تأثير توافقات هرمونية مختلفة في الإكثار الدقيق لنبات الونكا (*Catharanthus roseus* L.)

سولاف العاقل* **أيمن العودة****

يوسف العموري***

الملخص

أُجري البحث بهدف تحديد التوافق الهرموني الأفضل للحصول على أعلى معدّل إكثار لنبات الونكا في الزجاج (invitro). عُقمت البذور بمحلول هيبو كلوريد الصوديوم، بتراكيز 0.5، 1.5، 2% مدّة 5، 15، 20 دقيقة، وزرعت في أنابيب إختبار تحتوي الوسط المغذي MS الخالي من الهرمونات لتأمين المادة النباتية الكافية للدراسة. بعد نجاح الزراعات التأسيسية، نُقلت إلى أوساط الإكثار المدعمة بتراكيز مختلفة من الأكسينات NAA (0، 0.1، 0.5، 1 مغ.ل$^{-1}$)، والسيتوكينات BA (0، 1، 2 مغ.ل$^{-1}$). أوضحت النتائج كفاءة محلول هيبوكلوريد الصوديوم في عملية التطهير السطحي للبذور، إذْ تفوق التركيز 1.5% مدّة 5 دقائق وأعطى أعلى نسبة مئوية للإنبات (76.19%). أظهرت نتائج التحليل الإحصائي تفوق الوسط MS7 (1 مغ . ل$^{-1}$ NAA، 1 مغ . ل$^{-1}$ BA) في صفة طول النبات (5.54 سم)، في حين تفوق الوسط MS11 (1 مغ . ل$^{-1}$ NAA، 2 مغ . ل$^{-1}$ BA) في صفتي عدد الفروع، وعدد الأوراق في النبات (2.90، 19.31 على التوالي).

الكلمات المفتاحية: الونكا، الإكثار الدقيق، منظمات النمو، التطهير السط

* طالبة دكتوراه، كلية الزراعة الثانية، جامعة دمشق، سورية.

** أستاذ، قسم المحاصيل الحقلية، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية.

*** باحث، الهيئة العامة للتقانة الحيوية، دمشق سورية.

Effect of Growth Regulator Combinations on Micropropagation of Madagascar Periwinkle *(Catharanthus roseus L.)*

[*]S. Alakel **[**]A. AL-Ouda**

[***]Y.AL-Ammoury

Abstract

A search was conducted to define the best combination of growth regulators for micropropagation of Madagascar Periwinkle in vitro. The seeds were sterilized with NaOCl solution (0.5, 1.5, and 2%) for 5, 15 and 20 min then planted on MS medium to obtain sufficient plants for this study. The plants were transferred to MS medium supplemented with NAA (1, 0.1, 0.5, 1 mg L^{-1}) and BA (0, 1, 2 mg L^{-1}). Results showed that seeds sterilized with NaOCl of 1.5% for 5 min exhibited the hiesght percentage of germination (79.19%) without any pollution. Results indicated that the MS7 (1 mg L^{-1} NAA, 1 mg L^{-1} BA) was superior in plant height (5.54 cm), while the MS11 (1 mg L^{-1} NAA, 2 mg L^{-1} BA) was superior in the number of branches and leaves per plant (2.90, 19.31 respectively).

Keyword: *Catharanthus roseus*, Micropropagation, Growth regulators, Surface sterilization.

[*] Ph.D. Student, second Faculty of Agriculture, Damascus University, Syria
[**] Professor, Dept. of Field Crops, Faculty of Agriculture, Damascus University, Syria
[***]Researcher, National Commission for Biotechnology, Damascus, Syria.

المقدمة:

ينتمي نبات الونكا إلى الفصيلة الدفلية Apocynaceae، وتضم هذه الفصيلة مجموعة كبيرة من الأجناس تصل إلى قرابة 411 جنساً، ونحو 4650 نوعاً (شهاب والنوري، 2003). يُعد جنس *Catharanthus* من أهم الأجناس التابعة للفصيلة الدفلية، وتمتاز نباتاته بأنّها شجيرية أو عشبية، تمتلك ساق اسطوانية، ترتفع عن سطح الأرض بنحو 20–70 سم، وحتى 1 م أحياناً (Balmey، 1989). يُعد من الأجناس واسعة الإنتشار، ويستخدم كغطاءٍ عشبي في الحدائق، فضلاً عن قيمته الطبية حيث وجد ما يزيد عن 130 من القلويدات ضمن الأنواع النباتية التابعة لجنس الونكا (Manferd, 2002). يضم هذا الجنس ثمانية أنواع، يُعدَّ النوع *C. rosues* الأهم بينهم. ينتشر نبات الونكا في المناطق الدافئة من العالم، ويتسم بالمقدرة على تحمل درجات الحرارة المرتفعة Heat stress، وظروف الجفاف Drought، وتُعد الهند الموطن الأصلي للنوع *C. pusillus*، في حين تُعد مدغشقر الموطن الأصلي لبقية الأنواع السبعة (Gupta وزملاؤه، 2007).

يحتل نبات الونكا (*Catharanthus roseus* L.) مكانة مهمة في قائمة النباتات الطبية لإحتوائه أكثر من 130 قلويداً من القلويدات الإندولية التربينية ومشتقاتها، أهمها مركبي Vincristine، و Vinbblastine اللذان يمتازان بخواص مضادة للإنقسام الخلوي، التي تُستعمل في علاج العديد من الأمراض، وبخاصةٍ سرطان الدم Leukemia، وسرطانات الغدد اللمفاوية، وسرطانات الجلد والثدي، وداء هودجكين Hodgkin'slymphoma (Van der heijden وزملاؤه، 2004).

إنّ الفعّالية الطبية لعددٍ من المركبات القلويدية في نبات الونكا وإرتفاع قيمتها وندرتها جعلها جديرة بالإهتمام خلال السنوات الأخيرة، لإنتاج كمياتٍ أكبر منها بسبب إنخفاض تركيزها في النباتات المزروعة، حيث يُحتاج إلى قرابة 500 كغ من أوراق نبات الونكا الجافة لاستخلاص 1 غ فقط من مركب Vinblastine، وهذا ما يجعل من تقنيات زراعة

الأنسجة أداة بديلة لإنتاج مستقلبات النبات الثانوية ومنها طريقة الإكثار الخضري التي تمتاز بالمقارنة مع طرائق الإكثار التقليدية، في إمكانية الحصول على أعدادٍ كبيرة من النباتات بوقتٍ قصير وضمن مساحةٍ أقل، ويسمح بإنتاج نباتاتٍ خالية تماماً من العوامل الممرضة Pathogens، ويتيح إمكانية دراسة نمو الأجزاء النباتية وتطورها بعيداً عن النبات الكامل دون أي تأثير للعوامل الخارجية (Rao و Ravishankar، 2002).

أُجريت عدة دراسات على نبات الونكا، حيث استطاع Gayatri و Rama (2013) إكثار نبات الونكا بزراعة العقد الساقية في وسط النمو MS (Murashige و Skoog، 1962) المدعم بالأوكسين Auxin، والسيتوكينين Cytokinins، حيث ظهرت الجذور والأفرع بعد 7– 10 أيام، وقد أعطى Indole 3 – acetic acid (IAA) ، مع Benzyl adinine (BA) أفضل عدد من الأفرع. لاحظ الباحث Zarate وزملاؤه (1999) استجابة البراعم الإبطية Axillary buds المستأصلة من نبات الونكا للنمو والتضاعف عند زراعتها على الوسط المغذي (MS) المُجهز بنحو 1 مغ . ل$^{-1}$ BA بنسبة جيدة وصلت قرابة 98%. أشار الباحثان Karita و Jain (1997) إلى حصولهما على أكبر عددٍ من الأفرع الخضرية (4 فروع) من زراعة البراعم الإبطية لنبات الونكا عند استعمال 4 ميكرومول. لتر$^{-1}$ BA، و5 ميكرومول. لتر$^{-1}$ NAA Naphthalene acetic acid. استطاع Singh وزملاؤه (2007) مضاعفة الأفرع الخضرية بنجاح عند زراعة قمم الأفرع في وسط (MS) المجهز بنحو 2 مغ.لتر$^{-1}$ BA و 0.75 مغ.لتر$^{-1}$ Kin (Kinetin) + 0.1 مغ.لتر$^{-1}$ Indole 3 butyric acid (IBA) .

في تجربةٍ أُقيمت في قسم التقانة الحيوية والأحياء الدقيقة في الباكستان خلال عام 2011 لإختبار تأثير أكثر من توافق هرموني في الإكثار الدقيق لنبات الونكا خارج الجسم الحي (in vitro) باستعمال مستأصلات نباتية مختلفة، وهي قمم الأفرع، والعقد الساقية. تمَّ الحصول على أكبر عدد من الأفرع باستعمال التوافق الهرموني 1غ.ل$^{-1}$ من 6–benzyl amino purine (BAP)، وNAA، وكانت نسبة الاستجابة من 80–

90% ضمن هذه التوافق، وباستعمال كلا المستأصلين النباتيين (Rukhama وزملاؤه، 2013). قام Sumira وزملاؤه (2014) بزراعة قمم الأفرع والساق ضمن الوسط المغذي MS المُدعّم بتراكيز مختلفة من السيتوكينينات (BAP)، والأوكسينات (NAA) بشكلٍ متداخل أو منفصل لمعرفة تأثيرها في عدد الفروع والجذور المتشكلة من نبات الونكا، حيث أعطى التوافق الهرموني 5 ميكرومول من BAP و2.5 ميكرومول من NAA أكبر عدد من الأفرع والجذور (11.6 و14.5 على التوالي).

أهداف البحث:

1. دراسة بعض توافقات منظمات النمو وتأثيرها في معدّل الإكثار الدقيق لنبات الونكا في الزجاج (in vitro)، لتحديد وسط الاستزراع الأمثل لهذا النبات.

مواد البحث وطرائقه:

مكان تنفيذ البحث: نُفذ البحث في الهيئة العامة للتقانة الحيوية، قسم التقانات الحيوية للنباتات الطبية.

المادة النباتية: تمَّ الحصول على بذور نوع الونكا (*C.roseus*) من شركة Syngenta flowers الهولندية.

الزراعة المخبرية:

تحضير الأوساط المغذية وتعقيمها: تمَّ تحضير الوسط المغذي MS، وتمّ توزيعه في أنابيب إختبار زجاجية من نوع بيركس قياس150 × 25 مم، بمعدّل 15 مل لكل أنبوب، ثمّ تمّ إغلاق الأنابيب بسدادات قطنية، وعُقمت بالأوتوكلاف Autoclave على درجة حرارة 121 درجة مئوية، مدّة 20 دقيقة، وتُركت لتبرد حتى تصبح جاهزة للزرع.

تطهير البذور وتحضيرها للزرع: غُمرت كمية كافية من بذور نبات الونكا في الكحول الإيتيلي (70%) مدّة دقيقة واحدة، ثمّ عُقمت بتراكيز مختلفة من محلول هيبوكلوريت الصوديوم (NaOCl) (0.5، 1.5، 2%) لفترات زمنية مختلفة (5، 15، 20 دقيقة). ثمّ غُسلت بعدها بالماء المقطر المعقم ثلاث مرّات متتالية بمعدّل 5 دقائق

في كل مرّة، وتُركت مكشوفةً مدّة 30 دقيقة حتى جفت هوائياً وأصبحت جاهزة للزرع. وجرت عمليتا الغسيل النهائي والزرع في شروط تعقيم صارمة تحت جهاز العزل الجرثومي (Laminar airflow hood) من النوع JSCR–1200 SB.

طريقة الزرع: زُرعت 45 بذرة لكل معاملة تعقيم (تركيز * زمن) موزعة على3 مكررات، بواقع 15 أنبوب في كل مكرر، وبذرة واحدة في كل أنبوب، وذلك باستعمال وسط الزراعة الأولي MS الخالي من منظمات النمو، وحُضنت الأنابيب عند درجة حرارة 2± 24 مْ حتى إنبات البذور، ثمّ حُسبت نسبة الإنبات، ونسبة التلوث بعد أسبوع من الزرع وفق المعادلات الآتية:

نسبة الإنبات (%) = عدد البذور المنبتة/العدد الكلي للبذور المزروعة × 100

نسبة العينات الملوثة (%) = عدد العينات الملوثة/العدد الكلي للعينات × 100

حُضنت النبيتات النامية بظروف 16 ساعة إضاءة و8 ساعات ظلام بالتناوب، ثمّ أُعيدت زراعتها على الوسط نفسه للحصول على كميةٍ كافية من المادة النباتية اللازمة تمهيداً لزراعتها في أوساط الإكثار بهدف تنفيذ تجارب الإكثار الدقيق.

الزراعة على أوساط الإكثار: استعمل الوسط المغذي MS المدعم بتراكيز مختلفة من منظمات النمو (الأوكسينات، والسيتوكينات) لإكثار النبيتات الناتجة من مرحلة الزراعة الأولية، حيثُ زرعت العقد الساقية الحاوية على البراعم الخضرية على الوسط المغذي MS المدعم بالتوافقات الهرمونية المبينة في الجدول رقم (1)، بواقع برعم واحد لكل أنبوب، وزرع 21 أنبوباً في كل معاملة موزعة على 3 مكررات، و7 أنابيب في كل مكرر، ثمَّ حُضنت الزروعات في غرفة النمو عند درجة حرارة 25±1 سْ وبإتباع نظام الإضاءة التعاقبي 8/16. في نهاية هذه المرحلة تمَّ قياس طول النبات (سم)، وعدد الفروع، وعدد الأوراق، وذلك بهدف تحديد التوافق الهرمونية الأفضل لإعطاء أعلى معدّل إكثار لنبات الونكا.

الجدول (1): التوافقات الهرمونية المستخدمة في مرحلة الإكثار الخضري.

تركيز الهرمونات ($mg\ L^{-1}$)		رقم الوسط	تركيز الهرمونات ($mg\ L^{-1}$)		رقم الوسط
BA	NAA		BA	NAA	
1	0.5	MS6	0	0	MS0
1	1	MS7	0	0.1	MS1
2	0	MS8	0	0.5	MS2
2	0.1	MS9	0	1	MS3
2	0.5	MS10	1	0	MS4
2	1	MS11	1	0.1	MS5

الشكل (1):العقد الساقية المزروعة والنباتات الناتجة عن عنها

مرحلة التجذير: نُقلت النباتات الناتجة من مرحلة الإكثار الخضري إلى أوساط التجذير التي استعمل فيها الوسط MS بكامل قوة الأملاح المُدعّم بتراكيز مختلفة من IBA (0، 0.5، 1، 1.5 مغ . ل$^{-1}$) لمعرفة إمكانية تشكل الجذور في نبات الونكا، وقياس طولها وعددها في النبات الواحد. زُرع 21 أنبوباً في كل معاملة موزعة على 3 مكررات، و7 أنابيب في كل مكرر، وحُضنت النباتات ضمن شروط التحضين نفسها في مرحلة الإكثار، وأُخذت القراءات بعد أسبوع من الزراعة.

تصميم التجارب والتحليل الاحصائي

نُفذت جميع التجارب باستعمال التصميم العشوائي التام (CRD)، بمعدّل 3 مكررات، وتمَّ تحليل البيانات بعد تبويبها باستعمال برنامج التحليل الإحصائي Mstat-C لحساب قيم أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى المعنوية 0.01، وقيم معامل التباين (CV%).

النتائج والمناقشة:

أولاً: مرحلة الزراعة الأولية:

1-**نسبة الإنبات ونسبة التلوث (%):** تظهر النتائج المبينة في الجدول (2) أنَّ أعلى نسبة إنبات لبذور نبات الونكا كانت عند التركيز 1.5% من محلول هيبوكلوريد الصوديوم مدّة 5 دقائق (76.19%)، في حين كانت أعلى نسبة للتلوث عند التركيز 0.5 مدّة خمس دقائق (2.5%). لوحظ عدم وجود أي تلوث بإزدياد تركيز محلول هيبوكلوريت الصوديوم والزمن المستعمل في التعقيم، لكنّه ترافق مع إنخفاض معنوي في نسبة الإنبات، لذلك تمّ إعتماد المعاملة 1.5% بزمن 5 دقائق في تعقيم جميع البذور التي زُرعت لاحقاً، تتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه Pevalek و Jelaska (1987). يعود تأثير محلول هيبوكلوريت الصوديوم وعمله كمادة معقمة للأنسجة النباتية إلى حمض Hypoclorous، الذي يُعد مادة مؤكسدة قوية تمنع نمو الكائنات الحية الدقيقة وتطورها، حيث يؤدي استخدام تراكيز منخفضة منه إلى فعّالية مرتفعة في عمليات التطهير السطحي في معظم النباتات المكاثرة مخبرياً.

الجدول (2): النسبة المئوية للإنبات والتلوث بعد أسبوع من الزراعة.

تركيز محلول NaOCl(%)	مدّة التعقيم(دقيقة)	النسبة المئوية للإنبات (%)	النسبة المئوية للتلوث(%)
0.5	5	52.38	2.5
0.5	15	38.09	2.03
0.5	20	23.80	0
1.5	5	76.19	0
1.5	15	52.38	0
1.5	20	22.23	0
2	5	57.14	1.5
2	15	47.6	0
2	20	24.12	0

ثانياً: الزراعة على أوساط الإكثار:

1- **طول النبات plant height (سم):** تبين النتائج في الجدول رقم (3) وجود فروقات معنوية في صفة طول النبات بين أوساط الإكثار المستخدمة، حيث تفوق الوسط (MS7) المحتوي على (1 مغ . ل$^{-1}$ NAA، 1 مغ . ل$^{-1}$ BA) معنوياً على باقي المعاملات، ووصل طول النبات إلى 5.54 سم، في حين كان الأدنى معنوياً عند الوسط الشاهد MS0 (2.80 سم). يمكن تفسير زيادة طول النبات عند استخدام الحد الأعلى من NAA بأنّ للأوكسينات تأثير كبير في نمو النباتات وتطورها، حيث تؤدي دوراً أسياسياً في زيادة استطالة الخلايا النباتية Cell elongation، حيث لوحظ أنّ معدّل النمو يزداد بزيادة كلٍ من ضغط الإمتلاء ومعامل مرونة الجدر الخلوية، وتعمل الأوكسينات بشكلٍ أساسي على زيادة معامل مرونة الجدر الخلوية، من خلال مقدرتها على إزالة بكتات الكالسيوم والمواد المعدنية المسؤولة عن صلابة الجدار الخلوي، كما تُسهم في زيادة سرعة نفاذية الأغشية الخلوية، وذلك يُسهم في خفض الجهد الحلولي، وزيادة ضغط الامتلاء داخل الخلايا وبالتالي استطالة الخلايا، بالإضافة إلى أنّ الأكسينات مسؤولة عن ظاهرة السيادة القمية Apical dominance التي ينتج عنها

تثبيط معدّل نمو النبات واتجاه النبات نحو النمو الطولي (العودة وزملاؤه، 2016). تتوافق هذه النتائج مع ما توصل إليه Carew و Krueger (1977)، حيث وجدا أنّ مؤشرات نمو النبات كانت الأفضل عند استعمال المركب 2,4-D 2,4- Dichlorophenoxy acetic acid بتركيز 1مغ. ل$^{-1}$.

الجدول (3): متوسط طول النبات (سم) في التوافقات الهرمونية المستخدمة.

طول النبات (سم)	تركيز الهرمونات (mg L^{-1})		رقم الوسط	طول النبات (سم)	تركيز الهرمونات (mg L^{-1})		رقم الوسط
	BA	NAA			BA	NAA	
4.07^{bc}	1	0.5	MS6	2.80^{c}	0	0	MS0
5.54^{a}	1	1	MS7	2.85^{c}	0	0.1	MS1
3.12^{bc}	2	0	MS8	3.32^{bc}	0	0.5	MS2
3.37^{bc}	2	0.1	MS9	4.63^{ab}	0	1	MS3
4.03^{bc}	2	0.5	MS10	3.04^{bc}	1	0	MS4
4.49^{ab}	2	1	MS11	3.22^{bc}	1	0.1	MS5
3.71				المتوسط العام			
1.465				LSD (0.01)			
16.79				CV (%)			

لا توجد فروقات معنوية بين المتوسطات ذات الأحرف المتشابهة.

متوسط عدد الأفرع Number of branches تبين النتائج في الجدول (4) وجود فروقات معنوية في صفة متوسط عدد الأفرع بين أوساط الإكثار المستخدمة، حيث تفوق معنوياً MS11 المحتوي على (1 مغ . ل$^{-1}$ NAA، 2 مغ . ل$^{-1}$ BA) (2.90 فرعاً)، في حين كان الأدنى معنوياً عند الوسط الشاهد (MS0) (1.61 فرعاً). يمكن أن يُعزى الحصول على أكبر عدد من الأفرع الخضرية عند المستوى الأعلى من BA إلى الدور المهم للسيتوكينات في تنشيط واستمرار إنقسام الخلايا Cell division بوجود المستوى المناسب من الأوكسينات، وكذلك تعمل على تعطيل السيادة القمية وتشجيع نمو البراعم الجانبية، وبالتالي زيادة عدد النموات الخضرية الجانبية (الرفاعي والشوبكي،

2002). تتفق هذه النتيجة مع Leal وزملاؤه (2012)، حيث حصلوا على أعلى عدد من الفروع باستعمال أعلى تركيز من BAB وبوجود الأوكسين، بينما وجد Bakrudeen وزملاؤه (2009) أنّ التراكيز المتساوية من BA وNAA (4 مغ . ل$^{-1}$) قد أعطت أعلى معدّل للتفرع.

الجدول (4): متوسط عدد الأفرع المتشكلة في التوافقات الهرمونية المستعملة.

متوسط عدد الأفرع	تركيز الهرمونات (mg L^{-1})		رقم الوسط	متوسط عدد الأفرع	تركيز الهرمونات (mg L^{-1})		رقم الوسط
	BA	NAA			BA	NAA	
1.86^{bc}	1	0.5	MS6	1.61^{c}	0	0	MS0
1.95^{b}	1	1	MS7	1.71^{bc}	0	0.1	MS1
1.90^{bc}	2	0	MS8	1.76^{bc}	0	0.5	MS2
1.66^{bc}	2	0.1	MS9	1.81^{bc}	0	1	MS3
1.95^{b}	2	0.5	MS10	1.81^{bc}	1	0	MS4
2.90^{a}	2	1	MS11	1.81^{bc}	1	0.1	MS5
1.90				المتوسط العام			
0.3001				LSD (0.01)			
6.97				CV (%)			

2- **متوسط عدد الأوراق Number of leaves:** تبين النتائج في الجدول رقم (5) وجود فروقات معنوية في صفة متوسط عدد الأوراق بين أوساط الإكثار المستعملة، حيث تفوق MS11 المحتوي على (1 مغ . ل$^{-1}$ NAA، 2 مغ . ل$^{-1}$ BA) معنوياً في صفة متوسط عدد الأوراق (19.31 ورقة) على باقي التوافقات الهرمونية، في حين كان الأدنى معنوياً عند الوسط الشاهد (MS0) (5.24 ورقة). ويُعزى ذلك إلى زيادة عدد الأفرع المتشكلة، حيث أنَّ الوسط (MS11) أعطى أيضاً معنوياً أكبر عدد من الأفرع.

الجدول (5): متوسط عدد الأوراق المتشكلة في التوافقات الهرمونية المستخدمة.

متوسط عدد الأوراق	تركيز الهرمونات ($mg\ L^{-1}$)		رقم الوسط	متوسط عدد الأوراق	تركيز الهرمونات ($mg\ L^{-1}$)		رقم الوسط
	BA	NAA			BA	NAA	
12.91	1	0.5	MS6	5.24	0	0	MS0
14.00	1	1	MS7	9.52	0	0.1	MS1
8.28	2	0	MS8	10.05	0	0.5	MS2
8.59	2	0.1	MS9	12.09	0	1	MS3
8.95	2	0.5	MS10	11.09	1	0	MS4
19.31	2	1	MS11	11.86	1	0.1	MS5
10.99				المتوسط العام			
5.270				LSD(0.01)			
21.03				CV (%)			

تأثير (IBA) في تشكل الجذور:

تميزت الفروع الخضرية المزروعة على أوساط التجذير بصعوبة تجذير الأفرع الخضرية على وسط MS الخالي من منظمات النمو، وكذلك في الأوساط المحتوية على (0.1، 0.5، 1 مع. ل$^{-1}$ من IBA)، حيث كانت نسبة التجذير معدومة. إنّ عدم إمكانية تجذير الأفرع الخضرية على وسط MS الخالي من منظمات النمو يُطابق ما جاء في الكثير من الدراسات (يونس، 1997؛ العقراوي، 2006)، حيث أكدا على ضرورة إضافة الأوكسين إلى وسط الزراعة لتحفيز عملية التجذير. ويُفسر عدم تشكل الجذور باستعمال التراكيز المنخفضة من IBA بعدم الوصول إلى التركيز الأمثل من الأكسينات الذي يتلائم مع المستوى الداخلي له في الفروع الخضرية (Scott، 1972)، أو بسبب حاجة الفروع الخضرية لفترةٍ أطول لظهور الجذور (البكر وعبدالله، 2002) في نباتاتٍ أخرى، إضافة إلى تشكل الكالوس في أسفل النباتات، الأمر الذي شكّل عائقاً أمام تشكل الجذور.

الشكل(2): تشكل الكالوس في أسفل النباتات

الاستنتاجات والمقترحات:

1- يُعد التعقيم بتركيز 1.5% من محلول هيبوكلوريت الصوديوم، مدّة 5 دقائق الأنسب للحصول على أعلى نسبة إنبات، وخلو النبيتات تماماً من التلوث.

2-تسمح التوافق الهرمونية (1 مغ . ل$^{-1}$ NAA، 2 مغ . ل$^{-1}$ BA) في الحصول على أعلى عدد من الأفرع، والأوراق في الزجاج.

3-يُوصي باستعمال التوافق الهرمونية (1 مغ . ل$^{-1}$ NAA، 2 مغ . ل$^{-1}$ BA) عند زراعة نبات الونكا مخبرياً بهدف إكثاره.

المراجع References:

- **البكر، رحاب عبد الجبار، وعبد الله، حامد. (2002).** دور بعض منظمات النمو القياسية والمصنعة حديثاً في استحداث ونمو وتمايز الكالوس من نبات الحبة السوداء Nigella sativa ومستوى المركبات الفعالة فيها. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل، **العراق.**
- **الرفاعي، عبد الرحيم، والشوبكي، سمير. (2002).** تقنيات القرن 21 لتحسين النبات باستخدام زراعة الأنسجة، منشورات جامعة المنيا، كلية الزراعة، الصفحات:83–86.
- **العقراوي، هاوزين صلاح خليل. (2006).** تعريض بذور وأعضاء وكالوس نبات اليانسون pimpinella anisum للأشعة فوق البنفسجية وتقدير محتوى الأنيثول بوساطة كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء. رسالة ماجستير/ كلية التربية، جامعة الموصل.
- **العودة، أيمن، وخيتي، مأمون، ورباح، ريما. (2016).** فيزيولوجيا المحاصيل الحقلية، الجزء النظري، منشورات جامعة دمشق، كلية الزراعة، الصفحات: 280–284.
- **شهاب، هيام، والنوري، أحمد. (2003).** كتاب علم العقاقير، الجزء النظري، منشورات جامعة دمشق، كلية الصيدلة، الصفحات 284–301.
- **يونس، أواب وعد الله. (1997).** محتوى القلويدات في الكالس والنباتات الناتجة منه في النبات البري الداتورة *Datura Innoxia Mill*، رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل.
- **Bakrudeen A. A. A, G. Subha shanthi T. Gouthaman, M. S. kavitha and m. V. rao. (2009).** In vitro micropropagation of catharanthus roseus – an anticancer medicinal plant. Acta Botanica Hungarica 53(1–2), pp. 197–209, 2011, DOI: 10.1556/ABot.53.2011.1–2.20

- **Blamey, M.; and Grey-Wilson, C. (1989**). Flora of Britain and Northern Europe. Hodder & Stoughton.
- **Carew DP, Krueger RJ. (1977).** Catharanthus roseus tissue culture: the effects of medium modifications on growth and alkaloid production. Jul-Aug; 40(4):326-36.
- **Gayatri Ch. L; Rama Chakravarthy. (2013).** Micro Propagation in Catharanthus roseus. International Journal of Innovative Technology and Exploring Engineering (IJITEE) ISSN: 2278-3075, Volume-2, Issue-5, and pp: 194-196.
- **Gupta, S.; Pandey, R.S.; Srivastava, S.; Naithane, S.C.; Prasad, M. and Kumar, S. (2007).** Construction of genetic linkage map of medicinal and ornamental plant Catharanthus roseus. J. Genet., 86: pp: 259-268.
- **Karita, A.; Jain, M. S. (1997).** Third International Symposium on in vitro Techniques of Horticultural Breeding., June 16- 21.
- **Leal. F; Matos. M; Ana., C; Olinda., P . (2012).** In Vitro Multiplication of Aromatic and Medicinal Plants and Fungicide Activity. Institute for Biotechnology and Bioengineering، Centre of Genomic and Biotechnology, University of Trás-os-Montes and Alto-Douro، Department of Genetics and Biotechnology.
- **Manfred Hesse. (2002).** Alkaloids: Nature's Curse or Blessing? Wiley-VCH.
- **Murashige, T and F. Skoog. (1962).** A revised Medium for Rapid growth and bioassays with Tobacco tissue culture. Plant physic. 15(1): pp: 473 - 479.
- **Pevalek, K. B. and Jelaska, S. (1987).** Microclonal propagation of prunus avium. Acta Hort., Volume 212, pp: 599-601.
- **Rao Ramachandra S.; and G.A. Ravishankar. (2002).** Plant cell cultures: Chemical factories of secondary metabolites. Biotechnol. Adv. 20: pp: 101-153.
- **Rukhama Haq; Shagufta Naz; Aslam, Farah; Manzoor, Farkhanda. (2013).** Comparison of in vitro response of micropropagation and callogenesis of medicinal plant, vinca rosea. Journal of Agricultural Research. 2013, Vol. 51 Issue 1, pp9-17.

- **Scott, T.K. (1972).** Auxins and roots. Ann. Rev. Plant Physiol, Vol. 23. Pp: 235-258.
- **Singh A; Kandasamy T and Odhav B. (2007).** In vitro propagation of Alternanthera sessilis (sessile joyweed), a famine food plant. Afr J Biotechnol 8 (21): 5691- 5695.
- **Sumira Tyub; Azra N.; Kamili and Mohammad Mansoor Bhat. (2014).** Rapid Micropropagation and Conservation Method, in the Face of Changing Climate for Vinca rosea L.—A Potential Plant of High Medicinal Value. Centre of Research for Development University of Kashmir.
- **Van der Heijden D. I; Jacobs; W. Snoeijer; D. Hallard; and R. Verpoorte. (2004).** "The Catharanthus alkaloids: pharmacognosy and biotechnology," Current Medicinal Chemistry, vol. 11, no. 5, pp: 607–628.
- **Zarate R; Memelink J; Van der heijden R; Verpoorte R. (1999).** Genetic transformation via particle bombardment of Catharanthus roseus plants through adventitious organogenesis of buds. Biotech. Lett.21: pp: 997−1002.