تأثير بعض هرمونات النمو النباتية في تشكل البراعم وتحريض تشكل الكالس مخبرياً عند نبات الجرجير المائي *Nasturtium Officinale* R.Br

دانيال العوض[1] وميساء يازجي[1] وريم ابراهيم*[1]

(1). قسم علم الحياة النباتية، كلية العلوم، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.
(*للمراسلة: ريم ابراهيم، البريد الالكتروني: ribraheem66@yahoo.com).

تاريخ الاستلام: 2018/04/02 تاريخ القبول: 2018/06/19

الملخص

نفذ هذا البحث في مخبر البحث العلمي في قسم علم الحياة النباتية بكلية العلوم في جامعة تشرين، وذلك خلال الفترة الممتدة بين عامي 2016 و2017، بهدف دراسة تأثير بعض هرمونات النمو النباتية في تشكل البراعم، وتحريض تشكل الكالوس (الثفنة) عند نبات الجرجير المائي. تمت تنمية بادرات الجرجير المائي مخبرياً على الوسط المغذي MS، ومن ثم زراعة العقد الساقية بطول يتراوح بين 0.5–1 سم على الوسط المغذي MS المضاف إليه (0.1، 0.5، 1، 2، 4) مغ /ل من السيتوكينين BAP(Benzyl Amino Purine). كما زرعت قطع من الأوراق، ومعاليق الأوراق، والعقد الساقية لتلك البادرات على الوسط MS المضاف إليه (0.1، 0.5، 1) مغ/ل من السيتوكينين BAP بالاشتراك مع (1،2) مغ/ل من الأوكسين 2,4–D (2,4–dichlorophenoxy acetic acid) بهدف الحصول على الكالس. حضنت الزراعات في حاضنة النمو في الدرجة 2±25م° بإضاءة 16 ساعة بالتناوب مع 8 ساعات ظلام وبشدة ضوئية تراوحت بين 2500–3000 لوكس. بينت التجارب أن أفضل الأوساط لمكاثرة البراعم هو الوسط المغذي MS المضاف إليه 0.1 مغ/ل أو 0.5 مغ/ل من السيتوكينين BAP حيث تراوح متوسط عدد البراعم بين 14و15 برعماً، ولوحظ تشكل الجذور على بعض كتل البراعم الناتجة. كان الوسط المغذي MS المضاف إليه 1 مغ/ ل من الأوكسين2,4–D بالاشتراك مع 0.5 مغ/ل من السيتوكينين BAP أفضل وسط لتشكل الكالس، وكانت العقد النباتية أفضل الأجزاء النباتية المستخدمة، حيث بلغت نسبة تشكل الكالس التي نتجت من زراعة العقد النباتية على ذلك الوسط 83.75%، تليها النسبة 75% من زراعة معلاق الورقة، و66.75% من زراعة القطع الورقية.

الكلمات المفتاحية: الجرجير، زراعة الأنسجة، الأوكسين، السيتوكينين، الكالس.

المقدمة:

ينتمي الجرجير إلى الفصيلة الصليبية *Cruciferae* (*Brassicaceae*) التي تضم مجموعة واسعة من الخضار البرية والمزروعة (Uphof, 1959; Facciola, 1990)، يمتلك الجرجير فوائداً غذائية كبيرة حيث تجنى الأوراق والأفرع الغضة من نبات الجرجير لتقدم

مطبوخة أو نيئة (Kloot, 1984; Warwick, 2011)، ويمكن استخدام البادرات الصغيرة أيضاً عند بزوغها في السلطات وهذه الأجزاء جميعها تحتوي على كميات كبيرة من العناصر المعدنية خاصة الحديد، والفيتامينات الهامة، والألياف، وكميات قليلة من الكربوهيدرات (Abbet, 2014).

يتميز نبات الجرجير بطعمه الخردلي اللاذع الناتج عن احتوائه الغلوكوزيدات Sinigrin التي يحولها أنزيم الميروزين myrosin إلى مركبات كبريتية عند إضافة الماء البارد، ويخف هذا الطعم بالماء الفاتر أو الخل أو بإضافة الملح حيث يثبط ذلك عمل هذا الأنزيم. يمتلك الجرجير أهمية طبية كبيرة إلى جانب أهميته الغذائية، حيث يستخدم لمعالجة الأكزيما، والثآليل، والبثور، وفقر الدم، واضطراب الكبد، والكلية، وهو مضاد لنزيف اللثة لاحتوائه الريبوفلافين (Riboflavin) (Kloot, 1984; Brown, 1995).

تتعرض النباتات الطبية للجني العشوائي وتتأثر بالجائحات البيئية، والتبدلات الجغرافية، وهذا ما يؤثر على محصولها الاقتصادي، وبالتالي كان لابد من إيجاد وسائل بديلة للزراعات التقليدية التي تستخدم لتنمية وتوفير المحاصيل للأنواع المزروعة، أو وسائل بديلة لتنمية وحفظ النباتات البرية، لذلك اتجهت العديد من الأبحاث لاستخدام تقانة زراعة الأنسجة النباتية.

(JayaSree *et al.*, 2001; Kalidass *et al.*, 2010; El–Nour *et al.*, 2013; Kumlay and Ercisli, 2015; Elaleem *et al.*, 2014).

يتم استخدام تقانة زراعة الأنسجة النباتية (Plant tissue culture) للتغلب على الكثير من الصعوبات التي تعترض تنمية وإكثار النباتات (Anish *et al.*, 2008; Ivanova and Van Staden, 2011; Bejoy *et al.*, 2012) وخاصةً النباتات ذات الأهمية الطبية والاقتصادية، حيث أصبح التنوع الوراثي للعديد منها مهدداً نتيجة جمعها باستمرار للاستفادة من منتجاتها طبياً وصيدلانياً دون التنبه لخطر اختفائها (Barthakur and Bordoloi, 1992; Malabadi *et al.*, 2011a; Wang *et al.*, 2011). اهتم العلماء بتقانة زراعة الأنسجة لعدد من الأنواع النباتية الطبية لتأمين مركبات طبية وصيدلانية طبيعية بسرعة وبنوعية وكمية جيدة على مدار العام دون التأثر بفصول السنة (Bejoy *et al.*, 2010; Malabadi *et al.*, 2011b). تحتل الهرمونات النباتية المستخدمة في إكثار البراعم وعمليات تشكل الكالس الأهمية الأكبر من بين العوامل المؤثرة، كونها تحرض على تشكل وتركيب المواد الفعالة في النبات، حيث تتشكل في البراعم الجديدة والثفنات (calluses) كمية جيدة من المركبات التي ينتجها النبات في الطبيعة بكميات قليلة جداً، ولهذا دور مهم في إمكانية عزل وتحديد المادة الفعالة في مستخلصاتها (Kim *et al.*, 2016; Khafagi, 2007). تعد أوروبا الموطن الأصلي لنبات الجرجير، وينتشر بشكل واسع في تركيا، والدول المشتركة بين أوروبا وآسيا، وفي شمال أفريقيا، ويزرع كنبات مدخل في العديد من دول العالم (Davis, 1965)، كما ينتشر بكثرة في الوطن العربي في بلاد الشام، والعراق، والسعودية، ويوجد في سورية ولبنان ثلاثة أنواع؛ أشهرها *Nasturtium Officinale* R.Br (غالب، 1999؛ الكويفي، 1995)، ويعد هذا النوع أكثر الأنواع انتشاراً في الساحل السوري، ويوجد في المناطق الداخلية (حمص، وحماه، وضفاف بردى) وفي المناطق الجنوبية من سورية أيضاً، ويزهر بين آذار ونيسان، ويمكن جمع ثماره بين منتصف أيار حتى أواخر حزيران (Mouttarde, 1946; Cartier, 1971).

ينتمي نبات الجرجير إلى الفصيلة الصليبية *Cruciferae* (*Brassicaceae*) وجنس الجرجير *Nasturtium* وتتميز نباتات هذا الجنس بأنها أعشاب معمرة ملساء، أو ذات شعيرات ناعمة متباعدة على الساق، والأوراق ريشية، والأزهار صغيرة ذات بتلات بيضاء اللون تتجمع في نورات عنقودية عديمة القنابات (Davis, 1965). ينتمي إلى هذا الجنس أنواع عديدة أهمها: النوع *N.*

Macrocarpum Boiss، والنوع *N. Officinale* R.Br وهو نوع بري يتميز بأهميته الطبية والغذائية (Muttarde, 1946) ولهذا النوع مرادفات أخرى هي: *Nasturtium aquaticum L.* و *Rorippa Nasturtium aquaticum L.* (AL–Shehbaz and Price, 1998; AL–Shehbaz, bilstein and Kellogg, 2006). تتميز نباتات النوع *N .Officinale* (الشكل 1) بأنها عشبية، تمتلك خاصية الساق الريزومية بتشكيل جذور في العقد الورقية، ويتراوح طول ساقها بين 80 إلى 90 سم، والأوراق ريشية تتألف من 3–17 زوجاً من الوريقات جميعها مسننة بشكل غير منتظم، والوريقة الطرفية إهليلجية، والنورة عنقودية، والبتلات بيضاء اللون، والثمرة خردله ملساء عديدة البذور وتتوضع هذه الأخيرة في صفين، صف في كل مسكن، وهي بيضاوية الشكل طولها حوالي 1 مم، تحوي تزيينات شبكية على سطحها (حوالي 25 حجرة مضلعة على كل وجه) (الشكل 2)، والعدد الصبغي 2n= 32، ومدة الإزهار ونضج الثمار من نيسان حتى تموز (Davis, 1965; Ali and Jafari 1977).

الشكل 1. الشكل العام لنبات الجرجير *N. Officinale* R.Br

الشكل 2. الثمار (القرون) والبذور لنبات الجرجير *N. Officinale* R.Br

تأتي أهمية هذا البحث من كون النبات يمتلك أهمية طبية إلى جانب أهميته الغذائية، وكذلك من إمكانية توفير المادة النباتية مخبرياً في أي وقت من العام وذلك بإكثار العقد النباتية. بالإضافة إلى الحصول على الكالس كمصدر بديل لإنتاج مركبات الاستقلاب الثانوي الفعالة حيوياً.

يهدف البحث إلى:

1. إكثار نبات الجرجير *N. officinale* R.Br وذلك بزراعة العقد الساقية المأخوذة من بادرات مزروعة مخبرياً، ودراسة تأثير بعض الهرمونات النباتية (BAP, 2,4–D) في إكثار البراعم.
2. تنمية البراعم المكاثرة في الزجاج وأقلمة النباتات الناتجة من الإكثار.
3. زراعة العقد الساقية والقطع الورقية ومعاليق الأوراق للبادرات الفتية للحصول على الكالس.

مواد البحث وطرائقه:

أُجريت التجارب في مخبر البحث العلمي في قسم علم الحياة النباتية بكلية العلوم، في جامعة تشرين في اللاذقية.

تعقيم البذور وزراعتها:

جمعت البذور من النباتات البرية النامية من نبع مائي قرب مدينة جبلة بمحافظة اللاذقية، وتم تعقيم البذور سطحياً باستخدام الكحول 70% لمدة دقيقتين، ثم غسلت بالماء المقطر المعقم ونقلت إلى محلول هيبوكلوريت الصوديوم 10% لمدة 15 دقيقة، ثم تم غسلها بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات متتالية لإزالة آثار الهيبوكلوريت، وزرعت البذور في أطباق بتري مزودة بورق ترشيح، وسقيت فقط بماء الصنبور. وحُضّنت الأطباق في حاضنة النمو بدرجة حرارة 2±25 م° بإضاءة 16 ساعة بالتناوب مع 8 ساعات ظلام وبشدة ضوئية 2500– 3000 لوكس.

زراعة العقد الساقية وإكثار البراعم:

نُقلت البادرات الناتجة من إنبات البذور إلى الوسط المعدني المغذي MS (Murashige and Skoog, 1962) لتنميتها لمدة شهر بالشروط نفسها، ثم تم تقطيع البادرات للحصول على العقد الساقية بطول 0.5–1 سم، زرعت هذه العقد في أنابيب زجاجية أو أطباق بتري تحتوي على الوسط المغذي MS مع أو بدون BAP بتراكيز (0.1، 0.5، 1، 2، 4) مغ/ل بهدف الإكثار والحصول على براعم جديدة. بلغ عدد القطع المستخدمة في الإكثار 30 عقدة ساقية وذلك بزراعة 6 قطع في كل طبق وتحضير خمسة مكررات من كل تركيز، أو قطعتين في كل أنبوب وبتحضير 15 أنبوب لكل تركيز. أخذت البراعم المتشكلة على العقد بعد شهر من زراعتها ونقلت إلى وسط MS الأساسي لتنميتها لمدة شهر، ومن ثم نقلت إلى أصص أو أحواض بلاستيكية تحوي تورب مغذي وتمت تغطيتها بأكياس نايلون شفافة مثقبة لمدة أسبوع فقط وذلك لأقلمتها (تقسيتها) والحصول على نباتات الجرجير مخبرياً.

زراعة القطع النباتية للحصول على الكالس:

تم تقطيع بعض البادرات التي حصلنا عليها في الزجاج إلى عقد ساقية، وقطع ورقية، وقطع معاليق ورقية بطول 0.5 – 1 سم، ومن ثم زُرعت في أنابيب زجاجية أو أطباق بتري على الوسط المغذي MS المضاف إليه الأوكسين 2,4–D بالتراكيز (1،2) مغ/ل بالاشتراك مع السيتوكين BAP بالتراكيز (0.1، 0.5، 1) مغ/ل، حيث بلغ متوسط عدد القطع المزروعة 36 قطعة لكل تركيز وذلك بزراعة 4 قطع في كل طبق و9 أطباق لكل تركيز، أو قطعتين في كل أنبوب و18 أنبوب لكل تركيز. حُضّنت الزراعات في حاضنة النمو وفقا للشروط السابقة.

التحليل الإحصائي:

تمت الدراسة الإحصائية وحساب المتوسط والانحراف المعياري للقيم الناتجة ومن ثم تحليل التباين عند مستوى دلالة 0.01 باستخدام التحليل الإحصائي One Way Anova أو Tow way Anova وذلك باستخدام البرنامج الإحصائي IBM SPSS Statistics .20.

النتائج والمناقشة:

تم تحريض تشكل البراعم على الوسط المغذي المضاف إليه تراكيز مختلفة من السيتوكينين BAP وكان الوسط المغذي MS المضاف إليه 0.1 مغ/ل أو 0.5 مغ/ من السيتوكينين BAP أفضل الأوساط لإكثار البراعم حيث لم تسجل فروق معنوية بين متوسط عدد

البراعم المتشكلة من زراعة العقد النباتية على التراكيز الهرمونية السابقة، بينما كانت الفروق معنوية مع الشاهد وباقي التراكيز، كما لوحظ تشكل الجذور على كتلة البراعم الناتجة من إكثار العقد الساقية في التركيزين (0.5،1) مغ/ل BAP (الجدول1، والشكل 3، والشكل 4).

بينت دراسة أجريت على النوع *Brassica napus* من فصيلة النوع المدروس *N. officinale* R.Br أهمية استخدام السيتوكينين BAP بتراكيز تراوحت بين 0.5– 3 مغ/ل لوحده أو بالاشتراك مع تراكيز مختلفة من الأوكسينات لتحريض تشكل أكبر كتلة من البراعم الجديدة من زراعة العقد الساقية للنبات (Lone *et al.*, 2016). بينما أثبت Yin– Xin *et al.*, (2004) أنّ استخدام 4 مغ/ل من السيتوكينين BAP كان الأفضل لتحريض تشكل البراعم عند النوع المدروس *N. officinale* R.Br ويمكن تفسير ذلك باختلاف مصدر النوع المدروس واختلاف الظروف البيئية المحيطة به والتي قد تؤثر على المحتوى الهرموني الداخلي للنبات، وبالتالي تباين النتائج بين منطقة وأخرى في بعض الحالات.

كانت أوراق البراعم المتشكلة على الأوساط المغذية بمختلف تراكيز السيتوكينينات أكثر ثخانة وأكثر عدداً وأقل طولاً مقارنةً بالشاهد، وتناقص طول البراعم بزيادة تركيز الهرمون، كما زادت ثخانة الأوراق وحجمها (الشكل 3 والشكل 5). بدأت البراعم الجديدة بالظهور على الوسط المغذي في جميع التراكيز المستخدمة من الأسبوع الأول بعد زراعتها. كانت كتلة البراعم المتشكلة من إكثار العقد الساقية للبادرات حديثة النمو جيدة وكثيفة، وكان حجم وسماكة الأوراق المتشكلة على الأفرع جيدةً مقارنةً بالنباتات النامية على الشاهد؛ حيث لوحظ ازدياد طول البرعم في الشاهد، بينما زيادة عدد البراعم المتشكلة على العقدة بوجود الهرمونات. بينت دراسات عدة أن نجاح عملية المكاثرة في الزجاج لأنواع مختلفة من الفصيلة الصليبية اعتمد على عمر الجزء النباتي (Bhalla and Singh, 2008; Cogbill *et al.*, 2010)، وكذلك على استخدام الهرمونات ومنها BAP وNAA (Gerszberg *et al.*, 2015)، وكانت النتائج أفضل عندما أخذت القطع النباتية المستخدمة في المكاثرة من البادرات حديثة النمو (Ovesna *et al.*, 1993) كما تم في هذا البحث. تستخدم السيتوكينينات في وسط الإكثار لتنشيط إكثار ونمو البراعم الجانبية (Jain and Ochatt, 2010)، ويختلف تأثيرها من نوع نباتي لآخر، حيث تبين في البحث المدروس أن استخدام تراكيز منخفضة من السيتوكينين BAP حرّض وبشكل جيد تشكّل براعم جانبية جديدة على العقد الساقية المزروعة عند النوع *N. officinale* R.Br وتوافقت هذه النتائج مع دراسات عديدة، حيث حرّض كل من السيتوكينين BA وKinetin بتراكيز منخفضة تشكّل البراعم عند العديد من النباتات ومنها *Thymus hyemails* والـ *Ocimum kilimandscharicum* (Faisal *et al.*, 2006).

الجدول 1: متوسط عدد البراعم الناتجة من زراعة العقد الساقية على الوسط المغذي MS بوجود تراكيز مختلفة BAP.

تركيز هرمون BAP المضاف إلى الوسط المغذي MS	عدد البراعم المتشكلة	مظهر الأوراق المتشكلة	طول البراعم	تشكل الجذور وعددها
0	a2.66±0.82	أوراق رقيقة وعدد 2 لكل برعم	2- 3 سم	-
0.1	b15±0.71	أوراق ثخينة بلون أخضر غامق عدد 4 لكل برعم	2 سم	بعض الجذور 1-2
0.5	b14±0.71	أوراق ثخينة بلون أخضر غامق عدد 4 لكل برعم	1 سم	بعض الجذور من 4- 5
1	c11.33±0.82	أوراق ثخينة بلون أخضر غامق عدد 4 لكل برعم	0.5سم	بعض الجذور من 4- 5
2	d6.33±0.42	أوراق ثخينة بلون أخضر غامق عدد 4 لكل برعم	0.5سم	-
4	e4.66±0.82	أوراق ثخينة بلون أخضر غامق عدد 4 لكل برعم	0.3 سم	-

القيم التي تشترك بحرف أبجدي أو اكثر لا يوجد بينها فرق معنوي عند مستوى ثقة 0.01

يمكن تفسير نتائج البحث بالعودة إلى دور منظمات النمو في وسط الزراعة، حيث تعد العامل الأساسي الذي يعزز التشكل في زراعة الأنسجة، ويساعد على النمو، ويزيد من معدل تكاثر البراعم الإبطية (Hunter, 1979)، إذ تؤدي السيتوكينينات ومنها BAP, Kinetin دوراً مهماً في تكوين الفروع في عمليات الإكثار الدقيق وزيادة عدد التفرعات لأنها تساهم في تنشيط انقسام الخلايا الميرستيمية لتكون نموات جديدة على النبات، وهذا ما أشارا إليه Gray and Fischer, (1986).

الشكل 3. البراعم الناتجة من الزراعة على التركيزين 0.5 و 1 مغ/ل من BAP .

الشكل 4. تقطيع البراعم الناتجة من الزراعة على الوسط MS المضاف إليه 0.1 مغ من BAP.

الشكل 5. البراعم المتشكلة على الوسط المغذي بوجود الأوكسين مقارنة بعينة الشاهد الموجودة في وسط الشكل.

نمت البراعم الناتجة عن الإكثار على الوسط المغذي MS بدون هرمون بشكل جيد وأعطت بادرات بمجموع جذري جيد (الشكل 6)، وقد نجحت عملية أقلمة (تقسية) البادرات بنسبة 80% عند زراعتها على التورب المغذي في حوض زجاجي بدرجة حرارة المخبر، وبإضاءة 16 ساعة بالتناوب مع 8 ساعات ظلام (الشكل 7)، وقد توافقت هذه النتائج مع عدد من الباحثين الذين نجحوا في أقلمة نبات الكرمة (Baydar, 2000; Gök and Ergenoglu, 1996). تشير هذه التقانة إلى أنه يمكننا استخدام تقانة زراعة الأنسجة في الزجاج للحصول على نباتات الجرجير بوقت قصير، وحفظها لاستخدامها في أبحاث لاحقة دون الحاجة إلى انتظار عمليات الجمع الموسمي.

الشكل 6. البادرات بعد نموها على MS وتكون المجموع الجذري. **الشكل 7. نباتات الجرجير بعد الأقلمة.**

تبين النتائج الموضحة في الجدول (2) أن أفضل وسط لتشكل الكالس هو الوسط المغذي MS المضاف إليه 1 مغ/ مل من الأوكسين 2,4-D بالاشتراك مع 0.5 مغ/ل من السيتوكينين BAP، حيث بلغت نسبة تشكل الكالس الناتجة من زراعة العقد النباتية 83.75%، تليها النسبة 75% الناتجة من زراعة معلاق الورقة و66.75% الناتجة من زراعة القطع الورقية على الوسط ذاته. تشابهت هذه الدراسة مع دراسة أجريت على للنوع *Ocimum sanctum* حيث نجح تشكل الكالس على الوسط MS المضاف إليه 1 مغ من 2,4-D مع BAP بتراكيز تراوحت بين 0.1-0.5 مغ/ل (Jan *et al.*, 2016). كان الكالس المتشكل من العقد النباتية ومعلاق الورقة ذا بنية متماسكة، ولون أخضر فاتح للعقد، وأبيض (بيج) لكالس معلاق الورقة، بينما كان الكالس الناتج عن زراعة القطع الورقية ذا بنية مفككة ولون بني فاتح (الشكل 8)، وقد يرجع السبب في ذلك لبنية الجزء النباتي الأصل المستخدم في عملية الإكثار، حيث كانت العقد أكثر تماسكاً وصلابةً، وكذلك معلاق الأوراق، بينما الأوراق كانت رقيقة طرية.

قد يعود تحريض تشكّل الكالس إلى الدور الهام الذي يلعبه استخدام تراكيز مشتركة من الأوكسينات والسيتوكينينات في تحريض الخلايا على الانقسام، ويختلف تأثيرها من نوع لآخر في الفصيلة الصليبية وفقاً للتراكيز المستخدمة، ونوع الجزء النباتي المزروع، حيث بيّنت دراسة أجريت على النوع *Brassica oleraces* L. أن استخدام تراكيز متساوية من الأوكسين NAA مع السيتوكينين BAP كان الأفضل لتحريض تشكل الكالس عند هذا النوع وذلك بدءاً من زراعة المحور تحت الفلقات للبادرات المستخدمة (Ahmad and Spoor, 1999)، بينما أثبتت نتائج الدراسة أن استخدام تراكيز مرتفعة من الأوكسينات بالاشتراك مع تراكيز منخفضة من السيتوكينينات كان الأفضل لتحريض تشكل الكالس عند النوع المدروس *N. officinal* R.Br، وتشابهت نتائد الدراسة مع دراسة أجريت على ثلاثة أنواع من الفصيلة الصليبية، أثبتت أن استخدام الأوكسين 2,4-D بالاشتراك مع السيتوكينين BAP حرّض على تشكل الكالس عند جميع الأنواع المدروسة وبنسب اختلفت من نوع لآخر وفقاً للجزء النباتي المستخدم (Dubey and Gupta, 2014). بينما أشارت دراسة أجريت على ثلاثة أنواع تابعة للفصيلة نفسها للنبات المدروس أن الجزء النباتي الأفضل لتشكيل الكالس هو المحور تحت الفلقات عندما استخدم 0.5 مغ/ ل من 2,4-D، أو القطع الفلقية عند استخدام 1 مغ/ل من 2,4-D (AL-Naggar *et al.*, 2010). كما أشارت دراسة أخرى إلى أن استخدام نوعين من الاوكسينات Indol-3 acetic acid , Naphthalene acetic acid (NAA, IAA) بالاشتراك مع نوعين من السيتوكينينات (BAP – Kinetin) أعطى نتائج أفضل لتحريض تشكل الكالس عند أنماط من *Brassica Juneca* من الفصيلة الصليبية (Bano *et al.*, 2010).

بدأ تشكل قطع الكالس الناتجة من زراعة العقد الساقية أو معلاق الورقة على الوسط المغذي المضاف إليه 0.5 مغ/ل من السيتوكينين BAP منذ اليوم السابع للزراعة، بينما لم يبدأ كالس الورقة بالتشكل إلا بعد 14يوماً. وانخفضت نسبة تشكل الكالس على مختلف القطع النباتية المزروعة بزيادة تركيز السيتوكينين أو الأوكسين، وزادت المدة الزمنية اللازمة لبدء تشكله. تشابهت هذه النتائج مع دراسة أجريت على ستة أنماط مختلفة من الجنس *Brassica* وبينت أن النسب الأفضل لتشكل الكالس سُجّلت منذ اليوم السادس أو السابع من الزراعة على الوسط MS المضاف إليه تراكيز مختلفة من BAP بالاشتراك مع تراكيز مختلفة من الأوكسينات (Khan *et al.*, 2010). وقد أشار التحليل الإحصائي أن نسبة تشكل الكالس اختلفت وفقاً لنوع الجزء النباتي المستخدم، وتراكيز الهرمونات، مع وجود ارتباط بين هذه العاملين ودورهما معاً في تحريض تشكّل الكالّس عند النوع المدروس. تم حفظ الكالس الناتج من الزراعة في الحاضنة على الوسط المغذي MS لاستخدامه في أبحاث استخلاص لاحقة.

الجدول 2: تشكل كالس الجرجير على الوسط MS المضاف إليه تراكيز مختلفة من 2,4-D و BAP مقدرة بالـ مغ/ل.

منظمات النمو		الجزء النباتي	أيام تشكل الكالس	نسبة تشكل الكالس %	بنية الكالس متماسكة أو مفتتة	لون الكالوس
2,4-D	BAP					
1	0.1	عقدة	20 -7	51.25d	متماسكة	أخضر فاتح
1	0.1	ورقة	21 -14	33.50c	مفتتة	بني فاتح
1	0.1	معلاق الورقة	20 -7	42d	متماسكة	أبيض كريستالي
1	0.5	عقدة	20-7	83.75a	متماسكة	أخضر فاتح
1	0.5	ورقة	30-14	66.75b	مفتتة	بني فاتح
1	0.5	معلاق الورقة	30 -7	75b	متماسكة	أبيض كريستالي
1	1	عقدة	30-20	31c	متماسكة	أخضر فاتح
1	1	ورقة	45-30	28e	مفتتة	بني فاتح
1	1	معلاق الورقة	30-20	30.50c	متماسكة	أبيض كريستالي
2	1	عقدة	45 -30	27.25e	متماسكة	أخضر غامق
2	1	ورقة	45-30	20f	مفتتة	بني
2	1	معلاق الورقة		25.27e	متماسكة	بني فاتح

القيم التي تشترك بحرف أبجدي أو اكثر لا يوجد بينها فرق معنوي عند مستوى ثقة 0.01

الشكل 8. الكالس المتشكلة على العقد الساقية والقطع الورقية ومعلاق الورقة بالترتيب من اليمين إلى اليسار.

الاستنتاجات:

يمكن استخدام الوسط المغذي MS المزود بتراكيز مختلفة من السيتوكينين BAP في مكاثرة نبات الجرجير المائي اعتباراً من العقد النباتية، ومن ثم حفظ البادرات الناتجة من المكاثرة وأقلمتها وذلك بهدف الحفاظ على النباتات مخبرياً، ومن ثم زراعتها وتوفرها بأي وقت من العام لاستخدامها في أبحاث علمية، أو توفيرها كمادة غذائية أو طبية. كما يمكن الحصول على كالس الجرجير بزراعته على الوسط MS المزود بتراكيز مختلفة من BAP, 2,4–D.

المراجع:

طيوب، غالب (1999). دراسة التوزع البيئي والتنوع الوراثي لجنس الجرجير *Nasturtium* R.Br. جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.

الكويفي، عماد (1995). النباتات الطبية وفوائدها (الطبعة الثانية). دمشق، سورية. 152 صفحة.

AL-Shehbaz, I.A. and R.A. Price (1998). Delimitation of the Genus *Nasturtium (Brassicaceae).8*:124-126.

AL-Shehbaz, I.A.; M.A. Beilstein; and A. Kellogg (2006). Systematics and phylogeny of the *Brassicaceae (Cruciferae*): an overview. Plant Systematics and Evolution. 259: 89-120.

Abbet, C.P. (2014). Forgotten Edible alpine plants in the canton of Valais. Ph.D. Thesis. Departement Pharmazeutische Wissenschaften , Pharmazie ,Pharmazeutische Biologie (Hamburger), Faculty of Science, University of Basel. doi: 10.5451/unibas-006315262,urn: urn:nbn:ch:bel-bau-diss110345.

Ahmad, S.; and W. Spoor (1999). Effect of NAA and BAP on callus culture and plant regeneration in Curly kale (*Brassica oleraces* L.). Pak J Biol Sci., 2:109-112.

Ali, S.I.; and S.M.H. Jafri (1977)**.** Flora of Libya (*Brassicaceae*). 23: 140- 143.

Al-Naggar, A.; R. Shabana; M. Rady; S. Ghanem; M. Saker; A. Reda; M. Matter; S. Eid (2010). *In Vitro* callus iintiation and regeneration in some canola varieties. International Journal of Academic Research 2. 2(6).

Anish, N.; M. Dan; and M. Bejoy (2008). Conservation using in vitro progenies of the threatened ginger Boesenbergia pulcherrima (Wall.) Kuntze. Int. J. Bot., 4:93-98.

Bano, R.; M.H. Khan; R.S. Khan; H. Rashid; and Z.A Swati (2010). Development of an efficient regeneration protocol for three genotypes of *Brassica juncea*. Pak. J. Bot., 42: 963-969.

Barthakur, M.P.; and D Bordoloi (1992). Micropropagation of *Curcuma amada* (Roxb.). Journal of Spices and Aromatic Crops. 1:154-156.

Baydar, N.G. (2000). Study of adventitious shoot formation in leaves of grape (*vitis* spp.). Turkish Journal of Biology. 24: 645-656.

Bejoy, M.; M. Dan; N. Anish; G.A. George; and B. Radhika (2010). Induction of multiple shoots in *Amomum hypoleucum* Thwaites–A threatened wild relative of large cardamom. The Society for Advancement of Horticulture. 12: 46-49.

Bejoy, M.; M. Dan; N. Anish; A.R. Nair; B. Radhika; and K. Manesh (2012). Micropropagation of an Indian ginger (*Curcuma vamana* Sabu and Mangaly): a wild relative of turmeric. Biotechnology. 11: 333.

Bhalla, P.L.; and M.B. Singh (2008). Agrobacterium-mediated transformation of *Brassica napus* and *Brassica oleracea*. Nature protocols. Pp181.

Bown, D. (1995). The royal horticultural society encyclopedia of herbs and their uses. Dorling Kindersley Limited .no. 1412.

Cartier, N.R. (1971). Le Bossu désenchanté: étude sur le Jeu da la Feuillée. Librairie Droz books google.com. No.15.

Cogbill, S.; T. Faulcon; G. Jones; M. McDaniel; G. Harmon; R. Blackmon; and M. Young (2010). Adventitious shoot regeneration from cotyledonary explants of rapid-cycling fast plants of Brassica rapa L. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). 101:127-133.

Davis, P.H. (1965). Flora of Turkey and the east Aegean Island. Edinburgh University Prees.1:248 -430.

Dubey, S.K.; and A.K. Gupta (2014). Callus induction and shoot proliferation from seedling explants of different mustard genotypes. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci., 3:858-864.

El-Nour, M.M.; L. Mohammed; and B. Saeed (2013). *In vitro* callus induction of Fenugreek (*Trigonellafoenum graecum* L.) using different media with different auxins concentrations. Agric. Biol., JN Am., 4:243-251.

Elaleem, K.G.A.; M.M. Ahmed; B.E.A. Saeed (2014). Study of the *in vitro* callus induction Trigonella *foenum graecum* L. from cotyledons and hypocotyls explants supplemented with various plant hormones. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci., 3: 486-493.

Faisal, M.; I. Siddique, and M. Anis (2006). *In vitro* rapid regeneration of lantlets from nodal explants of *Mucuna pruriens*– a valuable medicinal plant. Annals of Applied Biology. (148): 1–6.

Gerszberg, A.; K. Hnatuszko-Konka; and T. Kowalczyk (2015). *In vitro* regeneration of eight cultivars of *Brassica oleracea* var. capitata . *In Vitro* Cellular and Developmental Biology-Plant. 51: 80-87.

Gök, S.; and F. Ergenoglu (1996). Propagation of several grape varieties and rootstocks by meristem culture. V Temperate Zone Fruit in the Tropics and Subtropics. 441: 245-250.

Gray, D.; and L. Fisher (1986). *In vitro* shoot propagation of grape species, hybrids and cultivars. Proceedings of the annual meeting of the Florida State Horticulture Society (USA). agris.fao.org. no. 52.

Hunter, C. (1979). *In vitro* culture of *Cinchona ledgeriana* L. Journal of Horticultural Science. 5:111-114.

Ivanova, M.; and J. Van Staden (2011). Influence of gelling agent and cytokinins on the control of hyperhydricity in Aloe polyphylla. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). 104:13-21.

Jain, S.M.; and S.J. Ochatt (2010). Protocols for in vitro propagation of ornamental plants. Springer.

Jan, M.; S. Singh; and F.Maqbool (2016). Micropropagation of some medicinally important plant species of Family Lamiaceae-A review. International Journal of Biosciences and Technology. 9: 64.

JayaSree, T.; U. Pavan; M. Ramesh; A. Rao; K.J.M. Reddy; and A. Sadanandam (2001). Somatic embryogenesis from leaf cultures of potato. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 64:13-17.

Kalidass, C.; V. Ramasamy Mohan; and A. Daniel (2010). Effect of auxin and cytokinin on vincristine production by callus cultures of *Catharanthus roseus* L.(apocynaceae). Tropical and Subtropical Agroecosystems. Vol. 12.

Khafagi, I.K. (2007). Variation of callus induction and active metabolite accumulation in callus cultures of two varieties of *Ricinus communis* L. Biotechnology. 6:193-201.

Khan, M.; A.A.H.K. Robin; M. Nazim-Ud-Dowla; S. Talukder; and L. Hassan (2010). *In vitro* regeneration potentiality of *Brassica* genotypes in differential growth regulators. Bangladesh Journal of Agricultural Research. 35: 189-199.

Kim, D.G.; V. Kantayos; D.K. Kim; H.G. Park; H.H. Kim; E.S. Rha; S.C. Lee; and C.H. Bae (2016). Plant regeneration by in vitro tissue culture in Korean Soybean (*Glycine max* L.). 29(1):143-153. Korean Journal of Plant Resources Korean Journal of Plant Resources. 29:143-153.

Kloot, P. (1984). The introduced elements of the flora of southern Australia. Journal of Biogeography. 63-78.

Kumlay, A.M.; and S. Ercisli (2015). Callus induction, shoot proliferation and root regeneration of potato (*Solanum tuberosum* L.) stem node and leaf explants under long-day conditions. Biotechnology and Biotechnological Equipment. 29: 1075-1084.

Lone, J.A.; S. Gupta; S.H. Wani; M.A. Bhat; and R.A Lone (2016). *In Vitro* regeneration studies in *Brassica napus* with response to callus induction frequency and regeneration frequency. International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology. 9: 755.

Malabadi, R.B.; S.V. Kumar; G.S. Mulgund; and K. Nataraja (2011a). Induction of somatic embryogenesis in papaya (*Carica papaya*). Research in Biotechnology. No.2.

Malabadi, R.B.; J. Teixeira da Silva; K. Nataraja; S. Vijaya Kumar; and G.S. Mulgund (2011b). Induction of somatic embryogenesis in mango (*Mangifera indica* L.). International Journal of Biological Technology. 2: 12-18.

Mouttarde, P.S.J. (1946). Nouvelle Flore du Liban et de le Syrie. Tome וו. Dachreq Editeurs.

Murashige, T.; and F. Skoog (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia plantarum. 15: 473-497.

Nitsch, C.; and J. Nitsch (1967). The induction of flowering in vitro in stem segments of *Plumbago indica* L. Planta. 72: 355-370.

Ovesna, J.; L. Ptáček; and Z. Opatrný (1993). Factors influencing the regeneration capacity of oilseed rape and cauliflower in transformation experiments. Biologia Plantarum. 35:107.

Uphof, J.C.T. (1959). Dictionary of economic plants. Book : Dictionary of economic plants. pp.404

Wang, X.D.; K.E. Nolan; R.R. Irwanto; M.B. Sheahan; and R.J. Rose (2011). Ontogeny of embryogenic callus in Medicago truncatula: the fate of the pluripotent and totipotent stem cells. Annals of Botany. 107: 599-609.

Warwick, S.I. (2011). Brassicaceae in agriculture, genetics and genomics of the Brassicaceae. Springer. pp. 33-65.

Yin-Xin, C.H.L. (2004). Biotechnological breeding for salt tolerance of dandelion [J]. Chinese Bulletin of Botany, Academy of sciences, Beijing100039. 1, 002.

Effect of Some Plant Growth Hormones on Buds Formation and Callus Induction of *Nasturtium Officinale* R.Br. *in vitro*

Daniel Al-Awad[(1)] Maysaa Yazigi[(1)] and Reem Ebraheem[*(1)]

(1). Department of Plant Biology, Faculty of Sciences, Tishreen university, Latakia, Syria.
(*Corresponding author: Reem Ebraheem, E-mail: ribraheem66@yahoo.com).

Received: 02/04/2018 Accepted: 19/06/2018

Abstract

This study investigated the effect of some plant growth hormones on the shoots formation and callus induction of *Nasturtium officinale* R.Br, *in vitro*. All experiments were carried out at the laboratory of Department of Plant Biology, Faculty of Science, Tishreen University during 2016 and 2017. Seedlings were grown on MS medium, then 0.5-1 cm of stem nodes were planted on the MS nutrient medium with 0.1, 0.5, 1, 2 and 4 mg/l of the cytokinin Benzyl Amino Purine (BAP). Stem nodes, leaves and petioles of leaves were planted on MS medium with various concentrations (1, 2) mg/l of the auxin 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) in combination with various concentrations (0.1, 0.5, 1) mg/l of BAP. The cultures were maintained in growth incubator at temperature 25±2 °C with a photoperiod of 16 hours light (2500-3000 lux) and 8 hours dark. The results showed that MS medium with 0.1 mg/l or 0.5 mg/l BAP was the best to propagate buds, where the average number of shoots ranged between 14-15, and some shoots formed roots. The MS medium supplement with 1mg/l of 2,4-D in combination with 0.5 mg/l BAP was the best medium for callus induction from all parts of the plant, and the stem nodes were the best plant parts used to form callus on MS medium in most of hormone concentrations; stem nodes recorded best rates of callus formation 83.75% then the petioles of leaves was 75% and the leaves was 66.75%, on the best medium.

Keywords: *Nasturtium officinal* R.Br, Tissue culture, Auxin, Cytokinin, Callus.