تأثير تراكيز مختلفة من منظمي النمو 2,4-D وNAA في استحثاث كالس أنسجة نباتية مختلفة لبادرات الليمون

سدرة القدور [1] وأحمد شمس الدين شعبان *[1] وعبد الكريم بركات [2]

(1). قسم تقانات الهندسة الحيوية، كلية الهندسة التقنية، جامعة حلب، سورية.

(2). قسم البساتين، كلية الهندسة الزراعية في جامعة حلب، سورية.

(*للمراسلة: د. أحمد شمس الدين شعبان، البريد الإلكتروني: shaabany57@gmail.com).

تاريخ الاستلام: 2024/03/4 تاريخ القبول:2024/04/21

الملخص

نُفّذ البحث في مخبر فيزيولوجيا النبات في كلية العلوم ومخابر كلية الهندسة التقنية في جامعة حلب خلال المدة من 1/4/2023 إلى 20/10/2023 بهدف تحديد الوسط الأفضل لاستحثاث الكالس بطريقة التجارب العاملية؛ حيث زُرعت الأجزاء النباتية (ورقة، وسلامية، وسويقة الجنينية) في وسط MS باستخدام تركيز ثابت من BAP مع تراكيز مختلفة من منظمي النمو 2,4-D وNAA (1، 2، 3، 4، 8، 12 ملغ/ل)، نفذت التجربة وفق التصميم العشوائي الكامل بثلاث مكررات لكل معاملة، أظهرت النتائج أنّ نسبة استحثاث الكالس عند منظم النمو 2,4-D كانت الأعلى (100%) باستخدام التراكيز المنخفضة (1، و2، و3 ملغ/ل) عند الأجزاء النباتية الثلاثة أخذين بعين الاعتبار معدل نمو الكالس، كما كانت نسبة استحثاث الكالس عند منظم النمو NAA الأعلى (100%) باستخدام التراكيز المتوسطة (4 ملغ/ل) عند السويقة الجنينية والتركيز الأعلى (12 ملغ/ل) عند كافة الأجزاء النباتية. لُوحظ أفضل توليفة عند استخدام السويقة الجنينية بمنظم النمو NAA وبتركيز 8 ملغ/ل، تلته التوليفة المؤلفة من السلامية ومنظم النمو 2,4-D وبتركيز 8 ملغ/ل بمتوسط وزن الكالس (0.583، 0.503 غ) لكل منهما على التوالي، أي أنّ التركيز 8 ملغ/ل هو الأفضل عند كلا منظمي النمو.

الكلمات المفتاحية: 2,4-D – NAA – الورقة – السويقة الجنينية– السلامية– الكالس.

المقدمة

تُعرّف الكالس على أنها كتلة غير منظمة من الخلايا التكاثرية من خلية نباتية، أو نسيج، أو عضو معزول. يتم تشكّلها عن طريق زراعة أجزاء نباتية على وسط مغذي اصطناعي يحوي على كافة المواد الضرورية للنمو، ومنظمات نمو في قوارير زجاجية أو أطباق بترية تحت ظروف معقمة خاضعة للرقابة (Sharma *et al.*, 2015).

تعد زراعة الكالس أهم خطوة لبدء عمليات الزراعة المخبرية وتتطلب الإمداد الأمثل بالمغذيات لنموها، ومع ذلك فإن معدل النمو البطيء والتنوع البيوكيميائي العالي يعيقان استخدامه في زراعة الأنسجة النباتية؛ لذلك يعد تحسين الأوساط المغذية مؤشراً أساسياً لتقييم تأثير مكونات الأوساط المختلفة في معدل نمو الأنسجة، وغالباً ما تُستخدم مؤشرات كالنمو والوزن الطازج والوزن الجاف لتحديد نمو مزارع الكالس، إذ يعتمد نموها إلى حد كبير على مكونات الوسط الغذائي؛ من حيث تركيز العناصر الغذائية ونسبها وكذلك الظروف المستخدمة في زراعته، ويتحدد نمو الكالس بقياس الوزن الطري والوزن الجاف (Bhatia *et al.*, 2015).

أكّد Virk وآخرون (2010) عند زراعته ورقة نبات *Citrus jambhiri Lush* بأن التركيزين 1 و2 ملغ/ل من منظم النمو نفتالين حمض الخل NAA قد أعطيا أقل نسبة لتشكّل الكالس مقارنةً بمنظم النمو 2,4-D. كما ذكر Azim وآخرون (2011) بأنّ زراعة

السلامية في وسط MS المضاف إليه 2,4-D بتركيز 2 ملغ/ل حثّ تشكّل الكالس بنسبة 68% وذلك عند دراسته لتأثير التراكيز الهرمونية المختلفة في تكوين النبتة وتحريض الكالس على نبات *Citrus sinensis*.

يعتبر اليوسفي *Citrus reticulata*، والمعروف بالبرتقال الحلو "Sweet Orange"، واحداً من أصعب النباتات التي يمكن تحسينها من خلال أساليب التربية التقليدية؛ لأنها تفرض قيوداً حيوية مختلفة تعيق بشكل كبير تحسين الصنف. لذا فقد استخدم Khan وآخرون (2019) البذور الطازجة للبرتقال الأصلي (*Citrus reticulata*)، وطوّر طريقة فعالة وقابلة للتكاثر والتجديد من خلال تكوين الأعضاء في المختبر، حيث قام بزراعة البذور الناضجة في وسط MS يحتوي على 3% سكروز، و0.7% آجار مكمل بتراكيز مختلفة ومجموعات من الهرمونات النباتية، وقد حصل على أعلى نسبة لبدء تشكل الكالس 93.3% عند الزراعة على وسط MS مكمل بـ 2,4-D عند التركيز 3 ملغ/ل. كما أظهر Kawtar وآخرون (2019) أنّ منظم النمو 2,4-D أفضل من NAA؛ حيث أعطى أعلى نسب لتشكيل الكالس عند الورقة في دراسته على نبات اليوسفي (*Citrus reticulata*).

قام Jaffal (2022) بدراسة تأثير استخدام الأجزاء النباتية المختلفة كالأوراق والسيقان على تحريض الكالس وتأثير منظمات النمو المختلفة PGRs في استجابة نمو الكالس، وأظهرت نتائجه أن عملية تكون الكالس كانت أسرع عندما تم تحضين جميع الأجزاء النباتية في الظلام، كما كان التركيز 3 ملغ/ل من 2,4-D و1 ملغ/ل من BAP هما التركيزان الفعّالان لتحريض الكالس من الأوراق، وكان التركيز 2 ملغ/ل من 2,4-D و 1 ملغ/ل من BAP هما الأكثر فعالية في تحفيز الكالّوس من الساق. أشار Sidhu (2023) خلال دراسته لنبات (*Citrus jambhiri Lush.*) أنّ زراعة السويقة الجنينية على وسط يحوي منظم النمو NAA بتركيز 10 ملغ/ل قد أعطى أعلى معدل نمو للكالس.

أهمية البحث وأهدافه

زراعة الأنسجة النباتية أداة مهمة في كل من الدراسات الأساسية والتطبيقية، وكذلك في التطبيقات التجارية، وتعد زراعة الكالس أحد أهم مراحل زراعة الأنسجة النباتية الأساسية وخاصة في دراسات استنباط نباتات متحملة للاجهادات الاحيائية واللااحيائية؛ بالإضافة لصعوبة الحصول على عدد كاف من غراس الليمون بالطرق التقليدية؛ بسبب الظروف والعوامل الخارجية المختلفة لذا فقد اتجه هدف البحث نحو استحثاث تشكّل الكالس من أجزاء نباتية مختلفة ناتجة أساساً من زراعة بذور نبات الليمون؛ باستخدام تراكيز مختلفة من منظمي النمو 2,4-D وNAA وتحديد أفضل توليفة لاستحثاثه.

طرائق البحث

المادة النباتية

أجريت هذه الدراسة على بذور الليمون التي جمعت من السوق المحلية لمدينة حلب، خلال الفترة 1–4 نيسان 2023، حيث أخذت بذورها وزرعت للحصول على بادرات نباتية، أخذت منها الأجزاء النباتية (أوراق، وسلاميات، وسويقات الجنينية) لزراعتها والحصول على الكالس.

العمل المخبري

التعقيم السطحي

غسلت البذور بماء الصنبور للتخلص من الملوثات العالقة بها، ثم أزيلت القشرة الخارجية منها ووضعت في دورق يحوي كحول 70% لمدة ثلاث دقائق، عوملت بمادة هيبوكلوريت الصوديوم التجاري تركيز 5.25% باستخدام التركيز 60% بوجود مادة Tween20 لمدة ربع ساعة فقط ثمّ طُهّرت داخل غرفة العزل وغُسلت البذور باستخدام الماء المقطر المعقم ثلاث مرات لمدة خمس

دقائق.

تحضير وسط زراعة البذور

حُضّر وسط الزراعة MS (Murashige and Skoog, 1962) الذي يحوي جميع العناصر الغذائية الأساسية الضرورية لنمو النبات مثل العناصر الكبرى والصغرى بالنسب والتراكيز الموضحة في (الجدول 1) والسكروز (15 غ) والآجار (4 غ) مع ضبط لقيمة pH=5.8 باستخدام محاليل حامضية مثل HCl وقلوية مثل NaOH بتركيز 1N، ومن ثم عُقّم الوسط داخل الأوتوغلاف على درجة حرارة 120 مئوية لمدة 20 دقيقة وتم سكبه لاحقاً وتوزيعه في أنابيب وتركه ليتصلب حتى اليوم التالي.

الجدول (1): مكونات الوسط المغذي من العناصر الكبرى والصغرى MS (Murashige and Skoog, 1962).

الوسط MS					
اسم المحلول	مكوناته	المحلول الأم (g/l)	المأخوذ من المحلول الأم (ml/l)	التركيز النهائي (mg/l)	pH
نترات الأمونيوم	NH_4NO_3	165	10	1650	4.65
نترات البوتاسيوم	KNO_3	190	10	1900	5.4
فوسفات البوتاسيوم الأحادي	KH_2PO_4	17	10	170	4.2
كلوريد الكالسيوم ثنائي الهيدرات	$CaCl_2.2H_2O$	44	10	440	5.6
كبريتات المغنزيوم المائية	$MgSO_4.7H_2O$	37	10	370	4.45
كبريتات الحديد المائية	Na_2EDTA $FeSO_4.7H_2O$	3.73 2.78	10	37.3 27.8	2.3
محلول العناصر الصغرى	H_3BO_3	620 mg/l	10	6.2	4.4
	KI	83 mg/l		0.83	
	$Na_2MoO_4H_2O$	25 mg/l		0.25	
	$COCl_2.6H_2O$	2.5 mg/l		0.025	
	$MnSO_4.4H_2O$	2230 mg/l		22.3	
	$ZnSO_4.7H_2O$	860 mg/l		8.6	
	$CuSO_4.5H_2O$	2.5 mg/l		0.025	

زراعة البذور

زرعت البذور المعقمة خلال الشهر الخامس على الوسط المغذي الذي تم تحضيره مسبقاً، وذلك بغرفة العزل لتأمين شروط التعقيم المثالية مع تغطية الأنابيب بالقطن والسلوفان للحفاظ على التعقيم، ثم حضنت الأنابيب في حاضنة عند درجة الحرارة 20–30° س والرطوبة 60–70% وإضاءة 1000 لوكس.

الحصول على الأجزاء النباتية

بعد نمو البذور بحوالي شهرين إلى ثلاثة أشهر وتشكّل البداءات النباتية، عزلت الأجزاء النباتية داخل غرفة العزل وهذه الأجزاء النباتية هي: الورقة، والسويقة الجنينية، والسلامية.

تحضير الوسط المغذي لزراعة الأجزاء النباتية

تم تحضير وسط مغذي خاص بتشكّل الكالس مشابه لوسط زراعة البذور مع إضافة تراكيز (1، و2، و3، و4، و8، و12 ملغ/ل) من منظمات النمو النباتية: 2,4-Dinitrophenolate (2,4-D) و Naphthalene Acetic Acid (NAA) بوجود منظم نمو نباتي Benzyl Amino Purine (BAP) بتركيز ثابت 1 ملغ/ل.

زراعة الأجزاء النباتية

زرعت هذه الأجزاء النباتية على الأوساط المغذية المحضرة بواقع 3 مكررات لكل معاملة، والتحضين في الظلام لمدة شهرين من أجل تشكّل الكالس على درجة حرارة 25-24 سْ، حيث وضع عدة أجزاء نباتية داخل كل طبق بتري وكل جزء نباتي بعدد 5-2 قطعة نباتية مع تكرار لهذه الوحدات التجريبية ثلاث مرات على الأقل.

وزن الكالس المتشكل

بعد حوالي شهر ونصف أي (45 يوماً) توقف الكالس عن النمو، لذا تم وزن الكالس المتشكّل في كل الأطباق وكل الأجزاء النباتية باستخدام ميزان دقيق حساس (أربع أرقام بعد الفاصلة) ومن ثم حساب متوسط وزن الكالس الكلي ومتوسط وزن الكالس اليومي، مع تحديد لون الكالس وطبيعته ونسبة تشكله.

تصميم التجربة والتحليل الإحصائي

تم تنفيذ تجربة عاملية وفق التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design CRD. بلغ عدد المعاملات (3 أجزاء نباتية × 2 نوعي منظم نمو × 6 تراكيز لمنظم النمو = 36 معاملة)، حيث تم تكرار كل معاملة 5 مرات على الأقل. أجريَ تحليل التباين ANOVA ومقارنة المتوسطات بين تراكيز كل منظم نمو على حدة وضمن كل جزء نباتي بمفرده أولاً باستخدام اختبار Duncan للمقارنات المتعددة عند مستوى 1%، كما تم لاحقاً أجراء التحليل العاملي المشترك لكل العوامل معاً وذلك باستخدام برنامج SPSS v.25.

النتائج والمناقشة

نسبة تشكل الكالس

تم حساب نسب تشكل الكالس العاملة في كامل العينات دون إجراء تحليل إحصائي لها، إذ لوحظ بعد تشكّل الكالس لدى استخدام أجزاء من نبات الليمون في جميع الأوساط والتراكيز المستخدمة تباين في نسبة تشكّله عند منظمي النمو 2,4-D وNAA؛ فقد تشكّل الكالس بنسبة بلغت (100.0%) عند معظم التراكيز باستثناء التراكيز 1 و4 و12 ملغ/ل التي تراجعت نسبتها إلى 83.3 و96.0% و96.0% على التوالي، وهي بالأساس نسب تشكّل مرتفعة، أما عند استخدام منظم النمو NAA فقد بلغت نسبة تشكل الكالس 100% عند التركيزين 4 و12 ملغ/ل بينما حدث تناقص في النسب عند باقي التراكيز فبلغت (83%) عند التركيزين 2 و8 ملغ/ل و(88.8%)، وعند التركيزين 1 و3 ملغ/ل الجدول (2).

ولدى استخدام السويقة الجنينية لُوحظ أنّ نسبة تشكّل الكالس (100.0%) عند التراكيز المنخفضة من منظم النمو 2,4-D (1 و2 و3 ملغ/ل) بينما تناقصت النسب عند التراكيز الأعلى إذ بلغت 79.0% و94.0% و74.0% عند التراكيز (4 و8 و12 ملغ/ل) على التوالي، أما عند استخدام منظم النمو NAA فقد بلغت نسبة تشكل الكالس 100% في معظم التراكيز باستثناء التركيزين 1 و8 ملغ/ل فبلغت 83.0% و84.0% لكل منهما على التوالي (الجدول 2).

لوحظ عند استخدام الورقة أنّ نسبة تشكّل الكالس بلغ (100%) عند التراكيز 1 و2 و8 ملغ/ل، بينما بلغت 66.6% عند التركيز 3 ملغ/ل و82.0% عند التركيزين 4 و12 ملغ/ل، أما باستخدام منظم النمو NAA فلوحظ بأنّ تركيزين فقط من هذه التراكيز بلغت نسبة تشكّل الكالس فيها 100% وهما (4 و12 ملغ/ل) بينما لوحظ تناقص في نسبة تشكّل الكالس عند باقي التراكيز، إذ بلغت 76.0% و83.3% و80.0% و75.0% عند التراكيز 1 و2 و3 و8 ملغ/ل على التوالي، أي أنّ منظم النمو 2,4-D عند الورقة أفضل من منظم النمو NAA ولاسيما عند التركيزين 1 و2 ملغ/ل كما في (الجدول 2) وهذا يتوافق مع (Virk, 2010) الذي استخدم (الليمون *Citrus limon*) وأكّد بأن التركيزين 1 و2 ملغ/ل من NAA قد أعطيا نسب تشكّل للكالس أقل مقارنةً بمنظم

النمو 2,4-D، كما تبيّن أنّه عند الوصول للتركيز 4 ملغ/ل ارتفعت نسبة تشكّل الكالس كما هو الحال في نتائج هذا البحث، كما يتوافق مع (Kawtar, 2019) الذي أجرى على نبات اليوسفي (*Citrus reticulata*) إذ أظهر أنّ منظم النمو 2,4-D أفضل من NAA حيث أعطى نسب أعلى لتشكيل الكالس عند الورقة.

الجدول (2): نسبة تشكل الكالس لدى الليمون وفق الأجزاء النباتية ونوع منظم النمو وتراكيزه.

منظم النمو النباتي	تركيز منظم النمو (ملغ/ل)	سلامية	سويقة جنينية	ورقة
2,4-D	1	83.3%	100.0%	100.0%
	2	100.0%	100.0%	100.0%
	3	100.0%	100.0%	66.6%
	4	96.0%	79.0%	82.0%
	8	100.0%	94.0%	100.0%
	12	96.0%	74.0%	82.0%
NAA	1	88.0%	83.0%	76.0%
	2	83.3%	100.0%	83.3%
	3	88.0%	100.0%	80.0%
	4	100.0%	100.0%	100.0%
	8	83.0%	84.0%	75.0%
	12	100.0%	100.0%	100.0%

معايير تشكل الكالس باستخدام منظم النمو 2,4-D

تم حساب بدء تشكل الكالّوس بالأيام، وقد تباينت مدة تشكله بين الأجزاء النباتية المستخدمة؛ إذ بدأ تشكله قبل أسبوع عند بعضها، وتجاوز الأسبوع في أجزاء أخرى، في حين تموّت بعضها مع ظهور لون بني على الجزء النباتي نتيجة الأكسدة، ولوحظ بالاعتماد على معايير تشكّل الكالس عند استخدام منظم النمو 2,4-D بتراكيز مختلفة وتطبيقه على السلامية عدم وجود فروق معنوية لصفة زمن بداية تشكّل الكالس عند كل التراكيز المستخدمة، إذ استغرقت أطول فترة لبداية تشكّل الكالس (10 أيام) عند كل من التركيزين 2 و4 ملغ/ل مقارنةً بأقصر فترة لبداية تشكّل الكالس (6.7 يوم) التي لوحظت عند التركيز 8 ملغ/ل للبدء بظهور بداءات الكالس، وحسب الأزمنة المسجّلة يُلاحظ بأنّ التركيز 8 ملغ/ل هو الأفضل نسبياً لأنه استغرق أقصر فترة لبداية تشكّل الكالس (الجدول 3). ظهرت فروق معنوية عند حساب طول فترة تشكّل الكالس إذ لوحظ فروق معنوية بين التركيز 8 ملغ/ل الذي استغرق مدة (45.3 يوماً) وهي الفترة الأطول التي استغرقتها العينات والتركيز 2 ملغ/ل الذي استغرق مدة (36.2 يوماً) أي قصرت فترة تشكل الكالس بحدود أسبوع، بينما لم تكن الفروق معنوية عند باقي التراكيز، إذ استغرقت مدة 39 و39.8 و42 و41 يوماً عند باقي من التراكيز 1 و3 و4 و12 ملغ/ل على التوالي (الجدول3).

عند قياس وزن الكالس المتشكّل يومياً لدى السلامية؛ لُوحظ وجود فروق معنوية وذلك بتفوّق التركيز 8 ملغ/ل (0.0111 غ) على كافة التراكيز المستخدمة، إذ بلغت 0.0019 و0.0025 و0.0026 و0.0029 و0.0045 غ لكل من التراكيز 1 و2 و3 و4 و12 ملغ/ل على التوالي، أي أنّ التركيز 8 ملغ/ل هو الأفضل، وهذا ما لوحظ أيضاً عند قياس وزن الكالس المتشكّل النهائي بوجود فروق معنوية وذلك بتفوّق التركيز 8 ملغ/ل (0.5033 غ) على باقي التراكيز المستخدمة، إذ بلغت 0.0733 و0.0917 و0.1017 و0.12 و0.1917 غ لكل من التراكيز 1 و2 و3 و4 و12 ملغ/ل على التوالي، ويُلاحظ عند مقارنة التركيز 1 ملغ/ل مع التركيز 2 ملغ/ل أنّ معدل النمو عند التركيز الأعلى (2 ملغ/ل) كان ذا معدل نمو أعلى مقارنةً بالتركيز (1 ملغ/ل)، أي بزيادة تركيز منظم النمو ضمن مدى معيّن ترافق مع زيادة الكالس المتشكل، وهذا يتوافق مع (Azim, 2011) الذي أجرى بحثاً على نبات (*Citrus sinensis*) وتوصل إلى أنّ معدل النمو للكالس عند السلامية باستخدام التركيز (2 ملغ/ل) كان أعلى مقارنةً بالتركيز (1 ملغ/ل)،

مع ملاحظة حدوث تناقص للوزن عند التركيز الأعلى من 2,4-D الذي بلغ 12 ملغ/ل (الجدول 3).

الجدول (3): معايير تشكل الكالس لدى الليمون عند استخدام تراكيز منظم النمو 2,4-D على السلامية.

تركيز منظم النمو (ملغ/ل)	الزمن حتى بداية تشكل الكالس (يوم)	طول فترة تشكل الكالس (يوم)	متوسط وزن الكالس المتشكل يوميا (غ)	وزن الكالس المتشكل (غ)
1	8.3 ± 2.887 a	39 ± 3.606 ab	0.0019 ± 0.0001 b	0.0733 ± 0.0058 b
2	10 ± 0 a	36.2 ± 2.021 b	0.0025 ± 0.0003 b	0.0917 ± 0.0104 b
3	7.5 ± 2.5 a	39.8 ± 1.258 ab	0.0026 ± 0.0002 b	0.1017 ± 0.0029 b
4	10 ± 0 a	42 ± 0 ab	0.0029 ± 0.0002 b	0.12 ± 0.01 b
8	6.7 ± 2.887 a	45.3 ± 2.887 a	0.0111 ± 0.002 a	0.5033 ± 0.1102 a
12	7.5 ± 2.5 a	41 ± 6 ab	0.0045 ± 0.0011 b	0.1917 ± 0.0715 b

المتوسطات المشتركة بحرف واحد على الأقل ضمن نفس العمود ليس بينها فروقات معنوية وفق اختبار دانكن عند مستوى 1%.

عند استخدام منظم النمو 2,4-D بتراكيز مختلفة وتطبيقه على السويقة الجنينية؛ أظهرت نتائج مشابهة لنتائج السلامية، إذ لم يُلاحظ وجود فروق معنوية في زمن بداية تشكّل الكالس عند كل التراكيز المستخدمة، إذ بلغ أطول فترة لبداية تشكّل الكالس (9.2 يوم) عند التركيز 1 ملغ/ل مقارنةً بالتركيز 4 ملغ/ل، والذي حقق أقصر فترة لبداية تشكل الكالس (4.8 يوم) للبدء بظهور بداءات الكالس، وحسب الأزمنة المسجّلة يُلاحظ بأنّ التركيز 4 ملغ/ل هو الأفضل نسبياً لأنه استغرق أقصر فترة لبداية تشكّل الكالس (الجدول 4).

كما لم يُلاحظ ظهور فروق معنوية لصفة طول فترة تشكّل الكالس التي تراوحت من 38 إلى 44 يوماً عند التراكيز المستخدمة كافة، فقد استغرق طول فترة تشكّل الكالس 38.2 و41.3 و41.7 و42.5 و44.2 و43.8 يوماً عند التراكيز 1 و2 و3 و4 و8 و12 ملغ/ل على التوالي، ولوحظ أطول فترة لتشكّل الكالس (44.2 يوماً) عند التركيز 8 ملغ/ل وأقصر فترة لتشكّل الكالس عند التركيز 1 ملغ/ل الذي استغرق (38.2 يوم) (الجدول 4).

الجدول (4): معايير تشكل الكالس لدى الليمون عند استخدام تراكيز منظم النمو 2,4-D على السويقة الجنينية.

تركيز منظم النمو (ملغ/ل)	الزمن حتى بداية تشكل الكالس (يوم)	طول فترة تشكل الكالس (يوم)	متوسط وزن الكالس المتشكل يوميا (غ)	وزن الكالس المتشكل (غ)
1	9.2 ± 1.443 a	38.2 ± 3.547 a	0.0022 ± 0.0004 b	0.0833 ± 0.0208 b
2	8.3 ± 2.887 a	41.3 ± 1.155 a	0.0031 ± 0.0002 b	0.1267 ± 0.0115 b
3	8 ± 1.803 a	41.7 ± 0.577 a	0.0038 ± 0.0003 b	0.1567 ± 0.0126 b
4	4.8 ± 2.363 a	42.5 ± 1.803 a	0.0043 ± 0.0003 b	0.1833 ± 0.0115 b
8	6.7 ± 2.887 a	44.2 ± 2.566 a	0.0099 ± 0.0037 a	0.45 ± 0.1908 a
12	5.8 ± 1.443 a	43.8 ± 3.547 a	0.0051 ± 0.0005 b	0.22 ± 0.0173 b

المتوسطات المشتركة بحرف واحد على الأقل ضمن نفس العمود ليس بينها فروقات معنوية وفق اختبار دانكن عند مستوى 1%.

عند قياس وزن الكالس المتشكّل يومياً لدى السويقة الجنينية لُوحظ فروق معنوية وذلك بتفوّق التركيز 8 ملغ/ل (0.0099 غ) على كافة التراكيز المستخدمة، والتي بلغ متوسط وزن الكالس المتشكل يومياً فيها إذ بلغت 0.0022 و0.0031 و0.0038 و0.0043 و0.0051 غ لكل من التراكيز 1 و2 و3 و4 و12 ملغ/ل على التوالي، أي أنّ التركيز 8 ملغ/ل هو الأفضل، بينما لم يُلاحظ فروق معنوية عند باقي التراكيز، وهذا ما لوحظ أيضاً عند قياس وزن الكالس المتشكّل النهائي بوجود فروق معنوية، وذلك بتفوّق التركيز 8 ملغ/ل (0.45 غ) على باقي التراكيز المستخدمة والتي بلغ متوسط وزن الكالس المتشكّل فيها 0.0833 و0.1267 و0.1567 و0.1833 و0.22 غ لكل من التراكيز 1 و2 و3 و4 و12 ملغ/ل على التوالي. بينما لم يُلاحظ فروق معنوية بين باقي التراكيز، وحسب النتائج والأوزان المسجّلة تبيّن أنّه عند زيادة التركيز المستخدم من منظم النمو 2,4-D يزداد وزن الكالس المتشكّل حتى التركيز 8 ملغ/ل، ثم يحدث تناقص للوزن عند التركيز الأعلى من 2,4-D الذي بلغ 12 ملغ/ل (الجدول 4). كما لوحظ

بالاعتماد على معايير تشكّل الكالس عند استخدام منظم النمو 2,4-D بتراكيز مختلفة وتطبيقه على الورقة؛ وجود فروق معنوية في زمن بداية تشكّل الكالس وذلك بين التراكيز 1 و2 و3 و4 ملغ/ل من جهة مع التركيز 8 ملغ/ل من جهة أخرى الذي استغرق فيه الزمن حوالي 10 يوم وهو أقصر فترة لبداية تشكل الكالس مع ملاحظة عدم وجود فروق معنوية بين باقي التراكيز، بينما لم يُلاحظ وجود فروق معنوية في عند حساب طول فترة تشكّل الكالس الذي أظهر تطابق في طول فترة تشكّل الكالس 35 يوم عند التركيزين 2 و3 ملغ/ل، و37.3 يوم عند التركيزين 8 و12 ملغ/ل و36.5 يوم عند التركيز 1 ملغ/ل، و36.2 يوم عند التركيز 4 ملغ/ل (الجدول 5).

الجدول (5): معايير تشكل الكالس لدى الليمون عند استخدام تراكيز منظم النمو 2,4-D على الورقة.

تركيز منظم النمو (ملغ/ل)	الزمن حتى بداية تشكل الكالس (يوم)	طول فترة تشكل الكالس (يوم)	متوسط وزن الكالس المتشكل يوميا (غ)	وزن الكالس المتشكل (غ)
1	15.5 ± 1.5 a	36.5 ± 1.5 a	0.0034 ± 0.0006 d	0.1217 ± 0.0189 d
2	17 ± 0 a	35 ± 0 a	0.005 ± 0.0006 cd	0.1767 ± 0.0208 d
3	17 ± 0 a	35 ± 0 a	0.0071 ± 0.0005 bc	0.2483 ± 0.0189 c
4	15.8 ± 2.021 a	36.2 ± 2.021 a	0.0084 ± 0.0008 b	0.3033 ± 0.0115 bc
8	10 ± 0 b	37.3 ± 4.041 a	0.0124 ± 0.0015 a	0.46 ± 0.03 a
12	12.3 ± 4.041 ab	37.3 ± 4.041 a	0.0091 ± 0.0016 b	0.3367 ± 0.0306 b

المتوسطات المشتركة بحرف واحد على الأقل ضمن نفس العمود ليس بينها فروقات معنوية وفق اختبار دانكن عند مستوى 1%.

وعند قياس وزن الكالس اليومي المتشكّل عند الورقة لُوحظ فروق معنوية وذلك بتفوّق التركيز 8 ملغ/ل (0.0124 غ) على كافة التراكيز المستخدمة إذ بلغ متوسط وزن الكالس المتشكّل يومياً 0.0034 و0.005 و0.0071 و0.0084 و 0.0091 غ عند التراكيز 1 و2 و3 و4 و12 ملغ/ل على التوالي، كما لوحظ تفوّق التركيز 4 و12 ملغ/ل على التركيزين 1 و2 ملغ/ل وتفوّقت المعاملة بالتركيز 3 ملغ/ل على المعاملة بالتركيز 1 ملغ/ل والتي تفوّقت عليها معظم المعاملات باستثناء المعاملة بالتركيز 2 ملغ/ل، وهذا ما لوحظ أيضاً عند قياس وزن الكالس المتشكّل النهائي بوجود فروق معنوية وذلك بتفوّق التركيز 8 ملغ/ل (0.46 غ) على باقي التراكيز المستخدمة إذ بلغت 0.1217 و0.1767 و0.2483 و0.3033 و0.3367 غ لكل من التراكيز 1 و2 و3 و4 و12 ملغ/ل على التوالي، كما لوحظ وجود فروق معنوية لصالح المعاملة بالتركيز 12 ملغ/ل مقارنةً بالتراكيز 1 و2 و3 ملغ/ل وكذلك بين التركيزين 3 و4 ملغ/ل من جهة وكل من التركيزين 1 و2 ملغ/ل من جهة أخرى ولم يُلاحظ وجود فروق معنوية بين التركيزين 1 و2 ملغ/ل أو بين التركيزين 3 و4 ملغ/ل أو بين التركيزين 4 و12 ملغ/ل (الجدول 5).

معايير تشكل الكالس باستخدام منظم النمو NAA

تم حساب بدء تشكل الكالّوس بالأيام، وقد تباينت مدة تشكله بين الأجزاء النباتية المستخدمة؛ إذ بدأ تشكله قبل أسبوع عند بعضها، وتجاوز الأسبوع في أجزاء أخرى، في حين تموّت بعضها مع ظهور لون بني على الجزء النباتي نتيجة الأكسدة، ولُوحظ لدى استخدام منظم النمو NAA بتراكيز مختلفة وتطبيقه على السلامية في الليمون وجود فروق معنوية في زمن بداية تشكّل الكالس وذلك بين التركيز 1 ملغ/ل الذي استغرق أطول فترة لبداية تشكل الكالس (20.7 يوم) وباقي التراكيز، إذ استغرقوا زمناً أقل لبداية تشكّل الكالس 7.3 و5.7 و7 و6.5 و6.5 عند كلّ من التراكيز 2 و3 و4 و8 و12 ملغ/ل على التوالي، ولوحظ تطابق في زمن بداية تشكّل الكالس عند التركيزين 8 و12 ملغ/ل، كما لوحظ أنّ أقصر زمن لبداية تشكّل الكالس عند التركيز 3 ملغ/ل بينما لم يُلاحظ فروق معنوية بين باقي التراكيز، أما عند تسجيل نتائج طول فترة تشكّل الكالس فلم يُلاحظ وجود فروق معنوية إذ تراوح طول فترة تشكّل الكالس من 28 إلى 43 يوم، مع ملاحظة أنّ أطول فترة لتشكّل الكالس (43 يوم) عند التركيز 3 ملغ/ل وأقصر فترة لتشكّل الكالس (28 يوم) عند التركيز 1 ملغ/ل (الجدول 6).

عند قياس وزن الكالس المتشكّل يومياً عند السلامية لُوحظ فروق معنوية وذلك بتفوّق التركيز 8 ملغ/ل (0.0074 غ) على كافة التراكيز المستخدمة، بالإضافة لتفوّق التركيز 4 ملغ/ل (0.005 غ) والتركيز 12 ملغ/ل (0.0056 غ) على التراكيز المتبقية كما تفوّق التركيز 3 ملغ/ل (0.0035 غ) على التركيز 1 ملغ/ل (0.0013 غ) مع ملاحظة عدم وجود فروق معنوية بين باقي التراكيز، وهذا ما لوحظ أيضاً عند قياس وزن الكالس المتشكّل النهائي بوجود فروق معنوية وذلك بتفوّق التركيز 8 ملغ/ل (0.28 غ) على معظم التراكيز المستخدمة باستثناء التركيز 12 ملغ/ل (0.225 غ)، الذي تفوّق بدوره على التراكيز 1 و2 و3 ملغ/ل. كما ظهر تفوّق لكل من التركيزين 3 ملغ/ل (0.15 غ) و4 ملغ/ل (0.1833 غ) على كل من التركيزين 1 ملغ/ل (0.0367 غ) و2 ملغ/ل (0.08 غ) مع ملاحظة عدم وجود فروق معنوية بين باقي التراكيز (الجدول 6).

الجدول (6): معايير تشكل الكالس لدى الليمون عند استخدام تراكيز منظم النمو NAA على السلامية.

تركيز منظم النمو (ملغ/ل)	الزمن حتى بداية تشكل الكالس (يوم)	طول فترة تشكل الكالس (يوم)	متوسط وزن الكالس المتشكل يوميا (غ)	وزن الكالس المتشكل (غ)
1	20.7 ± 8.083 a	28 ± 12.124 a	0.0013 ± 0.0004 d	0.0367 ± 0.0208 d
2	7.3 ± 2.887 b	36.7 ± 2.887 a	0.0022 ± 0.0005 cd	0.08 ± 0.0265 d
3	5.7 ± 2.887 b	43 ± 3.606 a	0.0035 ± 0.0002 c	0.15 ± 0.01 c
4	7 ± 5.196 b	37 ± 5.196 a	0.005 ± 0.0007 b	0.1833 ± 0.0231 bc
8	6.5 ± 2.5 b	37.5 ± 2.5 a	0.0074 ± 0.0005 a	0.28 ± 0.0361 a
12	6.5 ± 2.5 b	41 ± 6 a	0.0056 ± 0.0008 b	0.225 ± 0.0087 ab

المتوسطات المشتركة بحرف واحد على الأقل ضمن نفس العمود ليس بينها فروقات معنوية وفق اختبار دانكن عند مستوى 1%.

لدى استخدام منظم النمو NAA بتراكيز مختلفة وتطبيقه على السويقة الجنينية لليمون لم يُلاحظ وجود فروق معنوية لصفة زمن بداية تشكّل الكالس بين كافة التراكيز المستخدمة، إذ بلغ أطول فترة لبداية تشكّل الكالس (9.7 يوم) عند التركيز 3 ملغ/ل مقارنةً بالتركيز 12 ملغ/ل الذي حقق أقصر فترة لبداية تشكل الكالس (3.5 يوم)، وحسب الأزمنة المسجّلة يُلاحظ بأنّ التركيز 12 ملغ/ل هو الأفضل نسبياً لأنه استغرق أقصر فترة لبداية تشكّل الكالس، أما عند استخدام التركيز 8 ملغ/ل فلوحظ أنّ الكالس احتاج ليبدأ بالتشكّل حوالي 5 يوم مقارنةً بنتائج (Mansouri *et al.*, 2016) الذي أُجريَ على نبات (*Citrus jambhiri Lush.*) إذ استغرق زمن بداية تشكّل الكالس للسويقة عند التركيز 10 ملغ/ل حوالي 10 أيام، كما لم يُلاحظ فروق معنوية في طول فترة تشكّل الكالس عند كافة التراكيز المستخدمة التي تراوحت من 36 إلى 44 يوم، فقد استغرق طول فترة تشكّل الكالس 36.7 و41.5 و37.8 و40.2 و43.3 و42.8 يوم عند التراكيز 1 و2 و3 و4 و8 و12 ملغ/ل على التوالي، لذا فإنّ أطول فترة لتشكّل الكالس (43.3 يوم) عند التركيز 8 ملغ/ل وأقصر فترة لتشكّل الكالس عند التركيز 1 ملغ/ل الذي استغرق (36.7 يوم) (الجدول 7).

تبيّن لدى قياس وزن الكالس المتشكّل يومياً عند السويقة الجنينية وجود فروق معنوية وذلك بتفوّق التركيز 8 ملغ/ل (0.0137 غ) على كل التراكيز المستخدمة، التي بلغ متوسط وزن الكالس اليومي المتشكّل فيها 0.0029 و0.0049 و0.0069 و0.0076 و0.0093 غ لكل من التراكيز 1 و2 و3 و4 و12 ملغ/ل على التوالي، مع ملاحظة تفوّق التراكيز 3 و4 و12 ملغ/ل على التركيز 1 ملغ/ل كما تفوّق التركيز 12 ملغ/ل على التركيز 2 ملغ/ل بينما لم يُلاحظ فروق معنوية بين باقي التراكيز، وهذا ما لوحظ أيضاً عند قياس وزن الكالس المتشكّل النهائي بوجود فروق معنوية وذلك بتفوّق التركيز 8 ملغ/ل (0.5833 غ) على كافة التراكيز المستخدمة، والتي بلغ متوسط وزن الكالس المتشكّل النهائي فيها 0.1067 و0.1983 و0.255 و0.305 و0.3883 لكل من التراكيز 1 و2 و3 و4 و12 ملغ/ل على التوالي وهذا يتوافق مع (Sidhu, 2023) الذي أشارت نتائج بحثه على نبات (*Citrus jambhiri Lush.*) أنّ التركيز 10 ملغ/ل من منظم النمو NAA أعطى معدل نمو عالي للكالس (الجدول 7).

الجدول (7): معايير تشكل الكالس لدى الليمون عند استخدام تراكيز منظم النمو NAA على السويقة الجنينية.

تركيز منظم النمو (ملغ/ل)	الزمن حتى بداية تشكل الكالس (يوم)	طول فترة تشكل الكالس (يوم)	متوسط وزن الكالس المتشكل يوميا (غ)	وزن الكالس المتشكل (غ)
1	7.3 ± 2.887 a	36.7 ± 2.887 a	0.0029 ± 0.0008 d	0.1067 ± 0.0379 d
2	4.8 ± 1.443 a	41.5 ± 4.924 a	0.0049 ± 0.0009 cd	0.1983 ± 0.0247 cd
3	9.7 ± 6.028 a	37.8 ± 4.907 a	0.0069 ± 0.001 bc	0.255 ± 0.0087 c
4	6.2 ± 2.566 a	40.2 ± 1.756 a	0.0076 ± 0.0007 bc	0.305 ± 0.0229 bc
8	5.3 ± 3.215 a	43.3 ± 7.234 a	0.0137 ± 0.0025 a	0.5833 ± 0.085 a
12	3.5 ± 2.598 a	42.8 ± 5.795 a	0.0093 ± 0.002 b	0.3883 ± 0.0275 b

المتوسطات المشتركة بحرف واحد على الأقل ضمن نفس العمود ليس بينها فروقات معنوية وفق اختبار دانكن عند مستوى 1%.

لدى استخدام منظم النمو NAA بتراكيزه مختلفة وتطبيقه على الورقة في الليمون لم يُلاحظ وجود فروق معنوية في زمن بداية تشكّل الكالس عند كل التراكيز المستخدمة، إذ استغرق زمناً حوالي 20.7 و11.3 و16 و18.3 و20.7 و9 يوم عند التراكيز 1 و2 و3 و4 و8 و12 ملغ/ل على التوالي، أي أنّ أطول فترة لبداية تشكّل الكالس (20.7 يوم) عند التركيزين 1 و8 ملغ/ل وأقصر فترة لبداية تشكّل الكالس عند التركيز 12 ملغ/ل وهو الأفضل نسبياً، كما لُوحظ عدم وجود فروق معنوية في طول فترة تشكّل الكالس عند كل التراكيز المستخدمة التي تراوحت من 30 إلى 35 يوم، مع ملاحظة أنّ أطول فترة لتشكّل الكالس (35 يوم) عند التركيز 12 ملغ/ل وأقصر فترة لتشكّل الكالس (23.3 يوم) عند التركيز 8 ملغ/ل (الجدول 8).

الجدول (8): معايير تشكل الكالس لدى الليمون عند استخدام تراكيز منظم النمو NAA على الورقة.

تركيز منظم النمو (ملغ/ل)	الزمن حتى بداية تشكل الكالس (يوم)	طول فترة تشكل الكالس (يوم)	متوسط وزن الكالس المتشكل يوميا (غ)	وزن الكالس المتشكل (غ)
1	20.7 ± 8.083 a	30.3 ± 8.083 a	0.0016 ± 0.0002 b	0.05 ± 0.0173 d
2	11.3 ± 4.041 a	35 ± 7 a	0.0019 ± 0.0002 b	0.0667 ± 0.0058 cd
3	16 ± 0 a	30.3 ± 4.041 a	0.0029 ± 0.0004 b	0.0867 ± 0.0153 cd
4	18.3 ± 10.693 a	26.4 ± 10.98 a	0.0054 ± 0.002 b	0.118 ± 0.0231 bc
8	20.7 ± 8.083 a	23.3 ± 8.083 a	0.0181 ± 0.0086 a	0.3767 ± 0.0416 a
12	9 ± 0 a	35 ± 0 a	0.0048 ± 0.0003 b	0.1667 ± 0.0115 b

المتوسطات المشتركة بحرف واحد على الأقل ضمن نفس العمود ليس بينها فروقات معنوية وفق اختبار دانكن عند مستوى 1%.

عند قياس وزن الكالس المتشكّل يومياً عند الورقة لوحظ وجود فروق معنوية وذلك بتفوّق التركيز 8 ملغ/ل (0.0181 غ) على كافة التراكيز المستخدمة، إذ بلغ متوسط وزن الكالس المتشكّل يومياً 0.0016 و0.0019 و0.0029 و0.0054 و0.0048 غ عند التراكيز 1 و2 و3 و4 و12 ملغ/ل على التوالي، مع ملاحظة زيادة وزن الكالس المشكّل يومياً مع زيادة التركيز المستخدم وصولاً للتركيز 8 ملغ/ل، بسبب حدوث نقصان في الوزن اليومي المتشكل عند التركيز الأعلى من منظم النمو NAA، وهذا ما لوحظ أيضاً عند قياس وزن الكالس المتشكّل النهائي بوجود فروق معنوية وذلك بتفوّق التركيز 8 ملغ/ل (0.3767 غ) على كافة التراكيز المستخدمة بالإضافة لتفوّق التركيز 12 ملغ/ل (0.1667 غ) على التراكيز 1 ملغ/ل (0.05 غ) و2 ملغ/ل (0.0667 غ) و3 ملغ/ل (0.0867 غ) كما تفوّق التركيز 4 ملغ/ل (0.118 غ) على التركيز 1 ملغ/ل، مع ملاحظة عدم وجود فروق معنوية عند باقي التراكيز، وحسب النتائج والأوزان المسجّلة تبيّن أنّه عند زيادة التركيز المستخدم من منظم النمو NAA يزداد وزن الكالس المتشكّل حتى التركيز 8 ملغ/ل ثم حدوث تناقص للوزن عند التركيز الأعلى من NAA الذي بلغ 12 ملغ/ل (الجدول 8).

4-4 االتحليل العاملي (لأثر المشترك) لمتوسط وزن الكالس المتشكل على الليمون (العوامل المدروسة: A: الجزء النباتي × B: نوع منظم النمو × C: تراكيز منظم النمو)

عند اختبار تشكل الكالس على الليمون تم الاعتماد على ثلاث عوامل أساسية التي تتشارك في تأثيرها على الكالس المتشكّل، وهذه

العوامل الثلاثة هي الجزء النباتي (السلامية—السويقة الجنينية–الورقة) ونوع منظم النمو النباتي (2,4-D و NAA)، بالإضافة لتراكيز منظمي النمو (1 و2 و3 و4 و8 و12 ملغ/ل)، وحسب القيم الموضحة في (الجدول 9) والذي يُظهر تحليل التباين ANOVA يتجلى بوضوح وجود فروق ذات دلالة إحصائية لمتوسط وزن الكالس بالنسبة للجزء النباتي وتراكيز منظم النمو النباتي وذلك لأنّ قيمة مستوى المعنوية أقل من 5% (Sig. <0.05) مقارنةً بنوع منظم النمو النباتي الذي أظهر عدم وجود فروق (Sig.>0.05)،

الجدول (9): جدول تحليل التباين ANOVA لمتوسطات وزن الكالس لدى الليمون بتأثير العوامل المستقلة (A: الجزء النباتي × B: نوع منظم النمو × C: تراكيز منظم النمو).

نوع الجزء النباتي (A)		السلامية		السويقة الجنينية		الورقة	
منظم النمو (B)	التراكيز (C)	Mean	Std. Deviation	Mean	Std. Deviation	Mean	Std. Deviation
2,4-D	1.00	0.0733	0.00577	0.0833	0.02082	0.1217	0.01893
	2.00	0.0917	0.01041	0.1267	0.01155	0.1767	0.02082
	3.00	0.1017	0.00289	0.1567	0.01258	0.2483	0.01893
	4.00	0.1200	0.01000	0.1833	0.01155	0.3033	0.01155
	8.00	0.5033	0.11015	0.4500	0.19079	0.4600	0.03000
	12.00	0.1917	0.07147	0.2200	0.01732	0.3367	0.03055
NAA	1.00	0.0367	0.02082	0.1067	0.03786	0.0500	0.01732
	2.00	0.0800	0.02646	0.1983	0.02466	0.0667	0.00577
	3.00	0.1500	0.01000	0.2550	0.00866	0.0867	0.01528
	4.00	0.1833	0.02309	0.3050	0.02291	0.1180	0.02313
	8.00	0.2800	0.03606	0.5833	0.08505	0.3767	0.04163
	12.00	0.2250	0.00866	0.3883	0.02754	0.1667	0.01155

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
A	.130	2	.065	31.299	<0.000 ***
B	.007	1	.007	3.414	<0.069ns
C	1.488	5	.298	143.000	<0.000***
A * B	.245	2	.122	58.833	<0.000***
A* C	.018	10	.002	.858	0.576ns
B * C	.013	5	.003	1.287	0.279ns
A * B * C	.108	10	.011	5.171	<0.000***
Error	.150	72	.002		
Total	6.978	108			

كما يلاحظ من (الجدول 9) وجود فروق ذات دلالة إحصائية لمتوسط وزن الكالس بالنسبة للتأثير المشترك بين الجزء النباتي ونوع منظم النمو وبالنسبة للتأثير المشترك للعوامل الثلاثة، لكن لوحظ عكس ذلك في التأثير المشترك للعامل الأول والثالث والعامل الثاني مع الثالث (الجدول 9).

ولدى دراسة تأثير العوامل كافة على متوسط وزن الكالس المتشكّل عند نبات الليمون لُوحظ أفضل توليفة عند استخدام السويقة الجنينية بمنظم النمو NAA وبتركيز 8 ملغ/ل إذ بلغ متوسط وزن الكالس (0.583 غ)، تلته التوليفة المؤلفة من السلامية ومنظم النمو 2,4-D وبتركيز 8 ملغ/ل إذ بلغ متوسط وزن الكالس (0.503 غ)، تلته التوليفة المؤلفة من الورقة ومنظم النمو 2,4-D وبتركيز 8 ملغ/ل إذ بلغ متوسط وزن الكالس (0.460 غ)، ثم التوليفة المؤلفة من السويقة الجنينية ومنظم النمو 2,4-D وبتركيز 8 ملغ/ل إذ بلغ متوسط وزن الكالس (0.450 غ). من ناحية أخرى لوحظ أدنى متوسط لوزن الكالس في التوليفة المؤلفة من السلامية ومنظم النمو NAA وبتركيز 1 ملغ/ل إذ بلغ متوسط وزن الكالس (0.0367 غ) (الجدول 9).

الجزء النباتي

لدى دراسة تأثير نوع الجزء النباتي على متوسط وزن الكالس المتشكّل عند نبات الليمون لُوحظ بأنّ السويقة الجنينية تفوّقت معنوياً على بقية الأجزاء النباتية (الورقة والسلامية)، إذ بلغ المتوسط عند السويقة الجنينية 0.255 غ مقارنة بالورقة والسلامية اللذان بلغ متوسط الوزن للكالس فيهما 0.209 و0.166 غ على التوالي، مع ملاحظة تفوّق الورقة على السلامية أيضاً (الجدول 10).

الجدول (10): متوسط وزن الكالس المتشكل لدى الليمون بتأثير العامل المستقل الرئيس (A: الجزء النباتي).

نوع الجزء النباتي	Mean	Std. Error	99% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
السلامية	.166 c	.008	.150	.190
السويقة الجنينية	.255 a	.008	.235	.275
الورقة	.209 b	.008	.189	.229

المتوسطات المشتركة بحرف واحد على الأقل ضمن نفس العمود ليس بينها فروقات معنوية وفق اختبار دانكن عند مستوى 1%.

منظم النمو

لدى دراسة تأثير نوع منظم النمو النباتي على متوسط وزن الكالس المتشكّل عند نبات الليمون لُوحظ بأنّ منظم النمو النباتي 2,4-D أفضل معنوياً من منظم النمو NAA، إذ بلغ متوسط وزن الكالس المتشكّل عند منظم النمو 2,4-D (0.219 غ) مقارنةً بمنظم النمو NAA الذي حقق متوسط وزن للكالس (0.203 غ) (الجدول 11).

الجدول (11): متوسط وزن الكالس المتشكل لدى الليمون بتأثير العامل المستقل الرئيس (B: نوع منظم النمو).

المستخدم النمو منظم	Mean	Std. Error	99% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
2,4-D	.219 a	.006	.203	.236
NAA	.203 b	.006	.187	.220

تراكيز منظم النمو:

يبين الجدول (12) التباين المعنوي لتأثير تراكيز منظم النمو النباتي على متوسط وزن الكالس المتشكّل عند نبات الليمون؛ فقد تفوّق التركيز 8 ملغ/ل بدلالة معنوية على جميع التراكيز المستخدمة (0.442)غ. تلاه التركيز 12 ملغ/ل بتفوق معنوي على باقي التراكيز (0.255)غ، أعقبه التركيزان (4 و 3) ملغ/ل اللذان تفوقا بدورهما معنوياً على بقية التراكيز دون وجود فرق معنوي بينهما (0.202، 0.166)غ على التوالي، وقد انخفض متوسط وزن الكالس كلما انخفض تركيز منظم النمو فبلغ التركيز 1 ملغ/ل أقل متوسط لوزن الكالس (0.079)غ. (الجدول 12).

الجدول (12): متوسط وزن الكالس المتشكل لدى الليمون بتأثير العامل المستقل الرئيس (C: تراكيز منظم النمو).

99% Confidence Interval		Std. Error	Mean	تركيز منظم النمو
Upper Bound	Lower Bound			
.107	.050	.011	.079 e	1.00
.152	.095	.011	.123 d	2.00
.195	.138	.011	.166 c	3.00
.231	.174	.011	.202 c	4.00
.471	.414	.011	.442 a	8.00
.283	.226	.011	.255 b	12.00

المتوسطات المشتركة بحرف واحد على الأقل ضمن نفس العمود ليس بينها فروقات معنوية وفق اختبار دانكن عند مستوى 1%.

الاستنتاجات

- تفوق استخدام السويقة الجنينية على استخدام الأوراق والسلاميات في تشكّل الكالس في نبات الليمون.
- منظم النمو النباتي 2,4-D هو الأفضل في تشكيل الكالس عند الليمون مقارنةً بمنظم النمو NAA.
- أعطى التركيز 8 ملغ/ل أعلى أوزان للكالس عند كلا المنظمين مقارنةً بباقي التراكيز.
- أعطت توليفة استخدام السويقة الجنينية مع منظم النمو NAA وبتركيز 8 ملغ/ل، أفضل نتيجة في نسبة تشكل الكالس وفي معايير تشكله. تلته توليفة السلامية ومنظم النمو 2,4-D وبتركيز 8 ملغ/ل.

التوصيات

- تجديد الكالس المتشكّل لإعطاء نبات كامل. واستخدام أجزاء النباتية أخرى من أجل الحصول على الكالس.
- مقارنة تراكيز مختلفة من منظمات النمو 2,4-D وNAA ولا سيما التراكيز 9 و10 و11 ملغ/ل.
- اختبار منظمات نمو أخرى لاستحثاث الكالس في نباتي البرتقال والليمون وغيرها من النباتات كنباتات الزينة.

المراجع

Azim, M., Prodhan, S., Rahman, M., Sikdar, S., 2011. Development of Efficient Callus Initiation of Malta (Citrus sinensis) Through Tissue Culture. International Journal of Agricultural Research Innovation and Technology 1(1&2):64-68

Bhatia, S. (2015). Plant Tissue Culture. Elsevier.

Jaffal S, Tamimi S. 2022. Effect of Explant Type and Different Plant Growth Regulators on Callus Induction and Growth in Citrus Sinensis (L.) Osbeck. Journal of Horticulture, Biology and Environment Vol.13, No.1 pp. 19-30.

Kawtar L, Najat H, Brhadda N, Najib G. 2019. In Vitro Plantlet Regeneration Aptitude of Six Mandarins Varieties from Cultured Leaf Segment (Citrus Reticulata). Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology 20(21&22): 937-950.

Khan, F., Hoque, H., Islam, Q., Prodhan, S., 2019. An Efficient Regeneration System for Native Orange (*Citrus reticulata*) through *In-Vitro* Culture Technique. Scientific Research Publishing .Agricultural Sciences. 975-984.

Kumar, A., Modi, A., Rai, A., Singh, M., (2022). Advances In Plant Tissue Culture. Elsevier.

Mansouri, A., Fadavi, A., Mohammad, S., Mortazavian, M. (2016). An artificial intelligence approach for modeling volume and fresh weight of callus – A case study of cumin (*Cuminum cyminum L.*). Journal of Theoretical Biology 397: 199–205.

Sharma, G., (2015). General Techniques of Plant Tissue Culture. Research gate.

SIDHU, G., MALHOTRA, P., RATTANPAL, H. (2023). Optimization of explants, media, plant growth regulators and carbohydrates on callus induction and plant regeneration in Citrus

jambhiri Lush. Journal of Horticultural Sciences. Vol. 18 (1): 162-172.

Virk G, Nagpal A, Singh S. 2010. Effect of explant type and different plant growth regulators on callus induction and plantlet regeneration in Citrus jambhiri Lush. J. Sci. Tech. 5 (2010) 97-106.

The Effect of Different Concentrations of 2,4-D and NAA on Callus Induction on Different Plant Explants of limon

Sedra Al-Kaddour[(1)], Ahmad Shams Al-Dien Shaaban[(1)*] , and Abd Al-Kareem Barakat[(2)]

(1). Dept of Biotechnology, Faculty of Technical Engineering, University of Aleppo, Syria

(2). Dept of Horticulture, Faculty of Agricultural Engineering, University of Aleppo, Syria.

(*Corresponding author: Ahmad Shams Al-Dien Shaaban E-Mail: shaabany57@gmail.com).

Received:4/03/2024 Accepted:21/04/2024

Abstract

Factorial experiments were conducted out aimed to determine the optimal medium for callus induction and was conducted between 1/4/2023 and 20/10/2023 at the Plant Tissue Culture Laboratory of the Faculty of Agricultural Engineering and the laboratories of the Faculty of Technical Engineering at Aleppo University. Different plant parts (leaf, internode, Hypocotyl) were planted in MS medium using a constant concentration of BAP. The media was treated with different concentrations of plant growth regulators 2,4-D and NAA (1, 2, 3, 4, 8, 12 mg/L). The experiment conducted using a completely randomized design with 3 replicates, The results showed that the rate of callus generation at the growth 2,4-D was the highest (100%) using low concentrations (1, 2, 3 mg/L) at the three plant parts, taking consideration account the growth rate of callus, and calluses generation at the growth regulator NAA was higher (100%) using medium concentrations (4 mg/L) at the embryonic peduncle and the highest concentration (12 mg/L) at all plant parts. The best combination was at Hypocotyl and 8 mg/l of NAA, followed by internode and 8 mg/L of 2.4-D, the average weight of callus was (0.583, 0.503 g), respectively. i.e. 8 mg/l is best at both regulators.

Keywords: 2,4-D, NAA, Leaf, Hypocotyle, Internode, Callus