مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية ــ (2010) ــ المجلد (26) ــ العدد 1 ــ الصفحات: 131-146

الإكثار الخضري الدقيق لنبات الأنتوريوم Anthurium spp عن طريق زراعة الأوراق الفتية مخبرياً

سهيل حداد و رولا بايرلي

الملخص

أجري هذا البحث لإكثار 10 أصناف من نبات الأنتوريوم مخبرياً بهدف دراسة تأثير بعض الهرمونات النباتية في مرحلتي الإكثار والتجذير وتحديد التركيز الهرموني المناسب للحصول على أعلى معدل إكثار وأفضل تجذير. سجلت نتائج الراسة بعد 8 أشهر من الزراعة على بيئة الإكثار، وذلك بعد استحداث الكالس على البيئة المناسبة، أما نتائج مرحلة التجذير فقد دونت بعد شهر من الزراعة على بيئة التجذير. أوضحت النتائج أن المعاملة بالسيتوكينين بنزيل أمينو بيورين BAP سواء بالتركيز المنخفض0.5 ملغ/ل أو المرتفع 1 ملغ/ل قد أدت إلى أعلى معدل إكثار (3.57 و3.72 على التوالي ودون فرق معنوي) بالمقارنة مع المعاملة بالكينيتين Kin (2.53) أو مع الشاهد الذي أعطى أقل معدل إكثار 2.02. من جهة أخرى، لوحظ أعلى معدل إكثار في الصنف Orange queen (4.00) ودون فرق معنوي بالمقارنة مع الأصناف Venus – Red queen – Cleopatra أما أقل معدل إكثار 1.76 فقد لوحظ في الصنف Keny. أدت المعاملة بالتركيز المرتفع 0.5 ملغ/ل من أوكسين IBA إلى أفضل تجذير (3.84 و3.18 سم في عدد الجذور وطول الجذور على التوالي) بالمقارنة مع التركيز المنخفض 0.25 ملغ/ل من IBA أو مع الشاهد (2.98 و2.36 سم في عدد الجذور وطول الجذور على التوالي) أما المعاملة بالتركيز المنخفض من IBA فقد أدت إلى أكبر عدد من الأوراق 6.78 وأعلى طول للساق 5.05 سم بالمقارنة مع المعاملة بالتركيز المرتفع من IBA أو مع الشاهد (4.90 و3.69 سم في عدد الأوراق وطول الساق على التوالي). من جهة أخرى: أعطى الصنف Keny أكبر عدد للجذور وأعلى طول للجذور والساق، أما أكبر عدد للأوراق فقد لوحظ في الصنف Bijing success .

الكلمات المفتاحية: أنتوريوم، إكثار خضري دقيق، خزعة ورقية، كالس، تضاعف، تجذير، أوكسين، سيتوكينين.

قسم علوم البستنة، كلية الهندسة الزراعية، ص.ب. 30621، جامعة دمشق، سورية.

Micropropagation of Anthurium Plant Via Young Leaves Culture *in Vitro*

S. Haddad and R. Bayerly

ABSTRACT

This investigation was conducted to micro propagate10 species of anthurium plants *in vitro* In order to study effect of some plant hormones on multiplication and rooting stages and, to determine the suitable hormone concentration that give up highest multiplication rate and best rooting. Results were calculated after 8 months from culturing on multiplication media and after callus induction on corresponding media meanwhile, results for rooting stage were calculated after one month from culturing on rooting media. Data clearly show that treated with cytokinin BAP either used in low concentration (0.5 mg\L) or high concentration (1 mg\L) resulted in the highest multiplication rate (3.57 and 3.73 respectively without significant difference) compared with treatment with kiniten 2.53 or with control which resulted in the lowest multiplication rate (2.02). On the other side, the highest multiplication rate was observed in Orange queen species (4.00) without any significant difference when compared with Venus–Red queen and Cleopatra species, and the lowest multiplication rate, however, was observed 1.76 in Keny species. Treatment with high concentration of auxin IBA (0.5 mg\L) resulted in best rooting (3.84 and 3.18 cm for roots number and length respectively) compared with low concentration of IBA (0.25 mg\L) or with control (2.98 and 2.36 cm for roots number and length respectively). On the other side, treatment with low concentration of IBA resulted in highest leaves number 6.78 and highest stem height 5.05 cm compared with treatment with high concentration of IBA or with control (4.90 and 3.69 for leaves number and stem height respectively). On the other hand, Keny species resulted in highest roots number, roots length and stem length. Meanwhile, the highest leaves number was observed in Bijing success species.

Key words: Anthurium, Micropropagation, Leaf explant, Callus, Multiplication, Rooting, Auxin, Cytokinin.

Dept. of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Damascus, Syria.

المقدمة

يعدُّ الأنتوريوم Anthurium spp من نباتات الزينة المهمة اقتصادياً التي تتبع الفصيلة Araceae (Wheilan, 1997) وذلك لاختلاف لون الأوراق والأزهار والأنابيب الطلعية مما يكسب النبات جمالاً خاصاً، ويتبع الجنس أنتوريوم .Anthurium spp العديد من الأنواع أهمها: A. andraeanum و A. scherzerianum. وتنمو معظم أصناف الأنتوريوم في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية وتصنف من نباتات الزينة ذات التنسيق الخارجي والداخلي. وفي بعض المناطق المعتدلة يزرع النوع A.andraeanum من أجل إنتاج أزهار القطف أما النوع الآخر A. scherzerianum فيزرع كنبات أصيص مزهر. وهناك العديد من أنواع الانتوريوم التي تزرع من أجل جمال وجاذبية أوراقها المختلفة مثل: A. crystallinum, A. marcrolobum, A. pandulifolium, A. veitchii, A. warocqueanum. .

وتتوضع أزهار الأنتوريوم بشكل محوري أسطواني وفي قاعدة كل زهرة هناك قنابة تحمل ألواناً مختلفة تميز الصنف (Edwin, 1996).

يكاثر الأنتوريوم بواسطة البذور ولا تفضل هذه الطريقة في الإكثار إذ لا يمكن تخزين بذور النبات فضلاً عن كون النبات يحتاج مدة طويلة من بدء التلقيح حتى نضج البذور وتطور النبات الكامل (3 سنوات) الذي غالباً ما يكون غير مطابق للنبات الأم (Geier, 1990) لذلك تعدُّ طريقة الإكثار الخضري الدقيق باستخدام تقانة زراعة الأنسجة النباتية هي الطريقة الفُضلى حيث يتم إكثار الأصناف ذات الصفات المرغوب فيها (من حيث لون الزهرة أو الأنبوب الطلعي) فضلاً عن إمكانية الحصول على عدد كبير جداً من النباتات وهذا ما لا يمكن الحصول عليه في طرائق الإكثار التقليدية (Vandermeijs, 1980; Pierik, 1991a).

يتم إكثار النبات إكثاراً خضرياً دقيقاً باستخدام الطريقة غير المباشرة (مروراً بمرحلة الكالس callus) عن طريق استحداث الكالس بدءاً من البراعم العرضية (Geier,1988) أو بدءاً من البراعم الإبطية، إذ يفضل معظم الباحثين تجنب الاعتماد على البراعم العرضية كخزعات نباتية لاستحداث الكالس (Musa *et al*.,1997) وقد تم اعتماد عدة تقانات لإكثار الأنتوريوم بالأنسجة منها إكثار الأفرع والقمم النامية والبراعم الخضرية (Kunisaki, 1980) حيث تزرع البراعم الخضرية على بيئة موراشيج وسكوج MS (Murashige and Skooge, 1962) السائلة تحوي على كامل تركيز الأملاح المعدنية مضافاً إليها: 0.4 ملغ/ل ثيامين حمض كلور الماء، 0.5 ملغ/ل من كل من حمض النيكوتين وبيريدوكسين حمض كلور الماء، و15% من مستخلص حليب جوز الهند و2% سكروز.

يتم إكثار الأفرع بأخذ أجزاء من الساق ومن ثم تنمو الأفرع بهذه الطريقة من البراعم الإبطية أو العرضية المستخدمة في الزراعة (Geier, 1990). تمتلك هذه الطريقة سلبية واحدة وهي عدم إمكانية الحصول على عدد كبير جداً من البراعم من النبات الأم، ومن ثم عدم توافر مصدر كاف من الخزعات أو المادة النباتية، فضلاً عن أنها تكون عرضة للإصابة بالتلوث. وعلى الرغم من إمكانية إكثار الانثوريوم عن طريق زراعة الأفرع ولكن تعدُّ الطريقة الفُضلى في الإكثار هي الطريقة غير المباشرة مروراً بمرحلة الكالس.

يعدُّ Pierik وزملاؤه 1974(a,b)أول من وضع تقانة إكثار الأنثوريوم بهذه الطريقة حيث تم استحداث الكالس بدءاً من جنين البذرة، ثم استخدمت أجزاء من أوراق النبات كخزعات لاستحداث الكالس(Pierik *et al*.,1975d-1979b;Pierik andStegmans,1975-1976a). وبشكل عام فإن الكالس الذي يتكشف إلى العديد من الأفرع العرضية يمكن استحداثه من أنواع مختلفة من الأنسجة مثل الطلعة–الشمراخ الزهري Spadix– سوق الزهرة –سويقة الورقة– نصل الأوراق الفتية ويتم نقل العزلات النباتية عدة مرات إلى بيئة الإدخال قبل أن يتم الحصول على الكالس (Geier and Reuther,1981; Geier, 1982a) .

وتُعدُّ نصل الأوراق الفتية من أهم الأجزاء النباتية المستخدمة لإكثار الأنثوريوم بهذه الطريقة حيث لوحظ في معظم الأصول الوراثية أن استخدام الورقة الفتية يؤدي إلى تكوين كالس قادر على التكشف وإعطاء العديد من الأفرع العرضية المتكشفة عند التحضين في الظلام على درجة حرارة 25 مْ باستخدام البيئة المناسبة (Edwin, 1996). ثم تُقسّم الأفرع الناتجة من نسيج الكالس وإعادة زراعتها مرة ثانية في الظلام من أجل استحداث أكبر عدد ممكن من الأفرع (وفي بعض الأصناف يمكن أن يتكشف الكالس إلى أفرع حتى في ظروف الإضاءة (40-45 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$). كذلك يمكن إعادة نقل الكالس على البيئة نفسها عدة مرات للحصول على أكبر معدل إكثار للأفرع.

وبشكل عام فقد لوحظ أنه عند الزراعة على بيئة مغذية خالية من هرمونات النمو قد لا تستجيب الأجزاء النباتية لتكوين الكالس أساساً وأحياناً قد يتكوّن الكالس ولكنه لاينمو ولا يكون الأفرع العرضية المرغوب في الزراعة. للحد من هذه الظاهرة اقترح (Leffring *et al*., 1976a; Leffring and Soade, 1978a,b) إعادة نقل الأفرع العرضية الناتجة من زراعة الكالس إلى بيئة مناسبة تسمح بتطور الأفرع بدءاً من البراعم الإبطية ومن ثم: يمكن تلخيص طريقة Leffring and Soade عام 1978 a,b في إكثار الأنثوريوم بالبدء بزراعة نصل الأوراق الفتية حيث يتم استحداث الكالس في ظروف الظلام الذي يتكشف بظروف الإضاءة المذكورة (40-50 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) إلى أفرع عرضية يتم تكرار زراعتها للحصول على أفرع جديدة باستمرار بدءاً من البراعم الإبطية، ثم تُجذّر هذه الأفرع و تنقل إلى ظروف الزراعة العادية.

لوحظ أن أفضل بيئة لاستحداث الكالس وإكثار الأفرع المتكونة من هذا النسيج في النوعين A. andraeanum و A. scherzerianum هي بيئة بورجين ونيتش المعدلة BN (Bourgin and Nitsch, 1967) حيث يتم تخفيض تركيز نترات الأمونيوم فيها إلى 200 ملغ/ل (2.5 ميللي مولار) مع إضافة 20 غ/ل سكروز. هذا الانخفاض في تركيز نترات الأمونيوم إلى 2.5 ميللي مولار مقارنة بمعدل النترات في بيئة BN الأساسية (9 ميللي مولار) أدى إلى تكوين نسيج الكالس (استحداث وتكشف) في العديد من الأصول الوراثية المدروسة (Geier,1986). من جهة أخرى استخدم العديد من الباحثين (Pierik,1975; Pierik, Stegmans, 1976a; Fersing, Lutz, 1977; Leffring, Soade, 1979a,b) بيئة MS بنصف تركيز الأملاح، وبتركيز الفيتامينات الكامل مضافاً إليها 20-40 غ/ل غلوكوز من أجل زراعة الكالس. وفي بعض الأحيان تم المحافظة على تركيز كل من سلفات المغنزيوم وكلوريد الكالسيوم كما في بيئة MS كاملة الأملاح (Kuehnle, Sugii,1991).

أوضح Geier عام 1986 أنه يجب إضافة بعض منظمات النمو إلى بيئة استحداث الكالس وتكشف الأفرع، وأن أفضل هرمونات النمو المستخدمة هي أوكسين 2.4-D بتركيز 0.1 ملغ/ل + سيتوكينين BAP بتركيز 1 ملغ/ل، في حين وجد Leffring, Soade عام 1979 a,b أن إضافة 2.4-D بتركيز 0.08 ملغ/ل و2-Ip بتركيز 3 ملغ/ل يعطي أفضل النتائج في استحداث وتكشف الكالس. أما لإكثار الفروع العرضية والإبطية الناتجة عن أفرع الكالس المتكشفة فقد تم الحصول على أفضل إكثار باستخدام بيئة BN مضافاً إليها 20 ملغ/ل سكروز (Geier,1990) أو بيئة MS تحتوي نصف تركيز الأملاح (وبتركيز 200 ملغ/ل لنترات الأمونيوم) مع كامل الفيتامينات و40 مغ/ل غلوكوز (Leffring, Soade, 1979a,b; Geier,1990).

مواد البحث وطرائقه

نفذ هذا البحث في مخابر زراعة الأنسجة النباتية بكلية الزراعة في جامعة دمشق خلال عام 2005- 2006.

المادة النباتية: أخذت أجزاء من أوراق النباتات لعشرة أصناف مختلفة من نبات الأنتوريوم تختلف عن بعضها بلون بتلات الأزهار ولون الأنابيب الطلعية (جدول1).

الجدول (1) أصناف الانثوريوم المدروسة بحسب لون البتلات والأنابيب الطلعية

الأصناف	لون البتلات	لون الأنابيب الطلعية
دونا Donna	أحمر	أحمر باهت
بيانكا Bianca	أبيض موشح	أحمر فاتح
رد كوين Red queen	أحمر	أصفر
بيجنغ سكسيس Bijing success	أحمر	أصفر
كيني Keny	أحمر	أصفر
كيم Kim	سكلما	سكلما
أورانج كوين Orange queen	أورانج	أصفر
آنوك Anouk	بنفسجي	أصفر
فينوس Venus	أحمر	أحمر
كليوباترا Cleopatre	أبيض	أحمر

أخذت الأوراق الفتية من النبات الأم (100 خزعة ورقية بمساحة 0.5 سم^2 لكل صنف من الأصناف المدروسة).

غسلت الأوراق بالماء والصابون السائل مدة 20 دقيقة، ثم عقمت بالايثانول 70% مدة 1 دقيقة ثم نقلت إلى جهاز العزل الجرثومي (Laminar flow) وعقمت بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز 1.5% مدة 10 دقائق ثم غسلت 3 مرات متتالية بالماء المقطر المعقم بمعدل 5 دقائق في كل مرة لإزالة آثار المواد المستخدمة بالتعقيم كلّها.

بيئة الزراعة: استخدمت بيئة موراشيج وسكوج (1962) في مراحل الزراعة كلها، وضبطت الحموضة على درجة 5.7 ±0.1 وذلك قبل إضافة الآغار. وزعت البيئة في أوعية زجاجية (Jars) سعة 500 مل بمعدل 125 مل. غطيت الأوعية ببلاستيك شفاف، وعقمت مع البيئة باستخدام جهاز التعقيم الكهربائي الرطب (Autoclave) على درجة حرارة 121 مْ مدة 20 دقيقة.

زراعة الخزعة النباتية (الأوراق الفتية):

أ- مرحلة الإدخال أو الزراعة التأسيسية:

زرعت الأوراق الفتية على بيئة MS (نصف تركيز الأملاح) مضافاً إليها 20 غ/ل سكروز+5 غ/ل آغار+1 ملغ/ل من بنزيل أمينو بيورين BAP+0.1 ملغ/ل من ثنائي كلورو فينوكسي حمض الخليك (2.4-D). وضعت الخزعات النباتية على درجة حرارة 25 ± 2 مْ وذلك في الظلام مدة شهر، ثم نقلت إلى ظروف الإضاءة (800 لوكس مدة شهرين) بهدف الحصول على الكالس (callus) لاستخدامه في عملية الإكثار.

ب- مرحلة تشكل الكالس:

تقلت الخزعات الورقية المزروعة على بيئة الإدخال نفسها إلى ظروف الظلام ودرجة

حرارة 25 ± 2 مْ بهدف الحصول على الكالس (Leffring and Soade, 1979a,b and Geier,1990)، ونقل الكالس على البيئة نفسها عدة مرات شهرياً بهدف الحصول على أكبر عدد ممكن من النسيج النباتي غير المتمايز، ومن ثم إتاحة أكبر فرصة ممكنة لزيادة معدل الإكثار لاحقاً.

حـ - مرحلة تكشف البراعم من نسيج الكالس والإكثار:

نقل نسيج الكالس المتشكل إلى بيئة MS (نصف تركيز الأملاح) مضافاً إليها 30 غ/ل سكروز + 5 غ/ل آغار ثم أجريت المعاملات الآتية:

1- الزراعة على بيئة MS ½ خالية من هرمونات النمو (شاهد).

2- الزراعة على بيئة MS ½ + 0.5 ملغ/ل من بنزيل أمينو بيورين BAP.

3- الزراعة على بيئة MS ½ + 1 ملغ/ل من بنزيل أمينو بيورين BAP.

4- الزراعة على بيئة MS ½ + 1 ملغ/ل من كينيتين Kin.

شملت هذه المرحلة 4 معاملات، كررت كل معاملة ثلاث مرات بحيث احتوى كل مكرر على 5 تراكيب من تجمعات الكالس (5 أوعية)، وذلك للأصناف العشرة المدروسة. سجل معدل الإكثار في نهاية هذه المرحلة وذلك بعد 6 مرات من النقل على بيئة الإكثار وبفاصل 20 يوماً بين كل نقلة وأخرى، وسجلت في نهاية هذه المرحلة معدلات الإكثار (علماً أن تحضين النباتات تم ضمن الظروف الآتية: حرارة 25 ± 2 مْ وإضاءة مدة 16 ساعة إضاءة/ يوم بشدة ضوئية1600 لوكس).

د - مرحلة التجذير:

نقلت النموات الخضرية بعد مرحلة الإكثار مخبرياً إلى بيئة التجذير، وهي بيئة MS (نصف تركيز الأملاح) مضافاً إليها 30 غ/ل سكروز + 5 غ/ل آغار وبإضافة الفحم النشط وأوكسين IBA أو دون إضافتهما:

1- زراعة النموات الخضرية على بيئة MS ½ خالية من هرمونات النمو (شاهد) .

2- زراعة النموات الخضرية على بيئة MS ½ + 1.5 ملغ/ل فحم نشط + 0.25 ملغ/ل اندول بيوتريك أسيد IBA.

3- زراعة النموات الخضرية على بيئة MS ½ + 1.5 ملغ/ل فحم نشط + 0.5 ملغ/ل اندول بيوتريك أسيد IBA.

شملت هذه المرحلة 3 معاملات، وكررت كل معاملة ثلاث مرات بحيث احتوي كل مكرر على 5 نموات خضرية. وضعت النموات الخضرية بعد الزراعة على درجة حرارة 25 ± 2 وإضافة 16 ساعة/يوم مزودة من مصابيح فلورسنت ذات شدة ضوئية 8000 لوكس. وبعد 4 أسابيع من الزراعة على بيئة التجذير حُسب: عدد الجذور، وطول

الجذور، وعدد الأوراق، وطول النباتات وذلك للأصناف العشرة لنبات الأنثوريوم آنفة الذكر.

التحليل الإحصائي: استخدم في البحث تصميم القطاعات العشوائية الكاملة Randomized completely block design وقورنت النتائج بحساب أقل فرق معنوي على مستوى 5% باستخدام برنامج التحليل الإحصائي MSTAT.

النتائج والمناقشة

تأثير نوع السيتوكينين في معدل الإكثارلعشرة أصناف من نبات الأنثوريوم

توضح النتائج في الجدول (2) تأثير التراكيز المختلفة من السيتوكينين في معدل إكثار أصناف الأنثوريوم المختلفة، وذلك بعد 8 أشهر من الزراعة على بيئة الإكثار وبفاصل 21 يوماً بين كل نقلة وأخرى.

الجدول (2) تأثير نوع السيتوكينين في معدل الإكثار لعشرة أصناف من نبات الأنثوريوم بعد 8 أشهر من الزراعة على بيئة الإكثار.

المتوسط	1.0 mg/l Kin	1.0 mg/l BAP	0.5 mg/l BAP	شاهد	المعاملات / الأصناف
2.12 de	1.40	3.28	2.92	0.90	Donna
2.86 bcd	2.50	3.57	2.88	2.50	Bianca
3.46 abc	2.22	4.70	4.34	2.60	Red queen
2.61 cd	2.32	3.50	2.92	1.70	Bijng success
1.76 e	1.60	2.28	2.06	1.10	Keny
2.68 bcd	2.80	2.55	3.00	2.40	Kim
4.00 a	3.22	5.46	5.52	1.80	Orange queen
3.12 bc	2.20	3.87	4.00	2.40	Anouk
3.78 ab	3.44	4.92	4.90	1.88	Venus
3.21 abc	3.62	3.12	3.20	2.92	Cleopatra
	2.53 b	3.72 a	3.57 a	2.02 c	المتوسط

المعاملات: L.S.D. = 0.48 ، الأصناف: L.S.D. = 0.77، تشير الأحرف المتشابهة إلى عدم وجود فروق معنوية.

يلاحظ من الجدول أن السيتوكينين بنزيل أمينو بيورين BAP سواء بالتركيز المنخفض 0.5 ملغ/ل أو المرتفع 1 ملغ/ل قد أدت إلى أعلى معدل إكثار (3.57 و3.72 على التوالي ودون فرق معنوي) بالمقارنة مع المعاملة بالكينيتين 2.53، ومن جهة أخرى تفوقت المعاملة بالـ BAP أو بالـ Kin معنوياً على الشاهد الذي أعطى أقل معدل إكثار 2.02، وسجل أقل معدل إكثار ودون فرق معنوي في الصنف Keny و Donna حيث أعطت على التوالي 1.76 و2.12، أما أعلى معدل إكثار فقد لوحظ في الصنف Orange

queen (4.00) ودون أي فرق معنوي مقارنة بالأصناف Venus، Red queen و Cleopatra التي أعطت 3.78، 3.46 و3.21 على التوالي (جدول 2). يختلف تأثير السيتوكينين بحسب الحالة الفيزيولوجية للنبات الأم ونوع الخزعة النباتية المستخدمة، إذ يمكن استحداث الكالس بدءاً من جنين البذرة أو نصل الورقة (Pierik *et al*.,1975d; 1979b; Pierik and Stegmans, 1975;1976a) أو الطلعة أو سويقة الزهرة أو حامل الورقة (Geier and Reuther,1981 and Geier, 1982a) علماً بأن زراعة أنصال الأوراق الفتية هي الأفضل لإكثار نبات الأنتوريوم حيث يؤدي استخدامها إلى تكوين كالس قادر على إعطاء العديد من الأفرع العرضية Leffring and Soade (Leffring *et al*.,1976 a and 1978 a,b). قد أوضح الباحثون أنفسهم أن زراعة نصل الأوراق على بيئة خالية من هرمونات النمو يؤدي إلى عدم استجابة الأجزاء النباتية لتكوين الكالس. وفي حال تكون هذا النسيج فسيكون قادراً على تكوين الأفرع العرضية المرغوب فيها من هذه الزراعة. فضلاً عن ذلك تختلف استجابة الأجزاء النباتية المزروعة لتكوين كالس بحسب نوع هرمون النمو المستخدم ولوحظ أن أفضل وسط لاستحداث الكالس كان بإضافة أوكسين2.4-D بتركيز 0.1 ملغ/ل مضافاً إليه سيتوكينين BAP بتركيز 1 ملغ/ل (Geier, 1986) في حين أشار Leffring and Soade عام 1979 a,b إلى أن أفضل النتائج قد تم الحصول عليها بإضافة 2.4-D بتركيز 0.08 ملغ/ل و2-Ip بتركيز 3 ملغ/ل، فضلاً عن دور تركيز هرمون النمو في اختلاف استجابة الجزء النباتي.

بشكل عام تؤدي التراكيز المنخفضة إلى تحفيز النمو والتضاعف في حين تؤدي التراكيز المرتفعة جداً من هرمونات النمو إلى السمية (Wozniak *et al*.,1982).

يساعد السيتوكينين في الانقسام الخلوي والتضاعف، أما الأوكسين فيساعد في الاستطالة الخلوية و تكوين الكالس حيث تؤدي المعاملة بالسيتوكينين إلى زيادة معدل الانقسام الخلوي (Messeguer and Male, 1987) وذلك لاحتوائه على شق الأدنين (Nwankwo and Krikorian, 1983) الذي له دور مباشر أو غير مباشر في تشجيع النمو العرضي القطري الشعاعي (Welsh and Sink, 1981)، وفي زيادة معدل التضاعف للأفرع بدءاً من أجزاء نباتية صغيرة (Huang, 1984). أما المعاملة بالأوكسين فإنها تؤدي إلى عدم التمايز De-differentiation واستحداث نسيج الكالس وذلك لما له من دور مباشر في إحداث تعديلات في النظام الأسموزي الخلوي، إذ يعمل الأوكسين على زيادة الحلولية وزيادة معدل النفاذية الخلوية وزيادة معدل نسخ المادة الوراثية وتخليق البروتينات الجديدة (Rossignol *et al*.,1990). وسواء استخدم الأكسين أو السيتوكينين بشكل مفرد أو كلاهما في أي مرحلة من مراحل الإكثار فإن شروط التحضين لها دور مهم وفاعل في استحداث الكالس وتكشفه (تمايزه)، حيث يتم

استحداث الكالس في ظروف الظلام في حين يتم تمايزه في الإضاءة (Leffring and Soade, 1978 a,b) كذلك لنوع البيئة المستخدمة وتركيز الأملاح دور مهم إذ يؤدي استخدام بيئة MS بنصف تركيز الأملاح إلى أفضل تشكل وتكشف لنسيج الكالس (Pierik,1975; Pierik and Stegmans, 1976a; Fersing and Lutz, 1977; Leffring and Soade, 1979a,b).

فضلاً عن اختلاف استجابة النبات إلى الإكثار الخضري بحسب الحالة الفيزيولوجية للنبات الأم ونوع الأجزاء النباتية ومصدرها، ونوع هرمون النمو المستخدم وتركيزه، ونوع البيئة المغذية المستخدمة وظروف التحضين، فإن استجابة النبات للإكثار الخضري الدقيق تختلف أيضاً بحسب الصنف النباتي أو الهجين المدروس (Conti *et al.*,1991) وربما يعزى ذلك بشكل مباشر وأساسي إلى اختلاف التركيب الوراثي بين صنف وآخر.

تأثير تراكيز مختلفة من أوكسين IBA في عملية التجذير لعشرة أصناف من نبات الأنثوريوم

1- عدد الجذور:

توضح النتائج في الجدول (3) تأثير التراكيز المختلفة من أوكسين IBA في عدد الجذور لأصناف الأنثوريوم المختلفة وذلك بعد شهر من الزراعة على بيئة التجذير. لوحظ أكبر عدد من الجذور 3.84 عند إضافة 0.5 مغ/ل من IBA وبفارق معنوي بالمقارنة مع 0.25 ملغ/ل من IBA (3.34)، أو بالمقارنة مع الشاهد 2.98 .

الجدول (3) تأثير تراكيز مختلفة من أوكسين IBA في عدد الجذور لعشرة أصناف من نبات الأنثوريوم بعد شهر من الزراعة على بيئة التجذير.

المعاملات / الأصناف	شاهد	1.5 gm active charcoal +		المتوسط
		0.5 gm/l IBA	0.25 gm/l IBA	
Donna	2.00	3.20	2.80	2.67 c
Bianca	1.80	3.20	2.20	2.40 c
Red queen	2.00	3.60	2.60	2.73 c
Bijng success	4.60	5.60	4.80	5.00 a
Keny	5.20	5.80	4.60	5.20 a
Kim	2.80	3.00	3.20	3.00 c
Orange queen	3.60	4.40	4.80	4.27 b
Anouk	2.80	2.80	3.20	2.93 c
Venus	2.00	3.60	2.20	2.60 c
Cleopatra	3.00	3.20	3.00	3.07 c
المتوسط	2.98 c	3.84 a	3.34 b	

المعاملات L.S.D. = 0.35 ، الأصناف L.S.D. = 0.65، تشير الأحرف المتشابهة إلى عدم وجود فروق معنوية .

كذلك فإن أكبر عدد للجذور قد لوحظ ودون أي فرق معنوي في الصنفين Keny وBijing (5.00–5.20 على التوالي) ثم الصنف Orange queen وبفارق معنوي 4.27. من جهة أخرى سجل أقل عدد للجذور في الصنف Bianca (2.40) ودون أي فرق معنوي بالمقارنة مع باقي الأصناف المدروسة Cleopatra–Kim–Red queen – Venus Anouk–Donna .

2- طول الجذور:

توضح النتائج في الجدول (4) تأثير التراكيز المختلفة من أوكسين IBA في طول الجذور في مختلف الأصناف المدروسة إذ أدت المعاملة بالتركيز المرتفع من IBA (0.5 ملغ/ل) إلى زيادة طول الجذور معنوياً 3.18 سم بالمقارنة مع المعاملة بالتركيز المنخفض 0.25 ملغ/ل من IBA (2.70 سم) .

الجدول (4) تأثير تراكيز مختلفة من أوكسين IBA في طول الجذور لعشرة أصناف من نبات الأنتوريوم بعد شهر من الزراعة على بيئة التجذير.

المعاملات / الأصناف	شاهد	1.5 gm active charcoal +		المتوسط
		0.5 gm/l IBA	0.25 gm/l IBA	
Donna	1.14	1.66	1.60	1.47 d
Bianca	1.36	2.74	3.50	2.51 c
Red queen	1.80	2.54	2.06	2.13 c
Bijng success	1.16	1.76	1.46	1.46 d
Keny	4.50	5.14	3.60	2.41 a
Kim	2.68	2.18	2.23	2.36 c
Orange queen	3.32	4.46	3.68	3.82 ab
Anouk	1.22	1.80	1.48	1.50 d
Venus	2.59	4.90	3.55	3.68 b
Cleopatra	3.80	4.66	3.80	4.09 ab
المتوسط	2.36 b	3.18 a	2.70 b	

المعاملات L.S.D. = 0.30 ، الأصناف L.S.D. = 0.55، تشير الأحرف المتشابهة إلى عدم وجود فروق معنوية.

من جهة أخرى لم يكن هناك أي فرق معنوي في طول الجذور سواء تمت المعاملة بالتركيز المنخفض من IBA أو في معاملة الشاهد 2.36 سم. كذلك تبين النتائج في الجدول (4) أن أكبر طول للجذور قد لوحظ في الصنف Keny (4.41 سم) ودون أي فرق معنوي بالمقارنة مع الصنفين Cleopatra وOrange queen (4.09 و3.82 على التوالي). أما أقل طول للجذور فقد لوحظ ودون فروق معنوية في الصنفين Donna وBijing success (1.47 سم و1.46 سم على التوالي).

تأثير تراكيز مختلفة من أوكسين IBA في عدد الأوراق وطول الساق لعشرة أصناف من نبات الأنتوريوم

1- عدد الأوراق:

لوحظ أقل عدد للأوراق 4.90 في النباتات المزروعة على بيئة MS الخالية من هرمونات النمو (شاهد) بالمقارنة مع البيئة المحتوية على أوكسين إندول حمض البيوتريك IBA التي تفوقت معنوياً على الشاهد سواء، واستُخدم التركيز المرتفع أو المنخفض من الأوكسين (جدول 5).

الجدول (5) تأثير تراكيز مختلفة من أوكسين IBA في عدد الأوراق لعشرة أصناف من نبات الأنتوريوم بعد شهر من الزراعة على بيئة التجذير.

المعاملات / الأصناف	شاهد	1.5 gm active charcoal +		المتوسط
		0.5 gm/l IBA	0.25 gm/l IBA	
Donna	5.20	5.80	5.60	5.53 bcd
Bianca	5.00	5.40	5.40	5.27 cd
Red queen	4.00	6.20	6.00	5.40 bcd
Bijng success	6.40	6.80	7.80	7.00 a
Keny	5.00	6.20	7.20	6.13 abc
Kim	3.80	5.20	5.40	4.80 d
Orange queen	5.40	6.40	6.60	6.13 abc
Anouk	4.20	7.00	7.80	6.33 ab
Venus	5.40	7.20	8.20	6.93 a
Cleopatra	4.60	6.60	7.80	6.33 ab
المتوسط	4.90 c	6.28 b	6.78 a	

المعاملات L.S.D. = 0.47 ، الأصناف L.S.D. = 0.89، تشير الأحرف المتشابهة إلى عدم وجود فروق معنوية.

من جهة أخرى أدى التركيز المنخفض من أوكسين IBA (0.25 ملغ/ل) إلى زيادة عدد الأوراق معنوياً 6.78 بالمقارنة مع التركيز المرتفع 0.5 ملغ/ل من الأوكسين 6.28. فضلاً عن ذلك فقد لوحظ أقل عدد للأوراق في الصنف Kim (4.80) ودون فرق معنوي بالمقارنة مع الأصناف Donna و Red queen و Bianca (5.53 – 5.40 و5.27 على التوالي) أما أكبر عدد للأوراق فقد لوحظ في الصنف Bijing success (7.00) ودون فروق معنوية بالمقارنة مع الأصناف Cleopatra-Anouk-Venus Keny–Orange queen- (6.93 – 6.33 – 6.33 – 6.13 – 6.13 على التوالي).

طول الساق:

لوحظت فروق معنوية واضحة في طول الساق في المعاملات المدروسة جميعها (جدول6)، إذ أدى التركيز المنخفض من IBA (0.25 ملغ/ل) إلى أعلى طول للساق 5.05 سم سواء بالمقارنة مع التركيز المرتفع 0.5 ملغ/ل من IBA (4.15 سم) أو بالمقارنة مع الشاهد 3.69 سم، كذلك فقد لوحظ أقل طول للساق دون فروق معنوية في الأصنافDonna – Anouk – Bijing success و Venus إذ أعطت على التوالي 3.03 سم–3.09 سم– 3.22 سم–3.41 سم. أما أعلى طول للساق 6.76 سم فقد لوحظ في الصنف Keny وبفارق معنوي مقارنة مع الأصناف Kim و Orange queen (4.96 سم–5.47 سم ودون فروق معنوية).

الجدول (5) تأثير تراكيز مختلفة من أوكسين IBA في عدد الأوراق لعشرة أصناف من نبات الأنتوريوم بعد شهر من الزراعة على بيئة التجذير.

المعاملات / الأصناف	شاهد	1.5 gm active charcoal +		المتوسط
		0.5 gm/l IBA	0.25 gm/l IBA	
Donna	2.74	3.18	3.17	3.22 d
Bianca	2.74	4.36	5.24	4.11 c
Red queen	3.11	3.98	4.90	4.00 c
Bijng success	2.42	3.04	3.62	3.03 d
Keny	6.03	6.87	7.37	6.76 a
Kim	4.33	4.65	5.90	4.96 b
Orange queen	4.90	5.50	6.01	5.47 b
Anouk	2.68	2.68	3.90	3.09 d
Venus	3.20	3.02	4.00	3.41 d
Cleopatra	4.65	5.20	6.34	5.41 b
المتوسط	3.69 c	4.15 b	5.05 a	

المعاملات L.S.D. = 0.27 ، الأصناف L.S.D. = 0.50، تشير الأحرف المتشابهة إلى عدم وجود فروق معنوية.

من جهة أخرى لم تلاحظ فروق معنوية في طول الساق بين الأصناف Bianca و Red queen التي أعطت على التوالي 4.11 سم و 4.00 سم.

كما هو ملاحظ من النتائج، أدت المعاملة بالتركيز المرتفع من الأكسين IBA (0.5 ملغ/ل) إلى زيادة عدد الجذور وطولها، في حين أدت المعاملة بالتركيز المنخفض من IBA (0.25 ملغ/ل) إلى زيادة عدد الأوراق وطول الساق وربما يعزى ذلك إلى اختلاف فعل الأوكسين، فعلى الرغم من فعل الأوكسين على مستوى الجذر مشابه لما هو عليه على مستوى الساق إلا أن الجذور أكثر حساسية للأكسين، فتؤدي التراكيز المنخفضة

بشكل عام إلى تشجيع التجذير في حين تعمل التراكيز العالية جداً إلى إعاقة التجذير أو دفع النبات نحو تكوين نسيج كالس، وبشكل عام الأوكسين يساعد على التجذير (إذا استخدم بالتركيز المناسب) (Gupta, 1986; Fitsh, 1987; Vuylsteke, 1989) ولذلك يفضل في مرحلة التجذير الزراعة في بيئة تحوي أوكسين وتجنب إضافة السيتوكينين الذي ينشط البرعمة ويحرض على تكوين أفرع جديدة وبراعم جانبية وفي الوقت نفسه يعمل كمثبط للدفع الجذري، ومن ثم يفضل العلماء نقل النموات في مرحلة التجذير من بيئة تحوي سيتوكينين (بيئة الإكثار) إلى بيئة لا تحوي سيتوكينين وتحوي فقط أوكسيناً أو تحوي كليهما، ولكن يجب خفض تركيز السيتوكينين بالنسبة إلى الأوكسين بحيث يتم الحصول على أكبر عدد للجذور (Valles and Boxus, 1987a) وذلك لما للأوكسين من دور مهم وفاعل ومباشر في عملية التخلق الشكلي (Morphogenesis) في النباتات (Sharma *et al*.,1981).

ويختلف تأثير الأوكسين في عملية التجذير باختلاف نوعه وتركيزه ووجود أوكسين واحد في بيئة الزراعة أو أكثر إذ يؤدي إضافة أكثر من أوكسين في بيئة الزراعة إلى تحسين معدل التجذير في بعض النباتات (Nabors *et al*., 1983) وربما يعزى ذلك إلى الدور المباشر للأوكسين في استقلاب الـRNA وتخليق بروتينات جديدة عن طريق نسخ mRNA جديد، حيث يقوم الأوكسين وبشكل غير مباشر في تحريض نشاط أنزيمات ATPase في الجدر الخلوية وهي مسؤولة بشكل مباشر عن نقل أيونات الهيدروجين والهيدروكسيل، فضلاً عن دوره في زيادة معدل النفاذية الخلوية للأيونات والبروتونات الأخرى ومن ثم تحفيز التبادل الأيوني (Rossignol *et al*.,1990) وذلك خلال مراحل التجذير المختلفة (الدفع الجذري – خروج بداءات الجذور – حدوث تغيرات تشريحية على مستوى النبات ثم الاستطالة الخلوية لخلايا الجذر). وقد يحفز الأوكسين إحدى هذه المراحل أو جميعها ولكن وجوده ضروري وفاعل في مرحلة الدفع الجذري (Haissing, 1986) ومرحلة الاستطالة الخلوية (Rossignol *et al*.,1990). وبشكل عام فإن هرمونات النمو النباتية ضرورية لإعادة تكشف نسيج الكالس (Leffring and Soade, 1979a,b; Geier,1986) .

REFERENCES

1. Bourgin, J.P. and Nitsch,J.P. (1967). Production of haploid Nicotiana from excised stamens. Ann.physiol, Veg.,9:377-382.
2. Conti,I.; Frangi,P.; Tosca,A. and Verga,P. (1991). Breeding clones of Gerbera hybrids suitable to micropropagation and pot cultivation. Acta Hort.,300:103-106.
3. Edwin, G. F. (1996). Plant propagation by tissue culture. 2nd edition, Exegetic Ltd., 1361 pp.
4. Fitsh, M. (1987). Propagation by means of tissue culture technique, organ culture. Subtropica, 8:10-16.
5. Fresing, G. and Lutz, A. (1977). Etudes comparative de multiplication vegetative *in vitro* de deux especes Horticoles d'Anthurium andreanum. Compt. Rend. Acad. Sci. Paris, 284D:2231-2233.
6. Geier, T. (1982a). Morphogenesis and plant regeneration from spadix fragments of Anthurium scherzerianum cultivated *in vitro*. Pp.137-138 in Fujiwara (ed.).
7. Geier, T. (1986). Factors effecting plant regeneration from leaf segments of anthurium scherzerianum cultured *in vitro*. Plant cell, Tissue and Organ Culture., 6:115-125.
8. Geier, T. (1988). Ploidy variationin callus and regenerated plants of anthurium scherzerianum Schott. Acta Hort.,226:293-298.
9. Geier,T. (1990). Anthurium. In: Ammirato PV, Evans DA, Sharp WR and Bajaj YPS (ed) Handbook of plant cell culture, Ornamental species, vol 5 (pp 228-252). McGraw-Hill, New York.
10. Geier, T. and Reuther, G. (1981). Vegetative Vermehrung Von anthurium scherzerianum durch Gewebekutture. Zierpflanzenbau.,21:476-477.
11. Gupta, P. O. (1986). Eradication of mosaic disease and rapid clonal multiplication of banana through meristem tip culture. Plant Cell, Tissue and Organ culture.,6:33-39.
12. Haissing, B. E. (1986). Metabolic processes in adventitious rooting of cuttings. Pp. 141-189 . in Jackson M. B. (ed) 1986 (q. v.) .
13. Huang, L. C. (1984). Alternative media and method for cattleya propagation by tissue culture. Am. Drchid. Soc. Bull. 53:167-170.
14. Kuehnle, A. R. and Sugii, N. (1991). Callus induction and plantlet regeneration in tissue culture of Hawaiian anthurium. Hortscience, 26:919-921.
15. Kunisaki, J. T. (1980). *In vitro* propagation of Anthurium andreanum lind. Hort. Science, 15:508-509.
16. Leffring, I. and Soade, A. C. (1978a). Weefselkweek Van Anthurium andreanum. Vakble. Bloem.,33,25.
17. Leffring, I. and Soade, A. C. (1978b). Nieuwe vermeerdering smethode bij weefselkweek Anthurium andreanum. Vakble. Bloem.,33:19-20.
18. Leffring, I. and Soade, A. C. (1979a). Weefselkweek Anthurium andreanum onderzoek te boven (1). Vakble. Bloem.,34,43.
19. Leffring, I. and Soade, A. C. (1979a). Weefselkweek Anthurium andreanum onderzoek te boven (2). Vakble. Bloem.,34:40-41.
20. Leffring, I.; Hoogstarate, J. and Braster, M. (1976a). Weefselkweek Anthurium: Resultaten nog lang geen. Vakblad Bloemisterij.,31:14-15.
21. Messeguer, J. and Male, E. (1987). *In vitro* propagation of adult material and seedling of Corylus avellana. Acta Hort. 212:499-503.
22. Murashige, T. and Skooge, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant., 15:473-479.

23. Musa, H.; Abdul Ghani, A. and Debergh, P. (1997). Somatic embryogenesis and plant regeneration in Anthuruim scherzerianum. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 48:189-193.
24. Nabros, M. W.; Heyser, J. W.; Dykes, T. A. and Demott, K. J. (1983). Long duration high frequency plant regeneration from cereal tissue culture. Planta, 157:385-391.
25. Nwankwo, B. A. and Krikorian, A. D. (1983). Micropropagation potential of embryo and seedling of derived callus of *elaeis guineensis Jacp*. Ann. Bot. 51:65-76.
26. Pierik, R. I. M. (1975). Callus multiplication of anthurium andreanum lind. In liquid media. Neth.J.Agric. Sci.,23:299-302.
27. Pierik, R. I. M. (1991a). Commercial micropropagation in western Europe. Pp155-165 in Debergh and Zimmeman (eds).(q.v.).
28. Pierik, R. I. M and Stegman, H. H. M. (1975). Vegetative vermeeridering van anthurium scherzerianum *in vitro*. Vakblad Voor de Bloemisterij,30:21.
29. Pierik, R. I. M. and Stegman, H. H. M. (1976a). Vegetative propagation of anthurium scherzerianum shoots through callus cultures. Scientia Hort.,4:291-292.
30. Pierik, R. I. M.; Vandermeijs, J. A. J. and Stegman, H. H. M. (1974a). Micropropagation of Anthurium scherzerianum *in vitro*., Vakblad Voor de Bloemisterij.,29(6):12-15.
31. Pierik, R.I.M.; Stegman,H.H.M. and Vandermeijs,J.A.J. (1974b).Plantlet formation in callus tissue of Anthurium andreanum lind. Scientia Hort., 2:193-198.
32. Pierik, R. I. M.; Stegman, H. H. M and Vaneyk, B. G. (1975d). Callus propagation of Anthurium andreanum, with the aid of shaking machines. Vakblad Bloemisterij,30:27-30.
33. Pierik, R. I. M.; Vanleuwen, P. and Rigter, G. C. C. M. (1979b). Regeneration of leaf explants of Anthurium andreanum lind. *In vitro*. Neth. J.Agric.Sci.,27:221-226.
34. Rossignol, M.; Santoni, V.; Szponanski, W. and Vansuyt, G. (1990). Differential sensitivity to auxin at the plasma membrane level. Pp 498-503 in Nij Kamp *et al*.,(eds) 1990 (q.v.).
35. Sharma, A. K.; Prasad, R. N. and Chaturvedi, H. C. (1981). Clonal propagation of Bougainvillea glabra 'Magnifica' through shoot apex culture. Plant Cell, Tissue and Organ Culture., 1:33-38.
36. Valles, M. and Boxus, P. H. (1987a). Micropropagation of several rosa hybrid. Acta Hort., 212:611-617.
37. Vandermeijs, A. J. (1980). Vegetable propagation of horticulture crops by tissue culture. Zaadbelangen, 34:62-64.
38. Vuylsteke, D. R. (1989). Shoot tip culture for propagation, conservation and exchange of Musa gerrmplasm, IB PGR, Rome.
39. Welsh, J. and Sink, C. (1981). Morphogenetic responses of Browallia leaf sections and callus. Ann. Bot. 48:583-590.
40. Wheilan, T. (1997). Regeneration of Anthurium andreanum shoots using liquid and raft culture. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 49:153-156.
41. Wozniak, J.; Hyndaman, S. E.; Stord, R. and Oglesby, R. (1982). Recent developments in gerbera micropropagation. *In vitro*,18,293.

Received	2008/04/03	إيداع البحث
Accepted for Publ.	2008/11/30	قبول البحث للنشر