب الى اختلاف افرع نبات *Conocarpus erectus* في استجابتها للتجذير وفقا للتراكيز المختلفة المستعملة من الاوكسين IBA، والى التباين في محتواها الداخلي الهرموني ودورها في دفع النبات للتجذير، فضلا عن انقسام خلايا مناشىء الجذور(Root intial cell) التي تعتمد على تركيز الاوكسين الداخلي او المضاف الى الوسط الغذائي التي تحفز تكون الجذور العرضية من خلال تأثيرها الفسيولوجي في الخلايا البارنكيمية المتخصصة لتجعلها تفقد تمايزها وتعيدها الى حالتها المرستيمية بعملية فقدان التمايز De-differentiation ثم انقسامها مكونة منشأ الجذر Root initial التي تستمر بالنمو والتطور الى بادئات الجذور(Root primordium) التي تشق طريقها خلال خلايا الساق مكونة الجذر العرضي(Adventitous Root)(Hartmann،2002 والبو غربان وعبد الحسين،2012).

وان الزيادة في متوسط عدد الجذور ربما يعود الى الفعل الإيجابي للاوكسين الذي يعمل على زيادة عدد مواقع المناطق المرستيمية في قاعدة الفرع المعاملة بها بعملية فقدان التمايز للأنسجة المتخصصة وتحويلها الى خلايا مرستيمية التي تزيد من اعداد الجذور المتكونة (البو غربان وعبد الحسين،2012).

4-5-3 : التأثير في متوسط طول الجذر(سم).

تبين النتائج الموضحة في الجدول(12) لصفة متوسط طول الجذر تفوق وسط MS بكامل قوة الاملاح في معدل متوسط طول الجذر إذ سجل قيمة بلغت 3.58سم بالمقارنة بوسط MS بنصف قوة الاملاح الذي سجل معدل متوسط طول الجذر بلغ 1.29 سم.

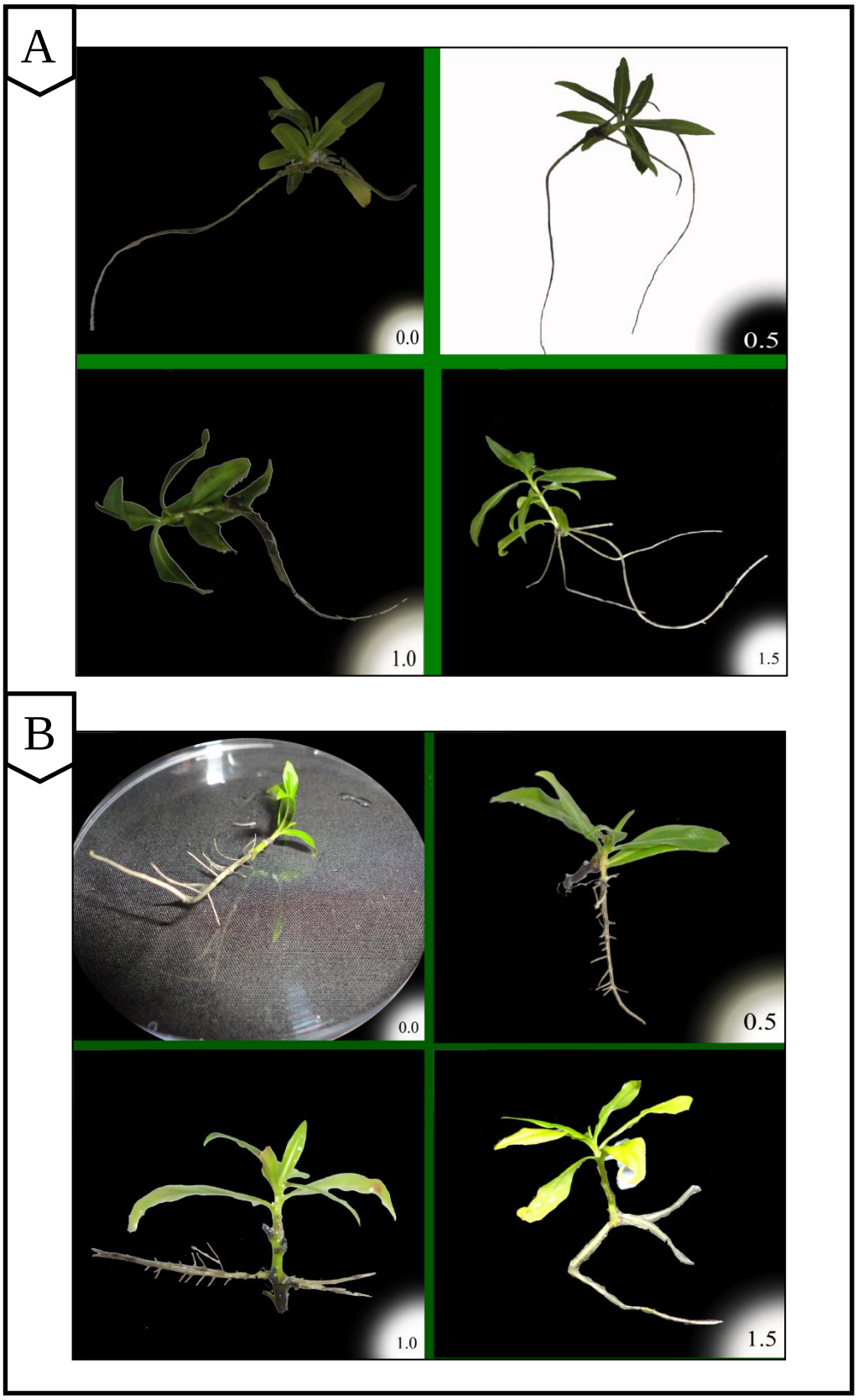
وقد اختلفت قيم هذه الصفة معنويا تحت تأثير التراكيز المختلفة لمنظم النمو IBA وقد سجل التركيز 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA اعلى القيم البالغة 4.28 سم بالمقارنة مع معاملة المقارنة التي سجلت اقل قيمة بلغت 1.06 سم.

وتشير بيانات التداخل الثنائي ان اعلى معدل لمتوسط طول الجذر بلغت 5.01 سم سجلت من تداخل الوسط MS بكامل قوة الاملاح عند التركيز 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA وانحدرت هذه القيمة الى ادناها إذ بلغت 0.12 سم في وسط MS بنصف قوة الاملاح المدعم بتركيز 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA وامتازت هذه الجذور بطولها وقلة تفرعها (شكل5:A). في حين سجلت قيمة بلغت 3.56 سم عند تداخل الوسط MS بنصف قوة الاملاح متداخلاً مع IBA بتركيز 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$. وامتازت الجذور المتكونة بقصرها عن سابقتها على وسط MS بكامل قوة الاملاح وكثرة تفرعاتها الجانبية (شكل5:B).

جدول(12): تأثير تراكيز مختلفة من IBA واملاح الوسط الغذائي في متوسط طول الجذر(سم) لعقد نبات *C. erectus*

الوسط	تراكيز IBA ملغم.لتر$^{-1}$				تأثير الوسط
	0.0	0.5	1.0	1.5	
MS كامل القوة	1.25 ب ج	4.31 أ	3.75 أب	5.01 أ	3.58 أ
MS نصف القوة	0.75 ج	0.12 ج	0.75 ج	3.56 أب	1.29 ب
تأثير منظم النمو	1.00 ب	2.21 ب	2.25 ب	4.28 أ	

* الأرقام المتشابهة لا تختلف معنويا فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمالية 0.05



شكل(5):تأثير تراكيز مختلفة من IBA في تجذير الافرع الناتجة من تضاعف أجزاء العقد المفردة لنبات *C. erectus* في وسط MS بكامل قوة الاملاح (A) وبنصف قوة الاملاح (B).

ان التأثير الإيجابي للوسط كامل قوة الاملاح في زيادة معدل اطوال الجذر(جدول12) ربما يعود الى تفوقه في محتواه من العناصر الغذائية الكبرى والصغرى وبالتالي ما يزيد من قدرته على تشجيع تكون الأعضاء(الصالحي، 2007).

اما بخصوص تأثير إضافة الاوكسين الى الوسط الغذائي في إعطاء افضل معدل لأطوال الجذور قد يعود سببه الى كفاءة IBA وبطيء انتقاله خلال الأجزاء النباتية وتثبيته العالي نسبيا لعدم تأثره بالأنزيمات المسؤولة عن هدم الاوكسينات (سلمان،1988). ولدور الاوكسينات في إعادة توزيع المواد الغذائية من الأجزاء الخضرية الى الأجزاء النامية ودورها المهم بالعمليات الحيوية المرتبطة بتكوين مبادئ الجذور(Wiesman وآخرون، 1989).

ويلاحظ من نتائج التداخل بين الاوكسين واملاح الوسط الغذائي وسط MS بكامل قوة الاملاح والمدعم بـ IBA قد وفر للافرع الظروف المناسبة لاستطالة الجذور من خلال تحفيزها وتكوين مناشيء الجذور العرضية والحصول على انقسام اكبر لخلايا الكامبيوم وزيادة استطالتها(Lee وHackett، 1976 ومحمد،1985). وادى انخفاض تركيز الاملاح الى النصف الى زيادة طول الجذر بنسبة قليلة الامر الذي قد يعود الى ظاهرة الانتحاء الغذائي قياسيا بكامل تراكيزها (المفرجي،2005).

4-5-4 : التأثير في ارتفاع النمو الخضري.

تبين النتائج الجدول(13) لصفة ارتفاع النمو الخضري تفوق وسط MS بكامل قوة الاملاح إذ سجل قيمة 2.31سم بالمقارنة بوسط MS بنصف قوة الاملاح الذي سجل معدل ارتفاع للنمو الخضري بلغ 1.37 سم.

ولم تختلف قيم هذه الصفة معنويا تحت تأثير التراكيز المختلفة لمنظم النموIBA وقد سجل التركيز0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ اعلى القيم البالغة 1.93سم بالمقارنة بقيمة 1.81 سم المسجلة لبقية المعاملات.

وتشير بيانات التداخل الثنائي ان اعلى ارتفاع النمو الخضري بلغت 2.50 سم عند التركيز 0.5 ملغم،لتر$^{-1}$ IBA في وسط MS بكامل قوة الاملاح وانخفضت هذه القيمة الى ادناها إذ بلغت 1.25 سم في وسط MS بنصف قوة الاملاح والذي لم يدعم بأي تركيز من IBA.

جدول(13): تأثير تراكيز مختلفة من IBA واملاح الوسط الغذائي في ارتفاع النمو الخضري(سم) لعقد نبات *C. erectus*

الوسط	تراكيز IBA ملغم.لتر$^{-1}$				تأثير الوسط
	0.0	0.5	1.0	1.5	
MS كامل القوة	2.37 أ	2.50 أ	2.12 أ	2.25 أ	2.31 أ
MS نصف القوة	1.25 أ	1.37 أ	1.50 أ	1.37 أ	1.37 ب
تأثير منظم النمو	1.81 أ	1.93 أ	1.81 أ	1.81 أ	

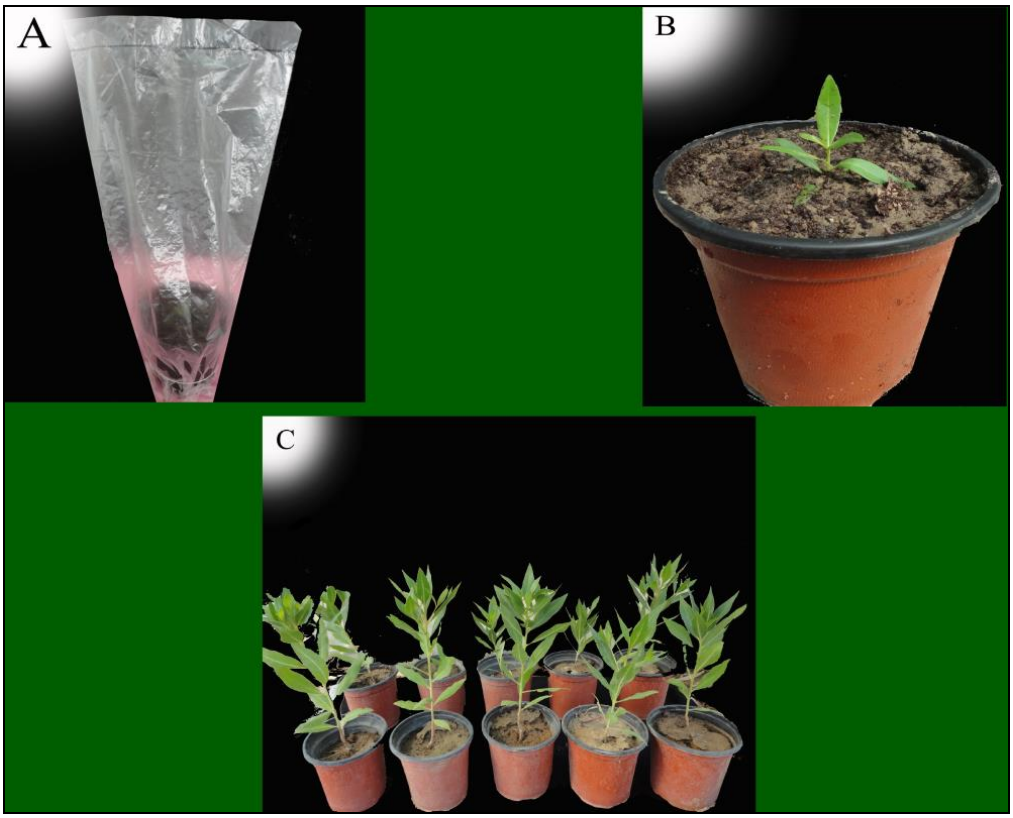
* الأرقام المتشابهة لا تختلف معنويا فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمالية 0.05

ان التأثير الإيجابي في زيادة معدل ارتفاع النمو الخضري(جدول13) ربما قد يعزى الى احتواء الوسط الغذائي بكامل قوة الاملاح على كافة تراكيز العناصر المعدنية الصغرى والكبرى (Laurene، 2013).

فضلا عن تأثير إضافة الاوكسين وذلك لكون IBA من الاوكسينات الثابتة نسبيا التي لا تتأثر بالأنزيمات المحطمة(IAA-peroxidaes) لذا تبقى مستوياته جيدة داخل النبات (Roy وآخرون، 2011).

4-6 : مرحلة الاقلمة Acclimatization Stage:

تمت المرحلة الأولى من عملية الاقلمة داخل المختبر إذ اخذت النبيتات المجذرة جيدة النمو والمتجانسة قدر الإمكان وغسلت جذورها بشكل جيد بالماء الجاري من اجل إزالة الاكار الملتصق بها ومن ثم غمرت بمحلول المبيد الفطري ولمدة 5 دقائق لوقايتها من الإصابة الفطرية، إذ نجحت عملية اقلمة الافرع المجذرة بعد نقلها الى اصص حاوية على الوسط الزرعي المتكون من البيتموس المعقم (شكل6:A) وبلغت نسبة النباتات التي اجتازت مرحلة الاقلمة 90% والتي استمرت بالنمو بعد نقلها الى الحقل وتدويرها في اصص حاوية على تربة نهرية تربة تكونت من الرواسب النهرية الغرين او الطمي الناعمة وهي من افضل الترب (شكل6:B) فقد بلغ معدل ارتفاعها 20.9 سم وبمعدل عدد أوراق 24.7 ورقة ومعدل عدد عقد للفرع الرئيسي بلغت 9.5 عقدة (شكل6:C)



شكل(6): مراحل اقلمه نباتات *Conocarpus erectus* (A): تغطية النباتات بأكياس البولي ايثلين.(B): النباتات المؤقلمه عند نقلها الى الحقل بعد اقلمتها. (C): نباتات بعد مرور 8 أسابيع من نقلها الى الحقل.

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات Conclusion.

1-ان استخدام مادة كلوريد الزئبق $HgCl_2$ بتركيز 0.5 % ولمدة 15 دقيقة كان فعالا في تعقيم الأجزاء النباتية.

2-ان نقع الأجزاء النباتية لمدة ساعة قبل تعقيمها بمحلول الاكسدة المتكون من حامض الستريك بتركيز 150 ملغم.لتر$^{-1}$+ حامض الاسكوربيك بتركيز 100 ملغم.لتر$^{-1}$+ تدعيم الوسط بمادة PVP بتركيز 3 غم.لتر$^{-1}$ كان ناجحاً في الحد من ظاهرة الاسمرار.

3-اظهر الـ BA كفاءة اكبر من Kin في نشوء وتضاعف الزروعات

4-ان نوع السايتوكاينين وتركيزه أثرى في تضاعف الأجزاء النباتية وان التداخل بين التراكيز العالية من الـ BA والتراكيز الواطئة من الـ Kin كانت الأفضل في مرحلتي النشوء والتضاعف.

5-ان انسب وسط لتجذير عقد نبات الـ *C.erectus* L. خارج الجسم الحي هو الوسط MS بكامل قوة الاملاح مضافا اليه 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA

التوصيات Recommendation

1- دراسة إمكانية استخدام أجزاء نباتية أخرى في اخلاف النباتات مثل اطراف الافرع

2- دراسة تأثير أنواع أخرى من السايتوكاينينات في عملية التضاعف لوحدها او بشكل متداخل مع الاوكسينات او الجبرلينات

3- اجراء دراسة حول التأثيرات البايولوجية للمركبات الفعالة المستخلصة من نبات *C.erectus*

4- دراسة تأثير أنواع أخرى من الأوساط الغذائية بدلا من الوسط MS في مرحلة التضاعف والتجذير

5- دراسة مستويات اعلى من المستخدمة في الدراسة من BA و IBA.

المصادر العربية:

أبراهيم، كاظم محمد وخليل أبراهيم رشيد وثامر حميد خليل 2012. الإكثار الدقيق لثلاث من أصناف العنب الأوربي *Vitis vinifera* خارج الجسم الحي. مجلة جامعة الرافدين، 15(3): 42-51 .

أحمد، أحمد عبد الرحيم محمد 2011. دراسة فسلجية لإنتاج طعوم الكمثرى صنف عثماني بالزراعة النسيجية. رسالة ماجستير، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل، العراق.

بإصلاح، محمد عمر عبد الله 2008. فسيولوجيا النمو والتميز العلمي مكتبة الملك فهد الوطنية الطبعة الثانية، جامعة الملك سعود.

البحر، محمد كمال وفؤاد عبد الرحيم احمد ومحمود محمد صقر 1999. التكنلوجيا الحيوية النباتية زراعة الانسجة والهندسة الوراثية، الشركة العربية للنشر والتوزيع، القاهرة، مصر.

بدر، صالح محسن، عبد الأمير هبل رهيف، وفاء إبراهيم حسين وعماد احمد محمد الحافظ 2000. إنتاج اصل الكمثرى كلاريانا *Pyrurs calleryana* بالزراعة النسيجية. مجلة الزراعة العراقية ، 3(5): 191-199.

البو غربان، شيماء سلمان ومسلم عبد علي عبد الحسين 2012. تأثير الـ IAA و NAA في تجذير الافرع الناتجة من زراعة العقد الساقية لأشجار الطرنج *Citrus medica* خارج الجسم الحي. مجلة الفرات الزراعية، 4(3):39-44.

البياتي، يحيى علي 2002. دراسة مقارنة لسلوكية نبات الداؤدي *Chrysanthemum morfolium* Var. Moonlight spoon المكثر خضريا بالزراعة النسيجية والتقليدية. أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل، العراق.

البيضاني، محمد فالح شبيب 2010. تجارب عملية في بيئة البصرة لإكثار شجرة الكونوكاربس (الداماس). وزارة الزراعة، مديرية زراعة البصرة. شعبة البستنة والغابات .

التحافي، سامي علي عبد المجيد وأحمد عبد الرحيم لطيف ونشأت علي يعقوب 2014. تأثير موعد الغرس والمعاملة بالأوكسين NAA في تجذير العقل وصفات النمو الخضري لنبات الداماس

كونوكاربس (*Conocarpus lancifolius*) للموسم الخريفي . مجلة التقني ، المجلد السابع والعشرون، (3): 106-112.

جرار، عادل احمد 1990. أصول الكيمياء العضوية. الجامعة الأردنية عمان، الأردن، طبعة الثانية ، مركز الكتاب الأردني، الأردن.

جرار، علي وحسان عبيد وحسين الزعبي 2014. تأثير بعض منظمات النمو في اثناء التكاثر الخضري الدقيق مخبريا لأصل العنب Ru140 . مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية، 3 (30) :31-45.

جندية، حسن 2003. فسيولوجيا أشجار الفاكهة (احدث الطرائق في علاج مشاكل الزراعة والتربية والإنتاج لأشجار الفاكهة في الأراضي المختلفة). الدار العربية للنشر والتوزيع ، القاهرة، مصر.

الجواري، محمد أحمد كريم 2005. نشوء وتضاعف افرع السدر *Zizyhus spina-christi* Willd صنفي الملاسي والبمباوي خارج الجسم الحي. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق.

الحديدي، محمد علي حسين 2002. تجارب في زراعة الانسجة النباتية. دار الفكر للطباعة والنشر والتوزيع – عمان – الأردن.

الحسيني، زينب عبد الجبار حسين 2001. الإكثار والتطعيم الدقيق لأشجار الكمثري والسفرجل خارج الجسم الحي. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق.

حميد، محمد خزعل ومحمد عباس ومنير صالح عمر 2001. اكثار الفستق *Pistacia veral* L. خضريا باستخدام تقنية زراعة الأنسجة، أنشاء الزروعات والتضاعف الخضري. مجلة العلوم الزراعية العراقية، 32 (5) :63-70.

الخفاجي، زهرة محمود 1990. التقنية الحيوية، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جامعة بغداد.

الخليفة ، عقيل عبود سهيم واسامة نظيم جعفر المير وخير الله موسى عواد الجابري 2008. تأثير تركيز املاح ال MS والسكروز في تكوين البراعم الجانبية لنخيل التمر

(*Phoenix dactylifera* L.) صنف الساير المكثرة نسيجيا. مجلة أبحاث النخيل، جامعة البصرة، 2: 2-1.

الخيبري ، عامر بن ياسف 2008. إكثار أشجار التين (صنف براون تركي) بواسطة تقنية زراعة الأنسجة. رسالة ماجستير، كلية علوم الأغذية والزراعة، جامعة الملك سعود، المملكة العربية السعودية.

الرفاعي، عبد الرحيم توفيق وسمير عبد الرزاق الشوبكي 2007. زراعة الأنسجة والإكثار الدقيق للنبات، المكتبة المصرية للطباعة والنشر والتوزيع، لوران، الإسكندرية، مصر.

الرفاعي، عبد الرحيم توفيق وسمير عبد الزراق الشوبكي 2002. تقنيات القرن 21 لتحسين النبات باستخدام زراعة الأنسجة. دار الفكر العربي للطباعة والنشر، الطبعة الأولى. القاهرة – مصر.

الراوي، خاشع وعبد العزيز محمد خلف الله 1980. تصميم وتحليل التجارب الزراعية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، مؤسسة دار الكتب للنشر والتوزيع، جامعة الموصل، العراق.

الزبيدي، مازن محمد أبراهيم وكرم غانم محمد 2013. فعالية بعض المستخلصات النباتية كمواد مضادة للأكسدة. مجلة زراعة الرافدين،41 (2): 146-153

سلمان، محمد عباس 1988. اساسيات زراعة الخلايا النباتية، جامعة بغداد، العراق.

الشحات، نصر أبو زيد 2000. الزيوت الطيارة. الطبعة الأولى، الدار العربية للنشر والتوزيع، القاهرة، ص 394 .

شلاهي، ستار عبد الله وضحى ميسر مجيد وصلاح محمد حسن 2013. اكثار نبات الجربرا باستخدام تقنية زراعة الانسجة النباتية (*Gerbera jamesonii Bolus*). مجلة بحوث التقنيات الاحيائية، 1(7):50-58 .

الشمري ، رغد عبد الحمزة 2014. تأثير BA والحديد المخلبي في اكثار الاجاص ماريانا (*Prunus x Prunus cerasifera munsoniana*) خارج الجسم الحي. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة ديالى، العراق.

الصالحي، قيس جميل عبد المجيد 2007. تأثير الوسط الغذائي ومنظمات النمو على تجذير الزيتون (*Olea europaea* L.) صنف كوردال خارج الجسم الحي. مجلة مركز بحوث التقنيات الاحيائية،1(1):5-15.

عبد الحافظ، احمد أبو اليزيد 2011. أهمية استخدام الفيتامينات في تحسين ونمو وانتاجية الحاصلات الزراعية والنباتية، مجلة عين الشمس، (2) :1-4 .

عبد الصمد، احمد رشيد 2008. تأثير عمر الفسيلة ونوع الجزء النباتي وموعد تجهيزه في تكون البراعم الجانبية لنخيل التمر صنف الساير خارج الجسم الحي. مجلة أبحاث النخيل، جامعة البصرة، 2: 1-10.

عبد الغفار، عبد الحميد احمد 2006. البدائل المثلى للتشجير في البيئة المحلية، البحرين نموذجا منظور اقتصادي للاستدامة، مؤتمر العمل البلدي الأول. مركز البحرين للمؤتمرات.

عبدول، كريم صالح 1987. منظمات النمو النباتية. الجزء الأول، مطبعة جامعة الموصل ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جمهورية العراق.

عبيد، أياد عاصي 2009. تأثيرات الوسط الغذائي والمجال المغناطيسي في الإكثار والصفات التشريحية لأصل الخوخ (*Prunus persica* L. Batsch) صنف محلي بيضاوي بالزراعة النسيجية. أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل.

العبيدي، هاشم كاظم محمد 2011. تجذير افرع الزعرور الطبي .*Crataegus japan* L المكثرة بزراعة الانسجة باستخدام حامض الاندول بيوترك IBA. مجلة مركز بحوث التقنيات الاحيائية، 3(5): 5-8.

عجينة، صبا جعفر 2012. تأثير الفعالية المضادة للأكسدة لبعض مستخلصات أوراق نبات الغار *Laurus nobilis* في زيت زهرة الشمس الخام. المجلة الطبية البيطرية العراقية، 36 (2):111-118.

العيداني، طه ياسين وايمان محمد عبد الزهرة الربيعي 2012. دراسة مظهرية وتشريحية لنبات *Conocarpus lancifolius* Engl. (Combretaceae) في العراق. مجلة البصرة للعلوم الزراعية، 25 (1):39-49 .

الغانمي، علي عبد الكاظم جاسم، عزيز ياسر حسن العذاري وعلاء عبد الحسين كريم الدعمي 2011 . الفعالية المضادة للأكسدة لبعض المستخلصات النباتية ذات المحتوى الفينولي. مجلة جامعة كربلاء العلمية ، 9(3) : 131-137.

قاسم ، منال محمود 2012. عزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لنبات الداماس *Conocarpus lanacifolius* Engl واختبار إمراضية بعض أنواعها. مجلة البصرة للعلوم الزراعية، 25(1) : 66-78 .

قصاب باشي، بشار زكي امين 2010. التطعيم الدقيق لنبات الكاردينيا خارج الجسم الحي. مجلة العلوم الزراعية العراقية، 41 (5) : 38-45 .

قصاب باشي، عمار زكي 2007. استجابة أجزاء مختلفة لنبات اللوز *Amygdalus communi* . للنمو والتضاعف خارج الجسم الحي. مجلة جامعة كربلاء العلمية، 5(1):118-128.

القضاة، عبد المطلب محمد علي ، خليل المعري ورضا عبد الله شلبي 2008. التكاثر الخضري الدقيق للأصل رين كلود (P3116) تورنيل. المجلة الأردنية في العلوم الزراعية، 4 (1): 73-86.

القضاة، عبد المطلب محمد علي، خليل المعري ورضا عبد الله شلبي 2009. إكثار صنفي المشمش العجمي والبلدي بواسط الإكثار الخضري الدقيق. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية، 25(1) : 275-294 .

محسن ، خيون علي 2007 . اخلاف نخيل التمر (*Phoenix dactylifera* L.) صنف الشريفي من مختلف الأجزاء القمية خارج الجسم . مجلة البصرة لأبحاث نخلة التمر، 6(1) : 64-80.

محمد ، عبد العظيم كاظم 1985. علم فسلجة النبات، مديرية دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، العراق.

المزوري ، ليلى شعبان محمد 2007. إكثار نبات الشبو الشجيري *Cestrum nocturnum* L. في البيئة الصناعية *In vitro* . رسالة ماجستير، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل، العراق .

المزوري ، ليلى شعبان محمد وعمار زكي قصاب باشي 2010. إكثار نبات الشبو الشجيري *Cestrum nocturnum* L. خارج الجسم الحي (*In vitro*). مجلة زراعة الرافدين، 38(1):1-8.

المعري ، خليل وجيه وعبد الله صالح الغامدي1998. اثر موعد زراعة الأجزاء النباتية على اكثار النخيل صنف الهلالي بالأنسجة النباتية .اصدار الندوة العلمية لبحوث المملكة المغربية – مراكش: 16-18 .

المعماري، ايسر محمد سالم سعيد 2009. استجابة صنفين من القرنفل *Dianthus caryophyllus* للإكثار خارج الجسم الحي. رسالة ماجستير، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل، العراق.

المفرجي ، خليل إبراهيم رشيد 2005. اكثار بعض أصناف العنب *Vitis vinifera* L. بالزراعة النسيجية مع إيجاد بدائل للأكار. مجلة الكلية التقنية المسيب، هيئة التعليم التقني، 5(1):57-69.

الموسوي، ام البشر حميد جابر وسوسن علي حميد الحلفي 2011. استخلاص المركبات الفينولية من بعض الخضراوات وتقدير فعاليتها المضادة للأكسدة. مجلة البصرة للعلوم الزراعية 24 (1):215-226 .

الموسوي، محمد هاشم ياسر(2012). تأثير مستخلص أوراق نبات الكاربس *Conocarpus erectus* L. على الفطرين *Ulocladium botrytis* و *Alternaria solani* المعزولين من جذور نبات خيار القثاء *Cucumis melo* L. . مجلة كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة ذي قار،2 (1):120-129.

المياحي ، احمد ماضي وحيد وعلاء ناصر احمد وعقيل عبود سهيم الخليفة2010. عزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لزراعة انسجة خمسة أصناف من نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. وتأثير المبيد الفطري البنليت "Benlate" في السيطرة عليها، مجلة البصرة. لأبحاث نخلة التمر، 9 (2):1-20.

النجدي، محمد حلمي وكمال يوسف وعبد اللطيف محمد صلاح الدين 2006. اساسيات الكيمياء العضوية الحديثة. مكتبة الدار العربية للكتاب، مصر، القاهرة.

النعيمي، جبار حسن وحسام سعد الدين محمد 2006. بعض العوامل المؤثرة في نشوء الزروعات للسدر L. *Zizyhs mauritiana* خارج الجسم الحي. مجلة العلوم الزراعية العراقية، 37(1): 57-66.

النوح، خولة محمد يحيى محمد 2008. اكثار شجيرات الكاردينيا *Gardenia jasminoides* بالزراعة النسيجية. رسالة ماجستير، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل، العراق.

وصفي، عماد الدين حسين 1995. فسيولوجيا النبات. المكتبة الاكاديمية، القاهرة، جمهورية مصر العربية.

المصادر الأجنبية:

Abdel- Hameed, E.S.; Bazaid, S.A.; Shohayeb, M.M.; El-sayed, M.M.; and El-wakil E.A.2012. Phytochemical Studies and Evaluation of Antioxidant, Anticancer and Antimicrobial Properties of *Conocarpus erectus* L. Growing in Taif, Saudi Arabia . European.J. of Medicinal Plants, 2 (2) : 93-112.

Abou Dahab, T.A.M. 2006. *In vitro* propagation of *Hydrangea macrophylla* Thunb. Arab J. Biotech. 10 (1):161-178.

Abou Rayya, M.S.; Kassim, N.K.; and Ali, E.M.A. 2010. Effect of different cytokinins concentration and carbon sources on shoot proliferation of bitter almond nodal cuttings.J. of American Sci., 6 (9) : 465-469.

Ahloowalia, B.S.; Praksh, J.; Savangikar, V.A. and Savangikar, C. 2003. Low cost options for tissue culture technology indeveloping countries. International Atomic Energy Agency, 1011-4289.

Ahmed, A. 2010. Tissue Culture Studies of *Acorus calamus* Linn and evaluation of Sccondary metabolites Rajiv Gardhi Unversity of Health Sci. Karnatak , Bangalore . P:11- 12 .

Ahmed, F.F. and Morsy, M.H. 2001. Response of 'Anna' apple trees growth in the New Reclamed Land to application of some nutrients and Ascorbic acid. The Fifth Arabian Horti. Conference , lsmaillia , Egypt, March, PP: 27-34.

AI-Bakir, A.Y.; Jarrah, A. Z. and Bader, S. M. 1989. Seasonal changes in auxin content and some oxidative enzymes activity of *in vitro* cultured Date palm tissue. J . Agric. And Water Resources Res. Plant Produ. 8 (1) : 263-274.

Akbas, F.; Isikalan, C.; Namli, S.; and Erol AK, B. 2009. Effect of plant growth regulator on *in vitro* shoot multiplication of *Amygdalus communis* L. CV. Yaltsinki, African J. of Biotechnology. 8 (22): 6168-6174.

Al- Koalk, F.; El-waziry, A.M.; Khalil, A.I.; Metwally, H.; and Al-Mahasneh, M.A. 2014.Evaluation of *conocarpus (Conocarpus erectus)* leaves and Bermuda grass (*Cynodon dactylon* L.) using chemical analysis and in vitro gas production. Bulg. J. Agric. Sci. 20 : 824 – 829.

Aliyu, O. M. and Awopetu, J. A. 2005. *In vitro* Regeneration of Hybrid plantlets of Cashew (*Anacarium occidental* L.) through Embryo Culture. African J. of Bioth. 4(6):548-553.

Allen, J.A. 1998.Mangroves as Alien Species, The Case of Hawaii.Global Ecology and Biogeography Letters.7: 61 – 71.

Al-Surrayai , T.; Yateem, A.; Al- Kandari, R.; Al- Sharrah T.; and Bin – Haji, A.2009.The Use of *Conocarpus erectus* Trees For the Remediation of Oil-Contaminated Soils. Soil and Sediment Contamination: An International Journal. Volume 18 (3) : 354-368.

Amar, Z.; Kassab, B.B.; Layal, S. and AL-mizory, M. 2013. Effect Date of Explant Taking and Plant Growth Regulators on Micro Propagation of *Cestrum nocturnum* L.J. of University of Duhok., 16(1): 1-9.

Amin, M.N.; Ahmad, S.; Sultana, S.; Alam M.R. and Azad M.A.K 2002. *In vitro* Rapid clonal propagation of an ornamental plant *Lxora fulgena* Roxb. On Line J. of Biol Sci, 2 (7) : 485-488.

Amin, T. 2001. *In vitro* Propagation of date plame (*Phoenix dactylifera* L.) by adventitive buds . Proc .2nd Inter , Conf . On Date Palms Al-Ain, U. A.E. March , 568 – 578.

Anridudh, T. and Kanwar, J.S. 2008. Micro propagation of Wild pear *Pyrus pyrifolia* (Burn F.) Nakai. II. Induction of rooting , not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj, 36 (2) : 104-111 .

Arene, L.A.; Pellegrino, C.; and Gudin, S. 1993. A comparison of Somaclonal Variation. Level of *Rosa hybrida* L. CV. Meirutral plants regeneration from callus or direct induction different vegetative and embryonic tissues. Euphytica. 71 : 83-90.

Atta-Alla, H.K.; Moghzy, E.I.; Waly, A.K. and Mohammed, S. 2003. Micro propagation of *Bambax malabricum* and *Callistemon Lanceolatus* Alex. J. Agric. Res. 48 (1) :103-114.

Bagratishvili, D. and Jikia R**.** 2014. Formation of the Phenolic Compounds In the Tissue Culture of *Rhododendron Caucasicum* Palli. Bull. Gerog. Natl. Acad. Sci ., 8(1) : 85-88.

Bashir, M.; Uzair, M.; and chaudhry B.A. 2015.A review of phytochemical and biological studies on *Conocarpus erectus* (Combretaceae) . Pakistan j . of Pharmaceutical Res. , 10: 1-8.

Baumer, M. 1983. Notes on Trees and Shrubs Arid Semi – Arid Emasar Phase II FAOIUNEP Programme Ecological Man agement of Arid and Semi-Arid Rangel and in Frica , Near and Middle East (EMASAR Phase II) p27

Beckman ,CH. 2000. Phenolic-storing cell: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in plants. Physiol Mol. Plant Pathol., 57: 101-110.

Booij, I.; Mon Fort, S. and Macheix, J.J. 1993. Relation Ships. Between peroxidase and budding in Date palm tissue cultured *in vitro*. Plant cell, tissue and Organ Culture. 35 :165-171.

Bran, D. S. and Jain , S. M. 1998. Somaclonal Variation : Mechanism and Application in Crop Improvement . In Somaclion Variation and Induced Mutation in Crop Improvement Kluwer Acadeimic Publisher , Dordrecht . U.K. P : 3-15.

Butler, L.G., 1992 .Antinutritional effects of condensed and hydrolyte sable tannins in Hemingway, R. W and Laks. P.E. (eds) plant polyphon, plenum press, New York City, 693-698.

Cassells, A.C. and Curry, R.F. 2001. Oxidative stress and Physiological, epigenetic and genetic variability in plant tissue culture. Implications For micropropagators and genetic engineers, Plant Cell. Tissue Organ Culture, 64: 145-157.

Chuenboonngarm, N.; Suvimon, C. and Sutatip, B. 2001. Effect of BA and 2ip on shoot proliferation and soma clonal variation of *Gardenia jasminoides* Ellis. *In vitro* culture. Science Asia. 27 : 137-141.

Dabski, M. and Parzymies, M. 2007. The effect of Auxin : IAA , IBA and NAA on rooting *Hebe buchananii* (Hook) and *Hebe canterbariensis* (J. B. Armstr.) “Prostra” *In vitro*. Acta. Sci. Pol. Hortorum Cutlers , 6 (1): 9-14.

Davey, M.R. and Anthony, P. 2010. Plant Cell Culture, Essential Methods. 1nd, Wily-Black well, Oxford, U.K..

Dela pena, M.E. 2006. Identification and evaluation of reuse or iented saritation conceptos in Afirican Urban Ares case Study Massawa, Eritrea, MSc. Thesis. Hamburg Unversity Engineering. Germany. 91 pp.

Devasagayam, T.P.A. and Silins, K.B. 2002. Immune system and antioxidants, especially those derived from Indian medicinal plants. Indian J. Exper . Biol., 40 : 639-655.

Devlin, R.M. and Witham, F.H. 1983. Plant Physiology.4th ed. Wadsworth publishing Company, Belmont Californi, U.S.A.

Duhoky , M. M. S. and Rasheed, KL.A. 2009. Micropropagation of *Gardenia (Gardenia jasminoides*) by using single nodes. Mesoptamia J. Agric., 37(3):1-13.

Davies, J.P. 1995**.** Plant Hormones. Cornell University, New York U.S.A.

Edwin, F. and George, Ph.d. 1996. Plant propagation by tissue culture Kluwer. Academic Publishers. Part 2 :1043-1048.

El – Juhany, L.; Aref, I.M. and Al – Harby A.A. 2008. Effects of water Deficit on the Growth and Physiological Performance of *Conocarpus erectus* and *Eucalyptus* Micro theca Trees Under Field Condition . The 3rd International Conference on water Resources and Environments and the 1st Arab water from see dis cusssions , and author profile , for this publication htt://www.researeh gate . net / publication PP1-18 .

El-Sabrout, M.B**.** 2002. *In vitro* propagation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) CV. Zaghloul by direct organogenesis . J. Agric. Scie.;. 7:1-27.

Fay , M. F. 1994 . Practical Consideration in the Development of Botanical Garden Micro Propagation Laboratory . Royal Boyal Botanical Garden, Kew, Ricmand (UK)

Fay, P.A. and Throop, H.L. 2005.Branching responses in *Silphium integrifolium* (Astercea) following mechanical or gall damage to apical meristems and removal. American J. Botany. 92(6):675-677.

Fotopoulos, S. and Sotiropoulos, T.E. 2005. In vitro propagation of the PP204/84 (*Prunus persica x P. amygdalus*) rootstock : axillary shoot production and rhizogenesis. New Zealand J. Crop and Horticaltural. Sci., 33 : 75-79.

Georg, E. F. and Sherrington, P.D. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. UK. Exegetic Limited. UK.

George, E.F. and Sherrington, P.D**.** 1993. Plant Propagation by Tissue Culture. Third Edition . Springer, Netherland. PP 118- 182 .

George, E.F. 1993. Plant propagation by tissue culture: part I. The technology. Exegetics, Basingstoke.

George, F. E.; Hall, M.A.; and Deklerk G**.** 2008. Plant Propagation by Tissue Gulture 3rd ed . published by Springer , PP :205-226.

Gupta, S.D. and Iarakl Y**.** 2006. Plant Tissue Gulture Engineering .Vol. 6. The Background. Springer. 469 pages .

Hameed, E.S. A.; Bazaid, S.A. and Sabra, A.N.A. 2013. Protective Effect of *Conocapus erectus* Extracts on CCl4 – Induced Chronic Liver Injury in Mice. Global J. Pharmacol . , 7 (1) : 52-60 .

Hammer, K.; Gebaner, J.; Al-Khanjari S. and Buerkert A. 2008.Oman at the cross-rod of inter-regional exchange of cultivated plants. Genet Resour Crop Evol . 55: 1294-1300.

Introduction to Plant Physiology 3rd edition. John Wiley and sons, inc.

Han, K.; Meilan, R.; Ma, C. and Strauss, S.H. 2000 . An Agrobacterium tumefaeiens trans formation protocol effective on a variety *Cottonwood hybrids* (genus *populous*). Plants Cell Reports., 19 : 315-320 .

Haq , N. 2007. *In vitro* Production of bio active Compounds from medical and aromatic plants Agriculture, 38(1) : 112-119.

Hopkins, W.G. and Hiiner, N.P.A. 2009. Introduction to Plant Physiology, Third Edition, Johan Wiley and Sons, Inc.

Harbage, J.F.; Stimart, D.P. and Evert, R.F.(1993). Anatomy of adventitious root formation in micro cuttings of *Malus domestica* Borkh. "Gala" , J. Amer. Soc. Hort. Sci., 118(5): 680-688.

Hartmann, H.T.; Kester, D.E.; Davies, S.T. and Genue R.L. 2002. Plant Propagation Prineiples and Practices.7 th Edition Prentice Hall. New Jersey, PP.367- 374.

Hayat, S. and Ahmed, A. 2007. **"**Salicylic Acid: A plant Hormone" Spr. Dor, The Netherlands.

Hegazy, S. S.; Aref, I. M.; Al – Mefarrej H. and El –Juhany L.I. 2008. Effect of Spacing on the Biomass Production and Allocation in *Conocarpus erectus* L.Trees Grown in Riyadh , Saudi Arabia . Saudi j. of Bio Scie.,15 : (2) 315- 322 .

IPNI, The International plant Names. 2005. I. dex. http://www.ipni.org accessed October decmber .

IUCN, Internatinal Union for Conservation of Nature 2012. IUCN Red List of Threatened Species Virsion <www .incnred Listoery.

Jarrar, A. and Bayerly, R. 2011. Effect of Some Growth Hormones on Multiplication and Rooting *in vitro* Micro Propagated Gardenia Plant (*Gardenia jasminoides*. L.) cv.Ellis. Damascus University J. of Agric. Sci., 27 (1) : 129-142 .

Jasim, A.M. 2002. Budding of date palm (*phoenix dactylifera* L.) CV. Barhi *In vitro*. Basrah Date Palm J. 2(1-2):1-8.

Jogan-Roy, J.; Emilia-Abroham, T.; Abhijith, K.S.; Sayjith Kumar, P.V, and Thakur, M. S. 2005. Biosensor for the determination of phenols , based on cross-linked enzyme crystals (CIEC).of lacose. Bioelectronic., 1: 206-211.

John, F,S.; Garry, K.B. and Morgan, E. 2003. Acclimation tissue culture plants : Reducing the Shock. Combined Proceedings International Plant Propagation Society,. (53) : 86-90 .

Koubouris , G.; Vasilakais, M. 2006. Improvement of *in vitro* propagation of apricot cultivar 'Bebecou' Plant Cell, Tissue and Organ Culture 85: 173-180.

Laurene, L. 2013. A study of Some Factors Affecting the Vegetative Micro propagation of Ornamental Viburnum Bush (*Viburnum tinus* L.) . Tishreen, University, Journal for Research and Scientific Studeis-Biological Sciences Series., 35(8) : 57-70 .

Lee, C.I. and Hackett, E.P. 1979. Root regeneration of transplanted *Pistacia eninensis* bung seeding at different growth stages, J. Amer. Soc. Hort. Sci., 10(3):236-240.

Liu, X.; Pijut, P.M. 2008. Plant regeneration from *in vitro* leaves of mature black cherry (*Prunus serotina*). Plant Cell Tiss Organ Cult., 94:113-123.

Murashige, T. and Skoog, F**.** 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol, Plant, 15:473-497.

Mahoney. D**.** 1994. Trees of Somalia . Chapter 2 . A field guide develop . Worker . Humanity Develop. Library. www. nzdl.org.

Meerow, A. 2003. Acclimation of tissue culture plantlets. Oglesby plant International. www. Ogles. Plant International. Com.

Mentell, S.; Boggett, B.; Bessa, A.M.S.;. Lemos, E.E.P.; Albdehad, A.R. and Meneny, E.E. 1998. Micropropagation and micrografting Methods Suitble For safe International Transfer of *Cashew*. Proceeding of Inernational *Cashew* and Cocnut Con ference. Dares Salaam : 95-107

Morton, J. F. 1981. Atlas of Medicinal Plants of Middle America Bahams to Yucatan. C. C. Thomas Spring Field , IL.

Naghmouch, S.; Larbikhouja, M.; Rejeb, M.N. and Boussaid, M. 2008. Effect of growth rgeulators and explant origin on in vitro propagation of *Ceratonia siliqua* L. via cuttings. Biotechnol. Agron. Soc. Environ . , 12 (3) : 251-258.

Narayanswamy, S. 1977.Regeneration of plant from tissue culture. In Applied and Fundamental Aspects of plant cell, Tissue and Organ Culture . Reinert, J. and Rajaj 4-ps (ds) Springer verlay. Berlin, Heidelberg-New York, 179-206.

Neumann, K. H.; Kumar. A.; and Imani, J. 2009. Plant Cell and Tissue Culture . A tool in Biotechnology , Bsics and Application. Springer-Verlag Berlin Heidelberg .

Newton, D.E. 2007. Food Chemistry Facts on life. Inc. USA. PP 212.

Nezami, S.R.; Yadollahi, A. and H. Hokmabadi 2015. Control of Phenolic exudation and Improvement establishment of *Pistachio* Explant Whit Apical bud in *In Vitro* Condition . International and gth National Biotcchnlogy congress of Islamic Republic of Iran , May 24-26 .

Othmani , A., Bayoudh, C.;Drira, N.;Marrakchi, M. and Tifi, M. 2009. regeneration in date plam *Phoenix dactylifiere* L. , cv . Boufeggous is significantly improved by fine chopping and partial desiccation of embryogenic Callus. Plant Cell. Tissue. Org. Cult., 97: 71-79.

Panhwer, F. 2005. Acclimation and establishment of micropropagation plant. Digital-vaerlag Gmbtt, Germany. www.Chemlin. Com.

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

Pijut, M. P.; and Michler, C.H. 2006. Adventitious shoot regeneration and rooting of *Pruns serotina In vitro* cultures. Hort Scince, 4(1): 193-201 .

Ramawat, K.G**.** 2004. Plant Biotechnology. Printted in india, PP:1-265.

Razdan , M . K., 2003. Introduction to plant tissue culture, 2nd Ed . Science publisher, INC, USA .

Roy, M.; Hossain, M.; Bi Biswas, A.; Biswas, M.K.; and Islasm, R. 2011. Plant Regeneration through Somatic Embryogenesis from Leaf Sheath Derived Callus of Sugarcane (*Saccharum efficinarum* L.) Var-Isd- 16. Plant Tissue Cult.and Bitoech., 21(2) :143-149.

Roy, P.K.; Mamun, A.N.K. and Ahmad, G. 2004.*In vitro* Plantlets regeneration of *Rose*. Plant Tissue Cult., 14 (2) : 149-154.

SAS, 1996. Statistical Analysis System, Release7, SAS. Instiute. Inc. Cary. N.C. USA

Salhi, M.; Bahman, H. and Zoherh, J. 2014. High Ferquency *In vitro* Plantlet regeneration from apical bud as a novel explant of *Carum copticum* L. Asian Pac J. Trop. Biomed, 4(1) : 424-428 .

Satti, A. A. 2008. Availability and Periodical of mono flora forage sourse for honeybees and implications on diversity of mono flora hone Production in Sudan . Environment and National Resources Institute, National Center for Research, Khartoum, Sudan, PP. 1-52.

Shirazi, M.U.; Khan, M.A.; Mukhtiar, A.; Mujtaba, S.M.; Muhammad, A.; Khanzada, B.; Malo, M.A.; Rafique M.; Shah, J.A.; Jafri, K.A. **and** Depar, N. 2006. Growth performance and nutrient contents of some salt tolerant multipurpose tree species growing under saline environment. Pak. J . Bot ., 38 (5) 1381- 1388.

Silva, A.L. D.; Rogalski, M. and Guerra, M.P. 2003.Effects of different cytokinins on *in vitro* multiplication of *Prunus* 'Capdeboscq' rootstocks. Crop Breeding and Applied Biotechnology, 3(2): 149- 165.

Simth, R.H. 2000.Plant Tissue Gulture Techniques and Experiments Academic Press , Inc. San Digo.

Smirnoff, N. and Wheeler, G.L. 2000. Ascorbic acid in plants : Biosynthesis and Function. Biochem. Mol. Biol., 35 (4):291-314.

Sudherson, C.; Nil, M.A. and Hussasin, J. 2001. *In vitro* propagation of *Ziziphus mauritiana* cultivar Umran by shoot tip and multiplication. Current Science, 80 (2) : 290-292.

T.E.R.C, Terrestial Environment Research Center. 2003. Assessment of the water situation in the western region of the Abo Dhabi, Emarat. Abo Dhabi.

Taiz, L. and Zeiger, E. 2010. Plant Physiology. 4th Edition. Sinauer Associes, Inc., Publisher . www. Sinauer. USA.

Venema , J.H. 2009. Land resources of Somalia, Project report No. L12 Report of somalia Water and Land Information Management .

Veroneca, N.; Carmen, G. ; Begona, B.; Yun, H and AL- yson , E 2006. Non – galloy lated and 3galloylated proanthocynaidin okigomers in grap seeds from *Vitis vinifera* L. cv. Gracino, Tempranillo and Cabernet Sauvignon. University of California, Davis, j, Sci, Food Agric, 86:916-921.

Wiesman, Z., Joseph, R. and Epstein, E. 1989. Characterization and rooting ability of Indole -3- butyric acid conjugates Formed during rooting of mung bean cuttings. Plant physiol., 91:1081-1084.

Zaid, A. 1993.Review of Data palm (*Phoenix dactylifiere* L.) Tissue Culture In: 2nd sym-on date palm-March KFU. Saudi Arabia, 67-75.

Zaid , A 2000 . Date Palm Cultivation . Food and Agricultural Organization of the United Nation , Rome . PP 156

Zaid, A. 2002. Date Palm Gultivation . and Food Agircultural Organization of the United Nation, Rome. PP 156.

SUMMARY

This study was conducted in the laboratory of the cell and plant tissue culture in the Department of Biology at the College of Education for pure Sciences, University of Diyala, during The period from 1/9/2015 until 5/6/2016. The aim of this project is the propagation of *Conocarpus erectus*. Plant using the tissue cultures technique by execution several experiments during the propagation stages, as follows:

First: Sterilization stage. During the sterilization effect(Commercial minor) on the rate of survival and contamination of plant parts used in cultures, by using Sodium hypochlorite at the concentration of 10%,20%and50% for 15 minutes, as well as the use of ethyl alcohol solution with was70% for a period of 1and2min+ Sodium hypochlorite with (20% and 50%) for 30 minutes and the use of mercuric chloride with 0.5%and 0.1% for15and30 minutes. The results showed that the use of mercuric chloride were the best for the reduction of contamination as it gave the lowest rate of contamination with 0.5% f or a period 15 minutes.

Second: Secretions of phenolic compound. Several experiments were conducted reduce the impact of phenolic materials, as the study included the use of antioxidants, which included ascorbic acid at concentration of 100 $mg.l^{-1}$ and citric acid with 150 $mg.l^{-1}$ and the Poly vinyl pyrolidon PVP with 3 $g.l^{-1}$ either individually or in combination. The results showed that the treatment of combination was the best in decreasing the phenomenon of browning as it reached zero%, when the plant parts were soaked with a solution of ascorbic acid at concentration of 100 $mg.l^{-1}$ + citric acid with 150 $mg.l^{-1}$for an hour before the sterilization process, and then grown on the nutrient medium supplemented with Poly vinyl pyrolidon PVP at $3mg.l^{-1}$ which gave the best response for the living parts stood at 90%, followed by combination.

Third: Micropropagation.

A: Effect of adding 6-Benzyl adenine BA and Kin 6-Furfurl amino purine to Murashige and Skoog MS in the initiation and multiplication of single node segments.

1- **Establishment stage:** The response of the single nodes segment was tested after culturing them on Murashige and skoog (1962) "MS" medium supplemented with 0.0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 $mg.l^{-1}$ Benzyl adenine (BA) and 0.0,0.1, 0.2, 0.3 $mg.l^{-1}$Kinetin (Kin) each alone. After 4 weeks of culturing, the results showed that the highest percentage of

response rate for living parts was 60% MS medium supplemented with 2.0 mg.l^{-1} of BA.

2- **Multiplication stage:** In order to reach the best methods for explant multipication, after maintaining of culturing explants for 8 weeks., the results showed that BA at 2.0 mg.l^{-1} was significantly higher in terms of the total number of branches which recorded 1.55 shoot/explant in all the treatments in comparison that showed no response, that recorded the highest average of the branch length with 2.50 cm at concentration 1.0 and 1.5 mg.l^{-1} And the surpass treatment 1.0 mg.l^{-1} BA in giving the largest number of leaves with 14.0 leaf/explant, which was not significantly differing from treatment 1.5 mg.l^{-1} .

3- **B: Effect of combination of 6-Benzyl adenine BA with 6-Furfurl amino purine Kin to Murashige and Skoog MS medium on the initiation and multiplication of single node segments.**

   1- **Establishment stage:** The response of the single segment cuttings were tested after culturing them on nutrient medium MS with BA 2.0,3.0,4.0 mg.l^{-1} combined with Kin 0.2,0.3,0.5 mg.l^{-1} . Results showed the best response was by the individual segments amounted 80% when the treatment of combination was between BA concentration 2mg.l^{-1} + 0.3mg.l^{-1} Kin after 4 weeks of culturing.

   2- **Multiplication stage:** The highest number of branches obtained from the culturing amounted 4.00 shoot/explant, the largest number of leaves amounted 17.50 leaf/explant, when concentration 4mg.l^{-1} BA + 0.3mg.l^{-1}Kin was used while the highest average length amounted 2.00 cm was recorded on MS medium supplemented with 3mg.l^{-1} BA + 0.5mg.l^{-1} Kin.

   3- **Rooting stage:** During this stage, rooting of resulting shoots from the multiplication stage was tested, on MS medium with full salt strength or MS medium with half strength supplemented with 0.0, 0.5, 1.0, 1.5 mg.l^{-1} 3-Indol Butyric Acid IBA. The results showed that MS medium with full strength was the best in terms of the average root length and the average of shoot highest which was 3.58 cm and 2.31cm repectiety. However, using IBA at 0.5 mg.l^{-1} resulted in the highest rate of rooting which amounted 75%, with average root number 2.62 root/shoot with average length for the longest root length 4.28cm respective. The result demonstrated that the combination resulted in the highest percentage of rooting 75% from MS medium with full strength supplemented with 0.5, 1.0, 1.5 mg.l^{-1} IBA, the highest value for the mean root number was 2.75 root recorded from the

combination of MS medium with half strength with1.5 mg.l^{-1} IBA. The highest mean for root length was 5.01cm resulted from the combination of MS medium with full strength at 1.5 mg.l^{-1} IBA and the highest mean value for the shoot growth height was 2.50 cm at 0.5 mg.l^{-1} IBA in MS medium with full salt strength.

4- **Acclimatization stage:** The process of acclimatization of rooted shoots by maintaing them alive and at growing at the rate is 90% at culturing on growth medium consists of the ptmus.

Republic of Iraq

Ministry of Higher Education

and Scientific Research

University of Diyala

College of Education for Pure Science

Department of Biology



Micropropagtion Plant *Conocarpus erectus* in the Culture Medium and The Role of Some Compounds in the Oxidation of Phenolinc Materials.

A thesis submitted to

The Concil of College of Education for pure Science/Diyala university as a Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

M.Sc.in Biology

By

Nebras Mahdi Saleh Al-Bayati

Supervised by

Assistant Professor

Dr. Muthana Muhamad Ibrahem

A.D 2017 **A.H 1438**