تأثير بعض منظمات النمو في استحثاث الكالس وتضاعف نبات العنطــران *Alternanthera sessilis* خارج الجسم الحي

حليمة جبار عبد الرزاق العرادي

قسم التطور الاحيائي في شط العرب وشمال الخليج العربي/ مركز علوم البحار/ جامعة البصرة
E-mail: Halema.gabar@yahoo.com

الخلاصة

تم اكثار نبات العنطران *Alternanthera sessilis* نسيجياً عن طريق إنتاج الكالس من زراعة البراعم الطرفية في وسط MS مجهز بالاوكسين 2,4-D و NAA وبتركيز 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$، نقل الكالس الأولي إلى وسط اخر مجهز بالسايتوكاينين BA والكاينتين Kinetin بتركيز 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ لغرض انتاج الافرع العرضية، وظهرت الاجنة الجسمية عند نقل الكالس الاولي الى وسط خالي من منظمات ألنمو كما بحث تأثير السايتوكاينينات في توالد الافرع الخضرية المباشر من البراعم الطرفية، اذ تفوقت المعاملة الرابعة (BA + Kin بتركيز 1 ملغم.لتر$^{-1}$) معنويا على باقي المعاملات وسجلت أعلى معدل لعدد الافرع بلغ 12 فرعا خضريا، كما تفوقت المعاملة الرابعة في أعطاء أعلى معدل لطول الفرع الخضري بلغ 5.33 سم وبفارق معنوي عن باقي المعاملات، اما عدد الافرع الجانبية فلم تظهر المعاملة الرابعة فرقا معنويا عن المعاملة 1 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin والتي كونت 3.33 فرعا جانبيا. كما تفوقت المعاملة الرابعة معنويا في أعطاء أعلى معدل لعدد الازهار بلغ 5.33 زهرة بفارق معنوي عن المعاملات الاخرى. أخذت الأفرع العرضية المتوالدة من الكالس والأفرع الناتجة من التضاعف المباشر الى وسط التجذير المجهز بأملاح MS بنصف القوة و كلا من الاوكسين NAA وIBA بتركيز 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$، نقلت النبيتات المجذرة الى المزرعة المائية بعد ان اجتازت مرحلة الأقلمة بنجاح بنسبة 100%.

كلمات مفتاحيه: العنطران، نبات مائي، اكثار دقيق، منظمات نمو نباتية.

المقـدمـــة

يعود نبات العنطران *Alternanthera sessilis* الى العائلة Amaranthaceae وهو من النباتات المائية الذي ينمو في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية وتستخدم الافرع الغضة والأوراق للأكل او كعشبه طبية مدررة ومنشطة ولعلاج امراض البرد كما يزيد في قوة البصر، و يستعمل ايضا لعلاج الالتهابات المعوية والجروح السطحية والتهاب الكبد والقصبات الهوائية والربو ولإيقاف النزف، كما يدخل في تصنيع الزيوت المقوية للشعر، وتمتازالأوراق بكونها غنية بعنصر الحديد وفيتامين A والألياف والكاروتين او يستعمل للزينة كنباتات أسيجة، والأزهار فيه بشكل نوره زهرية جالسة ذات لون ابيض فضي وبطول 0.7-1.5 ويزهر النبات في شهر آذار ويمتد

حتى شهر تشـرين الاول ;Lansdown and Smith, 2014; Grubben&Denton, 2004).
(Naples, 2005; Jalalpure *et al*,. 2008 ينمو النبات في مختلف انواع الترب ويتكاثر بالبذور التي تحمل بواسطة الرياح والماء ويعتبر النبات من النباتات الزاحفة لها القدرة على تكوين الجذور من مناطق العقد على الساق (scher, 2004). ان زيادة التطور الصناعي وزيادة مياه الصرف الصحي ادى الى التأثير على البيئة بشدة وعلى الصحة العامة فضلا عن التلوث بالعناصر الثقيلة، ومن بين اكثر التقنيات وأهمها استعمالا في ازالة التلوث هي المعالجة باستعمال النباتات phytoremediation وهي من الطرق الكفوءة والاقتصادية ،وهناك العديد من الابحاث التي اشارت الى ان عناصر Ni , Co , Cu , Cr , Pb تشكل نسبة قدرها % 0.1 في حين عنصر Zn نسبة قدرها 1 % من الوزن الجاف للأوراق النباتية المراكمة للعناصر والتي يطلق عليها hyper accumulators وان استعمال النباتات المائية تعتبر طريقة كفوءة بإزالة التلوث نظرا لقدرة الجذور في امتصاص العناصر الملوثة بكفاءة عالية (Dushenkov *et al*., 1995). ويعتبر نبات العنطران من بين النباتات المهمة في ازالة الملوثات من البيئة وخاصة عنصر الكروم والتي اكدها(2013) Subhalakshmi *et al*. عند زراعته في اوساط غذائية حاوية على عنصر الكروم خارج الجسم الحي. وبين (2013) Chinmayee *et al*. ان تعريض نوعين من نبات العنطران *A. sessili* و *A. tenellae* الى مستويات مختلفة من عنصر الكادميوم ادى الى حث الشد التأكسدي Oxidative stress مما ادى الى انتاج العديد من الانزيمات المضادة للأكسدة وزيادة في تركيز الحامض الاميني البرولين وصبغة اللايكوبين وهذه تعتبر مركبات هامة تعكس دور النبات الهام في حماية الجسم من الامراض عند استعماله كمستخلصات دوائية. ان استعمال تقنية زراعة الانسجة النباتية لإكثار نبات العنطران تعتبر طريقة مثالية لأنها تجهز كميات كبيرة من المادة الاولية للصناعات الدوائية عن طريق التضاعف المباشر او عن طريق انتاج الكالس خاصة عند زراعتها تحت تأثير اي نوع من انواع الشدود الحيوية والا حيوية والتي تؤدي في النهـاي الى زيـادة انتـاج المـادة الفعـالة في الخلايا النبـاتية (;Boro *et al*., 1998 Bennici and Schiff 1997; Singh *et al*., 2009 Wesely *et al*., 2011) .وقد اوضـــح العديد من الباحثين دور منظمات النمو النباتية في استحثاث الكالس والتضاعف الخضري لنبات العنطران فقد اشار (2013) Subhalakshmi *et al*.الى استعمال 0,5 ملغم.لتر$^{-1}$ من BAP +0.2 ملغم.لتر$^{-1}$ من IAA في إخلاف النبات المباشر من أجزاء نباتية متمثلة بالقمة النامية وقطع من السيقان والعقد من نبات العنطران ولاحظ استجابة جيدة في زيادة طول النموات الخضرية الى 5.7 سم وتحفيز الجذور بطول 2 سم وأعلى نسبة من إخلاف النبات كانت باستعمال العقد والتي وصلت الى 92.4 % وأوضح Dimpy and Borua (2014) ان اكبر عدد من الافرع لنبات العنطران وبمعدل طول 9,3 سم ظهر عند زراعة الكالس في وسط مجهز بالسايتوكاينين BAP وسلفات الادنين بمعدل 1 ملغم.لتر$^{-1}$. وهناك العديد من الدراسات التي اوضحت دور السايتوكاينينات في استحثاث وتكون الافـرع الخضـرية من الاجـزاء النباتية المختلفة،(2007) Sivanesan and Jeong ودراسات Sadheeshna (2009, 2010) على نباتات الخباز و الميموسا (المستحية) و بربين الماء.

نظرا لظروف التملح التي تتعرض لها مياه الانهار في العراق وخاصة شط العرب والتي ادت الى انقراض العديد من النباتات ومنها نبات العنطران الذي كان ينمو على شواطئ الانهار ويحميها من الانجراف فضلا عن دوره في معالجة المياه و التنوع الاحيائي وإعطاء جمالية للبيئة وإمكانية استخدامه كمادة اولية للصناعات الدوائية مستقبلا فقد اجريت هذه الدراسة بهدف اكثار النبات والمحافظة عليه من الانقراض عن طريق اكثاره بتقانة زراعة الانسجة النباتية.

المـواد وطـرق الـعمـل

مصدر الجزء النباتي

تم الحصول على نبات العنطران من سـواحل شط العرب المتواجدة في قضاء شط العرب، جلبت الى المختبر وفصلت البراعم الجانبية بطول 5 ملم ومن ثم وضعت في محلول مضاد للأكسدة (Antioxidant solution) الذي تكون من حامض الستريك وحامض الاسكوربك بتركيز 150 و 100 ملغم.لتر$^{-1}$ لكل منهما على التوالي ولمدة 30 دقيقة، ثم عقمت داخل منضدة انسياب الهواء الطبقي (Laminar air flow cabinet) باستعمال القاصر التجاري 20% (حجم/حجم) ونسبة المادة الفعالة فيه 5- 6 % مع اضافة قطرة واحدة من المادة الناشرة (Tween 20) لكل 100 سم^3 من محلول التعقيم ولمدة 15 دقيقة مع الرج والتحريك ومن ثم غسلت بالماء المقطر المعقم عدة مرات، لإزالة آثار المادة المعقمة وبذلك أصبحت الأجزاء النباتية جاهزة للزراعة في الوسط الغذائي.

الوسـط الغـذائي

استعمل وسط غذائي مكون من مجموعة أملاح (Murashige & Skoog, 1962) ويطلق عليه اختصارا بأملاح MS اذ تم الحصول عليه من شركة Zist Arman Sabz (ZAS) بواقع 4330 ملغم.لتر$^{-1}$ مع اضافة المواد التالية على اساس ملغم.لتر$^{-1}$ (30000 سكروز و170 أرثروفوسفات الصوديوم الحامضية و5000 أكار وأضيفت الفيتامينات الكاملة من مجموعة MS vitamin mixture بمعدل 103,1)، وبعد ضبط الاس الهيدروجيني على 5.8 عياري، أضيف الأكار وسخن الوسط الغذائي على درجة حرارة 95 م^o، وبعدها وزع الوسط الغذائي في أنابيب اختبار قياس 20×2.5سم بواقع 25 مل للأنبوبة الواحدة ومن ثم سدت فوهة الانابيب بالقطن الطبي وأورق الألمنيوم Aluminums foil وبعدها عقمت في جهاز التعقيم البخاري (المعقام)، على درجة حرارة 121 م^o وضغط بخار 1.5 بار لمدة 20 دقيقة وبعد انتهاء التعقيم استخرجت الانابيب ورجت جيدا ثم تركت لتبرد الى ان تصلب الوسط الغذائي حينها اصبح جاهزا لزراعته بالأنسجة ألنباتية كما أضيفت منظمات النمو النباتية (الأوكسينات والسايتوكاينينات) قبل التعقيم الى الوسط الغذائي حسب المعاملات المدروسة في التجربة كما يأتي:

1- استحثاث الكالس Callus Induction

أستعمل منظمي النمو 2,4-dichloro phenoxy acetic acid (2,4-D) و α - Nephthaline acetic acid(NAA) وبتركيز 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ لكلا منهما لاستحثاث الكالس من الاوراق الفتية النامية من البراعم الطرفية واعتمادا على العرادي واخرون (2016).

2- انتاج الاجنة الجسمية Somatic Embryos

نقل الكالس الاولي وبعمر اربعة اشهر الذي تكون من مبادئ الاوراق الفتية المزروعة في اوساط غذائية مزودة بتركيز 1,5 ملغم.لتر$^{-1}$ 2,4-D و1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ NAA الى أوساط غذائية خالية من منظمات ألنمو بهدف انتاج الأجنة الجسمية وإنباتها، عمليات اعادة الزرع تمت مرة كل ستة اسابيع.

3-انتاج الافرع العرضية Adventious shoots من الكالس

الكالس الاولي بعمر اربعة اشهر نقل الى وسط غذائي مكون من املاح MS ومجهز بالسايتوكاينين Benzyl Adenine (BA) والكاينتين Kinetin (Kin) بتركيز 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ لكلا منهما لغرض انتاج الافرع العرضية من الكالس، اجريت عمليات اعادة الزراعة مرة كل ستة اسابيع.

4- توالد الأفرع الخضرية المباشر Direct Shoot regeneration من البراعم الجانبية

أستعمل نوعان من السايتوكاينينات هما البنزل أدنين (BA) والكاينتين Kin لمعرفة تأثيرهما فى انتاج الأفرع الخضرية ألمباشرة وأضيفت الى وسط MS أثناء التحضير وحسب المعاملات التالية:

1- المقارنة الخالية من الهرمونات

2- 1ملغم.لتر$^{-1}$ Kin

3- 1 ملغم.لتر$^{-1}$ BA

4 - 1 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin + 1 ملغم.لتر$^{-1}$ BA

ودرست الصفات الآتية كمؤشر للنمو:

أ- عدد الأفرع المتكونة على الجزء النباتي المزروع

ب- طول ألفرع الخضري

ج- عدد الأفرع الجانبية المتكونة/العقدة

د- عدد الازهار المتكونة / العقدة

5- التجذيــر Rooting

جذرت النبيتات بعد مرور شهر من زراعتها في الوسط الغذائي المزود بنصف القوة من املاح MS مع اضافة كلا من الأوكسين Indole Butyric Acid (IBA) و NAA بتركيز 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ وحضنت الزروعات على إضاءة لمدة 16 ساعة و 8 ساعات ظلام ولمدة شهر.

6- الأقــلمة

أُقلمت النبيتات داخل المختبر، حيث استخرجت بعد تجذيرها من الانابيب الزرعية وغسلت بالماء الجاري عدة مرات، لغرض ازالة المواد العالقة بالجذور ومن ثم وضعت في محلول التعقيم المتكون من 1غم.لتر$^{-1}$ من المبيد الفطري السا (Elsa) لمدة 30 دقيقة بعدها وضعت في المفاعلات الحيوية (Bioreactor) الحاوية

على وسط سائل يحتوي على املاح هوكلاند Hoagland solution بنسبة 1 غرام .لتر$^{-1}$ لمدة شــهر(Hoagland and Arnon, 1938). ثم زرعت في وسط زرعي مكون من مخلفات ثمار جوز الهند Coco Compact Potting Soil، استعملت شمعات فلورسنت (LED) باللونين الأحمر والأزرق من الطيف الشمسي لمدة 16 ساعة و 8 ساعات ظلام، وامتدت عملية الأقلمة لشهرين وبعدها نقلت النباتات الى المزرعة المائية.

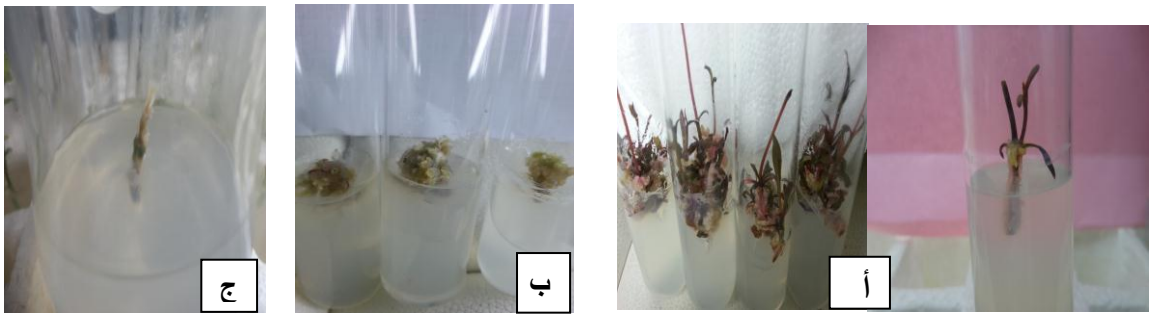
التصميم التجريبي و التحليل الاحصائي

نفذت التجربة باستعمال التصميم العشوائي الكامل (C.R.D) Completely Randomized Design أستعمل برنامج SPSS في تحليل النتائج و اختبرت معنوية المتوسطات باستعمال اختبار أقل فرق معنوي معدل RLSD واستعملت 10 مكررات لكل معاملة (الراوي وخلف الله،1980).

النتائج والمناقشة

1- استحثاث الكالس وإكثاره لنبات العنطران

توضح اللوحة 1 أ تأثير المعاملة بالاوكسين 2,4-D و NAA وبتركيز 1,5 ملغم.لتر$^{-1}$ لكلا منهما في استحثاث الكالس من الاوراق الفتية النامية من البراعم الطرفية المزروعة في الاوساط الغذائية، أجريت بعد ذلك اعادة زراعة الكالس كل ستة اسابيع بهدف اكثاره لوحة 1 ب، أما عن تأثير معاملة المقارنة فلم يحدث استحثاث للكالس وإنما حصل خمول وتلف للجزء النباتي المزروع بعد مرور شهر من الزراعة لوحة 1 ج.

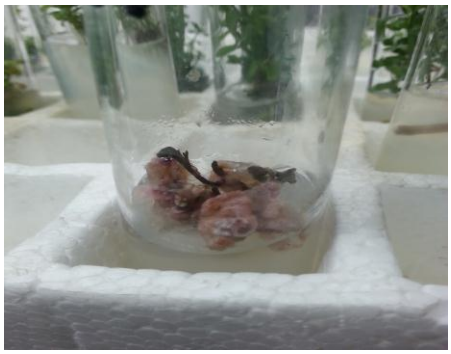


لوحة 1: أ-تأثير المعاملة بالاوكسين 2,4-D و NAA في استحثاث الكالس من الاوراق الفتية و البراعم الطرفية، ب- اكثار الكالس، ج-معاملة المقارنة

وهذا يوضح دور الاوكسينات المهم في عملية استحثاث الكالس اذ أن غياب الأوكسين في معاملة المقارنة أثر في استحثاث الكالس وذلك بعدم تحفيز الخلايا البرنكيمية على الانقسام وهذا يبين أهمية الأوكسين في عملية انقسام الخلايا Cell division واستطالتها Cell elongation، وجاءت النتائج متفقة مع (Wesely *et al.,* 2011) ان اعلى نسبة مئوية من الكالس الناتج من الاوراق الفتية لنبات العنطران بلغت 92.4% كانت عند زراعته في وسط MS مجهز 2 ملغم.لتر$^{-1}$ من 2,4-D، واتفقت مع Dimpy and Borua (2014) ان تطور الكالس من نهاية العقد لنبات العنطران حدث في وسط MS المجهز 1 أو 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ من 2,4-D.

ان الخلايا بحاجة الى الاوكسينات وذلك للتحول من مرحلة فقدان التمايز Dedifferentiation لتبدأ بالانقسام والتمايز، فقد بين Schiavo *et al.* (1989) ان وجود الاوكسينات يحفز DNA ليصبح اكثر تشبعا بالميثانول وهذه العملية ضرورية لإعادة قدرة الخلايا على التمايز differentiation كما ان للاوكسين NAA دور مهم ايضا في استحثاث الكالس سواء كان لوحده او متداخلا مع الاوكسينات الاخرى، واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع العرادي وآخرون (2016) إذ وجدوا ان توليفة مكونة من 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ من NAA و 2,4-D هي الافضل في الحصول على كالس متماسك حاوي على عقد كثيرة لنبات بربين الماء. وبين Yuan *et al* (2004) ان توليفة مكونة من NAA بالتركيز من 0–0.2 ملغم.لتر$^{-1}$ متداخلة مع تراكيز تتراوح من 0 – 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ من IAA و BA هي الافضل في استحثاث الكالس من أوراق و ساق نوع آخر من نبات العنطران *A. philoxerides*.

لوحظ من الدراسة الحالية تراكم الصبغات في الكالس المستحث بعد أعادة الزراعة الثانية، إذ لوحظ تحول لون الكالس الى الاحمر المزرق كنتيجة لتراكم هذه الصبغا ت لوحة 2، كما ان هذه الصبغات تراكمت في الاوراق بتراكيز عالية في بداية مرحلة النمو للنباتات التي أخلفت من الكالس لوحة 3، وقد اثبتت العديد من الدراسات ان هذه الصبغات التي تتراكم في نبات العنطران لها القدرة على حماية DNA من الضرر و منع حدوث الامراض السرطانية للإنسان والتي تحدث نتيجة تكون الانواع الاوكسجينية عالية الفعالية reactive oxygen species (Lau *et al.*, 2010)، وان استعمال المستخلص المائي لأوراق نبات العنطران كان له فعالية عالية في القضاء على الجذور ألحرة ويمكن اعتماد النبات كمصدر للأدوية المضادة للأكسدة والتي تحمي DNA من الضرر الناتج بفعل بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) المسبب للجذور الحرة (Balashandar *et al.*, 2013).



لوحة 2: تراكم الصبغات في الكالس المستحث بعد أعادة الزراعة الثانية

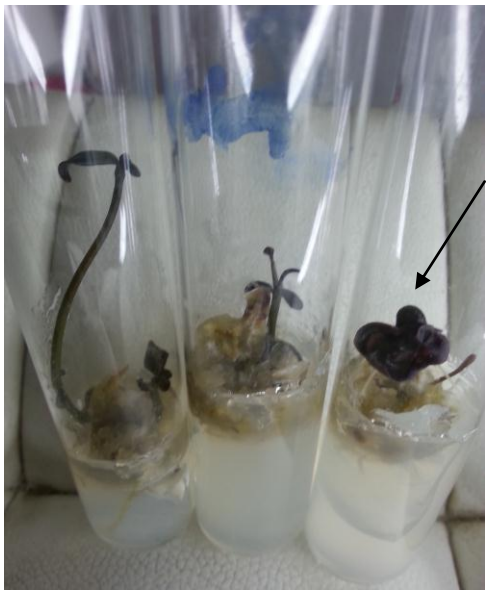
لوحة 3: تراكم الصبغات في اوراق النباتات التي أخلفت من الكالس

أن أنتاج نبات العنطران بتقنية زراعة الانسجة عن طريق إخلاف النبات المباشر أو غير المباشر تعطي احتمالية كبيرة في ظهور صفات جديدة لم تكون موجودة سابقا وهذا ما يطلق عليه بالتغايرات الجسمية (Somaclonal Variations) وهذه الصفات يمكن اعتبارها مصادر لأنواع جديدة في التحسين الوراثي للنبات

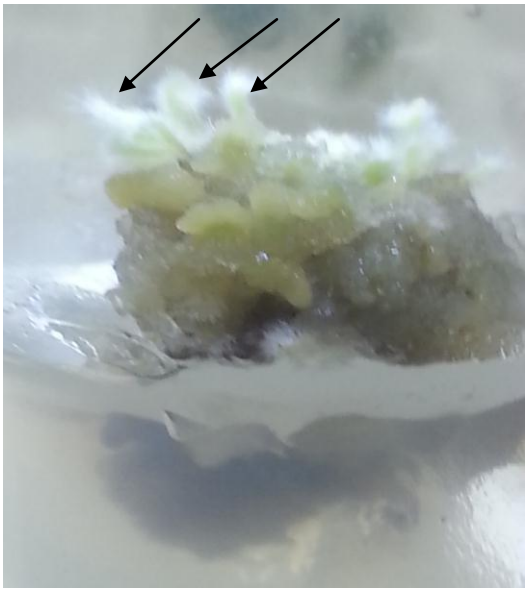
، وفي الدراسة الحالية تم الحصول على نباتات ذات اوراق بوقيه الشكل ناتجة من إخلاف النبات من الكالس لوحة 4، إذ أخلفت هذه النباتات بعد نقل الكالس الاولي الى وسط غذائي مكون من املاح MS حاوي على السايتوكاينين BA +Kin بتركيز 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$. وعند نقل قسم من الكالس المتكون الى وسط غذائي آخر مكون من املاح MS وخالي من منظمات النمو ادى الى ظهور الاجنة الجسمية (Somatic embryos) لوحة 5.

2- توالد الافرع الخضرية المباشر Direct regeneration من البراعم الجانبية

يتضح من النتائج المعروضة في الشكل 1 إن للسايتوكاينيين تأثير كبير على معدل التضاعف الحاصل للجزء النباتي بعد إعادة الزراعة الثانية ،إذ تفوقت المعاملة الرابعة 1 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin + 1ملغم.لتر$^{-1}$ BA معنوياً على بقية المعاملات في عدد الافرع المتضاعفة من الجزء النباتي وبلغت 12 فرعاً خضرياً ، في حين لم تظهر المعاملة 1ملغم.لتر$^{-1}$Kin و المعاملة 1 ملغم.لتر$^{-1}$BA فروقاً معنوية ولكنهما تفوقتا على معاملة المقارنة التي سجلت أقل عدداً للأفرع الخضرية بلغ 2.33. ومن ناحية أُخرى سجلت المعاملة الرابعة أعلى معدل لطول الفرع الخضري بلغ 5.33 سم الشكل 2 ، كما سجلت أيضاً أعلى معدل للأفرع الجانبية بلغ 3.33 فرعاً جانبياً وبفارق غير معنوي عن المعاملة 1ملغم.لتر$^{-1}$ Kin وفارق معنوي عن بقية المعاملات، وسجلت معاملة المقارنة أقل عدداً للأفرع الجانبية بلغ 1.33 الشكل 3 . أن الزيادة الحاصلة في عدد الافرع المتضاعفة من الجزء النباتي وطول الفرع الخضري وعدد الافرع الجانبية بتأثير نوعين من السايتوكاينيين بتراكيز منخفضة قد ترجع الى استجابة الخلايا المكونة لهذه الافرع للتراكيز المنخفظة وحاجتها القليلة لها في بداية مرحلة الانقسام والاستطالة.



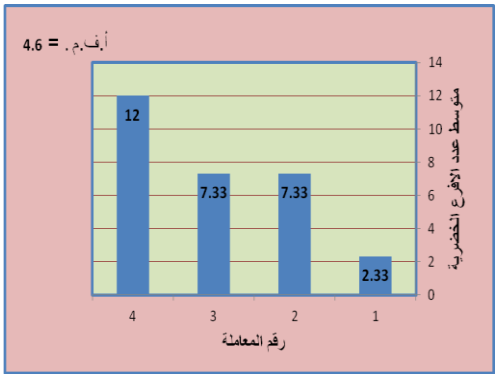
لوحة 4: نباتات ذات اوراق بوقيه ناتجة من إخلاف النبات من الكالس



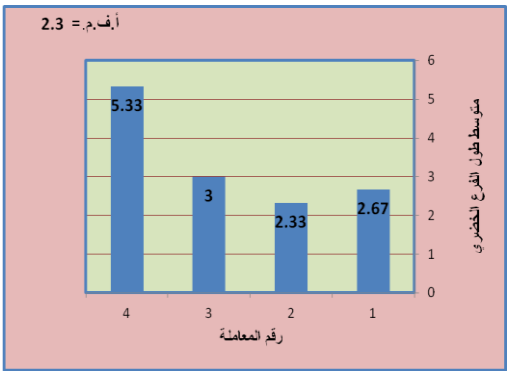
لوحة 5: ظهور الاجنة الجسمية في وسط خالي من منظمات النمو

وجاءت النتائج متفقة مع ما توصل اليه Singh *et al.* (2009) في دراستهم على نبات العنطران إذ بينوا إن استعمال توليفة مكونة من 1 ملغم.لتر$^{-1}$ BAP + 2,4-D هي الافضل في تكوين الكالس و عند نقل هذا الكالس الى وسط آخر مجهز 1ملغم.لتر$^{-1}$ م BAP + IAA أعطى أعلى عدد من النموات الخضرية بلغ 10 أفرع لكل جزء مزروع، كما اتفقت النتائج ايضا مع Wesely *et al.* (2011) عند دراستهم على نبات العنطران إذ بينوا إن أكثر عدد من الافرع بلغ 23.4 تم الحصول عليه عند زراعة البراعم القمية في وسط MS مجهز 2 ملغم.لتر$^{-1}$ BAP، ودعمت النتائج من قبل Subhalakshmi *et al* (2013) و Dimpy& Borua (2014).

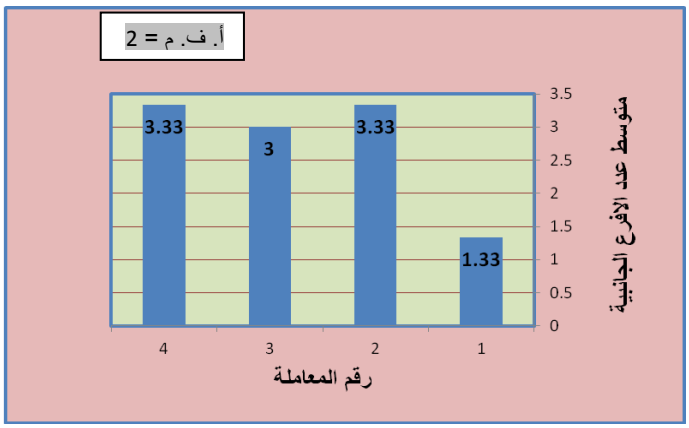
في حين لم تتفق نتائج الدراسة مع Premkumar *et al.* (2011) الذي بين ان التراكيز العالية من السايتوكاينين BAP+ Kin كان له تأثير سلبي في اخلاف نبات عرق السوس.



الشكل 1: تأثير السايتوكاينينات في متوسط عدد الافرع الخضرية المتضاعفة من الجزء النباتي

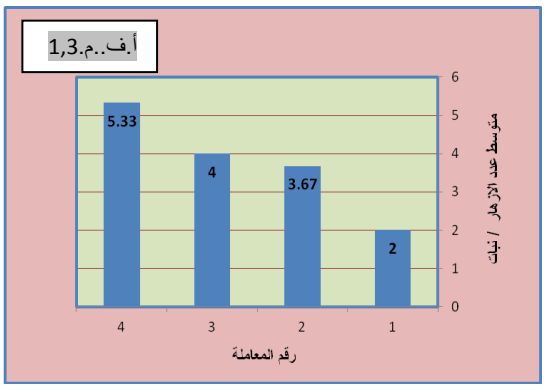


الشكل 2: تأثير السايتوكاينينات في متوسط طول الفرع الخضري

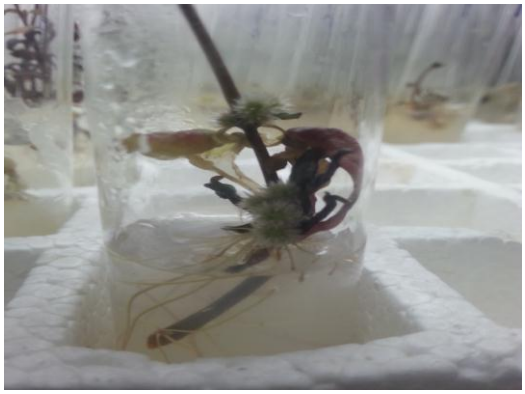


الشكل 3 : تأثير السايتوكاينينات في متوسط عدد الافرع الجانبية

تبين النتائج المعروضة في الشكل 4 واللوحة 6 إن أعلى معدل لعدد الازهار/عقدة بلغ 5.33 عند استعمال المعاملة 1 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin + 1ملغم. لتر$^{-1}$ BA و بفارق معنوي عن المعاملات الاخرى والأخيرة كانت متفوقة على معاملة المقارنة والتي أعطت أقل عدد من الازهار بلغ 2 زهرة / عقدة. وقد يرجع السبب في زيادة عدد الازهار على العقدة عند استعمال المعاملة 1 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin + 1ملغم.لتر$^{-1}$ BA الى دور السايتوكاينينات في التأثير على هرمونات التزهير نتيجة لزيادة انقسام الخلايا واستطالتها و وصول النبات الى مرحلة البلوغ وحث عملية التزهير، إذ ان للسايتوكاينينات تأثير مشجع للإزهار سواء كانت لوحدها او متداخلة مع الاوكسينات، وإنها تعتبر المركبات الاساس لاستحثاث الافرع الخضرية والإزهار لنبات عرق السوس (Premkumar *et al.*, 2011). أن حدوث عملية التزهير خارج الجسم الحي قد يكون له دور فعال في الحصول على نباتات بصفات وراثية جديدة تختلف عن النبات الام وبذلك يمكن انتخاب الانواع الجيدة منها وذلك بزراعة البذور التي تم الحصول عليها خارج الجسم الحي، إذ إنه بالإمكان الحصول على نباتات مغايرة عن النبات الأم عند زراعته خارج الجسم الحي وذلك بعد الكشف الجيني لهذه النبات باستعمال تقانة PCR-RAPD. (العرادي، 2013).



الشكل 4: تأثير السايتوكاينينات في متوسط عدد الازهار/عقدة



لوحة 6: تأثير المعاملة 1 ملغم.لتر$^{-1}$ BA+Kin في متوسط عدد الازهار/عقدة

التـجذيـر

نقلت الافرع الخضرية الناتجة من تأثير المعاملة بالسايتوكانيين لوحة 7 أ والافرع العرضية المتوالدة من الكالس لوحة 7 ب الى وسط غذائي مزود بنصف القوة من املاح MS ومجهز بالاوكسين IBA + NAA بتركيز 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ لكلا منهما وقد أدت هذه المعاملة في الحصول على مجموع جذري كبير و قوي. وجاءت النتائج متفقة مع ما ذكره Mamun *et al.* (2004) بأن الوسط المزود بالاوكسين IBA+NAA بتركيز 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ لكلا منهما في وسط MS الحاوي على الفحم المنشط كان الافضل في تجذير الافرع المتوالدة من كالس نبات قصب السكر، ان الوصول الى الحجم النهائي للجذر يتم تنظيمه بواسطة العديد من الاشارات Signals وقد اوضح Hu and Hai (2003) الميكانيكية الجزيئية لهذه الاشارات وبين ان الجين ARGOS المعروف في نبات *Arabidopsis* و المسئول عن الحجم النهائي للعضو النباتي يتم حثه بدرجة

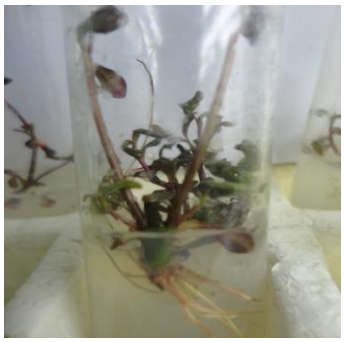
عالية بواسطة الاوكسينات. وهذا يدل ان استعمال الاوكسينات تكون كفوءة بإستحثاث وتكون الجذور من خلال حث و تنشيط عملية بناء الببتيدات المتعددة (Friedman *et al.*, 1985).

الأقـلـمـة

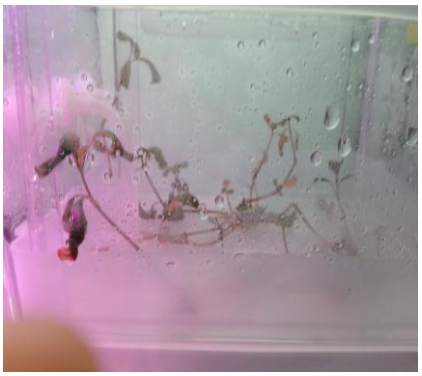
أُجريت عملية الأقلمة في نظام المفاعلات الحيوية لوحة 8 أ، وبعد شهر رفعت الاغطية بصورة تدريجية و نقلت الى اوساط سائلة حاوية على املاح هوكلاند Hoagland solution بنسبة 1 غرام .لتر$^{-1}$ لوحة 8 ب ثم زرعت النباتات في وسط زرعي مكون من مخلفات ثمار جوز الهند Coco Compact Potting Soil لوحة 8 ج، استعملت شمعات فلوريسنت (LED) باللونين الأحمر والأزرق من الطيف الشمسي لمدة 16 ساعة و 8 ساعات ظلام، وامتدت عملية الأقلمة لشهرين و تم الحصول على نباتات قوية اجتازت مرحلة الاقلمة بنجاح.

ومن الدراسة يمكن ان نستنتج ان تقنية زراعة الانسجة النباتية هي افضل طريقة لإكثار نبات العنطران والمحافظة عليه من الانقراض ونوصي بإجراء دراسات اخرى تتضمن تحسين التحمل الملحي للنبات وخاصة عندما يكون الهدف الحصول على مستخلصات دوائية وذلك لزيادة المادة الفعالة، كذلك اجراء دراسات مختبريه لمعرفة كفاءة النبات في ازالة الملوثات من البيئة واستعمال النبات في برامج تنقية المياه.

لوحة 7 أ: مجموع جذري من الافرع الخضرية الناتجة بتأثير المعاملة بالسايتوكانيين بعد شهر من الزراعة



لوحة 7 ب: مجموع جذري من الافرع العرضية المتوالدة من الكالس بعد شهر من الزراعة



لوحة 8 أ: عملية الأقلمة في نظام المفاعلات الحيوية

لوحة 8 ب: نمو النباتات في اوساط سائلة حاوية على املاح هوكلاند

لوحة 8 ج: نمو النباتات في وسط زرعي مكون من مخلفات ثمار جوز الهند

المصـادر

الراوي، خاشع محمود و محمد، عبدالعزيز خلف الله (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل 488 صفحة.

العرادي، حليمة جبار عبد الرزاق (2013). أثر بعض عوامل الإجهاد وأشعة جاما في انتخاب نباتات قصب السكر (*Saccharum officinarum* L.) متحملة للملوحة خارج الجسم الحي، اطروحة دكتوراه، جامعة البصرة، كلية الزراعة. عدد الصفحات:252.

العرادي، حليمة جبار عبد الرزاق وصالح، انسام مهدي ومحسن، خيون علي والزوار، جهاد مكي (2016). اكثار نبات بربين الماء *Bacopa monnieri* خارج الجسم الحي. المجلة العراقية للاستزراع المائي، قيد النشر.

Bennici, A.; Schiff, S. (1997). Micropropagation of *Amaranthus* (Amaranth). In: Bajaj YPS (ed). Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 39: High – Tech and Micropropagation Vol.39, pp. 20-29. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.

Boro, P.; Shrma, A. and Kalita, M. (1998). Clonal propagation of *Alternanthera sessilis*: biopharmaceutically potent herbal medicinal plant. J. Phytol. Res.11:103-106.

Chinmayee, M.; Stephan, P. Anu, M.; Sheeba, A.; Mini, I. and Swapna, T. (2013). Cadmium stress on antioxidant activity of two *Alternanthera* sp., Journal of Scientific & Industrial Research .Vol. 72, pp: 558-562.

Dimpy, D. and Borua, P. (2014). In vitro propagation of *Alternanthera sessile* from internode explante, British Biotechnology Journal, 4(1): 74-80.

Dushenkov, V.; Kumar P.; Motto, H. and Raskin, I. (1995). Rhizofilteration the use of plants to remove heavy metals from aqueous streams, Environ. Sci. Technol, 29: 1239-1249.

Friedman, R.; Arie, A. and Uriel, B. (1985). Polyamines and Root formation in Mung Bean hypocotyls cuttings. Plant physiol . 79 , : 80-83 .

Grubben, G. and Denton, O. (2004). Plant Resources of Tropical Africa 2. Vegetables. PROTA Foundation, Wageningen; Backhuys, Leiden; CTA, Wageningen ,vol. 23 p: 298pp.

Hoagland, D. and Arnon, D. (1938). 'The water culture method for growing plants without soil, Bull. Calif. Agric. Stat, Circular. 347, p :1-39.

Jalalpure, S.; Agrawal, N.; Patil, M.; Chimkode, R. and Tripathi, A. (2008). Antimicrobial and wound healing activities of leaves of Alternanthera sessilis Linn. Int. J. of Green Pharmacy. 2(3): 141-144 .

Lansdown, R. and Smith, K. (2014). *"Alternanthera sessilis*". IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014. 1. International Union for Conservation of Nature. Retrieved 25 June.

Lau, S.; Lin, Z. and Leung, P. (2010). Role of reactive oxygen species in brucein dmediated p38-mitogen- activated protein kinase and nuclear factor- B signalling pathways in human pancreatic adenocarcinoma cells. British Journal of Cancer. (102): 583–593.

Mamun, M.; Sikdar, M.; Paul, D., Rahman, M. and Islam, M. (2004). In vitro Micropropagation of Some Important Sugarcane Varieties of Bangladesh. Asian Journal of Plant Sciences 3: 666-669.

Murashige, T. and Skoog, T. (1962). Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures Plant Physiol., 15: 473-497.

Naples, M. (2005). Weeds of rain fed lowland rice fields of Laos & Cambodia. Unpublished MSc Thesis, University of Leiden, the Netherlands

Premkumar, R.; Sankaranarayanan, S.; Jeeva, K. and Rajarathinam K. (2011). Cytokinin induced shoot regeneration and flowering of *Scoparia dulcis* L. (Scrophulariaceae)-an ethnomedicinal herb, Asian Pac J. Trop. Biomed; 1(3): 169–172.

Sadheeshna, K.; Huxley, A. and Sasikala, A. (2009). In vitro propagation of medicinally important plant *Mimosa invisa*. J. Basic Appl Biol. 3 (3&4):27–32.

Sadheeshna, K.; Maybel, S. and Huxley, A. (2010). In vitro propagation of *Bacopa monnieri* (L.) a wetland medicinal plant. J. Basic Appl Biol.;4 (3) :138–142.

Schiavo, L.; Pitto, L. and Giuliano, G. (1989). DNA methylation of embryogenic carrot cell cultures and its variations as caused by mutation , differentiation hormones and hypomethylating droug .Theor. Appl. Genet. 77 :325-331 .

Scher, J. (2004). Federal Noxious Weed disseminules of the U.S. Center for Plant Health Science and Technology, Plant Protection and Quarantine, Animal and Plant Health Inspection Service, U.S. Department of Agriculture. Online. Available: http://www.lucidcentral. org/ keys/ v3/ FNW/.

Sinha, S. and Chandra, P. (1990). Removal of Cu and Cr from water by Bacopa monnieri. L., Water, Air, Soil Pollut, 5: 271–276.

Singh, A.; Kandasamy, T. and Odhav, B. (2009). In vitro propagation of Alternanthera sessilis (sessile joyweed), a famine food plant, African Journal of Biotechnology, 8 (21): 5691-5695.

Sivanesan, I. and Jeong, B. (2007). Direct shoot regeneration from nodal explants of *Sidacor difolia* Linn. In Vitro Cell Dev. Biol. Plant. 43:436–441

Subhalakshmi, A.; Rajagopal, K.; Nithiyanandhan, G.; Jayanandi, D. and Karthikeyan, S. (2013). Chromium phytoaccumulation by *alternanthera sessilis in vitro*–a first report. International Journal of Pharma. and Bio. Sciences ,4(3): 618-624.

Wesely, E.; Johnson, M.; Kavitha, M. and Selvan, N. (2011). Micropropagation of *Alternanthera sessilis* (L.) using Shoot tip and Nodal segments, Iranian j. of biote., Vol.9 (3).

Yuan, Y. ; Sheng, J.; Wang, H.; Wang, Z. and Ru, B. (2004). Callus induction and root differentiation from *Alternanthera philoxeroides*, Acta Hydrobiologica Sinica , 28(6) : 622 - 628 .

Yuxin, H.; Xie, Q. and Nam, C. (2003). The Arabidopsis Auxin-Inducible Gene ARGOS Controls Lateral Organ Size, Plant Cell; 15 (9): 1951–1961

Effect of certain plant growth regulators on callus induction and Organogenesis of *Alternanthera sessielis* in vitro

Haleemah J. Al-Aradi

Dept. Biological Development of Shatt Al-Arab & N. Arabian Gulf, Marine Science Center, Univ. of Basra, Basrah, Iraq.

Summary

Propagation of *Alternanthera Sessiels* in vitro by callus induction through the culture of adventitious bud on MS medium supplemented with 2.4-D and NAA in 1.5mg/L, primary callus where transferred on MS medium supplemented with 0.5mg/L Benzyl Adenine (BA) and 0.5mg/L Kinetin (Kin) for induction Adventitious shoot, somatic embryos appeared when primary callus transferred to free hormones MS medium, Effects of cytokinins in direct organogenesis with various concentration was also examined, the fourth treatment 1mg /L Kin+1mg/L BA give significant Increase , and scored the highest mean of shoot number 12 shoot. Also fourth treatment caused significant increase and gave highest mean of shoot length 5.33cm, while no significant different was appeared between the fourth treatment and 1mg/L Kin in the number of vegetative bud. Fourth treatment also scored significant increased in the number of flower and give 5.33 flower/node, Direct and indirect regenerated shoot were transferred to half strength MS medium supplemented with 0.5 mg /L NAA+ 0.5 mg/L IBA for root induction, plantlet were transferred to water field after successful acclimatization.

Key word: *Alternanthera sessilis*, Aquatic plant, micro propagation, plant growth regulator