دراسة تأثير السايتوكاينينات والاوكسينات في تكوين وانتاج نبيتات الـ *Hippeastrum hybridum* خارج الجسم الحي

لمياء خليفة جواد العامري
استاذ مساعد

بلسم ابراهيم حسين سلمان
*باحث

قسم البستنة وهندسة حدائق ـ كلية الزراعة ـ جامعة بغداد
abuali19822000@yahoo.com

المستخلص

أجري جزء من الدراسة في مختبر زراعة الانسجة النباتية العائد لقسم التقانة الاحيائية ـ كلية العلوم ـ جامعة النهرين للمدة من تشرين الاول 2014 الى شباط 2015 . واكمل العمل بعدها في مختبر زراعة الانسجة النباتية التابع لكلية الزراعة ـ جامعة بغداد للمدة من شباط 2015 ـ ايلول 2015.بهدف توظيف تقانة زراعة الانسجة النباتية في اكثار وتكوين البصيلات لنبات الـ *Hippeastrum hybridum* .عقمت الاجزاء النباتية (الساق القرصي ، الاوراق العصارية) المأخوذة من الابصال بمحلول هايبوكلورات الصوديوم NaOCl بالتراكيز 0.0 ، 1.0 , 4.0 , 2.0 , 3.0 % ، زرعت الاجزاء النباتية المعقمة في وسط MS المجهز بالـ BA تراكيز 0.0 ، 0.5 ، 1.0 ، 2.0 ملغم .لتر$^{-1}$ بالتداخل مع الـ NAA تراكيز 0.0 ، 0.1 ، 0.3 ، 0.5 ملغم .لتر$^{-1}$ لتحفيزها على النمو وتكوين النموات الخضرية . زرعت النموات الخضرية المحفزة في وسط MS المجهز بالـ BA تراكيز 0.0 ، 0.5 ، 1.0 ، 2.0 ملغم. لتر$^{-1}$ بالتداخل مع التراكيز المختلفة من الـ NAA (0.0 ، 0.1 ، 0.3 ، 0.5 ملغم .لتر$^{-1}$) بهدف تضاعف الافرع وزيادة أعدادها .اخذت الافرع الناتجة من افضل معاملة في المرحلة السابقة و نقلت الى مرحلة التجذير التي تضمنت تجربتين ، التجربة الاولى زرعت الافرع على وسط MS (قوة كاملة ونصف قوة) بالتداخل مع الـ NAA تراكيز0.0 ، 0.1 ، 0.3 ، 0.5 ملغم .لتر$^{-1}$، والتجربة الثانية زرعت الافرع على افضل معاملة تم الحصول عليها من التجربة الاولى مع اضافة الفحم المنشط بالتراكيز (2.0 ملغم .لتر$^{-1}$) بهدف زيادة نسبة التجذير واعداد الجذور واطوالها . اقلمت النبيتات المجذرة في وسط الاقلمة المتكون من الزميج والبيتموس بنسبة 1:1 ، 2:1 ، 1:2 بهدف الحصول على اعلى نسبة بقاء للشتلات . أظهرت النتائج إن أفضل طريقة لتعقيم الساق القرصي والاوراق العصارية هي باستخدام التركيز 3.0% من NaOCl لمدة عشر دقائق . كما ان افضل استجابة بلغت (90%) بالنسبة للأوراق العصارية عند زراعتها في وسط MS المجهز 1.0 ملغم. لتر$^{-1}$ BA و0.3 ملغم. لتر$^{-1}$ NAA اما الساق القرصي فكانت استجابته قليلة ، وإن أفضل تضاعف للأفرع المزروعة كان في وسط MS المجهز بالـ BA بتركيز 1.0 ملغم. لتر$^{-1}$ والـ NAA بتركيز0.3 ملغم .لتر$^{-1}$ الذي اعطى اعلى معدل لعدد الافرع بلغ 8.30 فرع .نبات$^{-1}$ وبطول 9.0 سم عند معاملة المقارنة وافضل نسبة لتجذير الافرع واعدادها واطوالها تحققت في وسط MS نصف قوة أملاحه (1/2X) مجهز بالـ NAA تركيز 0.5 ملغم. لتر$^{-1}$ وبوجود الفحم المنشط Activated Charcoal (AC) واستجابة النبيتات المؤقلمة للوسط الزراعي المكون من الزميج والبيتموس إذ بلغ معدل البقاء 95%.

الكلمات المفتاحية : الاكثار الدقيق ، BA،NAA ، ابصال زينة.
*بحث مستل من رسالة الماجستير للباحث الثاني .

STUDY THE EFFECT OF CYTOKININS AND AUXINS IN THE COMPOSITION AND PRODUCTION OF *IN VITRO* PLANTLETS *HIPPEASTRUM HYBRIDUM*

L. K. J. Al-Amery
Assist. Prof.

B. I. H. Salman
*Researcher

Dept. of Horti .and Landscape Gardening - Coll. of Agric .
abuali19822000@yahoo.com

ABSTRACT

The First Part of this study was conducted in the Plant Tissue Culture Lab at the College of Science, University of Nahrain from October 2014 to February,2015. The experiment was then completed in the Plant Tissue Culture Lab at the College of Agriculture, University of Baghdad From February 2015 to September 2015. Examine the possibility of using the tissue culture technique in the propagation of *Hippeastrum hybridum*. Explants (Bulbs, Leaves) had been sterilized using four different NaOCL concentrations: % 4.0, 2.0, 1.0, 0.0. After sterilization, explants were cultured on MS media supplemented with BA at four concentrations (2.0, 1.0, 0.5, 0.0 mg.liter^{-1}) and NAA at four concentrations (0.5, 0.3, 0.1, 0. 0 mg.liter^{-1}) to obtain plantlets. Afterwards, plantlets were moved to new MS media supplemented with BA (2.0, 1.0, 0.5, 0.0 mg.liter^{-1}) and with or without four concentrations of NAA (0.5, 0.3, 0.1, 0.0 mg.liter^{-1}) to enhance shoot proliferation. The resulted shoots from the best proliferation-enhance media were divided into two parts the first part was transferred to root-promoting media which also included two experiments where the first experiment was by transferring the shoots to MS media (half and full strength) supplemented with NAA at four concentrations (0.5, 0.3, 0.1, and 0.0 mg.liter^{-1}). The second experiment included the best resulted shoots from the first experiment in addition to (0 and 2 mg.liter^{-1}) actived charcoal to increase root percentage, root count, and root length.The resulted plants were acclimatized using peatmoss/soli mixture at the ratio of 1:1, 2:1, and 1:2 to obtain high surviving ratio. Results showed that the best explant(Bulbs, Leaves) was soaking in 3% NaOCl for 10 min. the results also showed that the leaves gave best response 90% when using MS media supplemented with 1.0 mg.liter^{-1} BA and 0.3 mg.liter^{-1} NAA when compared with the bulbs that showed low response profile. Furthermore, the best shoot proliferation media was MS supplemented with 1.0 mg.liter^{-1} BA and 0.3 mg.liter^{-1} NAA which resulted in 8.30 shoots.plant^{-1}. The best rooting percentage was obtained when culturing the shoots in half strength MS media supplemented with 0.5 mg.liter^{-1} NAA with the existence of activated charcoal. The surviving percentage reached 95% when using the previously mentionedpeatmoss-soil/mixtures.

Key word :micro propagation , BA, NAA ,ornamental bulbs.
***Part of M. Sc. thesis of the 2 nd author.**

المقدمة

يعد نبات ***Hippeastrum hybridum*** من ابصال الزينة المزهرة وهو من الابصال الشتوية المعمرة الذي ينتمي الى العائلة Amaryllidaceae ، وان وسط وجنوب امريكا هو الموطن الاصلي له وتنجح زراعته في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية (28). يضم جنس الـ Hippeastrum حوالي 90 نوعاً واكثر من 600 هجين التي تتميز بانها ذات ابصال عصارية كبيرة واوراق طويلة عريضة دائمة الخضرة (9). اسم الـ Hippeastrum مشتق من كلمة يونانية قديمة تعرف Knight's star التي تعني نجمة الفارس (21) اي ان كلمة hippeus تعني فارس والـ Sorn تعني النجمة كذلك يطلق عليها احيانا بنجوم الزنبق .يكثر النبات بطريقتين اساسيتين: الاولى الاكثار بالبذور التي تستخدم لأغراض بحوث التربية (4) اذ ينتج عنها اختلافات كبيرة في لون الازهار وشكل النبات وكذلك تستغرق وقتاً طويلاً من نمو البذرة الى الازهار قد تصل احيانا الى 6 سنوات . أما الطريقة الثانية في اكثار هذا النبات فهي الطريقة الخضرية وتكون اما بتفصيص الابصال والتي غالبا ما تتأثر بالظروف البيئية وموسم النمو فضلًا عن قلة عدد البصيلات التي ينتجها النبات إذ تنتج من 2–3 بصيلة خلال السنة (41). وهناك طريقة اخرى استخدمت في الآونة الاخيرة وهي تقطيع البصلة الام الى 12 قطعة كل واحدة تحتوي على ورقتين عصاريتين تتصلان بجزء من الساق القرصي (15) ان كلتا طريقتي الاكثار الخضري تستغرق مدة طويلة للوصول الى مرحلة الازهار (3ـ 4 سنوات) .تشير الدراسات الى امكانية اكثار ابصال الـ Hippeastrum خارج الجسم الحي باستئصال اجزاء نباتية كالأوراق العصارية فقد استطاع Yan-ling واخرون (48) من اكثار نبات *Hippeastrum hybridum* باستخدام الاوراق العصارية وزراعتها على وسط MS مزود بتراكيز 1 ملغم .لتر$^{-1}$ BA وتركيز 2ملغم. لتر$^{-1}$ NAA.وفي دراسة قام بهاSiddique واخرون (39) وجدوا ان اعلى نسبة تضاعف للافرع كانت على الوسط MS المجهز بالـ BA تركيز 1.0 ملغم. لتر$^{-1}$ والـ NAA تركيز 0.5 ملغم. لتر$^{-1}$ والسكروز 40 غم. لتر$^{-1}$. وبهدف تجذير الافرع المتكونة من عملية التضاعف تضاف عادة الاوكسينات الى الوسط الغذائي إذ تمكن Qun-long واخرون (36) من تجذير الافرع الناتجة من الزراعة النسيجية لأبصال Amaryllis على وسط MS بنصف تركيز الاملاح مضاف اليه NAA تركيز 0.1 ملغم. لتر$^{-1}$ والفحم النباتي تركيز 2.0 ملغم. لتر$^{-1}$ وقد بلغت نسبة تجذير 100%. كما وجد Siddique واخرون (40) عند استخدامهم اوساطاً مختلفة للأقلمة منها زميج الى رمل بنسبة 1:1 وزميج الى بيتموس بنسبة 1:1 وخليط من الزميج والرمل والبيتموس بنسبة 1:1:1 ان افضل نسبة للبقاء كانت 98:75% في خليط الرمل والزميج والبيتموس لنبات الـ *Hippeastrum hybridum*. إن الابصال الموجودة في القطر مستوردة وتكلف مبالغ كبيرة لذا تطلب عمل برنامج متكامل لإكثارها نسيجيا ابتداءً من اختيار الجزء النباتي وتعقيمه ومضاعفته وتجذيره لإنتاج الشتلات واقلمتها ، وذلك من خلال دراسة تأثير بعض من منظمات النمو (السايتوكاينينات و الاوكسينات) لاستجابة الجزء النباتي وتضاعف الافرع ـ دراسة تأثير قوة املاح MS (قوة كاملة ونصف قوة) بالتداخل مع NAA وتأثير الفحم المنشط في مرحلة التجذير.

المواد وطرائق العمل

اجري قسم من الدراسة في مختبر زراعة الانسجة النباتية العائد لقسم التقانة الاحيائية ـ كلية العلوم ـ جامعة لنهرين للفترة من تشرين الاول 2014 الى شباط 2015 . بعدها اكملت الدراسة في مختبر زراعـة الانسجة النباتية التابع كلية الزراعة ـ جامـعة بـغداد للفترة من شباط 2015 ـ ايلول 2015.

مصدر الاجزاء النباتية

أستخدمت ألاجزاء الخضرية (الساق القرصي، الاوراق العصارية) من ابصال الـ ***Hippeastrum hybridum***، وذلك بإزالة الجذور من الابصال وكذلك ألاوراق الخارجية (الاوراق الحرشفية) التي تغلف البصلة ورقتين أو ثلاث اوراق منها مع إزلة الجزء العلوي من البصلة باستخدام الشفرات الجراحية، ثم غسلت بالماء الجاري لمدة 30 دقيقة بعد ذلك قسمت الى: أخذ الجزء النباتي ألاول الساق القرصي (Basel pleat) الموجود في قاعدة البصلة بعمل قطع افقي فيها إذ قسم الى أربعة اجزاء وكل جزء قسم الى جزئيين وبهذا اصبح عدد أجزاء الساق القرصي ثمانية ، قطع ما تبقى من البصلة

الحاوية على جزء قليل من الساق القرصي قطع عمودي الى أربعة اجزاء وكل جزء قطع مرة اخرى عمودياً الى قسمين وبهذا اصبح عدد الاجزاء ثمانية بعد ذلك فصل الجزء النباتي الثاني ألاوراق العصارية (Twine scale) المكونة من ورقتين عصارية متصلة بجزء قليل من الساق القرصي(38).

تحضير الوسط الغذائي

إستخدم في هذه الدراسة وسط MS (31) الجاهز من شركة Himedia في مراحل الزراعة، عدا مرحلة التجذير التي استخدم فيها وسط MS الجاهز من شركة Himedia والحاوي على الاملاح فقط .حضر الوسط الغذائي بإضافة الـ MS الجاهز بوزن 4.91 غم. لتر$^{-1}$ والسكروز بتركيز 30 غم. لتر$^{-1}$ اما في مراحل التجذير استخدم وسط MS بوزن 4.6 غم .لتر$^{-1}$ والسكروز30 غم. لتر$^{-1}$ والمايوانستول بمقدار 100 ملغم .لتر$^{-1}$والفيتامينات بمقدار 10 مل.لتر$^{-1}$ من محلول الاصل المحضر مسبقا .استخدمت منظمات النمو حسب التجارب المدروسة اذ تضمن الوسط الغذائي واحد او اكثر من منظمات النمو وبعد اضافة جميع مكونات الوسط الغذائي ،عدل الرقم الهيدروجيني PH للوسط الغذائي الى 5.70 وذلك باستخدام هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) Sodium hydroxide وحامض الهيدروكلوريك (HCl) Hydrochloric acid واحد عياري ثم أكمل الحجم بالماء المقطر وأضيف الاكار نوع (Agar - Agar) لتصلب الوسط لغذائي بمقدار 7 غم. لتر$^{-1}$ ، سخن الوسط الغذائي لدرجة الغليان لغرض إذابة الاكار باستخدام جهاز التسخين Hot Plate magnetic stirrer و وزع في انابيب الزراعة (Universal tube) ثم جرى تعقيم الوسط بجهاز التعقيم البخاري Autoclave على درجة حرارة 121م^{o} وضغط 1.04 كغم .سم$^{-2}$ لمدة 15 دقيقة ترك الوسط بعد ذلك ليبرد ويتصلب بدرجة حرارة الغرفة ليصبح جاهزا للزراعة .

تعقيم ألادوات المستعملة

عقمت جميع الادوات المستعملة عند الزراعة التي شملت الملاقط وحوامل شفرات التقطيع في الفرن الكهربائي على درجة حرارة 180م^{o} ولمدة 60 دقيقة كذلك عقم الماء المقطر واطباق بتري petridish الموضوعة في حاويات معدنية خاصة لهذا الغرض Canisters باستخدام جهاز التعقيم البخاري Autoclave بدرجة حرارة 121م^{o} تحت ضغط 1.04 كغم .سم$^{-2}$ لمدة 45 دقيقة. مع إستخدام الكحول الاثيلي تركيز 95% ومصباح بنزين burner لحرق حافات الشفرات والملاقط بعد كل عملية زراعة داخل كابينة الزرع، كذلك عقمت الطاولات التي تم تقطيع النبات عليها وكابينة الزراعة باستخدام الكحول الاثيلي (بتركيز70%) .

التعقيم السطحي للأجزاء النباتية

وضعت ألاجزاء النباتية (ألاورق العصارية والساق القرصي) كلا على حدا في بيكر وغسلت مرةً اخرى بالماء الجاري لمدة 15 دقيقة للتخلص من بقايا الاتربة العالقة بها بعد التقطيع نقلت بعدها الى كابينة انسياب الهواء الطبقي وعقمت بالكحول الأثيلي تركيز 70% ولمدة 30 ثانية ثم غسلت بالماء المقطر المعقم عدة مرات ثم عقمت باستخدام القاصر التجاري (فاسFAS) الحاوي على تركيز 6% من هايبوكلورات الصوديوم NaOCl إذ حضر منه عدة تراكيز (0.0 ،1.0، 2.0، 3.0، 4.0) % باستخدام معادلة التخفيف ($C_1 V_1 = C_2 V_2$) بهدف الحصول على افضل تركيز من NaOCl يمكن استخدامه لتأسيس مزرعة نسيجية خالية من التلوث لأبصال الـ Hippeastrum مع اضافة قطرتين من المادة الناشرة Tween 20 بهدف تقليل الشد السطحي ورفع كفاءة التعقيم مع الرج المستمر لمدة 10 دقائق لكل تركيز، بعدها غسلت الاجزاء المعقمة بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات لإزالة آثار المادة المعقمة (38) . قبل البدء بعملية الزراعة وضعت الاجزاء النباتية على ورق ترشيح معقم للتخلص من بقايا الماء العالق ، زرعت بعدها في وسط MS الخالي من منظمات النمو بواقع 10 مكررات لكل تركيز وبزراعة جزء نباتي واحد لكل مكرر، حضنت الزروعات في غرفة النمو تحت ظروف تحضين 16ساعة اضاءة و8 ساعة ظلام وشدة اضاءة مقدرة بـ 1000 لوكس ودرجة حرارة 25±2م^{o} ، سجلت النتائج على اساس النسبة المئوية للبقاء(الاجزاء غير الملوثة) بعد مرور سبعة أيام من الزراعة.

مرحلة النشوء

بعد الانتهاء من عملية التعقيم السطحي ، نقلت الاجزاء النباتية وبصورة مفردة الى اطباق بتري المعقمة والحاوية على ورق ترشيح معقم filter paper داخل كابينة الزراعة ثم قطعت نهاياتها التي تضررت اثر استخدام مادة التعقيم ، إذ

اصبح طول وعرض الاوراق العصارية المستخدمة في الزراعة (1.5، 1.0) سم على التتابع و(1.0) سم بالنسبة للساق القرصي، ثم زرعا على وسط MS حاوي على توليفة من منظمات النمو النباتية ، واستعمل عشرة مكررات لكل معاملة إذ زرع كل جزء نباتي في انبوبة واعتبرت كل انبوبة مكرر ثم نقلت الزروعات النباتية بعد ذلك الى غرفة النمو بدرجة حرارة 25 ±2 م° واضاءة 1000 لوكس مدة 16 ساعة ضوء و8 ساعة ظلام، ظهرت في هذه المرحلة إفرازات فينولية تم التخلص منها بإعادة زراعة الاجزاء النباتية على نفس الوسط كل ثلاثة ايام تقريباً لحين التخلص منها نهائياً.

تأثير التداخل بين الـ BA والـ NAA في نشوء الزروعات

تم اختبار التداخل بين السايتوكاينين والاوكسين في مرحلة النشوء اذ تمت اضافة الـ BA بالتراكيز 0.0 ، 0.5 ، 1.0، 2.0 ملغم .لتر$^{-1}$ والـ NAA بالتراكيز 0.0 ، 0.1 ،0.3 ، 0.5 ملغم .لتر$^{-1}$ (42) الى وسط نشوء الزروعات اخذت النتائج بعد مرور اربعة اسابيع من الزراعة متمثلة بالنسبة المئوية للاستجابة .

مرحلة التضاعف

استنادا الى نتائج المرحلة الاولى تم اختيار الاوراق العصارية واستبعاد الساق القرصي لاستجابته القليلة لكافة المعاملات ، في هذه المرحلة تم نقل الفروع الناتجة من نمو الجزء النباتي التي تم الحصول عليها من افضل معاملة في المرحلة الاولى الى وسط التضاعف المتكون من وسط MS مضافًا اليه منظمات النمو حيث تمت زراعة فرع واحد لكل قنينة واستعمل عشرة مكررات لكل معاملة اي اعتبر كل قنينة مكرر وحضنت الزروعات في غرفة النمو تحت درجة حرارة 25 ±2 م° وشدة اضاءة 1000 لوكس لمدة 16 ساعة ضوء و8 ساعة ظلام، وتضمنت تجربة التضاعف :

تأثير الـ BA بالتداخل مع NAA

تمت دراسة تأثير BA بالتراكيز (0.0 ، 0.5 ، 1.0 ، 2.0) ملغم. لتر$^{-1}$ وبالتداخل مع NAA بالتراكيز (0.0 ، 0.1 ، 0.3 ، 0.5) ملغم. لتر$^{-1}$ (48) اخذت النتائج بعد ستة اسابيع من الزراعة المتمثلة بعدد الافرع واطوالها. تم اعتماد افضل توليفة من هذه التجربة وتم الاكثار عليها لمضاعفة النموات الخضرية والحصول على العدد الكافي لإدخالها بالتجارب اللاحقة.

مرحلة التجذير

نقلت الافرع الناتجة من مرحلة التضاعف الخضري الى وسط التجذير و بواقع فرع واحد لكل قنينة وبعشرة مكررات لكل معاملة وحضنت الزروعات في غرفة النمو تحت درجة حرارة 25 ±2 م° وشدة اضاءة 1000 لوكس لمدة 16 ساعة ضوء و8 ساعة ظلام واخذت النتائج بعد ستة اسابيع من الزراعة التي تضمنت النسبة المئوية للتجذير وعدد الجذور واطوالها وشملت تجارب التجذير ما يأتي:.

تأثير قوة املاح MS وتراكيز الـ NAA والتداخل بينهما في تجذير الافرع

استخدمت قوة املاح MS قوة كاملة (1X) ونصف قوة (1/2 X) بالتداخل مع الـ NAA بالتراكيز 0.0 ، 0.1 ، 0.3 ، 0.5 ملغم .لتر$^{-1}$ (39) إذ استعملت عشرة مكررات لكل معاملة و حضنت الزروعات تحت الظروف نفسها المذكورة انفاً واخذت النتائج بعد مرور ستة اسابيع من الزراعة.

تأثير الفحم المنشط (AC) في تجذير الافرع

اضافة الفحم المنشط بتركيز(2،0) غم.لتر$^{-1}$ (36) الى افضل معاملة تم الحصول عليها من التجربة الاولى لمرحلة التجذير.

مرحلة الاقلمة

غسلت النبيتات الناتجة من مرحلة التجذير بالماء الجاري للتخلص من بقايا الوسط الغذائي ثم وضعت في محلول يحتوي ربع قوة املاح MS لمدة سبعة ايام ، بعدها عقم وسط الاقلمة المتكون من الزميج والبيتموس بنسبة 1:1 ، 2:1 ، 1:2 بجهاز التعقيم البخاري لمدة 20 دقيقة وبدرجة حرارة 121 م° وضغط 1.04 كغم. سم$^{-2}$ بعدها اخذت النبيتات وغطست بالمبيد الفطري بنتانول تركيز 2 مل. لتر$^{-1}$ ، تم تقليل من طول الاوراق للنبيتات ثم زرعت في اوعية بلاستيكية وسقيت بماء مقطر وغطيت بأغطية زجاجية للمحافظة على مستوى الرطوبة عالياً و توالى ريها كل 2 ـ 3 أيام على وفق الحاجة ، حضنت في غرفة النمو على درجة حرارة 25±2م° ولمدة 16 ساعة ضوء و8 ساعة ظلام مع ملاحظة مراعاة رفع الاغطية عنها بشكل تدريجي (8) ، بعدها رفعت الاغطية كليا بعد ثلاثة اسابيع من النقل الى التربة بعدها اخذت النتائج.

التحليل الاحصائي

نفذت جميع التجارب باستخدام التصميم العشوائي الكامل (CRD) كتجارب عامليه وحللت النتائج باستخدام البرنامج الاحصائي Genestate وقورنت المتوسطات حسب اختبار اقل فرق معنوي(Least Significant Difference (LSD وعلى مستوى احتمال 5% (7).

النتائج والمناقشة

تعقيم الاجزاء النباتية

تبين نتائج جدول 1 مدى فعالية محلول هايبوكلورات الصوديوم NaOCl في النسبة المئوية للبقاء، إذ اوضحت النتائج عدم وجود فروق معنوية بين الاوراق العصارية و الساق القرصي حيث بلغت النسبة المئوية للبقاء 66 ، 54% على التوالي .أما فيما يخص تأثير تراكيز NaOCl فوجد إن نسبة لبقاء زادت بزيادة تركيز NaOCl الى ان وصلت في التركيزين 3.0 و 4.0 اعلى معدل بلغ 90،100%. بالنسبة لتأثير التداخل بين الاجزاء النباتية وتراكيز NaOCl فإن اعلى نسبة بقاء سجلت عند التركيزين 3.0 و 4.0 من NaOCl اذ بلغت 100% للأوراق العصارية و 80 ، 100% للساق القرصي والتي لم يختلفا معنويا عن بعضهما، اما اقل نسبة بقاء بعد معاملة المقارنة لوحظت في الساق القرصي إذ بلغت 30% عند التركيز 1.0 من NaOCl. قد يعود السبب في استخدام محلول هايبوكلورات الصوديوم في التعقيم السطحي للأجزاء النباتية هو لكفاءتها في التعقيم و عدم إضرارها بالجزء النباتي عند التركيز المناسب وإن تركيز المادة المعقمة والمدة اللازمة للتعقيم اهمية كبيرة في الحد من التلوث السطحي للأجزاء النباتية المزروعة خارج الجسم الحي ، وان الزيادة عن التركيز المثالي قد يؤدي إلى ضرر الاجزاء النباتية وبالتالي موتها. ان الية عمل NaOCl كمادة معقمة فعالة للأنسجة النباتية يعود إلى حامض Hypochlorous (HOCl) الذي يعد مادة مؤكسدة قوية والذي يتكون نتيجة لذوبان الكلور في الماء (37). اتفقت هذه النتائج مع ما توصل اليه عدد من الباحثين من حيث صلاحية استعمال NaOCl في تعقيم الاوراق العصارية ولمدة عشر دقائق Sultana واخرون (43) واتفقت كذلك مع Okubo واخرون (33) باستخدامه NaOCl في تعقيم ابصال الـ Hippeastrum لمدة عشر دقائق ولكن لم تتفق هذه النتائج من حيث استعمال NaOCl في تعقيم الاوراق العصارية وانما استخدم معقمات اخرى(22).

جدول 1. تأثير تراكيز هايبوكلورات الصوديوم في النسبة المئوية (%) لبقاء الاجزاء النباتية (الاوراق العصارية ، الساق القرصي) بعد اسبوع من الزراعة.

الجزء النباتي	تركيز هايبوكلورات الصوديوم%					المعدل
	0.0	1.0	2.0	3.0	4.0	
الاوراق العصارية	0.0	50	80	100	100	66
الساق القرصي	0.0	30	60	80	100	54
L.S.D 0.05			29			13
المعدل	0.0	40	70	90	100	
L.S.D 0.05			21			

مرحلة النشوء

تأثير الجزء النباتي وتراكيز الـ BA والـ NAA والتداخل بينهما في نشوء الزروعات

اظهرت نتائج جدول 2 ان للأجزاء النباتية تأثير معنوي في النسبة المئوية لنشوء الزروعات اذ تفوقت الاوراق العصارية بإعطائها اعلى نسبة استجابة بلغت 56.2 % مقارنة بالساق القرصي الذي اعطى اقل معدل بلغ 6.3 %. كما اوضحت نتائج الجدول ذاته تأثير تراكيز الـ BA اذ تفوق التركيز 1.0 ملغم .لتر$^{-1}$ بإعطائه اعلى معدل للاستجابة بلغ 41% والذي لم يختلف معنويا عن تركيز 2.0 ملغم. لتر$^{-1}$ الذي اعطى 38% لكنه اختلف معنويا عن بقية التراكيز ، اما بالنسبة لتأثير تراكيز الـ NAA فان اعلى معدل للاستجابة بلغ 40% عند التركيز 0.3 ملغم. لتر$^{-1}$ والتي اختلفت معنويا عن معاملة المقارنة اذ اعطت 17% لكنها لم تختلف معنويا عن بقية المعاملات . بالنسبة لتأثير التداخل الثنائي بين الجزء النباتي والـ BA فقد بينت نتائج الجدول ادناه ان معاملة الاوراق العصارية و الـ BA بالتركيز 1.0 ملغم .لتر$^{-1}$ اعطت اعلى معدل للاستجابة بلغت 70% والتي لم تختلف معنويا عن معاملة الاوراق العصارية بالتركيزين 2.0 و 0.5 ملغم .لتر$^{-1}$ بلغ فيهما معدل الاستجابة 65 ، 60% على التوالي لكنها اختلف معنويا عن بقية المعاملات اما التداخل الثنائي بين الجزء النباتي و الـ NAA فقد اعطت معاملة الاوراق العصارية بالتركيز 0.3 ملغم. لتر$^{-1}$ اعلى معدل للاستجابة بلغ 70% والتي لم تختلف معنويا عن معاملة الاوراق العصارية بالتركيزين 0.1 و0.5 ملغم .لتر$^{-1}$ التي بلغت فيها نسبة الاستجابة 55، 65 % لكنها اختلفت معنويا عن بقية المعاملات. اما تأثير التداخل بين تراكيز الـ

BA والـ NAA فقد اختلفت قيمه معنويا عن بعضها اذ اعطت المعاملة 1.0 ملغم .لتر$^{-1}$ BA مع 0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ NAA اعلى نسبة استجابة بلغت 55% والتي اختلف معنويا عن معاملة المقارنة إذ اعطت نسبة استجابة بلغت 10 % و لم تختلف معنويا عن معاملة 0.5 ملغم .لتر$^{-1}$ BA مع 0.3 ملغم .لتر$^{-1}$ NAA اعطت نسبة استجابة بلغت 35%. اما بالنسبة للتداخل الثلاثي بين الاجزاء النباتية و تراكيز الـ BA والـ NAA فقد اعطت معاملة الاوراق العصارية بالتركيز 1.0 ملغم .لتر$^{-1}$ BA مع تركيز0.3 ملغم. لتر$^{-1}$ NAA اعلى نسبة استجابة بلغت 90% والتي اختلفت معنويا عن معاملة المقارنة إذ بلغت النسبة فيها 20% ولم تختلف معنويا عن 0.5 ملغم .لتر$^{-1}$ BA مع 0.1 ملغم .لتر$^{-1}$ NAA اعطت نسبة استجابة 60% . قد يعود السبب بالنسبة لاختلاف استجابة الاجزاء النباتية ان الانسجة تختلف في درجة توالدها وتبعا لذلك في قابليتها على التكوين الظاهري ضمن النبات الواحد قد يعزى ذلك إلى اختلاف درجة نمو و تمايز الخلايا المكونة لأنسجة الأجزاء النباتية كالبرعم الطرفي أو الجانبي وما يتبعه من اختلاف محتوياتها الهرمونية والغذائية (14) ، هذا ما أشار اليه Swamy (44) في إن فرص نجاح استجابة الجزء النباتي في الزراعة النسيجية تزداد باحتوائه على أنسجة ناضجة مكتملة. اما بالنسبة لدور السايتوكاينينات في زيادة نسبة الاستجابة يعود الى الفعل التحفيزي للسايتوكاينينات في حث الخلايا على الانقسام والتمايز وينتج من ذلك تمايز البراعم المزروعة خارج الجسم الحي الى افرع خضرية . واشار الكثير من الباحثين الى الدور الذي تؤديه السايتوكاينينات وبالتراكيز الملائمة في الزراعة النسيجية من حيث فعلها في كسر السيادة القمية وانشائها مناطق جذب في البراعم الجانبية وهذا يحفز من سرعة انتقال المغذيات اليها والتي ينتج عنها تحفيز نمو البراعم (1) و(12). كان للسيتوكاينين دور مهم في انقسام الخلايا خصوصا حالة وجوده مع الاوكسين وبهذا ازداد تأثيره في نمو البراعم للأفرع المزروعة اي يزداد التأثير عند وجودهما معا في الوسط الغذائي (30). اتفقت هذه النتائج مع ما جاء به باحثون اخرون (25و38) باستخدامهم التداخل بين السايتوكاينين والاوكسين في اعطاء اعلى معدل نشوء الزروعات.

جدول 2 . تأثير تراكيز الـ BA والـ NAA والتداخل بينهما في النسبة المئوية (%) لاستجابة الاجزاء النباتية (الاوراق العصارية والساق القرصي) بعد اربعة اسابيع من الزراعة على وسط MS .

الجزء النباتي	تركيز الـBA ملغم. لتر$^{-1}$	تركيز الـ NAA ملغم. لتر$^{-1}$ 0.0	0.1	0.3	0.5	معدل الجزء النباتي ×تركيز الـBA	معدل الجزء النباتي
الاوراق العصارية	0.0	20	30	40	30	30	56.2
	0.5	30	60	70	80	60	
	1.0	40	70	90	80	70	
	2.0	50	60	80	70	65	
ساق قرصي	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	6.3
	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	1.0	0.0	10	20	20	12.5	
	2.0	0.0	20	20	10	12.5	
تأثير التداخل بين تراكيز الـ NAA والجزء النباتي	الاوراق العصارية	35	55	70	65	معدل تراكيز الـ BA	
	الساق القرصي	0.0	7.5	10	7.5		
تراكيز الـ BA ×تراكيز الـ NAA	0.0	10	15	20	15	15	
	0.5	15	30	35	40	30	
	1.0	20	40	55	50	41	
	2.0	25	40	50	40	38	
	معدل تراكيز الـ NAA	17.5	31	40	36		
L.S.D 0.05	الجزء النباتي = 8 تراكيز الـ BA =11 تركيز الـ NAA =11 الجزء النباتي ×تركيز الـ BA = 16 الجزء النباتي ×تركيز الـ NAA = 16 تركيز الـ BA × تركيز الـ NAA = 23 الجزء النباتي × تركيز الـ NAA × تركيز الـ NAA = 32						

مرحلة التضاعف

تأثير تراكيز الـ BA والـ NAA والتداخل بينهما في معدل عدد الافرع : توضح نتائج جدول 3 ان للـ BA تأثير معنوي في زيادة عدد الافرع اذ تفوق التركيز 1.0 ملغم. لتر$^{-1}$معنويا على باقي التراكيز بإعطائه اعلى معدل بلغ 6.25 فرع .نبات $^{-1}$ في حين اعطت معاملة المقارنة اقل معدل لعدد الافرع بلغ 1.20 فرع .نبات $^{-1}$ و بالنسبة لتأثير تراكيز الـ NAA فان اعلى معدل لعدد الافرع بلغ 5.07 فرع .نبات $^{-1}$عند التركيز 0.3 ملغم. لتر$^{-1}$ الذي تفوق معنويا على باقي التراكيز مقارنه بمعاملة المقارنة التي اعطت اقل معدل بلغ 2.50 فرع. نبات $^{-1}$. بالنسبة لمعاملات التداخل بين الـ BA والـ NAA فقد تفوقت معاملة التركيز 1.0 ملغم. لتر $^{-1}$ من الـ BA مع 0.3 ملغم. لتر$^{-1}$ من الـ NAA بإعطائها اعلى معدل لعدد الافرع بلغ 8.30 فرع

.نبات $^{-1}$ والتي اختلفت معنويا عن بقية المعاملات تلته المعاملتان 1 ملغم. لتر $^{-1}$ BA مع 0.5 ملغم .لتر $^{-1}$ NAA و 2 ملغم. لتر $^{-1}$ BA مع 0.3 ملغم .لتر NAA واللتا اعطتا 7.50 و 7.20 فرع .نبات $^{-1}$ على التتابع. اتفقت هذه النتائج مع ما وجده باحثون

واخرون (39 و48) عند استخدامهم التداخل بين الـ BA والـ NAA شجع عملية التضاعف.

جدول 3 . تأثير تراكيز الـ BA والـ NAA والتداخل بينهما في معدل عدد الافرع المتضاعفة بعد ستة اسابيع من الزراعة على وسط MS.

تركيز الـ BA (ملغم. لتر$^{-1}$)	تركيز الـ NAA (ملغم .لتر$^{-1}$)				المعدل
	0.0	0.1	0.3	0.5	
0.0	1.00	1.20	1.30	1.30	1.20
0.5	2.00	2.60	3.50	2.50	2.65
1.0	4.00	5.20	8.30	7.50	6.25
2.0	3.00	4.40	7.20	6.50	5.27
L.S.D 0.05	0.37				0.18
المعدل	2.50	3.35	5.07	4.45	
L.S.D 0.05	0.18				

تأثير تراكيز الـ BA والـ NAA والتداخل بينهما في طول الافرع المتضاعفة بالـ(سم) :

تبين نتائج جدول 4 تأثير التراكيز المختلفة من الـ BA في معدل اطوال الافرع أذ اظهرت النتائج ان للـ BA تأثير في اطوال الافرع فقد لوحظ ان اطوال الافرع تقل تدريجيا بزيادة تراكيز الـ BA الى ان وصل اقل معدل عند التركيز 1.0 ملغم .لتر $^{-1}$ إذ بلغ 3.32 سم واعلى معدل عند معاملة المقارنة بلغ 8.47 سم والتي تفوقت معنويا على باقي التراكيز ، اما تأثير التراكيز المختلفة من الـ NAA فقد اظهرت النتائج ان اطوال الافرع تقل وبشكل تدريجي بزيادة تراكيز الـ NAA الى ان سجل اقل معدل عند التركيز 0.3 ملغم. لتر $^{-1}$ إذ بلغ 4.47 سم واعلى معدل بلغ 6.07 سم عند معاملة المقارنة التي تفوقت معنويا على باقي المعاملات. اما بالنسبة لتأثير التداخل بين تراكيز الـ BA والـ NAA فيلاحظ ان للتداخل تأثير معنوي في اطوال الافرع إذ سجل اقل معدل عند معاملة التداخل بين تركيز 1 ملغم .لتر $^{-1}$ من الـ BA مع 0.3 ملغم. لتر $^{-1}$ من الـ NAA بلغ المعدل فيها 2.00 سم واعلى معدل لأطوال الافرع عند معاملة المقارنة بلغت 9.00 سم التي تفوقت معنويا عن بقية المعاملات .اتفقت مع ما توصل اليه(26) عند إكثاره نبات الكلانشوي *K. tomentosa*, (11) حول إكثار نبات القرنفل *Dianthus caryophyllus* إلى إن الوسط الخالي من الهرمون أعطى اكبر متوسط لطول الأفرع. توضح نتائج جدول 3 ان السايتوكاينينات تعمل في التقليل من ظاهرة السيادة القمية والتأثير المانع للاوكسينات الموجودة في البراعم الجانبية وبالتالي تشجيع هذه البراعم على النمو (18 و 23 و 2) اما المعاملة الخالية من السايتوكاينينات والتي تحتوي على الاوكسين فقط فقد اعطت اقل معدلات لعدد الافرع والسبب في ذلك يعود الى دور الاوكسينات في تشجيع السيادة القمية ومنع نمو الافرع الجانبية (30) اما السبب في الحصول على اعلى معدل لعدد الافرع عند معاملة التداخل بين تركيز السايتوكاينينات والـ NAA فقد يعود الى ان فعالية السايتوكاينين في احداث التضاعف تزداد بوجود الاوكسين اي يزداد التأثير عند وجودهما معا في الوسط الغذائي (30) و (32). بالنسبة لنتائج جدول 4 توضح ان سبب تفوق الوسط الخالي من الهرمون في متوسط طول الافرع إلى انخفاض عدد الافرع في هذه المعاملة فتزداد فرصة حصولها على الغذاء من الوسط مقارنة بالمعاملات الأخرى (16). ويعود سبب زيادة طول الافرع إلى غياب السايتوكاينين الذي يؤثر في السيادة القمية للفروع و يقلل من أطوالها و يزيد عدد الافرع لها (18)، فضلا عن ذلك قلة عدد الافرع زاد من فرص الحصول على الغذاء وبالتالي زيادة طول الفرع ، ان ارتفاع تراكيز السايتوكاينينات في الوسط الغذائي ادى الى انخفاض في معدل اطوال التفرعات لان امتصاصه من قبل الافرع ادى الى تقليل دور الاوكسين في داخل التفرعات والاخير مسؤول عن استطالة الخلايا ومن ثم تقليل اطوالها(19). اما بالنسبة لتأثير التراكيز العالية نسبيا من الـ NAA بمفرده ادت الى تقليل نمو الفروع وقد يعود السبب الى منع الاوكسين من حدوث الاتصال الوعائي بين الانسجة الوعائية للبراعم الابطية والانسجة الوعائية للساق مما يؤدي الى عدم او قلة مرور المواد الغذائية من انسجة الساق الى البراعم ومن ثم قلة نموها واستطالتها (35).

جدول 4 تأثير تراكيز الـBA والـNAA والتداخل بينهما في معدل اطوال الافرع المتضاعفة بالـ (سم) بعد ستة اسابيع من الزراعة على وسط MS.

تركيز الـ BA (ملغم. لتر$^{-1}$)	تركيز الـ NAA (ملغم. لتر$^{-1}$)				المعدل
	0.0	0.1	0.3	0.5	
0.0	9.00	8.50	8.20	8.20	8.47
0.5	7.00	6.20	4.60	5.30	5.77
1.0	4.30	3.50	2.00	3.50	3.32
2.0	4.00	4.10	3.10	3.00	3.55
L.S.D 0.05	0.33				0.16
المعدل	6.07	5.57	4.47	5.00	
L.S.D 0.05	0.16				

مرحلة التجذير

تأثير املاح MS (قوة كاملة ونصف قوة) و تراكيز الـ NAA والتداخل بينهما في النسبة المئوية للتجذير.

تبين نتائج الجدول 5 وجود فروق معنوية بين املاح MS قوة كاملة ونصف قوة في النسبة المئوية للتجذير اذ تفوقت معاملة نصف قوة املاح MS بإعطائها اعلى نسبة بلغت 55% والتي اختلفت معنويا عن معاملة املاح MS قوة كاملة إذ اعطت نسبة 35 % . اما عن تأثير تراكيز الـ NAA في النسبة المئوية للتجذير فقد اظهرت النتائج تفوق التركيز 0.5 ملغم. لتر$^{-1}$ بإعطائه اعلى نسبة تجذير بلغت 75 % والتي لم تختلف معنويا عن معاملة التركيز 0.3 ملغم .لتر$^{-1}$ الذي اعطى 50% واختلف معنويا عن التركيزين (0.1 ،0.0) ملغم .لتر$^{-1}$ إذ اعطتا نسبة 40 ، 15% على التوالي. بالنسبة لتأثير التداخل بين املاح MS وتراكيز الـ NAA فقد اعطت معاملة وسط MS نصف قوة وتركيز 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ من الـ NAA اعلى نسبة للتجذير بلغت 80% والتي لم تختلف معنويا عن معاملة وسط MS نصف قوة وتركيز0.3 ملغم.لتر$^{-1}$ اذ اعطت نسبة 70% لكنها اختلفت معنويا عن معاملة المقارنة ووسط MS قوة كاملة إذ اعطت نسبة بلغت 10%. اوضحت نتائج الجدول ادناه ان اعلى نسبة للتجذير بلغت 80% في معاملة التداخل بين وسط MS نصف قوة و تركيز 0.5.

جدول 5 . تأثير قوة املاح الوسط الغذائي MS بالتداخل مع تراكيز الـ NAA في النسبة المئوية للتجذير بعد ستة اسابيع من الزراعة

وسط MS	تراكيز الـ NAA (ملغم.لتر$^{-1}$)				المعدل
	0.0	0.1	0.3	0.5	
MS	10	30	30	70	35
1/2 MS	20	50	80	70	55
0.05 L.S.D	40				20
المعدل	15	40	50	75	
0.05 L.S.D	28				

تأثير املاح MS (قوة كاملة ونصف قوة) وتراكيز الـNAA والتداخل بينهما في معدل عدد الجذور

تبين نتائج الجدول 6 وجود فروق معنوية بين املاح MS قوة كاملة ونصف قوة في عدد الجذور اذ اعطت معاملة املاح MS نصف قوة اعلى معدل لعدد الجذور بلغ 1.10 جذر. نبات $^{-1}$ مقارنة بمعاملة MS قوة كاملة التي اعطت معدل 0.57 جذر. نبات$^{-1}$. اما تأثير التراكيز المختلفة من الـ NAA فقد تفوق التركيز 0.5 ملغم. لتر$^{-1}$ معنويا على بقية التراكيز في معدل عدد الجذور اذ اعطى معدل 1.80 جذر. نبات $^{-1}$ اما ادنى معدل لعدد الجذور فكان عند التركيز 0.0 ملغم. لتر$^{-1}$ الذي اعطى معدل 0.15 جذر. نبات $^{-1}$. بالنسبة لتأثير التداخل بين املاح MS وتراكيز الـ NAA فقد اوضحت نتائج الجدول ادناه ان اعلى معدل لعدد الجذور بلغ 2.40 جذر. نبات $^{-1}$ في معاملة التداخل بين وسط MS نصف قوة و تركيز 0.5 ملغم. لتر$^{-1}$.

جدول 6. تأثير املاح الوسط الغذائي MS بالتداخل مع تراكيز الـ NAA في معدل عدد الجذور بعد ستة اسابيع من الزراعة.

وسط MS	تراكيز الـ NAA (ملغم .لتر$^{-1}$)				المعدل
	0.0	0.1	0.3	0.5	
MS	0.10	0.30	0.70	1.20	0.75
1/2 MS	0.20	0.50	1.30	2.40	1.10
0.05 L.S.D	0.62				0.31
المعدل	0.15	0.40	1.00	1.80	
0.05 L.S.D	0.44				

تأثير املاح MS (قوة كاملة ونصف قوة) و تراكيز الـ NAA والتداخل بينهما معدل اطوال الجذور (سم)

تبين نتائج الجدول 7 وجود فروق معنوية بين املاح MS قوة كاملة ونصف قوة في تأثيرها بأطوال الجذور اذ تفوقت معاملة نصف قوة املاح MS معنويا بإعطائها اعلى معدل بلغ 1.34 سم والتي اختلفت معنويا عن معاملة املاح MS قوة كاملة التي اعطت 0.59 سم . اما تأثير التراكيز المختلفة من الـ NAA فقد اعطى التركيز 0.5 ملغم. لتر$^{-1}$ اعلى معدل لأطوال الجذور بلغ 1.60 سم و الذي لم يختلف معنويا عن تركيز 0.3 ملغم. لتر $^{-1}$اذ اعطى معدل 1.49سم و اختلف معنويا عن بقية المعاملات. بالنسبة لتأثير التداخل بين املاح MS وتراكيز الـ NAA فيلاحظ ان اعلى معدل لأطوال الجذور في معاملة التداخل بين وسط MS نصف قوة وتركيز 0.5 ملغم .لتر$^{-1}$ NAA اذ بلغ 2.15 سم والتي لم تختلف معنويا عن معاملة التداخل بين وسط MS نصف قوة وتركيز 0.3 ملغم. لتر$^{-1}$ اعطت معدل 2.08 سم و اختلف معنويا عن بقية المعاملات.

جدول 7. تأثير املاح الوسط الغذائي بالتداخل مع تراكيز الـ NAA في اطوال الجذور بعد ستة اسابيع من الزراعة

وسط	تراكيز الـ NAA (ملغم.لتر$^{-1}$)				المعدل
MS	0.0	0.1	0.3	0.5	
MS	0.10	0.30	0.90	1.05	0.59
1/2 MS	0.35	0.78	2.08	2.15	1.34
0.05 L.S.D	1.01				0.50
المعدل	0.23	0.54	1.49	1.60	
0.05 L.S.D	0.71				

توضح نتائج الجداول 5، 6 ،7 ان سبب تفوق وسط MS بنصف تركيز الأملاح في ارتفاع نسبة التجذير و متوسط طول الجذور إلى إن اختزال مستويات الأملاح للوسط الغذائي تعني اختزال في مستوى النتروجين في الوسط الغذائي مما يؤدي إلى اختزال في مستواه الداخلي في الأفرع وهذا بالنتيجة ربما يؤدي إلى زيادة نسبة الكربوهيدرات إلى النتروجين (C/N) مما يؤدي إلى زيادة تكوين مناشئ الجذور وعددها 17و 20 وإن تأثير خفض تركيز الأملاح إلى النصف أدى إلى زيادة طول الجذور فقد يعزى إلى ظاهرة الانتحاء الغذائي و التنافس على المواد الغذائية مما حفز الجذور إلى الانتشار لمديات ابعد في الوسط الغذائي لكي تعوض النقص الحاصل في كمية العناصر الغذائية (29). ان وجود الاوكسينات في الوسط الغذائي له دور مهم في تحفيز تكوين الجذور على الافرع اذ ان انقسام خلايا مناشئ الجذور Root Primordia يعتمد على الاوكسين طبيعيا كان او مضافا اي ان التأثيرات الفسيولوجية لوجود الاوكسينات تكمن في زيادة انقسام الخلايا وانها تحول الخلايا البالغة المتخصصة الى خلايا مرستيمية وبذلك يتكون مرستيم الجذر العرضي الذي تنقسم خلاياه لتكون الجذور (24). اتفقت هذه النتائج مع ما توصلت اليه Al–Hassani(5) باستخدامها تركيز 0.5 ملغم .لتر$^{-1}$ NAA اعطى اعلى معدل للاستجابة وكذلك زيادة في عدد واطوال الجذور لنبات الكلاديولس ، كذلك تتفق النتائج مع ما وجده Siddiqueواخرون(40) عند استخدامه وسط MS مجهز 0.2 ملغم . لتر$^{-1}$ NAA اعطى افضل نسبة تجذير لأبصال الـ *Hippeastrum hybridum* كذلك زيادة في اعداد الجذور واطوالها . اتفقت النتائج كذلك مع ما ذكره Xiao–min واخرون (47) ان افضل وسط لتجذير نبات *Narcissus pesudonarcissus* هو وسط MS بنصف قوة املاحه يحتوي على 0.5 ملغم .لتر$^{-1}$ مضافا اليه BA تركيز 0.3 ملغم .لتر$^{-}$ وسكروز20 غم .لتر$^{-1}$.اتفقت النتائج مع ما ذكره باحثون واخرون (3 و 10 و 45) الى ان استخدام التراكيز القليلة من الـ NAA (0.5 - 2.5مايكرومول) هي الامثل لتحفيز تكون الجذور .

تأثير الفحم المنشط (AC) في تجذير الافرع

يشير جدول 8 تأثير استخدام الفحم المنشط في تجذير الافرع اذ اظهرت النتائج تفوق وسط MS الحاوي على الفحم المنشط معنويا على الوسط الخالي منه بإعطائه معدلات اعلى في نسبة التجذير واعدادها واطوالها بلغت 100% و 4.00 جذر. نبات$^{-1}$ و 4.70 سم بينما بلغت المعدلات في الوسط الخالي منه 80% و 2.40 جذر. نبات $^{-1}$ و2.08 سم . ان الـ AC كثيرا مايستخدم في الزراعة النسيجية لدوره الفعال في نمو الخلايا وتطورها ،إذ يعمل على امتصاص مثبطات النمو منها 5– hydroxymethl – furfural المنتجة من السكروز خلال عملية التعقيم (34) كما يعمل الـ AC على توفير بيئة مظلمة في الوسط الغذائي محاكاة للبيئة التي ينمو فيها الجذر في حالة التربة (13) اتفقت هذه النتائج مع ما توصل اليه Qun-long واخرون (36) الذي حصل على اعلى نسبة للتجذير بلغت 100% لأبصال Amaryllis باستخدامه وسط نصف قوة MS مجهز بالفحم المنشط تركيز 2 غم .لتر$^{-1}$ و 0.1 ملغم .لتر$^{-1}$ NAA .اتفقت كذلك مع ما ذكره Wawrosch واخرون(46) ان استخدام وسط نصف قوة MS مع الفحم المنشط زاد من نسبة التجذير واعداد الجذور واطوالها لنبات *Lilium nepalense*.اتفقت مع ماذكره Mata-Rosas (27) الى ان استخدام الـ NAA مع الـ AC اعطى تجذير عالي لنبات الـ *Eucrosia autumnalis* و *Magnolia dealbata* على التتابع .

جدول 8. تأثير الفحم النباتي في نسبة التجذير واعدادها واطوالها بوجود الـ NAA تركيز 0.5 ملغم .لتر$^{-1}$ بعد مرور ستة اسابيع من الزراعة.

املاح الوسط الغذائي AC	النسبة المئوية (%) للتجذير	اعداد الجذور	اطوالها (سم)
2 غم.لتر$^{-1}$	100	4.00	4.70
0 غم.لتر$^{-1}$	80	2.40	2.08
L.S.D 0.05	28	0.64	1.17

مرحلة الاقلمة

تم استخدام الوسط الزراعي المكون من الزميج والبيتموس وبالنسب 1:1 و2:1 و1:2 إذ بلغ معدل البقاء 90% للنسب 1:1 و2:1 و80% لنسبة 1:2 وكما هو موضح في جدول 9 .

9. النسبة المئوية (%) لبقاء النباتات المؤقلمة

نسب الزميج :البيتموس	عدد النباتات المؤقلمة	النسبة المئوية للنباتات المؤقلمة
1:1	**10**	**%90**
2:1	**10**	**%90**
1:2	**10**	**%80**

هذه النتائج تتفق مع ما وجده Smith واخرون(40) عند اقلمته لنبات *Hippeastrum hybridum* ان نسبة البقاء كانت عالية عند استخدامهم وسط الرمل والزميج والبيتموس .

REFRENCECS

1. Abdoul; K. S .1987. Plant growth Regulators. First Point . Firstedition of the Directorate of Book House Printing and Publishing. University of Mosul. Iraq.

2. Abdul-Hussein, M. A. A. ; A.K.H.Al-Tfeely and S. A. Al-Jubouri .2010. Effect of growth regulators and media composition the micro propagation of Nyctaginaceae *Bougainvillea glabra*. Kufa Journal of Agricultural Sciences . 2 (1): 100-108.

3. Aftab , F ; M. Alam and H. Afrasiab .2008. *In vitro* shoot multiplication and callus induction in Gladiolus hybridus Hort.Pakistan Journal Botanical . 40:13-45.

4. Al-Chalabi, S. c.m and N. K. Khayyat. 2013. Ornamental Plants in Iraq. the Ministry of Higher Education and Scientific Research. College of Agriculture . University of Baghdad.

5. Al-Hassani ,M.H.M. 2006 .*In vitro* propagation of some varieties of *Gladiolus spp.* The Master College of science for women ,Baghdad University .Iraq.

6. Al- Khafaji, M. A. 2014. . Plant Growth Regulators Application and Utilizations . Ministry of Higher Education and Scientific Research. College of Agriculture. University of Baghdad.

7. Al-Sahoeke, M and K. M. Wahib.1990. Applications in Experimental designs .University of Baghdad . Ministry of Higher Education and Scientific Research . Iraq.

8. Al- Shammari, I. A. H. 2007.Induction and evaluation of genetic variation for drought tolerance in some varieties of wheat, *Triticum aestivum* L. *in vitro* Ph.D Dissertation .College of Agriculture, University of Baghdad. Iraq.

9. Brenzel , N . and T. Kathleen . 2012 . The New Sunset Western Garden book .The Ultimate Gardening Guide .Oxmoor House. ISBN.

10. Colque , R.; F. Villadomat , J. Bastida and C. Codina .2002 . Micro propagation of the rate *Eucrosia stricklandii* (Amaryllidaceae) by Twin – scaling and shake liquid culture . Journalof Horticultural Science and Biotechnology, vol. 77 , p.739-743.

11. Danial, G. H. ; A. N. Yousif and M. S. Omar. 2009. Clonal propagation of *Dianthus caryophyllus* L. Through Tissue Culture . The 2nd Kurdistan Conference on Biological Sciences.12 (1) 19 – 95.

12. Devlin, R. M. and F. H. Witham , 1983. Plant Physiology, 4th ed .Wads Worth Publishing Company. Belmont , California , U.S.A.

13.Dumas , E and O .Monteuuis .1995 . *In vitro* rooting of micro propagation shoots from juvenile and mature pinus pinaster explants - influence of activated charcoal .Plant Cell Tissue Organ Cult .40 : 5 -231.

14. El-Gendy, S. A. ; M. E. Hashim ; A. M. Hosni and F. Lasheen. 2001. *In vitro* shoot proliferation of gladiolus from either terminal buds or segments of cormes. Arab Univ. J. Agric. Sci., 9(2):889-913.

15. Ephrath, J .E. ; J . Ben –Asher ; F . Baruchin ;C . Alekperov ; C.Dayan and M . Silberbush . 2001 . Various cutting methods for the propagation of hippeastrum bulbs.Biotronics 30: 75-83.

16. Fiserova, H. ; J. Sebanek ; J. Wradilik ; P. Dolezel and H. Vitkova . 2006. Role of Cytokinins in growth correlations between roots and stems in pea (*pisum stativum* L.) seedlings . Plant soil Environ., 52 (4) : 159-163.

17. Gawel, N. J. ; C. D. Robacker and W. L. Corly. 1990. *In vitro* propagation of *Miscanthus sinensis* . Hort. science, 25(10):1291-1293.

18. Gindia, H. 2003. Physiology of Fruit Trees Latest Methods in the Treating the Agricultural, Growing and Production of Fruit Trees in Various Lands. Arab House for publication and Distribution. Cairo .Egypt.

19. Hartmann , H. T.; D .E. Kester; F.T. Davies and R.L. Geneve. 1997. Plant Propagation : Principles and Practices. Sixth Edition .Prentice- Hall International Editions.
20. Hartmann, H. T. ; D. E. Kester ; F. T. Davies; Jr. and R. L. Geneve , 2002. Plant Propagation Principles and Practices, 7th Ed. Prentice Hall , Upper saddle River , New Jersey . U.S.A.
21. Herbert , W . 1821 . An appendix : General Index to the Botanical magazine .PP:43-48.
22.Hongmel, S.and L.Sony .2010. Study on Bulb Adventitious bud Induction of *Hippeastrum vittatum* .Chinese Agricultural Science Bulletin.
23. Hopkins, W. G. and N. P. A. Hiiner. 2004. Introduction to Plant Physiology 3rd edition. John Wiley and Sons, inc.
24. Ibrahim , K . M and S . Abdul – Hameed.2001 . The Narseries . The Uni . of Musil . Univ .Press .
25. Ilczuk, A.; W.Traud.; R. Simon.; W. Maria and Argrethe .2005. *In vitro* propagation of *hippeastrum* ×*Chmielli* chm.- in fluence offlurprimidol and the culture in soild or liquid medium and intemporary immersion systems. Plant cell, Tissue and Culture83:339-346.
26. Khan, S. ; N. Sheeba ; A. Kashif and Z. Samreen , 2006. Direct organogenesis of *Kalanchoe tomentosa* (Crassulanceae) from shoot-tips . Pak. J. Bot. , 38 (4): 977 – 981.
27. Mata – Rosas , M; A.Jimenez – Rodriguez and V. Ghavez-Avila .2006. Somatic embryogenesis and organogenesis in *Magnolia dealbata* Zucc. (Magnoliaceae), an endangered, endemic Mexican species .HortScience .41,p. 1325 –1329.
28. Meerow , A .W . 1999 ." Breeding Amaryllis" .Herbertia 54 :67-83.
29. Mohammed, A and A. Al-Rayes, 1982. Plant Physiology National Library for printing andpublishing. University of Mosul. Iraq.
30. Mohamed, A.A.K and M.A. Younis. 1991. Principles of Plant physiology. Baghdad University. Ministry Of Higher Education and Scientific Research. Iraq.
31.Murashige , T. and F. Skoog 1962 . Arevised medium for rapidgrowth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol . Plant 15:473 – 479 .
33. Okubo , H.; W. C. Huang and F. Kishimoto . 1999 . Effect of ant- auxins and basal plate on bulblet formation in scale propagation of amaryllis (*Hippeastrum* × *hybridum* hort) J.Japan .Soc. Hort Seience 68(3) : 513-518.
34. Pan ,Mj ; J . Van Staden . 1998 . The Use of Charcoal in *in vitro* culture - a review. Plant Growth Regul .26 :63- 115.
35. Phillips , I .D. J . 1969. Apical Dominance. In : The Physiology of Plant Growthand Development ,ed .M .B. Wilkins. pp: 161 – 202.
36. Qun-long , L.; G .Duan and L .Zhou .2007. Establishment of *in vitro* Bulb Induction and Regeneration System of Amaryllis .Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica .Abs.
37. Ramawat, K. G. 2004. PlantBiotechnology . Printel in India P:265.
38. Siddique , N . E . A . 2004 . In Vitro Propagation of Hippeastrum (*Hippeastrum hybridum*) .MSC In Horticulture .Agricultural Universty. Gazipur -1706.
39.Siddique ,M.; N.Sultana ; M. A. Haque ; M. M. Hossain and J. U. Ahmed .2006. Effects of twin scale size and hormones on *In vitro* propagation of Hipeastrum (*Hippeastrum hybridum*) .Plant Tissue Cult and Biotech .16(2):105-110.
40. Siddique , M.N.A.; J. Sultana ; N.Sutana and M.M. Hossain .2007 . *Ex vitro* establishment of *in vitro* produced plantlets and bulblets Hippeastrum (*Hippeastrum Hybridum*) .Int .j. Sustain .crop prod . 2(3) :22- 24.
41. Smith , R. H .; J . Burrows and K . Kurten .1999 . Challenges associated with micropropagation of Zephyranthes and *Hippeastrumm* sp. (Amaryllidaceae). *In vitro* Cellular and develop .Biol . plant . 35(4): 281-282.
42.Song ,Z.; K. Da ; C. Cao; L. Jiang ; R.Zhu; and L.Wu .2002. Rapid micropropagation system via *in vitro* culture in Amaryllis and its Embryogensis , Acta Hortiulturae Sinica .Abs.
43. Sultana ,J.; N .Sultana; M. N.A. Siddique ; A. K.M .A. Islam; M.M .Hossain; and T.Hossain.2010. *In vitro* Bulb Production in Hippeastrum (*Hippeastrumhybridum*).J .Cent .Eur .agric.11:4,469-474.
44. Swamy, N. S. 1977. Regeneration of plant from tissue culture. In: Applied and

by plant growth regulators. Pakistan Journal Biological Sciences, vol. 11, p. 1147-1154.
32.Neumann , K.H.; A. Kumar and J. Imani. 2009 . Plant cell and Tissue Culture a tool in biotechnology .Springer , Berlin . Germany .

Fundamental Asepets of Plant Cell Tissue and Organ Culture. (ed) Berlin Springer. Verlag.
45. Torabl-Giglou, M and B. Hajieghrarl .2008. *In vitro* study onregeneration of *Gladiolus grandifloras* corm calli as affected