



إكثار نبات البتونيا *Petunia hybrida* خارج الجسم الحي

*آمنة أمين أحمد **بشار زكي قصاب باشي أيسر محمد سالم المعماري

قسم البستنة وهندسة الحدائق/ كلية الزراعة والغابات/ جامعة الموصل

G-mail: aminaameen83@gmail.com*

E-mail: bashybashar@yahoo.com **

الملخص

نفذت هذه الدراسة في مختبر زراعة الخلايا والأنسجة النباتية التابع لقسم البستنة وهندسة الحدائق بكلية الزراعة والغابات في جامعة الموصل، لإكثار نبات البتونيا *Petunia hybrida* صنف *grandiflora doppia miscuglio* خارج الجسم الحي من خلال نشوء وتضاعف أطراف الأفرع والعقد التي أخذت من بادرات نتجت من الزراعة النسيجية وزراعتها على وسط موراشيغ وسكوك (MS) الصلب المزود بتركيز مختلفة من البنزائل أدنين BA (0.0، 0.5، 1.0، 1.5، 2.0) ملغم/ لتر، الأفرع الناتجة من مرحلة التضاعف زرعت على وسط MS كامل تركيز الأملاح المجهز بـ IBA (0.0، 0.25، 0.5، 0.75، 1.0) ملغم/ لتر، كما تمت زراعة قطع من الأوراق وسويقات الأوراق على الوسط المزود بـ BA عند التركيز (0.0، 0.5، 1.0) ملغم/ لتر متداخلاً مع تراكيز من NAA (0.0، 0.1، 0.2، 0.3) ملغم/ لتر. تشير النتائج أن أفضل معدل لعدد الأفرع حصل عليه من زراعة أطراف الأفرع على الوسط المجهز بـ 2.0 ملغم/ لتر BA إذا أعطت 9.3 فرع/ جزء نباتي وبطول 3.0 سم مقارنة بالعقدة التي كونت أعلى معدل لعدد الأفرع 10.2 فرع/ جزء نباتي وبطول 2.9 سم وذلك من زراعتها على الوسط المجهز بـ 1.0 ملغم/ لتر BA بعد 8 أسابيع من الزراعة، كما حصل على نسبة تجذير 100% وبعدها جذور 12.4 جذر/ جزء نباتي وذلك من زراعة أطراف الأفرع الناتجة من مرحلة التضاعف على الوسط الحاوي على 0.25 ملغم/ لتر IBA بعد أربعة أسابيع من الزراعة، وحصل على أعلى وزن رطب للكالس من زراعة قطع الأوراق وسويقات الأوراق الناتجة من الزراعة النسيجية على الوسط المجهز بـ 1.0 ملغم/ لتر BA متداخلاً مع 0.2 ملغم/ لتر NAA والتي أعطت 1.237 غم و1.346 غم على التوالي، قطع الأوراق المزروعة على وسط MS المجهز بـ 1.0 ملغم/ لتر BA مع 0.1 ملغم/ لتر NAA كونت أفرع بنسبة 10% وبعدها أفرع 1.0 فرع/ جزء نباتي، بينما كانت أعلى نسبة لتكوين الأفرع 20% وبعدها أفرع 1.0 فرع/ جزء نباتي من تمايز الكالس الناتج من زراعة سويقات الورقة على وسط MS المجهز بـ 1.0 ملغم/ لتر BA مع 0.2 ملغم/ لتر NAA بعد ثمانية أسابيع من الزراعة، جميع النبيتات الناتجة من هذه التجارب تمت أقلمتها ونقلتها إلى الحقل بنجاح.

الكلمات الدالة: تضاعف، كالس، BA، IBA، NAA، البتونيا، *Petunia hybrida*.

المقدمة

يعد نبات البتونيا *Petunia hybrida* أحد أجناس نباتات العائلة الباذنجانية Solanaceae ويضم نحو 35 نوعاً في أمريكا الجنوبية، تنتشر زراعتها في المناطق المعتدلة وشبه الاستوائية (Sink, 1984, Cabrera and Willink, 1980)، ويعد النبات من أقدم الأزهار الحولية الشتوية التي عرفت في العراق وأكثرها نجاحاً، ذات ساق مدادة أو عشبية، أوراقها بسيطة متبادلة أو متقابلة بيضية الشكل ذات وبر ناعم، والأزهار كبيرة بوقية الشكل تملأ النبات وقت التزهير ذات ألوان كثيرة منها الأبيض والأحمر والأزرق والقرنفل والبنفسجي والوردي وتوجد أصناف من البتونيا ذات أزهار انبوية أي مخططة بخطوط تمتد من داخل بوق الزهرة حتى حافة الورقة التوجيهية، (محمود، محمد أمين، 1989)، وتصلح البتونيا للزراعة في الألواح الأمامية من الحديقة والأصناف القصيرة منها تزرع في الدوائر الوسطية أو في أطراف الألواح كما أن الأصناف المدادة تصلح لزراعتها في السلال المعلقة (البعلي، 1967)، وتزرع أيضاً في الأحواض والدوائر الشجرية والشجيرية لجمال أزهارها التي لاتصلح للقطف، وينصح بها في زراعة التراسات المبنية (الغيطاني، 1967). يتكاثر النبات بالبذور في الربيع أو الخريف إذ تتجح في كلا الموسمين الصيفي والشتوي، بذورها ناعمة جداً، لذا تزرع في أصص أو أطباق صغيرة بعد خلطها بالرمل إذ تنثر نثراً خفيفاً حتى تثبت البادرات متباعدة قليلاً فتنمو جيداً، ثم تشتل البادرات بعد نموها على بعد 20-25 سم والأصناف القصيرة على بعد 15 سم (البعلي، 1967)، كما تكاثر بالعقل الطرفية في الربيع نهاية شهر فبراير بداية شهر مارس (السلطان وآخرون، 1992).

تعد تقانة الزراعة النسيجية إحدى الطرائق التي يتم من خلالها إكثار العديد من النباتات باستعمال أطراف الأفرع أو العقد عن طريق تضاعف هذه الأجزاء بشكل مباشر فضلاً عن استحداث الكالس من هذه الأجزاء ومن أجزاء أخرى كالأوراق، وحامل الورقة، والسلامية، والبرعم الزهري، والجذور وأخرى ومن ثم تمايز الكالس الناتج إلى أفرع ومن ثم تجذير الأفرع لإنتاج النبيتات، تلعب منظمات النمو المختلفة من أوكسينات أو سايتوكاينينات دوراً كبيراً في تضاعف الأجزاء النباتية أو تجذير الأفرع الناتجة من التضاعف (محمد، مبشر، 1990)، وبرزت زراعة الأنسجة النباتية واحدة من أكثر التقانات في القرن العشرين الذي دفع العلوم الزراعية خارج مجالها التقليدي إذ أمكن إنتاج النباتات في المختبر بدلاً من الحقل، وإنتاج الأجنة الجسمية لاستعمالها بدلاً من البذور بإنتاج البذور الصناعية، وإنتاج الهجن النباتية بعمليات اندماج البروتوبلاست بدلاً من التضريب والتلقيح (Karuppusamy, 2009؛ الحديدي، 2002). إذ درس العديد من الباحثين إمكانية تضاعف أطراف الأفرع والعقد وتجذيرها من زراعتها على وسط MS المزود بتركيز مختلفة من السايتوكاينينات أو الأوكسينات ومن ثم أقلمة النبيتات الناتجة ونقلها إلى الحقل.

إذ أوضح (Abo-Qaoud et al., 2010) أن زراعة أطراف أفرع نبات البتونيا *Petunia hybrida* المأخوذة من بادرات ناتجة من زراعة الأنسجة على الوسط المزود بـ 0.8 ملغم/ لتر BA كوّنت أعلى عدد للأفرع 7.8 فرع/ جزء نباتي وبمعدل طول 3.8 سم وأعلى معدل لعدد الأوراق 25.0 ورقة/ جزء نباتي بعد أربعة أسابيع من الزراعة. في حين ذكر (Habas et al., 2019) أن أطراف أفرع نبات البتونيا *Petunia hybrida* المأخوذة من زراعة الأنسجة والمزروعة على الوسط المجهز بـ 0.6 ملغم/ لتر BAP مع 0.5 ملغم/ لتر IBA أعطت أعلى عدد للأفرع 3 فرع/ جزء نباتي وبمعدل طول 0.3 سم ومعدل عدد الأوراق 3 ورقة/ جزء نباتي ومعدل عدد الجذور 4.50 جذر/ جزء نباتي وبمعدل طول 0.55 سم بعد 4 أسابيع من الزراعة، في حين حصل على أعلى عدد للأفرع 3 فرع/ جزء نباتي من زراعتها على وسط MS المجهز بـ 0.6 ملغم/ لتر BAP مع 0.5 ملغم/ لتر NAA وبمعدل طول 0.5 سم ومعدل عدد الأوراق 3 ورقة/ جزء نباتي ومعدل عدد الجذور 3.5 جذر/ جزء نباتي وبمعدل طول 0.6 سم بعد 4 أسابيع من الزراعة. واستعمل (Kulpa and Nowak, 2011) أنواعاً مختلفة من منظمات النمو هي (GA3، BAP، IAA، Kin) وبتراكيز مختلفة (0.5، 1.0) ملغم/ لتر لكل منهم، وحصلوا على أكبر عدد للأفرع 2.73 فرع/ جزء نباتي من زراعة عقد نبات البتونيا *Petunia X atkinsiana* D. Don على وسط MS المزود بـ 1.0 ملغم/ لتر BAP وبطول 6.33 سم وعدد الأوراق 21.01 ورقة/ جزء نباتي بعد أربعة أسابيع من الزراعة. وأشار (Mehri et al., 2018) إلى أن زراعة عقد نبات

البتونيا 'Opera Supreme Pink Morn' *Petunia × hybrida* F1 الناتجة من بادرات نامية بزراعة الأنسجة على وسط MS المجهز بـ 0.5 ملغم/لتر BA أعطى أعلى معدل لعدد الأفرع 8.44 فرع/جزء نباتي وبمعدل طول 13.16 سم بعد 45 يوماً من الزراعة. ووجد (Habas et al., 2019) أن زراعة أفرع نبات البتونيا *Petunia hybrida* الناتجة من بادرات نامية بزراعة الأنسجة على وسط MS كامل تركيز الأملاح المجهز بـ 1.0 ملغم/لتر IBA كونت أعلى عدد للجذور 6.8 جذر/فرع وبطول 3.2 سم بعد 4 أسابيع من الزراعة. وتمكن (Hong et al., 2004) من الحصول على أعلى نسبة مئوية لتكوين الكالس 94.8% من زراعة أوراق نبات البتونيا *Petunia hybrida* Var. *grandiflora* على وسط MS المجهز بـ 1.0 ملغم/لتر BA مع 0.1 ملغم/لتر NAA بعد 3 أسابيع من الزراعة، في حين أشار إلى إمكانية تمييز الكالس المستحدث على وسط MS المجهز بـ 0.5 ملغم/لتر BA مع 0.1 ملغم/لتر NAA إذ تم الحصول على أعلى نسبة لتكوين الأفرع 85% بعد أسبوع واحد من الزراعة. في حين ذكر كل من (Kazemi and Kaviani, 2017) أن زراعة أجزاء من ورقة نبات البتونيا *Petunia X hybrida* F1 الناتجة من بادرات نامية بالزراعة النسيجية على وسط MS المزود بـ 1.0 ملغم/لتر BA متداخلاً مع 0.3 ملغم/لتر NAA كونت أعلى وزن رطب للكالس 5.16 غم وأعلى وزن جاف للكالس 0.31 غم وبأعلى حجم للكالس 24.50 سم³. ووجد (Tawfik et al., 2019) أن زراعة أجزاء من ورقة نبات البتونيا *Petunia hybrida* الناتجة من بادرات نامية بزراعة الأنسجة على وسط MS المجهز بـ 0.5 ملغم/لتر BAP متداخلاً مع NAA بتركيز 0.1 ملغم/لتر أعطت أعلى نسبة مئوية لتكوين الكالس 40% بعد 21 يوماً من الزراعة، وأن زراعة الكالس الناتج على وسط MS المجهز بـ 0.2 ملغم/لتر BA بلغت أعلى نسبة مئوية لتكوين الأفرع 90% ويعد أفرع 14.50 فرع/جزء نباتي وبطول 5 سم وعدد الأوراق 46.07 ورقة/جزء نباتي بعد 4 أسابيع من الزراعة.

المواد وطرائق العمل

أستعملت في هذه الدراسة بذور نباتات البتونيا *Petunia hybrida* صنف *Grandiflora Doppia Miscuglio* (الشركة المنتجة Pagano seeds) المستحصل عليها من التجهيزات الزراعية في الأسواق المحلية في محافظة نينوى، إذ نقعت البذور بالجبرلين بتركيز 100 ملغم/لتر ولمدة 7-8 ساعات، بعدها نقلت إلى منضدة الزراعة وغمرت بالكحول الأيثيلي بتركيز 70% ولمدة دقيقة واحدة ثم غُسلت بالماء المقطر المعقم 3 مرات، بعد ذلك أُضيف إليها محلول القاصر التجاري بتركيز 10% (المحتوي على 6% هايبوكلورات الصوديوم NaOCl) والمخفف بالماء المقطر بنسبة 1:9 (قاصر: ماء مقطر) ولمدة 20 دقيقة، وذلك بوضع البذور في بيكر سعة 250 مل وإضافة محلول التعقيم إليها مع التحريك المستمر وبعد انتهاء المدة المذكورة غسلت البذور بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات متتالية ولمدة 5 دقائق لكل مرة لإزالة التأثير الضار للمادة المعقمة، وزرعت على أوساط MS خالية من منظمات النمو (Murashige and Skoog, 1962) وعند نمو البادرات وبلوغها عمر (6-7) أسابيع استعملت أطراف الأفرع Shoot tips والقطع الحاوية على العقد Nodes explants بطول 1.0 سم بهدف النشوء والتضاعف، وكانت الزراعة لمدة 4 أسابيع وعُدت مرحلة نشوء، والتي زرعت فيها الأجزاء النباتية على أوساط مجهزة بتركيز مختلفة من البنزايك أدينين BA بالتركيز (0.0، 0.5، 1.0، 1.5، 2.0) ملغم/لتر لدراسة تأثيره في نشوء وتضاعف أطراف الأفرع والقطع الحاوية على العقد الناتجة من بادرات نامية بالزراعة النسيجية و أعيدت زراعة هذه الأجزاء لأربعة أسابيع أخرى على الأوساط نفسها بهدف التضاعف، سُجلت البيانات عن الجزء النباتي وتطوره في نهاية كل مرحلة. سُجلت البيانات بعد 4 و 8 أسابيع من الزراعة، فضلاً عن دراسة تأثير تواجد IBA في وسط MS كامل تركيز الأملاح بالتركيز (0.0، 0.1، 0.2، 0.3) ملغم/لتر في استحداث الكالس من قطع الأوراق وسويقات الأوراق الناتجة من مرحلة التضاعف وأخذت بياناتها بعد 8 أسابيع من الزراعة. استعملت لزراعة الأجزاء النباتية أوعية زجاجية حجم 120 مل بواقع 20 مل وسط غذائي لكل قنينة وبواقع 40 مل من الوسط لكل قنينة بالنسبة للقناني الزجاجية حجم 210 مل،

وضبطت الدالة الهيدروجينية عند 5.7 ± 0.1 بإضافة قطرات من هيدروكسيد الصوديوم 1 عياري NaOH أو حامض الهيدروكلوريك 1 عياري HCl باستعمال جهاز قياس الأس الهيدروجيني pH Meter، عُقمت الأوساط الغذائية بجهاز المعقم عند درجة حرارة 121م° وتحت ضغط 1.04 كغم/سم² لمدة 20 دقيقة، وضعت الزروع في غرفة التسمية عند شدة اضاءة 3000 لوكس وبنظام 16 ساعة ضوء يتبعها 8 ساعات ظلام مجهزة من انابيب الفلورسنت البيضاء ودرجة حرارة 25 ± 1 م°، لتحليل بيانات التجارب السابقة الذكر أُستعمل التصميم العشوائي الكامل Complete Randomized Design وتمت المقارنة بين المتوسطات باستعمال اختبار دنكن متعدد الحدود Duncan's multiple range test عند مستوى احتمال 5% (الراوي، 1980). كل معاملة تكوّنت من عشرة مكررات، وجزء نباتي واحد لكل مكرر .

تهدف هذه الدراسة إلى إكثار نبات البتونيا خارج الجسم الحي عن طريق تضاعف أطراف الأفرع والعقد أو عن طريق استحداث الكالس وتمايزه ومن ثمّ تجذير الأفرع الناتجة من التضاعف أو من تمايز الكالس.

النتائج والمناقشة

يبين (الجدول 1) تأثير BA في نشوء وتضاعف أطراف أفرع نبات البتونيا *Petunia hybrida* إذ حُصِلَ على أعلى عدد للأفرع 3.0 فرع/ جزء نباتي من الزراعة في الوسط المزود بـ 1.5 و 2.0 ملغم/ لتر BA وهذه بدورها تفوقت معنوياً على معاملة المقارنة ومعاملة 0.5 ملغم/ لتر BA، كما يبين الجدول عدم وجود فروقات معنوية في معدل طول أطول فرع ومعدل عدد الأوراق لأطول فرع وذلك بعد أربعة أسابيع من الزراعة (مرحلة النشوء) وعند إعادة الزراعة لأربعة أسابيع أخرى (مرحلة التضاعف) حُصِلَ على أعلى عدد للأفرع 9.3 فرع/ جزء نباتي من الزراعة على الوسط المزود بـ BA بتركيز 2.0 ملغم/ لتر الشكل (1) وهذه بدورها تفوقت معنوياً على معاملة المقارنة و0.5 ملغم/ لتر BA، في حين حُصِلَ على أعلى معدل لطول أطول فرع 6.0 سم من الزراعة على وسط مزود بـ 0.5 ملغم/ لتر BA، التي بدورها تفوقت معنوياً على معدلات باقي المعاملات، في حين لا توجد أية فروقات معنوية في معدل عدد الأوراق لأطول فرع، كما يبين الجدول استحداث الكالس عند المعاملات 1.0 و 1.5 و 2.0 ملغم/ لتر BA بنسبة 100% وبأعلى حجم للكالس المستحدث (+++) وهذه المعاملات بدورها تفوقت معنوياً على معاملة المقارنة و 0.5 ملغم/ لتر BA، وتشير النتائج إلى تجذير الأفرع عند المعاملة 0.5 ملغم/ لتر BA بنسبة 90% متفوقة معنوياً على معاملات 1.0 و 1.5 و 2.0 ملغم/ لتر BA وبمعدل 16.8 جذر/جزء نباتي والتي تفوقت معنوياً على معدلات باقي المعاملات.

الجدول 1: تأثير BA في نشوء وتضاعف أطراف أفرع بادرات البتونيا *Petunia hybrida* النامية في وسط MS الصلب بعد 4 و8 أسابيع من الزراعة

مرحلة التضاعف (بعد 8 أسابيع من الزراعة)						مرحلة النشوء (بعد 4 أسابيع من الزراعة)			BA ملغم/لتر	
عدد الجذور	التجذير (%)	حجم الكالس	استحداث الكالس (%)	عدد الأوراق لأطول فرع	طول أطول فرع (سم)	عدد الأفرع	عدد الأوراق لأطول فرع	طول أطول فرع (سم)		عدد الأفرع
5.8 ب	60 أ ب	- ب	0.0 ج	14.9 أ	2.5 ب	1.5 ج	9.3 أ	1.55 أ	1.1 ب	0.0
16.8 أ	90 أ	+ ب	30 ب	14.7 أ	6.0 أ	3.1 ب ج	8.5 أ	2.47 أ	1.5 ب	0.5
4.2 ب	40 ب	+++ أ	100 أ	11.2 أ	1.9 ب	6.4 أ ب	8.8 أ	1.51 أ	2.1 أ ب	1.0
5.8 ب	40 ب	+++ أ	100 أ	11.5 أ	2.77 ب	6.8 أ ب	7.0 أ	1.66 أ	3.0 أ	1.5
2.1 ب	40 ب	+++ أ	100 أ	13.3 أ	3.0 ب	9.3 أ	8.4 أ	1.98 أ	3.0 أ	2.0

* الأرقام ذات الحروف المتشابهة للعمود الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.
* كل معاملة تكونت من عشرة مكررات، وكل مكرر احتوى على جزء نباتي واحد.



الشكل 1: تأثير BA في تضاعف أطراف أفرع بادرات البتونيا *Petunia hybrida* المأخوذة من البادرات السليمة الخالية من الملوثات بعد 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS.

A: معاملة المقارنة.

B: أطراف الأفرع بعد 8 أسابيع من زراعتها على وسط MS الحاوي 0.5 ملغم/ لتر BA.

C: أطراف الأفرع بعد 8 أسابيع من زراعتها على وسط MS الحاوي 1.0 ملغم/ لتر BA.

D: أطراف الأفرع بعد 8 أسابيع من زراعتها على وسط MS الحاوي 1.5 ملغم/ لتر BA.

E: أطراف الأفرع بعد 8 أسابيع من زراعتها على وسط MS الحاوي 2.0 ملغم/ لتر BA.

يبين (الجدول 2) تأثير المعاملات المختلفة في نشوء وتضاعف عقد نبات البتونيا *Petunia hybrida* إذ حُصِلَ على أعلى عدد للأفرع 3.3 فرع/ جزء نباتي عند المعاملة 1.0 ملغم/لتر BA والتي تفوقت معنوياً على معدلات باقي المعاملات، في حين لا توجد فروقات معنوية بين المعاملات في معدل طول أطول فرع ومعدل عدد الأوراق لأطول فرع وذلك بعد 4 أسابيع من الزراعة (مرحلة النشوء)، ومن مراجعة بيانات مرحلة التضاعف بعد إعادة الزراعة لأربعة أسابيع أخرى يبيّن الجدول أن المعاملة 1.0 ملغم/ لتر BA أعطت أعلى عدد للأفرع 10.2 فرع/ جزء نباتي (الشكل 2) والتي تفوقت معنوياً على معاملة المقارنة ومعاملة

0.5 و 2.0 ملغم/ لتر BA، في حين حُصِلَ على أعلى معدل لطول أطول فرع 4.6 سم من الأجزاء المزروعة عند معاملة 2.0 ملغم/ لتر وهذه المعاملة بدورها تفوقت معنوياً على معاملة المقارنة ومعاملة 1.5 ملغم/ لتر BA في حين كان أعلى معدل لعدد الأوراق لأطول فرع 15.8 ورقة/ فرع من الأجزاء المزروعة عند معاملة 1.0 ملغم/ لتر BA والتي تفوقت معنوياً على معدلات باقي المعاملات، كما يوضح الجدول استحداث الكالس بنسبة 100% عند المعاملات 1.0 و 1.5 و 2.0 ملغم/ لتر BA والتي تفوقت معنوياً على معاملة المقارنة ومعاملة 0.5 ملغم/ لتر BA، وأعلى حجم للكالس المستحدث (+++) للأجزاء المزروعة عند المعاملة 1.0 ملغم/ لتر BA والتي تفوقت معنوياً على معدلات باقي المعاملات، في حين تشير النتائج إلى تجذير الأفرع عند المعاملة 0.5 ملغم/ لتر BA بنسبة 60% والتي تفوقت معنوياً على معاملة المقارنة.

الجدول 2: تأثير BA في نشوء وتضاعف عقد بادرات البتونيا *Petunia hybrida* المأخوذة من المزارع النسيجية على وسط MS الصلب بعد 4 و 8 أسابيع من الزراعة

مرحلة التضاعف (بعد 8 أسابيع من الزراعة)					مرحلة النشوء (بعد 4 أسابيع من الزراعة)			BA ملغم/لتر	
التجذير (%)	حجم الكالس	استحداث الكالس (%)	عدد الأوراق لأطول فرع	طول أطول فرع (سم)	عدد الأفرع	عدد الأوراق لأطول فرع	طول أطول فرع (سم)		عدد الأفرع
10 ب	- ج	0.0 ب	10.1 ب	2.1 ب	1.9 ب	5.8 أ	1.05 أ	1.7 ب	0.0
60 أ	- ج	10 ب	10.6 ب	4.2 أب	2.6 ب	6.3 أ	1.19 أ	2.1 ب	0.5
40 أب	+++ أ	100 أ	15.8 أ	2.9 أب	10.2 أ	6.8 أ	1.05 أ	3.3 أ	1.0
20 أب	++ ب	100 أ	9.8 ب	2.2 ب	6.2 أب	6.2 أ	1.65 أ	1.7 ب	1.5
20 أب	++ ب	100 أ	9.6 ب	4.6 أ	3.8 ب	5.3 أ	0.92 أ	1.4 ب	2.0

* الأرقام ذات الحروف المتشابهة للعمود الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.
* كل معاملة تكونت من عشرة مكررات، وكل مكرر احتوى على جزء نباتي واحد.



الشكل 2: تأثير BA في تضاعف عقد بادرات البتونيا *Petunia hybrida* المأخوذة من البادرات السليمة الخالية من الملوثات بعد 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS.

A: معاملة المقارنة B: العقد بعد 8 أسابيع من زراعتها على وسط MS الحاوي على 1.0 ملغم/ لتر BA.

وتفسر نتائج (الجدولين 1 و2) على أساس ان البنزائل أدنين هو أحد الساييتوكاينينات التي تؤدي دوراً هاماً في القضاء على السيادة القمية وبالتالي تحرير الأفرع الساكنة وزيادة أعدادها، ونتيجة لزيادة التراكيز المستخدمة حصل حالة توازن ما بين الهرمونات الداخلية ومنظمات النمو المضافة خارجياً وبالتالي تم الحصول على أعلى معدل لعدد الأفرع (Smith, 2000)، (Hopkins and Hiiner, 2004). ان تكوين الأفرع والأوراق عند معاملة المقارنة في مرحلة النشوء قد يعود الى المحتوى الداخلي من الهرمونات النباتية في أنسجة الجزء النباتي (Murashige and Skoog, 1962). وقد تفسر زيادة أطوال وعدد الأوراق لبعض المعاملات الى الدور الذي تؤديه الساييتوكاينينات في انقسام واستطالة الخلايا والذي ينعكس ايجابياً على صفات النمو فضلاً عن تأثيره على بناء الأحماض النووية (وصفي، 1995). ان تكوين الكالس في بعض المعاملات يعزى كون استحداث الكالس على القطعة النباتية يعتمد على الهرمونات الطبيعية وظروف ووسط الزراعة، في حين ان قسماً من القطع النباتية لا تستجيب لإستحداث الكالس ما لم يضاف الى الوسط بعض من منظمات النمو (محمد، 1990)، وقد تفسر نتائج تكوين الجذور على الأجزاء النباتية الى ان هذه الأجزاء كونت نموات خضرية كافية لنمو وتصنيع المواد الغذائية واجراء العمليات الحيوية مما انعكس ذلك على تكوين الأوكسين فيها نتيجة نموها في ظروف مناسبة (محمد، 1982).

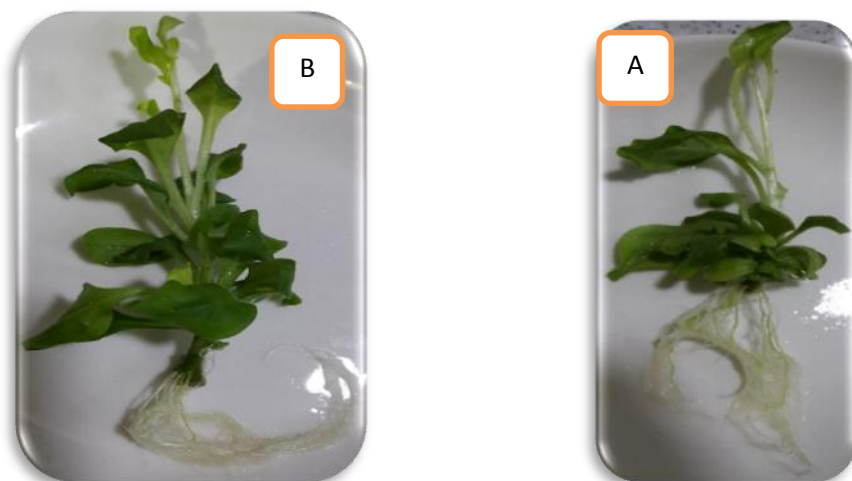
يبين (الجدول 3) تأثير IBA في تجذير أطرف الأفرع الناتجة من الزراعة النسيجية لنبات البتونيا *Petunia hybrida* من زراعتها على وسط MS كامل تركيز الأملاح إذ كوّنت الأجزاء النباتية المزروعة عند التركيز 0.25 ملغم/ لتر IBA أعلى نسبة تجذير 100%، في حين كانت هذه النسبة 80% عند معاملة المقارنة إذ تفوقت المعاملات جميعها معنوياً على معاملة 1.0 ملغم/لتر IBA، كما يبين الجدول أن معاملة 0.25 ملغم/ لتر IBA كوّنت أعلى عدد للجذور 12.4 جذر/ جزء نباتي والتي لم تختلف معنوياً عن معاملة المقارنة وتفوقت معنوياً على معدلات باقي المعاملات، وتفوقت المعاملات معنوياً في معدل طول أطول جذر على معاملة 1.0 ملغم/ لتر IBA الشكل (3)، كما يبين الجدول عدم وجود فروقات معنوية بين المعاملات في معدل عدد الأفرع ومعدل عدد الأوراق في حين تفوقت المعاملات 0.25 و 0.5 و 0.75 ملغم/لتر IBA معنوياً في معدل طول أطول فرع على معاملة 1.0 ملغم/ لتر IBA، وقد تفسر هذه النتائج على اساس الدور الذي يؤديه الأندول حامض البيوتيريك في تنشيط انقسام الخلايا واستطالتها، وبالتالي تحفيز تكوين مبادئ الجذور في مناطق القطع، ومن ثمّ زيادة معدلات اعداد هذه الجذور وأطوالها وصولاً إلى التركيز الأفضل (Hartmann et al., 2002).

الجدول 3: تأثير IBA في تجذير أفرع نبات البتونيا *Petunia hybrida* المأخوذة من المزارع النسيجية على وسط MS الصلب كامل تركيز الأملاح بعد 4 أسابيع من الزراعة

عدد الأوراق	طول أطول فرع (سم)	عدد الأفرع	طول أطول جذر (سم)	عدد الجذور	النسبة المئوية للتجذير (%)	IBA ملغم / لتر
أ 19.0	أ ب 3.2	أ 3.0	أ 4.4	أ ب 11.5	أ 80	0.0
أ 20.3	أ 4.1	أ 3.0	أ 4.5	أ 12.4	أ 100	0.25
أ 20.9	أ 3.75	أ 3.0	أ 3.55	ب ج 6.0	أ 90	0.5
أ 18.0	أ 3.85	أ 2.0	أ 3.55	ج 3.0	أ 90	0.75
أ 16.2	ب 2.02	أ 2.2	ب 1.3	ج 3.0	ب 40	1.0

* الأرقام ذات الحروف المتشابهة للعمود الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

* كل معاملة تكونت من عشرة مكررات، وكل مكرر احتوى على جزء نباتي واحد.



الشكل 3: تأثير IBA في تجذير أفرع نبات البتونيا *Petunia hybrida* الناتجة من المزارع النسيجية على وسط MS الصلب كامل تركيز الأملاح بعد 4 أسابيع من الزراعة.

A: معاملة المقارنة B: أطراف الأفرع بعد 8 أسابيع من زراعتها على وسط MS الحاوي على 0.25 ملغم/ لتر IBA.

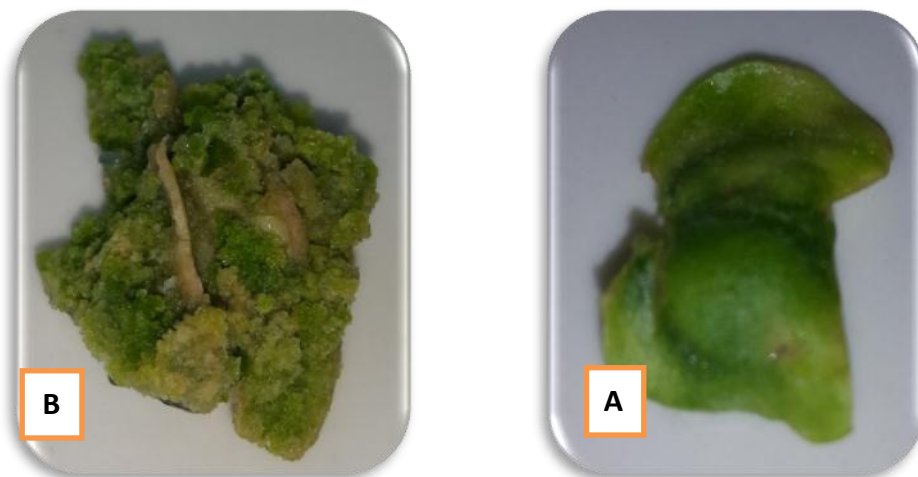
يبين (الجدول 4) تأثير BA و NAA في استحداث الكالس من زراعة قطع الأوراق المأخوذة من المزارع النسيجية على وسط MS إذ بلغت نسبة استحداث الكالس 90% أو 100% للمعاملات المختلفة جميعها ماعدا معاملة المقارنة، وقد حُصِلَ على أعلى حجم للكالس (++++) من الزراعة على وسط MS المجهز بـ 1.0 ملغم/ لتر BA مع 0.2 ملغم/ لتر NAA وهذه المعاملة بدورها أعطت أعلى وزن رطب للكالس 1.237 غم/جزء نباتي متفوقاً معنوياً على باقي المعاملات (الشكل 4) كما يبين الجدول تمايز الكالس إلى أفرع بنسبة 10% للأجزاء النباتية المزروعة عند المعاملة 1.0 ملغم/ لتر BA مع 0.1 ملغم/ لتر NAA.

الجدول 4: تأثير BA و NAA في استحداث الكالس وتمايزه من زراعة قطع الأوراق لنبات البتونيا *Petunia hybrida* المأخوذة من المزارع النسيجية على وسط MS الصلب بعد 8 أسابيع من الزراعة

عدد الأفرع/ جزء نباتي	الأجزاء التي كونت أفرع (%)	وزن الكالس الرطب (غم)	حجم الكالس	استحداث الكالس (%)	NAA ملغم/لتر	BA ملغم/لتر
أ 0.0	أ 0.0	د 0.0	- د	ب 0.0	0.0	0.0
أ 0.0	أ 0.0	ج 0.400	++ ج	أ 90	0.1	0.5
أ 0.0	أ 0.0	ب 0.668 ج	+++ ب ج	أ 100	0.2	
أ 0.0	أ 0.0	ب 0.706 ج	+++ ب ج	أ 100	0.3	
أ 1.0	أ 10.0	ب 0.791	+++ ب	أ 100	0.1	1.0
أ 0.0	أ 0.0	أ 1.237	++++ أ	أ 100	0.2	
أ 0.0	أ 0.0	ب 0.661 ج	++ ج	أ 100	0.3	

* الأرقام ذات الحروف المتشابهة للعمود الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

* كل معاملة تكونت من عشرة مكررات، وكل مكرر احتوى على جزء نباتي واحد.



الشكل 4: تأثير BA و NAA في استحداث الكالس وتمايظه من زراعة قطع الأوراق المأخوذة من المزارع النسيجية لنبات البتونيا *Petunia hybrida* على وسط MS الصلب بعد 8 أسابيع من الزراعة. A: معاملة المقارنة B: 1.0 ملغم/لتر BA + 0.2 ملغم/لتر NAA.

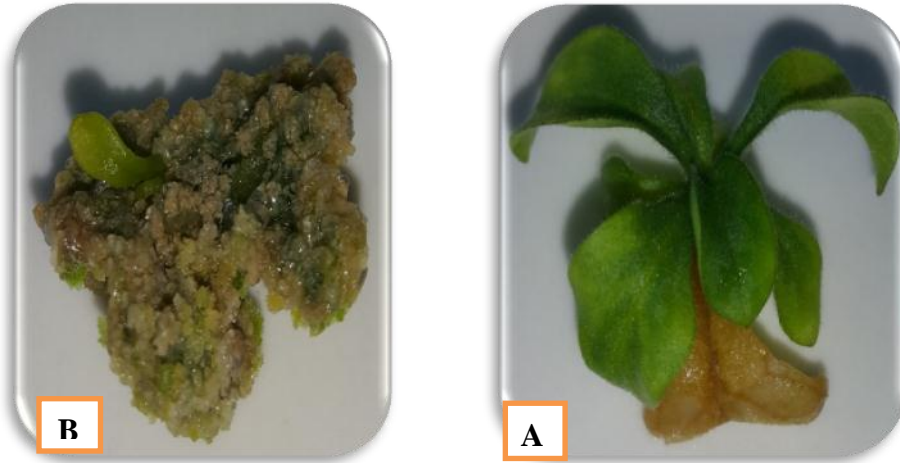
بيّن (الجدول 5) أن زراعة سويقات الأوراق المأخوذة من المزارع النسيجية على وسط MS المجهز بتركيز مختلفة من BA و NAA حفزت استحداث الكالس بنسبة 100% للمعاملات المختلفة جميعها متفوقة معنوياً على معاملة المقارنة إذ حُصِلَ على أعلى حجم للكالس (++++) من الزراعة على وسط MS المجهز بـ 1.0 ملغم/لتر BA مع 0.2 ملغم/لتر NAA وهذه المعاملة بدورها أعطت أعلى وزن رطب للكالس 1.346 غم/جزء نباتي وتفوقت معنوياً على باقي المعاملات الشكل (5) فضلاً عن تمايز الكالس إلى أفرع بنسبة 20% عند هذه المعاملة.

الجدول 5: تأثير BA و NAA في استحداث الكالس وتمايظه من زراعة سويقات الأوراق لنبات البتونيا *Petunia hybrida* المأخوذة من المزارع النسيجية على وسط MS الصلب بعد 8 أسابيع من الزراعة

عدد الأفرع/ جزء نباتي	الأجزاء التي كونت أفرع (%)	وزن الكالس الرطب (غم)	حجم الكالس	استحداث الكالس (%)	NAA ملغم/لتر	BA ملغم/لتر
أ 1.0	أ 10.0	ج 0.0	د 0.0	ب 0.0	0.0	0.0
أ 0.0	أ 0.0	ب 0.761	+++ ب ج	أ 100	0.1	0.5
أ 0.0	أ 0.0	ب 0.553	++ ب ج	أ 100	0.2	
أ 0.0	أ 0.0	ب 0.667	++ ج	أ 100	0.3	
أ 1.0	أ 10.0	ب 0.743	+++ ب	أ 100	0.1	1.0
أ 1.0	أ 20.0	أ 1.346	++++ أ	أ 100	0.2	
أ 0.0	أ 0.0	ب 0.791	+++ ب	أ 100	0.3	

* الأرقام ذات الحروف المتشابهة للعمود الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

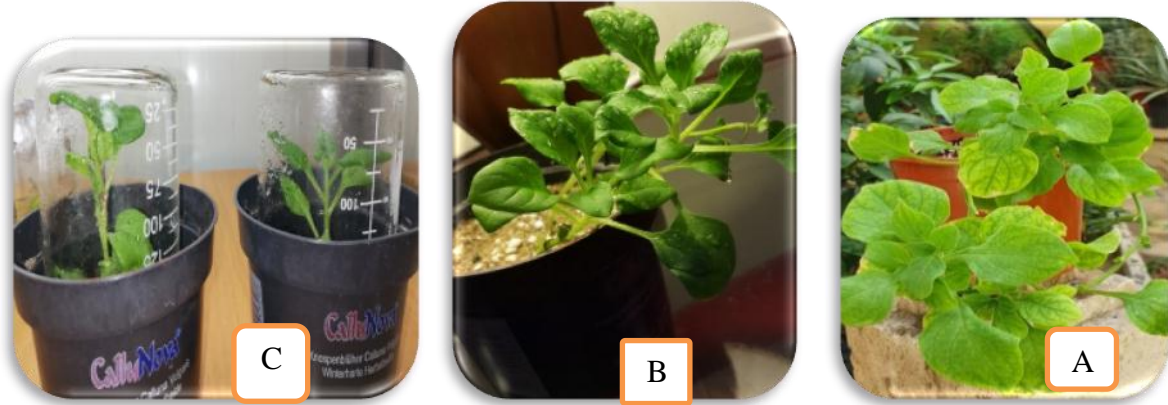
* كل معاملة تكونت من عشرة مكررات، وكل مكرر احتوى على جزء نباتي واحد.



الشكل 5: تأثير BA و NAA في استحداث الكالس وتمايزه من زراعة سويقات الأوراق المأخوذة من المزارع النسيجية لنبات البتونيا *Petunia hybrida* على وسط MS الصلب بعد 8 أسابيع من الزراعة. A: معاملة المقارنة B: 1.0 ملغم/لتر + BA 0.2 ملغم/لتر NAA .

وتفسر نتائج (الجدول 4 و 5) عملية استحداث الكالس على القطعة النباتية على أساس أن القطعة النباتية تمر بتغيرات معينة عند استحداث الكالس مثل التغيير في الحجم والتركيب، فضلاً عن الزيادة في بعض العمليات البنائية المهمة، مثل بناء البروتين والحوامض النووية ففي مرحلة التحفيز تحدث تغيرات مهمة وإساسية في الخلايا لتهيئتها لعملية الانقسام، وتحدث فيها العمليات البنائية مثل بناء البروتين وتضاعف الحامض النووي DNA، ومدة إنجاز هذه المرحلة تعتمد بصورة رئيسة على عدة عوامل منها نوع النسيج للقطعة النباتية، الوسط الغذائي، الظروف البيئية يتبع هذه المرحلة تغير متتابع في الفعاليات الحيوية لهذه الخلايا تنتهي بانقسامها وتكوين كتلة من خلايا الكالس تغطي معظم أجزاء القطعة النباتية (محمد، 1990)، فضلاً عن ذلك فإن للأوكسينات دوراً في استحداث الكالس على الأجزاء النباتية وأن إضافة الساييتوكاينين إلى الوسط بوجود الاوكسين يؤدي إلى زيادة نمو الكالس وتشجيع انقسام الخلايا وأن حدوث حالة التوازن بين الأوكسين والساييتوكاينين يؤدي إلى تمايز الكالس إلى الأفرع أو الجذور أو كليهما (Hartmann et al., 2002)، ويبين (الجدول 5) أن معاملة المقارنة كونت افرعاً بنسبة 10% ربما يعود السبب في ذلك إلى أن هذه الأجزاء مأخوذة من أجزاء ناتجة من زراعة نسيجية ونامية لمدة طويلة وتلك المدة كانت كافية لبناء بعض الهرمونات النباتية ومنها الساييتوكاينين والأوكسين وحصول حالة توازن بينهما مما أدى إلى التمايز (Hartmann et al., 2002).

النباتات Plantlets الناتجة من التجارب السابقة تمت أقليمتها تحت ظروف المختبر في غرفة تنمية الزروع لمدة 15-20 يوماً، وبعدها تم إزالة الأغذية الزجاجية عنها وتركت لمدة 10 أيام ثم نقلت إلى غرفة التحضير وبعد 5-7 أيام تم نقلها إلى البيت الزجاجي ومنها إلى الظلة الخشبية ثم إلى الحقل بنسبة نجاة 100% (الشكل 6)، حيث وضعت في أماكن تصل إليها أشعة الشمس بشكل غير مباشر مع الاهتمام بالسقي بين الحين والآخر.



الشكل 6: مراحل أقلمة نبيات البتونيا *Petunia hybrida* الناتجة من الزراعة النسيجية وصولاً الى الحقل.
 A: المرحلة الأولى لأقلمة النبيتات الناتجة من الزراعة النسيجية في غرفة تنمية الزروعات، نلاحظ تغطيتها بالأوعية الزجاجية.
 B: نباتات ناتجة من الزراعة النسيجية نامية في المختبر بعد رفع الأغشية الزجاجية عنها.
 C: نباتات ناتجة من الزراعة النسيجية نامية في الحقل.

الأستنتاجات

نستنتج من هذه الدراسة إمكانية إكثار نبات البتونيا *Petunia hybrida* عن طريق تضاعف أطراف الأفرع والعقد من زراعتها على وسط MS المزود بتركيز مختلفة من BA ومن ثم تجذير الأفرع الناتجة على الأوساط المزودة بـ IBA، كذلك إمكانية استحداث وتمايز الكالس الناتج من قطع الأوراق أو سويقاتها.

المصادر العربية

- البعلي، صادق عبد الغني (1967). الحدائق. مطبعة الادارة المحلية، بغداد.
- الحديدي، محمد علي حسين (2002). تجارب في زراعة الأنسجة. دار الفكر للطباعة والنشر والتوزيع، عمان، الأردن.
- الراوي، خاشع محمود؛ خلف الله، عبد العزيز محمد (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. مطابع دار الكتب للطباعة والنشر/ جامعة الموصل / العراق.
- السلطان، سالم محمد؛ الجلي، طلال محمود؛ الصواف، محمد داؤود (1992). الزينة، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي/ جامعة الموصل.
- الغيطاني، محمد يسري (1967). الزهور ونباتات الزينة وتنسيق الحدائق. الطبعة الأولى/ مطابع دار المعارف / مصر.
- محمد، عبد العظيم كاظم؛ الرئيس، عبد الهادي (1982). فلسجة النباتات. دار الكتب للطباعة والنشر/ بغداد/ العراق.
- محمد، عبد المطلب سيد؛ عمر، مبشر صالح (1990). المفاهيم الرئيسية في زراعة الخلايا والانسجة والأعضاء للنبات. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي/ جامعة الموصل.
- محمود، محسن خلف؛ محمد أمين، سامي كريم (1989). الزينة وهندسة الحدائق. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي/ هيئة المعاهد الفنية/ دار التقني.
- وصفي، عماد الدين حسين (1995). منظمات النمو والأزهار واستخدامها في الزراعة. الأكاديمية، القاهرة/ مصر.

المصادر الأجنبية

- Abu –Qaoud, H.; Abu-Rayya, A.; Yaish, S. (2010). *In vitro* regeneration and somaclonal variation of *Petunia hybrida*. *J. Fruit Ornament Plant Res.*, **18** (1), 71-81.
- Cabrera, A. L.; Willink, A. (1980). "Biogeografía de América Latina". 2nd ed. Secretaria General de la OEA, Washington, D.C.
- Habas, R. R.; Turker, M.; Ozdemir, F. A. (2019). *In vitro* Multiple shoot regeneration from *Petunia hybrida*. *Turkish J. Agri. – Food Sci. and Tech.*, **7**(10), 1554-1560.
- Hartmann, H. T.; Kester, D. E.; Davies, F. T.; Geneve, R. L. (2002). "Plant Propagation Principles and Practices". 7th ed., Prentice Hall, Inc New Jersey. USA.
- Hong, Q.; Ying, Q.I.; He-ping, S. (2004). Tissue Culture and plant regeneration of *Petunia hybrida*. *Subtropical Plant Sci.*, **33**(1), 51-52.
- Hopkins, W. G.; Hiiner, N. P. A. (2004). "Introduction to Plant Physiology". 3rd ed. John Wiley and Sons. Inc.
- Karuppusamy, S. (2009). A Review on trends in production of secondary metabolites from higher plants by *In vitro* tissue, *Organ and cell cult.* *J. Medicinal Plants Res.*, **3**, 1222–1239.
- Kazemi, D.; Kaviani, B. (2017). Callus induction and organogenesis capacity from lamina explant of *Petunia × hybrida* F1 induced by BA and NAA. *J. Ornament Plants*, **7**(3), 157-162.
- Kulpa, D.; Nowak, N. (2011). *In vitro* flowering of *Petunia X atkinsiana* D. Don. *Polish Society for Horti. Sci.*, **23**(2), 125 -129.
- Mehri, S.; Ilkaee, M.N.; Saeedzadeh, F. (2018). A simple and rapid method for micropropagation of *Petunia × hybrida* F1 ‘Opera Supreme Pink Morn’. *J. Ornament Plants*, **8**(4), 255-263.
- Murashige, T.; Skoog, F.A. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.*, **15**, 473-477.
- Sink, K.C. (1984). "Taxonomy in Monographs on Theoretical and Applied Genetics 9: *Petunia*". (Sink, K.C., ed), Springer Verlag.
- Smith, R.H. (2000). "Plant Tissue Culture Techniques and Experiments". 2nd ed. Department of Soil and Crop Sciences Texas A and M University Collage Station Texas. International standard book number :0-12-650342-7.
- Tawfik, A.A.; Ibrahim, O.H.M.; Taha, M.A.A. (2019). Enhanced indirect organogenesis and efficient shoot multiplication of *Petunia hybrida*. *Egyptian J. Horti.*, **46** (1), 13-28.

***In Vitro* Propagation of *Petunia hybrida* Plant**

Amina A. Ahmed Bashar Z. Kassab Bashi Aysar M. Almemary

*Department of Horticulture and Landscape Design/ Collage of Agriculture and Forestry/
University of Mosul*

ABSTRACT

This study was carried out in the laboratory of cells and plant tissue culture at Department of Horticulture and Landscape Design, College of Agriculture and Forestry, Mosul University, to propagate *Petunia hybrida* cv. "grandiflora doppia miscuglio" *in vitro* through multiplication of shoot tips and nodes produced from axenic seedling by culturing them on MS medium supplemented with (0.0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0) mg/l BA. Shoot produced from multiplication stage were cultured on MS medium containing (0.0, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0) mg/l IBA. In addition, this study included culturing leaf explants and petioles on MS medium supplemented with different concentrations (0.0, 0.5, 1.0) mg/l BA and NAA (0.0, 0.1, 0.2, 0.3) mg/l. The results indicated that

highest shoots number 9.3 shoots/explants with 3.0 cm length were obtained from culturing shoot tips on MS medium supplemented with 2.0 mg/l BA as compared to nodes which gave 10.2 shoots/explants with 2.9 cm length when cultured on MS medium containing 1.0 mg/l BA after eight weeks. Highest rooting percentage 100% with highest roots number 12.4 were obtained from shoot tips that produced *during* multiplication stage on MS medium containing 0.25 mg/l IBA after four weeks. Highest fresh weight of callus was obtained from culturing leaf explants and petioles on MS medium supplemented with a combination of 1.0 mg/l BA and 0.2 mg/l NAA which reached to 1.237gm. and 1.346 gm. respectively. Leaf explants that cultured on MS medium supplemented with 1.0 mg/l BA and 0.1 mg/l NAA produced shoots with percent of 10% while highest percentage of shoots production 20% with 1.0 shoot/explant were achieved from differentiation of petiole callus cultured on MS medium supplemented with 1.0 mg/l BA and 0.2 mg/l NAA after 8 weeks. All plantlets produced from these experiments were acclimatized and transferred to field successfully.

Keywords: Multiplication, callus, BA, IBA, NAA, *Petunia*, *Petunia hybrida*.