**تأثير التوافقات الهرمونية المختلفة على إكثار الداتورة سترامونيوم *Datura stramonium* بالزجاج**

**لما الصواف 1، يوسف العموري 2، سليم زيد 3**

1: طالبة ماجستير في كلية العلوم، قسم الحياة النباتية.

2: دكتور باحث في الهيئة العامة للتقانة الحيوية، دمشق.

3: أستاذ دكتور في كلية العلوم، قسم الحياة النباتية.

**الملخص**

أجري هذا البحث في مخبر بيوتكنولوجيا النباتات الطبية والعطرية /الهيئة العامة للتقانة الحيوية/ خلال الفترة 2012-2014، وذلك بهدف دراسة تأثير بعض منظمات النمو النباتية على طول نبات الداتورة *Datura stramonium*  وعدد الفروع وعدد الأوراق. عقمت البذور بهيبوكلوريت الصوديوم وزرعت على وسط MS الخالي من الهرمونات وذلك بهدف تأمين المادة النباتية الكافية للدراسة، وبعد نجاح الزراعات التأسيسية نقلت إلى أوساط الإكثار المدعمة بتراكيز مختلفة من الأوكسينات NAA)أو IBA) بتركيز 1 مغ/ل والسيتوكينينات (BAPأو K) بتركيز (0.5, 1, 1.5, 2) مغ/ل وحضنت بدرجة حرارة 24±2 م وتحت شدة ضوئية 3000 لوكس، ومن ثم نقلت إلى أوساط التجذير المدعمة بـ (0.1، 0.5، 1، 2) مغ/ل من هرمون التجذير IBA وحسبت النسبة المئوية لتشكل الجذور بعد 40 يوماً من الزراعة على وسط التجذير. بينت النتائج كفاءة هيبوكلوريت الصوديوم في عملية التطهير السطحي للبذور حيث تفوق التركيز 0.5 لمدة 10 دقائق على باقي التراكيز المستخدمة وأعطى متوسط نسبة إنبات 28%، أما بالنسبة لمعاملات الإكثار فقد تفوق الشاهد بصفة متوسط طول النبات بمقدار 2.04سم وبشكل معنوي على جميع المعاملات، في حين أثرت أغلب التوليفات الهرمونية المستخدمة بالزيادة على كل من عدد الفروع وعدد الأوراق، حيث تفوقت المعاملتين MS3, MS4 بصفة متوسط عدد الفروع بمقدار (3.43، 3.53) على التوالي، كما تفوقت المعاملتين MS3, MS4 بالنسبة لمتوسط عدد الأوراق وبمتوسط (12.91، 14.64) على التوالي. أما أعلى نسبة تشكل للجذور فقد بلغت عند استخدام التركيز 2 مغ/ل من IBA وبلغت 75%.

**الكلمات المفتاحية:**

داتورة سترامونيوم *Datura stramonium*، زراعة الأنسجة، الإكثار الدقيق، منظمات النمو.

**Micropropagation of *Datura stramonium plant***

***Lama al-Ssawaf, Youssef Al-Ammouri, SaleemZaid***

**Abstract**

This search was carried out in laboratory of Biotechnology of Medicinal and Aromatic Plants in National Commission for Biotechnology during 2012-2014, for studying effect of some growth regulators on length and number both of leaves and branches of *Datura stramonium* plant. Seeds were surface disinfected by sodium hypochlorite and planted on free of growth regulators MS medium, where after, they were placed onto MS basal medium supported with 1mg\L IBA or NAA and (0.5, 1, 1.5, 2) mg\L BAP or K. Cultures were incubated in the growth room at 24 ±2 c and light intensity of 3000 luxat the cultures level. After that, plants were placed onto rooting media containing different concentration of IBA (0, 0.1, 0.5, 1, 2) mg\L.

Results showed that concentration 0.5 of sodium hypochlorite for 10 minutes was the best and gave 28% of germination per cent in average. While in multiplication media, control exceeded in length plant parameter in average 2,04 cm compression with all other treatments, but growth regulators increased the number both of branches and leaves, where MS3 and MS4 media exceeded in average of branches number ( 3.43-3.53 ) and (12.91، 14.64)for leaves number respectively. Higher root formation percent was 75% in MS medium supported with 2 mg\L IBA.

**Key Words:** *Datura stramonium*, tissue culture, micropropagation, growth regulators.

**المقدمة:**

ينتمي نبات الداتورة *D.stramonium* إلى الفصيلة الباذنجانية التي تحوي حوالي 96 جنس و3000 نوع، معظم نباتاتها عشبية وبعضها شجيرات صغيرة أو جنيبات أو أشجار، وقد تكون متسلقة أو درنية أو ريزومات (الصباغ, 1981). تنتشر نباتاتها في أمريكا الجنوبية, وتكون واسعة الانتشار في المناطق المعتدلة وتنمو بصعوبة في بعض المناطق الاستوائية.**و**تعد أوروبا الموطن الأصلي لنبات الداتورة وإن كان منتشراً في قارات آسيا وأمريكا وفي أنحاء مختلفة من العالم، وخاصة في المناطق المدارية وشبه المدارية مثل كورسيكا وفرنسا (الصباغ والقاضي 2003, الخطيب وآخرون,(2006,

يعد نبات الداتورة أحد النباتات الطبية (Medicinal Plant) المهمة في العالم لاحتوائها على العديد من المركبات الكيميائية الفعالة بيولوجياً مثل المركبات القلويدية(Alkaloid Compounds))خاصة قلويدات التروبان (الدجوي ، 1996 ، والربيعي ، 1999، والملاح وأواب، 2001، الخالدي ، 2005 )،والتي تعد من أهم العقاقير المسكنة للجملة العصبية المركزية وشالة للجملة العصبية نظيرة الودية، كما تستخدم في معالجة داء باركنسون Roddick. 1991)).

حيث استطاع العالم Stoerck عام 1762 أن يدخل نبات الداتورة سترامونيوم *D.stramonium* الشهير بسميته في تركيب بعض المواد الطبية لمعالجة بعض الأمراض الهامة، كداء النقطة والتشنجات والاختلاجات والاضطرابات العقلية. كما أكدت دراسات أخرى أن الأدوية الحاوية على نسبة من هذا النبات في تركيبها قد نجحت في معالجة حالات الاضطرابات العقلية والعديد من الأمراض الأخرى.

غير أنه في الطب الشعبي عندما تصبح بعض النباتات بشكل فجائي ذات أهمية للعالم كمصدر للمواد البيولوجية الفعالة، فإن المصادر البرية المحلية تصبح مهددة بالاستنزاف، وهذا ما يجعل من تقنيات زراعة الأنسجة أداة بديلة لإنتاج هذه المركبات في ظروف مثالية بعيداً عن تأثير عوامل الجو والحشرات والأمراض وغيرها من المؤثرات الخارجية (Saidon, 2008).

فقد أكد (Gamborg*et al.,* 1968) أنهيمكن الحصول على عدد كبير من البراعم بتكاثر البرعم الإبطي في العقد الساقية المزروعة في وسط MSالمدعم بـBA وNAA،وبهدف تجذير هذه البراعم النامية فصلت وزرعت في وسط MS ووسط B5 بدون منظمات نمو ومع أو بدون الفحم النشط (3غرام) من أجل تعزيز تشكيل الجذور والاستطالة.

كما درس (Muthukumar*et al*., 2004) إمكانية الإكثار الدقيق لنبات الداتورة *Datura metel* من الزراعة المخبرية للعقد الساقية حيث زرعت الأجزاء النباتية على وسط MS المزود بـ BAP وNAA، حيث وجد أن النسبة المئوية لتكاثر النبيتات وصلت إلى 70%, بينما في نبات *Datura insignis* وجد أن السيتوكينين (BA) لوحده كان فعال من أجل حث وتحريض تكاثر النبات. وزراعة الأجزاء النباتية العقدية لنبات السولانم *Solanum viarum* أنتجت عدد عالي من النبيتات على وسط MS المزود بـ BAP لوحده. والنبيتات المتجددة من الزراعة المخبرية للأجزاء النباتية العقدية أعيدت زراعتها على نفس الوسط من أجل الاستطالة ومن ثم نقلت إلى وسط التجذير الحاوي IBA. حيث تشكلت الجذور بعد 10- 15 يوم من النقل إلى وسط التجذير.وهذه النتيجة لوحظت في نبات الداتورة *Datura metel* ونبات*Hybanthus ennaespermus*.

ومن هنا كان لا بد من التفكير بطريقة تضمن الحصول على المركبات القلويدية لنبات الداتورة *D. Stramonium* بكميات جيدة.

**أهداف البحث:**

هدف هذا البحث إلى إيجاد بروتوكول إكثار لنبات الداتورة *D. Stramonium* بأعداد كبيرة بهدف الحصول على كميات مناسبة أو جيدة من قلويدات التروبان.

**مواد البحث وطرائقه Materials and Methods:**

**4- 1- مكان تنفيذ البحث:**

تم تنفيذ هذا البحث في مخبر بيوتكنولوجيا النباتات الطبية (Laboratory of Biotechnology of Medecinal and Aromatic Plants) في الهيئة العامة للتقانة الحيوية خلال الفترة 2012- 2014.

**4- 2- المادة النباتية :**

جمعت بذور نبات الداتورة *D.stramonium* من منطقة القلمون في ريف دمشق خلال جولات حقلية عام 2012.

**4- 3- الزراعة المخبرية:**

1. **تحضير الأوساط المغذية وتعقيمها:**
* **وسط الزراعة الأولية:**

تم تحضير الوسط المغذي MS (Murashige & Skooge, 1962 ) وتوزيعه في أنابيب اختبار زجاجية من نوع بيركس قياس 150x 25مم بمعدل 15مل/ أنبوب، ثم سدت الأنابيب بسدادات قطنية، وعقمت بالأوتوكلاف (Autoclave) على درجة 121 درجة مئوية لمدة 20 دقيقة، وتركت لتبرد حتى تصبح جاهزة للزرع.

**أوساط الإكثار الخضري:**

بعد زراعة البذور على وسط الزراعة الأولية MSالخالي من الهرمونات، ونقل النبيتات الناتجة إلى نفس الوسط عدة مرات بهدف تأمين المادة النباتية الكافية للدراسة، استخدمت عدة توافقات هرمونية متضمنة الأوكسينات إندول بيوترك أسيد (**(IBA** ونفتالين أسيتك أسيد **(NAA**) والسيتوكينينات بنزيل أمينو بورين **BAP)**) والكينيتين (**(k** بتراكيز مدروسة، وذلك بغية تحديد التوليفة الهرمونية الأنسب والأمثل لإعطاء أفضل نمو وأفضل عدد نموات وعدد أوراق من نبات الداتورة سترامونيوم *D. stramonium*، كما هو موضح في الجدول رقم (1).

* **أوساط التجذير:**

استخدم وسط MS بكامل قوة الأملاح والمدعم بتراكيز مختلفة من الأوكسين IBA (0، 0.1، 0.5، 1، 2 مغ/ل) وذلك بهدف تجذير الأفرع الخضرية الناتجة عن معاملات الإكثار السابقة، أخذت نسبة تشكل الجذور بعد 4 أسابيع من الزراعة على أوساط التجذير .

**الجدول (1): التوافقات الهرمونية المستخدمة في إكثار *D. stramonium* مخبرياً (التراكيز µL)**

|  |  |
| --- | --- |
| **رمز الوسط** | **منظمات النمو (التركيز µL)** |
| **BAP** | **Kin** | **IBA** | **NAA** |
| **MS0** | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **MS1** | 0,5 |  | 1 |  |
| **MS2** | 1 |  | 1 |  |
| **MS3** | 1,5 |  | 1 |  |
| **MS4** | 2 |  | 1 |  |
| **MS5** | 0,5 |  |  | 1 |
| **MS6** | 1 |  |  | 1 |
| **MS7** | 1,5 |  |  | 1 |
| **MS8** | 2 |  |  | 1 |
| **MS9** |  | 0,5 | 1 |  |
| **MS10** |  | 1 | 1 |  |
| **MS11** |  | 1,5 | 1 |  |
| **MS12** |  | 2 | 1 |  |
| **MS13** |  | 0,5 |  | 1 |
| **MS14** |  | 1 |  | 1 |
| **MS15** |  | 1,5 |  | 1 |
| **MS16** |  | 2 |  | 1 |

**2- تحضير الخزعات النباتية وتعقيمها Surface disinfection of Explants:**

**2-1 التطهير السطحي للبذور:**

غسلت البذور بالماء الجاري لمدة 30 دقيقة ثم نقعت بحمض الكبريت 0,4N لمدة 10 دقائق بهدف تخريش غلاف البذور الذي يعد من أهم معوقات إنبات بذور الداتورة، غمرت بعدها البذور بالكحول الإيتيلي 70% لمدة دقيقة واحدة ثم نقلت إلى هيبوكلوريت الصوديوم NAOCL الذي استخدم كمادة مطهرة بعدة تراكيز ولفترات زمنية مختلفة كما هو موضح في الجدول (2) ، غسلت بعدها بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات متتالية بمعدل خمس دقائق في كل مرة، ثم تركت مكشوفة لمدة 30 دقيقة حتى تجف هوائياً وتصبح جاهزة للزرع. وأجريت عمليتا الغسل النهائي والزرع في شروط تعقيم صارمة تحت جهاز العزل الجرثومي (Laminar airflow hood) من النوع JSCR-1200 SB.

**2-2- طريقة الزرع:**

تم زرع 21 مكرر لكل معاملة (تركيزXمدة) موزعة بمعدل بذرة واحدة في كل مكرر, وحضنت بعدها في درجة حرارة 2 ± 24 درجة مئوية حتى إنبات البذور, ثم حسبت نسبة الإنبات والتلوث بعد أسبوع من الزرع، ثم نقلت النباتات النامية بعد شهر من بدء الزراعة إلى وسط جديد له نفس تركيب وسط الزراعة الأولية ومدعم بالجبريلين GA3 (200 ميكرولتر/ لتر) وذلك لضمان استطالة النباتات إلى حين توفير الكمية المطلوبة والكافية للدراسة، ثم زرعت النباتات الناتجة على وسط الزراعة الأولية الخالي من الجبيريلين مرتين متتاليتين للتخلص من أثاره في النباتات عند زراعتها على أوساط الإكثار.

**الجدول (2): تركيز هيبوكلوريت الصوديوم المستخدم في مرحلة الزراعة الأولية**

|  |  |
| --- | --- |
| **تركيز هيبوكلوريت الصوديوم%** | **المدة** |
| 0,5 | 5د – 10د- 15د |
| 1 | 5د – 10د- 15د |
| 1,5 | 5د – 10د- 15د |
| 3 | 5د – 10د- 15د |
| 4,5 | 5د – 10د- 15د |
| 6 | 5د – 10د- 15د |

**2-3- مرحلة الإكثار والإستطالة Multiplication and Elongation Stage:**

تهدف مرحلة الإكثار والاستطالة إلى الحصول على أكبر عدد ممكن من النموات الخضرية جيدة النمو, لذا تم نقل جميع العينات (النموات الخضرية) المتكونة في نهاية طور الزراعة الأولية إلى وسط الإكثار بهدف زيادة عدد النموات المتكونة, والحصول على عدد كاف من النموات الخضرية بهدف الإكثار ودراسة بعض العوامل المؤثرة فيه.حيث تم دراسة التوافقات الهرمونية المبينة في الجدول (1) من حيث نوع الهرمون المستخدم وتركيزه في عدد النموات الخضرية المتشكلة وطولها وعدد الأوراق المتشكلة وذلك بعد 4 أسابيع من الزراعة.

**2-4- التوصيف المورفولوجيMorphological Characterization:**

 يعد اختيار الصفات خطوة هامة في التوصيف المورفولوجي إذ يجب أن تتميز بإعطاء معلومات واضحة قابلة للتحليل والتمييز سواء في الحقل أو في المخبر (AL- Atawneh*et al.,* 2009) وبناءاً على ذلك تم اختيار مجموعة من الصفات الشكلية بين النباتات المزروعة في ظروف بيئية موحدة، والمختلفة في تركيب الوسط النامية عليه حيث تم أخذ القراءات على 21 مكرر لكل معاملة، ومن أهم الصفات المدروسة:

1. نسبة الإنبات.
2. نسبة التلوث.
3. طول النبات (سم).
4. عدد فروع النبات.
5. عدد الأوراق في النبات.

**مرحلة التجذير:**

بعد أخذ قراءات الإكثار الخضري تم نقل النباتات إلى أوساط التجذير المدعمة بتراكيز مختلفة من إندول بيوترك أسيدIBAبتراكيز (0.1، 0.5 ، 1، 2 مغ/لتر)، وبعد نحو 4 أسابيع تم حساب نسبة تشكل الجذور في 21 مكرر بالإضافة إلى الشاهد الخالي من IBA.

تم تحليل النتائج باستخدام البرنامج الإحصائي SPSS لتحديد قيم أقل فرق معنوي L.S.D عند مستوى معنوية 5% ولحساب معامل التباين C.V.

**النتائج والمناقشة:**

1. **نسبة الإنبات:**

 توضح النتائج الواردة في الجدول (3) أن أفضل نسبة إنبات في نباتات الداتورة بعد أسبوع من الزراعة على وسط الإدخال MSكانت عند استخدام هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز 0.5% حيث بلغ المتوسط 16% تلاها تركيز 1% والذي اعطى متوسط نسبة إنبات 5.33%، وقد كان متوسط نسبة الإنبات 0% عند استخدام تراكيز 1.5 و 3%من هيبوكلوريت الصوديوم حيث أثر ذلك سلباً على حيوية الأجنة. أما بالنسبة لأفضل زمن تعقيم كان عند استخدام المادة المعقمة لمدة 10 دقائق حيث بلغ متوسط نسبة الإنبات 9% تلاها زمن 5 دقائق بمتوسط 5% ثم 15 دقيقة بمتوسط 2%.

**جدول (3) نسبة الإنبات والتلوث في نباتات الداتورة *D.stramonium* باستخدام تراكيز مختلفة من هيبوكلوريت الصوديوم**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| تركيز المعقم % | الزمن (دقيقة) | نسبة الإنبات % | نسبة التلوث % |
| Mean | Mean |
| 0.5% | 5 | 12.00 | 20.00 |
| 10 | 28.00 | 4.00 |
| 15 | 8.00 | 4.00 |
|  |  |  |  |
| 1% | 5 | 8.00 | 4.00 |
| 10 | 8.00 | 16.00 |
| 15 | .00 | 8.00 |
|  |  |  |  |
| 1.5% | 5 | .00 | .00 |
| 10 | .00 | .00 |
| 15 | .00 | .00 |
| 3% | 5 | .00 | .00 |
| 10 | .00 | 3.84 |
| 15 | .00 | .00 |
| F |  | 366.545 | 306.893 |
| Sig. |  | 0.000 | 0.000 |
| LSD 5% |  | 0.570 | 0.731 |

أما تأثير التداخل بين تركيز المعقم ومدة التعقيم فقد كانت أفضل نسبة إنبات عند استخدام التركيز 0.5% لمدة 10 دقائق حيث بلغ متوسط نسبة الإنبات 28 %.

****

**شكل (1) تأثير التداخل بين تركيز هيبوكلوريت الصوديوم ومدة التعقيم على نسبة إنبات بذور *D. stamonium***

1. **نسبة التلوث:**

 نلاحظ من الجدول أعلاه أن نسبة التلوث كانت أقل ما يمكن عند استخدام تركيز 1.5% من هيبوكلوريت الصوديوم حيث بلغ المتوسط 0% في حين كانت 9.33% عند كل من التركيزين 0.5 و1% . لكن بالمقابل نلاحظ عند استخدام تركيز 1.5% من المادة المعقمة فقد انعكس ذلك سلباً على حيوية الأجنة وبالتالي انخفاض نسبة الإنبات في البذور إلى 0%.

وبالنسبة لزمن التعقيم أقل نسبة تلوث كانت عند استخدام المادة المعقمة لمدة 15 دقيقة حيث بلغ متوسط نسبة التلوث 3% والذي بالمقابل أعطى أقل نسبة إنبات، ثم زمن 10 دقائق (5%) ثم 5 دقائق (6%).أما تأثير التداخل بين تركيز المعقم ومدة التعقيم فقد كانت أقل نسبة تلوث بين نباتات الداتورة عند استخدام التركيز 1.5% ولأي مدة تعقيم حيث كان متوسط نسبة التلوث 0%.

**شكل (2) تأثير التداخل بين تركيز هيبوكلوريت الصوديوم ومدة التعقيم على نسبة التلوث في بذور الداتورة *D. stramonium***

نلاحظ مما سبق أن نسبة الإنبات والتلوث قد تأثرت بإطالة أو تقليل فترة التعقيم كما تأثرت بزيادة أو نقصان تركيز المادة المعقمة، فالوقت اللازم للتعقيم والقضاء على الملوثات مع الحفاظ على حيوية البذور مهم جداً ويختلف حسب النوع النباتي (محمد وعمر، 1990). إن تأثير هيبوكلوريت الصوديوم وعمله كمادة معقمة للأنسجة النباتية يعود إلى حامض Hypoclorous الذي يعد مادة مؤكسدة قوية.

وبشكل عام نستدل من التجربة على كفاءة هيبوكلوريت الصوديوم NaOCl المستخدم في عملية التطهير السطحي للبذور، حيث يؤدي استخدام التراكيز المنخفضة من مادة هيبوكلوريت الصوديوم إلى فعالية عالية في عمليات التطهير السطحي في معظم النباتات المكاثرة مخبرياً، مقارنة بمواد أخرى منخفضة التأثير نتيجة انخفاض معدل النفاذية عبر الأغشية الخلوية مثل هيبوكلوريت الكالسيوم، هذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه (Pevalek and Jelaska, 1987)،

1. **إكثار النموات الخضرية لجنس الداتورة *Daturastramonium L*:**

تمت دراسة تأثير توافقات هرمونية مختلفة من البنزيل أمينو بيورين BAP والكينيتين K وإندول بيوترك أسيد IBA والنفتالين أسيتيك أسيد NAA في متوسط عدد النموات الجديدة المتشكلة وطولها وعدد الأوراق المتشكلة. ونتائج التحليل الإحصائي مبينة في الجدول (4).

**جدول (4) متوسط طول النبات وعدد الفروع وعدد الأوراق لنبات *D. stramonium* باستخدام التوافقات الهرمونية المختلفة**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **المعاملة** | **طول النبات** | **عدد الأوراق** | **عدد الفروع** |
| **Mean** | **Standard Error of Mean** | **Mean** | **Standard Error of Mean** | **Mean** | **Standard Error of Mean** |
|  | MS0 | **2.04** | .45 | 6.29 | .44 | 1.76 | .13 |
| MS1 | 1.17 | .03 | 5.94 | .18 | 1.55 | .02 |
| MS2 | 1.06 | .03 | 9.33 | .82 | 2.24 | .17 |
| MS3 | 1.08 | .20 | **12.91** | 1.58 | **3.43** | .50 |
| MS4 | 1.13 | .09 | **14.62** | .88 | **3.53** | .17 |
| MS5 | .78 | .11 | 5.81 | 1.81 | 1.62 | .48 |
| MS6 | 1.16 | .15 | 9.52 | 2.47 | 2.48 | .53 |
| MS7 | .76 | .11 | 7.05 | 2.15 | 1.86 | .52 |
| MS8 | .71 | .13 | 7.52 | 1.47 | 1.43 | .43 |
| MS9 | 1.52 | .11 | 7.29 | .22 | 1.67 | .19 |
| MS10 | 1.10 | .17 | 7.26 | 1.03 | 2.15 | .36 |
| MS11 | 1.01 | .20 | 6.57 | .54 | 2.19 | .21 |
| MS12 | 1.56 | .09 | 8.38 | .50 | 2.67 | .17 |
| MS13 | 1.39 | .40 | 7.57 | .67 | 1.76 | .17 |
| MS14 | .73 | .16 | 4.02 | .11 | 1.37 | .02 |
| MS15 | .84 | .19 | 5.34 | .05 | 1.71 | .08 |
| MS16 | 1.18 | .09 | 5.57 | .50 | 1.67 | .13 |
| F | 3.23 |  | 5.44 |  | 4.43 |  |
| Sig. | .00 |  | .00 |  | .00 |  |
| LSD 5% | .56 |  | 3.32 |  | .88 |  |

 **-1-3تأثير منظمات النمو على طول نبات *D. stramonium*:**

بينت نتائج التحليل الإحصائي المبينة في الجدول (4)والشكل (3) وجود فروق معنوية واضحة بين تأثير المعاملات الهرمونية على طول نبات الداتورة، حيث يشير الجدول والمبين لمتوسط طول النبات لجميع المعاملات الهرمونية أن الهرمونات النباتية المستعملة أثرت بالنقصان على طول النبات مقارنة بالشاهد غير المعامل، حيث تفوق الشاهد بصفة متوسط طول النبات 2.04 سم مقارنة بباقي المعاملات، في حين بلغ أقل متوسط لطول النبات في الوسط MS8 بمقدار 0.71 سم. ويعود تفوق الشاهد بصفة متوسط طول النبات إلى تشكل الكالوس عند قواعد الفروع الخضرية في باقي المعاملات مما سبب ضعفاً في نمو الفروع الخضرية، وربما يعود سبب ذلك إلى تأثير المركبات الفينولية التي تفرزها خلايا الكالوس والتي تتراكم عند قواعد الفروع والمعروفة بتأثيرها المثبط لعمليات النمو في النبات من خلال تنشيطها لأنزيمات هدم الأوكسين المعروف بتأثيره المنشط للسيادة القمية، إضافة إلى تنافس خلايا الكالوس مع الفروع الخضرية على المواد الغذائية في الوسط الغذائي (Gurel and Gulsen, 1998).

**شكل (3) متوسط طول النبات باستخدام التوافقات الهرمونية المختلفة**

* 1. **تأثير منظمات النمو على عدد فروع نبات *D. stramonium* :**

بينت نتائج التحليل الإحصائي المبينة في الجدول(4) والشكل (4) وجود فروق معنوية واضحة بين تأثير المعاملات الهرمونية على عدد فروع نبات الداتورة، حيث يشير الجدول والمبين لمتوسط عدد فروع النبات لجميع المعاملات الهرمونية أن أغلب التوليفات الهرمونية المستعملة أثرت بالزيادة على عدد فروع النبات مقارنة بالشاهد غير المعامل، وقد سجل أكبر متوسط لعدد فروع النبات عند المعاملتين MS3, MS4على التوالي والمدعمتين بـ ـ1.5 و2 مغ/ل BAP متداخلاً مع 1مغ/ل IBA، ويفسر هذا بأن وجود كلاً من الأوكسينات والسيتوكينيات ضروري لتعزير دور أحدهما لدور الآخر في عملية التشكل العضوي وتحسين نوعية النموات المتشكلة، فقد أوضح (Christison and Warnick, 1988) أن التشكل العضوي يتم تحت تحكم نسبة الأوكسين والسيتوكينين. وفي الدراسة الحالية نلاحظ في المعاملتين MS3, MS4 أن نسبة السيتوكينين أعلى من نسبة الأوكسين، مما يحفز تشكل النموات الخضرية في كثير من الأنواع النباتية، وتتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه (Pierik, 1987.; Zaid, 2012).

**شكل (4) متوسط عدد فروع النبات باستخدام التوافقات الهرمونية المختلفة**

* 1. **تأثير منظمات النمو على عدد أوراق نبات *D. stramonium* :**

بينت نتائج التحليل الإحصائي المبينة في الجدول (4) والشكل (5) وجود فروق معنوية واضحة بين تأثير المعاملات الهرمونية على عدد أوراق نبات الداتورة، حيث يبين الجدول أن أغلب التوليفات الهرمونية المستعملة أثرت بالزيادة على عدد أوراق النبات مقارنة بالشاهد غير المعامل، حيث سجل أكبر متوسط عدد أوراق النبات عند المعاملتين MS3, MS4 على التوالي والمدعمتين بـ ـ1.5 و 2 مغ/ل BAP متداخلاً مع 1 مغ/ل IBA، ويعود هذا إلى النسبة العالية للسيتوكينين بالنسبة إلى الأوكسين مما يساعد في زيادة الانقسام الخلوي والتضاعف وذلك لاحتوائه على شق الأدنين الذي له دو مباشر أو غير مباشر في تشجيع النمو العرضي القطري الشعاعي، وفي زيادة معدل التضاعف للأفرع بدءاً من أجزاء نباتية صغيرة. تتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه (Vuylsteke, 1989).

**شكل (5) متوسط عدد أوراق النبات باستخدام التوافقات الهرمونية المختلفة**

1. **تأثير (IBA) على نسبة تشكل الجذور:**

تميزت الفروع الخضرية المزروعة على أوساط التجذير بصعوبة تجذير الأفرع الخضرية على وسط MSالخالي من منظمات النمو وكلك الأوساط الحاوية على (0.1،0.5، 1) مغ/ ل IBA، وإنما نجحت عملية التجذير للأفرع الخضرية على وسط MS الحاوي على 2 مغ / ل IBA فقط وتكونت نباتات كاملة، حيث لوحظ أعلى نسبة تجذير بلغت 75 %.

إن عدم إمكانية تجذير الأفرع الخضرية على وسط MS الخالي من منظمات النمو يطابق ما جاء في دراسة يونس (1997) على نبات الداتورة ودراسة العقراوي (2006) على اليانسون واللذين أكدا على ضرورة إضافة الأوكسين إلى وسط الزراعة لتحفيز عملية التجذير.

ويفسر عدم تشكل الجذور باستخدام التراكيز المنخفضة من IBA ربما بعدم الوصول إلى التركيز الأمثل من الأوكسينات والذي يتلائم مع المستوى الداخلي له في الفروع الخضرية (Scott, 1972) أو بسبب احتياج الفروع الخضرية لنبات الداتورة *D. stramonium* لفترة أطول لظهور الجذور كما وجد في نباتات أخرى (الرمضاني، 1985.، البكر، 2002).

أما نجاح تشكل الجذور باستخدام التراكيز العالية من IBA (2مغ/ لتر) يفسر بأن الأوكسين إضافة إلى دوره في تحفيز السيادة القمية بتراكيز معينة، له دور أيضاً في تطور وتخصص الخلايا لتكوين الجذور عند استخدامه بتراكيز أخرى (Murashige, 1974)، وتتوافق هذه النتائج مع ما جاء في دراسة حداد وبايرلي (2010) على نبات الأنتوريوم *Anthurium spp* ودراسة Muthukumar*et al*., 2004)) على نبات الداتورة *Datura metel.*

**المراجع العربية**:

**1-البكر، رحاب عبد الجبار وعبد الله، حامد. (2002).** دور بعض منظمات النمو القياسية والمصنعة حديثاً في استحداث ونمو وتمايز الكالوس من نبات الحبة السوداء Nigella sativa ومستوى المركبات الفعالة فيها. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

1. **حداد، سهيل وبايرلي، رولا. (2010**). الإكثار الخضري الدقيق لنبات الأنتوريوم *Anthurium spp* عن طريق زراعة الأوراق الفتية مخبرياً. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية، المجلد (26)، العدد 1، الصفحات 131-146.
2. **الخالدي، مؤيد صبري شوكت** (2005) إنتاج بعض القلويدات من نوعي نبات الداتورة*Datura stramonium* و *Datura Innoxia* باستعمال تقنية زراعة الأنسجة النباتية، أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة بغداد.
3. **الخطيب، أنور.؛ الصباغ، عبد العزيز؛ القاضي، عماد. (2006).** الدليل العملي في التصنيف النباتي، منشورات جامعة دمشق- كلية الزراعة. صفحة (438).
4. **الدجوي، علـي** (1996) موسوعة النباتات الطبية والعطرية، مكتبة مدبولي، القاهرة.
5. **الربيعي، هادي مزعل** (1999) تأثير مستخلصات نبات الداتورة *Datura Metel Mill* في بعض جوانب الأداء الحياتي للذبابة المنزلية *Musca Domestic*، أطروحة دكتوراه فلسفة، كلية العلوم، جامعة بابل، 126 صفحة.
6. **الرمضاني، روضة محمد أمين (1985).** تأثير بعض منظمات النمو على استحداث ونمو الكالوس لنبات الفستق Pistaciaceae. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل العراق.
7. **زيد، سليم حسين. (2012).** الإكثار الخضري لنبات القبار الشائك *capparis spinosa* باستخدام تقانة زراعة الأنسجة. مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية. المجلد (28). العدد الأول.
8. **سنكري، محمد نذير. (1987).** بيئات ونباتات ومراعي المناطق الجافة وشديدة الجفاف السورية حمايتها وتطويرها. منشورات جامعة حلب، صفحة(793).
9. **الصباغ، عبد العزيز. (1981).** التصنيف النباتي وتعضي جهاز التناسل، منشورات جامعة دمشق- مصدر انترنت.
10. **الصباغ، عبد العزيز؛ القاضي، عماد. (2003).** التصنيف النباتي، منشورات جامعة دمشق- كلية الزراعة. صفحة (399).
11. **العقراوي، هاوزين صلاح خليل (2006).** تعريض بذور وأعضاء وكالوس نبات اليانسون *pimpinella anisum* لللأشعة فوق البنفسجية وتقدير محتوى الأنيثول بوساطة كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء. رسالة ماجستير/ كلية التربية، جامعة الموصل.
12. **الملاح، مزاحم قاسم وأواب وعد الله يونس** (2001). عزل وتشخيص الهيوسينوالهيوسيامين في الكالس والنباتات الناتجة منه لنبات *Datura Innoxia ،* مجلة التربية والعلم، العدد 35.
13. **محمد، عبد المطلب سيد وعمر، مبشر صالح (1990**). المفاهيم الرئيسية في زراعة الخلايا والأنسجة والأعضاء للنبات. مطبعة جامعة المىوصل، العراق.
14. **يونس، أواب وعد الله (1997)**. محتوى القلويدات في الكالس والنباتات الناتجة منه في النبات البري الداتورة *Datura Innoxia Mill*، رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل.
15. AL-Atawneh, N.; Shehbaden, A.; Amri, A and Maxted, N. (2009). Conservation Field Guide to Medics. ICARDA. Syria.
16. Christison, M. L and Warnick, D. A. (1988). Organogenesis in vitro as a developmental process. Hort. Science 23 (3): 115-119.
17. De, B., 2003. Steroidal compounds from *in vitro* regeneration shoots of *Datura metel*. Fitoterapia,74: 14-17.
18. Gamborg, O.L; Miller, R.A. and Ojima, K.(1968). Nutrient requirement of suspension cultures of soybean root cells. Exp. Cell Res., 50:151-9,
19. Gurel, S and Gulsen. 1998). The effects of IBA and BAP on In Vitro shoot production of almond (Amygdalus communis). Turk. J. Bot., Vol. 22, pp:375-380.
20. Mouterde, p. (1983). Nouvelle Flore du Liban et de la Syrie. Tomes 3,pp. 578. Text and Atlas. Dar El Mashreq, Beyrouth, Liban
21. Murashige, T.(1974). Plant propagation through tissue culture. Ann. Rev. Plant, Physiol., Vol. 25, pp: 135-166.
22. Murashige, T., Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15, 473–497.
23. Muthukumar, B., D.I. Arockiasamy and S.J. Britto, 2000. *In vitro* propagation of *Datura metel*L. from hypocotyl explants. Plant Tiss. Cult., 10(1): 39-44.
24. Pevalek, K. B. and Jelaska, S. (1987). Microclonal propagation of prunus avium. *Acta Hort., Volume 212, pp:599-601.*
25. Pierik, RLM. (1987). In vitro culture of higher plants. Martinus Nijhoff publishers, dordrechet. The Netherland. 344 pp.
26. Post, G and Dimsmore, J. (1932) Flore of Syria, Palestine and Sinai. *American press, Beirut. volumes, I, II : 658, 928*.
27. Preissel, Ulrike; Hans-Georg Preissel (2002).Brugmansia and [*Datura: Angel's Trumpets and Thorn Apples*](http://www.allbookstores.com/author/Hans-Georg_Preissel.html). Buffalo, New York:Firefly Books. pp. 124–125. [ISBN](http://en.wikipedia.org/wiki/International_Standard_Book_Number)[1-55209-598-3](http://en.wikipedia.org/wiki/Special%3ABookSources/1-55209-598-3).
28. Roddick, J. (1991). The importance of the *Solanaceae* in medicine and drug therapy. In “Solanaceae 111: Taxon-omy, Chemistry, Evolution”. pp: 7-23. Hawkes, J., Lester, R., Nee, M. and Estrada, N., eds. Royal Botanic Garde Kew and Linnean Society of London. London.
29. Saidon, N. A. (2008). The establishment of embryogenic callus culture of *Hyoscyamus niger* and the detection of hyoscyamine in the culture.
30. Scott, T.K. (1972). Auxins and roots. Ann. Rev. Plant Physiol, Vol. 23. Pp: 235-258.
31. Vuylsteke, D. R. (1989). Shoot tip culture for propagation, conservation and exchange of Musa germplasm, IB. PGR. Rom.