اكثار نبات المورنغا *Moringa oleifera* خارج الجسم الحي

انتصار رزاق ابراهيم[1] * سامي كريم محمد امين[2]
مدرس مساعد استاذ
1–قسم علوم الحياه– كليه العلوم– جامعه رابرين
2–قسم البستنه وهندسه الحدائق– كليه الزراعه– جامعه بغداد
nurseranya@yahoo.com

المستخلص:

نفذ البحث في مختبر الزراعة النسيجية التابع لكلية الزراعة/ جامعة بغداد، للمده من شباط 2015 إلى مايس 2016. بهدف الاكثار الدقيق لنبات المورنغا *Moringa oleifera*، بزراعة العقد المفردة في وسط MS المجهز بتراكيز مختلفة من منظمات النمو وبلغت افضل استجابه للعقد المفردة 90%عند زراعتها في الوسط المجهز بـ 1 ملغم.لتر$^{-1}$ BA و0.2 ملغم. لتر$^{-1}$ IAA. وفي مرحلة التضاعف أظهرت النتائج تفوق الوسط الغذائي MS المجهز بالـ BA بالتركيز 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ مع 0.1 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA كان الافضل في زيادة عدد الافرع مقارنه بالـ Kin اذ بلغت (6.40 فرع/ جزء نباتي)، في حين اعطت المعامله الخاليه من الـ BA والحاويه على 0.2 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA افضل طول للافرع بلغ 4.15 سم. في مرحلة التجذير اظهرت النتائج ان وسط MS بنصف قوه تركيز الاملاح والمجهز بـ 1 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA و1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA، كان ذا تأثير معنوي في تجذير المورنغا، إذ اعطت هذه المعاملة اعلى متوسط عدد الجذور وطولها بلغت (7.2 جذر/فرع، 6.14 سم) بالترتيب. بلغت نسبة النبيتات المتأقلمة 70% عند الزراعة في وسط زراعي مكون من 3:1 زميج وبيتموس. يتضح من نتائج التجربه ان منظم نمو BA كان الافضل في زيادة عدد الافرع مقارنه بالـ Kin وان نصف تركيز قوه املاح الـ MS كان الافضل في تجذير النبيتات مقارنه بقوة تركيز املاح MS الكامله.

الكلمات المفتاحية: الاكثار، خارج الجسم الحي، المورنغا، الاوكسينات، السايتوكاينينات.

*البحث مستل من اطروحه دكتوراه للباحث الاول.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences –1089-1098: (4) 48/ 2017 Ibrahim & Ameen

IN VITRO PROPAGATION OF *MORINGA OLEIFERA*

I. R. Ibrahim[1] * S. K. M. Ameen[2]
Assist. Lecturer Prof.
1-Dept. of Biology- College of Science - University of Raparin
2- Dept. of Hort.- College of Agriculture-University of Baghdad
nurseranya@yahoo.com

ABSTRACT

This research was conducted at the plant tissue culture lab. - College of Agriculture – University of Baghdad from February 2015 to May 2016. The Study was aimed to investigate the in vitro propagation of *Moringa oleifera*, by inoculation a single nodal segment in MS medium supplemented with different concentrations of plant growth regulators. The best responded of single node reached to 90% was achieved with MS medium supplemented with 1 mg. L^{-1} BA and 0.2 mg. L^{-1} IAA. At Multiplication stage results showed that MS medium supplemented with 2 mg. L^{-1} of BA with 0.1 mg. L^{-1} IAA increased numbers of shoot comparing with the Kin; (6.40 shoot /exp.) While the treatment of MS medium supplemented with 0.2 mg. L^{-1} IAA without BA gave the best shoots length which reached 4.15 cm. In rooting stage, shoots have been cultured in MS medium supplemented with different concentrations of Auxins. Results showed that MS medium at half strength supplemented with 1 mg. L^{-1} of IBA and 1.5 mg. L^{-1} IAA significantly increased the number of roots per shoot, roots length up to (7.2 roots/shoot and 6.14 cm) respectively. The survival percentage of plantlets was 70% when they planted in a composed consisted of 3:1 (v:v) peatmoss: soil mixture. We found that BA increased numbers of shoot comparing with the Kin and MS medium at half strength was the best in rooting plantlet comparing with MS medium at full strength.

Keywords: propagation, *in vitro*, *moringa*, auxins, cytokinins.
***Part of PhD. dissertation of the first author.**

Received:13/12/2016
Accepted:29/1/2017

المقدمة

يعد نبات المورنغا *Moringa oleifera* من اشجار الزينه وينتمي الى العائلة Moringaceae. موطنه الاصلي شمال غرب الهند وتنجح زراعته في افريقيا وامريكا الوسطى والجنوبية واسيا (1، 31) تحتوي عائلة المورنغا على 13 نوع اشهرها النوع *olifera* (13) ولهاعدة أسماء حول العالم منها شجرة الحياه، الحبة الغالية، شجرة البان، شجرة اليسر اواليسار، الثوم البرّي، فجل الحصان (Horse radish) وعصا الطبلة (drumstick) (1)، كما تسمّى ايضا الشجر الروّاق لاحتواء بذور ثمارها على مركّبات زيتية لها القدرة على تجميع وترسيب المواد العالقة بالماء، فيتحول الى ماء صالح للشرب، أوالشجرة المعجزة لأنها تحمل جوانب إنسانية عديدة للفقراء لكونها مصدرا" غذائيا" لهم (2). ان كافة اجزاء الشجرة تقريبا ذات أهمية غذائية وطبية، فالنبات يشكل غذاء متكاملا" في بعض مناطق افريقيا واسيا، إذ تستعمل الأوراق كمكمل غذائي للمصابين بنقص المناعة لما تحتويه من كميات كبيرة من الفيتامينات، والكربوهيدرات، والحوامض الامينية، والبيتا كاروتين، والحديد، والبوتاسيوم، والفسفور، والكالسيوم وعنصري الزنك والسلينيوم ومضادات الاكسدة (15، 42). تحتوي البذور على زيت يوازي في قيمته الغذائية والعلاجية زيت الزيتون يستعمل في اغراض الطبخ وصناعة العطور والكريمات وكمصدر للطاقة وكوقود حيوي (29، 41) كما تستعمل البذور في تنقية المياه من الشوائب والبكتريا عن طريق اضافة بقايا البذور بعد استخلاص الزيت منها، أو اضافة اغلفة البذور الى خزانات المياه وذلك لما تمتلكه من خاصية تجميع وترسيب الشوائب الصلبة والبكتريا العالقة بالمياه (2، 9) ومن الخصائص الطبيه الرئيسه الاخرى للنبات هي استعماله كمدرر، ومنظم لضغط الدم، والسكر، ومخفض جيد لنسبه الكوليسترول وكذلك يعمل على حمايه وظائف الكبد (23، 34). وبالتالي فان جميع اجزاء هذه الشجرة يساعد في علاج امراض عديده قد يتعرض الانسان للاصابه بها (10، 16) ولأهمية هذا النبات الغذائية والطبية وبسبب الحاجه الى البذور لاستخلاص الزيت منها، أو استعمالها في الاكل او تصفيه المياه لذلك جرى التوجه الى اكثارها بالعقل الا ان مساويء هذه الطريقه تتمثل بتقليل نمو الامهات وربما يؤدي في بعض الاحيان الى موتها (21) لذلك لجأ الباحثون الى اكثار المورنغا باستعمال تقنيه زراعه الانسجه، ففي تجربه اجراها Islam وآخرون (21) عند زراعتهم عقد نبات المورنغا في وسط MS وباستعمال عدة تراكيز من BA 0، 0.5، 1.0، 1.5، 2.0 و 2.5 ملغم.لتر$^{-1}$ وجدوا ان الوسط الحاوي على 1.0– 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$اعطى اكبر عدد من الافرع. في حين ان Stephenson وFahey (39) حصلا على 4.7 فرع. جزء نباتي عند الزراعه على وسط MS الحاوي على 1 ملغم. لتر$^{-1}$ BA، وبين Saini واخرون (35) ان التركيز0.1 ملغم. لتر$^{-1}$ من BA كان الامثل في انتاج اكبر عدد من الافرع وبمتوسط 9 فرع/ جزء نباتي وذلك بعد 15 يوم من الزراعة. حيث اتجهت الدراسات التطبيقيه في العقود الاخيره الى استعمال تقنيه زراعه الانسجه في اكثار انواع كثيره من النباتات اذ تمتاز بامكانيه انتاج اعداد كبيره من النباتات والمشابهة للنبات الام في وقت قصير نسبيا وعلى مدار السنه وفي مساحه صغيره (8)، لذلك فأن هدف البحث توظيف تقنية زراعة الانسجة في اكثار نبات المورنغا خارج الجسم الحي.

المواد وطرائق العمل

نفذت الدراسة في مختبر زراعة الانسجة النباتية– الدراسات العليا– كلية الزراعة– جامعة بغداد للمده من شباط 2015إلى مايس 2016 .

تحضير الوسط الغذائي

استعمل (MS) (27) الجاهز بقوة كامله في جميع مراحل البحث، ونصف قوه في مرحله التجذير وربع قوة في مرحله الاقلمة، وأضيف السكروز واكمل الحجم بالماء المقطر، وعدل الاس الهايدروجيني pH الى 5.7 من خلال اضافة قطرات من محلول واحد عياري من هيدروكسيد الصوديوم (NaOH)، أو حامض الهيدروكلوريك (HCl) قبل اضافه الاكار الذي اذيب بالتسخين لحين الغليان، وزع الوسط في انابيب الزراعة زجاجية Screw glass vials بأبعاد 85 x 28 ملم، وعقمت بجهاز الموصدة Autoclave على درجة حرارة 121م° وضغط 1.04 كغم.سم^{2} لمدة 15 دقيقة.

تعقيم البذور وزراعتها

عقمت البذور التي تم الحصول عليها من قسم البحوث والدراسات في دائره البستنه والغابات/ وزارة الزراعه بأستعمال

القاصر التجاري تركيز6% من هايبوكلورات الصوديوم NaOCl، اذ غسلت البذور بالماء والصابون السائل لازالة الاتربة والاوساخ العالقة، ونقلت الى جهاز Laminar air flow hood، غمرت البذور بالتركيز 4 % ولمده 15 دقيقة، غسلت البذور بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات، ثم ازيلت اغلفه البذور وغسلت البذور بالماء المقطر المعقم، لضمان ازالة بقايا المادة المعقمة والاغلفه من البذور ثم زرعت البذور المعقمة في انابيب زراعة مجهزة بوسط MS الصلب المعقم كامل قوة املاح والخالي من منظمات النمو (شكل 1)، وحضنت على درجة حرارة 25 ±2 م° في الظلام لحين انباتها خلال 10 – 14 يوم. وضعت بعد ذلك في غرفة تنميه الزروعات وعلى شدة إضاءة مقدارها 1000 لوكس ولمدة 16 ساعة ضوء و8 ساعة ظلام، وعند بلوغ البادرات عمر شهر تم استئصال العقد.

شكل 1. زراعة البذور في وسط MS الصلب

مرحله النشوء

زرعت العقد في وسط نشوء الزروعات الحاوي على توليفة من منظمات النمو. وسط MS المجهز بتراكيز مختلفة من السايتوكاينين BA 0 ، 0.5، 1.0، 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ والاوكسين IAA 0، 0.05، 0.1، 0.2 ملغم.لتر$^{-1}$ بوجود 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ GA3 (35) استعمل عشرة مكررات لكل معاملة اذ زرعت عقدة مفرده في كل انبوبة على حدة وعدت كل انبوبة مكرر ثم نقلت الزروعات النباتية الى غرفة النمو بدرجة حرارة 25 م°± 2 وعلى شدة إضاءة مقدارها 1000 لوكس ولمدة 16 ساعة ضوء و8 ساعة، اخذت النتائج بعد مرور اربعة اسابيع من الزراعة المتمثلة بالنسبة المئوية للاستجابة بحسب المعادلة الاتية:

نسبة الاستجابة %= عدد الاجزاء المستجابة \ العدد الكلي × 100

مرحلة التضاعف

اخذت النموات الناشئة من مرحله النشوء بالتركيز 1 ملغم.لتر$^{-1}$ BA +0.2 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA لغرض ادخالها في تجارب التضاعف، احتوى وسط التضاعف على توليفات مختلفة من منظمات النمو والتي شملت منظمات النمو IAA، Kin، BA وكانت تراكيز الأوكسين IAA 0.1, 0 , 0.05، 0.2 ملغم.لتر$^{-1}$، أما السايتوكاينين Kin فأضيف بالتراكيز0 ,1.0, 2.0 ، 4.0 ملغم.لتر$^{-1}$ وBA بالتراكيز 0 ,1.0 ,2.0, 4.0 ملغم.لتر$^{-1}$، البحث تضمن تاثير تراكيز IAA + BA او تاثير تراكيز IAA + Kin وبواقع عشرة مكررات لكل تركيز وحضنت الزروعات النباتيه في غرفة النمو بدرجة حرارة 25 م°± 2 وعلى شدة إضاءة 1000 لوكس ولمدة 16 ساعة ضوء و 8 ساعة ظلام، اخذت النتائج بعد مرور اربعة اسابيع من الزراعة والمتمثلة بعدد الافرع واطوالها. تم اعتماد افضل توليفة من هذه التجربه والاكثار عليها لمضاعفة الافرع الخضريه والحصول على العدد الكافي لادخالها بالتجارب اللاحقه.

مرحلة التجذير

نقلت الافرع الناتجة من أفضل معاملة من مرحلة التضاعف الخضري 2 ملغم.لتر$^{-1}$ BA +0.1 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA الى اوساط التجذير وبواقع فرع لكل قنينه وبعشرة مكررات لكل معامله، اذ استخدمت كل من املاح MS قوة كاملة اونصف القوة بالتداخل مع IAA بالتراكيز 0، 1.0، 1.5، 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ اوال IBA بالتراكيز 0، 1.0، 1.5، 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ حضنت الزروعات بالظروف السابقة نفسها لتشجيعها على التجذير وسجلت البيانات عن حساب عدد الجذور واطوالها وذلك بعد اربعة اسابيع من الزراعة.

مرحلة الاقلمة

غسلت النبيتات الناتجة من مرحلة التجذير بالماء الجاري للتخلص من بقايا الوسط الغذائي ثم وضعت في محلول يحتوي ربع قوه املاح MS وتركت لمدة أسبوع في غرفة النمو، بعدها عقم وسط الزراعه المكون من الزميج والبيتموس بنسبه 3:1 بجهاز التعقيم البخاري لمده 20 دقيقه وبدرجة حرارة 121م°، وضغط 1.04كغم/سم^2 بعدها اخذت النبيتات وغطست بالمبيد الفطري بلتانول بتركيز 2 مل.لتر$^{-1}$ ثم زرعت في اصص بلاستيكية بقطر15سم وسقيت بالماء

وغطيت باغطية زجاجية للمحافظه على مستوى مناسب من الرطوبة، روعي رفع الاغطية عنها بشكل تدريجي (5)، اخذت البيانات عن نسبه نجاح النباتات بعد اسبوعين من الزراعة.

التصميم التجريبي والتحليل الإحصائي

نفذت جميع التجارب كتجارب عامليه باستعمال التصميم التام التعشيه (CRD). وبواقع عشره تكررات لكل معامله ولجميع التجارب، وحللت النتائج باستعمال البرنامج الإحصائي (36) SAS وقورنت المتوسطات باستعمال اقل فرق معنوي L.S.D لبيان الفروقات الإحصائية بين المعاملات وعلى مستوى احتمال 5% (7).

النتائج والمناقشه

مرحله النشوء

تأثير الـBA والـ IAA والتداخل بينهما في استجابه العقده المفرده للبادرات: بينت نتائج الجدول 1 تفوق التركيز 1 ملغم.لتر$^{-1}$BA معنويا على بقيه التراكيز في إعطائه اعلى نسبة استجابة بلغت 72.5% اما بالنسبه لتراكيز IAA فقط اعطى التركيز 0.2 ملغم.لتر$^{-1}$ اعلى نسبه إستجابة للعقده النباتية بلغت 62.5%. اما التداخل بين تراكيزBA وIAA فقد كان معنوياً. فلوحظ إن التركيز 1 ملغم.لتر$^{-1}$ BA بالتداخل مع التركيز0.2 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA تفوق معنويا على باقي المعاملات في اعطاء اعلى نسبة إستجابة بلغت 90%. أما أقل نسبة إستجابة فكانت عند الوسط الخالي من منظمي النمو والتي بلغت 30%، وقد يعود سبب إرتفاع نسبة إستجابة العقد المفردة المزروعة على وسط يحتوي على 1ملغم.لتر$^{-1}$ BA بالتداخل مع التركيز 0.2 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA إلى توفر النسبة المثالية بين السايتوكاينين والاوكسين لاحداث الاستجابة. والمعروف ان وجود السايتوكاينين مع الاوكسين مهم في دفع النمو باتجاه تكوين الافرع لاسيما إن تأثير السايتوكاينين في انقسام الخلايا يزداد بوجود الاوكسين، وللسايتوكاينينات دور في تحفيز انقسام الخلايا ومساهمتها في سرعة تكشف النموات الخضرية فضلاً عن تشجيعها لجذب وتجميع المواد اللازمة لادامة النمو مما يزيد من سرعة النمو (11)، وتتفق هذه النتائج مع نتائج عدد من الباحثين (4، 35، 39) .

جدول 1. تأثير BA وIAA والتداخل بينهما في نسبة استجابة العقد المفرده لنبات المورنغا في مرحله النشوء بعد 4اسابيع من الزراعة على الوسط MS

تراكيز BA ملغم.لتر$^{-1}$	تراكيز IAA ملغم.لتر$^{-1}$				المتوسط
	0	0.05	0.1	0.2	
0	30.0	40.0	50.0	60.0	45.0
0.5	50.0	50.0	70.0	60.0	57.5
1.0	50.0	80.0	70.0	90.0	72.5
1.5	60.0	70.0	50.0	40.0	55.0
L.S.D.	43.8				21.9
المتوسط	47.5	60.0	60.0	62.5	
L.S.D.	21.9				

مرحله التضاعف

تأثير BA وIAA والتداخل بينهما في عدد الافرع: يشير الجدول 2 الى تفوق تركيز 2 ملغم.لتر$^{-1}$ من BA معنويا على باقي التراكيز في زياده متوسط عدد الافرع اذ بلغ 4.23 فرع/ جزء نباتي، والذي يعزى الى الفعل التحفيزي للـ BA في زيادة بناء RNA، ثم البروتينات والانزيمات وحث الخلايا على الانقسام والتمايز وينتج من ذلك تمايز الانسجة المزروعة خارج الجسم الحي الى أفرع خضرية، كذلك أشار الكثير من الباحثين الى الدور الذي تؤديه السايتوكاينينات في التراكيز الملائمة في الزراعة النسيجية من حيث فعلها في كسر السيادة القمية وانشائها مناطق جذب (Sinks) في البراعم الجانبية، تحفز من سرعة انتقال المغذيات إليها التي ينتج منها تحفيز نمو البراعم وتحسين نموها (14، 24). يلاحظ من الجدول ايضا ان اقل عدد افرع كان عند معامله المحايد اذ بلغ 1.88 فرع/ جزء نباتي وان عدد الافرع زاد بزياده تركيز الـ BA الا انها انخفضت عند التركيز العالي من الـ BA 4.0 ملغم.لتر$^{-1}$ اذ بلغت عدد الافرع 3.20 فرع/ جزء نباتي ويعزى السبب الى ان زيادة تراكيز BA في الوسط الغذائي يزيد من متوسطات الاستجابة حتى تصل إلى الحالة المثلى وذلك عند تحقيق حالة التوازن الهورموني الذي يؤدي إلى الاستجابة المثلى لنمو الاجزاء النباتية المزروعة. أما المستويات المرتفعة من BA فانها تسبب تناقص في متوسطات النمو بسبب اضطراب العمليات الحيوية داخل الأنسجة نتيجة اختلال التوازن الهورموني فيها، الأمر الذي يؤدي إلى انخفاض متوسطات النمو للأجزاء النباتية (38). يلاحظ من خلال نتائج الجدول نفسه إن لتراكيز IAA تأثيراً معنوياً في زياده عدد الافرع إذ تفوق التركيزين 0.05 و 0.1

ملغم.لتر$^{-1}$ معنوياً في اعطاء أعلى متوسط عدد افرع بلغ 3.48 و4.05 فرع/ جزء نباتي بالترتيب، ويلاحظ من التأثير المشترك لتراكيز BA مع IAA تفوق المعاملة 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ BA + 0.1 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA، إذ أعطت أعلى متوسط لعدد الأفرع بلغ 6.40 فرع/جزء نباتي والذي اختلف معنوياً عن بقية المعاملات (شكل 2)، وقد يعزى ذلك الى ان فعالية السايتوكاينين في إحداث التضاعف تزداد بوجود الاوكسين في الوسط الغذائي (28). وأعطت المعاملات التي تحتوي على IAA فقط اقل المتوسطات لعدد الأفرع، وقد يعود سبب ذلك الى دور الاوكسين في منع نمو البراعم الجانبية نتيجه للسياده القميه (24).

شكل 2. تضاعف أفرع المورنغا المزروعة على وسط MS المجهز 02.0 ملغم.لتر$^{-1}$ BA و 0.1 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA

إن النتائج المتحققة لا تتفق مع ماوجده (19) اللذان اكدا ان اقصى تضاعف حصل في وسط MS خالٍ من الـ BA، الا انها تتفق مع ماوجده (5، 33) الذين اكدوا ضرورة احتواء الاوساط الغذائية على الـ BA بغية تحقيق متوسط تضاعف عالٍ.

جدول 2. تأثير BA وIAA والتداخل بينهما في عدد الافرع لنبات المورنغا المزروع على الوسط MS لمده اربعه اسابيع

تراكيز BA ملغم. لتر$^{-1}$	تراكيز IAA ملغم. لتر$^{-1}$ 0	0.05	0.1	0.2	المتوسط
0	1.60	1.80	2.00	2.10	1.88
1.0	1.60	3.20	4.10	2.30	2.80
2.0	2.30	5.20	6.40	3.00	4.23
4.0	2.50	3.70	3.70	2.90	3.20
المتوسط	2.00	3.48	4.05	2.58	
L.S.D	0.59 = IAA ، 0.59 = BA 1.17= IAA × BA				

تأثير BA و IAA والتداخل بينهما في اطوال الافرع : يتبين من نتائج الجدول 3 تفوق الوسط الخالي من BA في متوسط أطوال الأفرع عن بقية التراكيز إذ بلغ 4.15 سم وربما يعود السبب انخفاض عدد الفروع في هذه المعاملات فتزداد فرصة حصولها على الغذاء من الوسط مقارنة بالمعاملات الأخرى، كما ان التركيز العالي من BA 4.0 ملغم.لتر$^{-1}$ قد ادى الى انخفاض معنويا في هذه الصفه اذ سجل 2.71 سم وذلك يعود الى تثبيط متوسط النمو وزيادة انتاج الاثلين عند التراكيز المرتفعة من BA (17)، او ان السايتوكاينين يحفز الانقسام الخلوي وزيادة عدد الخلايا وحجمها قطريا بالاتجاه العرضي وليس الطولي مما ينتج عنه قصر العضو النباتي وزيادة قطره (20)، اما عن تأثير تراكيز IAA فيلاحظ في الجدول نفسه ان أفرع المورنغا المزروعة على وسط MS الخالي من IAA أعطت أعلى متوسط لطول الأفرع بلغ 3.37 سم والذي أختلف معنوياً عن بقية المعاملات ماعدا معاملة الوسط المجهز بـ 0.2 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA، إذ أعطت 3.23 سم. اما بالنسبه للتأثير المشترك للـ BA مع IAA فيلاحظ تفوق المعاملة 0 ملغم.لتر$^{-1}$ BA + 0.2 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA، إذ أعطت أعلى طول للأفرع بلغ 4.15 سم وقد يعزى ذلك الى ان الاوكسينات مسؤولة عن استطالة الخلايا. واقل طول عند المعامله 4.0 ملغم . لتر$^{-1}$ BA + 0.2 ملغم. لتر$^{-1}$ IAA اذ بلغ 1.93 سم وربما يعود السبب الى ان زيادة تركيز السايتوكاينينات في الوسط الغذائي يقلل دور الاوكسين المتراكم في داخل الأفرع المسؤول عن استطالة خلايا الساق باتجاه المحور الطولي ومن ثم تقصير طول الفرع (38).

جدول 3. تأثير BA و IAA والتداخل بينهما في طول الأفرع (سم) المتكونه على افرع نبات المورنغا في الوسط MS بعد اربعه اسابيع من الزراعه

تراكيز BA ملغم. لتر$^{-1}$	تراكيز IAA ملغم. لتر$^{-1}$ 0	0.05	0.1	0.2	المتوسط
0	2.97	2.51	3.16	4.15	3.20
1.0	2.75	3.27	3.00	4.11	3.28
2.0	4.12	3.03	2.16	2.74	3.01
4.0	3.62	2.54	2.73	1.93	2.71
المتوسط	3.37	2.84	2.76	3.23	
L.S.D.	0.39 = IAA ، 0.39 = BA 0.78= IAA × BA				

تأثير KIN وIAA والتداخل بينهما في عدد الافرع: تشير نتائج الجدول 4 الى تفوق Kin معنوياً عند التركيز 2.0

ملغم.لتر$^{-1}$ على بقيه التراكيز، إذ أعطى أعلى متوسط لعدد الأفرع بلغ 3.20 فرع/جزء نباتي، والذي يعزى الى دور Kin في تشجع انقسام الخلايا وتمايزها ونمو البراعم الابطية (12). في حين ان المعاملة الخالية من السايتوكانين والتي تحتوي على اوكسين فقط فلم تعط اي استجابة تذكر لعدد الافرع اذ بلغت 1.68 فرع/جزء نباتي وقد يعود السبب الى منع الاوكسين حدوث اتصال وعائي بين الانسجة الوعائية للبراعم والانسجة الوعائية للساق مما يؤدي الى عدم او قلة مرور المواد الغذائية من انسجة الساق الى البراعم ومن ثم قلة نموها واستطالتها (32). ويبين الجدول نفسه ان اعلى متوسط لعدد الأفرع تحقق عند التركيزين 0.1 ملغم.لتر$^{-1}$ و 0.05 ملغم.لتر$^{-1}$ من IAA وبلغ 3.35 و 3.03 فرع/جزء نباتي بالترتيب. في حين انخفض عدد الافرع عند التراكيز العاليه من IAA اذ بلغ 2.10 فرع /جزء نباتي والذي يعزى الى ان تراكيز الأوكسينات العالية تعمل على تثبيط انقسام الخلايا من خلال الأثيلين المثبط للنمو فضلاً عن دور الاوكسين في تشجيع السيادة القمية وتثبيط نمو الافرع الجانبية (24). اما تأثير التداخل فان المعامله 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ KIN و 0.1 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA كانت الافضل في زياده عدد الافرع اذ بلغ 4.3 فرع/ جزء نباتي، واقله في معامله المحايد بلغ 1.2 فرع/جزء نباتي. من المعروف ان وجود السايتوكاينين مع الاوكسين مهم في دفع النمو باتجاه تكوين الافرع لاسيما وإن تأثير السايتوكاينين في انقسام الخلايا يزداد بوجود الاوكسين، كما وتعمل النسبة العالية من السايتوكاينين الى الاوكسين في زيادة تكوين الافرع.

جدول 4. تأثير KIN وIAA والتداخل بينهما في عدد الأفرع الناتجه من زراعه الافرع لنبات المورنغاعلى الوسط MS لمده اربعه اسابيع

تراكيز KIN ملغم.لتر$^{-1}$	تراكيز IAA ملغم.لتر$^{-1}$				المتوسط
	0	0.05	0.1	0.2	
0	1.20	2.10	1.80	1.60	1.68
1.0	1.90	3.00	3.70	2.20	2.68
2.0	2.00	3.80	4.30	2.70	3.20
4.0	2.20	3.20	3.70	1.90	2.75
المتوسط	1.83	3.03	3.35	2.10	
L.S.D.	KIN = 0.52 ، IAA = 0.52 ، KIN × IAA = 1.54				

تأثير KIN وIAA والتداخل بينهما في طول الافرع: أظهرت نتائج الجدول 5 تفوق الوسط الخالي من الـ KIN معنوياً على التراكيز جميعها إذ أعطى متوسطا اعلى لطول الأفرع بلغ 3.88 سم. في حين قلت اطوال الفروع باضافه Kin اذ ان زيادة تركيز السايتوكاينين في الوسط الغذائي يقلل من دور الاوكسين الداخلي المسؤول عن استطالة الخلايا باتجاه المحور الطولي وهذا يؤدي بالنتيجة الى تقليل اطوال الفروع (18)، كما تبين نتائج الجدول نفسه تفوق الوسط الخالي من IAA في اعطاء اعلى متوسط لطول الافرع بلغ 3.32 سم، وعدم اختلافه معنوياً عن بقية التراكيز باستثناء التركيز 0.1 ملغم.لتر$^{-1}$. ويلاحظ من التأثير المشترك لتراكيز KIN مع IAA تفوق المعاملة 0 ملغم.لتر$^{-1}$ KIN + 0.2 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA، إذ أعطت أعلى طول افرع بلغ 5.12 سم والذي اختلف معنوياً عن بقية المعاملات وهذا يتفق مع (6) ازدادت اطوال الافرع بزياده تركيز الاوكسين IAA.

جدول 5. تأثير KIN وIAA والتداخل بينهما في طول الأفرع (سم) الناتجه عن زراعه افرع نبات المورنغا على الوسطMS لمده اربعه اسابيع

تراكيز KIN ملغم.لتر$^{-1}$	تراكيز IAA ملغم.لتر$^{-1}$				المتوسط
	0	0.05	0.1	0.2	
0	4.47	3.41	2.53	5.12	3.88
1.0	2.32	3.12	2.16	3.37	2.74
2.0	3.17	3.15	1.87	2.11	2.58
4.0	3.30	3.21	3.87	1.97	3.09
المتوسط	3.32	3.22	2.61	3.14	
L.S.D.	KIN = 0.46 ، IAA = 0.46 ، KIN × IAA = 0.93				

مرحله التجذير

تأثير قوه املاح MS والـ BA وIAA والتداخل بينها في عدد الجذور : يتضح من الجدول 6 ان اضافه IBA الى الوسط بالتركيز 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ اعطى اعلى عدد من الجذور بلغت 4.43 جذر/فرع والذي لم يختلف معنويا عن التركيز 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ الذي اعطى 4.18 جذر/ فرع وان زيادة تركيز منظمات النمو تؤدي الى زيادة متوسطات عدد الجذور وصولا الى التركيز الامثل وان التراكيز العالية التي تفوق التركيز المثالي تؤدي الى تثبيط بادئات الجذور وتقلل عددها (20). ان كفاءة IBA في عملية التجذير تعود الى ثباتيته العالية نسبيا العائدة لعدم تأثره بالانزيمات المسؤولة عن هدم الاوكسينات (30). اما عن تأثير IAA فقد تفوق التركيز 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ معنويا على باقي التراكيز في زياده عدد الجذور اذ بلغ 4.45 جذر/فرع. اما بالنسبه لتأثير قوه

املاح الوسط فلم يكن معنويا في تأثيره على عدد الجذور. اما بالنسبه للتداخل بين قوه الاملاح والـ IBA فنلاحظ ان التركيز 1 ملغم.لتر$^{-1}$ بنصف قوه املاح تفوق في اعطاء اعلى عدد جذور بلغ 4.55، اما تداخل قوه املاح الوسط مع الـ IAA فتفوق التركيز 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ وبنصف قوه املاح معنويا على باقي المعاملات بعدد جذور 4.65 بلغ جذر/ فرع. في حين تفوقت معامله التداخل بين الاوكسينين IBA وIAA بالتركيز 1 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA و1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA معنويا على باقي المعاملات بمتوسط عدد جذور بلغ 6.70 جذر/فرع وكانت اقلها في معامله المحايد بلغ 2.20 جذر/ فرع والذي يعزى الى عدم استجابه الافرع لانخفاض نسبة الاوكسينات الداخلية في الاجزاء النباتية المزروعة التي لم تصل الى درجة تحفيز تكوين الجذور (26). اما بالنسبه لتاثير التداخل الثلاثي فتفوقت المعامله 1 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA و 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$IAA بنصف قوه املاح IAA معنويا على باقي المعاملات بمتوسط عدد جذور بلغ 7.2 جذر/فرع. وكان اقل عدد جذور عند معامله المحايد بلغت 2 جذر/فرع. وهذا يتفق مع ماوجده (35، 39) اذ اشارو الى تفوق الوسط بنصف قوه املاح MS في زياده عدد واطوال الجذور المتكونه، ولا يتفق مع ماوجده (22، 37) الى ان طول الجذور وعددها كان الافضل في وسط MS كامل قوة الاملاح.

جدول 6. تأثير قوه املاح MS والـ BA وIAA والتداخل بينها في عدد الجذور لافرع نبات المورنغا المزروعه في الوسط MS بعد مرور اربعه اسابيع من الزراعه

تراكيز × IBA قوه الاملاح	تراكيز IAA ملغم.لتر$^{-1}$				تراكيز IBA ملغم.لتر$^{-1}$	قوه املاح الوسط
	2.0	1.5	1.0	0		
3.20	4.4	3.2	3.2	2.0	0	MS
4.30	4.6	6.2	3.8	2.6	1.0	
4.20	4.0	4.6	4.4	3.8	1.5	
3.05	2.2	3	3.4	3.6	2.0	
3.50	4.2	3.8	3.6	2.4	0	1/2 MS
4.55	4.2	7.2	4.0	2.8	1.0	
4.15	4.0	4.4	4.8	3.4	1.5	
3.25	2.4	3.2	3.6	3.8	2.0	
متوسط IBA	4.30	3.50	3.40	2.2	0	IBA×IAA
3.35						
4.43	4.40	6.70	3.90	2.70	1.0	
4.18	4.00	4.50	4.60	3.50	1.5	
3.15	2.30	3.10	3.50	3.60	2.0	
متوسط قوه الاملاح	3.80	4.25	3.70	3.00	MS	قوه الاملاح × IAA
3.69						
3.86	3.70	4.65	4.00	3.10	1/2MS	
	3.75	4.45	3.85	3.05		متوسط IAA
IAA = 0.31 ، IBA = 0.31 ، قوه الاملاح = 0.22 قوه الاملاح × IAA = 0.71 ، قوه الاملاح × IBA = 0.70 IBA×IAA = 0.61 ، قوه الاملاح × IAA × IBA = 0.88						قيمة L.S.D

تأثير قوه املاح MS والـIBA والـ IAA والتداخل بينهما في طول الجذور: تشير نتائج الجدول 7 الى تفوق المعاملة بالتركيز 1.5 ملغ. لتر$^{-1}$ من الـ IBA معنويا" على باقي التراكيز وبلغ طول الجذر 4.85 سم والذي يعود سببه إلى ملائمة هذا التركيز لإحداث اكبر تحفيز لانقسام خلايا الكامبيوم واستطالتها. في حين اختلف تأثير IAA بالتركيز 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ معنويا" عن باقي التراكيز، إذ بلغ طول الجذور 4.84 سم، أما بالنسبة لتأثير التداخل بين الاوكسين فقد أعطت المعاملة 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA و 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA اعلى قيمه بلغت 5.60 سم والتي اختلفت معنويا" عن بقيه معاملات التداخل الاخرى ماعدا المعامله 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA + 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA والتي بلغ طول الجذور 5.50 سم، ان اقل قيمه في هذه الصفه حصلت لمعامله المحايد وكانت 2.80 سم. اما عن تاثير التداخل بين

تراكيز IBA وقوه املاح MS فقد تفوق التركيز 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ بنصف قوه املاح معنويا على باقي المعاملات وسجل 5.1 سم. اما عن تداخل IAA مع قوه الاملاح فتفوقت المعامله 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ بنصف قوه املاح معنويا على باقي المعاملات وبلغ طول الجذور 5.03 سم، بينما كان طول الجذور في معامله المقارنه 3.94 سم، وكان تأثير التداخل الثلاثي بين العوامل المدروسه IAA و IBA و قوه الاملاح معنويا في زياده اطوال الجذور وتفوقت المعامله 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA و 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$IAA وبنصف قوه املاح MS وسجلت 5.94 سم ، في حين ان زراعه الافرع في الوسط المكون من نصف قوه املاح MS ادى الى زياده اطوال الجذور بمتوسط بلغ 4.60 سم. وقد يعزى ذلك نتيجة لانخفاض تركيز الأملاح إلى النصف قياسا بكامل تركيزها مما حفز الجذور إلى الانتشار إلى مديات ابعد في الوسط الغذائي لتعويض النقص الحاصل في كمية العناصر الغذائية (25) وهذا يتفق مع طه (40) التي وجدت ان نصف قوه الاملاح قدزاد من عدد الجذور واطوالها.

جدول 7. تأثير قوه املاح MS و الـ BA وIAA والتداخل بينهما في طول جذور افرع نبات المورنغا (سم) بعد مرور اربعه اسابيع من الزراعه

قوه املاح الوسط	تراكيز IBA ملغم.لتر$^{-1}$	تراكيز IAA ملغم.لتر$^{-1}$				تراكيز IBA × قوه الاملاح
		0	1.0	1.5	2.0	
MS	0	2.82	3.78	4.08	4.86	3.89
	1.0	4.86	4.90	5.08	3.42	4.37
	1.5	4.60	5.06	4.68	4.02	4.59
	2.0	4.28	4.86	3.58	3.84	4.14
1/2 MS S	0	2.78	3.98	4.22	4.90	3.97
	1.0	3.96	5.12	6.14	4.50	4.93
	1.5	5.04	5.94	4.94	4.48	5.10
	2.0	4.30	5.08	4.28	3.96	4.41
IBA× IAA	0	2.80	3.88	4.15	4.88	متوسط IBA 3.83
	1.0	4.01	5.01	5.61	3.96	4.65
	1.5	4.82	5.50	4.81	4.25	4.85
	2.0	4.29	4.97	3.93	3.90	4.27
قوه الاملاح × IAA	MS	3.94	4.65	4.36	4.04	متوسط قوه الاملاح 4.25
	1/2MS	4.02	5.03	4.90	4.46	4.60
متوسط IAA		3.98	4.65	4.85	4.27	
L.S.D		IAA = 0.22 ، IBA = 0.22 ، قوه الاملاح = 0.15 IAA× قوه الاملاح = 0.49 ، IBA × قوه الاملاح = 0.49 IBA × IAA = 0.48 ، IAA × IBA × قوه الاملاح= 0.62				

اقلمة النبيتات

اجريت عملية الاقلمة للنبيتات التي تم تجذيرها في الوسط الغذائي MS بنصف قوه الاملاح والمضاف اليه 1 ملغم.لتر$^{-1}$ IBA و1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ IAA باعتباره اعطى افضل النتائج في مرحله التجذير. زرعت النبيتات في اصص قطر 15 سم تحتوي على خليط من الزميج والبتموس بنسبة 3:1، وتم تغطية النبيتات بغطاء زجاجي ساعد في الحفاظ على الرطوبة المطلوبة داخل الغطاء المحيط بها مع الرفع التدريجي ثم التغطية لكونها تتصف بغياب طبقة الكيوتكل التي تغطي سطح الاوراق، وكذلك عدم قيام الثغور بوظيفتها بصورة طبيعية لنمو النبيتات في بيئة عالية الرطوبة، وبعد مرور اسبوعين من الزراعة رفع الغطاء عن النبيتات للعيش تحت ظروف الحقل، ان رفع الغطاء بصورة تدريجية عن النباتات يعد مهماً في عمليه الاقلمة لأن رفعه بصورة كلية يعني تعرض النباتات إلى الجفاف وموته، وهذا ما اكده (3). ان الوسط الزرعي المكون من زميج وبتموس له دور في زياده نسبة نجاح النباتات المتأقلمة والتي بلغت 70% وقد يرجع سبب ذلك الى ان الزميج وسط جيد التهوية وجيد لتصريف الماء ويمنع اختناق جذور النباتات، فضلاً عن كونه يمتلك مسامات جيدة لنمو الجذور وانتشارها وان وجود مثل هذا

الوسط مع البتموس الذي يعد وسطاً مغذياً ويحتفظ بالرطوبة. هذه النتائج تتفق مع (4) التي وجدت ان الزراعة على وسط مكون من الزميج والبتموس يزيد من نسبة نجاح النباتات اثناء الاقلمه.

REFERNCES

1. Abdulkarim, S.M., K.L., Long, O.M. Lai, S.K. Muhammad, and H.M Ghazali. 2005. Some physico-chemical properties of *Moringa oleifera* seed oil extracted using solvent and aqueous enzymatic methods, Food Chemistry 93: 253–263.
2. Ahmad, S., U. Akbar, H. M. Asif, F.H. Khaliq and U. khurshid. 2016. Phytochemistery, Medicinal Wealth and Nutritional Strength of *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae). International Journal of Pharmacognosy 3(3): 115-130.
3. Al-jubori, A.M.; M. K.H., Hamed, and A.M., Ali. 1997. Propagation pear stock by using plant tissue culture technology. Iraqi Agri. 2(2): 68 – 82.
4. Al -jubori, M.T.A. 2011. Effect of Brassinolide، Benzyl Adenine and Auxins on *In vitro* propagation of Swingle Citrumelo and Troyer Citrange Rootstocks. M.Sc. Thesis, Horticulture and Landscape Gardening Dep. college of Agriculture, University of Baghdad.(in Arabic) pp:76
5. Al- mukhtar, S.A.M. 2015. Effect of Abiotic Stress in Stimulation of Cardiac Glycoside Production from *Digitalis lanata in vitro*. Ph.D. Dissertation. Horticulture and Landscape Gardening Dep. Coll. of Agriculture. University of Baghdad. (in Arabic) pp:99.
6. Al-niami, J.H. and Mohammed, H.S. 2006. Some factor influencing culture initiation of *Zizyphus mauritianal in vitro*. The Iraqi Journal of Agricultural Science. (in Arabic) 37(1):57-66.
7. Al-sahooki, M.M. and K.M. Wahab. 1990. Application on Design and Analysis of Experiments. University of Baghdad (in Arabic) pp: 488.
8. AL- sumaday K.M.A. 2015. Applications in Plant Biotechnology. Ministry of High Education & Scientific Research. Al-Nahrain University. Baghdad. Iraq. (in Arabic)pp:553.
9. Bukar, A., A. Uba and T.I. Oyeyi. 2010. Antimicrobial profile of *Moringa oleifera* extract against some food borne microorganisms. Bajopas J. of pure Applied Sciences 3(1): 43-48.
10. Caceres, A. and S. Lopez. 1991. Pharmacological properties of *Moringa oleifera*. Effect of seed extracts in the treatment of experimental pyodermia. Fitoterapia 62 (5): 449-450.
11. Davies, J. P. 2004.Plant Hormones Biosynthesis, Kluwer Academic Publishers.pp:96.
12. Dellolio, R. 2007. Cytokininus determine *Arabidopsis* root – meristem size by controlling cell differentiation. Curr. Biol., 17: 678-682.
13. Devendra BN, V. S. Prasad Talluri and N. Srinivas. 2012. Callus induction and somatic embryogenesis of *Moringa oleifera* Lam an anti - radiation plant, Journal of Agricultural Technology. 8(6): 1953 – 1963.
14. Devlin, R.M. and F. H. Witham. 1983. Plant Physiology. 4th ed Wadsworth Publishing Company Belmont California. pp: 570.
15. Farooq, F., M. Rai, A. Tiwari1 and Sh. Farooq. 2012. Medicinal properties of *Moringa oleifera*: An overview of promising healer. Journal of Medicinal Plants Research. 6(27): 4368-4374.
16. Fatima, H., A. Perveen and M. Qaiser. 2016. Micropropagation to rescue endangered plant *Moringa concanensis* Nimmo (Moringaceae) Pak. J. Bot, 48(1): 291-294.
17. Fiserova, H., J. Sebanek, J. Hradilik, P. Dolezel and H. Vitkova. 2006. Role of cytokinins in growth correlations between roots and stem in pea (*Pisum sativum* L.) seedlings. Plant Soil Environ, 52(4):159-163.
18. Grossoni, P., 1977. Problems concerning the in vitro culture of *Olea europaea* L., Giornale Botanico Italiano., 113(1-2):75-88.'
19. Harada, H. and Y., Murai. 1996. Micropropagation of *Prunus mume*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 46: 265-267.
20. Hartmann, H.T., D.E .Kester and R.L. Geneve. 2002. Plant Propagation Principles and Practices. 7th.ed. Prentice Hall. Inc. New Jersey. USA.pp:928.
21. Islam, S., M.A.A. Jahan and R. Khatun. 2005. In vitro regeneration and multiplication of year-round fruit bearing *Moringa oleifera* L. J. Biol Sci. 5:145-148.

22. Kongthong, K. 1996. In vitro culture of dahlia (*Dahlia hybrid*). Thesis M.Sc. in Agriculture Kasetsart Univ. Bankok Thialand.pp:11

23. Mehta L. K., R. Balaraman, A. H. Amin, P. A. Bafna and O. D. Gulati. 2003. Effect of fruits of *Moringa oleifera* on lipid profile of normal and hyper cholesterolaemic rabbits. J Ethnopharmacol 2003 86: 191-195

24. Muhameed, A. K. and M.A. Al Yunis, 1991. Plant Physiology Principles. Coll. of Agriculture at University of Baghdad. Iraq. (in Arabic) pp53

25. Muhameed, A. and Al -raaes. A. 1982. Plant Physiology. Dar Alkutb P. Baghdad. Iraq. P1. (in Arabic) p45

26. Murai , Y. , H. Harada and H. Yamashita. 1997. *In vitro* propagation of apricot *Prunes armeniaca* L. c. v. Bakough – Junkyou, Journal of the Japanese Society for Horticultural Science. 66 (3-4): 475-480

27. Murashige T. and F. A. Skoog. 1962. Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plantarum. 15:473–497

28. Neumann, K.H., A. Kumar and J. Imani. 2009. Plant Cell and Tissue Culture_ A tool in Biotechnology, Basics and Application. Springer – Verlag Berlin Heidelberg 333. pp.16

29. Nikkon, F., Z.A Saud, M.H. Rehman and M.E. Haque. 2003. *In vitro* antimicrobial activity of the compound isolated from chloroform extracts of *Morenga oleifera*. Pakistan Journal of Biological Sciences. 22: 1888-1890

30. Nissen, S.J. and E.G. Sutter.1990. Stability of IAA and IBA in nutrient medium to several tissue culture procedures. Hort Science. 25(7): 800-820

31. Pachauri, S.D.; K., Khandelwal; S.P, Singh, K. V., Sashidhara and A. K. Dwivedi. 2013. HPLC method for identification and quantification of two potential anti-inflammatory and analgesic agents-1, 3-dibenzyl urea and aurantiamide acetate in the roots of *Moringa oleifera.* Medicinal Chemistry Research. 22(11): 5284-5289

32. Phillips, I.D.J. 1969. Apical Dominance. In: Physiology of plant Growth and Development, ed. M.B. Wilkins. pp: 161-202

33. Riyathong; T., S. Dheeranupattana ; J. Palee and L. Shank 2010. Shoot Multiplication and Plant Regeneration from *In Vitro* Cultures of Drum-Stick Tree *Moringa oleifera* Lam. The 8th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology, pp: 154-159

34. Ruckmani, K. S., B. Davimani, R. Jayakar and R. Anandan 1998. Anti – Ulcer activity of the alkali preparation of the root and fresh leaf juice of *Moringa Oleifera* Lam. Ancient Science of Life. 17(3): 220- 223

35. Saini R. K., N. P. Shetty, P. Giridhar, and G. A. Ravishankar . 2012. Rapid in vitro regeneration method for *Moringa oleifera* and performance evaluation of field grown nutritionally enriched tissue cultured plants. Journal Biotech. 2(3): 187–192

36. SAS, 2004. SAS Users Guide for Personal Computers. SAS Inst. Inc. Cary, NC. USA. PP:11

37. Shahzad, U., M. J., Jaskani, S., Ahmad and F. S., Awan. 2014. Optimization of the micro-cloning system of threatened *Moringa oleifera* LAM. Pak. J. Agri. Sci. 51(2): 449-457

38. Skoog , F. and C.O. Miller.1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *in vitro*: In Biological Action of growth substances. 11th. Symp. Soc. Exp. Biol. U.K. 11: 118-131

39. Stephenson K.K. and J.W. Fahey.2004. Development of tissue culture methods for the rescue and propagation of endangered *Moringa* spp. germplasm. Econ Bot. 58:116–124.

40. Taha, F. H. 2011. Influence of medium components on intiation multiplication and rooting of *Citrus aurantifolia in vitro*. The Iraqi Journal of Agricultural Sciences 42 (1):92-100

41. Tsaknis, J., S. Lalas, V. Gergis, V. Dourtoglou. and V. Spiliotis. 1999. Characterization of *Moringa oleifera* variety 'Mbololo' seed oil of Kenya. Journal of Agriculture Food Chemistry 47: 4495-4499

42. Yadav, S. and J., Srivastava. 2016. *Moringa Oleifera*: a health promising plant with pharmacological characters. Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences, 6(1): 24-33