مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (29) العدد (4) 2007
Tishreen University Journal for Studies and Scientific Research - Biological Sciences Series Vol. (29) No. (4) 2007

التكاثر الإعاشي في الزجاج لبادرات هجينة فتية عند نبات عباد الشمس

الدكتور دانيال العوض*

(تاريخ الإيداع 12 / 9 / 2007. قبل للنشر في 2007/10/31)

□ الملخّص □

تم تطبيق تقنية الإكثار الإعاشي في الزجاج على بادرات فتية هجينة من عباد الشمس. أعطت القطع المزروعة لمختلف الأعضاء براعماً إعاشية بوجود الـ BAP في الوسط الأساس وكانت أفضل النتائج على الوسط MS_1 المضاف إليه BAP (1 مغ/ليتر) وذلك للبراعم القمية والعقد الفلقية، وأعطت ثفنات بوجود الـ2, 4-D لوحده أو بالاشتراك مع BAP، وكانت أفضل النتائج بوجود 2, 4–D(2 مغ/ل) بالنسبة للبراعم القمية والعقد الفلقية، وبوجود 2, 4–D(5 مغ/ل) + BAP (0.1 مغ/ل) بالنسبة للعقد الساقية والمحور تحت الفلقات.

زرعت البراعم التي تم الحصول عليها على وسط زرعي من دون هرمونات نباتية بهدف الحصول على بادرات طويلة. بعد ذلك، نقلت إلى أوساط أخرى تحوي على تراكيز مختلفة من الـANA والـAIA بهدف تجذيرها وكانت أفضل نتيجة على الوسط المضاف إليه ANA بتركيز(1 مغ/ل).

تم الحصول، باستخدام هذه التقنية، على عدد كبير من النباتات انطلاقاً من عدد محدود من البادرات الهجينة الفتية.

كلمات مفتاحية: عباد الشمس، زراعة براعم قمية وقطع من الساق والأوراق والفلقات، تشكل ثفنات، تكاثر إعاشي في الزجاج.

الاختصارات: MS: موراشيج وسكوك.

2, 4-D: 2، 4 ثاني كلوروفينوكسي حمض الخل.

BAP: 6 – بنزيل أمينوبيورين.

ANA: نافتيل حمض الخل.

AIA: إندول حمض الخل.

GA: حمض الجبريلين.

IBA: إندول حمض البتريك.

* أستاذ مساعد في قسم علم الحياة النباتية – كلية العلوم – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.

مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (29) العدد (4) 2007
Tishreen University Journal for Studies and Scientific Research - Biological Sciences Series Vol. (29) No. (4) 2007

La multiplication Végétative *in vitro* des Pousses Hybrides Juvéniles chez le Tournesol

Dr. AL AWAD Daniel*

(Déposé le 12 / 9 / 2007. Accepté 31/10/2007)

□ Résumé □

Une technique de multiplication Végétative *in vitro* a été appliquée à des pousses hybrides juvéniles de tournesol.

Les fragments des divers organes mis en culture ont produit des bourgeons en présence de BAP dans le milieu de base, et les meilleurs résultats ont été constatés sur le milieu de MS_1 additionné de BAP (1mg/ l) pour les bourgeons apicaux et les noeuds cotylédonnaires, et ont donné des cals en présence de 2,4–D seul ou associé à BAP, et les meilleurs résultats ont été en présence de 2,4–D (2 mg/l) pour les bourgeons apicaux et les noeuds cotylédonnaires, et en présence de 2,4 – D (5 mg/l) + BAP (0.1 mg/l) pour les noeuds de tiges et les hypocotyles.

Les bourgeons obtenus sont repiqués sur un milieu dépourvu de phytohormones de façon à obtenir des plantules longues.

Ensuite, enracinées *in vitro* sous l'effet de différentes concentrations de l'ANA et de l'AIA, le meilleur résultat a été constaté sur le milieu additionné de l'ANA (1mg/l).

En utilsant cette technique, de très nombreuses plantes ont été obtenues à partir d'un nombre limité de plantules hybrides juvéniles.

Mots clés: Tournesol, culture de bourgeons apicaux et de fragments de tige et de feuille et de cotylédon, formation des cals, multiplication Végétative *in vitro*.

Abréviations:

MS: Murashige et skoog.
2,4-D: acide 2,4 dichloro phénoxyacétique.
BAP: 6-Benzyl amino purine.
ANA: acide naphthalène acétique
AIA: acide indol – 3 acétique
GA: acide gibbérellique.
IBA: acide indol butrique.

* **Maître de conférences, Département de Biologie Végétale, Faculté des Sciences, Université de Tichrine, Lattaquié – Syrie.**

مقدمة:

تشكل تقانات زراعة الأنسجة النباتية جزءاً من علم التقانات الحيوية، وتسمح طريقة التكاثر الإعاشي (الخضري) في الزجاج (في المختبر) بالحصول على نباتات مطابقة للنبات الأم (دون المرور بمرحلة الثفنات عموماً)، مع الاحتفاظ بصفاته النوعية.

استخدم المزارعون والعاملون في مجال البستنة والمشاتل، منذ وقت طويل، التكاثر الإعاشي الطبيعي أوالاصطناعي في إكثار بعض النباتات ذات الصفات المهمة ولكن كان يُظهر هذا النمط من التكاثر بعض الحالات غير الملائمة حيث تكون نسبة التكاثر غير كافية، وتموت السلالات المصابة بالأمراض الفطرية والفيروسية.

سمح استخدام تقانة الزراعة في الزجاج بإزالة بعض هذه الحالات غير المناسبة مع الحفاظ على الفوائد المرتبطة بالتكاثر الإعاشي، وقدمت هذه التقانة فوائدَ زراعية في مجال إنتاج النباتات والبذور، والحفاظ على النمط الوراثي. طُبقت هذه التقانة على النباتات الطبية سواء لإكثارها [1] أولاستخلاص المواد الفعالة [2]. واستخدمت أيضاً لزراعة المرستيم [3،4]، والبراعم القمية [5،6] أوالبراعم الإبطية[7،8،9]، ولزراعة أجزاء مختلفة من النبات كالأوراق [10،11،12،13] والساق[2،14] أوالعقد الساقية[15،16]، والفلقات [17،18،19،20،21]، أو العقد الفلقية [22،23] والمحور تحت الفلقات [24،25،26،27].

يعدّ عباد الشمس Helianthus annuus الذي ينتمي إلى الفصيلة المركبة Asteraceae واحداً من المحاصيل السنوية الرئيسة الذي يتمتع بأهمية اقتصادية كونه يستخدم كنبات زينة، ولإنتاج زيت الطعام، بالإضافة إلى ذلك يستخدم زيته في مجال الصيدلة وذلك من أجل تحضير المراهم، وفي مجال الطب ضد الأوجاع الروماتيزمية [28].

طُبقت تقانة الزراعة في الزجاج على أجزاء مختلفة من نبات عباد الشمس وذلك من قبل عدة باحثين بهدف الحصول على ثفنات وعلى بادرات [29،30،31،32].

إن النظر إلى الأهميتين الاقتصادية والطبية بالإضافة إلى قلة الأبحاث المتعلقة بالزراعة في الزجاج عند عباد الشمس يعطي أهمية كبيرة لهذه الدراسة.

أهداف البحث:

يهدف هذا البحث إلى دراسة ومعرفة:

1 – تأثير بعض الهرمونات النباتية في إكثار أجزاء من أعضاء مختلفة لبادرات هجينة من عباد الشمس للحصول على أكبر عدد من البراعم الإعاشية.

2 – تأثير تراكيز مختلفة من بعض الأوكسينات (ANA, AIA) في تجذير البادرات المتشكلة انطلاقاً من الأجزاء المزروعة في الزجاج.

3 – الأجزاء النباتية المناسبة لإنتاج الثفنات أوالبراعم النباتية.

طريقة البحث ومواده:

1 – الوسط الزرعي: تم استخدام الوسط الزرعي (MS) [33] مضافاً إليه (1مغ/ل) من كل من حمض النيكوتين والبيريدوكسين والثيامين و(0.01 مغ/ل) من البيوتين و(100 مغ/ل) من الميواينوزيتول و(200 مغ/ل) من حمض الغلوتامين. أضيف أيضاً إلى هذا الوسط تراكيز مختلفة من الهرمونات النباتية مثل (BAP, 2,4-D) وذلك في حالة الحصول على ثفنات وعلى براعم إعاشية وفي حالة تجديد إكثار البراعم كما هو مبين في الجدولين (1و2)، ومثل (AIA, ANA) في حالة التجذير.وأضيف السكروز بمعدل (30غ/ل). ضُبطت درجة الحموضة قبل إضافة الآغار على 5.7 ثم أضيف الآغار آغار بمعدل (8غ/ل).

وزعت الأوساط الزرعية بعد غليها، حسب الهدف، إما في أطباق بتري قطر (10سم) وإمّا في أنابيب اختبار(15×2 سم) وإمّا في زجاجات إرلينماير صغيرة سعة 150مل. عُقمت الأوساط المغذية وأدوات الاستخدام والماء المقطر في درجة حرارة 110مْ لمدة 20 دقيقة.

2– المادة النباتية: تم استخدام بادرات هجينة فتية (عمرها 10 أيام) ناتجة عن زراعة بذور هجينة نتجت من تصالب (645 MS fallax × H.Petiolaris petiolaris)، وبادرات هجينة ناتجة عن زراعة بذور عباد الشمس رقم (C-207) وذلك بعد تعقيمها داخل غرفة العزل. تم الحصول على هذه البذور من هيئة البحوث الزراعية في دوما (دمشق).

– **تعقيم البذور:** وضعت البذور في الكحول الإتيلي تركيز °70 لمدة (2–3) دقيقة ثم غسلت بالماء ووضعت في رشاحة هيبوكلوريت الكالسيوم بتركيز (8غ/ل) لمدة 15 دقيقة ثم غسلت ثلاث مرات بالماء المقطر المعقم وتركت في الماء المقطر قبل الزراعة. زرعت البذور في أنابيب اختبار على الوسط الزرعي (MS) الصلب الذي لايحوي على الهرمونات النباتية ووضعت الأنابيب في غرفة نمو حرارتها (25م° ±1م°) بفترة إضاءة (16) ساعة يومياًَ و بشدة ضوئية (1500) لوكس.

استخدمت في الزراعة انطلاقاً من هذه البادرات: البراعم القمية، قطع من الأوراق الفتية ومن الفلقات مساحتها (0.5–1)سم^2، قطع من الساق والعقد الفلقية والمحور تحت الفلقات طولها (0.5–1سم). زُرعت هذه القطع، باستثناء البراعم القمية، في أطباق بتري قطر(10سم) بينما تمت زراعة البراعم القمية إما في أنابيب زجاجية (15×2 سم) وإمّا في زجاجات أرلينماير سعة (150مل).

حُضنت المزارع في حاضنة لزراعة النسج لمدة (4–5) أسابيع وفي درجة حرارة(25مْ±1مْ) وفي فترة إضاءة 16 ساعة بشدة ضوئية 1500 لوكس متناوبة مع 8 ساعات ظلام.

نُقلت البراعم الإعاشية إلى أنابيب تحوي على الوسط الأساس (MS) من دون هرمونات نباتية وذلك بهدف استطالة هذه البراعم وتطورها ومن ثم نقلت إلى أنابيب تحوي على الوسط (MS) المضاف إليه ANA أو AIA بتراكيز مختلفة بهدف تجذيرها.

بعد الحصول على البادرات، تم نزعها من الأنابيب ومن ثم غسلت الجذور للتخلص من الآغار الصلب، وزرعت هذه البادرات في أصص تحوي على تراب عضوي ثم وضعت في مكان صغير طوله 2م و عرضه 1م وتمت تغطيتها بغطاء بلاستيكي رقيق لمدة أسبوع لكي نؤمن لها الرطوبة الكافية وذلك قبل نقلها إلى الجو الخارجي.

ونشير إلى أنه تم إجراء هذه الطرائق في مختبرات كلية العلوم.

النتائج والمناقشة:

النتائج:

تشكل البراعم الإعاشية والثفنات:

لاحظنا في الشروط التجريبية التي طبقناها خلال هذه الدراسة أن أفضل النتائج لتشكل البراعم كانت انطلاقاً من البراعم القمية، العقد الفلقية والعقد الساقية المزروعة على الأوساط الزرعية MS_1, MS_2, MS_3 (الجدول: 1)، (الشكل:1، الصورة:A).

بالمقابل لم نلاحظ إلا تشكل الثفنات انطلاقاً من بعض القطع المأخوذة من مختلف الأعضاء والمزروعة على الأوساط MS_4, MS_5, MS_6, MS_7 (الجدول: 2).

انطلاقاً من البراعم التي حصلنا عليها، قمنا بتجديد زراعتها على الوسط MS_1 لكي نحصل على عدد كبير من البراعم وبهدف دراسة تأثير بعض الاوكسينات على تجذيرها.

يبين الجدول (1) أن الأوساط التي تحوي السيتوكينين BAP فقط بتراكيز مختلفة أظهرت فعالية جيدة في الإكثار وكان التركيز (1 مغ/ل) هو الأمثل بالمقارنة مع التركيزين الآخرين (3 مغ/ل، 5 مغ/ل). ويبين أن مصدر القطعة المزروعة له دور فعال في تشكل البراعم حيث كانت أفضل نسبة مئوية للإكثار 87٪ للبراعم القمية، 80 % للعقد الفلقية، 50 % للقطع الساقية على الوسط MS_1.

وانخفضت النسبة بالترتيب إلى 67%، 53%، 40%،على الوسط MS_2 عندما ارتفع تركيز BAP إلى (3 مغ/ل) وانخفضت النسبة أيضاً إلى 60%، 40%، 17% على الوسط MS_3 عندما كان التركيز BAP (5 مغ/ل)، بينما ارتفعت النسبة قليلاً من 17% إلى 23% على الوسط الأخير للمحور تحت الفلقات.

أما في الجدول (2) فنلاحظ أن جميع الأوساط حرضت على تشكل الثفنات (الشكل: 1، الصورة:B) وأن زيادة تركيز 2,4-D من(2 مغ/ل) MS_4 إلى (5 مغ/ل) MS_5 لم تؤد إلى تحسين النسبة المئوية للثفنات المتشكلة باستثناء العقد الساقية والعقد الفلقية. في المقابل، إن إضافة الـBAP بتركيز (0.1 مغ/ل) إلى كل من MS_4 (الوسطMS_6) وMS_5(الوسطMS_7) لم تؤد أيضاً إلى تحسين النسبة المئوية لتشكل الثفنات باستثناء العقد الساقية والمحور تحت الفلقات.

بعد الحصول على هذه النتائج حيث لاحظنا أن الوسط الزرعي (MS_1) كان الأفضل من حيث الإكثار والحصول على البراعم الإعاشية، قمنا بزراعة براعم قمية، عقد ساقية، وعقد فلقية، على الوسط الأمثل (MS_1)، مأخوذة من البادرات الهجينة الناتجة عن زراعة البذور الهجينة رقم (C-207) فلاحظنا تشكل براعم جديدة انطلاقاً من هذه الأجزاء المزروعة، وكانت النسبة المئوية لتشكل البراعم قريبة من تلك التي حصلنا عليها في الجدول (1). قمنا بزراعة هذه البراعم بهدف التجديد والحصول على أعداد كبيرة وذلك لاستخدامها في دراسات فيزيولوجية لاحقة.

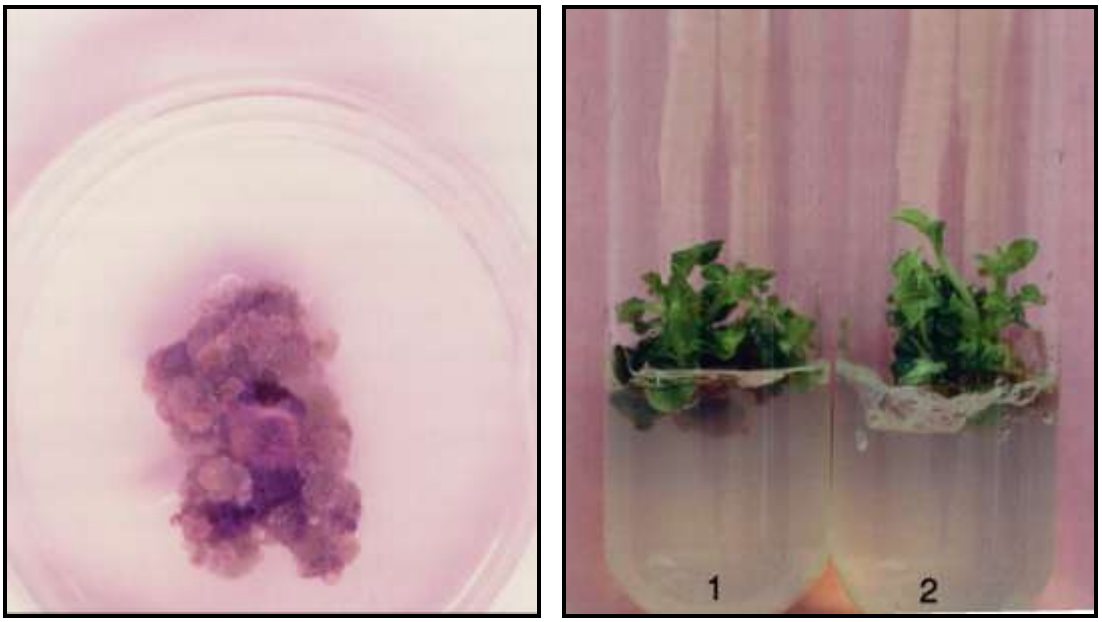
بالإضافة إلى ذلك قمنا بزراعة قطع ورقية وقطع ساقية على وسط زرعي يحوي على الأوكسين ANA أو AIA (1مغ/ل) فلاحظنا تشكل جذور على هذه القطع (الشكل: 1، الصورتان: C و D). وهذه نتيجة أولية في حال تمت زراعة هذه الجذور بهدف الحصول على براعم أو ثفنات من أجل مقارنتها مع بقية الأجزاء المزروعة.

الجدول (1) تأثير السيتوكينين (BAP) على تشكل البراعم الإعاشية انطلاقاً من أجزاء مختلفة مأخوذة من بادرات الهجين (645 MS fallax X H.Petiolaris petiolaris)

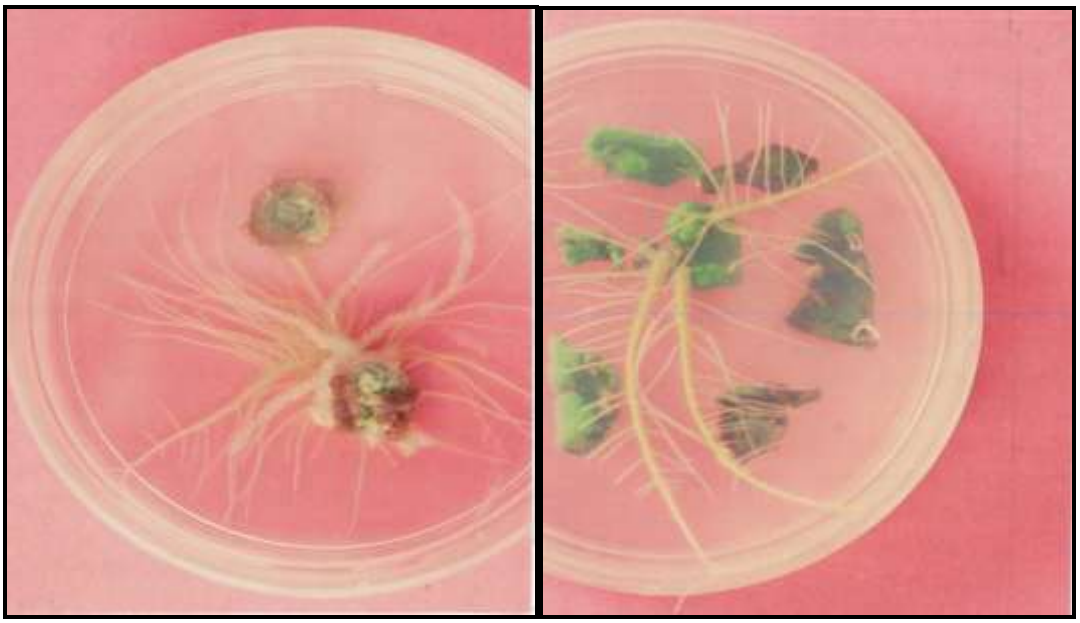
الأوساط الزرعية						
MS_3 (5 مغ/ل) BAP+MS		MS_2 (3 مغ/ل) BAP + MS		MS_1 (1 مغ/ل) BAP + MS		
%للبراعم	عدد القطع المزروعة	%للبراعم	عدد القطع المزروعة	%للبراعم	عدد القطع المزروعة	طبيعة الأجزاء المزروعة
60	15	67	15	87	15	براعم قمية
13	40	18	40	30	40	أوراق
17	30	40	30	50	30	عقد ساقية
8	40	10	40	15	40	فلقات
40	15	53	15	80	15	عقد فلقية
23	30	23	30	17	30	محورتحت الفلقات

الجدول: (2) تأثيرالأوكسين (2, 4-D) والسيتوكينين (BAP) على تشكل الثفنات انطلاقاً من أجزاء مختلفة مأخوذة من بادرات الهجين (645 MS fallax X H.Petiolaris petiolaris)

الأوساط الزرعية								
MS_7 2,4-D+MS (5مغ/ل)+ BAP(0.1 مغ/ل)		MS_6 2,4-D+MS (2مغ/ل)+ BAP(0.1 مغ/ل)		MS_5 2,4-D +MS (5مغ/ل)		MS_4 2,4-D+MS (2 مغ/ل)		
%للثفنات	عدد القطع المزروعة	%للثفنات	عدد القطع المزروعة	%للثفنات	عدد القطع المزروعة	%للثفنات	عدد القطع المزروعة	طبيعة الأجزاء المزروعة
53	15	40	15	80	15	87	15	براعم قمية
35	40	40	40	45	40	50	40	أوراق
90	35	86	35	71	35	37	35	عقد ساقية
40	35	29	35	40	35	49	35	فلقات
53	15	40	15	73	15	67	15	عقد فلقية
90	30	95	30	70	30	80	30	محور تحت الفلقات



B **A**



D **C**

الشكل(1): A- 1 – تشكل البراعم الإعاشية انطلاقاً من العقد الفلقية على الوسط MS_1.

2 – تشكل البراعم الإعاشية انطلاقاً من البرعم القمي على الوسط MS_1.

B- تشكل الثفنات انطلاقاً من العقد الساقية على الوسط MS_7.

C- تشكل الجذور على قطع ورقية مزروعة على الوسط الأساسي + ANA (0.1 مغ/ل).

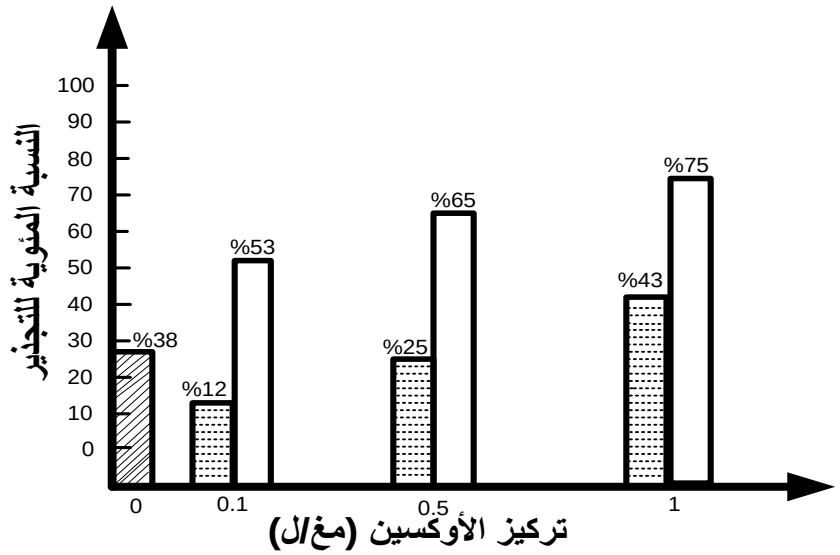
D- تشكل الجذور على عقد ساقية مزروعة على الوسط الأساسي + AIA (0.1 مغ/ل).

تجذير البادرات:

تمت دراسة تأثير بعض الأوكسينات في تجذير البادرات التي حصلنا عليها وذلك بزراعتها في الزجاج على الوسط الأساس MS الذي يحوي إما على ANA بتركيز (0.1، 0.5، 1مغ/ل) وإما على AIA بتراكيز مماثلة (0.1، 0.5، 1مغ/ل). لاحظنا أن الوسط الغني بالـANA بتركيز 1مغ/ل أعطى أفضل نتيجة للتجذير (75 %) كما يوضح الشكل (2) والصورة (A) في الشكل (3). وتبين أن بإضافة الـ ANA بتركيز 0.5 كانت النسبة (65 %) وهي أفضل من تلك (53%) الناتجة من التركيز (0.1 مغ/ل). بالمقابل كان AIA أقل فعالية على تحريض تشكل الجذور حيث كانت النسب المئوية أقل من تلك التي حصلنا عليها بوجود ANA أي كانت (43 %،25 %،12 %) وبالترتيب بالنسبة للتراكيز (1، 0.5، 0.1 مغ/ل). وكانت النسب المئوية للتركيزين الأخيرين أقل من النسبة المئوية للتجذير (38 %) التي لاحظناها على الوسط الأساس الخالي من الأوكسينات الشكل(2).

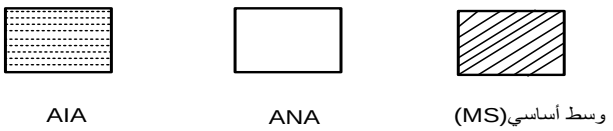
لقد شاهدنا خلال تجربة التجذير تشكل نورات عند عدة بادرات بعد 5 أسابيع من زراعتها على وسط التجذير (الشكل: 3، الصورة: B). يمكن الاستفادة من هذه البادرات خلال هذه المدة القصيرة، إضافة إلى استخدامها كزينة، بالحصول على بذور بعد إجراء عملية الإلقاح.

بعد ذلك سُحبت البادرات المتجذرة من الأنبوب، ونقلت وزرعت في الوسط الخارجي (الشكل: 3،الصورة C)



الشكل (2): النسب المئوية لتجذير البادرات على الوسط الأساسي (MS) والأوساط الرئيسة المضاف إليها تراكيز مختلفة من ANA و AIA

تمت زراعة 60 بادرة من الهجين 645 MS tfllax X H.Petiolaris petiolaris لكل تركيز من الأوكسين المستخدم وللشاهد أيضاً.



B **A**

C

الشكل (3): A – نمو البراعم الإعاشية وتشكل جذورها على الوسط MS المضاف إليه ANA (1مغ/ل).

B – تشكل نورة عند بعض البادرات خلال مرحلة تجذيرها.

C– نبات كامل بعد نزعه من الأنبوب وزراعته في الوسط الخارجي.

المناقشة:

تبين هذه الدراسة إمكانية إنتاج نباتات حية انطلاقاً من أجزاء لأعضاء نباتية مختلفة وذلك بفضل تأثير السيتوكينين BAP. حصلنا على براعم إعاشية على الأوساط MS_3, MS_2, MS_1 وكانت أفضل النسب المئوية على الوسط الزرعي الذي يحوي على BAP (1 مغ/ل) وذلك انطلاقاً من البراعم القمية والعقد الفلقية والقطع الساقية حيث إنه تم تحريض المناطق المرستيمية الواقعة في مستوى هذه الأجزاء على تشكل هذه البراعم. لم نلاحظ هذه النتيجة على القطع المزروعة على بقية الأوساط.

كانت هذه النتائج تتوافق مع أوتؤكد أوتختلف عن نتائج باحثين آخرين استخدموا تقنية الزراعة في الزجاج بهدف الحصول على براعم إعاشية انطلاقاً من أجزاء مختلفة لأعضاء مأخوذة من نباتات مختلفة. حصل [29] على نباتات انطلاقاً من زراعة القمم الساقية والعقد الساقية، المأخوذة من بادرات لصنفين مختلفين من جنس عباد الشمس، على الوسط الزرعي MS المضاف إليه (0.5 مغ/ل) BAP و(0.5 مغ/ل) من ANA، وكانت نتائجنا تتوافق مع نتائج [34] من حيث إنتاج البراعم الإعاشية انطلاقاً من زراعة القمم الإعاشية وقطع المحور تحت الفلقتين للصنف Sannace من جنس عباد الشمس. ووجد [35] أن الوسط الذي يحوي BAP (1 مغ/ل +AIA 1مغ/ل) كان أكثر تأثيراً في نشاط المنطقة المرستيمية الواقعة في منطقة العقد الساقية لنبات الجاردينيا Gardenia jasminoides. وتم الحصول على براعم إعاشية بعد زراعة القمم الإعاشية لنبات الفاصولياء Phaseolus vulgaris L. وذلك بوجود BAP مع (2,4-D) بتراكيز مختلفة [36]، وكذلك أعطى الـ BAP بتركيز (0.3 أو 0.5 مغ/ل) مع الأوكسين AIA بتركيز (1 مغ/ل) أفضل النتائج من حيث إكثار العقد الساقية لنبات Teucrium fruticans [16]. استخدم [8] زراعة العقد الساقية التي تحوي على البراعم الإبطية بهدف الإكثار السريع وكانت أفضل النتائج على الوسط الزرعي المضاف إليه BAP (1، 2 مغ/ل) أوKin(1مغ/ل) وذلك عند نبات النعنع Mentha spp.

حصل [22] على براعم إعاشية عن طريق زراعة العقد الفلقية لنبات البندق. Corylus avellana L وكانت أفضل النتائج على الوسط الذي يحوي على الـ BAP بتركيز (25 ميكرومول/ل) وكذلك قام [37] بزراعة نماذج مختلفة من قطع نسيجية تم أخذها من بادرات لنبات الفاصولياء .Phaseolus vulgaris L فحصل على عدد كبير من البراعم انطلاقاً من العقد الفلقية وذلك على الوسط الزرعي الذي يحوي على BAP (15 ميكرو مول/ل).

وتم التحريض على تشكل البراعم الإعاشية انطلاقاً من زراعة القطع الساقية لنبات. Weigela Thunb والمزروعة على محلول MS المضاف إليه BAP (1 مغ/ل) وIBA (0.1 مغ/ل) [38]، وبين [39] أن الوسط الزرعي الذي يحوي على تراكيز تتراوح بين(0.05 – 4 مغ/ل) من AIA بالاشتراك مع BAP بتراكيز تتراوح بين (10–50 مغ/ل) أعطى أفضل النتائج لتشكل البراعم وذلك انطلاقاً من قطع العقد الفلقية والبراعم القمية لنبات الفليفلة .Capsicum annuum L.

ولاحظ [40] عند زراعة قطع فلقية لنبات.Cucumis sativus L أن أفضل نتيجة من حيث الحصول على البراعم كانت على الوسط MS الذي يحوي BAP(2 مغ/ل) وANA (0.3 مغ/ل). وحصل [41] على أفضل نتيجة لتشكل وتطور البراعم الإعاشية عند زراعة مرستيم البرعم القمي لعباد الشمس صنف Zebulon على الوسط الزرعي MS الذي يحوي BAP (0.1 مع/ل).

وتم تشكل براعم إعاشية على بعض الأوراق عندما قام [30] بزراعة أنصاف القمم الإعاشية لعباد الشمس وذلك على الوسط الزرعي الذي يحوي على الكينيتين (1 مغ/ل).

لاحظ [1] أن أعلى معدل تكاثر لقطع السويقات الجنينية السفلية لنبات البردقوش Origanum syriacum كان بوجود IBA: BAP بتراكيز 2: 0.5 مغ/ل على الترتيب.

وتم الحصول على نباتات انطلاقاً من زراعة الفلقات مع جزء من المحور الجنيني لأصناف مختلفة من فول الصويا Glycine maxعلى الوسط الزرعي MS بوجود 2,4 – D (40 مغ/ل) [42].

لقد حصلنا على ثفنات دون أن نلاحظ ظهور أي أجنة جسمية عليها وذلك على الأوساط ذات الأرقام MS_5, MS_4 ، MS_6, MS_7. هذه النتيجة تتوافق أوتختلف مع بحوث أخرى. حصل [34] على ثفنات فقط عندما زرع قطع مختلفة (براعم فتية، فلقات، محور تحت فلقات، أوراق) مأخوذة من نبات عباد الشمس صنف Sannace ومزروعة على أوساط تحوي على 2,4 –D فقط وبتراكيز مختلفة. وتم الحصول أيضاً على ثفنات اعتباراً من قطع ساقية مأخوذة من نبات الفول Vicia faba. L ومزروعة على أوساط مختلفة تحوي إما على ANA وكينيتين أو AIA وكينيتين [3]، واعتباراً من قطع ورقية لنبات البندورة Lycopersicon esculentum Mill. cv.Starfire والمزروعة على وسط MS الذي يحوي على BAP (10 ميكرومول/ل) + ANA (10 ميكرومول/ل). بالمقابل عندما استبدل الـ ANA بـ AIA وبالتركيز نفسه كان الوسط الزرعي أكثر تأثيراً في تحريض تشكل البراعم الإعاشية [43]. حصل [44] على ثفنات بزراعة العقد والقطع الساقية لنبات Dalbergia latifolia Roxb. وذلك على الوسط الزرعي MS بوجود 2,4–D أو ANA بتراكيز تتراوح (1 – 5 مغ/ل) وحصل على براعم إعاشية انطلاقاً من زراعة قطع ثفنية وكانت أفضل نتيجة على الوسط MS المضاف إليه (3 مغ/ل) من BAP و(0.1 – 1 مغ/ل) من ANA. وبهدف مقارنة تأثير الأوكسينات في الثفنات المتشكلة على الوسط MS المدعم بـ(2 مغ/ل) من ANA + (0.5 مغ/ل) من BAP،بين [1] أن إضافة 2,4-D بتركيز (0.1 مغ/ل) وبوجود (0.5 مغ/ل) من BAP أعطى أعلى وزن رطب للثفنات (9.36 غ/زجاجة)بينما في التركيز (1 مغ/ل) فإن AIA هو الأقوى وأعطى أعلى وزن (12.14غ/زجاجة) أما في التركيز (5 مغ/ل) فإن أعلى وزن للثفنات (12.82 غ/زجاجة) كان بوجود IBA.

وتشكلت ثفنات عند زراعة قطع من ساق نبات Helichrysum arenarium (L.) Moench على الوسط الزرعي MS الذي يحوي 2,4-D (1 مغ/ل)، وتم تشكل براعم إعاشية عندما نقلت هذه الثفنات وزرعت على الوسط الزرعي MS بعد تمديده إلى النصف وإضافة ANA (1 مغ/ل) [45].

تم الحصول على ثفنات انطلاقاً من زراعة قطع من محور تحت الفلقتين ومن ثم تشكلت براعم إعاشية على هذه الثفنات عندما زرعت على وسط MS المضاف إليه BAP بتركيز (0.4 مغ/ل) وANA بتركيز (0.4 مغ/ل) وذلك عند نبات فول الصويا .Glycin max (L.) MERR [46].

لقد لاحظنا تشكل جذور على القطع الورقية والقطع الساقية المزروعة على الوسط الزرعي الذي يحوي على ANAأو AIA (1 مغ/ل). لاحظ [3] تشكل الجذور أيضاً على قطع ساقية مأخوذة من نبات الفول ومزروعة على أوساط زرعية تحوي خليطاً من ANA وBAP. وتم تحريض تشكلها على القطع المأخوذة من المحور تحت الفلقات لنبات Glycine max والمزروعة على الوسط الذي يحوي خليطاً من ANA وIBA [47]. وتشكلت جذور على القطع الورقية لنبات. Lonicera nitida wils والمزروعة على الوسط MS وكانت أفضل نتيجة بوجود الـzeatin (أحد هرمونات مشتقات بيورين الأدينين) مع IBA أو ANA بينما كانت النسبة أقل بوجود BAP وANA [13]. وظهرت جذور على قطع ورقية فتية مزروعة على وسط يحوي (2 مغ/ل) من 2,4-D وذلك عند نبات الرز Oryza sativa[48]. وعندما درس [49] تأثير تراكيز مختلفة من ANA على تشكل الجذور انطلاقاً من القطع النسيجية

المأخوذة من ريزوم نوع آخر لنبات عباد الشمس Helianthus tuberosus لاحظ أن التركيز (10^{-6}) أعطى أفضل نتيجة.

لقد لاحظنا بدراستنا على تجذير البادرات أن الـANA أعطى أفضل نتيجة للتجذير عندما تمت إضافة تركيز (1مغ/ل) وكان الـAIA أقل فعالية على تحريض الجذور. تلعب الأوكسينات دوراً مهماً في التحريض على تشكل الجذور وتعدّ الأوكسينات IBA, AIA, ANA الأكثر استخداماً وتضاف إلى الوسط الزرعي إما لوحدها وإما مع بعضها. في بعض الحالات يكون تأثير AIA على التجذير أكبر من بقية الأوكسينات ولاحظ ذلك [50] عندما حصل على نسبة تجذير 100% بوجود (1 مغ/ل) من AIA وذلك عندما زرع البراعم التي حصل عليها اعتباراً من زراعة البراعم القمية المأخوذة من ريزوم نبات Costus speciosus، وكذلك [44] عندما نقل البادرات التي حصل عليها وزرعها على وسط زرعي يحوي (1–2 مغ/ل) من AIA.

بالمقابل كان ANA، كما هو الحال في تجاربنا، أكثر فعالية على تجذير البادرات بالنسبة لبعض الباحثين حيث حصل [14] على أفضل نتيجة من حيث تشكل الجذور عندما نقل البادرات التي حصل عليها وزرعها على الوسط الزرعي بوجود ANA (1مغ/ل). وكذلك حصل [37] على أفضل نسبة للتجذير 67% عندما نقل وزرع البادرات التي حصل عليها على وسط MS الذي يحوي على ANA وGA. وتم استخدام الـANA (0.1 مغ/ل) لنمو ولتجذير الأجنة الجسمية التي تم الحصول عليها انطلاقاً من زراعة قطع الفلقات لنبات فستق العبيد .Arachis hypogaea L [51]. أما [20] لاحظ أن أفضل تشكل للجذور يمكن تحريضه في الوسط الزرعي الذي يحوي على IBA وذلك عندما زرع البادرات التي حصل عليها انطلاقاً من قطع الفلقات لنبات .Corchorus capsularis L.

الاستنتاجات والتوصيات:

لقد لاحظنا من خلال النتائج التي حصلنا عليها خلال هذا العمل أنه بإمكاننا تطبيق تقنية الزراعة في الزجاج بهدف الإكثار الإعاشي والحصول على عدد كبير من النباتات انطلاقاً من عدد محدود من بادرات هجينة. بالإضافة إلى ذلك شاهدنا تأثير بعض السيتوكينات في تحريض تشكل البراعم، وتأثير بعض الأوكسينات في تحريض تشكل الجذور. وتعدّ تقنية الإكثار الإعاشي في الزجاج طريقة مهمة لإعطاء بادرات يمكن استخدامها لدراسة تأثير شروط فيزيولوجية وبيئية أخرى. وهي تقنية واعدة وأكثر تأثيراً من الطرائق القديمة وخاصة في المجال الوراثي.

المراجع:

[1] حمـزة، قاسـم حمـزة؛ بلو،عبـد العلـيم. *زراعـة الأنسـجة لـبعض النباتـات الطبيـة الهامـة مـن الفصـيلة الشـفوية*. مجلـة أبحاث التقانة الحيوية، اتحاد مجالس البحث العلمي العربي، المجلد الأول،العدد (صفر)،1999، 20 –35.

[2] KNOESS,W. *Establishment of callus, cell suspension and shoot cultures of Leonorus cordiaca* L. *and diterpene analysis*. plant cell repots. 14(12),1995, 790 – 793.

[3] MARTIN,C.; CARRE,M.;et Duc, G. *Not sur les cultures de tissus de févérole (vicia faba* L.) *Bouturage, culture de cals, culture de méristèmes*. Ann. Amélior. Plantes, 29(3),1979, 277 – 287.

[4] BANERJEE, N. and DELANGHE, E. *A tissue culture technique for rapid clonal propagation and storage under minimal growth conditions of Musa* (Banana and Plantain). Plant cell Repots, 4,1985, 351 – 354.

[5] JAKOBEK, J.L.; BACKHAUS, R.A.; and HERMAN, K. *Micropropagation of candelilla, Euphorbia antisyphilitica* Zucc. Plant cell, tissue and organ culture, 7,1986, 145 – 148.

[6] GOULD, J.; BANISTER, S.; HASEGAWA, O.; FAHIMA, M. and SMITH, R. H. *Regeneration of Gossypium hirsutum and G.barbadense_from shoot apex tissus for transformation.* plant cell reports, 10,1991,12 – 16.

[7] HELENA MATHEWS, V. and RAO, P.s. *in vitro plant regeneration in lateral bud explants Cryptanthus bromelioides* var. Tricolor M.B foster. plant cell reports, 1,1982, 108 – 110.

[8] RECH, E.L. and PIRES, M.J.P. *Tissu culture propagation of Mentha spp. by the use of axillary buds*. plant cell reports, 5,1986, 17 – 18.

[9] JEMMALI, A.; ELLOUMI,N.; et KEVERS,C. *comportement végétatif et génératif de plants de Fraisier* (Fragaria X ananassa Duch) *issus de la régénération in vitro à partir de bourgeons axillaires ou stipulaires*. Acta Bot. Gallica, 149 (4),2002, 395 – 404.

[10] MALEPSZY, S. and NADOLSKA – ORCZYK, A. *In vitro Culture of Cucumis sativus. I–Regenration of plantlets from callus formed by leaf explants*. Z.Pflanzenphysiol. Bd. 111.S.,1983,273 – 276.

[11] PAL, A.; BANERJEE, A. and DHAR,K. *in vitro organogenesis and somatic embryogenesis from leaf explants of Leucosceptrum canum* Sm. plant cell reports, 4,1985, 281 – 284.

[12] LINACERO, R. and VAZQUEZ, A. *Somatic embryo genesis and plant regeneration from leaf tissus of Rye (secale cereale L.)* plant Science, 44, 1986, 219 – 222.

[13] CAMBECEDE, J.; DURON, M. and DECOURTYE, L. *Adventitious bud regeneration from leaf explants of the shrubby ornamental honeysuckle, Lonicera nitida* wils. cv. Maigrűn: *effects of thidiazuron and* 2,3,5 *triiodobenzoic acid*. plant cell rerorts, 10,1991, 471 – 474.

[14] JAISWAL, v.s. and NARAYAN, p. *Regeneration of plants from the callus of stem segments of adult plants of Ficus religiosa L*. plant cell reports, 4,1985, 256 – 258.

[15] GUPTA,P.K.; MEHTA, H.J. and MASCARENHAS, A.F. *A Tissue culture method for rapid clonal propagation of mature trees of Eucalyptus torelliana and Eucalyptus camaldulensis*. plant cell reports, 2,1983, 296 – 299.

[16] DIZENGREMEL, M.N.; FOUCARD, J.C. et BIGOT, C. *Expériences preliminaires sur la multiplication in vitro de quelques espèces destinées au remplacement de pomoïdées ornementales sensibles au feu bactèrien*. Revue Horticole, Nº 264,1986, 13 – 23.

[17] BARBIER, M.et DULIEU, H.L. *Effets génétiques observés sur des plantes de Tabac régénérées à partir de cotylédons par culture in vitro*. Ann. Amélior. plantes, 30 (3),1980, 321 – 344.

[18] PEREZ, C.; FERNANDEZ, B. and RODRIGUEZ, R. *In vitro plantlet regeneration through a sexual embryogenesis in cotyledonary segments of corylus avellana L*. Plant cell reports, 2,1983, 226 – 228.

[19] DONG, J.Z. and JIA, S.R. *High efficiency plant regeneration from cotyledons of watermelon* (*Citrullus vulgaris* Schrad.). Plant cell reports, 9, 1991, 559 – 562.

[20] SAHA, T.; GHOSH, M. and SEN, S.K. *plant regeneration from cotyledonary explants of jute, Corchorus capsularis* L., plant cell reports, 18 (7– 8),1999,544 – 548.

[21] DONG,N.; WILLIAMS, N.T.; MCMAHAN, C.M.; RATH,D.; PEARSON,C.; CORNISH, K. *Factors affect agrobacterium– mediated Sunflower transformation.* In vitro Biology Meeting, 41,2005, 30 – 32, spring.

[22] PEREZ, C.; RODRIGUEZ, R. and TAMES, R.S. *In vitro filbert (Corylus avellana L.) micropropagation from shoot and cotyledonary node segment*. plants cell Reports, 4,1985, 137 – 139.

[23] DHAWAN,V. and BHOJWANI, S.S. *In vitro vegetative propagation of Leucaena leucocephala* (Lam.)de wit, plant cell reports, 4,1985, 315 – 318.

[24] HUI, L.H. and ZEE, S.Y. *the effect of ginseng on the plantlet regeneration % of cotyledon and hypocotyls explants of Broccoli*, Z. Pflanzenphysiol. Bd. 96.S., 1980, 297 – 302.

[25] ARRILLAGA, I.; BRISA, M.C. and SEGURA, J. *Somatic embryogenesis and plant regeneration from hypocotyls cultres of Digitalis obscura L*., J.plant physiol. vol. 124,1986,425- 430.

[26] NIELSEN,S.V.; BOULSEN, G.B. and LARSEN, M.E. *Regeneration of shoots from pea (Pisum Sativum) hypocotyls explants.* Physiologia plant arum, 82,1991, 99 – 102.

[27] PEREZ FRANCES, J.F.; VALDES, F.and MARTIM, R. *Callus induction and culture from explants of Erysimum scoparium in a growth regulator free medium.* plant cell, Tissue and organ culture, 43(3), 1995,223 – 228.

[28] VOLAK, J.et STODOLA,J.*plants médicinales*. GRUND, Paris.,1983.

[29] TRIFI, M.; MEZGHANI, S.et MARRAKCHI, M. *Multiplication Végétative du Tournesol (Helianthus annuus L.) par culture in vitro.* Physiol. vég., 19(1),1981, 99 – 102.

[30] PATERSON, K.E. and EVERETT, N.P. *Regeneration of Helianthus annuus inbred plants from callus*. plant science, 42, 1985,125 – 132.

[31] BOHOROVA, N.E.;COCKING, E.C. and POWER,J.B. *Isolation, culture and callus regeneration of protoplasts of wild and cultivated Helianthus Species*. Plant cell Reports, 5,1986, 256 – 258.

[32] FAMBRINI, M.; CIONINI, G.; CONTI, A.; MICHELOTTI, v. and PUGLIESI, C. *Origin and development In vitro of shoot Buds and Somatic embryos from intact roots of Helianthus annuus* × *H.tuberosus*. Annals of Botany, 92, 2003,145 – 151.

[33] MURASHIGE, T.and SKOOG,F. *A revised medium of rapid growth and bioassays with Tobacco tissue cultre*. physiol. plant., 15, 1962, 473 - 497

[34] GRECO, B.; TANZARELLA, O.A.; CARROZZO, G. and BLANCO, A.*Callus induction and shoot regeneration in sunflower* (*Helianthus annuus L*.), plant Science Letters, 36, 1984, 73 – 77.

[35] DUMANOIS, C.; GODIN, B. et BIGOT, C. *multiplication Végétative in vitro de Gardenia jasminoides* Ellis. J. plant phyiol., 16,1984,389 – 407.

[36] MARTINS, I.S. and SONDAHL, M.R. *Multiple shoot formation from shoot apex cultures of phaseolus vulgaris L.J.plant physiol*., 115,1984,205-208.

[37] FRANKLIN, C.I.;TREU, T.N.;GONZALES, R.A.and DIXON,R.A. *plant regeneration*

from seedling explants of green bean (Phaseolus vulgaris L.) via organogenesis. plant cell, Tissue organ culture, 24,1991,199 – 206.

[38] DURON,M. *Induction de néoformation caulinaires chez des Weigela* Thunb.*hybrides cultivés in vitro*. Agronrmie, 1(10),1981, 865 – 868.

[39] PHILLIPS, G.C. and HUBSTENBERGER, J.F. *organogenesis in pepper tissue cultures.* plant cell tissue organ culture, 4,1985,261 – 269.

[40] MSIKITA,W.;SKIRVIN,R.M.,JUVIK,J.A.;SPLITTSTOESSER,W.E. and ALI, N. *Regeneration and flowering in vitro of Burpless hybrid cucumber cultured from excised seed*. Hortscience, 25(4), 1990, 474 – 477.

[41] SCHRAMMEIJER,B.;SIJMONS,P.C.;VANDEN ELZEN, P.J.M.and HOEKEMA,A. *Meristem transformation of sunflower via Agrobacterium*. plant cell Reports, 9,1990,55 – 60.

[42] HATANAKA, T.; YOSHIHARA, S.; IMOTO, S.; UCHIDA, N. and TSUGAWA, H. Tanbaguro: *a new model genotype of soybean for tissue culture study*. proceeding of the 4th international crop science congress, Brisbane, Australia, 2004.26 sep- 1oct « http: // www.cropscince. c/ »

[43] KARTHA, K.K.;GAMBORG, O.L.; SHYLUK, J.P. and CONSTABEL,F. *Morphogenetic investigations on in vitro leaf culture of Tomato (Lycopersicon esculentum Mill. cv. starfire) and high frequency plant regeneration*. Z. pflan zen physiol Bd. 77.S.,1976,292 – 301.

[44] SITA, G.L.; CHATTOADHYAY, S. and TEJAVATHI, D.H. *Plant regeneration from shoot callus of rosewood* (*Dalbergia latifolia* Roxb.) plant cell Reports, 5,1986,266 – 268.

[45] CLASQUIN, S.et HENRY, M. *Micropropagation d' Helichrysum arenarium (L.)* Moench. Acta Bot. Gallica, 149(2),2002, 189 – 195.

[46] TRIPATHI, M.and TIWARI, S. *Epigenesis and High frequency plant regeneration from soybean* (*Glycine max* (L.) Merr.) *hypocotyls*. Plant tissue cult. 13(1),2003, 61-73.

[47] LIU,Z.H.; WANG, W.C. and YEN, Y.S. *Effect of hormone treatment on root formation and endogenous indole – 3 – acetic acid and polyamine levels of Glycine max cultivated in vitro*. Bot. Bull. Acad. Sin. 39,1981, 113 – 118.

[48] WERNICKE,W.; BRETTELL,R.;WAKIZUKA,T. and POTRYKUS,I. *Adventitious embryoid and root formation from Rice Leaves*. Z.Pflanzen physiol. Bd.103, 1981,361 – 365.

[49] GAUTHERET, R.J. *Investigations on the root formation in the tissus of Helianthus tuberosus cultured in vitro*. Amer. J.Bot. 56(7),1969, 702 – 717.

[50] CHATURVEDI, H.C.; MISRA, P. and JAIN,. *Proliferation of shoot tips and clonal multiplication of costus speciosus in long – term culture*. plant science Letters, 35, 1984, 67 – 71.

[51] CUCCO, M.F.; JAUME, A.D.R. *Protocol for regeneration in vitro of Arachis hypogaea* L. Plant Biotechnology, 3(2),2000, issue of Auguet 15.