------ مجلة علوم الرافدين، المجلد 17، العدد 9، خاص بعلوم الحياة، ص50-63، 2006 ------

تأثير تداخل بعض منظمات النمو ومشتقات الترايازولس في نمو وتمايز كالس نبات الفجل *Raphanus sativus* L.

ازهار حسين علي هناء سعيد الصالح

قسم علوم الحياة

كلية العلوم

جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 2005/2/27 ؛ تاريخ القبول 2005/10/10)

الملخص

تضمنت الدراسة التحري عن دور بعض منظمات النمو القياسية المعروفة واحد مشتقات مركبات الترايازولات المصنعة حديثا والمصنف ليكون منظم نمو، في استحداث ونمو الكالس من قطع السيقان لبادرات نبات الفجل *Raphanus sativus* L. ،وكذلك بيان دورها في نشوء الافرع الخضرية والجذور. واستخدمت منظمات النمو البنزايل أدنين Benzyl adenine (BA) مع الاوكسينات 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) و Naphthaleneacetic acid (NAA) . وتم اضافة كل من BA و 2,4-D و NAA الى الوسط بتراكيز مختلفة لوحده أو مع منظمات النمو الاخرى، لبيان التركيز الامثل المشجع لاستحداث الكالس ونموه.أما مركب الترايازول فتم إضافته الى الوسط الغذائي بتركيز 10^{-6} مولار، إما لوحده او مع منظمات النمو BA و2,4-D و NAA .

بينت النتائج ان إضافة BA لوحده الى الوسط الغذائي ،شجع تمايز القطع النباتية المزروعة لتكوين أفرع خضرية ،أما إضافة BA مع NAA الى الوسط الغذائي فانه شجع تكوين الافرع الخضرية والجذور، في حين أن اضافة NAA لوحده الى الوسط الغذائي شجع تكوين الجذور من القطع النباتية المزروعة. وان استخدام 2,4-D لوحده حفز استحداث الكالس من قطع سيقان البادرات.واوضحت نتائج الدراسة ان اضافة مركب Triazole بتركيز (10^{-6}) مولار لوحده الى وسط MS الغذائي لم يحفز استحداث الكالس بل حفز تكوين الافرع الخضرية بشكل جيد.

Role of Some Growth Regulators and Triazole Derivatives in Growth and Differentiation of Radish (*Raphanus sativus* L.)Callus

Azhar H. Ali **Hana S. Assaleh**
Department of Biology
College of Science
Mosul University

ABSTRACT

The study included detecting the role of some standard growth regulators and one of the recently synthesized triazole derivative , a compound that is classified to be a growth regulator in initiation and growth of callus from stem segments of radish seedlings and the establishment of shoots and roots.

Cytokinine Benzyl adenin(BA) is used with Auxins 2,4-chlorophenoxyacetic acid(2,4-D) and Naphthaleneacetic acid (NAA).

BA,2,4-D and NAA were used at several concentrations either alone or with other growth regulators to select the ideal one which enhances initiation of callus and its growth. As for Triazole compound ,It had been added to the nutritional medium at the concentration of 10^{-6} molar either alone or with NAA,2,4-D,BA.

The results showed that adding BA alone to the medium stimulated shoot formation, whereas addition of BA with NAA stimulated the formation of shoot and roots.

Adding NAA to the nutritional medium alone stimulated the establishment of roots from the cultured explants, whereas addition of 2,4-D alone to MS medium stimulated the initiation of callus.

The results showed that adding triazole compound with a concentration of (10^{-6}) Molar alone to MS medium did not stimulate callus initiation, while shoots formed by this treatment.

المقدمة

تلعب منظمات النمو النباتية دورا مهما في التحكم في الانبات والنمو الخضري والازهار والاثمار في العديد من النباتات. لذا فتقنية زراعة الانسجة النباتية تعتمد بشكل كبير على استخدام هذه المنظمات وبتراكيز مختلفة للاستحداث والنمو اعتمادا على نوع القطعة النباتية المستخدمة، فمنظمات النمو يمكنها ان تحفز او تعرقل الفعاليات الفسلجية في الخلايا النباتية اذا ما تم استخدامها بالتراكيز الملائمة وفي الاوقات المحددة (شكر، 1989).

تشير العديد من البحوث الى ان الاوكسين والسايتوكاينين ضروريان للتحكم بالنمو وتكوين الاعضاء خارج الجسم الحي (Skoog and Miller, 1957) وان تكوين الكالس او الجذور او الافرع الخضرية يتم عن طريق الموازنة بين الكميات النسبية المضافة من كل منهما (Street, 1977 ; محمد وعمر، 1990). ويعتمد نمو الكالس وكذلك قوامه ولونه على الموازنة بين الاوكسينات والسايتوكاينينات وكذلك على نوع القطعة

Dodds and ،Mohammad and Yousif, 1982 ،Street, 1977 ،Murashige and Skoog, 1962) .(Roberts, 1985

وفي سياق الكلام عن منظمات النمو النباتية المصنعة تاتي خطوات جديرة بالذكر هي تصنيع مركبات كيمياوية اثبتت دورها كاوكسينات او سايتوكاينينات تم تصنيعها محليا لا تقل اهمية بل انها في بعض الاحيان تفوق في تاثيرها منظمات النمو القياسية، ومنها مركب جديد من مشتقات (Triazole) الذي تاكد دوره كسايتوكاينين من خلال تحفيزه لنمو الكالس واخلاف الافرع الخضرية والجذور من قطع نبات الخس، كما ثبت دوره الواضح في تحفيز بناء البروتين في الخلايا (الوتار، 2000 ،البياتي ومحمد، 2004).

اصبح من الصعب استخلاص المواد الطبيعية (المواد الايضية الثانوية) بسهولة من النبات وبشكل نقي ،بسبب عوامل عديدة منها ما يخص الظروف البيئية،وأخرى خاصة بالنبات نفسه. لذلك جاءت تقنيات الزراعة النسيجية لتوفر البديل المناسب عن النباتات التي تعد المصدر لهذه المركبات الايضية الهامة (الكناني، 1987; Youssef et al., 1998). وأصبحت مصدرا أساسيا يعتمد عليه في الحصول على المركبات الايضية النباتية بشكل نقي (الزبيدي، 2004؛ النعيمي، 2004).

ان هذه الدراسة تهدف الى تحديد وسط قياسي لاستحداث الكالس من قطع سيقان بادرات نبات الفجل باستخدام منظمات النمو القياسية، وبيان دور منظم النمو المصنع Triazole في نمو واستحداث الكالس وتكوين الافرع الخضرية والجذور من قطع سيقان بادرات نبات الفجل.

المواد وطرائق العمل

تم استخدام بذور نبات الفجل *Raphanus sativus* L. الذي ينتمي للعائلة الصليبية (Cruciferae)،واستخدم الصنف الاحمر الكروي. وحصل على البذور من الاسواق المحلية،وتم اجراء إختبار حيوية البذور الذي بين أن نسبة إنباتها هي 92%.

نميت بذور نبات الفجل الخالية من الملوثات عن طريق تعقيمها بالكحول الاثيلي (Ethanol) بتركيز 96% لمدة دقيقتين ثم بمحلول هايبوكلورايت الصوديوم(NaOCl) (القاصر التجاري بتركيز 6.4)المخفف بالماء المقطر والمعقم بنسبة1:2على التوالي(سليمان،2001). ثم زرعت البذور في دوارق زجاجية حاوية على اوساط غذائية معقمة خاصة لانبات البذور وتنمية البادرات وهو وسط Hoagland و Arnon (Arnon and Hoagland, 1940, 1944) واستخدمت البادرات النامية في التجارب اللاحقة.حيث استخدمت قطع من السيقان تحت الفلقية للبادرات النامية على الأوساط الغذائية المعقمة بعمر (14)يوماً .

وصممت التجارب لأختبار تأثير منظمات نمو مختلفة معروفة سابقا ومركبات مصنعة ومصنفة حديثا كمنظمات نمو، لبيان افضلها في استحداث ونمو وتمايز كالس نبات الفجل، حيث استخدم (2,4-D) بتركيز ($10^{-3}\times4$) مولار لوحده في الوسط الغذائي، كما استخدم (2,4-D) بتراكيز هي ($10^{-3}\times1$، $10^{-3}\times2$، $10^{-3}\times4$، $10^{-4}\times2$، $10^{-4}\times4$) مولار مع BA بتراكيز ($10^{-2}\times1$، $10^{-2}\times2$ ، $10^{-3}\times2$ ، $10^{-3}\times4$، $10^{-4}\times4$) مولار

،2×10^{-4}، 4×10^{-4}) مولار مع BA بتراكيز (1×10^{-2}، 2×10^{-2} ، 2×10^{-3} ، 4×10^{-3}، 4×10^{-4}) مولار .كما استخدم (NAA) إما لوحده او مع BA وبتراكيز (4×10^{-3} و 5×10^{-3}) مولار لكل منهما على التوالي.وتم استخدام منظم نمو من مجموعة مركبات Triazoles حيث تم تحضيره في قسم الكيمياء بكلية العلوم،وتأكد عمله كسايتوكاينين في دراسة سابقة(الوتا، 2000)، واستخدم التركيز (10^{-6}) مولار منه باعتباره أفضل تركيز مشجع لنمو الكالس (حسب مأشارت نفس الدراسة) .وتم أضافته الى وسط MS الغذائي اما لوحده أو مع التراكيز المحفزة من كل من BA و2,4-D و NAA.

النتائج

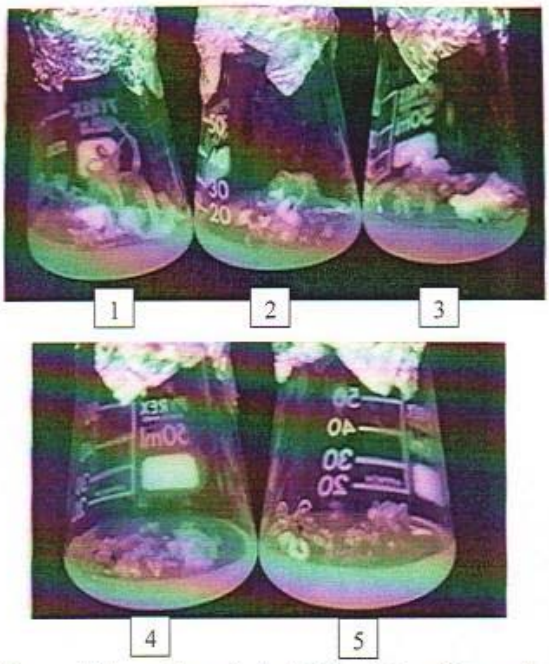
أولاً- تأثير 2,4-D مع BA في استحداث الكالس

بينت النتائج ان قطع سيقان بادرات الفجل تباين فيها التحفيز لاستحداث الكالس باستخدام تراكيز مختلفة من BA (4×10^{-4}، 2×10^{-3}، 4×10^{-3}، 1×10^{-2}، 2×10^{-2}) مولار مع 2,4-D (2×10^{-4}،4×10^{-4}، 2×10^{-3}، 4×10^{-3}، 1×10^{-2}) مولار ، ويشير الجدول (1) الى ان افضل استجابة لقطع سيقان بادرات نبات الفجل لاستحداث الكالس في وسط MS المضاف اليه (4×10^{-4}) مولار من BA مع (1×10^{-2}) مولار من 2,4-D اعطى نسبة (60 %) اما باقي الاوساط فتباينت فيها نسبة الاستجابة اعتمادا على تراكيز BA و2,4-D المضافة وبنسبة تراوحت مابين (10 – 40) % الصورة (1).

الجدول 1:النسبة المئويةلأستحداث الكالس من قطع سيقان بادرات نبات الفجل بعد مرور 30 يوماً من بدء زراعتها على أوساط (MS) مضافاً إليها تراكيز مختلفة من كل من BA و 2,4-D.

منظمات النمو	استحداث الكالس (%)				
(M)BA / (M)2.4-D	4×10^{-4}	2×10^{-3}	4×10^{-3}	1×10^{-2}	2×10^{-2}
2×10^{-4}	10	30	15	10	–
4×10^{-4}	10	30	15	10	–
2×10^{-3}	40	30	15	10	–
4×10^{-3}	30	10	15	10	–
1×10^{-2}	**60**	20	15	10	–

(–): الاستجابة معدومة. (*): عدد المكررات 5 لكل معاملة. (M):مولار (%): النسبة المئوية



الصورة 1 : تاثير تراكيز مختلفة من BA و 2,4-D على استحداث ونمو الكالس من قطع سيقان بادرات نبات الفجل النامية على وسط (MS) بعد مرور (90) يوما من النمو.

1- BA(4×10^{-4}) M + 2,4-D (2×10^{-4}) M 2-BA(4×10^{-4}) M + 2,4-D (4×10^{-4}) M
3- BA(4×10^{-4}) M + 2,4-D (2×10^{-3}) M 4-BA(4×10^{-4}) M + 2,4-D (1×10^{-2}) M
5- BA(2×10^{-3}) M + 2,4-D (2×10^{-4}) M

ثانيا- تأثير 2,4-D مع BA في تكوين الافرع الخضريةوالجذور

تشير النتائج في الجدول (2) الى ان جميع التراكيز المضافة من كل من BA و 2,4-D كانت محفزة لتكوين الافرع الخضرية من قطع سيقان البادرات.

وكان أفضل التراكيز المشجعة لنمو المجموع الخضري من حيث عددها وأطولها هي (2×10^{-3}) مولار من BA و(2×10^{-4}) مولار من 2,4-D حيث بلغ معدل عدد الافرع الخضرية (6,6,4) وبمعدل طول (8,5,3.5) سم خلال (90,60,30) يوماً من بدء الزرع على التوالي .

يبدو واضحاً ان التراكيز المختلفة لـ BA مع2,4-D لم تحفز تكوين الجذور من قطع السيقان لبادرات الفجل بعد مرور30 يوما من النمو ماعدا (2×10^{-3}) مولار لـBA و(2×10^{-4}) مولار لـ2,4-D الذي اعطى استجابة لتكوين الجذور (الجدول 2) .

ثالثاً- تأثير مركب Triazole

تأثير اضافة المركب لوحده الى الوسط الغذائي

تشير النتائج الى ان قطع سيقان بادرات نبات الفجل استجابت لتأثير مركب Triazoleلوحده في الوسط الغذائي بتركيز 10^{-6} مولار وكونت مجموعاً خضرياً جيد النمو (الصورة 2) وبلغ معدل عدد الاقرع الخضرية (7) وبمعدل طول (12) بعد مرور (90) يوماً على النمو (الجدول 3) .

اما من حيث تأثيره على تحفيز تكوين الجذور فقد تبين ان تركيز 10^{-6} مولار كان مشجعاً لتكوين الجذور، حيث كونت جذوراً بمعدل (5) وبمعدل طول(9) سم، بعد مرور (90) يوماً من النمو. علما ان نفس التركيز 10^{-6} مولار من Triazoles لم يشجع استحداث او تكوين الكالس من تلك القطع(الجدول 3).

تأثير اضافة مركب Triazole مع BA الى الوسط الغذائي

شجعت اضافة مركب BA بتركيز(4×10^{-3}) مولار بوجود مركب Triazoles بتركيز (10^{-6}) مولار، نشوء الافرع الخضرية لقطع سيقان بادرات نبات الفجل ، وبلغ معدل عددها (7) وبمعدل طول (11.5) سم بعد مرور (90) يوماً من النمو.كما أن هذا الوسط كان له تأثير مشجع لتكوين جذور عديدة جيدة النمو، وتطورت هذه الجذور لتكوين جذر خازن منذ عمر (30) يوما (الجدول 3) . علما ان استخدام BA و Triazoles بالتراكيز المذكورة انفاً حفز بدرجة قليلة استحداث الكالس من قطع سيقان بادرات نبات الفجل.

تأثير اضافة مركب Triazoles مع 2,4-D الى الوسط الغذائي

تم استحداث الكالس, فقط من قطع سيقان بادرات الفجل النامية على وسط MS المضاف إليه (10^{-6}) مولار من Triazoles و(4×10^{-3}) مولار 2,4-D ، والكالس المتكون كان ذا لون اصفر جيد التكوين، متماسك القوام (الصورة 2-A2) .

الجدول 2 : استحداث الكالس ونشوء الافرع الخضرية والجذور من قطع سيقان بادرات الفجل النامية على أوساط (MS) والحاوية على تراكيز مختلفة من BA و 2,4-D بعد مرور (30) ،(60)، (90) يوماً من بدء الزراعة

الاوساط	30 يوم					60 يوم					90 يوم				
	استحداث الكالس	الافرع الخضرية		الجذور		استحداث الكالس	الافرع الخضرية		الجذور		استحداث الكالس	الافرع الخضرية		الجذور	
		العدد	الطول (سم)	العدد	الطول (سم)		العدد	الطول (سم)	العدد	الطول (سم)		العدد	الطول (سم)	العدد	الطول (سم)
1	-	3	2	-	-	-	5	5	-	-	+ +	5	5.5	-	-
2	-	2	3	-	-	-	5	3	-	-	+ +	4	6	-	-
3	+ +	3	0.5	-	-	+ +	3	3.5	-	-	+ + +	3	4	-	-
4	+	1	0.5	-	-	+	1	1.5	-	-	+ + +	1	2	-	-
5	+ +	1	0.5	-	-	+ + +	1	1	-	-	+ + + +	1	1.5	-	-
6	**+**	**4**	**3.5**	-	-	**+**	**6**	**5**	**2**	**1**	**+ + +**	**6**	**8**	**3**	**1.5**
7	+	2	0.5	-	-	+	3	3	-	-	+ +	4	6.5	-	-
8	+	4	0.5	-	-	+	4	1	-	-	+ +	4	4	-	-
9	-	2	0.7	-	-	+	2	1.5	-	-	+ +	2	3	-	-
10	+	3	0.2	-	-	+	3	0.3	-	-	+ +	3	0.5	-	-
11	انتفاخ في القطعة	1	0.5	-	-	-	2	0.5	-	-	-	3	0.5	-	-
12	انتفاخ في القطعة	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(–) تحفيز معدوم ، (+) تحفيز قليل، (++) تحفيز متوسط، (+++) تحفيز جيد، (++++) تحفيز جيد جداً

1) MS + 4×10^{-4} مولار BA مع 2×10^{-4} مولار 2,4- D
2) MS + 4×10^{-4} مولار BA مع 4×10^{-4} مولار 2,4- D
3) MS + 4×10^{-4} مولار BA مع 2×10^{-3} مولار 2,4- D
4) MS + 4×10^{-4} مولار BA مع 4×10^{-3} مولار 2,4- D
5) MS + 4×10^{-4} مولار BA مع 1×10^{-2} مولار 2,4- D
6) MS + 2×10^{-3} مولار BA مع 2×10^{-4} مولار 2,4- D
7) MS + 2×10^{-3} مولار BA مع 4×10^{-4} مولار 2,4- D
8) MS + 2×10^{-3} مولار BA مع 2×10^{-3} مولار 2,4- D
9) MS + 2×10^{-3} مولار BA مع 4×10^{-3} مولار 2,4- D
10) MS + 2×10^{-3} مولار BA مع 1×10^{-2} مولار 2,4- D
11) MS + 4×10^{-3} مولار BA مع 2×10^{-4} مولار 2,4- D
12) MS + 4×10^{-3} مولار BA مع 4×10^{-4} مولار 2,4- D

الجدول 3 : استحداث الكالس ونشوء الافرع الخضرية والجذور من قطع سيقان بادرات الفجل النامية على اوساط MS الحاوية على مركب Triazole لوحده أو مع BA أو NAA أو 2,4-D ولاعمار (90, 60, 30) يوما من بدء الزراعة .

الاوساط	30 يوم					60 يوم					90 يوم				
	استحداث الكالس	الافرع الخضرية		الجذور		استحداث الكالس	الافرع الخضرية		الجذور		استحداث الكالس	الافرع الخضرية		الجذور	
		العدد	الطول (سم)	العدد	الطول (سم)		العدد	الطول (سم)	العدد	الطول (سم)		العدد	الطول (سم)	العدد	الطول (سم)
1	–	3	7	2	4	–	5	10	4	4	–	7	12	5	9
2	–	6	4	جذر خازن		–	7	10	جذور كثيفة مع جذر خازن		+	7	11.5	جذور خازنة	
3	–	–	–	–	–	+ +	–	–	–	–	+ + +	–	–	–	–
4	–	2	3.5	2	3	–	4	5	4	4	–	7	5	4	9
5	+ +	–	–	–	–	+ + +	–	–	–	–	+ + + +	–	–	–	–
6	–	**4**	**4**	**3**	**2**	–	**8**	**6**	**5**	**5**	+	**10**	**9**	**6**	**8**
7	–	–	–	جذور شعرية كثيفة		•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
8	+	2	1.5	–	–	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•

(–) تحفيز معدوم ، (+) تحفيز قليل، (++) تحفيز متوسط، (+++) تحفيز جيد، (++++) تحفيز جيد جداً.

• لم تؤخذ قياسات .

1. MS + Triazole بتركيز 10^{-6} مولار لوحده.
2. MS + Triazole بتركيز 10^{-6} مولار مع BA (4×10^{-3}) مولار.
3. MS + Triazole بتركيز 10^{-6} مولار مع 2,4-D (4×10^{-3}) مولار .
4. MS + Triazole بتركيز 10^{-6} مولار مع NAA (5×10^{-3}) مولار.
5. MS + 4×10^{-3} مولار 2,4-D.
6. MS + NAA و BA بتركيز 5×10^{-3} مولار ، 4×10^{-3} مولار لكل منهما على التوالي.
7. MS + 5×10^{-3} مولار NAA.
8. MS + 4×10^{-3} مولار BA.

الصورة 2: استحداث ونمو الكالس والافرع الخضرية والجذور من قطع سيقان بادرات نبات الفجل النامية على اوساط MS المضاف اليه مركب Traizole و BA او 2,4-D او NAA بعد مرور (90) يوما من النمو.

1-Triazole (10^{-6})M 2- Triazole (10^{-6})M+ 2,4-D ($4x10^{-3}$)M 3- Triazole (10^{-6})M+ NAA ($5x10^{-3}$)M 4- Triazole (10^{-6})M+ BA ($4x10^{-3}$)M	A
قطع سيقان بادرات نبات الفجل النامية على اوساط MS المضاف اليه مركب Triazole (10^{-6})M و BA ($4X10^{-3}$)M بعد مرور (120) يوم على النمو.	B
استحداث ونمو الكالس من قطع سيقان بادرات نبات الفجل النامية على اوساط MS المضاف اليه Triazole (10^{-6})M و 2,4-D($4X10^{-3}$)M بعد مرور (120) يوم على النمو.	C

تأثير اضافة مركب Triazole مع NAA الى الوسط الغذائي

يشير الجدول (3) إلى ان استخدام مركب Triazoles بتركيز (10^{-6}) مولار مع (5×10^{-3}) مولار من NAA قد حفز تكوين الافرع الخضرية وبلغ معدل عددها (7) وبمعدل طول(5) سم بعد مرور (90) يوما من الزراعة على تلك الأوساط . أما تكوين الجذور فقد كان معدل عددهاوأطوالها (4) و(9) سم على التوالي وبعمر (90) يوماً. أما استحداث الكالس فلوحظ انه لم يحفز في هذا الوسط (الصورة –A3-2).

تأثير إضافة منظمات النمو NAA و BA و 2,4-D كل على حدا (لوحده) الى وسط MS الغذائي

شجع وجود مركب 2,4-D بتركيز (4×10^{-3}) مولار في أوساط MS النامية عليها قطع سيقان بادرات نبات الفجل، استحداث الكالس دون تكوين الأفرع الخضرية أو الجذور(الجدول 3) والكالس المتكون بدا ذو لون اصفر ومتماسك القوام .وأشارت النتائج ان استخدامNAA لوحده في الوسط الغذائي بتركيز(5×10^{-3}) مولار شجع قطع سيقان بادرات نبات الفجل على تكوين الجذورالشعرية الكثيفة , وذلك بعد مرور (30) يوماً من النمو (الجدول 3) .أما إضافة BA الى الوسط الغذائي ،فقد أوضحت النتائج ان تركيز(4×10^{-3}) مولار شجع قطع سيقان بادرات نبات الفجل لاعطاء تفرعات خضرية واوراق، ذات نمو جيد ومتكاملة التكوين وذلك بعد مرور (30) يوما من النمو على تلك الاوساط (الجدول 3) .

تأثير اضافة NAA مع BA الى الوسط الغذائي

يتضح من (الجدول3) ان NAA وBA بتركيز(5×10^{-3}) و (4×10^{-3}) مولار لكل منهما على التوالي قد شجع تكوين الافرع الخضرية والجذور بدرجة كبيرة ، اما تحفيز القطع لتكوين الكالس، يبدو معدوما الا بعمر (90) يوماً وكان ضعيفاً(الجدول 3).

المناقشة

تلعب الهرمونات وخاصة الاوكسينات والسايتوكاينينات دوراً هاماً جداً في تقنية زراعة الأنسجة النباتية، ويمكن القول ان الزراعة النسيجية لا تتم بدون هذه الهرمونات. وتضاف الهرمونات الى الوسط الغذائي للحصول على التوسع الخلوي والانقسام الخلوي اللذين يعتمدان أيضاً على نوع القطعة النباتية، وكذلك النوع النباتي وعمر النبات(محمد وعمر، 1990).

ويتبين من نتائج هذه الدراسة وباستعمال تراكيز مختلفة من BA مع 2,4-D ، ان افضل الأوساط لاستحداث ونمو الكالس تلك الحاوية على تركيز(4×10^{-4}) مولار من BA مع(1×10^{-2}) مولار 2,4-D . ويتضح من ذلك ان نمو الكالس اعتمد على تركيز ألاوكسين 2,4-D، بوجود السايتوكاينين BA. فكلما أزداد تركيز 2,4-D مع بقاء تركيز BA ثابتاً ، فأن نسبة أستحداث الكالس تزداد لتعطي أفضل استجابة في التركيز العالي . وكان الكالس الناتج جيد النمو متماسك القوام، وذا لون أصفر. وتشير النتائج الى ان

تراكيز BA مع 2,4-D اعطت تبايناً في قدرة القطع النباتية على اعطاء المجموع الخضري (أفرع خضرية وأوراق متكاملة النمو) والنسبة العالية للسايتوكاينين الى الاوكسين حفز بشكل جيد نشوء ونمو الأفرع الخضرية من قطع سيقان بادرات الفجل. وهذا يتفق مع ما ذكر سابقاً من ان نسبة السايتوكاينين الأعلى من الاوكسين تحفز تكوين المجموع الخضري(Skoog and Miller, 1957).،وكما هو معروف أن نسب الاوكسين الى السايتوكاينين المضافة الى الوسط الغذائي هي التي تحدد اتجاهات النمو للخلايا المزروعة ،و يمكن السيطرة على التكوين الشكلي بتغيير هذه النسب (Moor, 1979) ،فالاوكسينات تشجع زيادة التوسع الخلوي الذي يتاتى من زيادة ليونة الجدار الخلوي ويكتمل دورها بوجود السايتوكاينينات التي تحفز انقسام الخلايا .وبالتالي فان وجود ونسب الاوكسينات والسايتوكاينينات معاً في الوسط الغذائي هو الاساس فياتجاه النمو للخلايا المزروعة لتكزين الكالس او للتكوين الشكلي(Street, 1977).

أوضحت النتائج في الجدول (2) ان استخدام تراكيز مختلفة من BA مع 2,4-D لم تحفز أي نشوء للجذورعدا تركيزي (2×10^{-3}) ، (2×10^{-4})مولار BA و2,4-D على التوالي خلال فترات النمو (30،60،90) يوماً ، ان تداخل BA و 2,4-D بهذه النسب اعطى تحفيزا لتكوين الجذور ويعود السبب في ذلك إلى ان نسبة 2,4-D المضافة كانت متلائمة مع المحتوى الداخلي من الاوكسينات (Endogenous auxins) للقطعة المزروعة والذي أدى إلى بلوغ الاوكسين مستواه الامثل لتحفيز استحداث الجذور في هذا النبات (Mok and Mok, 1994; Dodds and Roberts, 1985; Scott, 1972).

ومن اجل تطوير تقنية زراعة الانسجة والخلايا النباتية فقد تم تصنيع العديد من المركبات الكيمياوية وتطويرها للعمل كمنظمات نمو جديدة ومصنعة منها مركب (Triazole) المحضر مختبرياً، والذي أُستخدم في دراسة سابقة، وثبت دوره وعمله كسايتوكاينين (الوتار، 2000; البياتي ومحمد، 2004). وأشارت النتائج في الجدول (3) الى ان أستخدام المركب منفرداً لم يحفز أستحداث ونمو الكالس ويعود ذلك الى ان أستحداث الكالس ونموه بصورة عامة يعتمد بشكل كبير علىالموازنة بين تراكيز الأوكسينات والسايتوكاينينات المضافة الى الوسط الغذائي المزروع عليه القطع النباتية (Street, 1977; Dodds and Roberts, 1985).

وبما ان (Triazole) يعمل كسايتوكاينين(البياتي ومحمد, 2004)، نفترض ان وجود الأوكسين مهم جداً لأستحداث ونمو الكالس من قطع سيقان بادرات الفجل (الصالح، 1987; الوتار، 2000) اما من ناحية تأثير المركب على تكوين الأفرع الخضرية والجذور فنلاحظ من الجدول(3) ان القطع النباتية أستجابت لتأثير المركب وكونت فروعاً خضرية وجذوراً، وكان المجموع الخضري جيد النمو وذا أوراق متكاملة النمو، حيث كان تكوين الأفرع الخضرية أفضل من الجذور، وهذا يثبت ان المركب سلك سلوك السايتوكاينينات من حيث تحفيز تكوين الأفرع الخضرية أكثر من الجذور (Moore, 1979; Skoog and

Miller, 1957 ; محمد والصالح، 1996; الوتار، 2000) ووجد ان أضافة المركب إلى الوسط الغذائي مع(4×10^{-3}) مولار BA حفز أستحداث الجذور والأفرع الخضرية معا ، لكن وجود BA مع المركب كان محفزاً أكثر لتكوين جذور عديدة جيدة النمو، وشجع ذلك ايضاً تكوين جذر خازن منذ عمر 30 يوماً ولحد عمر 90 يوماً، (الجدول 3) وبما ان القطعة النباتية اثناء زراعتها على الوسط الغذائي تحتفظ بمستوى معين من الهرمونات الداخلية والتي تشمل (الأوكسينات والسايتوكاينينات) ولتداخلها مع تراكيز BA و Triazole المضافة شجع قطع سيقان البادرات لتكوين الجذور والجذور الخازنة ونموها بشكل جيد.

اما في حالة أستخدام Triazole مع 2,4-D(4×10^{-3}) مولار فقد كون كالساً جيد النمو متماسك القوام وذا لون أصفر منذ عمر 30 يوماً من النمو، وهذا يدل على ان التركيز المستخدم من 2,4-D كان مثالياً بالنسبة لمركبTriazole لتكوين الكالس.

ووجدَ ان أضافة المركب الى الوسط الغذائي بتركيز (10^{-6}) مولار مع(5×10^{-3}) مولار NAA حفز أستحداث الجذور والأفرع الخضرية معاً(الجدول 3). وذلك يؤكد ان تأثير NAA كان متميزاً كأوكسين عن دور مركب Triazole كسايتوكاينين حيث أتجهت القطع لتكوين جذور أكثر وأفضل نمواً من الأفرع الخضرية أضافة الى ذلك لم يحصل أي أستحداث للكالس عند أستخدام NAA مع Triazole، ذلك لأن أستحداثه ونموه يتطلب الموازنة بين مستوى الأوكسينات والسايتوكاينينات في الوسط الغذائي(الوتار، 2000).

اما في حالة أستخدام 2,4-D، فان القطع كونت فقط كالساً جيد النمو ذا لون أصفر متماسك القوام ولم تُكوّن هذه القطع أي مجموع خضري او جذري، وهذا يدل على ان 2,4-D المضاف قد توافق مع المستويات الداخلية للأوكسينات والسايتوكاينينات، وشجع هذا الأنقسام الخلوي للخلايا المرستيمية لقطع السيقان لكي تعطي نسيج الكالس (النعيمي، 2004).

يتبين مما سبق أن القطع النباتية لسيقان بادرات الفجل لها القدرة على تكوين الكالس وإعادة تكوين الأفرع الخضرية والجذور (Regenerations) أعتماداً على نوع وتركيز منظمات النمو المستخدمة في الوسط الغذائي .

المصادر العربية

البياتي، جميلة هزاع، محمد و عبدالمطلب، 2004.مشتقات من الترايازولات محضرة مختبريا بديلا عن السايتوكاينينات القياسية في إستحداث ونمو الخلايا المفردة والمعلقات الخلوية لنبات الخس *Lactuca sativa* L. .مجلة علوم الرافدين (مقبول للنشر).

الزبيدي و لمى ذنون صالح، 2004. التقدير الكمي لمركب الدايوسجنين في الكالس والمعلقات الخلوية والجذور الشعرية لنبات *Trigonella foenum-graecum* بتقنية كروماتوغرافيا السائل العالي الكفاءة. رسالة ماجستير ،كلية التربية، جامعة الموصل.

سليمان و أزهار حسين علي، 2001.دور بعض منظمات النمو ومركبات الترايازول والسلفانيل أميد في نمو وتمايز الكالس ومحتوى فيتامين C في نبات الفجل *Raphanus sativus* L. .رسالة ماجستير- كلية العلوم-جامعة الموصل.

شكر و ضياء عبد الستار، 1989. دور بعض منظمات النمو في التحكم في الانبات وبعض خصائص النمو الخضري والازهار والاثمار في نبات الفلفل(*Capsicum annuum* L.) رسالة ماجستير – كلية التربية – جامعة صلاح الدين/ أربيل.

الصالح، هناء سعيد عبد الله، 1987. تاثير بعض منظمات النمو على النمو ومحتوى البروتين و DNA و RNA والكاربوهيدرات في كالس نبات عباد الشمس (*Helianthus annuus* L.) . رسالة ماجستير – كلية العلوم – جامعة الموصل/ العراق.

الكناني و فيصل رشيد ناصر، 1987. زراعة الانسجة والخلايا النباتية. جامعة الموصل، مطبعة جامعة الموصل، العراق.

محمد، عبد المطلب سيد والصالح، هناء سعيد، 1996. استحداث ونمو الكالس واختلاف الافرع الخضرية من المرستيم القمي لنبات الفستق *Pisticia vera* . مجلة علوم الرافدين 7: ص 11-24.

محمد ، عبد المطلب سيد وعمر، مبشر صالح 1990. المفاهيم الرئيسة في زراعة الخلايا والانسجة والاعضاء للنبات . مطبعة جامعة الموصل، العراق.

النعيمي، أزهار عادل محمدعلي، 2004.دراسة بايوكيميائية لمركب الثايمول المفصول من كالس نبات الحبة السوداء *Nigella sativa* L. وتأثيره على مركب AMP الحلقي في تغير مستوى الاحماض النووية والبروتين في الفئران.أطروحة دكتوراه،كلية العلوم ، جامعة الموصل.

النعيمي، مها محمد طه، 2004. تأثيرتداخل بعض منظمات النمو و السلفانيل أميد في استحداث ونمو الكالس والمزارع الخلوية لنبات الحبة السوداء *Nigella sativa L.* رسالة ماجستير، كلية العلوم ،جامعة الموصل.

الوتار، مي طه حامد، 2000. نجاح احد مشتقات الترايازولات في نمو وتمايز كالس نبات الخس (*Lactuca sativa* L.)، رسالة ماجستير – كلية العلوم – جامعة الموصل – العراق.

المصادر الأجنبية

Arnon, D.I. and Hoagland, D.R., 1940. Crop induction in artificial culture solution and soil with special references to factors influencing yields and absorption of organic nurtrients. Soil Sci., 50: 463 p.

Arnon, D.I. and Hoagland, D.R., 1944. The investigation of plant nutrition by artificial culture methods. Biol. Rev. 19: pp.55-67.

Dodds, J.H. and Roberts, L.W., 1985. "Experiments in Plant Tissue Culture". Cambridge University Press. U.K.

Mohammed, A.M.S. and Yousif, A.E., 1982. Effect of root formation on ^{14}C-glycine uptake and incorporation into protein by attached and excised cotyledones of *Helianthus annuus* L. Physiol. Plant. 48: pp.221-224.

Mok, D.W.S. and Mok, M.C., 1994. Cytokinins Chemistry, Activity & Function. CRC press, Inc. Florida.

Moore, T.C., 1979. "Physiology and Biochemistry of Plant Hormones". Acadimic Press, New York.

Murashige, T. and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco cultures. Physiol. Plant 15: pp.473-479.

Scott, T.K., 1972. Auxins and roots. Ann. Rev. plant physiol. 23: pp.235-258.

Skoog, F. and Miller, C.O., 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured in vitro. Symp. Sco. Exp. Bio. 11: pp.118-130.

Street, H.E., 1977. "Plant Tissue and Cell Culture". BlackWell Scientific Publication. Oxford, London, Edinburgh, Melbourne.

Youssef, A.A., Rady, M.R. and Ghanem, S.A., 1998.Growth and some primary products in callus cultures of *Nigella sativa* as influenced by various cultural conditions and salt stress. Fitoterapia, LXIX (4) : pp.329-336.