دور بعض منظمات النمو في تضاعف أفرع نبات Stevia خارج الجسم الحي

علا موجد عبد الزهرة العبيدي حسام سعد الدين محمد خير الله
باحثة استاذ مساعد
وحدة أبحاث النخيل والتمور– كلية الزراعة – جامعة بغداد
khierallah70@yahoo.com

المستخلص

اجري البحث لدراسة تأثير بعض منظمات النمو النباتية في التضاعف الخضري لأفرع نبات الستيفيا *Stevia rebaudiana* Bertoni خارج الجسم الحي. اشتملت التجارب على إضافة تراكيز متنوعة من السايتوكاينينات KIN و BA و TDZ والأوكسينات IAA وIBA الى وسط MS لمعرفة تأثيرها في عدد الافرع المتكونة وطولها وعدد الأوراق والوزنين الطري والجاف للأفرع. أشارت النتائج الى ان التداخل بين 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ KIN مع 0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA أعطى أعلى متوسط لعدد الأفرع المتكونة بلغ 3.5 فرعاً وقل متوسط طول الأفرع معنوياً إذ أعطى التداخل بين 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ KIN و 1 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA أقل متوسط بلغ 1.14 سم، واعطى الوسط الخالي من منظمات النمو أعلى متوسط لعدد الأوراق بلغ 28.56 ورقة. كان تأثير التداخل بين تراكيز KIN و IBA معنوياً في متوسط الوزن الطري واعطى 2.0 ملغم .لتر$^{-1}$ KIN بالتداخل مع 0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA أعلى متوسط للوزن الطري بلغ 1.739غم، وأعطى التركيز 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ KIN و 0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA أعلى متوسط بلغ 0.822غم. أما بالنسبة لتأثير التداخل بين KIN و IAA فكان معنوياً في عدد الأفرع المتكونة وأعطى التداخل بين 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ KIN مع 0.1 ملغم.لتر$^{-1}$ IAAأعلى متوسط لعدد الأفرع بلغ 3.8 فرعاً. وبلغ طول الأفرع 8.10 سم في الوسط الخالي من KIN والحاوي على 0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA. أعطى التداخل بين التراكيز 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ KIN و 0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA أعلى متوسط للوزن الطري بلغت 1.267 غم، وأعطى التركيز 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA من دون KIN أعلى متوسط للوزن الجاف بلغ 0.138 غم. أمكن تحسين التضاعف بأضافة السايتوكاينين TDZ الى الوسط الغذائي اذ تفوق التركيز 0.05 ملغم.لتر$^{-1}$ معنوياً باعطائه اعلى متوسط لعدد الافرع بلغ 6.6 فرعاً والوزن الطري (0.974غم) والجاف (0.144غم) وقل طول الافرع معنوياً اذ أعطت معاملة القياس اعلى متوسط لطول الأفرع بلغ 9.32 سم، يمكن اعتماد النتائج اعلاه في تضاعف أفرع نبات الستيفيا خارج الجسم الحي بنجاح.

الكلمات المفتاحية: *Stevia rebaudiana* **Bertoni**، الأكثار الدقيق، اوكسينات، سايتوكاينينات، TDZ.

البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثاني.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences –1158-1168: (5) 48/ 2017 Al-Obaidy& Khierallah

THE ROLL OF SOME PLANT GROWTH REGULATORS ON SHOOTS MULTIPLICATION OF STEVIA PLANTS IN VITRO

O. M. Al-Obaidy H. S. M. Khierallah
Researcher Assist. Prof.
Date Palm Research Unit, College of Agriculture, University of Baghdad
khierallah70@yahoo.com

ABSTRACT:

This research was conducted to study the effect of some plant growth regulators on *in vitro* shoots multiplication of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). The experiments included tests of various combinations of KIN with IBA or IAA in the shoot multiplication. Results indicated that KIN at 1.0 mg. L^{-1} plus 0.3 mg. L^{-1} of IBA produced the highest number of shoots (3.5 shoots) while KIN at 1.5 mg. L^{-1} plus IBA at 1.0 mg. L^{-1} produced the lowest shoot length (1.14 cm). Hormone free medium produced the highest rate of the leaves number reached 28.56 leaves. KIN and IBA interaction increased fresh and dry weight significantly. Treatment contained 2.0 mg $^{-1}$ KIN plus 0.3 mg. L^{-1} IBA produced the highest fresh weight (1.739 g) while 0.5 mg. L^{-1} KIN and 0.3 mg. L^{-1} IBA produced the highest dry weight (0.822 g). As for the effect of interaction between the IAA and KIN it was significant in the number of shoots formed. Interaction between 1.0 mg. L^{-1} KIN with 0.1 mg. L^{-1}IAA produced the highest number of shoots (3.8 shoots). Shoots length reached 8.10 cm in the media with 0.3 mg. L^{-1} IAA only. The highest fresh weight (1.267 g) was achieved with the interaction between 1.0 mg. L^{-1} KIN and 0.3 mg. L^{-1} IAA while 0.5 mg. L^{-1}IAA without KIN produced the highest dry weight reached 0.138 g. Shoots multiplication was improved by incorporation of the cytokinin TDZ in culture media. Shoots number, fresh and dry weights were increased significantly by adding 0.05 mg. L^{-1} of TDZ at present of 0.3 mg. L^{-1} of IBA giving 6.6 shoots, 0.974 g and 0.144 g respectively while shoots length decreased significantly as media without TDZ produced the highest shoots length reached 9.32 cm. The above results can adopt for the successful *in vitro* shoot multiplication of Stevia plants.

Key words: *Stevia rebaudiana* Bertoni, micropropagation, auxin, cytokinin, TDZ.
Part of MSc. Thesis of the first author.
***Received:29/12/2016, Accepted:12/3/2017**

المقدمة

ينتمي نبات ورق السكر(ستيفيا) الى العائلة المركبة Compositae الاسم الانكليزي له هو Sugar bush اي شجيرة السكر، أما الاسم العلمي للنبات فهو *Stevia rebaudiana* Bertoni، يحتوي جنس *Stevia* على 280 نوعآ تنتمي للعائلة المركبة من النباتات العشبية أو الشجيرات التي تنمو الى ارتفاع 1م وتحتوي على اوراق بطول 2–5 سم. ان اوراقها هي مصدر لكلايكوسيدات التربينات الثنائية والستفيوسيد (Stevioside) والريبايدوسيد (Rebaudiosid)(12). في نهاية التسعينيات زاد الطلب على هذا النبات نظراً للفوائد العلاجية والغذائية، وللنبات خصائص متنوعة مثل كونه مضاداً بكتيرياً وفطرياً وفايروسياً ويستعمل لعلاج أمراض القلب ومدرر للبول وخافض للسكر بالدم وموسع للأوعية، يعد النبات منتجآ طبيعياً خالياً من السعرات الحرارية ومثبط لتجمع الدهون وخفض ضغط الدم للأنسان (5). تعد أوراق الستيفيا مصدراً لكلوكوسيدات التربينات الثنائية مثل steviolbioside وrebaudioside F,E,D,C,B,A وrubsoside وdulcoside وstevioside (21)، ويعد المركب الأخير هو الاهم ويستخدم للتحلية نظراً للأعتبارات الصحية لأستخدام السكر العادي مثل تسوس الأسنان والسمنة ومرض السكري فضلآ عن ذلك فان الستيفويد وكلايكوسيدات التربينات الثنائية الأخرى (6 و16). يكاثر نبات الستيفيا أما جنسياً بالبذور أو خضرياً بالعقل الساقية، وتكتنف طريقة الأكثار بالبذور العديد من المشاكل أهمها نسبة الأنبات المنخفضة التي تعد المشكلة الأكبر في اكثار الستيفيا، كذلك وجود حالة عدم التوافق الذاتي في هذا النوع والذي يؤدي الى فشل الأخصاب (14). فضلآ عن ان نسبة الأنبات للبذور في الستيفيا واطئة جداً فانها لا تعطي نفس التركيب الوراثي وحلاوة الاوراق نفسها من ناحية الكمية والنوعية بسبب عدم التجانس الوراثي للبذور (15). أما الأكثار عن طريق العقل فأنه يتطلب جهوداً كبيرة وعدد النباتات المنتجة منه محدوداً جداً. بناء على ما تقدم وللتغلب على جميع هذه المشاكل فقد قام الباحثون بمحاولات لتسخير تقانة زراعة الانسجة النباتية في الاكثار الواسع لنبات الستيفيا في مختلف الدول مثل ماليزيا (1) وتونس (11) ومصر (9). نظراً لأهمية نبات ورق السكر (Stevia) من الناحية الطبية والأقتصادية كونه يمثل مادة أولية واعدة لأنتاج السكر المستعمل للطعام والأغراض الصناعية الأخرى الامر الذي يفسر السعي الحثيث للدول المتقدمة في العالم لا سيما الدول التي ينجح فيها زراعته وانتاجه الى التوسع في اكثاره ونشر زراعته، فان الهدف من هذه الدراسة هو أيجاد برنامج متكامل لأكثار نبات الستيفيا خارج الجسم الحي بدراسة تأثير بعض منظمات النمو في تضاعف أفرع الستيفيا خارج الجسم الحي.

المواد والطرائق

أجريت التجارب على نبات *Stevia rebaudiana* Bertoni بجلب بذور هجينة مستوردة من شركة SEMILLAS FITTO الأسبانية وزراعتها في شهر أيلول في أصص وبعد انبات البذور تم الحصول على الشتلات البذرية بعمر ثلاثة أشهر والتي تعد مصدر الأجزاء النباتية. أخذت أفرع خضرية بطول 15 – 20 سم ونقلت الى المختبر ونظفت بمسحها بالكحول الأثيلي بتركيز 70% وقطع الى عقل بطول 5 سم وغسلت بتيارماء جاري لمدة ساعة كاملة بعدها أزيلت الأوراق وغسلت بالصابون السائل ونقلت الى منضدة انسياب الهواء الطبقي Laminar Air Flow Cabinet لتعقيمها سطحياً ثم اخذت أطراف الأفرع بطول 1.0 سم. استعمل القاصر التجاري علامة Clorox وبتركيزمادة فعالة 6% (وزن/حجم) كمصدر لهايبوكلورات الصوديوم في تعقيم الأجزاء النباتية، اذ جرى تخفيفه للحصول على تركيز 0.050 % (وزن/حجم) من هايبوكلورات الصوديوم لهذا الغرض ولمدة 15 دقيقة مع مراعاة استعمال بضعة قطرات من المادة الناشرة Tween 20 لتقليل الشد السطحي لمحلول التعقيم، ثم جرى بعدها غسل الأجزاء النباتية بالماء المعقم المقطر ثلاث مرات ونقلت الأجزاء النباتية المعقمة وقطعت الأجزاء المتضررة بالتعقيم وزرعت في أنابيب أختبار بطول 125ملم وقطر25 ملم حاوية على 10مل من الوسط الغذائي. حضر الوسط الغذائي الخاص بنشوء الزروعات من مجموعة الأملاح اللاعضوية الكبرى والصغرى والحديد لوسط (MS) (17) مضافاً إليه (ملغم.لتر$^{-1}$) Thiamin 0.1 وNicotinic acid 0.5 وPyridoxine 0.5 وGlycine 2.0 و100 Myo–Inositol مع 30000 سكروز مع 7غم/لتر من مادة Agar

وقد استخدمت الخلطة الجاهزة من انتاج شركة Duchifah الهولندية لهذا الغرض اذ تم وزن الوزن الموصى به من المصنع (4.405 غم) لتحضير لتر وسط غذائي واذيب في 600 مل من الماء المقطر اللاآيوني وأضيف السكروز وجرى تضمين الوسط بمنظمات النمو حسب الهدف من التجربة والتراكيز المبينة ازاء كل منها. بعد اضافة جميع مكونات الوسط الغذائي عدل الرقم الهيدروجيني pH الى 5.7 وأكمل الحجم النهائي للوسط الغذائي بعد اضافة الآكار اليه وجرى تسخينه الى ماقبل الغليان بقليل لغرض اذابة الآكار، ومن ثم توزيعه في اوعية الزراعة، والتي هي عبارة عن انابيب اختبار من نوع Pyrex بابعاد 25 × 150 ملم وجرى تغطية الانابيب بأغطية Polycarbonate caps، بعد تحضير الاوساط الغذائية وتوزيعها في اوعية الزراعة المخصصة لها، جرى تعقيمها بجهاز الموصدة (Autoclave) على درجة حرارة 121 م وضغط 1.04 كغم.سم$^{-2}$ ولمدة 15 دقيقة. بناء على نتائج تجارب سابقة لمرحلة النشوء فقد تكون وسط النشوء من وسط MS المجهز بالسايتوكاينين KIN بتركيز 0.3 ملغم. لتر$^{-1}$ وبعد أربعة اسابيع من الزراعة تكونت الأفرع من القمم النامية. فصلت الأفرع المتكونة من الأجزاء النباتية بطول 1سم ونقلت إلى انابيب أختبار حاوية على أوساط جديدة لغرض مضاعفتها خضرياً، واستعمل وسط MS وجرى اختبار تأثير السايتوكاينين KIN بالتراكيز 0، 0.5، 1.0، 1.5، 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ والأوكسين IBA 0، 0.1، 0.3، 0.5 أو 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ والتداخل بينهما بتجربة عاملية وبواقع عشرة تكرارات لدراسة تأثيرها في تضاعف الزروعات كما جرى أيضا اختبار السايتوكاينين (KIN) بالتراكيز 0، 0.5، 1.0، 1.5 ، 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ مع التراكيز 0، 0.1، 0.3، 0.5 أو 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ من IAA بتجربة عاملية وبواقع عشرة تكرارات لدراسة تأثيرها في التضاعف الخضري لأفرع الستيفيا. لوحظ من نتائج التجارب السابقة قلة في عدد الأفرع المتضاعفة وانخفاض متوسط التضاعف لافرع الستيفيا واتجهاها للنمو الطولي على حساب عدد الافرع لذلك فقد تم اللجوء الى اختبار تاثير سايتوكاينين اكثر فعالية مثل السايتوكاينين Thidiazuron (TDZ) وبتراكيز منخفضة هي 0، 0.01، 0.03، 0.05 أو 0.1 ملغم.لتر$^{-1}$ كلاً على حدة وبوجود 0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ من الأوكسين IBA وبعشرة تكرارات لدراسة تأثيرها في تضاعف أفرع الستيفيا. جرى تحضين الزروعات في غرفة النمو تحت شدة ضوئية قدرها 1000 لوكس ولمدة إضاءة 8/16 ضوء/ظلام وعلى درجة حرارة 24 مْ ± 1 ولمدة أربعة أسابيع. بعدها حسب متوسط عدد الأفرع الناتجة ومتوسط طولها ومتوسط عدد الأوراق والوزنين الطري والجاف. اتبع التصميم التام التعشية Completely Randomized Design وبعدد التكرارات المبين أزاء كل تجربة، وجرى مقارنة المتوسطات حسب أختبار أقل فرق معنوي (LSD) وبمستوى أحتمال 5% (3) بأستعمال البرنامج الحاسوبي Genestat Discovery الإصدار (3.0).

النتائج والمناقشة

تأثير تراكيز KIN وIBA والتداخل بينهما في متوسط عدد الأفرع المتكونة من تضاعف أفرع نبات الستيفيا بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي : تشير النتائج المبينة في الجدول 1 الى أن أضافة KIN الى أوساط تضاعف أفرع الستيفيا خارج الجسم الحي قد أدت الى زيادة معنوية في متوسط عدد الأفرع المتكونة وصولاً الى التركيز 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ الذي أعطى أعلى متوسط لعدد الأفرع المتكونة بلغ 2.72 فرعآ بعدها أنخفض متوسط عدد الأفرع عند التركيزين 1.5 و2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ وأعطيا 2.56 و2.46 بالتتابع، أما بالنسبة الى تأثير الأوكسين IBA في تضاعف أفرع الستيفيا فيلاحظ كذلك وجود التأثير المعنوي نفسة في متوسط عدد الأفرع، إذ زاد معنوياً وأعطى التركيز 0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ 2.82 فرعآ مقارنة بمعاملة القياس (بدون أوكسين) التي أعطت 2.18فرعآ وأنخفض بعدها عدد الأفرع بزيادة تركيز IBA وصولاً الى التركيز 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ الذي أعطى 2.2 فرعآ. أما بالنسبة لتأثير التداخل فيلاحظ ان تأثيره كان معنوياً في عدد الأفرع المتكونة وأعطى التداخل بين 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ KIN مع 0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA أعلى متوسط لعدد الأفرع المتكونة بلغ 3.5 فرعاً والذي أختلف معنوياً عن معاملة القياس (الوسط الخالي من منظمات النمو) وعن المعاملة 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA والخالية من KIN التي أعطت أقل متوسط لعدد الأفرع بلغ 1.7 فرعاً.

جدول 1. تاثير تراكيز KIN وIBA والتداخل بينهما في متوسط عدد الأفرع المتكونة من تضاعف أفرع نبات لستيفيا بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي.

	تراكيز KIN ملغم.لتر$^{-1}$					
		0.0	0.5	1.0	1.5	2.0	متوسطات تراكيز IBA
تراكيز IBA ملغم.لتر$^{-1}$	0.0	1.9	2.2	2.4	2.1	2.3	2.18
	0.1	1.9	2.3	2.9	2.3	2.7	2.42
	0.3	2.3	2.8	3.5	2.5	3.0	2.82
	0.5	1.9	2.3	2.9	3.1	2.1	2.46
	1.0	1.7	2.4	1.9	2.8	2.2	2.2
$L.S.D_{(0.05)}$				1.05			0.47
متوسطات تراكيز KIN		1.94	2.4	2.72	2.56	2.46	
$L.S.D_{(0.05)}$				0.47			

تأثير تراكيز KIN و IBA والتداخل بينهما في متوسط طول الأفرع (سم) المتكونة من تضاعف أفرع نبات الستيفيا بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي: يلاحظ من نتائج الجدول 2 أن أضافة تراكيز مختلفة من KIN أدت الى تقليل متوسط طول الأفرع معنوياً للستيفيا خارج الجسم الحي، إذ أعطت معاملة المقارنة (من دون KIN)أعلى متوسط لطول الأفرع بلغ 6.33 سم؛ أنخفض بعدها الطول معنوياً بزيادة تراكيز KIN المضافة وصولاً الى التركيز 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ الذي أعطى أقل متوسط للطول بلغ 2.17 سم. أما بالنسبة لتأثير الأوكسين IBA وبالرغم من أن أضافة 0.1 ملغم .لتر$^{-1}$ أدت الى زيادة في متوسط الطول بلغت 4.52 سم فإنة أنخفض بعد ذلك معنوياً بزيادة التراكيز المضافة للوسط الغذائي ليصل الى متوسط طول بلغ 2.09سم عند التركيز1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA والذي أختلف معنوياً عن معاملة القياس (من دون IBA) والتي أعطت 4.15سم، وبالنسبة للتداخل بين KIN و IBA فيلاحظ أن تأثيره كان معنوياً في خفض متوسط طول الأفرع، إذ أعطى التداخل بين 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ KIN و 1 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA أقل متوسط لطول الفرع بلغ 1.14 سم في حين كان أعلى متوسط للطول 7.5 سم في الوسط الخالي من KIN والحاوي على 0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA.

جدول 2. تاثير تراكيز KIN و IBA والتداخل بينهما في متوسط طول الأفرع (سم) المتكونة من تضاعف أفرع نبات الستيفيا بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي.

	تراكيز KIN ملغم.لتر$^{-1}$					
		0.0	0.5	1.0	1.5	2.0	متوسطات تراكيز IBA
تراكيز IBA ملغم.لتر$^{-1}$	0.0	7.26	4.17	3.15	2.00	2.82	4.15
	0.1	7.43	3.76	3.34	3.56	2.58	4.52
	0.3	7.50	2.88	2.74	3.14	2.21	4.07
	0.5	5.11	1.47	1.82	1.35	1.98	2.44
	1.0	4.34	1.77	1.93	1.14	1.27	2.09
$L.S.D_{(0.05)}$				2.02			0.90
متوسطات تراكيز KIN		6.33	2.81	2.60	2.24	2.17	
$L.S.D_{(0.05)}$				0.90			

تاثير تراكيز KIN و IBA والتداخل بينهما في متوسط عدد الأوراق.فرع$^{-1}$ المتكونة من تضاعف أفرع نبات الستيفيا بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي: تبين النتائج في الجدول 3 أن أضافة KIN الى وسط تضاعف أفرع الستيفيا خارج الجسم الحي قد أدت الى أنخفاض معنوي في متوسط عدد الأوراق المتكونة اذ أعطى التركيز 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ اقل متوسط لعدد الأوراق بلغ 13.26 ورقة.فرع $^{-1}$، وأعطت معاملة القياس (من دون KIN) أعلى متوسط لعدد الأوراق والتي أعطت 23.67 ورقة.فرع $^{-1}$، أما بالنسبة الى تأثير الأوكسين IBA في

متوسط عدد الأوراق للستيفيا فيلاحظ أن أضافة 0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA قد أدت الى زيادة معنوية في متوسط عدد الأوراق والتي بلغت 17.44 ورقة بعدها أنخفض متوسط عدد الأوراق معنوياً بزيادة تركيزIBA المضافة للوسط الغذائي ليصل الى 13.48 ورقة.فرع$^{-1}$ عند التركيز 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$. بالنسبة لتأثير التداخل بين KIN وIBA فيلاحظ أنه كان معنوياً في خفض متوسط عدد الأوراق، واعطى التداخل بين 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ KIN و1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA أقل متوسط لعدد الأوراق أذ بلغ 10.46 ورقة.فرع$^{-1}$ والذي أختلف معنوياً عن معاملة القياس (من دون أوكسين) والتي أعطت أعلى متوسط لعدد الأوراق بلغ 28.56 ورقة.فرع$^{-1}$.

جدول 3. تاثير تراكيز KIN و IBA والتداخل بينهما في متوسط عدد الأوراق.فرع$^{-1}$ المتكونة من تضاعف أفرع نبات الستيفيا بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي.

	تراكيز KIN ملغم.لتر$^{-1}$						
		0.0	0.5	1.0	1.5	2.0	متوسطات تراكيز IBA
تراكيز IBA ملغم.لتر$^{-1}$	0.0	28.56	15.54	13.30	11.92	15.83	17.03
	0.1	24.63	16.04	14.85	16.32	14.83	17.35
	0.3	24.42	18.50	16.63	14.36	13.27	17.44
	0.5	22.16	15.45	13.75	12.96	11.89	15.24
	1.0	18.59	14.20	12.35	11.82	10.46	13.48
$L.S.D_{(0.05)}$				6.62			2.96
متوسطات تراكيز KIN		23.67	15.95	14.18	13.48	13.26	
$L.S.D_{(0.05)}$				2.96			

تاثير تراكيز KIN و IBA والتداخل بينهما في متوسط الوزن الطري للافرع المتكونة من تضاعف أفرع نبات الستيفيا بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي:

تشير النتائج في الجدول 4 الى أن أضافة تراكيز مختلفة من KIN الى وسط تضاعف أفرع الستيفيا خارج الجسم الحي قد زادت معنوياً في متوسط الوزن الطري للأفرع، إذ أعطت المعاملة 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ أعلى متوسط للوزن الطري بلغ 0.939 غم بعدها أنحفض متوسط الوزن الطري بزيادة تراكيز KIN المضافة وصولاً الى التركيز 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ الذي أعطى أقل متوسط للوزن الطري بلغ 0.857 غم، أما بالنسبة الى تأثير الأوكسين IBA في متوسط الوزن الطري فكان تأثيره معنوياً في زيادة الوزن الطري إذ أزداد متوسط الوزن الطري بأضافة IBA، واعطى التركيز 0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ أعلى متوسط للوزن الطري أذ بلغ 1.157غم مقارنة بمعاملة القياس (من دون أوكسين) التي أعطت 0.705غم وأنخفض بعدها متوسط الوزن الطري بزيادة تركيز ال IBA وصولاً الى التركيز 1.0 الذي أعطى 0.701 غم. كان تأثير التداخل بين تراكيز KIN وIBA معنوياً في متوسط الوزن الطري لأفرع نبات الستيفيا وتفوقت المعاملة 2.0 ملغم .لتر$^{-1}$ KIN بالتداخل مع 0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA في أعطاء أعلى متوسط للوزن الطري بلغ 1.739غم فيما سجلت معاملة القياس (من دون منظمات النمو) أقل قيمة للوزن الطري بلغ 0.381غم.

جدول 4. تاثير تراكيز KIN و IBA والتداخل بينهما في متوسط الوزن الطري (غم) للافرع المتكونة من تضاعف أفرع نبات الستيفيا بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي.

	تراكيز KIN ملغم.لتر$^{-1}$						
		0.0	0.5	1.0	1.5	2.0	متوسطات تراكيز IBA
تراكيز IBA ملغم.لتر$^{-1}$	0.0	0.381	0.672	1.095	0.680	0.698	0.705
	0.1	0.593	0.976	1.093	0.731	0.553	0.789
	0.3	0.723	1.083	1.130	1.111	1.739	1.157
	0.5	0.975	1.023	0.636	1.058	0.778	0.894
	1.0	0.463	0.943	0.683	0.899	0.519	0.701
$L.S.D_{(0.05)}$				0.289			0.129
متوسطات تراكيز KIN		0.627	0.939	0.927	0.896	0.857	
$L.S.D_{(0.05)}$				0.129			

تاثير تراكيز KIN وIBA والتداخل بينهما في متوسط الوزن الجاف (غم) للافرع المتكونة من تضاعف أفرع نبات الستيفيا بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي : توضح النتائج في الجدول 5 أن أضافة تراكيز مختلفة من KIN الى وسط تضاعف أفرع الستيفيا خارج الجسم الحي كان لها تأثير معنوي في متوسط الوزن الجاف اذ تفوقت المعاملة 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ معنوياً على باقي التراكيز، أذ بلغ 0.230 غم بعدها أنحفض متوسط الوزن الجاف بزيادة تراكيز KIN وكانت معاملة المقارنة هي الأقل وأعطت 0.079 غم، أما بالنسبة الى تأثير الأوكسين IBA فيلاحظ أن تأثيره كان معنوياً في زيادة متوسط الوزن الجاف إذ تفوقت المعاملة 0.3ملغم.لتر$^{-1}$ على بقيت المعاملات بلغت 0.247غم بعدها أنخفض متوسط الوزن الجاف عند التركيز 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ وأعطت 0.068غم. أما التداخل بين تراكيز KIN وIBA فقد كان معنوياً في التأثير على متوسط الوزن الجاف لأفرع نبات الستيفيا إذ أزداد المتوسط كلما زاد تركيز IBA أذ أعطى التركيز 0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA و0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ KIN أعلى متوسط بلغ 0.822غم في حين أعطت معاملة القياس (من دون منظمات النمو) أقل وزن جاف بلغ 0.023 غم.

تاثير تراكيز KIN و IAA والتداخل بينهما في متوسط عدد الأفرع المتكونة من تضاعف أفرع نبات الستيفيا بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي: توضح النتائج المبينة في الجدول 6 أن أضافة KIN الى أوساط التضاعف أفرع الستيفيا خارج الجسم الحي قد أدت الى زيادة معنوية في متوسط عدد الأفرع المتكونة، وقد أعطى التركيز 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ أعلى متوسط لعدد الأفرع المتكونة وبلغ 2.86 فرعاً بعدها أنخفض متوسط عدد الأفرع بزيادة التركيز بينما أعطت معاملة القياس أقل متوسط لعدد الأفرع بلغ 1.76 فرعاً، أما بالنسبة الى تأثير IAA في تضاعف أفرع الستيفيا فيلاحظ أن هناك تأثيراً معنوياً في متوسط عدد الأفرع إذ أعطى التركيز 0.1 ملغم.لتر$^{-1}$ أعلى متوسط لعدد الأفرع مقارنة ببقية التراكيز وقد بلغ 2.66 فرعاً وقد أعطت معاملة القياس (من دون أوكسين) أقل متوسط لعدد الأفرع والذي أعطى 2.18 فرعاً. أما بالنسبة لتأثير التداخل بين KIN وIAA فنلاحظ أن تأثيره كان معنوياً في صفة متوسط عدد الأفرع المتكونة، وأعطى التداخل بين 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ KIN مع 0.1 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA أعلى متوسط لعدد الأفرع المتكونة بلغ 3.8 فرعاً، في حين كان أقل متوسط لعدد الأفرع في التداخل بين 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ KIN و0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA والذي بلغ 1.4 فرعاً.

تاثير تراكيز KIN و IAA والتداخل بينهما في متوسط طول (سم) الأفرع المتكونة من تضاعف أفرع نبات الستيفيا بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي===تشير النتائج في الجدول 7 إلى أن أضافة تراكيز KIN كان لها تأثير معنوي في خفض متوسط طول الأفرع المتكونة من تضاعف أفرع الستيفيا، إذ اعطى التركيز 2.0 ملغم .لتر أقل متوسط لطول الأفرع بلغ 1.56 سم مقارنة بمعاملة القياس (من دونKIN) التي أعطت أعلى متوسط لطول الأفرع بلغ 7.15سم.

جدول 5. تاثير تراكيز KIN وIBA والتداخل بينهما في متوسط الوزن الجاف (غم) للافرع المتكونة من تضاعف أفرع نبات الستيفيا بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي.

	تراكيز KIN ملغم.لتر$^{-1}$						
		0.0	0.5	1.0	1.5	2.0	متوسطات تراكيز IBA
تراكيز IBA ملغم.لتر$^{-1}$	0.0	0.023	0.046	0.093	0.075	0.107	0.069
	0.1	0.062	0.091	0.089	0.075	0.080	0.079
	0.3	0.098	0.822	0.118	0.109	0.087	0.247
	0.5	0.170	0.143	0.121	0.120	0.152	0.141
	1.0	0.045	0.050	0.082	0.089	0.073	0.068
L.S.D$_{(0.05)}$				0.063			0.028
متوسطات تراكيز KIN		0.079	0.230	0.101	0.094	0.100	
L.S.D$_{(0.05)}$				0.028			

أما بالنسبة لتأثير الأوكسين IAA في طول الفرع فيلاحظ أن هناك تأثيراً معنوياً في خفض متوسط طول الأفرع كلما زاد تركيز IAA إذ أعطت المعاملة 1.0 ملغم.لتر−1 أقل متوسط لطول الأفرع بلغ 2.72 سم وكانت معاملة القياس قد

أعطت أعلى متوسط لطول الأفرع بلغ 3.88 سم. وبالنسبة لتأثير التداخل بينهما فيلاحظ أن تأثيره كان معنوياً في طول الأفرع المتكونة، إذ أعطى التداخل بين 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ KIN و1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA الذي أعطى أقل متوسط لطول الأفرع بلغ 0.99 سم، في حين كان أعلى متوسط لطول الأفرع 8.10 سم في الوسط الخالي من السايتوكاينين (KIN) والحاوي على 0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA.

جدول 6. تاثير تراكيز KIN وIAA والتداخل بينهما في متوسط عدد الأفرع المتكونة من تضاعف أفرع نبات الستيفيا بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي.

	تراكيز KIN ملغم.لتر$^{-1}$						
		0.0	0.5	1.0	1.5	2.0	متوسطات تراكيز IAA
تراكيز IAA ملغم.لتر$^{-1}$	0.0	1.9	2.2	2.4	2.3	2.1	2.18
	0.1	2.0	2.7	3.8	2.0	2.8	2.66
	0.3	1.8	3.7	2.2	2.2	1.4	2.26
	0.5	1.6	2.9	2.4	2.2	1.9	2.20
	1.0	1.5	2.8	2.8	2.0	1.9	2.20
L.S.D$_{(0.05)}$				1.09			0.49
متوسطات تراكيز KIN		1.76	2.86	2.72	2.14	2.02	
L.S.D$_{(0.05)}$				0.49			

جدول 7. تاثير تراكيز KIN و IAA والتداخل بينهما في متوسط طول (سم) الأفرع المتكونة من تضاعف أفرع نبات الستيفيا بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي.

	تراكيزKINملغم.لتر$^{-1}$						
		0.0	0.5	1.0	1.5	2.0	متوسطات تراكيز IAA
تراكيز IAA ملغم.لتر$^{-1}$	0.0	7.26	4.17	3.15	2.82	2.00	3.88
	0.1	7.59	2.92	2.89	1.44	1.65	3.30
	0.3	8.10	2.04	1.98	2.02	1.01	3.03
	0.5	6.91	2.58	1.31	1.39	2.13	2.86
	1.0	5.89	1.92	3.56	1.23	0.99	2.72
L.S.D$_{(0.05)}$				1.71			0.77
متوسطات تراكيز KIN		7.15	2.73	2.58	1.78	1.56	
L.S.D$_{(0.05)}$				0.77			

تاثير تراكيز KIN و IAA والتداخل بينهما في متوسط عدد الأوراق.فرع$^{-1}$ المتكونة من تضاعف أفرع الستيفيا بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي: توضح النتائج في الجدول 8 أن أضافة تراكيز من KIN الى وسط تضاعف أفرع الستيفيا خارج الجسم الحي كان لها تأثير معنوي في متوسط عدد الأوراق، إذ يلاحظ أنخفاض في متوسط عدد الأوراق كلما زاد التركيز وتفوقت معاملة القياس (من دون سايتوكاينين)على بقية المعاملات ، أذ أعطت أعلى متوسط لعدد الأوراق والذي بلغ 23.96 ورقة .فرع$^{-1}$ أنخفض بعدها عدد الأوراق بزيادة التركيز وصولاً الى 11.22ورقة عند التركيز 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ ، أما بالنسبة الى تأثير IAA في متوسط عدد الأوراق فقد كان تأثيره معنوياً وأدى الى خفض متوسط عدد الأوراق كلما زاد التركيز إذ أعطى التركيز 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ أقل متوسط بلغ 13.86 ورقة.فرع$^{-1}$ ، في حين أعطت معاملة القياس (من دون أوكسين) أعلى متوسط لعدد الأوراق بلغ 17.03 ورقة.فرع$^{-1}$، أما بالنسبة لتأثير التداخل بين KIN و IAA فكان تأثيره معنوياً و أدى الى خفض متوسط عدد الأوراق إذ أعطى التداخل بين التركيزين 2.0ملغم.لتر$^{-1}$ KIN و0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA و اعطت أقل متوسط لعدد الأوراق بلغت 7.49 ورقة.فرع$^{-1}$ وأعطت معاملة القياس (من دون منظمات النمو) أعلى متوسط لعدد الأوراق إذ بلغ 28.56 ورقة.فرع$^{-1}$.

تاثير تراكيز KIN و IAA والتداخل بينهما في متوسط الوزن الطري للافرع المتكونة من تضاعف أفرع نبات الستيفيا بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي : تشير النتائج المبينة في الجدول 9 إلى أن أضافة KIN الى وسط التضاعف قد زادت معنوياً من متوسط الوزن الطري أذ أعطى التركيز 1.0 ملغم .لتر$^{-1}$ أعلى متوسط للوزن

الطري بلغ 0.892 غم، بعدها أنخفض متوسط الوزن الطري إذ أعطى التركيز 2.0 أقل متوسط للوزن الطري بلغ 0.718 غم، أما بالنسبة لتأثير الأوكسين IAA المضاف الى وسط التضاعف فقد زاد معنوياً في متوسط الوزن الطري للأفرع المتكونة من تضاعف أفرع الستيفيا خارج الجسم الحي، وأعطى التركيز 0.1 ملغم.لتر$^{-1}$ أعلى متوسط للوزن الطري بلغ 0.866 غم يلاحظ بعدها أنخفاض متوسط الوزن الطري بعدها وصولاًالى التركيز 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ الذي أعطى 0.758 غم وقد أعطت معاملة القياس (من دون أوكسين) أقل متوسط للوزن الطري بلغ 0.645غم. أما فيما يخص تأثير التداخل بين KIN وIAA فيلاحظ أن التأثير كان معنوياً و أعطى التداخل بين التراكيز 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ KIN و0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA .

جدول 8. تاثير تراكيز KIN و IAA والتداخل بينهما في متوسط عدد الأوراق.فرع$^{-1}$ المتكونة من تضاعف أفرع نبات الستيفيا بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي.

	تراكيز KIN ملغم.لتر$^{-1}$						
		0.0	0.5	1.0	1.5	2.0	متوسطات تراكيز IAA
تراكيز IAA ملغم.لتر$^{-1}$	0.0	28.56	15.83	11.92	13.30	15.54	17.03
	0.1	24.40	17.16	10.18	15.86	15.49	16.62
	0.3	22.25	18.75	13.74	14.07	8.86	15.53
	0.5	21.00	9.22	21.43	11.00	7.49	14.03
	1.0	23.61	11.80	12.95	12.22	8.72	13.86
L.S.D$_{(0.05)}$				5.43			2.43
متوسطات تراكيز KIN		23.96	14.55	14.04	13.29	11.22	
L.S.D$_{(0.05)}$				2.43			

جدول 9. تاثير تراكيز KIN و IAA والتداخل بينهما في متوسط الوزن الطري (غم) للافرع المتكونة من تضاعف أفرع نبات الستيفيا بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي.

	تراكيز KIN ملغم.لتر$^{-1}$						
		0.0	0.5	1.0	1.5	2.0	متوسطات تراكيز IAA
تراكيز IAA ملغم.لتر$^{-1}$	0.0	0.381	0.672	0.680	1.095	0.398	0.645
	0.1	1.041	0.714	0.943	0.503	1.131	0.866
	0.3	0.714	0.919	1.267	0.639	0.747	0.857
	0.5	0.652	0.849	0.654	0.889	0.951	0.799
	1.0	0.894	1.099	0.914	0.522	0.365	0.758
L.S.D$_{(0.05)}$				0.249			0.111
متوسطات تراكيز KIN		0.736	0.851	0.892	0.730	0.718	
L.S.D$_{(0.05)}$				0.111			

أعلى متوسط للوزن الطري بلغ 1.267 غم في حين أعطى التداخل بين التراكيز 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ KIN و1.0ملغم.لتر$^{-1}$ IAA أقل متوسط للوزن الطري بلغ 0.365 غم.

تاثير تراكيز KIN وIAA والتداخل بينهما في متوسط الوزن الجاف (غم) للافرع المتكونة من تضاعف أفرع نبات الستيفيا بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي:

تشير النتائج في الجدول10 الى أن أضافة KIN الى وسط التضاعف كان لها تأثير معنوي في متوسط الوزن الجاف، إذ أزداد بزيادة التراكيز و أعطى التركيز 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ أعلى متوسط للوزن الجاف بلغ 0.105 غم الذي أختلف معنوياً عند التركيزين 1.5 و2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ اللذان أعطيا 0.076 و0.074 غم بالتتابع، أما بالنسبة لتأثير أضافة IAA الى وسط التضاعف فكان تأثيره معنوياً في الوزن الجاف إذ أعطى التركيز 0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ أعلى متوسط للوزن الجاف بلغ 0.099 غم وأختلفت عن معاملة القياس التي أعطت أقل متوسط للوزن الجاف بلغ 0.069 غم. بالنسبة للتداخل بين تراكيز KIN و IAA فكان تأثيره معنوياً في زيادة متوسط الوزن الجاف إذ أعطى التركيز 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$IAA ومن دون KIN أعلى متوسط للوزن الجاف بلغ 0.138 غم، في حين أعطى التركيز 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ KIN ومن دون

أوكسين أقل متوسط للوزن الجاف بلغ 0.023 غم. ان هذه التأثيرات أعلاه يمكن أن تعزى إلى الدور الذي يؤديه التوازن بين منظمات النمو المستعملة (الأوكسينات IBA وIAA والسايتوكاينين KIN) في تحديد نمط التمايز الخلوي وتكوين الأعضاء خارج الجسم الحي، إذ يؤدي وجود تراكيز عالية من السايتوكاينينات وواطئة من الأوكسينات في الوسط الغذائي إلى تكوين براعم خضرية تنمو إلى افرع (20)، وتشير الدارسات الى ان الأوكسين يؤدي الى تحفيز الجينات التي يقوم السايتوكاينين بالسيطرة على تعبيرها الجيني وان نواتج التعبير الجيني تؤدي دوراً أساسياً في العمليات البيولوجية مثل انقسام الخلايا وتطور الكلوروبلاست وأيض العناصر المغذية (18)، وقد يعود السبب في هذه التأثيرات (زيادة عدد الأفرع والاوراق) الى أثر السايتوكاينينات المهم وخاصة BA وKIN في تشجيع النمو الخضري عن طريق تحفيز انقسام الخلايا وتمايزها واستقطاب المغذيات الى الاجزاء النباتية المعاملة بها (8) فضلاً عن أن للسايتوكاينينات أثر في إعاقة هدم البروتين والكلوروفيل وتحفيز إنزيمات البناء الضوئي الذي ينعكس اثاره في زيادة حجم الخلية وتشجيع عملية الانقسام والتمايز الشكلي خاصة عندما تصل حالة التوازن المثالية بينما اضيف منه الى الوسط الغذائي مع ما موجود في الوسط الغذائي، كما يؤدى أيضاً الى زيادة بناء RNA والبروتينات والإنزيمات داخل الخلية (4).

جدول 10. تاثير تراكيز KIN و IAA والتداخل بينهما في متوسط الوزن الجاف (غم) للافرع المتكونة من تضاعف أفرع نبات الستيفيا بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي.

	تراكيز KIN ملغم.لتر$^{-1}$						
		0.0	0.5	1.0	1.5	2.0	متوسطات تراكيز IAA
تراكيز IAA ملغم.لتر$^{-1}$	0.0	0.046	0.107	0.075	0.023	0.093	0.069
	0.1	0.117	0.090	0.100	0.105	0.054	0.093
	0.3	0.085	0.125	0.106	0.109	0.071	0.099
	0.5	0.138	0.096	0.123	0.047	0.060	0.093
	1.0	0.090	0.109	0.063	0.098	0.092	0.091
$L.S.D_{(0.05)}$				0.029			0.013
متوسطات تراكيز KIN		0.095	0.105	0.093	0.076	0.074	
$L.S.D_{(0.05)}$				0.013			

تأثير تراكيز السايتوكاينين TDZ (بوجود 0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA) في متوسط عدد الأفرع وطولها وعدد الأوراق.فرع$^{-1}$ لزروعات الستيفيا بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي : توضح النتائج في الجدول 11 ان هناك تأثيرا معنويا لتراكيز السايتوكاينين TDZ في متوسط عدد الافرع لزروعات الستيفيا المتكونة في مرحلة التضاعف خارج الجسم الحي' اذ تفوق التركيز 0.05 ملغم.لتر$^{-1}$ معنويا باعطائه اعلى متوسط لعدد الافرع بلغ 6.6 فرعآ والذي أختلف معنويآعن التركيزين 0.01 و0.03 ملغم.لتر$^{-1}$، وعن معاملة القياس التي أعطت أقل متوسط لعدد الافرع بلغ 2.6 فرعآ، وكان تأثير السايتوكاينين معنويآ في متوسط عدد الاوراق إذ تفوق التركيز 0.05 ملغم.لتر$^{-1}$ على بقية المعاملات باعطائه اعلى متوسط لعدد الاوراق بلغ 12.8 ورقة. فرع$^{-1}$، في حين اعطت معاملة القياس اقل متوسط في عدد الاوراق بلغ 6.4 ورقه. فرع$^{-1}$. دلت النتائج على ان اضافة تراكيز مختلفة من السايتوكاينين TDZ قللت معنويا من طول الافرع المتكونه في مرحلة التضاعف لنبات الستيفيا خارج الجسم الحي، ويلاحظ ان معاملة القياس (من دون TDZ) اعطت اعلى متوسط لطول الأفرع بلغ 9.32 سم بعدها أنخفض متوسط طول الافرع بزيادة تركيز TDZ واعطت المعاملة 0.05 ملغم.لتر$^{-1}$ اقل متوسط لطول الافرع بلغ 2.88. أوضحت نتائج الدراسة الحالية أفضلية استخدام السايتوكاينين TDZ في احداث التضاعف الخضري للستيفيا خارج الجسم الحي.تتفق هذه النتائج مع توصلا اليه Singh وDwivedi (19) من أن استعمال السايتوكاينين TDZ بتركيز منخفض (0.01 ملغم.لتر$^{-1}$) أعطى أعلى متوسط لعدد الأفرع الناتجة من مرحلة التضاعف بلغ 11.0فرعاً بطول 7.17 سم، يعد Thidiazuron (TDZ) احد مركبات الفنيل يوريا الأستبدالية (Substituted phenylurea) التي عرفت في الوقت الحاضر بنشاط السايتوكاينينات تتصف

بفعاليتها العالية متفوقة بذلك على الزياتين الطبيعي المنتج في النبات وأغلب انواع السايتوكاينينات الأخرى (10) بالرغم من كون هذا المركب هو مبيد أدغال بتراكيزه العالية الا انه وفي العقود الثلاثة الأخيرة عرف بتراكيزه المنخفضة (0.1–10 مايكومول) على انه منظم نمو متعدد التاثيرات (Multi-dimensional (plant growth regulator وأهمها تحفيز التفرعات الجانبية وتكوين البراعم العرضية وتوالد الأفرع المباشر أو غير المباشر وتكوين الأجنة الجسمية خارج الجسم الحي (7 و13)، ميكانيكية تأثيره غير معروفة لحد الآن الا ان هناك عدة ميكانيكيات مقترحة أهمها تنشيط استنساخ mRNA وتجميع الأحماض الأمينية وزيادة نفاذية الأغشية الخلوية (7).

جدول 11. تأثير تراكيز السايتوكاينين TDZ (بوجود 0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA) في متوسط عدد الأفرع وطولها وعدد الأوراق.فرع$^{-1}$ لزروعات الستيفيا بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي.

تراكيز TDZملغم.لتر$^{-1}$	متوسط عدد الأفرع	متوسط طول الأفرع سم	متوسط عدد الأوراق.فرع$^{-1}$
0.0	2.6	9.32	6.4
0.01	4.2	4.33	8.2
0.03	5.1	3.23	9.1
0.05	6.6	3.11	12.8
0.10	6.3	2.88	10.4
المتوسط	4.69	4.57	9.38
$L.S.D_{0.05}$	1.135	0.722	1.489

تأثير تراكيز السايتوكاينين TDZ (0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA) في متوسط الوزنين الطري والجاف (غم) لافرع الستيفيا بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي: توضح النتائج في الجدول 12 ان هناك تأثيراً معنوياً لتراكيز السايتوكاينين TDZ في الوزن الطري لافرع الستيفيا المتكونة في مرحلة التضاعف خارج الجسم الحي اذ تفوق التركيز 0.05 ملغم.لتر$^{-1}$ معنوياً باعطائه اعلى وزن رطب بلغ 0.974غم وأختلف معنوياً عن التركيزين 0.01 و0.1 ملغم.لتر$^{-1}$ اللذان أعطيا متوسط وزن رطب بلغ 0.550 و0.561 غم بالتتابع ومعاملة القياس التي أعطت اقل وزن رطب بلغ 0.381غم، وكان تأثير السايتوكاينين معنوياً في زيادة الوزن الجاف إذ تفوق التركيز 0.05 ملغم.لتر$^{-1}$ معنوياً باعطائه اعلى وزن جاف بلغ 0.144غم واختلف معنوياً عن معاملة القياس التي أعطت أقل وزن جاف بلغ 0.046غم.

جدول 12. تأثير تراكيز السايتوكاينين TDZ (بوجود 0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA) في متوسط الوزنين الطري والجاف (غم) لافرع الستيفيا بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي

تراكيز TDZملغم.لتر$^{-1}$	الوزن الطري	الوزن الجاف
0.0	0.381	0.046
0.01	0.550	0.089
0.03	0.827	0.122
0.05	0.974	0.144
0.10	0.561	0.094
المتوسط	0.659	0.093
$L.S.D_{0.05}$	0.317	0.038

ان تأثير السايتوكاينينات المختلفة في احداث التضاعف الخضري ومن ثم زيادة الوزنين الطري والجاف يأتي من خلال دورها في انقسام الخلايا والقضاء على ظاهرة السيادة القمية إذ يعتقد بأن وجود السايتوكاينين كجزء من الحامض النووي الناقل t-RNA وبالقرب من الشفرة المضادة Anti-codon فأن له دوراً مهماً في ربط t-RNA مع m-RNA اثناء تكوين البروتينات، إذ ان t-RNA الخالي من سلسلة Isopentenyl الجانبية التابعة للقاعدة Adenin يكون غير فعال وان اضافة السايتوكاينينات تؤدي الى تنشيط RNA (2)، كما تم في السنوات الأخيرة التوصل الى أن السايتوكاينينات تنظم التعبير الجيني على مستوى الأستنساخ Transcriptional level أيضاً، فقد لوحظ ان زيادة طفيفة في مستوى السايتوكاينين الداخلي قد رافقتها زيادة كبيرة في مستوى m-RNA في خلايا نبات التبغ (18).

REFERENCES

1.Abdul Razak, U. N., C. B. Ong, T. S. Yu, L.K. Lau. 2014. *In vitro* Micropropagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni in Malaysia. Brazilian Archives of Biology and Technology. 57(1): 23-28.

2.Al-Khafaji, M. A. 2014. Plant Growth Regulators, Application and Utilizations in Horticulture. Bookstore for Printing, Publishing and Translating, University of Baghdad. p: 132-138.

3. Al-Rawi, K. M. and A. M. Khalafallah. 2000. Design and Analysis of the Agricultural Experiments. 2nd Ed. Dar Al-Kutoob for Printing and Publ. Coll. of Agric., and Forest, Univ. of Mosul. pp: 420.

4.Al-Rifaee, A. T. and S. A. Al-Shobaki. 2002. The 21th Century Techniques for Plant Improvement Using Plant Tissue Culture. 1st edition, Al-Fiker Al-Arabi for Printing and Publishing, Cairo, Egypt. pp: 548.

5.Chalapathi, M.V. and S. Thimmegowda. 1997. Natural non-calorie sweetener stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) A future crop of India. Crop Research Hisar, 14 (2), 347-350.

6.Choi, Y. H., I. Kim, K. D. Yoon, S. J. Lee, C. Y. Kim and K. P. Yoo. 2002. Supercritical fluid extraction and liquid chromatographic-electrospray mass spectrometric analysis of stevioside from *Stevia rebaudiana* leaves. Chromatographia 55(9– 10):617−620.

7.Guo B., B. H. Abbasi, A. Zeb, L. Xu, and Y. H. Wei. 2011. Thidiazuron: A multi-dimensional plant growth regulator. African Journal of Biotechnology. 10(45) 8984-9000.

8.Hartmann, H. T.; D. E. Kester; F. T. Davies and R. L. Geneve. 1997. Plant Propagation and Practices, sixth Edition. Hall Inc., New Jersey, USA. pp: 685.

9.Hassanen, S. A and R. M. A. Khalil. 2013. Biotechnological studies for improving of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) in vitro plantlets. Middle-East Journal of Scientific Research 14(1):93-106.

10.Huetteman, A. and E.J. Preece. 1993. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. Plant Cell. Tiss. Org. Cult., 33: 105-119.

11.Laribi, B., N. Rouatbi, K. Kouki, and T. Bettaieb. 2012. In vitro propagation of *Stevia rebaudiana* Bert. A non-caloric sweetener and antidiabetic medicinal plant. Int. J. Med. Arom. Plants. 2(2):333-339.

12.Ma, L. and S. Yan. 2009. Identification of *Stevia rebaudiana* Bertoni proteins by sodium dedecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis. Asian Journal of Crop Science. 1(1): 63-65.

13.Malik, K.A. and P.K. Saxena. 1992. Regeneration in *Phaseolus vulgare* L., high frequency induction of direct shoot formation in intact seedlings by N6 - benzylaminopurine and thidiazuron. Planta, 186: 384-389.

14.Miyazaki, Y. and Wantenabe, H. 1974. Studies on the cultivation of Stevia; on the propagation of plant. Japanese Journal of Tropical Agriculture, 17:154-157.

15.Miyagawa, H., N. Fujioka, H. Kohda, K. Yamasaki, K. Taniguchi and R. Tanaka. 1986. Studies on the tissue culture of *Stevia rebaudiana* and its components. II. Induction of shoot primordia. Planta Medicinal, 52:321–323.

16.Mizutani, K. and O. Tanaka, 2002. Use of *Stevia rebaudiana* sweeteners in Japan. In: A. D. Kinghorn (Ed.), Stevia, the Genus Stevia. Medicinal and Aromatic Plants Industrial Profile London: Taylor and Francis.Vol.19, p: 178–195 .

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

18.Schmülling, T., S. Schäfer and G. Romanov. 1997. Cytokinins as regulators of gene expression. Physiol. Plant., 100(3):505-512.

19.Singh, P. and P. Dwivedi. 2014. Two-stage culture procedure using thidiazuron for efficient micropropagation of *Stevia rebaudiana*, an anti-diabetic medicinal herb. 3 Biotech 4:431–437.

20.Skoog, F. and C.O. Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *in vitro*. Symp. Soc. Exp. Biol. 9:118-131.

21.Starratt, A.N., C.W. Kirby, R. Pocs and J.E. Brandle. 2002. Rebaudioside F, a diterpene glycoside from Stevia rebaudiana. Phytochemistry 59, 367–370.