Journal homepage
www.ajas.uoanbar.edu.iq
Anbar Journal of Agricultural Sciences
(University of Anbar – College of Agriculture)

تأثير بعض منظمات النمو النباتية في استحثاث الكالس من نبات القرع الطبي *Cucurbita pepo* var.styriaca خارج الجسم الحي

عمر عصام خضير * **شامل اسماعيل نعمة** **محمد خزعل حميد**

جامعة الانبار – كلية الزراعة **جامعة الانبار – مركز دراسات الصحراء** **جامعة الانبار _ كلية الزراعة**

***المراسلة الى:** عمر عصام خضير، البستنة وهندسة الحدائق، الزراعة، جامعة الانبار، الرمادي، العراق.

البريد الالكتروني: omar.isam@uoanbar.edu.iq

Article info

Received: 28-04-2020
Accepted: 25-07-2020
Published: 31-12-2020

DOI -Crossref:
10.32649/aagrs.2022.170538

Cite as:
Khudair O.I, S. I. Neamah and Hameed ،M. K. (2020). Effect of some plant growth regulators on the induction of callus from plant medicinal cucurbita pepo var.styriaca. Anbar Journal of Agricultural Sciences،18(2): 297–309.

©Authors, 2020, College of Agriculture, University of Anbar. This is an open-access article under the CC BY 4.0 license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

الخلاصة

نفذ هذا البحث في مختبر زراعة الأنسجة النباتية – مركز دراسات الصحراء – جامعة الأنبار لمعرفة تأثير بعض منظمات النمو في استحثاث الكالس من السويقة الجنينية لبادرات القرع الطبي. اذ شملت هذه المنظمات الاوكسين 2,4– D (Dichlorophenoxyacetic acid) بتركيز (0.0، 1.0، 2.0 و 3.0) ملغم لتر$^{-1}$ والسايتوكينين BA (Benzyl adenine) بتركيز (0.0، 0.5، 1.0 و 2.0) ملغم لتر$^{-1}$ والتداخل بينهما. كما استخدم السايتوكينين TDZ (Thidiazuron) بتركيز (0.00، 0.01، 0.05 و 0.10) ملغم لتر$^{-1}$ وبالتداخل مع الـ 2,4–D. واظهرت النتائج ان الوسط MS المعزز بتركيز 1.0 ملغم 2,4–D لتر$^{-1}$ اعطى اعلى نسبة استجابة لاستحثاث الكالس من السويقة الجنينية بلغت 87.5%، بينما اعطى التركيز 1.0 ملغم BA لتر$^{-1}$ اعلى نسبة استحثاث بلغت 92.5%، كما سجل التداخل بين 2.0 ملغم 2,4–D لتر$^{-1}$ و1.0 ملغم BA لتر$^{-1}$ اعلى وزن رطب وجاف بلغ 225.80 و23.34 ملغم بالتتابع. وبالنسبة لتأثير 2,4–D مع TDZ فقد اعطى التداخل بين التركيز 0.0 ملغم 2,4–D لتر$^{-1}$ و0.10 ملغم TDZ لتر$^{-1}$ اعلى نسبة استحثاث ووزن رطب وجاف للكالس قدره 100% و306.64 و30.0 ملغم بالتتابع.

كلمات مفتاحية: منظمات النمو، استحثاث الكالس، نبات القرع الطبي، 2,4-D، BA، TDZ.

EFFECT OF SOME PLANT GROWTH REGULATORS ON THE INDUCTION OF CALLUS FROM PLANT MEDICINAL *CUCURBITA PEPO VAR.STYRIACA*

O. I. Khudair* **S. I. Neamah** **M. k. Hameed**
Anbar of University **Anbar of University** **Anbar of University**
College of Agriculture **Center of Desert Studies** **College of Agriculture**

***Correspondence to**: Omar Isam Khudair, Department of Horticulture, College of Agriculture, University of Anbar, Ramadi, Iraq.
E-mail: omar.isam@uoanbar.edu.iq

Abstract

This research was carried out at the Plant Tissue Culture Laboratory – Center of Desert Studies – Anbar of University to study the effect of some growth regulators on the induction of callus from the hypocotyl of plant *Cucurbita pepo* var.styriaca. These regulators included 2,4-D (Dichlorophenoxyacetic acid) at a concentration of (0.0, 1.0, 2.0 and 3.0) mg l^{-1} and cytokinin BA (Benzyl adenine) at a concentration of (0.0, 0.5, 1.0 and 2.0) mg l^{-1}. Cytokinin TDZ (Thidiazuron) with a concentration of (0.00, 0.01, 0.05 and 0.10) mg l^{-1} was used and interfered with by the 2,4-D. The results showed that the medium MS supplemented with a concentration of 1.0 mg 2,4-D l^{-1} gave the highest response rate for callus induction from the hypocotyl at 87.5%, while the concentration gave 1.0 mg BA l^{-1} the highest induction rate of 92.5%,the interaction between 2.0 mg 2,4-D l^{-1} and 1.0 mg BA l^{-1} recorded the fresh weight and dry weight of 225.80 and 23.34 mg respectively. As for the effect of 2,4-D with TDZ, the interaction between concentration 0.0 mg 2,4-D l^{-1} and 0.10 mg TDZ l^{-1} gave the highest induction ratio, fresh and dry weight of callus 100%, 306.64 and 30.0 mg, respectively.

Keywords: Growth Regulators, Callus Induction, Cucurbita pepo var.styriaca, 2,4-D, BA, TDZ.

المقدمة

يعتبر نبات القرع الطبي *Cucurbita pepo* var. Styriaca، أحد أنواع الخضر التابعة للعائلة القرعية (Cucurbitaceae) والذي يمتاز بخصائصه التغذوية والعلاجية على حدٍ سواء، إذ يتصف باحتوائه على الكثير من المركبات الفينولية والكاروتينات (16). يستخدم القرع الطبي على نطاق واسع في جميع أنحاء العالم كعلاج بالأعشاب، يحتوي على العديد من المكونات النباتية التي تنتمي إلى فئات القلويدات والفلافونويد واحماض بالماتيك واوليك واللينوليك. لقد أثبتت العديد من الدراسات الدوائية نشاطه في حماية الكبد وتثبيط تضخم البروستاتا الحميد ومضاد لسكر الدم ومضاد للأكسدة والقرحة والسرطان والميكروبات والالتهابات (21). زراعة الأنسجة النباتية والمعروفة أيضاً بالزراعة خارج الجسم الحي هي تقانة لنمو الخلايا أو الأنسجة أو الأعضاء النباتية في اوساط غذائية تحتوي على العناصر المغذية والفيتامينات ومنظمات نمو النبات في ظل ظروف معقمة (24) . والكالس هو عبارة عن خلايا برنكيمية غير متمايزة تنشأ من مناطق القطع أو الجرح للأجزاء

النباتية المزروعة في الوسط الغذائي، وبذلك يتم الحصول على مظاهر مختلفة للكالس اعتمادا على مكونات الوسط الغذائي ونوع الجزء النباتي المستخدم (13). لمنظمات النمو دوراً كبيراً في تحفيز نشوء ونمو نسيج الكالس، فقد وجد أن للتوازن بين الأوكسينات والسايتوكينينات الدور الأكبر في هذا المجال، إذ يتطلب إضافتها بتراكيز محددة اعتماداً على التركيب الوراثي للنبات ونوع الجزء النباتي المزروع ومحتواه الداخلي من الهرمونات (11). ويعد الـ 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) من أكثر وأفضل الأوكسينات فعالية في إستحثات الكالس (25). كما يعد البنزيل ادنين (Benzyl adenine) احد هذه السايتوكينينات ويستخدم بشكل واسع في هذا المجال نتيجة تأثيره الفعال لاحتوائه على أكثر من آصرة مزدوجة (17). أما مركب الـ Thidiazuron (TDZ) فهو من مجموعة الـ Phenyl urea وله فعالية عالية تستمر لفترة طويلة نتيجة عدم تمثيله بواسطة أنزيم أكسدة السايتوكاينينات (23). تهدف هذه الدراسة الى اختبار تأثير الأوكسن 2,4-D وتداخله مع كل من السايتوكينين BA و TDZ في استحثاث أنسجة الكالس من السويقة الجنينية المستأصلة من بادرات نبات القرع الطبي والمزروعة خارج الجسم الحي.

المواد وطرائق العمل

تعقيم البذور:

اجريت عملية تعقيم بذور القرع الطبي بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (NaOCl) ذي التركيز 2% مادة فعالة واستخدم لهذا الغرض المحلول التجاري (القاصر) ذي التركيز 6% (3). تركت البذور في محلول التعقيم لمدة 10 دقائق مع التحريك المستمر، بعدها جرى غسل البذور بالماء المقطر المعقّم لثلاث مرات للتخلص من التأثير الضار للمادة المعقّمة، وبعد اكمال عملية التعقيم تم زراعة البذور في الوسط الغذائي (MS) خالٍ من منظمات النمو (18) في انابيب الزراعة (vials) ثم عقمت القناني الزجاجية الحاوية على الوسط الغذائي في جهاز الـ Autoclave. ومن الجدير بالذكر ان عملية التعقيم والزراعة تمت داخل كابينة انسياب الهواء الطبقي Laminar air flow hood ووضعت القناني داخل الحاضنة على درجة حرارة 25±2 °م وتحت شدة إضاءة 1000 لوكس ومدة 16 ساعة ضوء و 8 ساعات ظلام يومياً.

تأثير الـ 2,4-D والـ BA في استحثاث الكالس:

بعد انبات البذور والحصول على البادرات بطول ملائم، اخذت السويقة الجنينية السفلى وقطِعت الى اجزاء بطول 1سم وزرعت على وسط MS مجهز بتراكيز مختلفة من الـ 2,4-D (0.0، 1.0، 2.0 و 3.0) ملغم لتر$^{-1}$ وبالتداخل مع BA (0.0، 0.5، 1.0 و 2.0) ملغم لتر$^{-1}$ ضمن تجربة عاملية بعاملين (4 x 4) وبواقع 10 مكررات لكل معاملة وحضنت الزروعات في غرفة النمو (growth room) على درجة حرارة 25م° ±2 وظلام تام، ثم اخذت القياسات بعد 28 يوم من الزراعة.

تأثير الـ 2,4-D والـ TDZ في استحثاث الكالس:

تم تنفيذ تجربة عاملية بعاملين وأربعة تراكيز لكل عامل (4 x 4)، اذ تضمن العامل الأول الأوكسين 2,4-D بأربعة تراكيز هي (0.0، 1.0، 2.0 و 3.0) ملغم لتر$^{-1}$ والعامل الثاني هو السايتوكاينين TDZ بأربعة تراكيز

هي (0.00، 0.01، 0.05 و 0.10) ملغم لتر$^{-1}$ وشملت ظروف تنفيذ التجربة كما هو مذكور في الفقرة السابقة.

الصفات المدروسة:

شملت الصفات المدروسة للتجربتين أعلاه ما يلي:

نسبة الاستجابة لتكوين الكالس:

تم احتساب نسبة استجابة الأجزاء النباتية المزروعة لتكوين الكالس وفقاً للمعادلة الآتية:

$$\text{نسبة الاستجابة (\%)} = \frac{\text{عدد الاجزاء التي كونت كالس}}{\text{العدد الكلي للأجزاء المزروعة}} \times 100$$

حساب الوزن الرطب والجاف للكالس:

تم حساب الوزن الرطب بميزان حساس بعد التخلص من بقايا الوسط الغذائي الملتصقة به وتم تسجيل الوزن. ثم جفف الكالس في فرن كهربائي Oven على درجة حرارة 70°م وحتى ثبات الوزن وتم تسجيل الوزن الجاف (7). وبناءً على معيار الوزن الرطب للكالس المستحث تم اختيار أفضل معاملة من منظمي النمو واعتمادها في التجارب اللاحقة.

نسبة المادة الجافة:

تم حساب نسبة المادة الجافة في الكالس المستحث وفقاً للمعادلة التالية:

$$\text{نسبة المادة الجافة (\%)} = \frac{\text{الوزن الجاف}}{\text{الوزن الرطب}} \times 100$$

التحليل الاحصائي:

صُممت التجارب باستخدام التصميم العشوائي الكامل Complete Randomized Design (CRD) كتجارب عاملية وبواقع عشرة مكررات لكل معاملة وحللت البيانات باستخدام برنامج التحليل الاحصائي (Genstat Discovery, Edition 3)، وقورنت المتوسطات حسب اختبار اقل فرق معنوي L.S.D على مستوى احتمال 0.05 (6).

النتائج والمناقشة

تأثير الـ 2,4-D والـ BA في النسبة المئوية (%) لاستحثاث الكالس من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي *Cucurbita pepo* var. Styriaca :

يبين الجدول 1 ان التراكيز المختلفة من الـ 2,4-D قد اثرت معنويا في النسبة المئوية لاستحثاث الكالس من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي، اذ اعطى التركيز 1.0 ملغم لتر$^{-1}$ اعلى نسبة استحثاث للكالس بلغت 87.5% بينما سجلت معاملة المقارنة (0.0) ملغم لتر$^{-1}$ اقل نسبة استحثاث وقدرها 55.0%. كما يظهر من نتائج

الجدول نفسه وجود فروق معنوية في نسبة استحثاث الكالس تبعاً لزيادة تراكيز الـBA، اذ اعطى التركيز 1.0 ملغم لتر$^{-1}$ اعلى نسبة استحثاث وقدرها 92.5% وسجلت معاملة المقارنة (0.0 ملغم لتر$^{-1}$) اقل نسبة استحثاث للكالس بلغت 40.0%. بينما اظهرت نتائج التداخل بين الـ 2,4-D والـ BA بعدم وجود فروقات معنوية في النسبة المئوية لإستحثاث الكالس بين المعاملات المختلفة.

جدول (1) تأثير تراكيز مختلفة من الـ 2,4-D والـ BA في النسبة المئوية (%) لاستحثاث الكالس من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي *Cucurbita pepo* var. Styriaca.

تركيز الـ BA (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز الـ 2,4-D (ملغم لتر$^{-1}$)				معدل الـ BA
	0.0	1.0	2.0	3.0	
0.0	10.0	60.0	50.0	40.0	40.0
0.5	40.0	90.0	100.0	80.0	77.5
1.0	80.0	100.0	90.0	100.0	92.5
2.0	90.0	100.0	80.0	80.0	87.5
معدل الـ 2,4-D	55.0	87.5	80.0	75.0	
L.S.D	2,4-D	BA	2,4-D × BA		
	16.35**	16.35**	N.S		

تأثير الـ 2,4-D والـ BA في الوزن الرطب (ملغم) للكالس المستحث من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي :

يظهر الجدول 2 وجود تأثير معنوي للتراكيز المختلفة من الـ 2,4-D في الوزن الرطب (ملغم) للكالس المستحث من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي، اذ تظهر النتائج التركيز 2.0 ملغم لتر$^{-1}$ بتحقيقهِ لأعلى معدل للوزن الرطب بلغ 192.65 ملغم بينما سجلت معاملة المقارنة اقل معدل والذي بلغ 119.10ملغم. كما يبين الجدول 2 زيادة الوزن الرطب بزيادة تراكيز الـ BA، اذ سجل التركيز 1.0 ملغم لتر$^{-1}$ اعلى وزن رطب للكالس المستحث وبمعدل قدره 188.10 ملغم، وسجلت معاملة المقارنة اقل وزن رطب وقدره 143.25 ملغم. اظهر التداخل وجود فروق معنوية بين الـ 2,4-D والـ BA، اذ اعطى التركيز 2.0 ملغم لتر$^{-1}$ من الـ 2,4-D مع 1.0 ملغم لتر$^{-1}$ من الـ BA اعلى وزن رطب للكالس المستحث وبمعدل قدره 225.80 ملغم، بينما اعطت معاملة المقارنة لكل من 2,4-D والـBA اقل وزن رطب قدره 23.60 ملغم.

جدول 2 تأثير تراكيز مختلفة من الـ 2,4-D والـ BA في الوزن الرطب (ملغم) للكالس المستحث من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي.

تركيز الـ BA (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز الـ 2,4-D (ملغم لتر$^{-1}$)				معدل الـ BA
	0.0	1.0	2.0	3.0	
0.0	23.60	176.60	180.00	192.80	143.25
0.5	156.40	140.80	156.20	179.80	158.30
1.0	161.00	166.00	225.80	199.60	188.10
2.0	135.40	176.20	208.60	196.00	179.05
معدل الـ 2,4-D	119.10	164.90	192.65	192.05	
L.S.D	2,4-D	BA	2,4-D × BA		
	31.64**	31.64**	63.27**		

تأثير الـ 2,4-D والـ BA في الوزن الجاف (ملغم) للكالس المستحث من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي : يوضح الجدول 3 وجود تأثير معنوي للتراكيز المختلفة من الـ 2,4-D في الوزن الجاف (ملغم) للكالس المستحث من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي، اذ اعطى التركيز 2.0 ملغم لتر$^{-1}$ اعلى وزن جاف للكالس المستحث قدره 18.11 ملغم بينما سجلت معاملة المقارنة اقل وزن جاف وقدره10.91ملغم. ويبين الجدول 3 زيادة الوزن الجاف للكالس المستحث بزيادة تراكيز الـ BA، اذ اعطى التركيز 1.0 ملغم لتر$^{-1}$ وزن جاف قدره 18.92 ملغم بينما سجلت معاملة المقارنة اقل وزن جاف وقدره 8.86 ملغم. كما يظهر من الجدول نفسه وجود فروق معنوية للتداخل بين الـ 2,4-D والـ BA، اذ اعطى التركيز 2.0 ملغم لتر$^{-1}$ من الـ 2,4-D مع 1.0 ملغم لتر$^{-1}$ من الـ BA اعلى وزن جاف للكالس المستحث قدره 23.34 ملغم والذي اختلف معنويا عن باقي التراكيز، بينما اعطت معاملة المقارنة لكل من 2,4-D وBA اقل وزن جاف قدره 2.50 ملغم.

جدول 3 تأثير تراكيز مختلفة من الـ 2,4-D والـ BA في الوزن الجاف (ملغم) للكالس المستحث من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي *Cucurbita pepo* var. Styriaca.

تركيز الـ BA (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز الـ 2,4-D (ملغم لتر$^{-1}$)				معدل الـ BA
	0.0	1.0	2.0	3.0	
0.0	2.50	12.50	12.12	8.34	8.86
0.5	17.10	10.84	17.14	18.80	15.97
1.0	13.66	19.16	23.34	19.52	18.92
2.0	10.36	18.68	19.84	18.80	16.92
معدل الـ 2,4-D	10.91	15.29	18.11	16.36	
L.S.D	2,4-D	BA	2,4-D × BA		
	2.26**	2.26**	4.51**		

تأثير الـ 2,4-D والـ BA في نسبة المادة الجافة (%) للكالس المستحث من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي :

يبين الجدول 4 التأثير المعنوي بين تراكيز الـ 2,4-D المختلفة في نسبة المادة الجافة (%) للكالس المستحث من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي، ويتضح وجود فروق معنوية بين تراكيز الـ 2,4-D اذ ان التركيز 2.0 ملغم لتر$^{-1}$ اعطى اعلى نسبة مادة جافة من الكالس المستحث قدرها 9.63% وبذلك يتفوق معنويا على معاملة المقارنة (0.0) ملغم لتر$^{-1}$ والتي اعطت اقل نسبة مادة جافة قدرها 6.82 %. كما يوضح الجدول 4 وجود فروق معنوية بين تراكيز الـ BA، اذ تفوق معنويا التركيز 1.0 ملغم لتر$^{-1}$ والذي اعطى اعلى نسبة مادة جافة من الكالس المستحث قدرها 10.17% على معاملة المقارنة والتي اعطت اقل نسبة مادة جافة قدرها 5.01%. وبالنسبة للتداخل بين الـ 2,4-D والـ BA فقد اظهر وجود فروق معنوية، اذ تفوق التركيز 1.0 ملغم لتر$^{-1}$ من 2,4-D مع 1.0 ملغم لتر$^{-1}$ من BA في اعطائه اعلى نسبة مادة جافة من الكالس المستحث قدرها 11.57%، بينما اعطت معاملة المقارنة لكل من 2,4-D وBA اقل نسبة مادة جافة وقدرها 2.12%.

جدول 4 تأثير تراكيز مختلفة من الـ 2,4-D والـ BA في نسبة المادة الجافة (%) في الكالس المستحث من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي *Cucurbita pepo* var. Styriaca.

تركيز الـ BA (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز الـ 2,4-D (ملغم لتر$^{-1}$)				معدل الـ BA
	0.0	**1.0**	**2.0**	**3.0**	
0.0	2.12	7.20	6.97	3.76	**5.01**
0.5	8.83	7.75	11.24	11.46	**9.82**
1.0	8.63	11.57	10.36	10.11	**10.17**
2.0	7.71	11.15	9.94	10.38	**9.80**
معدل الـ 2,4-D	**6.82**	**9.42**	**9.63**	**8.93**	
L.S.D	**2,4-D**	**BA**	**2,4-D × BA**		
	1.79**	**1.79****	**N.S**		

تأثير الـ 2,4-D والـ TDZ في النسبة المئوية (%) لاستحثاث الكالس من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي :

يتضح من نتائج الجدول 5 وجود تأثير معنوي للتراكيز المختلفة من الـ 2,4-D في النسبة المئوية (%) لاستحثاث الكالس من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي، ويتضح وجود فروق معنوية بين تراكيز الـ 2,4-D اذ ان معاملة المقارنة (0.0) ملغم لتر$^{-1}$ تفوقت معنويا في اعطاء اعلى نسبة استحثاث قدرها 60.0% على التركيز 3.0 ملغم لتر$^{-1}$ والذي اعطى نسبة استحثاث قدرها 17.5%. كما يبين الجدول نفسه عدم وجود فروق معنوية بين تراكيز الـ TDZ. اما التداخل بين الـ 2,4-D والـ TDZ فقد اظهر وجود فروق معنوية، اذ اعطى التداخل بين معاملة المقارنة (0.0) ملغم لتر$^{-1}$ من 2,4-D مع 0.10 ملغم لتر$^{-1}$ من TDZ اعلى نسبة استحثاث قدرها 100.0%،

بينما اعطى التداخل بين معاملة المقارنة لكل من 2,4-D وTDZ والتداخل بين التركيز 3.0 ملغم لتر$^{-1}$ من 2,4-D والتركيز 0.01 و0.05 ملغم لتر$^{-1}$ من TDZ اقل نسبة استحثاث وقدرها 0.0%.

جدول 5 تأثير تراكيز مختلفة من الـ 2,4-D والـ TDZ في النسبة المئوية (%) لاستحثاث الكالس من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي *Cucurbita pepo* var. Styriaca.

تركيز الـ TDZ (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز الـ 2,4-D (ملغم لتر$^{-1}$)				معدل الـ TDZ
	0.0	**1.0**	**2.0**	**3.0**	
0.00	0.0	50.0	40.0	40.0	**32.5**
0.01	60.0	40.0	60.0	0.0	**40.0**
0.05	80.0	70.0	40.0	0.0	**47.5**
0.10	100.0	30.0	40.0	30.0	**50.0**
معدل الـ 2,4-D	**60.0**	**47.5**	**45.0**	**17.5**	
L.S.D	**2,4-D**	**TDZ**	**2,4-D × TDZ**		
	19.21**	**N.S.**	**38.42****		

تأثير الـ 2,4-D والـ TDZ في الوزن الرطب (ملغم) للكالس المستحث من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي :

يبين الجدول 6 وجود تأثير معنوي للتراكيز المختلفة من الـ 2,4-D في الوزن الرطب (ملغم) للكالس المستحث من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي، ويظهر فروق معنوية بين تراكيز الـ 2,4-D، اذ اعطت معاملة المقارنة (0.0) ملغم لتر$^{-1}$ اعلى وزن رطب للكالس المستحث وقدره 202.60 ملغم وبذلك يتفوق معنويا على باقي تراكيز الـ 2,4-D (1.0، 2.0، 3.0) ملغم لتر$^{-1}$ والتي اعطت وزن رطب قدره 130.40 و143.34 و 73.03ملغم على التوالي.

وتبين نتائج الجدول 6 زيادة الوزن الرطب بزيادة تراكيز الـ TDZ، اذ اعطى التركيز 0.10 ملغم لتر$^{-1}$ اعلى وزن رطب للكالس المستحث قدره 166.32 ملغم وبذلك يتفوق معنويا على معاملة المقارنة (0.0) ملغم لتر$^{-1}$ وعلى التركيز 0.01 ملغم لتر$^{-1}$ اذ اعطى كل منهما وزن رطب قدره 117.31 و115.01 ملغم على التوالي. وبالنسبة للتداخل فقد اظهر وجود فروق معنوية بين الـ 2,4-D والـ TDZ، اذ اعطى التداخل بين معاملة المقارنة لـ 2,4-D والتركيز 0.10 ملغم لتر$^{-1}$ من الـ TDZ اعلى وزن رطب للكالس المستحث وقدره 306.64 ملغم، بينما سجل التداخل بين معاملة المقارنة لـ 2,4-D والـ TDZ والتداخل بين التركيز 3.0 ملغم لتر$^{-1}$ من 2,4-D و0.01 و0.05 من TDZ اقل وزن رطب وقدره 0.0 ملغم.

جدول 6 تأثير تراكيز مختلفة من الـ 2,4-D والـ TDZ في الوزن الرطب (ملغم) للكالس المستحث من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي *Cucurbita pepo* var. Styriaca.

تركيز الـ TDZ (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز الـ 2,4-D (ملغم لتر$^{-1}$)				معدل الـ TDZ
	0.0	**1.0**	**2.0**	**3.0**	
0.00	0.00	161.34	140.44	167.46	**117.31**
0.01	228.96	105.84	125.24	0.00	**115.01**
0.05	274.80	146.12	181.94	0.00	**150.71**
0.10	306.64	108.30	125.72	124.64	**166.32**
معدل الـ 2,4-D	**202.60**	**130.40**	**143.34**	**73.03**	
L.S.D	**2,4-D**	**TDZ**	**2,4-D × TDZ**		
	38.61**	**38.61****	**77.23****		

تأثير الـ 2,4-D والـ TDZ في الوزن الجاف (ملغم) للكالس المستحث من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي :

يوضح الجدول 7 وجود تأثير معنوي للتراكيز المختلفة من الـ 2,4-D في الوزن الجاف (ملغم) للكالس المستحث من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي، ويظهر وجود فروق معنوية بين تراكيز الـ 2,4-D، اذ اعطت معاملة المقارنة (0.0) ملغم لتر$^{-1}$ اعلى وزن جاف للكالس المستحث وقدره 18.37 ملغم وبذلك تفوقت معنويا على باقي تراكيز الـ 2,4-D (1.0، 2.0، 3.0) ملغم لتر$^{-1}$ والتي اعطت وزن جاف قدره 10.52 و11.03 و5.54 ملغم على التوالي. ومن نفس الجدول يتضح زيادة الوزن الجاف للكالس المستحث بزيادة تراكيز الـ TDZ، اذ تفوق التركيز 0.10 ملغم لتر$^{-1}$ معنويا في اعطائه اعلى وزن جاف قدره 14.04 ملغم على التركيز (0.0، 0.01) ملغم لتر$^{-1}$ والذي اعطى وزن جاف قدره 9.74 و10.68 ملغم على التوالي. كما يظهر وجود فروق معنوية للتداخل بين الـ 2,4-D والـ TDZ، اذ اعطى التداخل بين معاملة المقارنة لـ 2,4-D والتركيز 0.10 ملغم لتر$^{-1}$ من الـ TDZ اعلى وزن جاف قدره 30.00 ملغم، بينما سجل التداخل بين معاملة المقارنة (0.0) ملغم لتر$^{-1}$ لـ 2,4-D والـ TDZ والتداخل بين التركيز 3.0 ملغم لتر$^{-1}$ من 2,4-D والتركيز 0.01 و0.05 ملغم لتر$^{-1}$ من TDZ اقل وزن جاف وقدره 0.0 ملغم.

جدول 7 تأثير تراكيز مختلفة من الـ 2,4-D والـ TDZ في الوزن الجاف (ملغم) للكالس المستحث من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي *Cucurbita pepo* var. Styriaca.

تركيز الـ TDZ (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز الـ 2,4-D (ملغم لتر$^{-1}$)				معدل الـ TDZ
	0.0	1.0	2.0	3.0	
0.00	0.00	17.36	10.18	11.40	9.74
0.01	22.20	8.74	11.76	0.00	10.68
0.05	21.26	10.46	12.26	0.0	11.00
0.10	30.00	5.50	9.90	10.74	14.04
معدل الـ 2,4-D	18.37	10.52	11.03	5.54	
L.S.D	2,4-D	TDZ	2,4-D × TDZ		
	3.07**	3.07*	6.13**		

تأثير الـ 2,4-D والـ TDZ في نسبة المادة الجافة (%) للكالس المستحث من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي : يبين الجدول 8 التأثير المعنوي بين تراكيز مختلفة من الـ 2,4-D في نسبة المادة الجافة (%) للكالس المستحث من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي، ويظهر فروق معنوية بين تراكيز الـ 2,4-D، اذ اعطى التركيز 1.0 ملغم لتر$^{-1}$ اعلى نسبة مادة جافة للكالس المستحث قدرها 7.17% وبذلك يتفوق معنويا على التركيز 3.0 ملغم لتر$^{-1}$ والذي اعطى اقل نسبة مادة جافة قدرها 3.90%. ويبين نفس الجدول عدم وجود فروق معنوية بين تراكيز الـ TDZ. كما يظهر الجدول 8 وجود فروق معنوية للتداخل بين الـ 2,4-D والـ TDZ، اذ اعطى التداخل بين التركيز 1.0 ملغم لتر$^{-1}$ من 2,4-D مع معاملة المقارنة لـ TDZ اعلى نسبة مادة جافة للكالس المستحث وقدرها 11.74%، بينما سجل التداخل بين معاملة المقارنة (0.0) ملغم لتر$^{-1}$ لـ 2,4-D والـ TDZ والتداخل بين التركيز 3.0 ملغم لتر$^{-1}$ من 2,4-D والتركيز 0.01 و0.05 ملغم لتر$^{-1}$ اقل نسبة مادة جافة وقدرها 0.0%.

جدول 8 تأثير تراكيز مختلفة من الـ 2,4-D والـ TDZ في نسبة المادة الجافة (%) للكالس المستحث من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي *Cucurbita pepo* var. Styriaca.

تركيز الـ TDZ (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز الـ 2,4-D (ملغم لتر$^{-1}$)				معدل الـ TDZ
	0.0	1.0	2.0	3.0	
0.00	0.00	11.74	5.71	6.91	6.09
0.01	10.30	6.63	9.66	0.00	6.65
0.05	7.86	7.26	5.38	0.00	5.13
0.10	9.93	3.04	6.30	8.68	6.99
معدل الـ 2,4-D	7.02	7.17	6.76	3.90	
L.S.D	2,4-D	TDZ	2,4-D × TDZ		
	1.86**	N.S	3.73**		

تشير نتائج الجدول 1 و5 الى استحثاث الكالس باستخدام تراكيز مختلفة من الـ 2,4-D، اذ يعد الـ 2,4-D من أكثر الأوكسينات الفعالة التي تستعمل في مجال استحثاث الكالس بسبب عمله في انقسام الخلايا واستطالتها وتثبيط تكوين الأعضاء (12). وتتفق النتائج مع (15 و22). كما يبين الجدول 1 إن تأثير تراكيز الـ BA في استحثاث الكالس يعزى الى الفعل التحفيزي للسايتوكينين في استحثاث خلايا الاجزاء المزروعة على الانقسام، فضلاً عن ذلك اشار الكثير من الباحثين الى دور السايتوكينين في استحثاث الكالس بالتراكيز الملائمة في الزراعة النسيجية (26). وتتفق النتائج مع (8 و4). ويظهر الجدول 5 تأثير الـ TDZ في استحثاث الكالس من السويقة الجنينية السفلى لبادرات القرع الطبي بتراكيز مختلفة. وتفسير ذلك ان الدراسات اظهرت ضرورة توافر او وجود الاوكسين بتركيز معين مع السايتوكينين لحصول الانقسام وتكوين الكالس (2). وهذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه (20 و19 و10).

وبالنسبة لتأثير الاوكسينات والسايتوكينينات على صفات الوزن الرطب والجاف ونسبة المادة الجافة فيوضح الجدول 2 و3 و4 و6 و7 و8 زيادة الوزن الرطب والجاف ونسبة المادة الجافة بزيادة تراكيز الـ 2,4-D والـ BA والـ TDZ، وقد يعود السبب الى ان الاوكسينات تؤثر بصورة مباشرة في توسع الخلايا وانقسامها من خلال زيادة نشاط بعض الإنزيمات أو بنائها والمسؤولة عن زيادة ليونة الجدران الخلوية وزيادة نفاذيتها أو قد تؤثر في ايض الحوامض النووية وبالتالي تؤثر على بناء بعض البروتينات الهامة التي تشترك في زيادة ليونة الجدار (9). اما تأثير الـ BA والـ TDZ في الوزن الرطب والجاف ونسبة المادة الجافة قد يعود الى ان السايتوكينينات وخاصة البنزل ادنين BA تشجع في استقطاب المغذيات الى الخلايا المعاملة بها وتحفيز انقسام الخلايا فضلا عن اعاقة هدم البروتين وتحفيز انزيمات البناء الضوئي الذي ينعكس اثاره في زيادة حجم الخلية وتشجيع عملية الانقسام خاصة عندما تصل حالة التوازن المثالية، كما يؤدي ايضا الى زيادة بناء الـ RNA والبروتينات والانزيمات داخل الخلية (5). وتتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه (14 و4 و1).

المصادر

1. Abdel-Razzaq, B. M., S. H. Mahmoud., K. M. Ibrahim. (2014). Effect of some physical stimulative on the production of secondary metabolites of the *Hypericum triquetrifolium in vitro*. Engineering and Technology Journal, 32 (2) Part (B) Scientific, 1-7.
2. Al-Khafaji, M. A. (2014). Plant growth regulators their gardening applications and horticultural uses.
3. Al-Marsumi, H. I. R. (2010). Effect of the components of the nutritional medium and the cultivated plant part on the composition of callus and the production of some compounds of medicinal uses in the salivary plant *Saliva officinalis*, Master Thesis, Department of Horticulture, College of Agriculture, Baghdad of University. Iraq.
4. Al-Naeimi, A. N., and I. Y. Abdallah. (2012). Effect of growth regulators and the medium of the MS axis on the tissue culture of the *cucurbita pepo* squash. Research Journal of the College of Basic Education, 12 (2), 675-690.

5. Al-Rifai, A. T., and S. A. Al-Shobaki. (2002). 21st century techniques for plant improvement using tissue culture. Arab Thought House - Cairo - Egypt.

6. Al-Sahuki, M., and k. M. wahayb. (1990). Applications in designing and analyzing experiments. Baghdad of University. Ministry of Higher Education and Scientific Research, Iraq.

7. Al-Sahaf, F. H. (1989). Applied plant nutrition. Baghdad of University - Ministry of Higher Education and Scientific Research. Iraq.

8. Balogun, M. O., S. R. Akande., and B. A. Ogunbodede. (2007). Effects of plant growth regulators on callus, shoot and root formation in fluted pumpkin (*Telfairia occidentalis*). African Journal of Biotechnology, 6(4).

9. Davies, P.J. (2004). Plant Hormones. Biosynthesis, Signal Transduction, Action. Kluwer Academic Publishers.

10. Erişen, S., E. Atalay., and M. Yorgancilar. (2011). Effect of thidiazuron on the *in vitro* shoot development of endemic *Astragalus cariensis* in Turkey. Turkish Journal of Botany, 35(5), 521-526.

11. Fahmi, F. J. M. (2003). Plant tissue culture - Scientific books house for publication and distribution. Egypt - Cairo - college of Agriculture, Assiut of University.

12. George, E. F., M. A. Hall., and G. J. De Klerk. (2008). Plant growth regulators I: Introduction; auxins, their analogues and inhibitors. In Plant propagation by tissue culture (pp. 175-204). Springer, Dordrecht.

13. George, E.F., and P.D. Sherrington. (2008). Plant propagation by tissue culture. Fourth edition. Ltd. England.

14. Hamad, M. S., and N. J. Jasim. (2011). Effect of the components of the nutrient medium and the plant part on the stimulation of callus of belladonna plants outside the living body. Iraqi Agricultural Science Journal, .42 (3), 59-70.

15. Haque, M. E., M. A. R. Sarkar., M. A. Mahmud., D. Rezwana., and B. Sikdar. (2008). *In vitro* propagation of pumpkin and ash gourd through nodal segments. Journal of Bio-Science, 16, 67-71.

16. Kulczyński, B., and A. Gramza-Michałowska. (2019). The profile of secondary metabolites and other bioactive compounds in *Cucurbita pepo* L. and *Cucurbita moschata* pumpkin cultivars. Molecules, 24(16), 2945.

17. Krishnamurthy, K. V., D. A. Godbole., and A. F. Mascarenhas. (1984). Studies on a drought resistant legume: The moth bean, *Vigna aconitifolia* (Jacq) marechal. I. Protoplast culture and organogenesis. Plant cell reports, 3(1), 30-32.

18. Murashige, T., and F. Skoog. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia plantarum, 15(3), 473-497.

19. Ninković, S., T. Djordjević., B. Vinterhalter., B. Uzelac., A. Cingel., J. Savić., and S. Radović. (2010). Embryogenic responses of *Beta vulgaris* L. callus induced from transgenic hairy roots. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 103(1), 81-91.

20. Pal, S. P., I. Alam., M. Anisuzzaman., K. K. Sarker., S. A. Sharmin., and M. F. ALAM. (2007). Indirect organogenesis in summer squash (*Cucurbita pepo* L.). Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 31(1), 63-70.

21. Ratnam, N., M. N. Vandana., and M. D. Ibrahim. (2017). A review on *Cucurbita pepo*. Int. J. Pharm. Phytochem. Res, 9, 1190-1194.

22. Sakpere, A. M. A., S. A. Ajayi, and A. A. Adelusi. (2014). Effect of growth regulators and explant types on callus induction in *Telfairia occidentalis* hook F. African Journal of Biotechnology, 13(20).

23. Shudo, K. (1994). Chemistry of Phenyl urea cytokinines. In: Cytokinines Chemistry: Activity and Function .eds. D. W. S. Mok and M. C. Mok. pp. 338 Corvallis: CRC. Press.

24. Singh, M. P., and S. Kumar. (2009). Plant tissue culture. APH Publishing.

25. Staba, E. J. (2000). Plant Tissue Culture as a source of biochemical. CRC press , INC. Boco Raton, florida. pp: 1 – 271.

26. Taiz , L., and E. Zeiger. (2010). Plant Physiology. 5th ed. Sinauer Assciates, Inc. Publishers Sunderland.