جامعة كربلاء

كلية الزراعة

قسم البستنة وهندسة الحدائق

تأثير بعض منظمات النمو ونوع الأضاءة والسكروز في اكثار وانتاج بعض مركبات الأيض الثانوي لنبات الستيفيا *Stevia rebaudiana* خارج الجسم الحي

رسالة تقدمت بها الطالبة

نعمت رياض نعيم طلال

إلى مجلس كلية الزراعة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في العلوم الزراعية/ البستنة وهندسة الحدائق

اشراف

أ.م.د. سراب عبد الهادي محمد حسين المختار

1444هـ **٢٠٢٣ م**

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿نَرْفَعُ دَرَجَاتٍ مَّن نَّشَاءُ ۗ وَفَوْقَ كُلِّ ذِي عِلْمٍ عَلِيمٌ﴾

صدق الله العظيم

﴿يوسف: ٧٦﴾

إقرار المشرف

أشهد أن اعداد الرسالة الموسومة (تأثير بعض منظمات النمو ونوع الإضاءة والسكروز في اكثار وانتاج بعض مركبات الأيض الثانوي لنبات الستيفيا *Stevia rebaudiana* خارج الجسم الحي) جرت تحت اشرافي في قسم البستنة وهندسة الحدائق / كلية الزراعة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير / علوم في الزراعة – البستنة وهندسة الحدائق.

التوقيع:

اسم المشرف العلمي: د. سراب عبد الهادي محمد حسين

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: كلية الزراعة – جامعة كربلاء

التاريخ: / / 2023

توصية رئيس قسم البستنة وهندسة الحدائق ورئيس لجنة الدراسات العليا

بناءً على التوصية المقدمة من قبل الأستاذ المشرف أرشح هذه الرسالة للمناقشة العلمية.

التوقيع:

الاسم: د. كاظم محمد عبد الله

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: كلية الزراعة – جامعة كربلاء

التاريخ: / /2023

اقرار لجنة المناقشة

نشهد بأننا اعضاء لجنة المناقشة قد اطلعنا على الرسالة الموسومة (**تأثير بعض منظمات النمو ونوع الإضاءة والسكروز في اكثار وانتاج بعض مركبات الأيض الثانوي لنبات الستيفيا *Stevia rebaudiana* خارج الجسم الحي**) ناقشنا الطالب في محتوياتها ووجدنا انها جديرة بالقبول لنيل شهادة الماجستير / علوم في الزراعة – البستنة وهندسة الحدائق .

رئيساً

الاسم : د. صباح عبد فليح قنبر
المرتبة العلمية : استاذ مساعد
العنوان : كلية الزراعة - جامعة كربلاء

عضواً

الاسم : د. علي احمد حسين
المرتبة العلمية : استاذ مساعد
العنوان : كلية الصيدلة/جامعة الكفيل

عضواً

الاسم : د. زيد خليل كاظم
المرتبة العلمية : مدرس
العنوان : كلية الزراعة - جامعة كربلاء

عضواً ومشرفاً

د. سراب عبد الهادي محمد حسين
العنوان: استاذ مساعد
العنوان : كلية الزراعة - جامعة كربلاء

صدقت الرسالة في مجلس كلية الزراعة – جامعة كربلاء

أ.د. ثامر كريم خضير

العميد وكالة

التاريخ: 24/7/2023

الإهداء

إلى : الذي ندعوه في السراء والضراء ... الذي وفقني وأنار لي دربي

خالقي .... (الله عز وجل)

معلم البشرية ومنبع العلم ..... نبينا محمد (صلى الله عليه واله وسلم)

وأهل بيت النبوة ومنبع الرسالة الأئمة الأطهار عليهم السلام

قدوتي ومن علمتني التفاؤل والمضي قدماً في طريق العلم ..... إلى من افتقدها

في كل لحظة .... والدتي رحمها الله تعالى

من علمني الحب والعطاء الى من كان دعاؤه سر نجاحي وحنانه بلسم جراحي

(ابي الغالي)

الشمعة التي انارت الطريق بنور العلم

(دكتورة سراب عبد الهادي محمد حسين المحترمة)

من سار معي نحو الحلم خطوة بخطوة ..... بذرناه معاً وحصدناهُ معاً

(زوجي)

الشموع التي تكتمل بهم سعادتي وتحلو الأيام بوجودهم .... اخوتي فتيان - فاتن

واولادي روان - زينب - مصطفى

كل القلوب الطيبة التي غمرتني بالحب .. والدعاء .. والمساعدة

اهدي ثمرة جهدي المتواضع ..

نعمت

٢٠٢٣/٧/١٠

شكر وتقدير

الحمد لله ذي المن والفضل والإحسان، حمداً يليق بجلاله وعظمته . وصَلِّ اللهم على خاتم الرسل، من لا نبي بعده، صلاةً تقضي لنا بها الحاجات، وترفعنا بها أعلى الدرجات، و تبلّغنا بها أقصى الغايات من جميع الخيرات، في الحياة وبعد الممات.ولله الشكر أولاً وأخيراً، على حسن توفيقه، وكريم عونه، وعلى ما منَّ وفتح به عليَّ من إنجاز هذه الرسالة، بعد أن يسّر العسير، وذلّل الصعب، وفرَّج الهم .

فلابد لي وانأ أضع اللمسات الأخيرة في إكمال رسالتي لأقدم شكريً وأمتاني لاستاذتي الفاضله المشرفة الدكتورة سراب عبد الهادي المختار لقبولها الإشراف على هذا العمل وعلى ما بذلته من أقصى الجهود في إعداده وتقديمه بالشكل اللائق وتذليلها لكافة الصعاب التي واجهتني وتوجيهاتها العلمية القيمة التي كانت عوناً لي طيلة فترة الدراسة فجزاها الباري عني خير الجزاء ووفقها لخدمة العلم والمعرفة.

ولا يسعني ألا أن أقدم شكري وعظيم تقديري إلى رئيس وأعضاء لجنة المناقشة الأستاذ المساعد الدكتور صباح عبد فليح و الأستاذ المساعد الدكتور علي احمد الميالي والاستاذ الدكتور زيد خليل كاظم لقبولهم مناقشة رسالتي وعلى ماقدموهُ من توجيهات علمية سديدة لإثرائها وفقهم الباري لخدمة العلم وحفظهم من كل سوء

كما أتقدم بأسمى آيات الشكر والامتنان والتقدير إلى الذين حملوا أقدس رسالة في الحياة و مهدوا لنا طريق العلم والمعرفة إلى جميع أساتذتنا الأفاضل والمنتسبين في قسم البستنة وهندسة الحدائق فرداً فرداً وأخص بالتقدير والامتنان الوافر رئيس قسم البستنة وهندسة الحدائق الدكتور كاظم محمد عبد الله فجزاهم الباري عني أوفر الجزاء.

أود أن أقدم اعز وأغلى وأجمل وأعظم الكلمات إلى من أوقدوا نفسيهما شمعة لتنير لي الدرب فكانا شمساً وقمراً يشع علي بنوريهما البهي، إلى روح من لم تزل عطرها يملأ الدنيا والدتي (رحمها الله) ووالدي (حفظه الله) اللذان أنا ‘مدينة لهما بما وصلت إليه وما أرجو أن أصل إليه ، شكري وامتناني إلى أخي فتيان واختي فاتن وعوائلهم حفظهم الله

ولا أنسى في هذا المقام الشكر من نوع خاص إلى الذين رافقوني في كل خطوات البحث والدراسة، وجعلوني أرى الدنيا بألوان الخير والفرح، ومنحوني الثقة والإرادة، تعلّمت منهم الكثير وكانوا لي نعم العون - بعد الله تعالى - فقد ساندوني كثيرا" صديقتي امال اسماعيل البهادلي والزميل الحسن نصر الله وزملائي من طلبة الدراسات العليا دعائي لكم بالتوفيق والحفظ من كل مكروه..

وفي الختام شكري وتقديري إلى كل من مد لي يد العون وعذرا لمن فأتني ذكره .....

نعمت

المستخلص

نفذت هذه الدراسة في مختبر زراعة الانسجة النباتية التابع لكلية الزراعة ـ جامعة كربلاء واكملت تحاليل الـ HPLC في شركة الحقول البيضاء للاستثمارات والدراسات البيئية والهندسية للمدة من شهر اب ٢٠٢٢ ولغاية شهر ايار ٢٠٢٣. تضمنت الدراسة أستخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية في اكثار نبات الستيفيا وتحفيزه على زيادة انتاج المركبات الكلايكوسيدية ذات الاهمية الطبية. نفذت الدراسة في ثلاث مراحل بعد اجراء عملية التعقيم: شملت الأولى تأسيس مزارع الافرع الخضرية باستخدام توليفات مختلفة من منظمات النمو النباتية (الاوكسينات والسايتوكانينات) ونفذت المرحلة الثانية بتعريض مزارع الافرع الخضرية الى انواع عده من الاضاءة وتراكيز مختلفة من السكروز لتحفيزه على زيادة انتاج الايض الثانوي وشملت المرحلة الثالثة على تجذير الافرع الخضرية التي تم الحصول عليها من مرحلة التضاعف وذلك بزراعتها على اوساط غذائية مجهزة بتراكيز مختلفة من املاح MS و IBA ومن ثم اقلمة النباتات النسيجية. نفذت جميع المراحل بتجارب عاملية مستقلة ضمن التصميم العشوائي الكامل (CRD) ، يمكن تلخيص النتائج بالأتي :

١- إن أفضل معاملة في تعقيم الاجزاء النباتية هي هايبوكلورات الصوديوم NaOCl بتركيز ١ % لمدة 15 دقيقة.

٢- اعطت القمم النامية كجزء نباتي استخدم في مرحلة النشوء اعلى استجابة بلغت ٧٠,٠٠٪ في حين اعطت البراعم الجانبية اعلى استجابة بلغت 54.68% .

٣- ان الوسط الغذائي المجهز بالـ BA عند التركيز ٣ ملغم لتر$^{-1}$ كان الافضل في زيادة عدد الافرع وطولها وعدد الاوراق والوزن الطري للمجموع الخضري بلغ ٣٣,٣٥ فرع نبات$^{-1}$ و ٨,٢٠ سم و ١٠٩,٧٧ ورقة نبات$^{-1}$ و ٧,٤٦ ملغم على التوالي، بينما حقق التركيز ٢ ملغم لتر$^{-1}$ اعلى معدل للوزن الجاف للمجموع الخضري بلغ ٣,٩٤ ملغم.

٤- حقق التركيز ٠,٣ ملغم لتر$^{-1}$ NAA اعلى معدل لعدد الافرع واطوالها وعدد الاوراق والوزن الطري و الجاف للمجموع الخضري بلغ ٣٠,٨٧ فرع نبات$^{-1}$ و ٧,٦٥ سم و ٩٤,٥٥ ورقة نبات$^{-1}$ و ٦,٩٨ ملغم و ٣,٨٥ ملغم على التوالي.

٥- حقق التركيز ٤ ملغم لتر$^{-1}$ BA اعلى معدل تركيز للكلوروفيل a و الكلي بلغ ١,٣٧ ملغم غم$^{-1}$ و ٢,٤٧ ملغم غم$^{-1}$ على التوالي، في حين حقق التركيز ٣ ملغم لتر$^{-1}$ BA اعلى معدل للكلوروفيل b بلغ ٠,٩٣ ملغم غم$^{-1}$.

٦- حقق التركيز ٠,٣ ملغم لتر$^{-1}$ NAA اعلى معدل تركيز للكلوروفيل a و b و الكلي بلغ ١,٢١ ملغم غم$^{-1}$ و ٠,٨٧ ملغم غم$^{-1}$ و ٢,٠٩ ملغم غم$^{-1}$على التوالي.

٧- حقق التركيز ٤ ملغم غم$^{-1}$ BA اعلى نسبة مئوية للكربوهيدرات الذائبة وغير الذائبة بلغت ١٩,٤٨٪ و ٤٥,٨٨٪ على التوالي.

٨- حقق NAA عند التركيز ٠,٤ ملغم غم$^{-1}$ اعلى نسبة مئوية للكربوهيدرات الذائبة بلغت ١٨,٢٢٪ في حين حقق التركيز ٠,٣ ملغم غم$^{-1}$ أعلى نسبة للكربوهيدرات غير الذائبة بلغت ٤٣,٧٤٪.

٩- حقق التركيز ٤ ملغم غم$^{-1}$ BA اعلى معدل تركيز لمركبي الـ Stevioside و Rebaudioside A بلغت ٢٤٦١,٤٠ و ١٤٧٥ مايكروغرام غم$^{-1}$ على التوالي.

١٠- حقق التركيز ٠,٤ ملغم غم$^{-1}$ NAA اعلى معدل تركيز لمركبي الـ Stevioside و Rebaudioside A بلغت ١٦٥٩,٢٠و ١٢٩٣ مايكروغرام غم$^{-1}$ على التوالي.

١١- حققت مصابيح LED الملون اعلى معدل لعدد الافرع وطولها وعدد الاوراق والوزن الطري والجاف للمجموع الخضري بلغ ٣٨,٦٦ فرع نبات$^{-1}$ و ١٠,٧٣ سم و ١٤٧,٣٠ ورقة نبات$^{-1}$ و ١٠,٦٥ ملغم و ٤,١٧ ملغم على التوالي، عند معاملة الوسط الغذائي بتراكيز مختلفة من السكروز حقق التركيز ٤٥ غم لتر$^{-1}$ اعلى معدل لعدد الافرع وطولها وعدد الاوراق والوزن الطري والجاف للمجموع الخضري بلغ ٣٨,٤٧ فرع نبات$^{-1}$ و ٧,٦٣ سم و ١٢٤,٣٨ ورقة نبات$^{-1}$ و ٨,٨٢ ملغم و ٣,٢٣ ملغم على التوالي.

١٢- حققت مصابيح LED الملون اعلى معدل لتركيز الكلوروفيل a و b والكلي بلغت ٢,٢٩ و ١,٩١ و ٤,٢٠ ملغم غم$^{-1}$ على التوالي، عند معاملة الوسط الغذائي بتراكيز مختلفة من السكروز حقق التركيز ٦٠ غم لتر$^{-1}$ اعلى معدل لتركيز الكلوروفيل a و b والكلي بلغت ٢,٢٥ و ١,٩٨ و ٤,٢٣ ملغم غم$^{-1}$ على التوالي.

١٣- حققت مصابيح LED الملون اعلى نسبة مئوية للكربوهيدرات الذائبة وغير الذائبة بلغت ٢١,٥٢ و ٤٨,١٥٪ على التوالي، عند معاملة الوسط الغذائي بتراكيز مختلفة من السكروز حقق التركيز ٤٥ غم لتر$^{-1}$ اعلى نسبة مئوية للكربوهيدرات الذائبة وغير الذائبة بلغت ٢٠,٥٠ و ٤٨,٨٣٪ على التوالي.

١٤- حققت مصابيح LED الملون اعلى معدل لمركبي الـ Stevioside و Rebaudioside بلغت ٣٠٠٠ و ٢٧٥١ ميكروغرام غم$^{-1}$ على التوالي، عند معاملة الوسط الغذائي بتراكيز مختلفة من السكروز حقق التركيز ٦٠ غم لتر$^{-1}$ اعلى معدل لمركبي الـ Stevioside و Rebaudioside بلغت ٢٧٤٠ و ٢١٦٧ميكروغرام غم$^{-1}$ على التوالي.

قائمة المحتويات

تسلسل	المـــوضـــوع	الصفحة
	الخلاصة	أ
	قائمة المحتويات	i
.1	**المقدمة**	**١**
.2	**مراجعة المصادر**	**٣**
1. 2	الوصف النباتي لنبات الستيفيا	٣
2.2	الاسم العلمي والوصف النباتي لنبات الستيفيا	٤
3.2	الموطن الاصلي ومناطق الانتشار	٤
4.2	الاهمية الطبية لنبات الستيفيا	5
5.2	المركبات الايضية الثانوية	6
1.5.2	الكلايكوسيدات	٨
1-1.5.2	مركب Stevioside	٨
2-1-5-2	مركب Rebaudioside A	٩
6-2	زراعة الانسجة	١٠
1-6-2	التعقيم	١٢
7-2	منظمات النمو النباتية	١٣
1-7-2	تأثير الاوكسينات والسايتوكاينينات في تضاعف الافرع الخضرية	١٣
8-2	تأثير المحفزات الفيزيائية في انتاج المركبات الثانوية للنبات	١٤
1-8-2	الضوء	١٥
9-2	تأثير المحفزات الكيميائية في انتاجالمركبات الثانوية للنبات	١٦
1-9-2	السكروز	١٧
10-2	التشخيص الكمي والنوعي للمركبات الكلايكوسيدية بواسطة تقانة HPLC	١٧
11-2	التجذير	١٩
12-2	الاقلمة	١٩
3	**المـواد وطـرائق العـمل**	**٢٠**
1-3	مصدر الاجزاء النباتية	٢٠
2-3	تحضير الوسط الغذائي	٢١

3-3	التعقيم	٢٢
1-3-3	تعقيم الوسط الغذائي	٢٢
2-3-3	تعقيم كابينة الهواء الطبقي	٢٢
3-3-3	تعقيم ادوات العمل	٢٣
4-3-3	التعقيم السطحي للاجزاء الخضرية	٢٣
4-3	زراعة الاجزاء النباتية	٢٣
5-3	مرحلة النشوء	٢٣
6-3	مرحلة التضاعف	٢٤
1-6-3	تأثير منظمات النمو النباتية في انتاج المركبات الكلايكوسيدية لنبات الستيفيا	٢٤
7-3	نصب منظومة الاضاءة	24
1-7-3	تاثير نوع الاضاءة والسكروز قي تضاعف النمو الخضري	٢٥
2-7-3	تقدير الكلوروفيل	٢٥
3-7-3	تقدير الكاربوهيدرات الذائبة وغير الذائبة	٢٦
1-3-7-3	تحضير المنحنى القياسي لسكر الكلوكوز	٢٦
4-7-3	استخلاص المركبات الكلايكوسيدية	٢٧
1-4-7-3	تحضير العينات القياسية	٢٧
2-4-7-3	التقدير الكمي والنوعي للمركبات الكلايكوسيدية باستخدام تقانة كروموتوكرافيا السائل فائق الاداءHPLC	٢٨
8-3	مرحلة التجذير	٢٨
9-3	مرحلة الاقلمة	٢٩
10-3	التصميم والتحليل الاحصائي	٢٩
4	**النتائج والمناقشة**	**٣٠**
1-4	تأثيرنوع الجزء النباتي وتراكيز هايبوكلورات الصوديوم والمدد في النسبة المئوية لتلوث نبات الستيفيا.	٣٠
2-4	تأثير تراكيز الـ BA و NAA والتداخل بينهما في استجابة نوع الجزء النباتي للنشوء بعد ٦ اسابيع من الزراعة على وسط MS لنبات الستيفيا.	٣٢
3-4	تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في معدل عدد الافرع لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS	٣٥

4-4	تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في معدل طول الافرع لنبات الستيفيا (سم) بعد ٦اسابيع من الزراعة على الوسط MS	٣٦
5-4	تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في معدل عدد الاوراق لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٣٧
6-4	تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في معدل الوزن الطري لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٣٨
7-4	تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في معدل الوزن الجاف لنبات الستيفيا (ملغم) بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٣٩
8-4	تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في معدل تركيز الكلوروفيل a من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS	٤٢
9-4	تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في معدل تركيز الكلوروفيل bمن الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS	٤٣
10-4	تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في معدل تركيز الكلوروفيل الكلي من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٤٤
11-4	تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في النسبة المئوية للكربوهيدرات الذائبةفي الأفرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٤٥
12-4	تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في النسبة المئوية لتركيز الكربوهيدرات غيرالذائبة للأفرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٤٦
13-4	تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في معدل تركيز مركب Stevioside للأفرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٤٧

14-4	تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في معدل تركيز مركب.Rebaudioside A للأفرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS	٤٨
15-4	تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في معدل عدد افرع نبات الستيفيا بعد ٦اسابيع من الزراعة على الوسط MS .	٥٠
16-4	تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في معدل طول الافرع لنبات الستيفيا بعد ٦اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٥١
17-4	تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في معدل عدد الاوراق لنبات الستيفيا بعد ٦اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٥٢
18-4	تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في معدل الوزن الطري للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٥٣
19-4	تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في معدل الوزن الجاف للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٥٤
20-4	تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في معدل تركيز كلوروفيل a للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٥٧
21-4	تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في معدل تركيز كلوروفيل b للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٥٧
22-4	تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في معدل تركيز الكلوروفيل الكلي للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٥٨

23-4	تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في النسبة المئوية للكربوهيدرات الذائبة للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS	٥٩
24-4	تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في النسبة المئوية للكربوهيدرات غير الذائبة للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٦٠
25-4	تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في معدل تركيز مركب Stevioside للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٦٢
26-4	تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في معدل تركيز مركبARebaudioside للمجموع الخضري لنبات الستيفيا سبعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٦٣
27-4	تأثيرقوة املاح MS وتراكيز IBA والتداخل بينهما في النسبة المئوية لتجذير نبات الستيفيا	٦٤
28-4	تأثيرقوة املاح MS وتراكيز IBA والتداخل بينهما في معدل طول الجذور لنبات الستيفيا	٦٥
29-4	تأثيرقوة املاح MS وتراكيز IBA والتداخل بينهما في معدل عدد الجذور لنبات الستيفيا	٦٦
30-4	تأثيرقوة املاح MS وتراكيز IBA والتداخل بينهما في معدل الوزن الطري لجذور لنبات الستيفيا	٦٧
31-4	تأثيرقوة املاح MS وتراكيز IBA والتداخل بينهما في معدل الوزن الجاف لجذور لنبات الستيفيا	٦٨
32-4	الاقلمة	٧١
5	**الاستنتاجات والتوصيات**	**٧٣**
1-5	الاستنتاجات	٧٣
2-5	التوصيات	٧٤
6	**المصادر**	**٧٥**
1-6	المصادر العربية	٧٥
2-6	المصادر الاجنبية	79
٧	الملاحق	92

قائمة الجداول

التسلسل	عنوان الجدول	الصفحة
1	التصنيف العلمي لنبات الستيفيا	٤
2	مكونات وسط MSمن الاملاح اللاعضوية المستخدمه في تحضير الوسط الغذائي	٢٢
3	تأثير الجزء النباتي وتراكيز الهايبوكلورات والمدد الزمنية للتعقيم في النسبة المئوية لتلوث لنبات الستيفيا بعد 10ايام من الزراعة على وسط MS.	٣٢
4	تأثير تراكيز الـــــ BA و NAA والتداخل بينهما في استجابة نوع الجزء النباتي للنشوء (%) بعد اربعة اسابيع من الزراعة على وسط MS لنبات الستيفيا.	٣٤
5	تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في معدل عدد الافرع لنبات الستيفيا (فرع نبات$^{-1}$) بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS	٣٦
6	تأثير الـــــ BA و NAA والتداخل بينهما في معدل طول الافرع لنبات الستيفيا (سم) بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS	٣٧
7	تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في معدل عدد الاوراق (ورقة نبات$^{-1}$) لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS	٣٨
8	تأثير الـــــ BA و NAA والتداخل بينهما في معدل الوزن الطري (ملغم) لنبات الســـتيفيا بعد 6 اســـابيع من الزراعة على الوسط MS	٣٩

9	تأثير الـــ BA و NAA والتداخل بينهما في معدل الوزن الجاف لنبات الســـتيفيا (ملغم) بعد 6 اســـابيع من الزراعة على الوسط MS	٤٠
10	تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في معدل تركيز الكلوروفيل a (ملغم غم$^{-1}$) من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٤٢
11	تأثير الـــ BA و NAA والتداخل بينهما في معدل تركيز الكلوروفيل b (ملغم غم$^{-1}$) من الافرع الخضـــرية لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS	٤٣
12	تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في معدل تركيز الكلوروفيل الكلي (ملغم غم$^{-1}$) من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٤٤
13	تأثير الـــ BA و NAA والتداخل بينهما في النسبة المئوية للكربوهيدرات الذائبة (%) في الافرع الخضـــرية لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسطMS	٤٥
14	تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في النسبة المئوية للكربوهيدرات غيرالذائبة (%)في الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٤٦
15	تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في معدل تركيز مركب Stevioside (ميكروغرام غم$^{-1}$) في الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد 6اسابيع من الزراعة على الوسط MS..	٤٨
16	تأثير الـــ BA و NAA والتداخل بينهما في معدل تركيز مركب .Rebaudioside A(ميكروغرام غم$^{-1}$)في الافرع الخضـــرية لنبات الســـتيفيا بعد6 اســـابيع من الزراعة على الوسط MS.	٤٩
17	تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في معدل عدد الافرع (فرع نبات$^{-1}$) لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٥٠

18	تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في معدل طول الافرع (سم) لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS	٥١
19	تأثيرنوع الاضـــاءة والســـكروز والتداخل بينهما في معدل عدد الاوراق (ورقة نبات-١) نبات الســـتيفيا (فرع نبات-١) بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS	٥٢
20	تأثيرنوع الاضـــاءة والســـكروز والتداخل بينهما في معدل الوزن الطري (ملغم) للمجموع الخضـــري لنبات الســـتيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٥٤
21	تأثيرنوع الاضـــاءة والســـكروز والتداخل بينهما في معدل الوزن الجاف (ملغم) للمجموع الخضـــري لنبات الســـتيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٥٥
22	تأثيرنوع الاضـــاءة والســـكروز والتداخل بينهما في معدل تركيز كلوروفيل a (ملغم غم-١) للمجموع الخضـــري لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS	٥٧
23	تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في معدل تركيز كلوروفيل b (ملغم غم-١) للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٥٨
24	تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في معدل تركيز الكلوروفيل الكلي (ملغم غم-١) للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS .	٥٩
25	تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في النسبة المئوية للكربوهيدرات الذائبة (%) للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS .	٦٠
26	تأثيرنوع الاضـــاءة والســـكروز والتداخل بينهما في النســـبة المئويـــة للكربوهيـــدرات غير الـــذائبـــة (%) للمجموع	٦١

	الخضـري لنبات السـتيفيا بعد 6 اسـابيع من الزراعة على الوسط MS.	
27	تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في معدل تركيز مركب Stevioside (ميكروغرام غم$^{-1}$) للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.	٦٢
28	تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في معدل تركيز مركب Rebaudioside A (ميكروغرام غم$^{-1}$) للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS	٦٣
29	تأثيرقوة املاح MS وتراكيز IBA والتداخل بينهما في النسبة المئوية (%) لتجذير افرع نبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي	٦٧
30	تأثيرقوة املاح MS وتراكيز IBA والتداخل بينهما في معدل طول جذور نبات الستيفيا (سم) بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي.	٦٦
31	تـأثيرقوة املاح MS وتراكيز IBA والتـداخـل بينهمـا في معدل عدد جذور نبات الستيفيا (جذر نبات$^{-1}$) بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي.	٦٧
32	تـأثيرقوة املاح MS وتراكيز IBA والتـداخـل بينهمـا في معدل الوزن الطري لجذور نبات السـتيفيا (ملغم) بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي.	٦٨
33	تأثيرقوة املاح MS وتراكيز IBA والتداخل بينهما في معدل الوزن الجاف لجذور نبات الستيفيا (ملغم) بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي.	٦٩

قائمة الاشكال

التسلسل	عنوان الشكل	الصفحة
١	نبات الستيفيا	٣
.2	بناء الانواع الرئيسية لمركبات الايض الثانوي من مركبات الايض الاولي	٧
.3	الشكل البنائي لمركب Steviosid	٩
.4	الشكل البنائي لمركب Rebaudiosid	١٠
.5	موجات الطيف المرئي	١٥
.6	شتلة نبات الستيفيا بعمر شهرين	٢١
.7	شكل منظومة الاضاءة المستعملة بالدراسة	٢٥
.8	تقسية النبيتات	٢٩
٩	موت الاجزاء النباتية المزروعة نتيجة استخدام تراكيز عالية من هايبوكلورات الصوديوم	٣٢
.١٠	استجابة القمة النامية والبراعم الجانبية للنشوء	٣٧
١١	التداخل بين نوع الاضاءة والسكروز في معدل عدد الافرع لنبات الستيفيا	٥٣
١٢	التداخل بين انواع الاضاءة والسكروز في عدد الاوراق لنبات الستيفيا	٥٥
13	تاثير الاملاح MS بنصف القوة وIBA في تجذير افرع نبات الستيفيا	٧١
.14	مرحلة الاقلمة	٧٤

قائمة الملاحق

التسلسل	عنوان الملحق	الصفحة
١	المحاليل القياسية للكلايكوسيد Stevioside و Rebaudioside A	٩٨
٢	تأثير BA بتركيز0 ملغم لتر$^{-١}$ وNAA بتركيز0.1 ملغم لتر$^{-١}$ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	٩٩
٣	تأثير BA بتركيز1 ملغم لتر$^{-١}$ وNAA بتركيز 0.3 ملغم لتر$^{-١}$ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	١٠٠
٤	تأثير BA بتركيز1 ملغم لتر$^{-١}$ وNAA بتركيز 0.4 ملغم لتر$^{-١}$ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	١٠١
٥	تأثير BA بتركيز2 ملغم لتر$^{-١}$ وNAA بتركيز 0.3 ملغم لتر$^{-١}$ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	١٠٢
٦.	تأثير BA بتركيز2 ملغم لتر$^{-١}$ وNAA بتركيز 0.4 ملغم لتر$^{-١}$ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	١٠٣
٧	تأثير BA بتركيز3 ملغم لتر$^{-١}$ وNAA بتركيز 0.3 ملغم لتر$^{-١}$ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	١٠٤

٨	تأثير BA بتركيز3 ملغم لتر-١ وNAA بتركيز 0.4 ملغم لتر-١ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	١٠٥
٩	تأثير BA بتركيز4 ملغم لتر-١ وNAA بتركيز 0.3 ملغم لتر-١ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	١٠٦
١٠	تأثير BA بتركيز4 ملغم لتر-١ وNAA بتركيز 0.4 ملغم لتر-١ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	١٠٧
١١	تأثير مصابيح الفلورسنت والسكروز بتركيز٤٥ غم لتر-١ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	١٠٨
١٢	تأثير مصابيح الفلورسنت والسكروز بتركيز٦٠ غم لتر-١ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	١٠٩
١٣	تأثير مصابيح LED الابيض والسكروز بتركيز١٥ غم لتر-١ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	١١٠
١٤	تأثير مصابيح LED الابيض والسكروز بتركيز٣٠ غم لتر-١ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	١١١
١٥	تأثير مصابيح LED الابيض والسكروز بتركيز٤٥ غم لتر-١ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	١١٢
١٦	تأثير مصابيح LED الابيض والسكروز بتركيز٦٠ غم لتر-١ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	١١٣

١٧	تأثير مصابيح LED الملون والسكروز بتركيز١٥ غم لتر-١ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	١١٤
١٨	تأثير مصابيح LED الملون والسكروز بتركيز٣٠ غم لتر-١ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	١١٥
١٩	تأثير مصابيح LED الملون والسكروز بتركيز٤٥ غم لتر-١ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	١١٦
٢٠	تأثير مصابيح LED الملون والسكروز بتركيز٦٠ غم لتر-١ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	١١٧
٢١	تجهيز كابينة الزراعة	١١٨
٢٢	متابعة النباتات داخل منظومة الاضاءة	١١٩
٢٣	القمة النامية المقطوعة من النبات الام	١٢٠
٢٤	الزراعة داخل كابينة الزراعة	١٢١
٢٥	قياس طول الافرع في مرحلة التضاعف	١٢٢
٢٦	تاثير منظمات النموالنباتية في تضاعف نبات الستيفيا	١٢٣

قائمة المختصرات

NaOCl	Sodium Hypochlorite
BA	Benzyl adenine
NAA	Naphthalene acetic acid
IBA	Indole butyric acid
MS	Murashige and Skoog medium (1962)
CRD	Completely Randomized Design
LSD	Least Significant Difference
PH	Potenz Hydrogen
HPLC	High- Performance Liquid Chromatography
HOCl	Hypochlorous acid
LED	Light Emitting Diodes

١- المقدمة:

تعد النباتات الطبية هي اكثر المحاصيل الاقتصادية اهمية وتستخدم اما بشكل مادة خام او مصنعة ، ولأهميتها الكبيرة والزيادة العالمية المستمرة في الطلب عليها مما تطلب تنميتها وانتاجها، تمتلك النباتات اهمية كبيرة في حياة الانسان ليس فقط كونها مصدرا مهما للغذاء فحسب وانما هي مصدرمهم للحصول على مدى واسع من المركبات الدوائية والمبيدات الحشرية والعطور والالوان والمطيبات ونتيجة للوعي الصحي المتزايد بين الشعوب مما ادى الى زيادة الطلب على العقاقير الطبية المصنعة وبما انه هذه العقاقير تسبب اثارا جانبية على المدى البعيد مما ادى الى اللجوء الى استعمال النباتات الطبية كونها مصدرا آمنا لصناعة الادوية (Zielińska و Matkowski ،٢٠١٤).

الستيفيا *Stevia rebaudiana* هو نبات ورق السكر هو نبات عشبي معمر من العائلة المركبة Asteraceae ، وهو نبات شبه استوائي يزرع في الأصل في أمريكا الجنوبية وتحديداً في الباراغواي والبرازيل، وقد استخدم في موطنه لقرون كعشبة لتحلية مشروباتهم المرة (Gupta واخرون، ٢٠١٣)، ترجع الاهمية الطبية لهذا لنبات لاحتواء أوراقه على مجموعة من مركبات شديدة الحلاوة خالية من السعرات الحرارية يطلق عليها SteviolGlycosides ومن بين اهم المواد التي تتضمنها هو مركب Steviosidومركب Rebaudioside A، فضلا عن احتوائه على الفيتامينات ومضادات الأكسدة مثل الفلافونيدات والتربينات وغني بالبروتينات والحديد والبوتاسيوم والمغنيسيوم والصوديوم وفيتامين A وC (Yoneda واخرون، ٢٠١٨).

يكثر نبات الستيفيا اما جنسيا بالبذور او خضريا بالعقل الساقية او تفصيص الجذور ، تواجه طريقة الاكثار بالبذور العديد من المشاكل اهمها نسبة الانبات المنخفضة التي تعد المشكلة الاكبر في اكثار الستيفيا كذلك وجود حالة عدم التوافق الذاتي في هذا النوع والذي يؤدي الى فشل الاخصاب، فانها لاتعطي نفس التركيب الوراثي وحلاوة الاوراق نفسها من ناحية الكمية والنوعية بسبب عدم التجانس الوراثي للبذور (Noordin واخرون،2012).

بناء على ما تقدم وللتغلب على جميع هذه المشاكل فقد قام الباحثون بمحاولات لتسخير تقانة زراعة الانسجة النباتية في الاكثار الواسع لنبات الستيفيا في مختلف الدول مثل ماليزيا (Abdul Razak واخرون، 2014) وتونس (Laribi واخرون، 2012) ومصر(Hassanen وKhalil ، 2013).

تعرف تقانة زراعة الانسجة بأنها عملية زراعة الخلايا والاعضاء النباتية في اوساط غذائية معقمة MS وتحت ظروف مسيطر عليها في داخل المختبر، علاوة على ذلك فهي توفر بالوقت والجهد والتكلفة وعدم التقيد بالعوامل الطبيعية مثل الموقع الجغرافي والتغيرات الموسمية والاجهادات البيئية ومن ثم زيادة في الانتاج خلال فتره زمنيه قصيره (Singh واخرون،2013)، تعد منظمات النمو النباتية مركبات عضوية فعالة تبنى طبيعيا في النبات او يتم تصنيعها تجاريا، وتستعمل بكميات قليله لتسبب تغيراً في نمو النبات وتطور, ان من اكثر منظمات النمو استخداما في زراعة الانسجة هي الاوكسينات والسايتوكاينينات. (الخفاجي، ٢٠١٤).

تعد ظروف النمو في غرفة النمو ومنها الضوء من العوامل المهمة في الحصول على النمو المطلوب للمزارع النسيجية بدلالة تاثيرها في نمو وتطور النبيتات، ومن بين مصادر الاضاءة الكهربائية المستخدمة في الزراعة النسيجية هي المصابيح البيضاء (الفلورسنت) وفي الوقت الحاضر تم اللجوء الى استخدام مصابيح Light Emitting Diodes (LED) في تنمية وانتاج نباتات بستنية تحت مصابيح بيضاء وملونة حمراء وزرقاء وبنسب مختلفة منها في المنشات المحمية وقد لجا بعض الباحثين الى استخدام هذه المصابيح في غرف النمو الخاصة بزراعة الانسجة (Gupta و اخرون، ٢٠١٣) . يؤثر الضوء في نمو النباتات وما تحتويه من المواد المؤثرة طبياً كماً ونوعاً لما يقوم به من تجهيز الطاقة اللازمة لتثبيت الكاربون في مراحل النمو والتطور جميعاً (Dabrowski واخرون، 2015) كما تعد الكاربوهيدرات من المكونات الأساسية في اي مصدر غذائي ، اذ تعمل على تنظيم اوزموزية الوسط فضلاً عن كونها مصدراً ضرورياً للطاقة (George واخرون ، 2008).

بناءا على ماتقدم وللتغلب على جميع هذه المشاكل ولاهمية النبات من الناحية الطبية فقد هدفت الدراسة الى

١- ايجاد برنامج متكامل لاكثار نبات الستيفيا خارج الجسم الحي .

٢- دراسة تاثير نوع الاضاءة وتراكيز السكروز المضافة للوسط الغذائي في نمو وتطور النبات وانتاج المركبات الايضية.

٣- تقييم كفاءة زراعة الانسجة والعوامل المحفزة في انتاج المركبات الكلايكوسيدية عن طريق تقدير محتوى الـ Stevioside و Rebaudioside في محتوى اوراق النبات باستخدام تقانة HPLC.

٢ـ مراجعة المصادر

٢ـ١: الوصف النباتي لنبات الستيفيا

نبات الستيفيا هو نبات عشبي معمر، يصل عمره ما بين ٥- ٧ سنوات في موطنه الاصلي (Ranjan واخرون، ٢٠١١) ، يكون شكل الاوراق بيضوي له حافة مسننة كما مبين في الشكل (١), وتتوزع بصورة متبادلة على ساق النبات الذي يبلغ طوله ٩٠ – ١٠٠ سم ويتراوح طول الورقة من 3- 5سم وعرضها يكون مابين 2-1سم (Singh وRao ,2005)، تتميز اوراق النبات بطعمها الحلو والذي يستمر لساعات في الفم ذلك بسبب ان المكونات الحلوة تكون منتشرة في الورقة في حين تركيزالمواد ذات الطعم المر يكون حول العروق(Maiti وHussein,2008)، يكسو الزغب اسفل الورقه والساق، تمتاز ازهارها بلون ابيض مائل للبنفسجي الفاتح احياننا وذات شكل انبوبي. تتكون من اتحاد خمس من الزهيرات الانبوبيه ويحيطها من الخارج خمس قنابات خضراء اللون ويبلغ طول الزهرة بين 15-17 ملم والزهيرات صغيرة الحجم محمولة على عناقيد صغيرة, يحتوي كل عنقود على 6-2 من الزهيرات وبذورها تكون من نوع الاكينات Alchenes ويبلغ طولها 3ملم, كل اكين يحتوي على 20 شعره خشنه من الاعلى, يمكن ان نميز بين البذور الخصبة وغير الخصبة من خلال لونها,فالبذور الخصبة تكون ذات لون غامق والغير خصبة تكون شاحبة اللون, ويتراوح وزن البذوربين ٠,٣ - ١ غم لكل ١٠٠٠ بذرة ، اما الجذر فتكون من النوع الليفي قريب من سطح التربة (Mishra واخرون,2010).كما في الشكل (١)

شكل (١) نبات الستيفيا

٢-٢: الاسم العلمي والتصنيف النباتي لنبات الستيفيا

الاسـم العلمي لنبات السـتيفيا هو *Stevia rebaudiana* واسـمه الانكليزي Sugar bush اي شـجرة السـكر, يوجد 230 نوعا من جنس stevia والاكثر شـيوعا منها S.ovata و S.salicifollia و S.eupataria الا أن اكثر الانواع حلاوة هو S. rebaudiana والتصـنيف النبـاتي كمـا ورد في (Yadav واخرون ,2011)

جدول (١) التصنيف العلمي لنبات الستيفيا

Kingdom	**Plantae (Plants).**
Subkingdom	**Tracheobionta (Vascular plants).**
Suberdivision	**Spermatophyta (Seed plants)**
Division	**Magnoliophyta (Flowering plants).**
Class	**Magnoliopsida (Dicotyledons).**
Subclass	**Asteridae**
Order	**Asterales**
Family	**Asteraceae(Aster family).**
Genus	**Stevia Cav.**
Species	***Rebaudiana***

٢ – ٣: الموطن الاصلي ومناطق الانتشار

تعد غابات البراغواي والمكسيك والبرازيل هي الموطن الاصـلي لنبات السـتيفيا، حيث تنمو في المناطق الاستوائية وشبة الاستوائية (Gerami، 2017)، ان الدراسات المكثفة على هذا النبات بينت فائدته على صـحة الانسـان لذا بدأت زراعته وتسـويقه في العديد من الدول منها كندا و اندونيسـيا و كوريا، ماليزيا و الهند والولايات المتحدة الامريكية، كما نجحت زراعتة ايضا في العراق (عبد القادر، 2018).

٢ ـ ٤: الاهمية الطبية لنبات الستيفيا

انتشرت زراعة نبات الستيفيا في جميع انحاء العالم كونه مصدرا للسكر والذي يعد بديلا لسكر المائدة (السكروز), ويقدم هذا النبات فائدة كبيرة لمرضى السكري اذ يتميز بقدرته على تنظيم مستوى السكر بالجسم ,ويقوم ايضا بتحلية الطعام بطريقة مشابهة للسكر العادي ولكن بدون سعرات واقل ضررا (Li واخرون،2017)، تتميز اوراق نبات الستيفيا بخلوها من السعرات الحراية على الرغم من انها تفوق السكر العادي بـ 300 مره بسبب احتوائها على مركبات stevioside و rebaudiosides التي ليس لها دور في عمليات الايض لجسم الانسان ومن ثم لايتم انتاج الطاقة لهذا فان الافراد الذي يتناولون الاطعمة مثل الكعك والحلويات المصنعة من الستيفيا لايشعرون بالقلق حول الحصول على قدر كبير من السعرات الحرارية من السكريات لانه لايقلل فرصهم في فقدان الوزن بنجاح (Walter وSoliah, 2010)، وقد اكد ذلك Goyal واخرون (2010) الى ان النواتج الايضية لمستخلص اوراق نبات الستيفيا يمكن استخدامها كمحلي طبيعي غير مغذي يعد بديلا عن السكروز، كذلك بين Gupta واخرون (2013)عند تجفيف اوراق نبات الستيفيا تجفيف تام واضافته على شكل مسحوق للمنتجات الغذائية التكميلية لمرضى السكري مما يمنحها الطعم الحلو اضافة الى ذلك فانه يجدد البنكرياس فضلاً عن ذلك فقد تم ادراج هذا النبات ومستخلصاته في قائمة افضل العناصر الداخلة في برنامج الحمية الغذائية والمخصصة لانقاص الوزن.

يمتلك مستخلص اوراق نبات الستيفيا فعالية عالية ضد العديد من الامراض وهذا بسبب ماتحتويه بجانب الكلايكوسيدات على مواد كيميائية نباتية أخرى مثل الفلافونيدات والأحماض الفينولية والأحماض الدهنية والبروتينات والفيتامينات (Gupta وآخرون، ٢٠١٣). اشار Álvarez-Robles واخرون، (٢٠١٦) ان تناول اوراق نبات الستيفيا يساعد على تنظيم ضغط الدم من خلال ارتخاء الشرايين ومنع تجمع الكالسيوم على جدران الشرايين ومن ثم تتوسع الاوعية ويقل ضغط الدم ومن ثم المحافظه على صحة القلب، و يحتوي على عدد من المواد الكيميائية النباتية التي تدخل بالخصائص العلاجية فقد تكون مضاده للحساسية والميكروبات كذلك له تاثير ايجابي في الاستخدام الموضعي لامراض الجلد مثل الاكزما والتهاب الجلد كما انه يمنع انتشار البكتريا وبمثابة الستيرويد في هذه الحاله مما يجعله خيارا طبيعيا (الطب البديل) لكثيرمن الناس الذين لا يستطيعون الحصول على الشفاء من الادوية التقليدية.

اوصى نظام الطب القديم الأيرفيدا Ayurvedie بأستخدام اوراق نبات الستيفيا بوصفه علاجا فعالا ضد الامراض المزمنة وغير المزمنة مثل مرض السكري والقلب والاوعية الدمويه والكلى والسرطانات

وكذلك في علاج اضـــطرابات الامعاء و تســـوس الاســـنان حيث لوحظ اهمية النبات في الحد من تكوين البكتريا في الفم مما يجعلها اضـافة عشـبية لمعاجين الاسـنان وغسـولات الفم كما يمنع تسـوس الاسـنان والتهاب اللثة (Gupta واخرون ,2013)، وكذلك استخدم كعقار لعلاج مرض التكيسات الكلوية المتعددة (Yuajitواخرون،2013).

اشار Ghaheri واخرون، (٢٠١٨) ان اوراق الستيفيا غنية بالعناصر الغذائية مثل الكالسيوم والفوسفور والصـــوديوم والمغنيســـيوم والزنك والفيتامينات AوC وتحتوي أيضـــاًعلى كميات كبيرة من المكونات الأخرى منها السيلينيوم والحديد

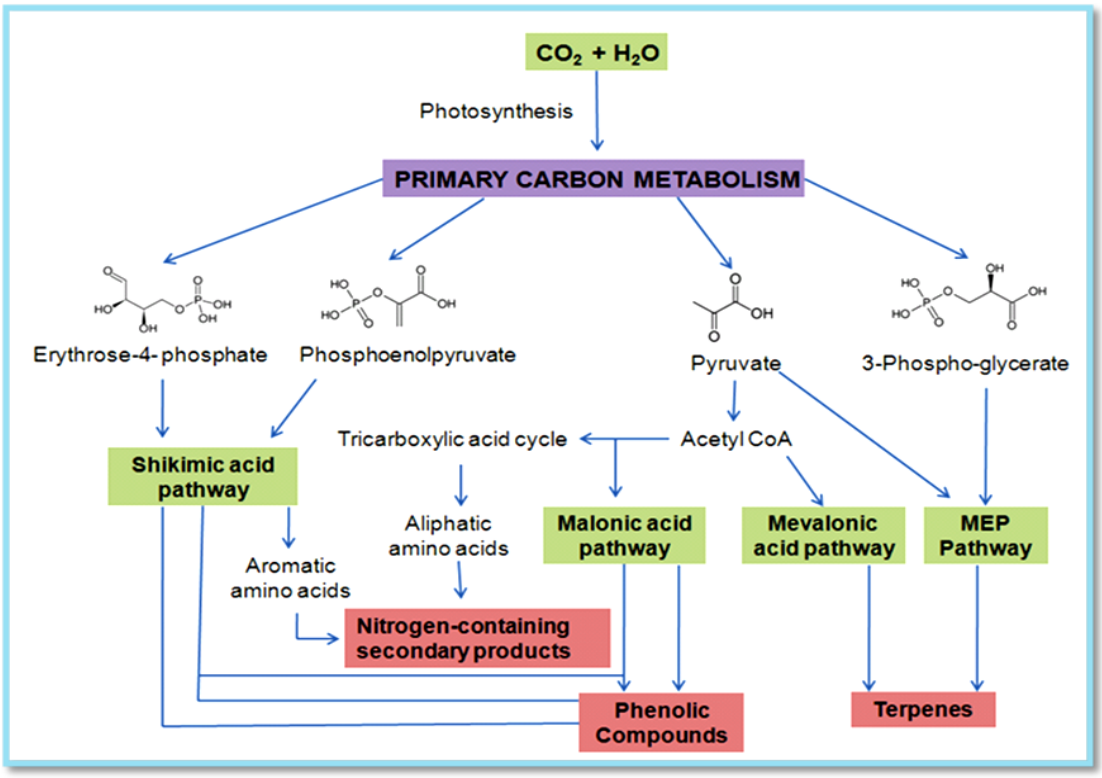
٢- ٥: المركبات الايضية الثانوية

تعرف مركبات الايض الثانوي على انها مركبات عضـــوية معقدة تقوم بوظائف غير مباشـــرة في نمو النبـات ومنهـا جـاءت التســـميـة بمركبـات الايض الثـانوي او المركبـات الكيميـائيـة النبـاتيـة (Raj وSaudagar،2019).

تنتج خلية النبات نوعين من نواتج الايض هما نواتج الايض الاولية وهي مركبات كيميائية تنتج بكميات كبيرة في خلايا النبات من خلال عمليتي التركيب الضـــوئي والتنفس وتشـــترك مباشـــرة في نمو وايض النبات كالبروتينات والكاربوهيدرات واللبيدات (Taiz و Zeiger,٢٠١٠) والتي تســـتخدم كمواد اولية صـناعية او كأغذية متممة للاغذية مثل الزيوت النباتية والاحماض الدهنية الداخلة في صـناعة الصـابون والمنظفات والكاربوهيدرات كالســـكروز والنشـــا والبكتين والســـليلوز(Vanisree واخرون , ٢٠٠٤)، ونواتج الايض الثانوية التي تعد نواتج نهائية لعمليات الايض الاولية كما في الشـــكل (٢) وهي مركبات غير اسـاسـية لاتدخل في بناء وتكاثر ونمو الخلية النباتية، فضـلا عن انها لاتتأثر بأمكانية اسـتفادة النبات منها اذ ان هنـاك الالاف من المركبـات الفعـالـة التي تكونت في عمليـة الايض الثـانوي وخزنت في الجزء النباتي الذي انتجها (Tripathi واخرون،2019)، تختلف مركبات الايض الثانوي في تركيبها الكيميائي على الرغم من انها قد تكون ذات منشأ واحد(مركب وسطي واحد) وعلى هذا الاسـاس صـنفت بالاعتماد على خصـــائصـــها الكيميائية وصـــفاتها الطبيعية الى القلويدات والكلايكوســـيدات والفينولات وغيرها (القرعاوي,٢٠٠٩). ذكر ابراهيم (2017) ان نواتج الايض الثانوي تصـنع في خلايا نباتية خاصـة وعند مراحل تطورية معينة وبكميات قليلة جاعلة عملية اســتخلاصــها وتنقيتها صــعبة مقارنة بنواتج الايض الاولي التي تصـنع في جميع اجزاء النبات او احد اعضـائه. ولايعرف دور هذه المركبات في حياة النبات لكن يعتقد انها مواد تنتج كوسيلة دفاعية لحماية النبات من المؤثرات الخارجية، حيث اشار Park واخرون (٢٠٠٨) الى ان نواتج الايض الثانوي هي مركبات تختلف في درجة تعقيدها ويمكن ان تصـنع بسرعة كأ ستجابة الى اصابة ميكروبية او مهاجمة الحشرات او بسبب احد انواع الشد اللاحيوي كالبرودة و الحرارة

و الجهد الازموزي والاضـــرار الميكانيكية. أو انها مركبات مهمة لتنظيم نمو النبات ويســتفيد منها النبات بوصـــفها موادا خازنة للنتروجين او الكاربون او عناصـــر اخرى مهمة لتزويد النبات عند الحاجة بأي عنصر من هذه العناصر (Raj وSaudagar،2019).

مـــن ناحيـــة اخـــرى تـــؤدي هـــذه المركبـــات دوراً مهمـــاً كمـــواد فعالـــة دوائيـــا اذ يمكـــن اســـتعمالها فـــي عـــلاج كثيـــر مـــن الامـــراض لفاعليتهـــا وكونهـــا تـــوفر الجانـــب الآمـــن مـــن الاســـتخدام البشـــري الطبـــي والعلاجـــي ، وقـــد تكـــون هـــذه المركبـــات محـــددة بمجموعـــة خاصـــة ولهـــذا اتخـــذت كوســـيلة للتميـــز بـــين العوائـــل و الاجنـــاس والانـــواع(العبيـــدي ، 2014). كما في الشكل(٢)



شكل (٢) بناء الأنواع الرئيسة لمركبات الايض الثانوي من مركبات الايض الأولي (Taiz وZeiger، 2010**)**

٢- ٥- ١: الكلايكوسيدات

الكلايكوسيدات Glycosides او مايعرف بـــــــ السكاريدات او اشباه السكريات هي واحدة من منتجات الايض الثانوي التي ينتجها النبات وهي عبارة عن مركبات عضــوية ناتجة من ارتباط مادة لاســكرية مع مادة ســـكرية والاخيرة قد تكون عبارة عن جزيئة واحدة او اكثر من الســـكريات الاحادية او الثنائية او الثلاثية(Evans، 2009).

تعد الكلايكوســيدات كيميائيا كاســتلات وفيها تكون مجموعة الهيدروكســيل (OH) الســكري متحدة مع مجموعة الهيدروكسيل من الجزء اللآسكري، ومجموعة الهيدروكسيل الثانية متحدة ضمن جزيئة السكر نفســه لتكون حلقة غير متجانســة فيها ذرة اوكســجين،وبصــورة ابسـط يمكن عدٌ الكلايكوسـيدات كايثرات سكرية، يعرف الجزء اللاسكري منها باسم اكليكون aglycone بينما الجزء السكري يعرف باسم كليكون glycone (Raj وSaudagar،2019).

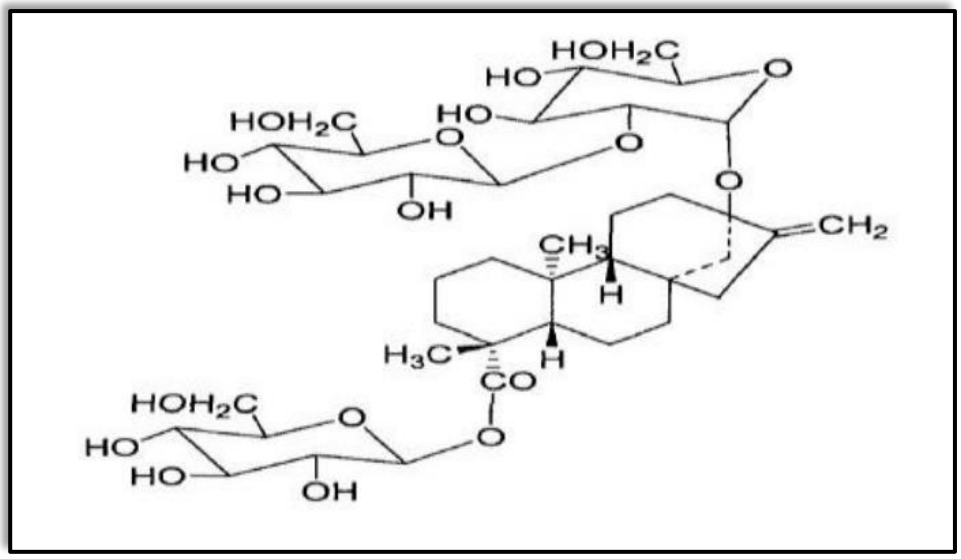
. بالرغم من ان التأثير الطبي للكلايكوسـيد يكمن في الجزء اللاســكري منه إلا ان وجود الســكر يزيد من فعالية المركب الكلايكوســيدي ككل وذلك من خلال تأثيره في الخواص الفيزيائية للمركب الكلايكوســيدي كسرعة الذوبان والامتصاص في الجسم والانتشار والنفوذ خلال الاغشية ومن ثم تسهيل انتقاله من عضو لآخر داخل الجسم (Flaih ، ٢٠١٣).

تؤدي الكلايكوســـيدات بشـــكل عام دورا مهماً في حياة النبات حيث لها دور وقائي ضـــد بعض الافات والحشـــرات والكائنات الحية الدقيقة بعض الوان الازهار يعود لوجود هذه المركبات وبذلك تعد من طرق جذب الحشرات لاتمام التلقيح، كما تعد هذه المركبات مصدراً لتخزين المواد السكرية والتي بدورها تدخل في عملية البناء الغذائي وتنظيم الجهد الازموزي وانتقال بعض المواد (Clemente واخرون، ٢٠١١).

٢- ٥- ١- ١: مركب Stevioside

Stevioside هو مركب تم استخلاصه من اوراق نبات الستيفيا والصيغة الكيميائية له ($C_{38}H_{60}O_{18}$) وهو المسؤول عن خصائص المذاق، تمت الموافقة على استخدامه في البرازيل والأرجنتين وباراغواي وكذلك في الصين وكوريا الجنوبية واليابان وهذه الجزيئات مستقرة للغاية في المحاليل المائية داخل نطاق واسع من الأس الهيدروجيني ودرجة الحرارة (Abou-Arab واخرون، ٢٠١٠)، وهوعبارة عن مسحوق بلوري له لون ابيض عديم الرائحة يتميز بقابليتة العالية على الذوبان بالماء وقابل للخلط مع مواد التحلية الاخرى فلا يؤثر في خواص الاغذية ويكون ثابت في الظروف الحامضية والقاعدية والتسخين ايضا فلا يتغير طعمه في كل هذه الظروف وهو ذو درجة عاليه من الامان (Soufi واخرون، ٢٠١٩) يعد الـ

Stevioside المركب الاكثر حلاوة من بين المركبات الاخرى وتعادل حلاوته 300 مرة من حلاوة سكر المائدة ويمثل من ٦ - ١٨٪ من وزن اوراق النبات (Tavarini و Angelini، ٢٠١٣)، هناك تطبيقات شائعة لهذا المركب فهو يعمل على تحسن عملية الهضم وغيرها من وظائف الجهاز الهضمي ويساعد في شفاء الطحال والكبد والبنكرياس بالاضافة الى انه مضاد للتعب (Escutia-Lopez واخرون، 2019). كذلك استخدم لتحلية المشروبات مع المساهمة في تقليل السعرات الحرارية حيث يعد من المصادر الطبيعية للمُحليات ذات السعرات الحرارية المنخفضة للغاية وقوة التحلية العالية فيه موضع اهتمام متزايد (Zhang واخرون، ٢٠١٧ و Soufi واخرون، ٢٠١٩). لذلك قد يكون بديلاً مناسباً للسكروزالمستخدم في صناعة الطعام. والشكل التالي يبين مركب Stevioside في الستيفيا.كما في الشكل(٣).



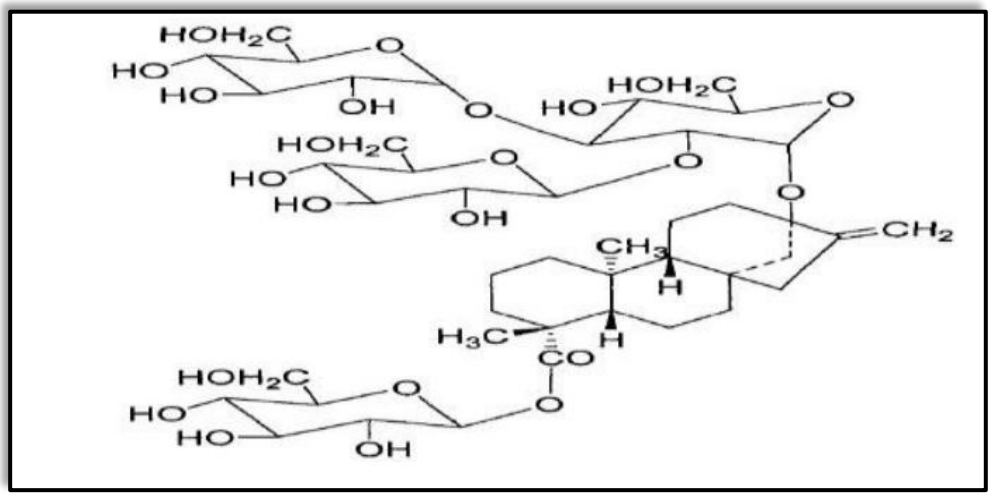
شكل (٣) الهيكل البنائي لمركب الـ Stevioside

٢- ٥- ١ – ٢: مركب Rebaudioside A

يتمتع مركب Rebaudioside A الذي ينتمي الى Steviol glycosides بفاعلية حلاوة اعلى من Stevioside بسبب احتواه على وحدة اضافية للكلوكوز في موقع C-13 مما يمنحه قوة تحلية الاعلى ومن ثم يعد المكون الاكثر اهتماماً في مستخلصات الستيفيا وهو اكثر حلاوة (٢٥٠-٤٥٠) مرة من السكروز وبنفس النكهة، ومن ثم الاكثر استقراراً من بين المركبات الاخرى وله قابلية على الذوبان (Lemus-Mondaca، ٢٠١٢).

يتميز Rebaudioside A بخصائص علاجية لها قابلية على تحفيز الانسولين بصورة مباشرة في خلايا البيتا الموجودة في بنكرياس الفئران والتي تعد من أحسن الخصائص العلاجية لتنظيم السكر بالدم (Abudula واخرون، ٢٠٠٨).

تبين ان عملية التمثيل الغذائي لمركب Rebaudioside A في الجهاز الهضمي تبدأ بواسطة ميكروبات القولون التي تحوله الى مركب Stevioside الذي يتم ايضه الى الستيفيول وكلوكوز والذي يتكون في هذه العملية تستخدمه البكتيريا الموجودة في القولون مباشرة بدلاً من ان يمتص في مجرى الدم وان فائدة استخدام اوراق الستيفيا تتمثل في انه بعد المعاملة لا يتم تراكم لأي منتج ثانوي في جسم الانسان لأن المكونات الزائدة يتم طرحها والتخلص منها عن طريق البول وتبقى الدقائق الصغيرة يتم التخلص منها عن طريق البراز(Gupta واخرون، ٢٠١٣). تعد حلاوة أي مركب من مركبات الستيفيا أكبرمن حلاوة السكروز: Rebaudioside A (٢٥٠-٤٥٠ مرة) وRebaudioside B (٣٠٠-٣٥٠ مرة) وRebaudioside C (٥٠-١٢٠ مرة) وRebaudioside D (٢٥٠-٤٥٠ مرة) وRebaudioside E (١٥٠-٣٠٠ مرة) وDulcoside A (٥٠-١٢٠ مرة) وSteviolbioside (١٠٠-١٢٥ مرة). في المتوسط حلاوة Steviol glycosides هي (٢٥٠ – ٣٠٠ مرة) أكبر من السكروز مع قابلية منخفضة للذوبان في الماء ونقاط انصهار عالية (Crammer وIkan، ١٩٨٧). والشكل التالي يبين مركب Rebaudioside A في الستيفيا.كما في الشكل(٤)



الشكل(٤): مركب Rebaudioside A في الستيفيا(Prakash واخرون، ٢٠١٤)

٢ – ٦: زراعة الانسجة النباتية

إنَ ما تشهده العلوم المختلفة من تقدم وازدهار مرهون بما تتوفر لها من تقانات يمكن اعتمادها في توسيع نطاق التجارب ومن بينها تقانة زراعة الأنسجة النباتية. ويعبر عن مفهوم زراعة الانسجة النباتية Plant tissue culture بأنه نمو خلايا او انسجة نباتية مختلفة في اوعية زجاجية او بلاستيكية تحتوي على بيئات مغذية صناعية تتكون من العناصر الغذائية التي يحتاجهاالنبات تحت ظروف كاملة التعقيم وفي ظروف بيئية مسيطر عليها(شكري والمعيقل ,2013). كما ويعرفها البعض الأخر بأنها العلم الذي يختص بزراعة خلايا النبات او الأنسجة او الأعضاء المفصولة من النبات الام تحت ظروف خالية من المسببات المرضية وتعقيمهُ وزراعتهُ في اوساط غذائية اصطناعية معقمة وتحضين الجزء المزروع في ظروف مسيطر عليها من درجة حرارة وضوء ورطوبة ويتبع ذلك تطور الجزء المزروع بإتجاه الهدف المطلوب من زراعتهُ (Georg واخرون ،2008)، ونتيجة للتطور العلمي توسعت مجالات الاستخدامات التطبيقية لزراعة الانسجة النباتية من اهمها الاكثار الخضري المختبري, أي انتاج النباتات في المختبر بدلا من الحقل, وانتاج الاجنة الجسمية لاستخدامها بدلا من البذور, وانتاج الهجن الجسمية بعمليات اندماج البروتوبلاست بدلا من التضريب والتلقيح وحفظ المصادر الوراثية وانتاج نباتات خالية من المسببات المرضية خاصة الفايروسية منها بدلا من مكافحتها بالمبيدات فضلا عن دراسة العمليات الحيوية في الانسجة والخلايا النباتية(Sujata, ٢٠١٣).

اهتم الباحثون اهتماما كبيرا في مجال الاكثار الخضري للنباتات بواسطة هذه التقانة, وذلك لندرة البعض منها او للقيمة الغذائية لها او لقدرة البعض منها على انتاج مواد ذات قيمة دوائية عالية في انتاج العقاقير الطبية (Karuppusamy, ٢٠٠٩).

التوجه الكبير في السنوات الاخيرة الى استعمال الاعشاب والمواد الطبية والحاجة الملحة لها اصبح خطر يهدد النباتات والموارد الطبيعية نتيجة ازالتها وتخريب البيئة، لذا تعد تقانة زراعة الانسجة وتوالد الخلايا والاعضاء النباتية خارج الجسم الحي اداة لاغنى عنها في انتاج مواد دوائية مشتقة من النباتات(Pistelli واخرون ،٢٠١٣)، كما ان قسما من هذه المركبات لايمكن تحضيرها مختبريا فمن الجدير بالذكر ان الكلايكوسيدات لايمكن تحضيرها اقتصاديا بطريقة صناعية (كيميائية) او مايكروبايولوجية لذلك سيكون الحل الوحيد للحصول عليها هو استخراجها من النباتات التي تحتويها لكن بكميات قليله، هنا تبرز اهمية زراعة الانسجة لانتاج العقاقير والمواد الصيدلانية اذ انها تساعد على الانتاج السريع لهذه المواد والمركبات من دون تقيد بالعوامل الطبيعية مثل الموقع الجغرافي، او التغيرات الموسمية او الاجهادات البيئية (Zhou و Wu,٢٠٠٦)، كما بينت الدراسات ان المركبات التي يتم الحصول عليها من الاجزاء

النباتية المزروعة خارج الجسم الحي هي نفسها التي تنتجها النباتات النامية بالحقل يضاف اليها ان كميتها تكون اكثر في اغلب الاحيان كما ان اســـتخلاص المركبات يكون اســـهل واقل كلفة لغياب كميات من الصبغات (Lila,٢٠٠٥). كما أشار الناجي (٢٠١٢) الى ان العقار المستحصل عليه من خلال هذه التقانة يكون اكثر فعالية في علاج الامراض نتيجة للنقاوة العالية اذا ماقورنت بتلك المصـــنعة وغياب عامل التلوث, وبين (Nalawade و Tsy,٢٠٠٤) لاجل الحصول على زيادة في انتاج الايض الثانوي يجب ان تستخدم نباتات تتصف بانتاجها الوفير لمثل هذه المركبات.

٢ – ٦ – ١: التعقيم

تُعد عملية التعقيم Sterlization إحدى أهم الخطوات الأســـاســـية والتي من دونها لايمكن اكتمال نجاح برنامج زراعة الأنســـجة النباتية ، ويمكن تعريفها بأنها إزالة الكائنات المجهرية والقضـــاء عليها والتي ترتبط بالجزء النباتي المزروع وتســـبب هلاكه من طريق نموها الســـريع ومنافســـتها للجزء النباتي Explantsعلى المواد الغذائية المتوفرة في الوسط الغذائي فضلا عن إفرازها مواد سامة تؤدي إلى قتل الجزء النباتي وبالنتيجة فشل الزراعة النسيجية (Ramawat، 2004).

تختلف مدة التعقيم ونوع المادة المســـتعملة بأختلاف الجزء النباتي المراد زراعته وبشـــكل عام فأن اهم المعقمات المستخدمة هي هايبوكلورات الصـوديوم و هايبوكلورات الكالسيوم و كلوريد الزئبق و الكحول الاثيلي ومضـادات حيوية, ولزيادة فعالية ونفاذية مادة التعقيم وتقليل الشـد السـطحي تضـاف قطرات من المادة الناشرة Tween-20 ويتم غسل الأجزاء النباتية بالماء المقطر المعقم مرات عدة لحين إزالة المادة المعقمة بالكامل من الجزء النباتي (Ramawat، 2004)، ومن خلال مراجعة المصـــادر وجد ان مادة هايبوكلورات الصـــوديوم من اكثر المواد المســـتخدمة في تعقيم الاجزاء النباتية المهيأة للزراعة خارج الجسم الحي.

فقد تمكن Laribi واخرون (٢٠١٢)من تعقيم الاجزاء الخضـــرية لنبات الســـتيفيا بـالغمر بمحلول هايبوكلورات الصـــوديوم NaOCl بتركيز(١٪) الحاوي على قطرات من المادة الناشـــرة tween20 ولمدة ١٥ دقيقة, ثم غســـلت بالماء المقطر المعقم مرات عدة, ونجح Ummi Nur واخرون(٢٠١٤) في تعقيم القمم النامية لنبات بغمرها بمحلول NaOCl بتركيز ٢٪ لمدة ١٠ دقائق ثم الغســـل بالماء المقطر المعقم مرات عدة. اما Singh و اخرون(٢٠١٣) فقد استخدموا NaOCl بتركيز ٣٪ لمدة ٥ دقائق لتعقيم عقد نبات الســتيفيا ثم غســلت بالماء المقطر المعقم مرات عدة وزرعت على وســط MS الخالي من أي منظمات نمو لغرض النشوء.

٢ ـ ٧: منظمات النمو النباتية

تعرف منظمات النمو النباتية على انها مركبات عضـــوية تصـــنع طبيعياً أو صـــناعياً وهي إما أن تكون محفزات أو مثبطات او معوقات نمو تضـاف في بعض مراحل نمو النبات وتسبب تغيراً في نموه وتطوره (الخفاجي, 2014)، وقد ذكر Williams (2011) آلية عمل منظمات النمو النباتية عندما تضـاف لنسـيج النباتي ، إذ تتم إضـــافتها بتراكيز منخفضـــة وتمتص من أنســـجة النبات ثم تنتقل إلى مواقع ترتبط فيها بمسـتقبل (Receptor)، ومن ثم يتم تنشـيط نظام إرسـال ثانوي لتحفيز أو تثبيط فعالية الخلية، كما تؤدي منظمات النمو النباتية المضـــافة إلى الوسـط الزراعي عملاً رئيســاً في تحديد الهدف المنشـود من زراعة الأنســـجة ولاســـيما عمليات التشـــكل خارج الجســـم الحي (In Vitro - Morphogenesis) (Aliyu وAwopetu، 2005)، ويعد اســـتعمال منظمات النمو النباتية من المتطلبات الاســـاســـية لنجاح الزراعة خارج الجســـم الحي. ذكر الخفاجي(2014) إنه يمكن القول ان الزراعة خارج الجســـم الحي تكاد تكون مستحيلة من دون منظمات النمو.

تقسم منظمات النمو النباتية إلى أوكسينات وسايتوكانينات وجبرلينات وحامض الأبسيسك والأثيلين و البراسينوستيرويدات (BRs) (George وآخرون، 2008)، وفي الآونة الأخيرة تم إضافة ثلاث مجموعات اليها هي متعدد الأمين Polyamine وحامض السالسيليك Salicylic acid وحامض الجاسمونك Jasmonic acid (Hayat و Ahmed،2007).

٢ـ ٧ ــ ١: تاثير الاوكسينات والسايتوكانينات في تضاعف الافرع الخضرية

تعد الأوكسينات من منظمات النمو المهمة التي تستعمل في زراعة الأنسجة النباتية وهي عبارة عن مجموعة من الحوامض الاندولية ذات نواة حلقية غير مشبعة او قد تكون الاوكسينات مشتقات لهذه الحوامض، ذات أوزان جزيئية عالية تستخدم بتراكيز قليلة جداً لتحدث تأثيراً كبيراً في الجزء المزروع وتُعد المرستيمات القمية والبراعم الجانبية والأوراق الفتية أهم مراكز بنائها (Hayat وAhmed، 2007). تشتمل الاوكسينات على انواع عدة، منها الطبيعية مثل Indole acetic acid (IAA) والصناعية مثل Naphthalene acetic acid (NAA) وIndole Butric acid (IBA) و (2,4-D) Dichlorophenoxy acetic acid (Davies، 2010)، ولها عمل في تحفيز الأنزيمات المسؤولة عن بناء الجدار الخلوي وتحلله ومن ثم التأثير في الخصائص الميكانيكية له و تحفيز ليونة الجدار الخلوي من طريق كسر روابط الجدار الخلوي واعادتها تحت تأثير الضغط الانتفاخي مما يسهم في زيادة حجم الخلية واتساعها واستطالة الخلايا وتطور الأعضاء أو تكوينها (Taiz و Zeiger, 2010) و لها دور في تكوين الجذورالعرضية (Roychoudhry و Kepinski ، ٢٠٢٢).

عرفت السايتوكانينات على انها قواعد نتروجينية ذات أوزان جزيئية عالية ولها عدة تأثيرات فسيولوجية إعتماداً على التراكيز المستخدمة، وتؤدي السايتوكاينينات دوراً كبيراً في زراعة الأنسجة إذإنها تشجع إنقسام الخلايا وتمايزها وتحفز نمو البراعم الابطية وكسر السيادة القمية وتثبط من تكوين الجذور وتستعمل أنواع عدة منها مثل الـ (Zeatin) و (Kinetin)و (2ip) و (BA)(الخفاجي، 2014)، وقد أشارت الدراسات العلمية إلى أن السايتوكاينينات تنتج في النبات طبيعياً مثل Zeatin والتي تتألف من D-ribos t-RNA وتكون أما حرة أو مرتبطة مع N^6 -Phosphoric acid substitused Adenine للسايتوبلازم والكلوروبلاست او تصنع مختبرياً مثل Benzyl adenine (BA) وThidiazuron (TDZ) (George واخرون، 2008)، ويعد البنزل ادنين من انشط السايتوكانينات المستخدمة في مضاعفة الاجزاء النباتية (Chand و Singh, ٢٠٠٤).

ولبيان دور الاوكسينات والسايتوكاينينات في زراعة الانسجة وتضاعف الزروعات اجريت العديد من الدراسات حول ذلك، فقد بيَّن Singh وآخرون (٢٠١٣) أمكانية إكثار نبات الستيفيا باستعمال وسط MS الحاوي على مستويات مختلفة من BA وIAA، إذ تفوقت معاملة التداخل (1ملغم .لتر$^{-1}$ منBA و 0.1 ملغم.لتر$^{-1}$ من NAA) في أعطاء أعلى عدد أفرع للنبات.

وبهدف إكثار نبات الستيفيا خارج الجسم الحي تمكن الباحث عبد الكريم وتبارك (٢٠١٨) من إكثار نبات الستيفيا عن طريق زراعة العقد في وسط MS المجهز بتراكيز مختلفة من BA وNAA ، إذ أعطت المعاملة 0.2 ملغم لتر$^{-1}$ من NAA و 1.5ملغم لتر$^{-1}$ منBA تفوقاً في عدد الأفرع والوزن الطري والجاف للمجموع الخضري.

اضاف خيري وآخرون (2018) تراكيز مختلفة من منظمي النمو BA وNAA في اكثار نبات الستيفيا خارج الجسم الحي، إذ تفوقت معاملة التداخل (١ ملغم لتر$^{-1}$ من BA مع 0.1 ملغم .لتر$^{-1}$ من IAA) في معدل عدد الأفرع للنبات.

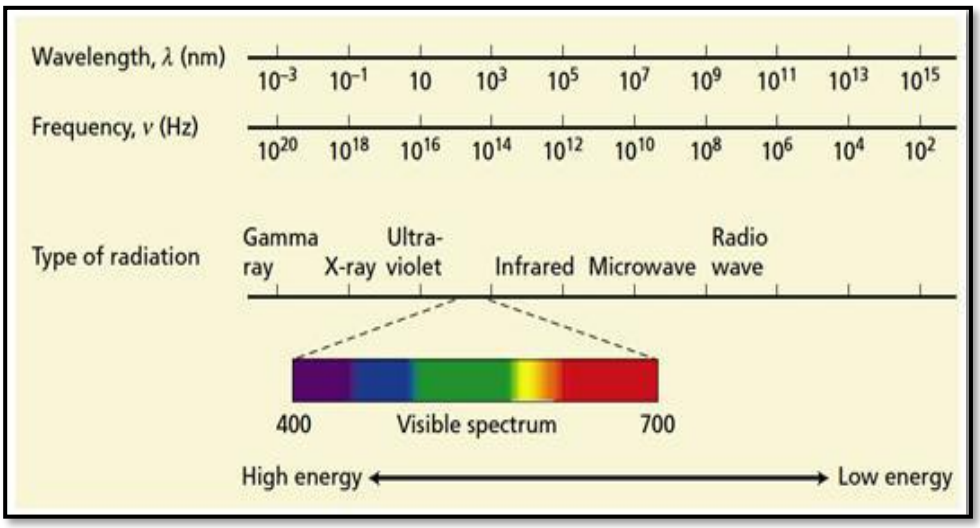
٢ – ٨: تاثير المحفزات الفيزيائية في إنتاج المركبات الثانوية للنبات

اصبح أتجاه العلماء في القرن الحالي منصبا حول الفيزياء الحياتية Biophysics ودورها في المجال الزراعي، ومن أهم الظواهر الفيزيائية المستخدمة في المجال الزراعي هي الأشعة فوق البنفسجية والكهرباء والضـوء والمغنطة والموجات فوق الصوتية ودرجات الحرارة، وتتميز هذه الظواهر بقلة كلفتها وتأثيرها الآمن في الصحة والبيئة (الموسوي ، 2017)

٢ ـ ٨ ـ ١: الضوء

تمتاز الشمس بكونها المصدر الرئيس للطاقة إلى الأرض ويخترق الإشعاع الشمسي الفضاء الخارجي على شكل موجات كهرومغناطيسية وتقوم طبقة الأوزون المغلفة للكرة الأرضية بامتصاص الإشعاعات الضارة للنبات والإنسان، في حين تمتص السحب جزءاً آخر من هذه الإشعاعات ليصل الباقي إلى النبات الذي يستفيد من 1 – 2% فقط من الطاقة الشمسية للقيام بعملياته الحيوية، من مجموع الطاقة الشمسية الممتصة من قبل النبات ما بين 75-80% يستعمل لتبخير الماء ويتم تخزين 5-10% من هذه الطاقة في التربة. ان الضوء الممتص من قبل النبات هو الضوء المرئي وهو الجزء الذي تدركه الأبصار من الاشعاع الشمسي إذ تحول النباتات هذه الطاقة الضوئية إلى طاقة كيميائية في عملية التمثيل الكاربوني (Dabrowski واخرون، 2015).

يتكون الضوء المرئي من مجموعة من الموجات الضوئية مختلفة الألوان والأطوال ويمكن تحليله إلى مكوناته بإمرار حزمة ضوئية خلال موشور زجاجي فتتفرق الموجات الضوئية المكونة له حسب معامل انكسار كل منهما، وتظهر على شكل طيف متصل ومرتبة على الوجه الآتي بحسب الألوان الأساسية في ضوء الشمس وهي الأحمر و البرتقالي و الأصفر و الأخضر و الأزرق و البنفسجي (Taiz وZeiger، 2010) وكما مبين في الشكل (٥)



شكل (٥) موجات الطيف المرئي (Taizو Zeiger، 2010)

يُعد الضوء من العوامل الرئيسة المؤثرة في نمو النباتات وما تحتويه من المواد المؤثرة طبياً كماً ونوعاً لما يقوم به من تجهيز الطاقة اللازمة لتثبيت الكاربون في مراحل النمو والتطور جميعها ابتداء من إنبات البذور وانتهاء بإنتاج المواد الفعالة في النباتات الطبية والعطرية، مع التأكيد على اهمية الضوء في بناء مركبات عدة مثل أنواع الكلوروفيل، إذ تقوم الفوتونات بتغير مادتي proto chlorophyllide و

phytol إلى كلوروفيل a و b ، فضـلاً عن تأثير شـدة الإضـاءة والاطوال الموجية في نمو وإنتاج هذه النباتات ومحتواها من المركبات الثانوية (Aphalo، 2006). أثبتت الدراسـات العلمية أن بعض النباتات لها المقدرة على امتصـاص نوع معين من الأشـعة الضـوئية دون غيرها، كما وان بعض بذور النباتات لا تنبت الا في وجود الضـوء (انبات ضـوئي)، في حين بذور نباتات أخرى لاتنبت إلا بغياب الضـوء سكون ضـوئي photodormancy(Massa وآخـرون،2008). وفـي هـذا السـيـاق أجـرى كـل مـن Ceunenواخرون(2012) دراسـة حول تعريض نبات *Stevia rebaudiana* للأشـعة فوق الحمراء (Far red light) بطول موجي 734 نانومترا، اذ وجدوا أن تركيز الكلوروفيل قد انخفض بمقدار14% مقارنة مع الضـوء الأبيض، وقد زاد معنوياً كل من طول النبات و الوزن الطري والوزن الجاف وطول وعرض الورقة على التتابع مقارنة مع ضـوء الفلورسنت الأبيض أما تركيز الانثوسيانين والكاروتين فقد قل تركيزه بمقدار11% و40% مقارنةً مع ضـوء الفلورسـنت الابيض، وفي السـياق ذاته درس خيري واخرون (2018) تـأثير اللون الأخضـر بطول موجي 535و505 نـانومترا على نبـات *Stevia rebaudiana*، وقد وجدوا ان معاملة النبات بطول موجي535نانومتر، أدت إلى زيادة محتوى الأوراق من حامض الاسـكوربك وtocopherol، أما المعاملة بطول موجي 505 نانوميتر فقد أدت إلى ارتفاع محتوى الأوراق من الفينولات الكلية والانثوسـيانين. وجد Phebe واخرون(2021) أن معاملة نبات *Stevia rebaudiana*بالضـوء الأزرق (468 نانوميتر) قد حفز تراكم الكتلة الحيوية للجذور وزيادة المسـاحة الورقية و محتوى الكلوروفيل، فضـلاً عن الزيادة في محتوى النبات من فيتامين سـي (Vit.C) وβ-carotene..

٢ – ٩: تأثير المحفزات الكيمائية في إنتاج المركبات الثانوية للنبات

وجد من خلال دراسات عدة انه يمكن تحفيز النبات على أنتاج مركبات الايض الثانوي عن طريق التنظيم والتحكم بالعوامل الفيزيائية (الضوء، الحرارة، ونوع الوسط الغذائي) والمغذيات (مصدر الكاربون ومصدر النتروجين – النترات او الامونيوم وجزيئات المركب البادئ والفوسفات)، وبهدف تحقيق إنتاجية مثلى من مركبات الايض الثانوي يتم ذلك بخطوتين، الأولى زيادة الكتلة الحيوية (Biomass growth-medium)، أما الثانية فهي وسط أنتاج المركبات الثانوية (Production medium)، إذ يتوقف النمو عملياً في وسط الإنتاج عن طريق التحكم بالمغذيات، ورفع مستوى السكروز (4-10%) (Ramawat، 2004). وتوصل الباحثون إلى أن المادة التي تضاف بتراكيز منخفضة إلى نظام الخلية وتعمل على التقليل أو الزيادة في البناء الحيوي لمركب معين تعرف بالمحفزElicitor، ويمكن أن تقسم

هذه المحفزات إلى محفزات إحيائية (biotic) وغير إحيائية (abiotic) اعتماداً على طبيعتها أو إلى محفزات داخلية أو خارجية اعتماداً على مصدرها (Park و آخرون، 2008).

٢ – ٩ – ١: السكروز

تُعد الكاربوهيدرات من المكونات الرئيسة لأي وسط غذائي، إذ تعمل على تنظيم اوزموزية الوسط فضلاً عن بوصفها مصدراً ضرورياً للطاقة، يتحدد تأثيره اعتماداً على الجزء النباتي المزروع (George و آخرون، 2008) . وتعد السكريات اكثر مركبات الكاربوهيدرات التي تضاف إلى الأوساط الغذائية والتي تكون على أنواع عدة منها ما تكون أحادية مثل الكلوكوز والفركتوز و المالتوز أو سكريات ثنائية مثل السكروز . إن ما يمتاز به السكروز عن الانواع الباقية بانه يتحول بسرعة الى كلوكوز وفركتوز في وسط الزراعة ، ويمتص النسيج النباتي الكلوكوز أسرع من الفركتوز (Ramawat،2004) .

في هذا المجال أجريت العديد من الدراسات منها دراسة حول اضافة أنواع مختلفة من السكريات (سكروز، كلوكوز، فركتوز) وبتراكيز مختلفة (٢٥ ، 50، ٥٠غم. لتر$^{-1}$) الي الوسط الغذائي لنبات . *Stevia rebaudiana* بهدف تحفيز Stevioside في الاوراق المزروع خارج الجسم الحي، فقد وجد أن بأعطائه تركيز ونوع السكر كان له تاثير معنوي في تركيز مركب Stevioside، اذ تفوقت المعاملة بالسكروز بتركيز 25غم . لتر$^{-1}$ بإعطائها أعلى تركيز من المركب، في حين كانت المعاملة 50ملغم . لتر$^{-1}$ لكل من سكر الفركتوز والكلوكوز هي الافضل بتسجيلها اعلى تركيز منه قياساً بالتراكيز الاخرى(Razak واخرون،2014) . توصل Ghorbaniواخرون (٢٠١٧) إلى أن محتوى نبات *Stevia rebaudiana* L. من الهايبرسين ازداد بزيادة تركيز السكروز من 30-50ملغم .لتر$^{-1}$ المضاف للوسط الغذائي والذي بلغ تركيزه 100مايكروغرام وزن جاف$^{-1}$ عند التركيز50غم .لتر$^{-1}$ سكروز بالمقارنة مع معاملة القياس.

٢ – 10: التشخيص الكمي والنوعي للمركبات الكلايكوسيدية بواسطة تقانة (HPLC) High Performance Liquid Chromatography.

تعد عملية تشخيص الفعالية الحيوية لمركبات الايض الثانوي وتشخيص موادها الفعالة عملية مكلفة ويحكمها الوقت لانها قد تستغرق اسابيع او اشهر او سنين وهذا حسب درجة تعقيد وطبيعة المركب، وبسبب التطور الذي طرأ على الاجهزة المختبرية جعل من هذه العملية اكثر سرعة ومن هذ الاجهزة هو جهاز (HPLC) وهو الوسيلة لتقدير نوعية وكمية مركبات الايض الثانوي مثل الكلايكوسيدات والقلويدات،من خلال هذه التقنية يمكن التعرف على المواد المراد المطلوبة مقارنة بعينات القياس، اذ تستخدم المحاليل القياسية لمركبات الكلايكوسيدات،اذ حقنت بجهاز ال (HPLC) من اجل تحديد مساحة العينة وزمن الاحتجاز، وارتفاع الحزم على شكل منفرد لكل نموذج للتاكد على عدم وجود تداخل بينها

تحت ظروف الفصل المستعملة فيتم قياس مركبات العينات من خلال المقارنة بين مساحة حزم العينات ومساحات الحزم للمادة القياسية وهذا حسب تركيز المركبات (طاهر،2017).

اجريت كثير من الدراسات على تشخيص المركبات الكلايكوسيدية وتقديرها النوعي والكمي منها دراسة Ghanem واخرون (٢٠١٠) كمية الديجوكسين باستخدام الـــــ HPLC في المجموع الخضري لنبات الديجيتالس Digitalis lanata النامي على وسط MS المجهز بـــ ٠,١ ملغم/ لتر NAA مع ٠,٥ ملغم/ لتر TDZ وبلغت كمية المركب ١,١٧ ملغم/ غم وزن جاف. في حين قدر Gurel واخرون (٢٠١١) الديجيتوكسين في مستخلصات نبات *Digitalis davisiana* الناتجة من المجموع الخضري النامي على وسط MS المزود بـــ ٢ ملغم/ لتر BA مع ٠,٢ ملغم/ لتر IAA, أستخدام جهاز HPLC وحصل على كمية ديجيتوكسين بلغت ١٢,٥٩ ملغم/ غم وزن جاف. ودراسة Martona واخرون، (٢٠١٨) تمكن من التعرف على الـ Stevioside باستخدام تقانة HPLC بواسطة عمود فصل Column c-18 (250 ×4.6mm) وطور متحرك water: acetonitrile بنسبة (2:8 v/ v) وسرعة جريان .R.T بلغت 0.6 ml / min ، وكذلك الدراسة التي قام بها Asish واخرون، (٢٠٢٢) تمكن من التعرف على الـ Stevioside باستخدام تقانة HPLC بواسطة عمود فصل Column C-18 (250 ×4.6mm) وطور متحرك water: acetonitrile بنسبة (2:8 v/ v) وسرعة جريان .R.T بلغت 0.5 ml/min . بين فيها ان المركبين اعطيا قيمة امتصاص عند زمن احتباس ٥,٠٣ دقيقة من حقن عينة مستخلص اوراق نبات الديجيتالس *Digitalis purpurea*,

٢ ـ ١١ : التجذير

يتم في هذه المرحلة نقل الافرع الناتجة نسيجيا من مرحلة التضاعف الى بيئة تكوين الجذور التي تحوي غالبا احد الاوكسينات , تنبع اهمية هذه المرحلة من كونها تكسب النموات الخضرية الناتجة من زراعة الانسجة القدرة الذاتية على امتصاص احتياجاتها من الماء والعناصر الغذائية اللازمة للنمو. وتتم عملية نشوء الجذور العرضية خارج الجسم الحي وفقا لنتائج Ahmedو اخرون (٢٠٠٧) وكما يأتي : نشوء مناطق مرستيمية نتيجة عملية فقدان التمايز لخلية او مجموعة من الخلايا في الساق وهي الخلايا الفتية لانسجة اللحاء او الكامبيوم او اللب ثم تتضاعف هذه الخلايا وتكون مجاميع كروية الشكل , ويستمر تضاعف هذه الخلايا بعد ذلك مع حدوث انقسامات مبرمجة لتكوين مرستيمات الجذور واخيرا تستطيل الخلايا الموجودة في الجزء القاعدي للمرستيمات المتطورة لتنتج في النهاية بروزات الجذور الجديدة.

زرع Ali واخرون (٢٠١٠) افرع نبات الستيفيا على وسط MS المزود بـــ ٢ ملغم لتر$^{-1}$ IBA مع ٠,١ملغم لتر$^{-1}$ BA اذ حصلت على اعلى معدل لعدد الجذوربلغ ٣٥ جذرفرع$^{-1}$ وبمعدل طوله ٣ سم بعد اسبوعين من الزراعة ، بينLaribi واخرون،(٢٠١٢) ان اعلى نسبة تجذير ١٠٠٪ تم الحصول عليها من زراعة افرع نبات الستيفيا على وسط MS المزود بـ ٢,٥ ملغم لتر$^{-1}$ IBA وبمعدل عدد جذور ٤٠ جذر فرع$^{-1}$ بعد اربعة اسابيع من الزراعة، حصل Ummi Nur واخرون (٢٠١٤) على نسبة تجذير ٩٠ % من زراعة افرع نبات الستيفياعلى وسط MS بنصف قوة املاحه والمزود بـــ ١,٥ملغم / لتر IBA وبمعدل عدد جذور ٣٠ جذر فرع$^{-1}$ وبمعدل طول ٢ سم بعد اربعة اسابيع من الزراعة.

٢ ـ ١٢: الاقلمة

هي مرحلة من مراحل الاكثار الدقيق وهي تمثل تكيف النبات فسيولوجيا للتغيرات البيئية مثل الضوء ودرجة الحرارة والرطوبة وان عددا من النباتات المكثرة مختبريا ونقلها الى البيت الزجاجي او الحقل لاتبقى على قيد الحياة فالنباتات المكثرة نسيجيا تكون معرضة الى لظروف مسيطر عليها وظروف مثلى للنمو.

تتصف النبيتات النامية في انابيب الزراعة النسيجية بتغذيتها الرمية Heterotrophic وتعتمد في ذلك على الاوساط الغذائية الجاهزة دون الحاجة الى قيامها بعملية التمثيل الضوئي, فضلا عن ذلك فان هذه النباتات تمتاز باختزال طبقة الكيوتكل وعدم قيام الثغور بوظيفتها الطبيعية بسبب نمو النباتات في بيئة عالية الرطوبة , وكذلك قلة الارتباط الوعائي بين المجموع الخضري والجذري ولتجاوز هذه المعوقات يتطلب تهيئة ظروف ومستلزمات معينة لغرض الانتقال الى ظروف العيش الحر والتغذية الذاتية Autotrophic ونشوء طبقة الكيوتكل وتكاملها على الاوراق وتحفيز الثغور للقيام بعملية الفتح والغلق بصورة اعتيادية. ان ازالة بعض الاوراق الموجودة على النبات تقلل المساحة المعرضة للهواء, كذلك وضع الاغطية البلاستيكية الشفافة التي تسمح بنفاذ الضوء والهواء من خلال ثقوب صغيرة تعمل على المحافظة على رطوبة محيط الاقلمة (John، ٢٠٠٣).

استعمل Singh واخرون (٢٠١٣) مزيجا معقما من الفرمكيولات والبتموس بنسبة (١:١) (حجم :حجم) لاقلمة نبيتات الستيفيا وتغطيتها باغطية بلاستيكية شفافة ووضعها تحت الاضاءة لمدة ١٠ ايام ثم نقلها الى البيت الزجاجي.

3- المواد وطرائق العمل

نفذت الدراسة في مختبر زراعة الانسجة النباتية التابع لقسم البستنة وهندسة الحدائق كلية الزراعة - جامعة كربلاء للمدة من شهر اب ٢٠٢٢ الى شهر ايار٢٠٢٣.

3-1: مصدر الاجزاء النباتية

تم الحصول على شتلات نبات الستيفيا من (شركة جنة النخيل للزراعة النسيجية - العراق- بغداد) وتم اخذ (الاجزاء الخضرية) القمم النامية والبراعم الجانبية من النبات الام لغرض اجراء عملية الاكثار النسيجي كما مبين في الشكل (٦)

شكل(٦) نبات الستيفيا بعمر 2 اشهر

3-2: تحضير الوسط الغذائي

استخدم الوسط الجاهز MS (Murashige و Skoog، ١٩٦٢) والمبينة مكوناته في الجدول (١) المنتج من شركة Caisson Labs الامريكية الحاوي على المغذيات الكبرى والصغرى والمدعم بالفيتامينات وبوزن ٤,٤٣ غم لتر$^{-١}$ في جميع مراحل التجربة. واضيف السكروز بمقدار ٣٠ غم لتر$^{-١}$, اضيفت منظمات النمو النباتية بعد ان تم تحضير محاليل اساس حسب نوع التجربة ثم عدلت الدالة الهيدروجينية pH الى ٥,٧ ± ١ وذلك باستخدام حامض الهيدروكلوريك Hydrochloric HCL واحد عياري او هيدروكسيد الصوديوم Sodium hydroxide NaOH ثم ُاكمل الحجم الى لتر وأضيف اكار من نوع (Agar-Agar) بمقدار ٧ غم لتر$^{-١}$ الى الوسط ولغرض تجانس المكونات وذوبان الاكار سخن الوسط الغذائي باستخدام جهاز التسخين الهزازHot plate magnetic stirrer لحين التجانس ووزع بعد ذلك في قناني الزراعة لغاية ١٠ مل وغطيت بالأغطية المناسبة لها.

جدول (٢) مكونات وسط MS من الاملاح اللاعضوية المستخدمة في تحضير الوسط الغذائي

المجموعة	اسم المركب	الصيغة الكيميائية	التركيز(ملغم .لتر$^{-1}$)
النترات	نترات الامونيوم	NH_4NO_3	1650
	نترات البوتاسيوم	KNO_3	1900
الكبريتات	كبريتات المغنيسيوم المائية	$MgSO_4.7H_2O$	370
	كبريتات المنغنيز المائية	$MnSO_4.4H_2O$	22.3
	كبريتات الخارصين المائية	$ZnSO_4.7H_2O$	8.6
	كبريتات النحاس المائية	$CuSO_4.5H_2O$	0.025
الهاليدات	كلوريد الكالسيوم المائي	$CaCl_2.2H_2O$	440
	كلوريد الكوبلت المائي	$CoCl_2.6H_2O$	0.025
	ايوديد البوتاسيوم	KI	0.83
B-P-Mo	فوسفات البوتاسيوم	KH_2PO_4	170
	مولبيدات الصوديوم المائية	$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
	حامض البوريك	H_3BO_3	6.2
الحديد المخلبي	كبريتات الحديدوز المائية	$FeSO_4.7H_2O$	27.8
	المادة المخلبية	$EDTA-Na_2$	37.3

3-3 :التعقيم:- من العمليات المهمة والتي يعتمد عليها نجاح الزراعة النسيجية وتشمل

1-3-3 :تعقيم الوسط الغذائي:-

بعد تحضير الأوساط الغذائية وتوزيعها في قناني الزراعة المخصصة لها، عقمت بجهاز المؤصدة (Autoclave) على درجة حرارة ١٢١ مْ وضغط ١,٠٤ كغم سم^{٢} لمدة ١٥ دقيقة وحفظت داخل منضدة انسياب الهواء الطبقي لحين الاستعمال.

2-3-3: تعقيم كابينة الهواء الطبقي Laminar air flow cabinet -:

تم تعقيمها برش جدرانها الداخلية وأرضيتها بمادة الايثانول (٧٠٪) ومسحها بالقطن الطبي وبعد ذلك تم تشغيل شمعة الأشعة فوق البنفسجية UV لمدة ٢٠ دقيقة قبل استخدام الكابينة لغرض الزراعة .

3-3-3: تعقيم أدوات العمل :-

جرى تعقيم جميع الأدوات المستعملة في عملية الزراعة من ملاقط ومشارط وزجاجيات بجهاز المؤصدة (Autoclave) بدرجة حرارة ١٢١مْ وتحت ضغط ١,٠٤ كغم/ سم٢ لمدة ٢٠ دقيقة وبعد إخراجها وضعت الملاقط والمشارط في فرن التجفيف (Dryer oven) على درجة حرارة ١٥٠°م ولمدة ٢٤ ساعة، عند الزراعة تم إدخال جميع متطلبات العمل داخل كابينة انسياب الهواء الطبقي المعقمة مسبقاً, أما الشفرات والملاقط فتعقم قبل البدء بالعمل و أثناء العمل باستخدام الكحول الأثيلي تركيز ٩٨٪ مع الحرق, ويُستَعمل الكحول الأثيلي تركيز ٧٠٪ في تعقيم الأيدي.

4-3-3: التعقيم السطحي للأجزاء الخضرية:-

وضعت الاجزاء الخضرية (القمم النامية والبراعم الجانبية) تحت تيار من الماء الجاري لمدة ٣٠ دقيقة في دورق زجاجي ومن ثم غُسلت بالماء و الصابون السائل (الزاهي) وبعدها غُسلت بالماء الجاري لضمان التخلص من الاتربة وبعض الملوثات السطحية ثم غسلت بعدها مرة واحدة بالماء المقطر بعدها نقلت الى كابينة انسياب الهواء الطبقي Laminar air flow cabinet. (تحت ظروف معقمة تماماً). عقمت الاجزاء النباتية باستعمال القاصر التجاري (فاس) الحاوي على هايبوكلورات الصوديوم NaOCl بتركيز ٦٪ وحُضرت منه تراكيز مختلفة عبر التخفيف و كانت التراكيز المستخدمة 0.5, 1, 1.5 ، 2% وللمدد ١٠,٥, ١٥ دقيقة مع التحريك المستمر ثم غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات لضمان ازالة تأثير القاصر .

4-3: زراعة الاجزاء النباتية :-

قُطعت نهايات الاجزاء الخضرية ليصل طولها ١ سم لغرض ازالة الجزء المتضرر من مواد التعقيم ثم زرعت الاجزاء النباتية على وسط MS الخالي من منظمات النمو بواقع ١٠ مكررات لكل جزء نباتي و تركيز و حُضنت الزروعات في غرفة النمو بشدة اضاءة ١٠٠٠ لوكس لمدة ١٦ ساعة / يوم على درجة حرارة ٢٥ ± ٢ ورطوبة 98%، سجلت النتائج المتمثلة بنسبة التلوث بعد10 ايام من الزراعة.

5-3 : مرحلة النشوء

بناء على نتائج تجربة التعقيم تم انتخاب افضل معاملة تم الحصول عليها من الفقرة (٣-٤) وزرعت الاجزاء النباتية على وسط MS المجهز بتراكيز مختلفة من BA 0، 0.5، 1، 1.5، 2 ملغم لتر$^{-1}$ بالتداخل مع

NAA 0، 0.1، 0.2، 0.3، 0.4 ملغم لتر$^{-1}$ وبواقع عشرة مكررات لكل تركيز، حضنت الزروعات في غرفة النمو growth room على درجة حرارة 25 ±2 °م و اضاءة 1000لوكس لمدة 16ساعة يوم$^{-1}$ ، اخذت النسبة المئوية للاستجابة بعد ٦ اسابيع من الزراعة وفق المعادلة الاتية:

$$\text{نسبة الاستجابة\%} = \frac{\text{عدد البراعم النامية}}{\text{العدد الكلي للبراعم المزروعة}} \times ١٠٠٪$$

6-3 : مرحلة التضاعف

بناء على النتائج التي تم الحصول عليها من مرحلة النشوء (الفقرة ٣-٥) تم انتخاب افضل معاملة اذ استخدمت الافرع الناتجة من القمم النامية واستبعدت العقد لقلة استجابتها حيث تم تقطيع الافرع بمعدل طول 1.5 سم وزرعت على الوسط الغذائي MS المجهز بتراكيز 0، 1، 2، 3، 4 ملغم لتر$^{-1}$ BA بالتداخل مع NAA بالتراكيز 0، 0.1، 0.2، 03، 0.4 ملغم لتر$^{-1}$ بواقع 10 مكررات معاملة$^{-1}$ ، حضنت الزروعات في غرفة النمو بنفس الظروف السابقة، اخذت مؤشرات الدراسة بعد ٦ اسابيع والتي شملت:-

- عدد الأفرع (فرع نبات$^{-1}$)
- طول الأفرع (سم)
- عدد الاوراق (ورقة نبات $^{-1}$)
- الوزن الطري (ملغم)
- الوزن الجاف (ملغم)

1-6-3: تأثير منظمات النمو النباتية في انتاج المركبات الكلايكوسيدية لنبات الستيفيا

لغرض معرفة تأثير منظمات النمو في زيادة تحفيز المركبات الكلايكوسيدية لمركبي الـ Stevioside و Rebaudioside A قيست المادة الفعالة في جميع معاملات تجربة التضاعف الخضري بالإضافة الى معاملة المقارنة باستخدام تقانة الـ HPLC.

7-3: نصب منظومة الاضاءة

تتألف هذه المنظومة من ٢٠ مصباح ليد حمراء وزرقاء بنسبة (١٨ احمر: ٢ ازرق) على هيئة فلورسنت (بين كل 6 لون احمر مصباح ازرق) خاصة بالتجارب الزراعية ونمو النبات ،ثبتت بسقف رفوف الزراعة على مسافة 40 سم عن قناني الزراعة ، ذات مواصفات موضحة في الشكل (٧)

شكل (٧) شكل منظومة الاضاءة المستعملة في الدراسة

3-7-1 : تأثير نوع الاضاءة والسكروز في تضاعف النمو الخضري

اجريت التجربة لبيان تأثير نوع الاضاءة وتراكيز السكروز المضافة للوسط الغذائي في الصفات الخضرية من خلال زراعة الافرع الخضرية الناتجة من افضل معاملة من تجربة التضاعف (الفقرة ٣-٦) على اوساط غذائية مجهزة بتراكيز مختلفة من السكروز 15، 30 ، 45 ، 60 غم لتر$^{-1}$ ،خزنت الزروعات في غرفة الحضن تحت ثلاثة انواع من اضاءة والتي شملت مصابيح الفلورسنت العادي ومصابيح الـ LED الابيض ومصابيح الـ LED الملون (18 احمر : 2 ازرق)، اخذت مؤشرات الدراسة بعد ٦ اسابيع والتي شملت:-

- عدد الأفرع (فرع نبات$^{-1}$)
- طول الأفرع (سم)
- عدد الاوراق (ورقة نبات $^{-1}$)
- الوزن الطري (ملغم)
- الوزن الجاف (ملغم)

3-7-2 : تقدير الكلوروفيل

قدرت صبغة الكلوروفيل باتباع طريقة (1976,Goodwin) وكالاتي:-

اخذ ١ غم من النموات الخضرية النامية في مجال زراعة الانسجة ووضعت في هاون خزفي واضيف لها ٩ مل من الاسيتون ٨٥٪ ثم سحقت الانسجة النباتية لحين الحصول على بقايا عديمة اللون, رشح المحلول بورق الترشيح الى انبوبة حجمية واكمل الى الحجم ١٠ مل باستخدام الاسيتون نفسه, سحب 1 مل من المحلول واجري له التخفيف المناسب, قرئ الامتصاص الضوئي للمحلول على طول موجتين ٦٦٣ و ٦٤٥ نانوميترا باستخدام جهاز الـــــSpectrophotometer, حسب المحتوى الكلي للكلوروفيل وحسب المعادلة الاتية:-

- Chlorophyll a(mg g^{-1})=12.7D(663)-2.69D(645).
- Chlorophyll b(mg g^{-1})=22.9D(645)-4.68D(663).
- Total Chlorophyll (mg g^{-1})= 20.2D(645)+8.02D(663).
- حيث ان D = قراءة الجهاز

3-7-3 : تقدير الكربوهيدرات الذائبة وغير الذائبة

تم تقدير الكربوهيدرات التركيبية او غير الذائبة حسب طريقة (Joslyn،1970) وذلك بأخذ ٠,٢ غم من العينة واضـــيف له ٨,٨ مل من حامض البيروكلوريك (٨٠ %) ووضـــع المزيج في حمام مائي بدرجة ٦٠°م لمدة ٣٠ دقيقة بعدها تم استخلاص السائل الراشح باستعمال الطرد المركزي وبسرعة ٣٠٠٠ دورة / دقيقة ولمدة ١٥ دقيقة اما الراسب فقد اعيدت عملية اضافة ١٠ مل من حامض البيروكلوريك والترسيب بالطرد المركزي مرتين اخرتين بعدها جمع الســـائل الراشـــح واكمل الحجم الى٥٠ مل حامض البيروكلوريك ومنه اخذ ١ مل ووضـــع في انبوبة اختبار واضـيف له ١ مل من محلول الفينول ذو تركيز ٥٪ واضـيف ٥ مل من حامض الكبريتيك المركز وبعد ان برد المزيج تمت قراءة الامتصـاص الضـوئي عند طول موجي ٤٩٠ نانوميترا بعد تصـفير الجهاز بمحلول حامض البيروكلوريك ذو تركيز ٨٠٪ وبعد تسجيل القراءات جرى تسقيطها على المنحنى القياسي لسكر الكلوكوز وضرب الناتج x ٥٠ لاستخراج تركيز السكريات المختزلة (%).

3-7-3-1: تحضير المنحنى القياسي لسكر الكلوكوز:

حضـر المنحنى القياسـي لسـكر الكلوكوز حسـب طريقة (Joslyn،1970) وذلك بتحضـير محاليل ذات تراكيز معلومة من سكر الكلوكوز وهي ٠,٠٥ و٠,١٠ و ٠,١٥ و٠,٢٠ من اذابة هذه الأوزان من سكر الكلوكوز في ١٠٠ مل من الماء المقطر بعدها اضيف على ١ مل من كل من هذه التراكيز محلول الفينول

وحامض الكبريتيك المركز وبالكميات المذكورة سابقاً، ثم الامتصاص الضوئي لها لاستخراج قراءات تقابل هذه التراكيز لرسم منحنى قياسي لسكر الكلوكوز .

3-7-4: استخلاص المركبات الكلايكوسيدية

اجريت عملية الاستخلاص والتقدير الكمي والنوعي للمركبات الكلايكوسيدية (Stevioside و Rebaudioside A) من خلال تحليل العينات بواسطة جهاز الـ HPLC في (الفقرات ٣-٦-١ و ٣-٧-١) , وتم ذلك في شركة الحقول البيضاء للاستثمارات والدراسات البيئية والهندسية بغداد/ العراق وكالاتي:-

جفف المجموع الخضري وتم استخلاصه بطريقة تأثير الترددات فوق الصوتية على وفق ماذكره Lopez-carbon واخرون ،(2019), اذ تم تجفيف المجموع الخضري بدرجة حرارة المختبر, بعدها اخذ ١غم مادة جافة من كل عينة وسحقت بالهاون الخزفي ثم اضيف اليها ٤٠ مل من الميثانول MeoH تركيز ٧٠٪, ثم وضعت في جهاز الترددات فوق الصوتية Ultrasonic في حمام مائي عند تردد ١٠٠ هرتز وبدرجة حرارة الغرفة لمدة ٢٠ دقيقة, بعد ذلك تم ترشيح العينات بورق ترشيح ٠,١٣ ملم واعيدت العملية مرة اخرى ثم اصبحت العينات جاهزة للقراءة في جهاز الـ HPLC.

3-7-4-1: تحضير العينات القياسية

حضرت العينات القياسية لكل من Stevioside و Rebaudioside A بإذابة ٠,١ غم لكل من هذه المركبات النقية في ١٠ مل من محلول MeoHالميثانول (١:١) (حجم: حجم) ثم رشحت بواسطة ورق الترشيح, وحفظت العينات القياسية في الثلاجة عند درجة حرارة ٤ م˚ لحين بدء التشخيص.

3-7-4-2 : التقدير الكمي والنوعي للمركبات الكلايكوسيدية باستخدام تقانة كروموتوكرافيا السائل فائق الاداء(HPLC)

تم فصل المركبات الكلايكوسيدية في مستخلص نبات الستيفيا على وفق ما ذكره Hurum وRohrer (2011) وتحت الظروف الاتية:-

***نوع الجهاز**: HPLC

***الشركة والموديل** : Shimadzu 10 AV- LC

***عمود الفصل Stationary phase**

تم استخدام عمود فصل نوع C18- Column(USA) بإبعاد (50×2.5 mmI.D), إذ إن مادة الفصل في العمود (الطور الثابت) هي Zorbax NH_2 وقطر الجزيئات 3µm وعند درجة حرارة 35°.

***الطور المتحرك Mobile phase**

تم تحضير هذا الطور بمزج acetonitrile مع الماء المقطر بنسبة 80:20 (حجم: حجم) water: acetonitrile على التوالي, ثم تم ترشيحه والتخلص من الفقاعات الموجودة فيه بواسطة جهاز الترددات فوق الصوتية (Ultrasonic) وبعد ذلك اصبح الطور المتحرك جاهزاً للاستخدام.

***سرعة الجريان Flow rate**

اعتمد معدل سرعة الجريان 1.2 مل دقيقة$^{-1}$ وعند طول موجي 238nm wave length. حقن 20µl لكل عينة من العينات المراد قياسها وقورن زمن الاحتجاز ومساحة المنحنى للعينات القياسية, وتم حساب تركيز المركبات الكلايكوسيدية في مستخلصات العينات النباتية على وفق المعادلة الاتية:-

$$\text{تركيز المجهول(g/µg)} = \frac{\text{مساحة حزمة النموذج}}{\text{مساحة حزمة القياس}} \times \text{تركيز القياس} \times \text{عدد مرات التخفيف}$$

8-3: مرحلة التجذير

نقلت الافرع الناتجة من افضل معاملة من مرحلة التضاعف (الفقرة ٣-٦) الى وسط MS المجهز بتراكيز مختلفة من IBA 0، 0.5، 1، 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ وبالتداخل مع قوة مختلفة من املاح 1/4 MS و 1/2 وقوة كاملة بواقع ١٠ مكررات لكل معاملة ثم حضنت الزروعات في الظروف السابقة نفسها لغرض تشجيعها على التجذير ثم حسبت البيانات بعد ٦ اسابيع من الزراعة شملت:-

١- النسبة المئوية للتجذير وكما يلي

النسبة المئوية للتجذير= عدد الافرع / العدد الكلي × ١٠٠

٢- عدد الجذور (جذر فرع$^{-1}$)

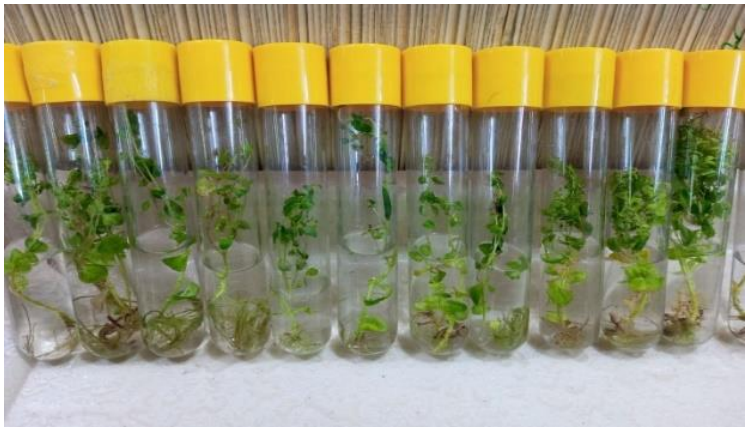
٣- طول الجذور (سم)

٤- الوزن الطري (ملغم)

٥- الوزن الجاف (ملغم)

3-9: مرحلة الأقلمة

استخرجت النبيتات المجذرة من اوعية الزراعة وغسلت بالماء الجاري لغرض التخلص من بقايا الاكر الملتصق بجذورها والذي قد يكون وسط جيد لنمو الكائنات الحية لاحتوائه على السكروز ثم غمرت الجذور في محلول يحتوي على ربع قوة املاح MS لغرض التقسية كما في الشكل (٩) وتهيئة النبيتات للنقل الى التربة وتركت لمدة اسبوع في غرفة النمو. حضر بعد ذلك وسط للزراعة مكون من الزميج والبتموس بنسبة ١:١ وتعقيمه بجهاز المؤصدة الـ Autoclave لمدة ٣٠ دقيقة ودرجة حرارة ١٢١°وضغط 1.04 كغم سم$^{-2}$ وتم تغطيس جذور النبيتات بالمبيد الفطري بنتانول بتركيز ٢ مل لتر$^{-1}$ ثم زرعت النبيتات في اصص بعد ذلك سقيت بالماء وتمت تغطيتها بغطاء بلاستيكي للمحافظة على الرطوبة بعد ذلك تم رفع الغطاء تدريجيا ثم نقلت الى البيت البلاستيكي، سجلت الملاحظات بعد ٨ اسابيع من الزراعة والمتمثلة بنسبة البقاء للنبيتات.



الشكل (٨) تقسية النبيتات

3-10: التصميم والتحليل الاحصائي

حللت بيانات النتائج كتجارب عامليه باستخدام التصميم التام التعشية Complete (CRD) Randomized Design وقورنت المتوسطات بحسب اختبار اقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 0.05 باستعمال البرنامج الاحصائي (Genstat) (الساهوكي و وهيب، 1990).

4- النتائج والمناقشة:

1-4 : تأثيرنوع الجزء النباتي وتراكيز هايبوكلورات الصوديوم والمدد في النسبة المئوية لتلوث نبات الستيفيا بعد 10 ايام من الزراعة في وسط MS.

اظهرت نتائج الجدول (٣)عدم وجود تأثير معنوي للجزء النباتي في خفض نسبة التلوث حيث اعطت القمم النامية نسبة تلوث بلغت 38.00% والتي لم تختلف معنويا عن البراعم الجانبية التي اعطت نسبة تلوث بلغت 40.67%، كما اثرت تراكيز هايبوكلورات الصوديوم معنويا في تقليل نسبة تلوث الاجزاء الخضرية (قمم نامية وبراعم جانبية) حيت بلغت نسبة التلوث 41.67% عند التركيز 0.5% ثم قلت نسبة التلوث بزيادة تراكيزالمادة المعقمة الى (2, 1.5, 1)% بلغت 8.33, 18.33,28.33% بالتتابع في حين حققت معاملة المقارنة نسبة تلوث بلغت 100% كما تبين نتائج الجدول نفسه حصول انخفاض معنوي في نسبة التلوث مع المدة الزمنية للتعقيم 5 , 10 ,15دقيقة بلغت 24, 35, 59% بالتتابع.

تؤكد النتائج ان التداخلات الثنائية جميعها اثرت معنويا في تقليل نسبة التلوث، ففي حالة التداخل بين الجزء النباتي المزروع وتراكيز المادة المعقمة فأن اقل نسبة للتلوث كانت عند القمة النامية والتركيز 2% من NaOCl بلغت6.67% ، كما سجلت البراعم الجانبية عند التركيز ذاته من المادة المعقمة اقل نسبة تلوث بلغت 10%، في حين سجلت اعلى نسبة للتلوث بلغت 100% عند معاملة المقارنة لكلا الاجزاء النباتية، اما عن التداخل بين الجزء النباتي وفترة التعقيم فأن اقل معدل لنسبة التلوث بلغ 24% لكلا الاجزاء النباتية (قمة ناميه وبراعم جانبية)عند الفترة الزمنية 15 دقيقة واعلاها كان 62% عند معاملة التداخل بين البراعم الجانبية والفترة الزمنية 5 دقائق ، اما في حالة التداخل بين تراكيز NaOCl والمدد الزمنية للتعقيم فأن اقل متوسط لنسبة التلوث سجلت عند معاملة التداخل بين التركيز 2% والفترات الزمنية 10و 15 دقيقة بلغت 0 ,0% على التوالي، وكذلك عند التراكيز 1 ,1.5% والفترة الزمنية 15دقيقة بلغت 0% على التوالي ، في حين اعطت معاملة المقارنة وعند جميع المدد الزمنية اعلى نسبة تلوث بلغت 100%٠

اما عن تأثير التداخل الثلاثي فقد اظهر الجدول نفسه اقل نسبة تلوث سجلت عند معاملة التداخل بين كلا الاجزاء النباتية (قمة ناميه وبراعم جانبية)والتركيز 2% من NaOCl و المدة الزمنية 10 دقيقة بلغت 0%، كما سجلت اقل نسبة تلوث بلغت 0% عندالاجزاء النباتية ذاتهاو التراكيز 1 ,1.5 ,2%من NaOCl والمدة الزمنية 15 دقيقة، ولوحظ ان زيادة التركيز الى ٢٪ من هايبوكلورات الصوديوم وعند المدد ١٠ و ١٥ دقيقة ادى الى ظهور شتلات بيضاء اللون خالية من الكلوروفيل مقارنة

بـــالتركيز ١٪ مـــن هـــايبوكلورات الصـــوديوم وعنـــد المـــدة ١٥ دقيقـــة الـــذي اعطـــى اقـــل نســـبة تلوث بلغت ٠,٠٪ دون التأثير على حيوية النسيج النباتي.

ان تأثير هايبوكلورات الصـوديوم وعمله كمادة معقمة للأنسـجة النباتية يعود الى حامضHypoclorous (HOCl) الذي يعد مادة مؤكسـدة قوية. اذ يتكون هذا الحامض نتيجة ذوبان الكلور بالماء كما في المعادلة الاتية: (Ramawat, 2004).

$$Cl_2+H_2O \rightarrow HCl + HOCl$$

اتفقت هذه الدراسـة مع ما توصـل الية خير الله والعبيدي(2017) وعبد الكريم وتبارك (2018)عند تعقيم الاجزاء النباتية لنبات الســـتيفيا٠كما اتفق مع Laribi واخرون(2012) عند تعقيم الاجزاء النباتية لنبات الستيفيا. كما مبين بالشكل(١٠)

شكل (٩) موت الاجزاء النباتية المزروعة نتيجة استخدام تراكيز عالية من هايبوكلورات الصوديوم

الجدول (3) تأثير الجزء النباتي وتراكيز الهايبوكلورات والفترات الزمنية للتعقيم في النسبة المئوية لتلوث لنبات الستيفيا بعد 10ايام من الزراعة على وسط MS.

الجزء النباتي	المدة الزمنية (دقيقة)	تراكيز NaOCl (%)					متوسط الجزء النباتي × المدة الزمنية
		0	0.5	1	1.5	2	
القمة النامية	5	100	60	60	40	20	56
	10	100	40	20	10	0	34
	15	100	20	0	0	0	24
البراعم الجانبية	5	100	70	60	50	30	62
	10	100	40	30	10	0	36
	15	100	20	0	0	0	24
$LSD_{(0.05)}$		9.90					4.42
متوسط NaOCl		100	41.67	28.33	18.33	8.33	
$LSD_{(0.05)}$		4.04					
الجزء النباتي × تراكيز NaOCl (%)							متوسط الجزء النباتي
القمة النامية		100	40	26.66	16.67	6.67	٣٨,٠٠
البراعم الجانبية		100	43.33	30	20	10	40.67
$LSD_{(0.05)}$		5.71					2.55
المدة الزمنية (دقيقة)	المدة الزمنية (دقيقة) × تراكيز NaOCl (%)						متوسط المدة الزمنية
		0	0.5	1	1.5	2	
5		100	65	60	45	25	59
10		100	40	25	10	0	35
15		100	20	0	0	0	24
$LSD_{(0.05)}$		7.00					3.13

2-4: تأثير تراكيز الـ BA و NAA والتداخل بينهما في استجابة نوع الجزء النباتي للنشوء بعد ٦ اسابيع من الزراعة على وسط MS لنبات الستيفيا.

توضح نتائج الجدول (4) ان للجزء النباتي تأثيرا معنويا في زيادة النسبة المئوية لنشوء الزروعات اذ تفوقت القمة النامية معنويا على البراعم الجانبية اذ اعطت اعلى نسبة بلغت 70% في حين اعطت البراعم الجانبية 54.68%، اما عن تأثير تراكيز البنزل ادنين فكان لها الاثر الواضح في زيادة نسبة الاستجابة اذ تفوق التركيز 1ملغم لتر$^{-1}$ معنويا على بقية التراكيز واعطى اعلى نسبة استجابة بلغت 82.5% في حين اعطت معاملة المقارنة اقل نسبة استجابة بلغت 32.5% ، اما المستويات المرتفعة من البنزل ادنين فأنها سببت

تناقص في نسبة الاستجابة وهذا ما حصل عند التركيز 1.5 ملغم لتر-١ اذ اعطى نسبة استجابة بلغت 73.75%، كما تبين نتائج الجدول نفسه حصول زيادة معنوية في نسبة الاستجابة بزيادة تراكيز NAA المضافة للوسط الغذائي اذ اعطى التركيز 0.2 ملغم لتر-١ اعلى استجابة بلغت 78.75% مقارنة مع معاملة المقانة التي اعطت نسبة استجابة بلغت 50.62%.

تؤكد النتائج ان التداخلات الثنائية جميعها اثرت معنويا في نسبة الاستجابة ،ففي حالة التداخل بين الجزء النباتي المزروع وتراكيز البنزل ادنين فأن اعلى معدل لنسبة الاستجابة كان عند معاملة التداخل بين القمة النامية ومعاملة البنزل ادنين بتركيز 1 ملغم لتر-١ بلغ 92.50%، وسجلت البراعم الجانبية عند نفس التركيز نسبة استجابة بلغت 72.50%، في حين سجلت كلا الاجزاء النباتية عند الوسط الخالي من البنزل ادنين اقل نسبة استجابة بلغت 35%، اما عند التداخل بين نوع الجزء النباتي وتراكيز الـ NAA فأن اعلى المتوسطات لنسبة الاستجابة والبالغة 83.75% كانت عند التداخل بين القمة النامية ومعاملة الـ NAA بتركيز 0.2 ملغم لتر-١ وادناها كان عند التداخل بين البراعم الجانبية والوسط الخالي من NAA بلغ 41.25%، اما عند التداخل بين تركيز الـ BA و NAA فان اعلى متوسط لنسبة الاستجابة كان عند معاملة التداخل بين الـ BA بتركيز 1 ملغم لتر-١ و الـ NAA بتركيز 0.2ملغم لتر-١ بلغت 95% واقلها عند معاملة المقارنة والتي كانت 20%.

اشارت بيانات التداخل الثلاثي للجدول نفسه ان اعلى نسبة استجابة بلغت 100% كانت عند معاملة التداخل بين القمة النامية والتركيز 1ملغم لتر-١BA و التركيز 0.2 و 0.3 ملغم لتر-١NAA على التوالي

كذلك سجلت القمة النامية نفس نسبة الاستجابة عند التركيز 1.5ملغم لتر-١BAو التركيز 0.2 ملغم لتر-١ NAA، في حين سجلت البراعم الجانبية اقل نسبة استجابة بلغت 10% عند الوسط الخالي من الـ BA و NAA.

مما تقدم ونتيجة لقلة استجابة البراعم الجانبية لتجارب النشوء مقارنة مع القمم النامية اعتمدت القمم النامية في تجارب النشوء والمراحل الاخرى. ان سبب تفوق اطراف الافرع ربما يعود الى وجود الاوكسين في القمم المرستيمية لأطراف الافرع بشكل اكبر مما هو عليه في العقد المفردة لان القمم المرستيمية للأفرع تعد المركز الرئيس لتصنيعه في النبات وبذلك يحدث تأثيره في انقسام الخلايا واستطالتها بشكل اكبر في اطراف الافرع (Hartmann واخرون، 2002 و Devries واخرون، 2003) او قد يعزى السبب الى ان القمم النامية تمتلك عدداً من البراعم الابطية والتي تمتلك فرصة اكبر للبقاء على قيد الحياة والنمو بسرعة (Rasool واخرون, 2013). او قد يعود السبب الى عوامل فسلجية تتعلق بمحتوى الانسجة الغذائي والهرموني والذي يعد عاملا محددا للاستجابة حيث تتجمع المواد الغذائية والهرمونية في أنسجة القمة النامية مقارنة بالأجزاء الاخرى، او قد يعزى سبب تفوق القمة النامية الى سرعة انقسام خلاياها لكونها

خلايا غير متخصصة وغير متمايزة وفي المراحل التطورية الاولية (حمود ومجيد، 2017).كما في الشكل (١١)

الجدول (4) تأثير تراكيز الـ BA و NAA والتداخل بينهما في استجابة نوع الجزء النباتي للنشوء (%) بعد اربعة اسابيع من الزراعة على وسط MS لنبات الستيفيا.

نوع الجزء النباتي	تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز NAA (ملغم لتر$^{-1}$)				متوسط الجزء النباتي × تركيز BA
		0	0.1	0.2	0.3	
القمة النامية	0	30	40	45	25	35.00
	0.5	50	65	90	70	68.75
	1	90	80	100	100	92.50
	1.5	70	75	100	90	83.75
لبراعم الجانبية	0	10	30	50	30	30.00
	0.5	35	50	75	50	52.50
	1	50	80	90	70	72.50
	1.5	70	60	80	45	63.75
$LSD_{(0.05)}$		12.98				6.49
متوسط NAA		50.62	60.00	78.75	60.00	
$LSD_{(0.05)}$		4.59				
الجزء النباتي × تركيز NAA						متوسط الجزء النباتي
القمة النامية		60	65	83.75	71.25	70.00
البراعم الجانبية		41.25	55	73.75	48.75	54.68
$LSD_{(0.05)}$		6.49				3.24
تركيز BA		تركيز NAA				متوسط BA
		0	0.1	0.2	0.3	
0		20	35	47.5	27.5	32.5
0.5		42.5	57.5	82.5	60	60.62
1		70	80	95	85	82.5
1.5		70	67.5	90	67.5	73.75
$LSD_{(0.05)}$		9.18				4.59

١

A القمة النامية B البراعم الجانبية

الشكل (١٠) استجابة القمة النامية والبراعم الجانبية للنشوء

3-4 : تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في عدد الافرع لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

تُبين نتائج الجدول (٥) تفوق الوســـط الغذائي MS المجهز بتركيز 3 ملغم لتر $^{-1}$ BA معنوياً على بقية التراكيز بإعطائه أعلى معدل لعدد الافرع الخضـــرية بلغ 33.35 فرع نبات$^{-١}$ في حين ســـجلت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ15.31 فرع نبات $^{-1}$. أما عن تأثير تراكيز NAA فان أعلى معدل لعدد الافرع بلغ 30.87 فرع نبات $^{-1}$ في الوســـط الغذائي المجهز بتركيز 0.3 ملغم لتر $^{-1}$قياســـاً بمعاملة المقارنة التي سجلت أدنى معدل بلغ 18.39 فرع نبات $^{-1}$، اما فيما يتعلق بمعاملات التداخل الثنائي بين تراكيز الـ BA و NAA فقد تفوق الوســـط الغذائي المجهز بالتركيز3 و 0.3 ملغم .لتر $^{-1}$ على التوالي في تحقيق اعلى معدل بلغ 38.12 فرع نبات $^{-1}$في حين كان اقل معدل عند معاملة المقارنة والذي بلغ 6.30 فرع نبات $^{-1}$.

الجدول (٥) تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في عدد الافرع لنبات الستيفيا (فرع نبات$^{-1}$) بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

متوسط BA	تركيز NAA (ملغم لتر$^{-1}$)					تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)
	0.4	0.3	0.2	0.1	0	
15.31	17.67	22.27	18.30	12.00	6.30	0
19.90	20.50	28.31	20.28	19.17	11.25	1
29.63	36.50	30.40	32.05	31.06	18.13	2
33.35	27.30	38.12	35.00	37.35	29.00	3
30.75	30.00	35.27	33.14	28.05	27.30	4
1.50	3.35					$LSD_{(0.05)}$
	26.39	30.87	27.75	25.52	18.39	متوسط NAA
	1.50					$LSD_{(0.05)}$

4-4 : تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في طول الافرع لنبات الستيفيا (سم) بعد ٦اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

اشارت بيانات الجدول (٦) تفوق الوسط الغذائي MS المجهز بتركيز 3 ملغم لتر$^{-1}$ BA معنوياً بإعطائه أعلى معدل لطول الافرع الخضرية بلغ 8.20 سم والذي لم يختلف معنويا عن التركيز 4 ملغم لتر$^{-1}$الذي حقق معدل طول بلغ 7.80 سم في حين سجلت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 2.53سم. أما عن تأثير تراكيز NAA فان أعلى معدل لطول الافرع بلغ 7.65 سم في الوسط الغذائي المجهز بتركيز 0.3 ملغم لتر $^{-1}$ والتي لم تختلف معنويا عن التركيز 0.2 ملغم لتر$^{-1}$ الذي حقق معدل طول بلغ 6.89 سم قياساً بمعاملة المقارنة التي سجلت أقل معدل لطول الافرع بلغ 3.42 سم، اما فيما يتعلق بمعاملات التداخل الثنائي بين تراكيز الـ BA و NAA ، فقد تفوق الوسط الغذائي المجهز بالتركيز 3 و 0.3 ملغم .لتر $^{-1}$ على التوالي في تحقيق اعلى معدل لطول الافرع الخضرية بلغ 10.35 سم في حين كان اقل معدل عند معاملة المقارنة والذي بلغ 1.00 سم.

الجدول (٦) تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في طول الافرع لنبات الستيفيا (سم) بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز NAA (ملغم لتر$^{-1}$)					متوسط BA
	0	0.1	0.2	0.3	0.4	
0	1.35	2.50	2.80	2.50	3.50	2.53
1	2.08	5.28	6.12	5.40	4.75	4.72
2	3.00	6.50	7.60	10.00	7.14	6.84
3	5.65	8.71	9.80	10.35	6.50	8.20
4	5.00	9.10	8.15	10.00	6.75	7.80
$LSD_{(0.05)}$	0.99					0.44
متوسط NAA	3.42	6.41	6.89	7.65	5.72	
$LSD_{(0.05)}$	0.44					

5-4 : تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في عدد الاوراق لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

اظهرت نتائج الجدول رقم (٧) وجود تفوق معنوي في معدل عدد الاوراق بزيادة تراكيز الـ BA المضافة للوسط الغذائي MS 1 و2 و3 ملغم لتر$^{-1}$ التي اعطت معدل تركيز بلغ 47.63 و 88.78 و 109.77 ورقة نبات$^{-1}$ على التوالي ثم قلت الاستجابة عند التركيز 4 ملغم لتر$^{-1}$ بلغت 89.14 ورقة نبات$^{-1}$، في حين اعطت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 34.77ورقة نبات$^{-1}$، كما ادت زيادة تراكيز الـ NAA المضافة للوسط الغذائي 0.1 و0.2 و 0.3 ملغم لتر$^{-1}$الى حصول زيادة معنوية في معدل الصفة ذاتها بلغ 74.08 و 83.38 و 94.55 ملغم غم$^{-1}$ على التوالي ثم قلت الاستجابة عند التركيز 0.4 ملغم لتر$^{-1}$بلغت73.44ورقة نبات$^{-1}$ بالمقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل معدل بلغ 44.63ورقة نبات$^{-1}$.

اما بالنسبة للتداخل فكان هناك فروقات معنوية بين القيم فقد اعطى التركيز 3 ملغم لتر$^{-1}$ من الـ BA وبالتداخل مع التركيز 0.3 ملغم لتر$^{-1}$ من الـNAA اعلى قيمة بلغت 147.50ورقة نبات$^{-1}$، بينما اعطى الوسط الخالي من منظمات النمو النباتية لعدد الاوراق بلغ 15.00ورقة نبات$^{-1}$.

الجدول (٧) تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في عدد الاوراق (ورقة نبات$^{-1}$) لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز NAA (ملغم لتر$^{-1}$)					متوسط BA
	0	0.1	0.2	0.3	0.4	
0	15.00	28.38	40.68	53.17	36.60	34.77
1	27.30	43.74	48.12	70.63	48.35	47.63
21	40.40	87.46	99.70	80.66	135.66	88.78
3	74.15	140.70	120.00	147.50	66.48	109.77
4	66.30	70.11	108.40	120.78	80.12	89.14
$LSD_{(0.05)}$	9.85					4.40
متوسط NAA	44.63	74.08	83.38	94.55	73.44	
$LSD_{(0.05)}$	4.40					

6-4 : تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في الوزن الطري لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

عن تأثير تراكيز الـــ BA و NAA المضافة للوسط الغذائي في صفة الوزن الطري لمجموع الخضري فقد اشارت بيانات التحليل الاحصائي المدونة في الجدول (٨) تفوق التركيز 3 ملغم لتر$^{-1}$ BA معنويا في تســجيل اعلى معدل وزن طري بلغ 7.46 ملغم والذي اختلف معنويا عن التراكيز الاخرى في حين كان اقل معدل للوزن الطري عند معاملة المقارنة بلغ 3.23ملغم، كما اشارت النتائج تفوق NAA عند التركيز 0.3 ملغم لتر$^{-1}$ معنويا في تحقيق اعلى معدل بلغ 6.98ملغم والذي اختلف معنويا عن التراكيز الاخرى مقارنة مع معاملة المقارنة التي حققت اقل معدل بلغ 3.76ملغم. اما بالنســبة لتأثير التداخل بين تراكيز الـــــ BA و الـــ NAA فيلاحظ من نتائج الجدول تفوق الـــــ BA معنويا عند التركيز 3 ملغم لتر$^{-1}$ وبالتداخل مع الـــــ NAA عند التركيز 0.3 ملغم لتر$^{-1}$ في تحقيق اعلى معدل بلغ 8.55ملغم بينما حققت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 1.76ملغم.

الجدول (٨) تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في الوزن الطري (ملغم) لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز NAA (ملغم لتر$^{-1}$)					متوسط BA
	0	0.1	0.2	0.3	0.4	
0	1.76	2.85	3.35	4.91	3.29	3.23
1	2.17	3.77	4.30	6.75	4.45	4.28
2	3.46	6.90	7.08	6.45	8.22	6.42
3	5.83	8.40	8.15	8.55	6.38	7.46
4	5.62	5.70	7.42	8.28	6.12	6.62
$LSD_{(0.05)}$	0.58					0.26
متوسط NAA	3.76	5.52	6.06	6.98	5.69	
$LSD_{(0.05)}$	0.26					

7-4 : تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في الوزن الجاف لنبات الستيفيا (ملغم) بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

اشارت بيانات التحليل الاحصائي المدونة في الجدول (9) الى وجود اختلافات معنوية في معدل صفة الوزن الجاف للمجموع الخضري باختلاف تراكيز الـ BA و NAA المضافة للوسط الغذائي، اذ تفوق التركيز 2 ملغم لتر$^{-1}$ BA معنويا في تسجيل اعلى معدل وزن جاف بلغ 3.94ملغم والذي لم يختلف معنويا عن التركيز 3 ملغم. لتر$^{-1}$ اذ حقق معدل بلغ 3.82ملغم في حين كان اقل معدل للوزن الجاف عند معاملة المقارنة بلغ 0.95 ملغم. كما اظهرت نتائج الجدول ذاته تفوق NAA عند التركيز 0.3ملغم لتر$^{-1}$ معنويا في تحقيق اعلى معدل بلغ 3.85ملغم والذي اختلف معنويا عن التراكيز الاخرى مقارنة مع معاملة المقارنة التي حققت اقل معدل بلغ 1.44 ملغم. اما بالنسبة لتاثير التداخل بين تراكيز الـ BA و الـ NAA فيلاحظ من نتائج الجدول تفوق الـ BA معنويا عند التركيز 3 ملغم.لتر$^{-1}$وبالتداخل مع الـ NAA عند التركيز 0.3ملغم لتر$^{-1}$ في تحقيق اعلى معدل بلغ 5.27 ملغم بينما حققت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 0.10 ملغم.

الجدول (٩) تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في الوزن الجاف لنبات الستيفيا (ملغم) بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز NAA (ملغم لتر$^{-1}$)					متوسط BA
	0	0.1	0.2	0.3	0.4	
0	0.10	0.50	0.98	2.11	1.08	0.95
1	0.28	1.22	1.38	3.40	2.76	1.80
2	1.25	5.15	4.92	3.40	5.00	3.94
3	2.87	3.58	4.16	5.27	3.22	3.82
4	2.71	2.50	4.35	5.09	3.10	3.55
$LSD_{(0.05)}$	0.47					0.21
متوسط NAA	1.44	2.59	3.15	3.85	3.03	
$LSD_{(0.05)}$	0.21					

مما تقدم عرضه من نتائج الجداول (4-9) بشكل عام تفوق منظم النمو BA في الصفات المدروسة والتي شملت عدد وطول الافرع الخضرية والوزن الطري والجاف للمجموع الخضري مقارنة بمعاملة المقارنة وقد يعزى السبب الى الدور الذي يؤديه التوازن بين منظمات النمو المستعملة في تحديد نمط التمايز الخلوي وتكوين الاعضاء خارج الجسم الحي، اذ يؤدي وجود تراكيز عالية من السايتوكانينات واقل من الاوكسينات في الوسط الغذائي الى تكوين براعم خضرية تنمو الى افرع خضرية(العرادي واخرون،2017) ، اوقد يعود السبب الى الفعل التحفيزي للسايتوكانين في حث الخلايا على الانقسام والتمايز وينتج عن ذلك نمو البراعم الى افرع خضرية كما ذكر كثير من الباحثين ان استخدام السايتوكانينات ولا سيما الـ BA في الزراعة النسيجية يعود الى كونها مركبات مستقرة لعدم تحللها بسهولة وكفاءتها العالية في كسر السيادة القمية اذ تعمل على تكشف واتساع الاوعية الناقلة لكل من الخشب واللحاء, ومنع تحلل الكلوروفيل, وتحفيز انقسام الخلايا وزيادة انتاج الاحماض النووية (Schmulling, 2004). او قد يعود السبب الى عمل الـ BA على حدوث التوازن الهرموني للنسيج النباتي في المناطق المرستيمية الغنية في الاوكسينات لأحداث الاستجابة المطلوبة مما يسبب كسر السيادة القميه وانتقال المغذيات من خلال دفع الجزء النباتي في تحفيز نمو الافرع الخضرية في اباط الاوراق(عبد الحسين واخرون, 2010),

كما قد يعود سبب تفوق معاملة 3ملغم لتر$^{-1}$ BA الى ان هذا التركيز يعد هو التركيز المثالي ، ثم انخفضت معدلات التضاعف جميعها عند زيادة التركيز الى 4ملغم لتر $^{-1}$وقد يعود السبب الى تراكم منظمات النمو في الانسجة النباتية من خلال اضافتها الى الوسط الغذائي فضلا عن ما يحتويه ذلك الجزء من السايتوكانينات الداخلية ومن ثم تسبب بتأثيرات سامه تصل الى مستوى تثبيطي وبدورها تؤثر على عمليات النمو(Imtias واخرون،2014).

وقد ايد ذلك (Devlin و Withman, 1998) بان المستويات المرتفعة السايتوكانين اتتسبب تناقصا في معدلات النمو بسبب اضطراب العمليات الحيوية داخل الانسجة نتيجة اختلال التوازن الهرموني فيها الامر الذي يؤدي الى انخفاض معدلات النمو للأجزاء النباتية وهذا الانخفاض لايعني بالضرورة موت الخلايا ولكنه عادة ما يكون نتيجة اعاقة للنمو.

اشار كل من Aliyu و Awopetu، (٢٠٠٥) وWilliam،(2011) ان لمنظمات النمو دورا مهما في زيادة التضاعف مما يؤدي الى زيادة عدد الافرع ومن ث م زيادة الكتلة الحية مما يسبب زيادة في معدل الوزن الطري والجاف لهذة الكتلة حيث تعمل السايتوكانينات على زيادة عملية التمثيل الضوئي مما يؤدي الى زيادة الوزن النوعي للمجموع الخضري وهذا ما تم ملاحظته من خلال نتائج الجداول (٨ و ٩).

اتفقت هذه النتائج مع ماتوصل اليه عبد الكريم وتبارك (2018) و الحسيني (2021) عند اكثار نبات الستيفيا *Stevia rebaudiana* L خارج الجسم الحي.وكذلك مع ما توصل اليه Almukhtar واخرون (2022) عند اكثار نبات قفاز الثعلب*Digitalis lanata* خارج الجسم الحي ومع Kadhim وAlmukhtar،(2023) عند اكثار نبات الحلبة *Trigonellafoenum-graecum* L.خارج الجسم الحي.

8-4 : تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في تركيز الكلوروفيل a من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS

اظهرت نتائج الجدول رقم (١٠) وجود فروقات معنوية في معدل تركيز كلوروفيل a بزيادة تراكيز الـ BA المضافة للوسط الغذائي MS 1 و2 و3 و4 ملغم لتر$^{-١}$ التي اعطت معدل تركيز بلغ 0.87 و 1.23 و 1.35 و1.37 ملغم غم$^{-١}$على التوالي، في حين اعطت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 0.46 ملغم غم$^{-1}$، كما ادت زيادة تراكيز الـ NAA المضافة للوسط الغذائي 0.1 و0.2 و 0.3 ملغم لتر$^{-١}$الى حصول زيادة معنوية في معدل تركيز كلوروفيل a بلغ 0.96 و 1.03 و 1.21 ملغم غم$^{-١}$ على التوالي ثم قلت الاستجابة عند التركيز 0.4 ملغم لتر$^{-1}$بإعطائه اقل معدل بلغ 1.18 ملغم غم $^{-1}$ بالمقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل معدل بلغ 0.89 ملغم غم $^{-1}$.

اما بالنسبة للتداخل فكان هناك فروقات معنوية بين القيم فقد اعطى التركيز 3 ملغم لتر$^{-1}$ من الـ BA وبالتداخل مع التركيز 0.3 ملغم لتر$^{-1}$ من الـNAA اعلى قيمة بلغت 1.56 ملغم غم$^{-1}$، بينما اعطى الوسط الخالي من منظمات النمو النباتية اقل تركيز من الكلوروفيل a بلغ 0.30 ملغم غم$^{-1}$

الجدول (10) تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في تركيز الكلوروفيل a (ملغم غم$^{-1}$) من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز NAA (ملغم لتر$^{-1}$)					متوسط BA
	0	0.1	0.2	0.3	0.4	
0	0.30	0.34	0.42	0.66	0.58	0.46
1	0.65	0.77	0.81	1.10	1.03	0.87
2	1.04	1.10	1.25	1.33	1.42	1.23
3	1.16	1.27	1.30	1.56	1.47	1.35
4	1.29	1.34	1.38	1.42	1.40	1.37
$LSD_{(0.05)}$	0.11					0.05
متوسط NAA	0.89	0.96	1.03	1.21	1.18	
$LSD_{(0.05)}$	0.05					

9-4 : تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في تركيز الكلوروفيل bمن الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على اسلوسط MS.

اشارت نتائج الجدول رقم (١١) وجود فروقات معنوية في معدل تركيز كلوروفيل b بزيادة تراكيز الـ BA المضافة للوسط الغذائي MS 1 و2 و3 و4 ملغم لتر$^{-1}$ التي اعطت معدل تركيز بلغ 0.68 و 1.78 و 1.93 و 1.10ملغم غم$^{-1}$ على التوالي ، في حين اعطت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 0.33 ملغم غم$^{-1}$، كما ادت زيادة تراكيز الـ NAA المضافة للوسط الغذائي 0.2 و 0.3 ملغم لتر$^{-1}$الى حصول زيادة معنوية في معدل تركيز كلوروفيل b بلغ 0.81 و 0.87 ملغم غم$^{-1}$ على التوالي في حين بلغ اقل معدل 0.52 عند التركيز 0.1ملغم لتر$^{-1}$.

اما بالنسبة عن تأثير معاملة التداخل فكان هناك فروقات معنوية بين القيم فقد اعطى التركيز 4 ملغم لتر$^{-1}$ من الـ BA وبالتداخل مع التركيز 0.3 ملغم لتر$^{-1}$ من الـNAA اعلى قيمة بلغت 1.25 ملغم غم$^{-1}$، بينما اعطى الوسط الخالي من منظمات النمو النباتية اقل تركيز من الكلوروفيل b بلغ 0.20 ملغم غم$^{-}$

الجدول (١١) تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في تركيز الكلوروفيل b (ملغم غم$^{-1}$) من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز NAA (ملغم لتر$^{-1}$)					متوسط BA
	0	0.1	0.2	0.3	0.4	
0	0.20	0.28	0.30	0.40	0.47	0.33
1	0.41	0.58	0.67	0.85	0.88	0.68
2	0.63	0.71	0.94	0.84	0.80	0.78
3	0.81	0.90	0.96	1.02	0.94	0.93
4	0.75	1.12	1.20	1.25	1.20	1.10
LSD	0.08					0.03
متوسط NAA	0.56	0.72	0.81	0.87	0.86	
LSD	0.03					

4- 10 : تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في تركيز الكلوروفيل الكلي من الافرع المخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

بينت نتائج الجدول رقم (١٢) وجود اختلافات معنوية في قيم الجدول حيث اعطى تركيز4 ملغم لتر$^{-1}$ من الـBA اعلى معدل لتركيز الكلوروفيل الكلي بلغ 2.47 ملغم غم $^{-1}$مقارنةمع معاملة المقارنة التي اعطت اقل معدل من تركيز الكلوروفيل الكلي بلغ 0.79ملغم غم $^{-1}$، كما بين الجدول نفسه تفوق التركيز 0.3 ملغم لتر$^{-1}$من الNAA بإعطائه اعلى معدل بلغ 2.09ملغم غم$^{-1}$بالمقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل معدل من تركيز الكلوروفيل الكلي والذي بلغ 1.45ملغم غم$^{-1}$.اما بالنسبة للتداخل بين الـ BA و الـ NAA فكان هناك فروقات معنوية بين القيم فقد اعطى التركيز 4 ملغم لتر$^{-1}$ من الـ BA وبالتداخل مع التركيز

0.3 ملغم لتر$^{-1}$ من الـ NAAاعلى تركيز بلغ 2.67 ملغم غم$^{-1}$ ، بينما اعطى الوسط الخالي من منظمات النمو النباتية اقل تركيز من الكلوروفيل الكلي بلغ 0.50 ملغم غم$^{-1}$.

جدول(12) تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في تركيز الكلوروفيل الكلي (ملغم غم$^{-1}$) من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز NAA (ملغم لتر$^{-1}$)					متوسط BA
	0	0.1	0.2	0.3	0.4	
0	0.50	0.62	0.72	1.06	1.05	0.79
1	1.06	1.35	1.47	1.95	1.91	1.55
2	1.67	1.81	2.19	2.17	2.22	2.01
3	1.97	2.17	2.26	2.58	2.41	2.28
4	2.04	2.46	2.58	2.67	2.60	2.47
$LSD_{(0.05)}$	0.076					0.034
متوسط NAA	1.45	1.68	1.84	2.09	2.04	
$LSD_{(0.05)}$	0.034					

4- 11 : تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في النسبة المئوية للكربوهيدرات الذائبة في الأفرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

اظهرت نتائج الجدول رقم (13) وجود فروقات معنوية في النسبة المئوية لتركيز الكربوهيدرات الذائبة بزيادة تراكيز الـ BA المضافة للوسط الغذائي MS 1 و2 و3 و4 ملغم لتر$^{-1}$ التي اعطت نسبة مئوية بلغت 16.06 و 17.02 و 19.08 و 19.48% على التوالي، في حين اعطت معاملة المقارنة اقل نسبة بلغت15.46%، كما ادت زيادة تراكيز الـ NAA المضافة للوسط الغذائي 0.1 و0.2 و 0.3 و 0.4ملغم لتر$^{-1}$الى حصول زيادة معنوية في النسبة المئوية للصفة ذاتها بلغت 17.24 و 17.62و 18.12و 18.22 % على التوالي، مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل نسبة مئوية بلغ 15.90%.اما عن تأثير معاملة التداخل فقد اوضحت البيانات في الجدول ذاته هناك فروقات معنوية بين القيم فقد اعطى التركيز 3 ملغم لتر$^{-1}$ من الـ BA وبالتداخل مع التركيز 0.4 ملغم لتر$^{-1}$ من الـNAA اعلى نسبة مئوية بلغت 20.5%، بينما اعطى الوسط الخالي من منظمات النمو النباتية اقل نسبة بلغت 12.8%

.

الجدول (١٣) تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في النسبة المئوية للكربوهيدرات الذائبة (%) في الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز NAA (ملغم لتر$^{-1}$)					متوسط BA
	0	0.1	0.2	0.3	0.4	
0	12.8	15.0	15.5	16.7	16.3	15.46
1	14.7	16.3	16.8	16.0	16.5	16.06
2	15.8	16.8	17.0	17.8	17.7	17.02
3	17.0	18.8	19.0	20.1	20.5	19.08
4	18.2	19.3	19.8	20.0	20.1	19.48
$LSD_{(0.05)}$	0.98					0.44
متوسط NAA	15.70	17.24	17.62	18.12	18.22	
$LSD_{(0.05)}$	0.44					

4- 12: تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في النسبة المئوية لتركيز الكربوهيدرات غيرالذائبة للأفرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

اشارت بيانات الجدول رقم (14) وجود تفوق معنوي في النسبة المئوية للكربوهيدرات غير الذائبة بزيادة تراكيز الـ BA المضافة للوسط الغذائي MS 1 و2 و3 و4 ملغم لتر$^{-1}$ بلغت 40.14 و 44.20 و 45.30 و 45.88%على التوالي، في حين اعطت معاملة المقارنة اقل نسبة بلغت34.44%، كما ادت زيادة تراكيز الـ NAA المضافة للوسط الغذائي 0.1 و0.2 و 0.3 ملغم لتر$^{-1}$الى حصول زيادة معنوية في النسبة المئويةلتركيز الكربوهيدرات غير الذائبة بلغت41.56 و 42.16و 43.74 % على التوالي ثم قلت الاستجابة عند التركيز 0.4 ملغم لتر$^{-1}$ بلغت 43.04% ، مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل نسبة مئوية بلغت39.46%.اما بالنسبة عن تأثير معاملة التداخل فكان هناك فروقات معنوية بين القيم فقد اعطى التركيز 4 ملغم لتر$^{-1}$ من الـ BA وبالتداخل مع التركيز 0.3 ملغم لتر$^{-1}$ من الـNAA اعلى نسبة مئوية بلغت 48.5%، بينما اعطى الوسط الخالي من منظمات النمو النباتية اقل نسبة مئوية بلغت 30.8%.

الجدول (١٤) تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في النسبة المئوية للكربوهيدرات غيرالذائبة (%)في الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

متوسط BA	تركيز NAA (ملغم لتر$^{-1}$)					تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)
	0.4	0.3	0.2	0.1	0	
34.44	35.8	35.9	34.0	35.7	30.8	0
40.14	42.7	42.0	40.7	38.8	36.5	1
44.20	45.1	45.6	44.8	44.0	41.5	2
45.30	46.5	46.7	45.7	44.0	43.6	3
45,88	45.1	48.5	45.6	45.3	44.9	4
0.43	0.96					$LSD_{(0.05)}$
	43.04	43.74	42.16	41.56	39.46	متوسط NAA
	0.43					LSD

مما تقدم عرضه من نتائج الجداول (١٠-١٤) تبين هناك تفوق معنوي في معدل تركيز الكلوروفيل a و b والكلي وكذلك النسبة المئوية للكربوهيدرات الذائبة وغير الذائبة بزيادة تراكيز BA المضافة للوسط الغذائي وقد يعزى ذلك الى ان السايتوكانينات هي عامل مهم في زيادة الكلوروفيل في الاوراق، بسبب دورها الفعال في زيادة فاعلية انزيم Chlorophylase الذي ينشط اخر خطوة في بناء الكلوروفيل فيعمل على تسريع استرة مجموعة فايتول مع Chlorophyllide a فيتكون الكلوروفيل (Son واخرون،2011).وقد اشار التميمي، (2009) ان استخدام منظمات النمو قد يكون له علاقة بزيادة معدلات البناء الضوئي من خلال زيادة محتواها من الكلوروفيل او التأثير المحفز لمنظمات النمو النباتية في التخليق الحيوي لهذه الصبغات النباتية.

وقد يعزى سبب التفوق المعنوي الى عمل السايتوكانين في زيادة انقسام الخلايا واستطالتها كما يعمل على تنشيط RNA ومن زيادة التفاعلات الحيوية وزيادة بناء البروتينات والكلوروفيل وتأخير الشيخوخة وزيادة في نقل المغذيات للأنسجة النباتية اضافة عن دورة في زيادة كفاءة التمثيل الكربوني وزيادة المركبات الناتجة عنها كالسكريات والاحماض الامينية والبروتين التميمي ،(2009)و ياسين واخرون ،(2013). كما اتفقت هذه النتائج مع ماتوصل الية التميمي، (2014) و عبد القادر، (2018) عند اكثار نبات الستيفيا *Stevia rebaudiana*خارج الجسم الحي.

13-4 : تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في تركيز مركب Stevioside للأفرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

اشارت بيانات الجدول رقم (15) وجود تفوق معنوي في معدل تركيز مركب الـ Steviosideبزيادة تراكيز الـ BA المضافة للوسط الغذائي MS 1 و2 و3 و4 ملغم لتر$^{-1}$ بلغت 1184.80 و 1301.60 و 1570.00 و 2461.40 ميكروغرام غم$^{-1}$على التوالي، في حين اعطت معاملة المقارنة اقل نسبة بلغت1094.00ميكروغرام غم$^{-1}$، كما ادت زيادة تراكيز الـ NAA المضافة للوسط الغذائي 0.1 و0.2 و 0.3و 0.4ملغم لتر$^{-1}$الى حصول زيادة معنوية في معدل تركيز المركب ذاته بلغت 1489.60و 1561.60و 1578.40 و 1659.20ميكروغرام غم$^{-1}$على التوالي مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل نسبة بلغت1323.00 ميكروغرام غم$^{-1}$، اما بالنسبة عن تأثير معاملةالتداخل فكان هناك فروقات معنوية بين القيم فقد اعطى التركيز 4 ملغم لتر$^{-1}$ من الـ BA وبالتداخل مع التركيز 0.4 ملغم لتر$^{-1}$ من الـNAA اعلى معدل بلغ2680 ميكروغرام غم$^{-1}$، بينما اعطى الوسط الخالي من منظمات النمو النباتية اقل معدل بلغ810 ميكروغرام غم$^{-1}$.

الجدول (١٥) تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في تركيز مركب Stevioside (ميكروغرام غم$^{-1}$) في الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز NAA (ملغم لتر$^{-1}$)					متوسط BA
	0	0.1	0.2	0.3	0.4	
0	810	1120	1177	1180	1183	1094.00
1	1015	1181	1215	1223	1290	1184.80
2	1110	1250	1360	1390	1398	1301.60
3	1275	1580	1610	1640	1745	1570.00
4	2405	2317	2446	2459	2680	2461.40
$LSD_{(0.05)}$	61.56					27.53
متوسط NAA	1323.00	1489.60	1561.60	1578.40	1659.20	
LSD	27.53					

14-4 : تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في تركيز مركب. Rebaudioside A للأفرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

اوضحت البيانات المدونة في الجدول رقم (١٦) وجود تفوق معنوي في معدل تركيز مركب الـ Re baudioside A بزيادة تراكيز الـ BA المضافة للوسط الغذائي MS 1 و2 و3 و 4 ملغم لتر$^{-1}$ بلغت 1073.60 و 1136.40 و 1252.40 و 1474.80ميكروغرام غم$^{-1}$ على التوالي، في حين اعطت معاملة المقارنة اقل نسبة بلغت942ميكروغرام غم$^{-1}$، كما ادت زيادة تراكيز الـ NAA المضافة للوسط الغذائي الى حصول زيادة في معدل تركيز المركب ذاته اذ تفوق التركيز 0.4 ملغم لتر$^{-1}$في تحقيق اعلى معدل بلغ 1293.40ميكروغرام غم$^{-}$ والذي لم يختلف معنويا عن التراكيز 0.1 و 0.2 و 0.3 ملغم غم $^{-1}$ بلغت 1160.20 و 1205.60 و 1243.60 ميكروغرام غم$^{-1}$، مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل نسبة بلغت975ميكروغرام غم$^{-1}$، اما بالنسبة عن تأثير معاملة التداخل فقد اعطى التركيز 4 ملغم لتر$^{-1}$ من الـ BA وبالتداخل مع التركيز 0.4 ملغم لتر$^{-1}$ من الـNAA اعلى معدل بلغ 1663ميكروغرام غم$^{-1}$، بينما اعطى الوسط الخالي من منظمات النمو النباتية اقل معدل بلغ 607 ميكروغرام غم$^{-1}$.

الجدول (١٦) تأثير الـ BA و NAA والتداخل بينهما في تركيز مركب Rebaudioside A.(ميكروغرام غم$^{-1}$)في الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز NAA (ملغم لتر$^{-1}$)					متوسط BA
	0	0.1	0.2	0.3	0.4	
0	607	976	1030	1025	1070	941.60
1	885	1075	1105	1138	1165	1073.60
2	1015	1140	1135	1167	1225	1136.40
3	1113	1210	1277	1318	1344	1252.40
4	1256	1400	1485	1570	1663	1474.80
$LSD_{(0.05)}$	351					157
متوسط NAA	975.20	1160,20	1205.60	1243.60	1293.40	
LSD	157					

مما تقدم عرضه من نتائج الجداول (١٥ و ١٦) هناك زيادة في معدل تركيز المركبات الايضية بزيادة تراكيز منظمات النمو المضافة للوسط الغذائي وقد يعود السبب الى دور منظمات النمو في زيادة عدد الافرع والوزن الطري والجاف وكذلك تركيز الكلوروفيل والكربوهيدرات للمجموع الخضري اذ تؤدي تلك الى زيادة في النتروجين المكون الاساسي لبناء الاحماض الامينية التي يتم بناء المركبات الفعالة من خلال عمليات البناء الحيوي للأحماض الامينية الاساسية التي تعد كبادئات او مواد اولية لا نتاجها كذلك دور منظمات النمو في النشاط الأنزيمي للخلايا والحفاظ على ثباتية الاغشية الخلوية وزيادة تمثيل CO_2 وزيادة امتصاص العناصر المغذية والمعدنية والماء مسببة زيادة في العمليات الايضية وانتاج المركبات الثانوية (Verpoorte واخرون،2002).

اتفقت هذه النتائج مع نتائج حمود ومجيد ، (2017) في حصول زيادة معنوية في تركيز القلويدات في نبات *Withania somnifera* بزيادة تراكيز منظمات النمو النباتية المضافة للوسط الغذائي، ومع نتائج خير الله ،(2017) و خيري، واخرون، (2018) في دراستهم على نبات الاستيفيا.*Stevia rebaudiana* L ، ومع نتائج التميمي، (2018) وجدت هناك تفوق معنوي في تركيز الزيوت الطيارة لنبات *Rosmari nusofficinalis*بزيادة تركيز منظمات النمو المضافة للوسط الغذائي.

15-4 : تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في عدد افرع نبات الستيفيا بعد ٦اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

تُبين نتائج الجدول (17) وجود تفوق معنوي في معدل عدد الافرع الخضرية لنبات الستيفيا باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح الـــ LED الملونة في تحقيق اعلى معدل بلغ 38.66 فرع نبات$^{-1}$ ثم تلاه مصابيح الـــ LED الابيض بلغت 34.50 فرع نبات$^{-1}$ في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل معدل بلغ 28.69 فرع نبات$^{-1}$. كما كان لتراكيز السكروز المضافة للوسط الغذائي تأثير معنوي في معدل الصفة ذاتها حيث حقق التركيز 45 غم لتر$^{-1}$ اعلى معدل بلغ 38.47 فرع نبات$^{-1}$ والذي لم يختلف معنويا عن التركيز 60 غم لتر$^{-1}$ الذي حقق معدل بلغ 38.41 غم لتر$^{-1}$.

اما عن تأثير التداخل بين نوع الاضاءة وتراكيز السكروز في معدل صفة عدد الافرع فقد حققت مصابيح الـــ LED الملون عند التركيز 45 غم لتر$^{-1}$ اعلى معدل بلغ 45.50 فرع نبات$^{-1}$ في حين سجلت معاملة مصابيح الفلورسنت وتركيز السكروز 15 غم لتر$^{-1}$ اقل معدل بلغ 20.13 فرع نبات$^{-1}$.كما في الشكل (١٢)

الجدول (17) تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في عدد الافرع (فرع نبات-١) لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

نوع الاضاءة	تركيز السكروز (غم لتر-١)				متوسط نوع الاضاءة
	15	30	45	60	
مصابيح الفلورسنت	20.13	28.15	33.50	33.00	28.69
مصابيح LED ابيض	30.00	32.55	36.42	39.01	34.50
مصابيح LED ملونة (١٨ احمر: ٢ ازرق)	35.50	30.40	45.50	43.22	38.66
LSD (0.05)	7.08				3.54
متوسط تركيز السكروز	28.54	30.37	38.47	38.41	
LSD (0.05)	4.54				

التداخل بين مصابيح الLED الملون وتركيز السكروز 45غم لتر -١

الشكل (11) التداخل بين نوع الاضاءة والسكروز في معدل عدد الافرع لنبات الستيفيا

16-4 : تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في طول الافرع لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

اشارت نتائج الجدول (18) وجود تفوق معنوي في معدل طول الافرع الخضرية لنبات الستيفيا باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح الـــ LED الملونة في تحقيق اعلى معدل بلغ 10.73 سم ثم تلاه مصابيح الـــ LED الابيض بلغت 5.76سم في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل معدل بلغ 3.93سم. كما كان

لتراكيز السكروز المضافة للوسط الغذائي تأثير معنوي في معدل الصفة ذاتها حيث حقق التركيز 45 و 60 غم لتر-١ اعلى معدل بلغ 7.63سمفي حين حققت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 5.18 سم.
اما عن تأثير التداخل بين نوع الاضاءة وتراكيز السكروز في معدل صفة طول الافرع فقد حققت مصابيح الـــ LED الملون عند التركيز 45 غم لتر-١ اعلى معدل بلغ 12.75 سمفي حين سجلت معاملة مصابيح الفلورسنت وتركيز السكروز 15 غم لتر-١ اقل معدل بلغ 3.15 سم.

الجدول (18) تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في طول الافرع (سم) لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

نوع الاضاءة	تركيز السكروز(غم لتر-١)				متوسط نوع الاضاءة
	15	30	45	60	
مصابيح الفلورسنت	3.15	4.22	4.14	4.20	3.93
مصابيح LED ابيض	5.25	5.60	6.00	6.20	5.76
مصابيح LED ملونة (١٨ احمر: ٢ ازرق)	7.13	10.55	12.75	12.50	10.73
LSD (0.05)	0.86				0.43
متوسط تركيز السكروز	5.18	6.79	7.63	7.63	
LSD (0.05)	0.49				

17-4 : تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في عدد الاوراق لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

اوضـــحت نتائج الجدول (١٩) وجود تفوق معنوي في معدل عدد الاوراق لنبات الســـتيفيا باختلاف نوع الاضـــاءة اذ تفوقت مصـــابيح الـــــ LED الملونة في تحقيق اعلى معدل بلغ 147.30ورقة نبات-١ثم تلاه مصابيح الـ LED الابيض بلغت 111.34ورقة نبات-١ في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل معدل بلغ 65.10 ورقة نبات-١. كما كان لتراكيز السكروز المضـافة للوسـط الغذائي تأثير معنوي في معدل الصـفة ذاتها حيث حقق التركيز 45 غم لتر-١ اعلى معدل بلغ 124.38ورقه نبات-١ والذي لم يختلف معنويا عن التركيز 60 غم لتر-١ ســـكروز بلغ122.74ورقه نبات-١في حين حققت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 80.29ورقه نبات-١.
اما عن تأثير التداخل بين نوع الاضاءة وتراكيز السكروز في معدل صفة عدد الاوراق فقد حققت مصابيح الـــ LED الملون عند التركيز 45 غم لتر-١ اعلى معدل بلغ 165.50ورقه نبات-١في حين سجلت معاملة

مصـــابيح الفلورســـنت وتركيز الســـكروز 15 غم لتر-١ اقل معدل بلغ 40.62ورقه نبات-١.كما في الشكل(١٣).

الجدول (19) تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في عدد الاوراق (ورقة نبات-١) نبات الستيفيا (فرع نبات-١) بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

نوع الاضاءة	تركيز السكروز(غم لتر-١)				متوسط نوع الاضاءة
	15	30	45	60	
مصابيح الفلورسنت	40.62	65.45	77.24	77.10	65.10
مصابيح LED ابيض	85.25	98.75	130.40	130.95	111.34
مصابيح LED ملونة (١٨ احمر: ٢ ازرق)	115.00	148.50	165.50	160.18	147.30
LSD (0.05)	8.73				4.37
متوسط تركيز السكروز	80.29	104.23	124.38	122.74	
LSD (0.05)	5.04				

الشكل(١٢) التداخل بين انواع الاضاءة والسكروز في معدل عدد الاوراق لنبات الستيفيا

18-4 : تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في الوزن الطري للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

اوضـحت نتائج الجدول (٢٠) وجود تفوق معنوي في معدل الوزن الطري لنبات الســتيفيا باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح الـــ LED الملونة في تحقيق اعلى معدل بلغ 10.65ملغمثم تلاه مصابيح الـ

LED الابيض بلغت 7.79ملغم في حين حققت مصـابيح الفلورسـنت اقل معدل بلغ 3.95 ملغم. كما كان لتراكيز السكروز المضـافة للوسط الغذائي تأثير معنوي في معدل الصـفة ذاتها حيث حقق التركيز 45 غم لتر$^{-1}$ اعلى معدل بلغ 8.82ملغم والذي لم يختلف معنويا عن التركيز 60 غم لتر$^{-1}$ بلغ 8.72ملغم في حين حققت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 5.47 ملغم.

اما عن تأثير التداخل بين نوع الاضاءة وتراكيز السكروز في معدل صفة وزن طري فقد حققت مصابيح الـ LED الملون عند التركيز 45 غم لتر$^{-1}$ اعلى معدل بلغ 12.48ملغم في حين سجلت معاملة مصابيح الفلورسنت وتركيز السكروز 15 غم لتر$^{-1}$ اقل معدل بلغ 2.75 ملغم.

الجدول (٢٠) تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في الوزن الطري (ملغم) للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

نوع الاضاءة	تركيز السكروز (غم لتر$^{-1}$)				متوسط نوع الاضاءة
	15	30	45	60	
مصابيح الفلورسنت	2.75	3.60	4.80	4.65	3.95
مصابيح LED ابيض	5.40	7.10	9.18	9.50	7.79
مصابيح LED ملونة (١٨ احمر: ٢ ازرق)	8.25	9.85	12.48	12.00	10.65
LSD $_{(0.05)}$	1.46				0.73
متوسط تركيز السكروز	5.47	6.85	8.82	8.72	
LSD $_{(0.05)}$	0.84				

19-4 : تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في الوزن الجاف للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

اوضـحت نتائج الجدول (٢١) وجود تفوق معنوي في معدل الوزن الجاف لنبات السـتيفيا باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح الـ LED الملونة في تحقيق اعلى معدل بلغ 4.17 ملغم ثم تلاه مصابيح الـ LED الابيض بلغت 2.90 ملغم في حين حققت مصـابيح الفلورسـنت اقل معدل بلغ 1.08ملغم. كما كان لتراكيز السكروز المضـافة للوسط الغذائي تأثير معنوي في معدل الصـفة ذاتها حيث حقق التركيز 45 غم لتر$^{-1}$ اعلى معدل بلغ 3.23ملغم والذي لم يختلف معنويا عن التركيز 60 غم لتر$^{-1}$ بلغ 3.15 ملغم في حين حققت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 1.88ملغم.

اما عن تأثير التداخل بين نوع الاضاءة وتراكيز السكروز في معدل صفة وزن جاف فقد حققت مصابيح الـ LED الملون عند التركيز 45 غم لتر$^{-1}$ اعلى معدل بلغ 4.83 ملغم في حين سجلت معاملة مصابيح الفلورسنت وتركيز السكروز 15 غم لتر$^{-1}$ اقل معدل بلغ 0.75 ملغم.

الجدول (٢١) تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في الوزن الجاف (ملغم) للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

نوع الاضاءة	تركيز السكروز (غم لتر$^{-1}$)				متوسط نوع الاضاءة
	15	30	45	60	
مصابيح الفلورسنت	0.75	0.92	1.45	1.20	1.08
مصابيح LED ابيض	1.66	2.95	3.40	3.60	2.90
مصابيح LED ملونة (١٨ احمر: ٢ ازرق)	3.25	3.95	4.83	4.65	4.17
$LSD_{(0.05)}$	0.22				0.11
متوسط تركيز السكروز	1.89	2.61	3.23	3.15	
$LSD_{(0.05)}$	0.13				

مما تقدم عرضه من نتائج (١٧–٢١) يوجد تفوق معنوي في معدل الصفات المدروسة والتي شملت عدد وطول الافرع الخضرية وعدد الاوراق لكل نبتة وكذلك معدل الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري باختلاف تراكيز السكروز المضافة للوسط الغذائي MS وصولا للتركيز الامثل قد يعزى سبب ذلك كون السكروز يعد من العوامل المهمة والمحفزة التي تحدث جهدا ازموزيا سالبا في الوسط الغذائي عند التراكيز العالية منه، وان تراكم هذه المواد تحفز الأنسجة على تجميع المحاليل العضوية والسكروز من اجل تنظيم الازموزية التي تسهم في تخصص الخلايا ومن ثم يؤدي الى زيادة عدد الافرع وزيادة عدد الجذور(Handa واخرون،1982).او ربما يعزى ذلك الى تكوين الاوعية الناقلة في النسيج النباتي نتيجة حدوث التمايز في ذلك النسيج اعتمادا على نوعيه الكربوهيدرات المضافة الى الوسط ، واشار الحميري ، (2010)ان اضافة السكروز الى الوسط الغذائي ينشط عملية التكشف والحصول على افرع خضرية من الجزء النباتي المزروع، بين Triglano و Gray، (1999) اهمية السكروز في تغذية الجزء النباتي المزروع وزيادة عدد الافرع الخضرية في الوسط الغذائي كون الاجزاء النباتية المزروعة رمية التغذية.

كما اشارت بيانات الجداول اعلاه حصول انخفاض في معدل الصفات الخضرية عند التراكيز المنخفضة من السكروز وصولا الى التركيز المثالي وقد يعزى السبب الى حدوث تثبيط في نشاط الخلايا لكون السكروز يعد احد مصادر الطاقة التي تسهم في تصنيع البروتين ومن ثم فان نقص مركب الطاقة في الوسط الغذائي يؤثر سلبا على عملية الانقسام والنمو.

كما بينت نتائج الجداول هناك انخفاض تدريجي في معدل الصفات الخضرية المدروسة بزيادة تراكيز السكروز المضافة للوسط MS عن التركيز الامثل وقد يعزى سبب ذلك الى ان التراكيز العالية منه تسبب انخفاضا في جاهزية الماء والمواد الغذائية في وسط النمو فتسبب جهدا وهذا يتطلب اعادة تنظيم لجهدها

الازموزي بشكل يؤمن لها التأقلم مع الظروف الجديدة نتيجة حدوث تغيرات في العلاقات المائية في النموات الخضرية (Yao، 2003).

اتفقت هذه النتائج مع ما توصل اليه Razak واخرون (2014) في دراسته عن تأثير تراكيز مختلفة من السكروز في اكثار نبات الستيفيا *Stevia rebaudiana* L.، وكذلك مع ما توصل اليه Mehaboob واخرون، (2019) عند اكثار نبات الزنجبيل *Zingiber officinale*Rosc. ودراسة تأثير تراكيز السكروز في نمو النبات وتطوره.

كما كان لنوع الاضاءة دور فعال وبارز في معدل الصفات الخضرية المدروسة حسب ما اشارت اليه نتائج الجداول ذاتها وقد يعزى ذلك الى دورها الفعال والاساسي في عملية النمو والتشكل المورفولوجي والاستجابات الفسيولوجية التي تقوم بها النباتات، وتعمل ايضا على تحفيزامتصاص منظمات النمو وخاصة السايتوكانينات من قبل الاجزاء النباتية المزروعة (الحميداوي،2016 و Fan، 2013).

يعزى ايضا تفوق الضوء الاحمر في الصفات الخضرية الى سمك خلايا البشرة والخلايا البرنكيمية تنخفض معنويا في النباتات المزروعة خارج الجسم الحي والنامية تحت الاضاءة الحمراء بينما يزداد السمك عند الضوء الازرق فيؤثر على النفاذية للاغشية الخلوية فيسمح بمرور منظمات النمو والمغذيات الى داخل الخلية (Macedo واخرون ،2011).

اشـــارDabrowski واخرون، (2015)ان قوة فســـلجة النبات وتطوره يتأثر بالطيف الضـــوئي في بيئة النمو، فالأطوال الموجية تكون فعالة ضـــمن المدى من 400-700 نانوميتر من الطيف الضـــوئي، وطاقة ٣الفوتونات الضـــوئية لها القدرة على تجهيزالطاقة الممتصـــة من قبل الصـــبغات مكونة حالة الاثارة للإلكترونات.اتفقت هذه النتائج مع مابينه Fan واخرون،(2013) من ان نوع الضـــوء له تأثير في النمو والتشـــكل الظاهري والاســـتجابات الفســـيولوجية الاخرى للنبات اذ حصـــلوا معدلات عالية لعدد الافرع الخضـــرية لنباتات الطماطة الفتية النامية تحت الاضـــاءة الملونة حيث كان نشـــوء الافرع معتمدا على الاطوال الموجة الضوئية.

20-4 : تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في تركيز كلوروفيل a للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

اوضـــحت نتائج الجدول (٢٢) وجود تفوق معنوي في معدل تركيز كلوروفيل a المقدر في المجموع الخضري لنبات الستيفيا باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح الـ LED الملونة في تحقيق اعلى معدل بلغ ٢,٢٩ ملغم غم$^{-1}$ثم تلاه مصـابيح الـــ LED الابيض بلغت ١,٨٧ ملغم غم$^{-1}$ في حين حققت مصـابيح الفلورســنت اقل معدل بلغ ١,٣١ملغم غم$^{-1}$. كما كان لتراكيز الســكروز المضـــافة للوســط الغذائي تأثير

معنوي في معدل الصـــفة ذاتها حيث حقق التركيز 60 غم لتر-١ اعلى معدل بلغ ٢,٢٥ملغم غم-١ في حين حقق التركيز 15 غم لتر-١ اقل معدل بلغ ١,١٠ملغم غم-١.

اما عن تأثير التداخل بين نوع الاضاءة وتراكيز السكروز في معدل صفة تركيز كلوروفيل a فقد حققت مصابيح الـ LED الملون عند التركيز ٤٥ غم لتر-١ اعلى معدل بلغ ٢,٦٦ ملغم غم-١في حين سجلت معاملة مصابيح الفلورسنت وتركيز السكروز 15 غم لتر-١ اقل معدل بلغ 0.60ملغم غم-١.

الجدول (22) تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في تركيز كلوروفيل a (ملغم غم-١) للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

نوع الاضاءة	تركيز السكروز(غم لتر-١)				متوسط نوع الاضاءة
	15	30	45	60	
مصابيح الفلورسنت	0.60	1.38	1.55	1.70	1.31
مصابيح LED ابيض	1.12	1.75	2.17	2.45	1.87
مصابيح LED ملونة (١٨ احمر: ٢ ازرق)	1.60	2.30	2.66	2.60	2.29
LSD (0.05)	0.14				0.07
متوسط تركيز السكروز	1.11	1.81	2.13	2.25	
LSD (0.05)	0.08				

21-4 : تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في تركيز كلوروفيل b للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

تشيربيانات الجدول (23) وجود تفوق معنوي في معدل تركيز كلوروفيل b المقدر في المجموع الخضري لنبات الستيفيا باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح الـ LED الملونة في تحقيق اعلى معدل بلغ 1.91 ملغم غم١ثم تلاه مصابيح الـ LED الابيض بلغت 1.65ملغم غم-١ في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل معدل بلغ 1.05ملغم غم-١. كما كان لتراكيز السـكروز المضـافة للوسـط الغذائي تأثير معنوي في معدل الصـــفة ذاتها حيث حقق التركيز 60 غم لتر-١ اعلى معدل بلغ 0.98ملغم غم-١ الذي لم يختلف معنويا عن التركيز 15 غم لتر-١ بلغ 0.92 ملغم غم-١في حين حقق التركيز 30 غم لتر-١ اقل معدل بلغ 1.43ملغم غم-١.اما عن تأثير التداخل بين نوع الاضـاءة وتراكيز السـكروز في معدل صـفة تركيز كلوروفيل a فقد حققت مصـابيح الـــ LED الملون عند التركيز 60 غم لتر-١ اعلى معدل بلغ 2.35 ملغم غم-١ في حين سجلت معاملة مصابيح LED ابيض وتركيز السكروز 15 غم لتر-١ اقل معدل بلغ 0.08 ملغم غم-١.

الجدول (23) تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في تركيز كلوروفيل b (ملغم غم$^{-1}$) للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

نوع الاضاءة	تركيز السكروز(غم لتر$^{-1}$)				متوسط نوع الاضاءة
	15	30	45	60	
مصابيح الفلورسنت	0.38	1.10	1.25	1.45	1.05
مصابيح LED ابيض	1.08	1.50	1.87	2.15	1.65
مصابيح LED ملونة (١٨ احمر: ٢ ازرق)	1.32	1.68	2.30	2.35	1.91
LSD $_{(0.05)}$	0.15				0.08
متوسط تركيز السكروز	0.93	1.43	1.81	1.98	
LSD $_{(0.05)}$	0.09				

22-4 : تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في تركيز الكلوروفيل الكلي للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

تشـــيربيانـات الجدول (24)وجود فرق معنوي في معدل تركيز كلوروفيل الكلي المقدر في المجموع الخضري لنبات الستيفيا باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح الـ LED الملونة في تحقيق اعلى معدل بلغ ٤,٢٠ ملغم غم^{1}ثم تلاه مصـابيح الـــ LED الابيض بلغت ٣,٥٢ ملغم غم$^{-1}$ في حين حققت مصـابيح الفلورســنت اقل معدل بلغ ٢,٣٥ ملغم غم$^{-1}$. كما كان لتراكيز الســكروز المضـــافة للوســط الغذائي تأثير معنوي في معدل الصـفة ذاتها حيث حقق التركيز 60 غم لتر$^{-1}$ اعلى معدل بلغ ٤,٢٣ ملغم غم$^{-1}$ في حين حقق التركيز 15 غم لتر$^{-1}$ اقل معدل بلغ ٢,٠٣ ملغم غم$^{-1}$.اما عن تـأثير التداخل بين نوع الاضـــاءة وتراكيز السكروز في معدل صفة عدد الافرع فقد حققت مصابيح الـــ LED الملون عند التركيز ٤٥ غم لتر$^{-1}$ اعلى معدل بلغ ٤,٩٦ ملغم غم$^{-1}$ في حين سجلت معاملة مصـابيح الفلورسنت وتركيز السكروز 15 غم لتر$^{-1}$ اقل معدل بلغ ٠,٩٨ ملغم غم$^{-1}$.

والسكروز والتداخل بينهما في تركيز الكلوروفيل الكلي (ملغم غم$^{-1}$) للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

نوع الاضاءة	تركيز السكروز (غم لتر$^{-1}$)				متوسط نوع الاضاءة
	15	30	45	60	
مصابيح الفلورسنت	٠,٩٨	٢,٤٨	٢,٨٠	٣,١٥	٢,٣٥
مصابيح LED ابيض	٢,٢٠	٣,٢٥	٤,٠٤	٤,٦٠	٣,٥٢
مصابيح LED ملونة (١٨ احمر: ٢ ازرق)	٢,٩٢	٣,٩٨	٤,٩٦	٤,٩٥	٤,٢٠
LSD (0.05)	0.70				0.35
متوسط تركيز السكروز	٢,٠٣	٣,٢٤	٣,٩٣	٤,٢٣	
LSD (0.05)	0.40				

23-4 : تأثير نوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في النسبة المئوية للكربوهيدرات الذائبة% للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

تشـــير بيانات الجدول (25)وجود تفوق معنوي في النســـبة المئوية للكربوهيدرات الذائبة المقدرة في المجموع الخضري لنبات الستيفيا باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح الـــ LED الملونة في تحقيق اعلى معدل بلغ 21,52%ثم تلاه مصابيح الـــ LED الابيض بلغت 18.85 % في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل معدل بلغ 16.87%. كما كان لتراكيز السكروز المضافة للوسط الغذائي تأثير معنوي في معدل الصـــفة ذاتها حيث حقق التركيز 45 غم لتر$^{-1}$ اعلى معدل بلغ 20.50% الذي لم يختلف معنويا عن التركيز ٦٠ غم لتر$^{-1}$ بلغ 20.37 % في حين حقق التركيز 15 غم لتر$^{-1}$ اقل معدل بلغ 17.67%الذي لم يختلف معنويا عن التركيز ٣٠ غم لتر$^{-1}$ بلغ 17.80 %.اما عن تأثير التداخل بين نوع الاضـــاءة وتراكيز السكروز في معدل صفة عدد الافرع فقد حققت مصابيح الـ LED الملون عند التركيز ٤٥ غم لتر$^{-1}$ اعلى معدل بلغ 23.70% في حين ســجلت معاملة مصـــابيح الفلورســنت وتركيز الســكروز 15 غم لتر$^{-1}$ اقل معدل بلغ 15.70 %.

الجدول (٢٥) تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في النسبة المئوية للكربوهيدرات الذائبة (%) للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

نوع الاضاءة	تركيز السكروز (غم لتر$^{-1}$)				متوسط نوع الاضاءة
	15	30	45	60	
مصابيح الفلورسنت	15.70	16.40	17.00	18.40	16.87
مصابيح LED ابيض	17.40	16.90	20.80	20.30	18.85
مصابيح LED ملونة (١٨ احمر: ٢ ازرق)	19.90	20.10	23.70	22.40	21.52
LSD $_{(0.05)}$	2.68				1.12
متوسط تركيز السكروز	17.67	17.80	20.50	20.37	
LSD $_{(0.05)}$	1.84				

24-4 : تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في النسبة المئوية للكربوهيدرات غير الذائبة %للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

تشـيربيانات الجدول (26) وجود تفوق معنوي في النسـبة المئوية للكربوهيدرات غير الذائبة المقدرة في المجموع الخضري لنبات الستيفيا باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح الـــ LED الملونة في تحقيق اعلى معدل بلغ 48.15 %ثم تلاه مصـابيح الـــ LED الابيض بلغت 46.00% في حين حققت مصـابيح الفلورسنت اقل معدل بلغ 40.15%. كما كان لتراكيز السكروز المضـافة للوسط الغذائي تأثير معنوي في معدل الصـــفة ذاتها حيث حقق التركيز 45 غم لتر$^{-1}$ اعلى معدل بلغ 48.83% الذي لم يختلف معنويا عن التركيز ٣٠ غم لتر$^{-1}$ بلغ 47.30% في حين حقق التركيز 15 غم لتر$^{-1}$ اقل معدل بلغ 39.80%.اما عن تأثير التداخل بين نوع الاضـاءة وتراكيز السكروز في النسبة المئوية للكربوهيدرات غير الذائبةفقد حققت مصـابيح الـــ LED الملون عند التركيز ٤٥ غم لتر$^{-1}$ اعلى معدل بلغ 53.30% في حين سـجلت معاملة مصـابيح الفلورسنت وتركيز السكروز 15 غم لتر$^{-1}$ اقل معدل بلغ 36.0%.

الجدول (٢٦) تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في النسبة المئوية للكربوهيدرات غير الذائبة (%) للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

نوع الاضاءة	تركيز السكروز (غم لتر$^{-1}$)				متوسط نوع الاضاءة
	15	30	45	60	
مصابيح الفلورسنت	36.00	41.90	41.80	40.90	40.15
مصابيح LED ابيض	42.90	49.70	51.40	40.00	46.00
مصابيح LED ملونة (١٨ احمر: ٢ ازرق)	43.50	50.30	53.30	48.50	48.15
LSD $_{(0.05)}$	3.20				1.16
متوسط تركيز السكروز	39.80	47.30	48.83	43.13	
LSD $_{(0.05)}$	2.19				

يلاحظ من الجدول (٢٢–٢٦) وجود تفوق معنوي في معدل تركيز الكلوروفيل a و b والكلي والنسبة المئوية للكربوهيدرات الذائبة وغير الذائبة التي تم تقديره في المجموع الخضري لنباتات الستيفيا النامية تحت انواع اضاءة مختلفة وتبين من خلال النتائج تفوق اضاءة الـ LED الملونة في تحقيق اعلى النسب وقد يعزى ذلك التحفز مصابيح LED الملون على تكوين الكربوهيدرات والبروتينات من خلال زيادة تنشيط البناء الضوئي وتستغل هذه المكونات من اجل تكوين افرع جديدة (Whitelam و Halliday، 2007 و Kozak، 2011)، او قد يعزى السبب الى تأثير نوع الضوء على انزيمات تكوين الصبغات ونشوء البلاستيدات، كما ان للأطوال الموجية دورا كبيرا في جاهزية العناصر وزيادة امتصاصها وبالتالي تؤثر على محتوى النتروجين مما يسبب زيادة في محتوى الاوراق من الكلوروفيل(Taiz وZeiger، 2010)، اضافة الى ذلك فان ذروة امتصاص الكلوروفيل للطيف الضوئي عند الطول الموجي450 نانوميتر(منطقة الضوء الازرق) وبالمقابل فان ذروة الامتصاص الاولى عند الطول الموجي660 نانوميترا (منطقة الضوء الاحمر)، ومن المعروف ان الضوء الاحمر والضوء الازرق يؤثران في استجابة النبات من خلال البروتينات المستقبلة للضوء (Taiz وZeiger، 2006).

اتفقت هذه النتائج مع دراسة الحميداوي (2016) في تأثير نوع الاضاءة على اكثار نبات الجيربرا وتقدير تركيز الكلوروفيل والكربوهيدرات في مجموعة الخضري حيث وجد ان لنوع الاضاءة اثر معنوي في بعض المؤشرات الفسلجية والكيموحيوية وكذلك التشكل الظاهري للنبات، ومع ما توصل اليه خيري واخرون (2018) في دراستهم عن تأثير نوع الاضاءة في نمو وتطور نبات الستيفيا *Stevia rebaudiana* L. حيث اثرت الاضاءة ذات اللون الاحمر والازرق مما ادى الى حصول تفوق معنوي في

نمو النبات ومعدل تركيز الكلوروفيل والكربوهيدرات المقدرة في مجموعه الخضري، ايضا اتفقت مع دراسة محمد (2019) في تأثير نوع الضوء على نمو نبات الشليك ومعدل تركيز الكلوروفيل.

4-25:تأثير نوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في تركيز مركب Stevioside للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

تشير بيانات الجدول (٢٧) وجود تفوق معنوي في معدل تركيز مركب Steviosideالمقدر في المجموع الخضري لنبات الستيفيا باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح الـ LED الملونة في تحقيق اعلى معدل بلغ 3000 ميكروغرام غم-١ثم تلاه مصابيح الـ LED الابيض بلغت 2268 ميكروغرام غم-١في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل معدل بلغ 1458 ميكروغرام غم-١ كما كان لتراكيز السكروز المضافة للوسط الغذائي تأثير معنوي في معدل الصفة ذاتها حيث حقق التركيز 60 غم لتر-١ اعلى معدل بلغ 2740 ميكروغرام غم-١ في حين حقق التركيز 15 غم لتر-١ اقل معدل بلغ 1670 ميكروغرام غم-١. اما عن تأثير التداخل بين نوع الاضاءة وتراكيز السكروز في معدل تركيز المركب فقد حققت مصابيح الـ LED الملون عند التركيز 60 غم لتر-١ اعلى معدل بلغ 3700 ميكروغرام غم-١ في حين سجلت معاملة مصابيح الفلورسنت وتركيز السكروز 15 غم لتر-١ اقل معدل بلغ1127 ميكروغرام غم-١.

الجدول (27) تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في تركيز مركب Stevioside (ميكروغرام غم-١) للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

نوع الاضاءة	تركيز السكروز(غم لتر-١)				متوسط نوع الاضاءة
	15	30	45	60	
مصابيح الفلورسنت	1127	1335	1610	1760	1458
مصابيح LED ابيض	1582	2070	2660	2760	2268
مصابيح LED ملونة (١٨ احمر: ٢ ازرق)	2300	2800	3200	3700	3000
LSD (0.05)	167.80				83.90
متوسط تركيز السكروز	1670	2068	2490	2740	
LSD (0.05)	96.90				

26-4: تأثير نوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في تركيز مركب Rebaudioside A للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

تشيربيانات الجدول (٢٨) وجود تفوق معنوي في معدل تركيز مركب Rebaudioside A المقدر في المجموع الخضري لنبات الستيفيا باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح الـ LED الملونة في تحقيق اعلى معدل بلغ 2751 ميكروغرام غم-١ثم تلاه مصابيح الـ LED الابيض بلغت 1739 ميكروغرام غم-١في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل معدل بلغ 1212 ميكروغرام غم-١ كما كان لتراكيز السكروز المضافة للوسط الغذائي تأثير معنوي في معدل الصفة ذاتها حيث حقق التركيز 60 غم لتر-١ اعلى معدل بلغ 2167 ميكروغرام غم-١ في حين حقق التركيز 15 غم لتر-١ اقل معدل بلغ 1500 ميكروغرام غم-١. اما عن تأثير التداخل بين نوع الاضاءة وتراكيز السكروز في معدل تركيز المركب فقد حققت مصابيح الـ LED الملون عند التركيز ٣٠ غم لتر-١ أعلى معدل بلغ ٣٢١٦ ميكروغرام غم-١ في حين سجلت معاملة مصابيح الفلورسنت وتركيز السكروز 15 غم لتر-١ اقل معدل بلغ1025 ميكروغرام غم-١.

الجدول (28) تأثيرنوع الاضاءة والسكروز والتداخل بينهما في تركيز مركب Rebaudioside A (ميكروغرام غم-١) للمجموع الخضري لنبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط MS.

نوع الاضاءة	تركيز السكروز (غم لتر-١)				متوسط نوع الاضاءة
	15	30	45	60	
مصابيح الفلورسنت	1025	1240	1235	1348	1212
مصابيح LED ابيض	1309	1484	1858	2303	1739
مصابيح LED ملونة (١٨ احمر: ٢ ازرق)	2166	3216	2770	2850	2751
LSD (0.05)	175.50				87.80
متوسط تركيز السكروز	1500	1980	1954	2167	
LSD (0.05)	101.40				

الذي تم ملاحظته وبشكل عام ان لتراكيز السكريات كان لها تأثير معنوي معدل تركيز المركبات الكلايكوسيدية المبينة في الجداول (٢٧ و٢٨) قد يعود السبب الى ان زيادة تركيز السكر في الوسط الغذائي معناه زيادة في الطاقة المتوفرة لا تمام العمليات الحيوية المختلفة التي تقوم بها الاجزاء النباتية المزروعة وزيادة النواتج الايضية المختلفة فضلا عن انها تحافظ على الضغط التنافذي للوسط الغذائي (2008,George).

اتفقت هذه النتائج مع ماتوصل اليه Gurel واخرون (2011) ان زيادة تركيز السكروز بالوسط من 3-12% ادت الى زيادة تصنيع مركب الـ Digoxin في مزارع الافرع الخضرية لنبات *Digitalis davisiana*. ومع ماوجده Jitendra واخرون(2013) بان هناك زيادة في تركيز المركبات الكلايكوسيديةDigitoxin و Gitoxin عند زيادة تركيز السكروز المضاف الى وسط مزارع الافرع الخضرية لنبات *Digitalis purpurea* من3-12%،ومع ما توصل اليه المختار، (2015) ان اضافة تراكيز مختلفة من السكروز والمالتوز والفركتوز الى الوسط الغذائي ادى الى زيادة معدل تركيز الكلايكوسيدات القلبية المقدرة في المجموع الخضري لنبات الديجيتالس*Digitalis lanata*،

الذي تم ملاحظتة ان لنوع الاضاءة دورا واضحا على انتاج مركبات الايض الثانوي وقد يعزى السبب إن الضوء يؤثر على عملية التمثيل الكاربوني والذي ينعكس هذا ايجابيا على بناء المركبات الاساسية الاولية والثانوية، ربما يعود سبب زيادة المركبات الفعالة الى زيادة المجموع الخضري والوزن الطري والجاف الذ يزيد من كفاءة عملية التركيب الضوئي وتصنيع المركبات الداخلة في بناء المركبات الاولية والتي تعتبر الاساس في بناء المركبات الفعالة. اتفقت هذه النتائج الى ماتوصل الية Idrees واخرون (2018) في دراسته حول تاثيرنوع الاضاءة على انتاج المركبات الفعاله لنبات الستيفيان كما اتفق مع وSiatkowska واخرون (2021) في دراسته حول تأثير نوع الاضاءة على انتاج المركبات الفعالة لنبات الندوية Droseraceae.

27-4 : تأثيرقوة املاح MS وتراكيز IBA والتداخل بينهما في النسبة المئوية لتجذير %نبات الستيفيا

بينت نتائج الجدول (29) اختلافات معنوية في النسبة المئوية للتجذير باختلاف قوة الاملاح فقد تفوق الوسط الغذائي المجهز بنصف قوة الاملاح في تحقيق اعلى نسبة تجذير بلغت 72.50% ثم تلاه الوسط الغذائي المجهز بربع قوة الاملاح الذي حقق نسبة تجذير بلغت 57.50% في حين حقق الوسط الغذائي المجهز بكامل القوة اقل نسبة تجذير بلغت 27.50%.

اما عن تأثير اضافة IBA الى وسط التجذير فقد حقق التركيز 1 ملغم لتر$^{-1}$ اعلى نسبة تجذير بلغت 73.30 % والتي لم تختلف معنويا عن التركيز 0.5 و 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ الذي حقق نسبة تجذير بلغت 66.70 و

70.00% على التوالي، في حين لم تحقق معاملة المقارنة اي نسبة تجذير تذكر، اما عن تأثير معاملات التداخل الثنائي بين قوة الاملاح MS وتراكيز الـ IBA فقد حقق الوسط الغذائي المجهز بـ نصف قوة الاملاح عند التراكيز 1 و 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ IBA اعلى نسبة تجذير بلغت ١٠٠٪ ، و سجلت اقل نسبة تجذير بلغت 30% في الوسط الغذائي المجهز بقوة املاح كاملة و تركيز 1.5ملغم لتر$^{-1}$ IBA ، في حين لم يسجل الوسط الغذائي الخالي من IBA وعند جميع تراكيز الاملاح اي استجابة تذكر.

الجدول (٢٩) تأثيرقوة املاح MS وتراكيز IBA والتداخل بينهما في النسبة المئوية (%) لتجذير افرع نبات الستيفيا بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي.

MS	تركيز IBA(ملغم لتر$^{-1}$)				متوسط MS
	0	0.5	1	1.5	
1/4	0	70	80	80	57.50
1/2	0	90	100	100	72.50
1	0	40	40	30	27.50
LSD (0.05)	12.87				6.144
متوسط تركيز IBA	0	66.70	73.30	70.00	
LSD (0.05)	7.43				

28-4: تأثيرقوة املاح MS وتراكيز IBA والتداخل بينهما في طول الجذور لنبات الستيفيا

اشارت بيانات الجدول (30) اختلافات معنوية في معدل طول الجذور باختلاف قوة املاح MS فقد تفوق الوسط الغذائي المجهز بنصف قوة الاملاح في تحقيق اعلى معدل بلغ 7.55 سم ثم تلاه الوسط الغذائي المجهز بربع قوة الاملاح الذي تحقيق معدل بلغ 4.59 سم في حين حقق الوسط الغذائي المجهز بكامل القوة اقل معدل بلغ 2.79 سم. اما عن تأثير اضافة IBA في معدل الصفة ذاتها فقد حقق التركيز 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ اعلى معدل بلغ 6.88 سم والذي لم يختلف معنويا عن التركيز 1 ملغم لتر$^{-1}$ الذي حقق معدل بلغ 6.83 سم ، في حين لم تحقق معاملة المقارنة اي استجابة تذكر، اما عن تأثير معاملات التداخل الثنائي بين قوة الاملاح MS وتراكيز الـ IBA فقد حقق الوسط الغذائي المجهز بـ ٢/١ نصف قوة الاملاح عند التراكيز 1 ملغم لتر$^{-1}$ IBA اعلى معدل طول للجذور بلغ 10.50 سم ، و سجل اقل معدل بلغ 3.00 سم في الوسط

الغذائي المجهز بقوة املاح كاملة و تركيز 1.5ملغم لتر-١ IBA ، في حين لم يسجل الوسط الغذائي الخالي من IBA وعند جميع تراكيز الاملاح اي استجابة تذكر.

الجدول (٣٠) تأثيرقوة املاح MS وتراكيز IBA والتداخل بينهما في طول جذور نبات الستيفيا (سم) بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي.

MS	تركيز IBA(ملغم لتر-١)				متوسط MS
	0	0.5	1	1.5	
1/4	0	5.15	6.00	7.20	4.59
1/2	0	9.25	10.50	10.45	7.55
1	0	4.15	4.00	3.00	2.79
LSD (0.05)	0.82				0.41
متوسط تركيز IBA	0	6.18	6.83	6.88	
LSD (0.05)	0.51				

29-4: تأثيرقوة املاح MS وتراكيز IBA والتداخل بينهما في عدد الجذور لنبات الستيفيا

توضح بيانات الجدول (٣١) اختلافات معنوية في معدل عدد الجذور باختلاف قوة املاح MS فقد تفوق الوسط الغذائي المجهز بنصف قوة الاملاح في تحقيق اعلى معدل بلغ 79.14 جذر نبات-١ ثم تلاه الوسط الغذائي المجهز بربع قوة الاملاح الذي حقق معدلا بلغ 60.31 جذر نبات-١ في حين حقق الوسط الغذائي المجهز بكامل القوة اقل معدل بلغ جذر نبات-١ 31.41 جذر نبات-١. اما عن تأثير اضافة IBA في معدل الصفة ذاتها فقد تفوق التركيز 1 ملغم لتر-١ معنويا في تحقيق اعلى معدلاعلى معدل بلغ 83.77 جذر نبات-١ والذي لم يختلف معنويا عن التركيز1.5 ملغم لتر-1 الذي حقق معدل بلغ 75.45 جذر نبات-١ ثم قلت الاستجابة عند التركيز 0.5 ملغم لتر-١ بلغ 68.50 جذر نبات-١ ، في حين لم تحقق معاملة المقارنة اي استجابة تذكر، اما عن تأثير معاملات التداخل الثنائي بين قوة الاملاح MS وتراكيز الـ IBA فقد حقق الوسط الغذائي المجهز بـ نصف قوة الاملاح عند التراكيز 1 ملغم لتر-١ IBA اعلى معدل عدد للجذور بلغ 120.25 جذر نبات-١ ، و سجل اقل معدل بلغ 35.00 جذر نبات-١في الوسط الغذائي المجهز بقوة املاح كاملة و تركيز 1.5ملغم لتر-١ IBA ، في حين لم يسجل الوسط الغذائي الخالي من IBA وعند جميع تراكيز الاملاح اي استجابة تذكر.

الجدول (٣١) تأثيرقوة املاح MS وتراكيز IBA والتداخل بينهما في عدد جذور نبات الستيفيا (جذر نبات$^{-1}$) بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي.

MS	تركيز IBA(ملغم لتر$^{-1}$)				متوسط MS
	0	0.5	1	1.5	
1/4	0.00	70.00	85.70	85.55	60.31
1/2	0.00	90.50	120.25	105.80	79.14
1	0.00	45.30	45.35	35.00	31.41
LSD (0.05)	4.87				2.43
متوسط تركيز IBA	0.00	68.60	83.77	75.45	
LSD (0.05)	2.81				

4-30: تأثيرقوة املاح MS وتراكيز IBA والتداخل بينهما في الوزن الطري لجذور لنبات الستيفيا

توضح بيانات الجدول (32) وجود اختلافات معنوية في معدل الوزن الطري باختلاف قوة املاح MS فقد تفوق الوسط الغذائي المجهز بنصف قوة الاملاح في تحقيق اعلى معدل بلغ 1.82 ملغم ثم تلاه السوسط الغذائي المجهز بربع قوة الاملاح الذي تحقيق معدل بلغ 0.96 ملغم والذي لم يختلف معنويا عن الوسط الغذائي المجهز بكامل القوة بلغ 0.78 ملغم. اما عن تأثير اضافة IBA في معدل الصفة ذاتها فقد تفوق التركيز 1 ملغم لتر$^{-1}$ معنويا في تحقيق اعلى معدل بلغ 1.77 ملغم والذي لم يختلف معنويا عن التركيز 1.5 ملغم لتر$^{-1}$IBA بلغ 1.60 ملغم، في حين لم تحقق معاملة المقارنة اي استجابة تذكر، اما عن تأثير معاملات التداخل الثنائي بين قوة الاملاح MS وتراكيز الـ IBA فقد حقق الوسط الغذائي المجهز بـ نصف قوة الاملاح عند التراكيز 1 ملغم لتر$^{-1}$ IBA اعلى معدل بلغ 2.85 ملغم، وسجل اقل معدل بلغ 1.02 ملغم في الوسط الغذائي المجهز بقوة املاح كاملة و تركيز 1.5ملغم لتر$^{-1}$ IBA ، في حين لم يسجل الوسط الغذائي الخالي من IBA وعند جميع تراكيز الاملاح اي استجابة تذكر.

الجدول (٣٢) تأثيرقوة املاح MS وتراكيز IBA والتداخل بينهما في الوزن الطري لجذور نبات الستيفيا (ملغم) بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي.

MS	تركيز IBA(ملغم لتر$^{-1}$)				متوسط MS
	0	0.5	1	1.5	
1/4	0.00	1.18	1.37	1.30	0.96
1/2	0.00	1.94	2.85	2.47	1.82
1	0.00	1.10	1.10	1.02	0.80
LSD (0.05)	0.49				0.22
متوسط تركيز IBA	0.00	1.41	1.77	1.60	
LSD (0.05)	0.29				

31-4: تأثيرقوة املاح MS وتراكيز IBA والتداخل بينهما في الوزن الجاف لجذور لنبات الستيفيا

تشير بيانات الجدول (٣٣)وجود اختلافات معنوية في معدل الوزن الجاف باختلاف قوة املاح MS فقد تفوق الوسط الغذائي المجهز بنصف قوة الاملاح في تحقيق اعلى معدل بلغ 0.56 ملغم ثم تلاه الوسط الغذائي المجهز بربع قوة الاملاح الذي تحقيق معدل بلغ 0.20 ملغم ,وسجل اقل معدل في الوسط الغذائي المجهز بكامل القوة بلغ 0.04 ملغم. اما عن تأثير اضافة IBA في معدل الصفة ذاتها فقد تفوق التركيز 1 ملغم لتر$^{-1}$ معنويا في تحقيق اعلى معدل بلغ 0.46 ملغم والذي اختلف معنويا عن التركيز 1.5، سجل اقل معدل عند التركيز 0.5 ملغم لتر$^{-1}$ IBA بلغ 0.23 ملغم، في حين لم تحقق معاملة المقارنة اي استجابة تذكر، اما عن تأثير معاملات التداخل الثنائي بين قوة الاملاح MS وتراكيز الـ IBA فقد حقق الوسط الغذائي المجهز بـ نصف قوة الاملاح عند التراكيز 1 ملغم لتر$^{-1}$ IBA اعلى معدل بلغ 0.95 ملغم، وسجل اقل معدل بلغ 0.02 ملغم في الوسط الغذائي المجهز بقوة املاح كاملة و تركيز 1.5ملغم لتر$^{-1}$ IBA ، في حين لم يسجل الوسط الغذائي الخالي من IBA وعند جميع تراكيز الاملاح اي استجابة تذكر. وكما في الشكل(١٤)

الجدول (٣٣) تأثيرقوة املاح MS وتراكيز IBA والتداخل بينهما في الوزن الجاف لجذور نبات الستيفيا (ملغم) بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي.

MS	تركيز IBA(ملغم لتر$^{-1}$)				متوسط MS
	0	0.5	1	1.5	
1/4	0.00	0.17	0.37	0.24	0.20
1/2	0.00	0.45	0.95	0.83	0.56
1	0.00	0.08	0.07	0.02	0.04
LSD (0.05)	0.04				0.02
متوسط تركيز IBA	0.00	0.23	0.46	0.36	
LSD (0.05)	0.02				

الشكل(١٣) تأثير الاملاح MS بنصف القوه والIBA في تجذير افرع نبات الستيفيا

مما تقدم عرضه من نتائج الجدول (29-33) وجد هناك تفوق معنوي في معدل الصفات المدروسة والتي شملت النسبة المئوية للتجذير ومعدل عدد الجذور وطولها وكذلك معدل الوزن الطري والجاف للمجموع الجذري باختلاف قوة املاح MS المضافة اثناء عملية تحضير الوسط الغذائي لدراسة تأثيرها على نشوء الجذور العرضية، تبين ان اختزال قوة الاملاح الى النصف حققت تفوقا معنويا في معدل الصفات وقد يعزى ذلك الى اختزال مستويات الاملاح للوسط الغذائي تعني اختزال في مستوى النتروجين في الوسط الغذائي

مما يؤدي الى اختزال في مستواه الداخلي في الافرع وهذا في النتيجة مما يؤدي الى زيادة نسبة الكربوهيدرات الى النتروجين(C/N) الذي يحفز تكوين مناشئ الجذور واطوالها وعددها،طول الجذور و يعزى ذلك الى حدوث ظاهرة الانتحاء الغذائي والتنافس على المواد الغذائية د مما يؤدي الى انتشار الجذور لمديات ابعد في الوسط من اجل تعويض النقص الحاصل في كمية العناصر الغذائية مسببا بذلك زيادة في اطوالها (Hartmann واخرون، 2002). اتفقت النتائج مع ما توصل اليه Shylaja (2014) عند تجذير الافرع النسيجية لنبات الجيربرا بزراعتها على وسط MS بكامل التركيز وبنصف التركيز مضاف اليه IBA بتركيز 0.5 ملغم لتر$^{-1}$ ، ادى الوسط الغذائي المجهز بنصفتركيز الاملاح الى زيادة النسبة المئويةللتجذير وكذلك في عدد واطوال الجذور، كما اتفق مع الحياني (2014) ان الوسط الغذائي المجهز بنصف قوة املاحه وتركيز1ملغم لتر$^{-1}$ من الـ IBA حقق اعلى معدل لعدد الافرع واطوالها عند تجذير الافرع الخضرية لنبات الداليا.

كما يستدل مما تقدم عرضه من نتائج جداول التجذير اعلاه بشكل عام هناك تفوق معنوي في معدل الصفات المدروسة ذاتها بزيادة تراكيز الـ IBA المضافة لوسط التجذيرمقارنة بمعاملة المقارنة وقد يعزى السبب الى ان IBA هو احد الاوكسينات المشجعة لانقسام واستطالة الخلايا, ومن ثم تحفيز تكوين الجذور من مناطق القطع وان زيادة تراكيزها تؤدي الى زيادة معدلات عدد الجذور واطوالها وصولا الى التركيز الامثل وان التراكيز العالية التي تفوق التركيز المثالي تؤدي الى تثبيط بادئات الجذور وتقلل عددها (Hartmann واخرون,2002)، وقد ايد ذلك البو غربان و عبد الحسين، (٢٠١٢) ان اضافة الاوكسين قد يؤدي حدوث تغيرات فسيولوجية مما تؤدي الى تحفيز نشوء مبادئ الجذور ثم الى جذور عرضية تخرج من قواعد الافرع، او قد يعود السبب الى التأثير الايجابي للأوكسين في تنشيط الانقسام الخلوي للطبقة المولدة للكامبيوم التي بدورها تزيد من تكوين الجذور وبادئاتها (شلاهي واخرون ،2013).

كما اكدت العديد من الدراسات الدور الاساسي للأوكسين في تجذير الافرع المزروعة خارج الجسم الحي من خلال تأثيره الفسيولوجي في فقدان التمايز للخلايا البرنكيمية المتخصصة و اعادتها الى حالتها المرستيمية بعملية فقدان التمايز Dedifferentiation والتي تنقسم مكونة منشأ للجذوروالذي يستمر بالتطور والنموالى مبادئ الجذور ومن ثم ينمو خارج انسجة الساق مكونا الجذور العرضية (Hartmannواخرون، 2002).

فضلا عن ذلك فقد اشارت بيانات جداول التجذير ايضا ان معاملة المقارنة لم تحقق اي استجابة تذكر، وهذا قد يعزى الى خلو الوسط الغذائي من منظمات النمو التي لها دور في تحفيز وتوسع واستطالة الخلايا ونمو الجذور والافرع العرضية، او ان النمو لا يحصل الا في حال وجود الاوكسين بالتركيز المناسب والذي يشترك مع الهرمونات النباتية الاخرى في التأثير على العمليات الفسيولوجية وخاصة التراكيز المنخفضة

منه، اذ ان التراكيز العالية تسبب سلوك مثبط ومن ثم يعيق تكوين الجذور العرضية (AL-khafaji،2014).

اتفق ذلك مع ما توصل اليه Ali واخرون (2010) في دراسته عن تأثير تراكيز مختلفة من NAAلتجذير الافرع التي نتجت من مرحلة التضاعف لنبات الستيفيا وجد ان التركيز 1.0 ملغم لتر$^{-1}$منه كان الافضل وحقق نسبة تجذير بلغت 96% وعدد جذور7.0 جذر نبات$^{-1}$.كذلك اتفق مع Tiwari واخرون(2013) عند تجذير الافرع الخضرية لنبات الستيفيا ان التركيز ١ ملغم لتر $^{-1}$ حقق اعلى معدل لعدد الجذور بلغ 11.18 جذر نبات$^{-1}$. ومع ما توصل اليه العبيدي (2017) في دراسته عن تاثير الاوكسين بتراكيز مختلفة على تجذير الافرع الخضرية لنبات الستيفيا حيث تفوقت المعاملة ١ ملغم لتر$^{-1}$NAA في تحقيق اعلى نسبة مئوية للتجذير بلغت 90%وعدد جذور بلغ 25.1جذر نبات$^{-1}$.

٤-٣٢: الاقلمة

يقاس نجاح برنامج اكثار اي نبات بواسطة تقانة زراعة الانسجه النباتية بنسبة نجاح اقلمةالنبيتات الناجحة اذ تعكس هذه العملية النتيجة النهائية للبرنامج اذ اخذت النبيتات التي تم تجذيرها تحت ظروف معاملة التداخل بين مكونات الوسط الغذائي المجهز بنصف قوة الاملاح والتركيز 1 ملغم لتر$^{-1}$ IBA بسبب اعطاءه لأعلى نسبة مئوية لتجذير نبات الستيفيا وزراعته على وسط مكون من البتموس والتربة المزيجية بنسبة 1:1 وربما يمثل المزيج وسطا جيدا للانتشار ونمو الجذور وان وجد نسبة من البتموس معه يوفر بعض الاحتياجات الغذائية كما يساعد في احتفاظ هذا الوسط بنسبة الرطوبة الملائمة لدفع النمو .وقد عمل توازن بين المجموع الجذري والخضري بازالة بعض الاوراق القديمه والضعيفة للنبيتات وربما كان للتوازن هذا اهمية في نجاح الاقلمة تحت ظروف المختبر، فالنبات يعتمد على المجموع الجذري في امتصاص الماء والعناصر الغذائية وتقوم الاوراق عندما تكون فعالة بتصنيع المواد الغذائية وامداد المجموع الجذري بها للقيام بالفعاليات الحيوية المطلوبة. ومن الجدير بالذكر استعملت اغطية زجاجية شفافة اثناء عملية الاقلمة رفعت بعد اسبوعين من الزراعه بشكل كامل. ربما يعود التغيير في نسبة الرطوبة المفقوده خلال فترة الاقلمه الى تطور فعالية النظام الثغري وقدرتة على القيام بوظيفتة بشكل تدريجي اضافة الى كفاءة المجموع الجذري وفعاليته في امتصاص الماء وسرعة تعويض الفقد الحاصل نتيجة النتح فضلا عن احتمالية تكوين طبقة الكيوتكل على الاوراق خلال عملية الاقلمة للتقليل من فقد الماء حيث تتصف نباتات الانسجة النامية داخل اوعية الزراعة بعدم وجود طبقة الكيوتكل او انها تكون معدومة كما في الشكل(١٥)

الشكل (١٤) مرحلة االاقلمة

٥- الاستنتاجات والتوصيات

٥-١ : الاستنتاجات

١- ادى التركيز ١٪ من هايبوكلورات الصوديوم الى الحد من نسبة تلوث للقمم النامية والبراعم الجانبية في حين تسببت التراكيز العالية منه في شحوب الاجزاء النباتية.

٢- تفوقت القمة النامية في تحقيق اعلى نسبة استجابة للنشوء مقارنة مع البراعم الجانبية

٣- حققت منظمات النمو النباتية الـ BA و NAA استجابة واضحة في الحصول على مزارع الافرع الخضرية وزيادة محتواها من مركبات التحلية. .

٤- يمكن الاعتماد على الوسط الغذائي MS بنصف قوة املاحه لما حققه من تفوق معنوي في صفات النمو للمجموع الجذري مقارنة مع التراكيز الملحية الاخرى للوسط الغذائي.

٥- امكن زيادة نسبة نجاح الاقلمة الى ٩٠٪ باستعمال اسلوب التقسية في غرفة النمو التي تضمن الانتقال التدريجي الى التغذية الذاتية.

٥-٢: التوصيات

١- توظيف تقانة زراعة الانسجة في اكثار النباتات وزيادة امكانية نجاح اقلمة النبات للعيش في الضروف الخارجية.

٢- توظيف تقانة زراعة الانسجة في زيادة انتاج مركبي التحلية الطبيعية Stevioside و Rebaudioside من خلال تعريضها لظروف الشد او اضافة البادئ البنائي لها الى الوسط الغذائي.

٣- التوعية المجتمعية وتوجيه مصانع الاغذية لغرض الاستفادة من هذا النبات كبديل ناجح طبيعي وصحي وأمن في تحلية المشروبات والمنتجات الغذائية مقارنة مع المحليات المصنعة.

٤- الاهتمام بالدراسات المتعلقة بالفوائد الطبية لأوراق نبات الستيفيا واعتمادها كوصفات علاجية خاصة بالطب البديل.

٥- امكانية استعمال مصابيح الـ LED الابيض والملون في غرف نمو الزروعات لما لها من تأثير معنوي في زيادة نمو مزارع الافرع الخضرية وانتاج مركبات التحلية مقارنة مع مصابيح الفلورسنت الابيض

٦- المصادر

٦-١: المصادر العربية

ابراهيم، انتصار رزاق (٢٠١٧).الاكثار الدقيق وانتاج بعض المركبات الكيميائية لنبات شجرة الحياة *Moringa oleifera Lam* خارج الجسم الحي .اطروحة دكتوراة – كلية الزراعة- جامعة بغداد.

البو غربان، شيماء سلمان و سلم عبد علي عبد الحسين (2012). تأثير ال IAAو NAA في تجذير الافرع الناتجة من زراعة العقد الساقية لاشجار الطرنج *Citrus medica* خارج الجسم الحي. مجلة الفرات الزراعية ،41(5):38-45 .

التميمي، بصائر احسان طه (2014). فصل وتشخيص بعض مركبات التحلية والفعالة من نبات الاستيفيا/ *Stevia rebaudiana* بأ ستخدام طرق مختلفه. رسالة ماجستير ، كلية الزراعة – جامعة البصرة .

التميمي، جميل محمد ياسين علي كهف (2009). تاثير حامض الهيومك ومستخلصات الاعشاب البحرية في النمو والصفات الكيميائية وصفات الزيت لنبات اكليل الجبل *Rosmarinus officinalis*وقائع المؤتمر العلمي السادس ، قسم علوم الحياة ،جامعة تكريت ،ص 6-17.

التميمي، زينب مهدي عبد الحسين (2018). تأثير المجال المغناطيسي منظمات النمو النباتية في اكثار وتركيز الزيوت الطيارة لنبات اكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* خارج الجسم الحي.رسالة ماجستير ، كلية الزراعة-جامعة بغداد.

الحسيني، زينب حامد عبد الرحيم (2021).امكانية زيادة مركبي التحلية ودراسة المؤشرات الجزيئية في نبات الستيفيا *Stevia rebaudiana* Bertony بتوظيف تقانات الزراعة النسيجية والتطفير. اطروحة دكتوراة٠كلية علوم الهندسة الزراعية – جامعة بغداد٠

حمود، علي خلف وبيان حمزة مجيد (2017). تأثير بعض منظمات النمو النباتية في انتاج القلويدات الكلية لنبات الاشواجندا *Withania somnifera* خارج الجسم الحي. مجلة العلوم الزراعية العراقية، مجلد 3 .عدد48.ص690-700.

الحميداوي، حوراء كاظم عنيد (2016).تأثير الطيف الضوئي وبعض منظمات النمو في الاكثار الدقيق للجيربرا *Gerbera jamesonii* Bolus خارج الجسمك الحي. رسالة ماجستير، كلية الزراعة- جامعة بغداد.

الحميري، مي عبد الله رزوقي (2010). تأثير BA و 2.4-D والسكروز على نشوء الكالس الناتج من نسيج الجويزاء لبذور البرتقال ، رسالة ماجستير ، الكلية التقنية – المسيب ، هيئة التعليم التقني.

الحياني، ساره علي محمد عبد (2014). استجابة نبات الداليا *Dahlia variabilis* L. صنف Arizona للنمو والاكثار في ظروف الحقل وخارج الجسم الحي.رسالة ماجستير، كلية الزراعة – جامعة ديالى.

الخفاجي، مكي علوان (2014). منظمات النمو النباتية، تطبيقاتها وأستعمالاتها البستنية. الدار الجامعية للطباعة والنشر والترجمة. جامعة بغداد. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. العراق.

خير الله، حسام سعد الدين محمد والعبيدي، علا موجد عبد الزهرة (2017).دور بعض منظات النمو في تضاعف افرع نبات Stevia خارج الجسم الحي. وحدة ابحاث النخيل والتمور.مجلة العلوم الزراعية العراقية-1158-1168(5)2017/48٠

خيري، اسراء رفعت وعقيل عبد الكريم و تبارك محمود (2018).تأثير بعض منظمات النمو النباتية في نشوء وتضاعف نبات الستيفيا *Stevia rebaudiana* خارج الجسم الحي

الساهوكي , مدحت ووهيب , كريمه احمد (1990) . تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي/جمهورية العراق .

شكري , وفاء محمد و المعيقل , ريم محمد (2013). زراعة الخلايا والأنسجة النباتية . مكتبة المتنبي . الدمام – المملكة العربية السعودية .

شلاهي، ستار عبد الله وضحى ميسر مجيد وصلاح محمد حسن (2013). اكثار نبات الجيربرا يأستخدام تقنية زراعة الانسجة النباتية(*Gerbera jamesonii* Bolus) خارج الجسم الحي. مجلة يحوث التقنيات الاحيائية،1(7):50-58.ن السوريين.

القرعاوي، نبيل (2009).موسوعة النباتات الطبية المصورة الطبعة الاولى .اتحاد النشري

طاهر، محمد صباح (2017). تأثير حامض التربتوفان والسماد الالنتروجيني في نمو وانتاج نبات الجرجير ومحتوى الاوراق من بعض المركبات الفينولية. اطروحة دكتوراة. كلية الزراعة-جامعة بغداد.

عبد الحسين، مسلم عبد علي و عقيل كريم حسين الطفيلي و سهام عبد الرزاق الجبوري (2010). تاثير منظمات النمو والوسط الغذائي في الاكثار الدقيق لمتسلق الجهنمية *Bougainvillea glabra* ، مجلة الكوفة للعلوم الزراعية ، المجلد2(1):100-180.

عبد القادر، زينه محمد (2018). تأثير موعد الزراعة وبعض المغذيات والحفزات الاحيائية في النمو والمحتوى الكيميائي لنبات ورق السكر Bertoni *Stevia rebaudiana*.اطروحة دكتوراء،كلية علوم الهندسة الزراعية - جامعة بغداد.

عبد الكريم، عقيل و تبارك محمود (2018).تأثير بعض منظمات النمو النباتية في نشوء وتضاعف نبات الستيفيا *Stevia rebaudiana* خارج الجسم الحي٠قسم البستنة وهندسة الحدائق٠كلية علوم الهندسة الزراعية-جامعة بغداد.

العبيدي، علا موجد عبد الزهرة (2017). اكثار نبات ورق السكر Bertony *Stevia rebaudiana* خارج الجسم الحي، رسالة ماجستير، كلية الزراعة – جامعة بغداد.

العبيدي، مبساء حامد احمد. (2014). تاثير بعض المحفزات في انتاج بعض المركبات الثانوية لنبات الترنجان .L *Melissa officinallis* خارج الجسم الحي ، رسالة ماجستير – جامعة بغداد- العراق.

العرادي، حليمة جبار عبد الرزاق و انسام مهدي صالح وخيون علي محسن و جهاد مكي مجيد الزوان (2017). اكثار نبات بربين الماء .L *Bacopa monnieri* خارج الجسم الحي،المجلة العراقية للاستزراع المائي، مجلد 14(1):1-12.

محمد ، مروه حازم (2019). استجابة نبات الشليك DUCH *Fragaria ananassa* لنوعية الضوء وبعض محفزات النمو خارج الجسم الحي.رسالة ماجستير، كلية الزراعة – جامعة الكوفة.

محمد، عبد الطلب سيد و عمر ، مبشر صالح (١٩٩٠).المفاهيم الرئيسية في زراعة الخلايا والانسجه والاعضاء للنبات نجامهة المزصل – وزارة التعليم العالي والبحث العلمي- العراق.

المختار، سراب عبد الهادي (2015) . إكثار وإنتاج المركبات الكلايكوسيدية القلبية من نبات الديجتالس الصوفي *DigtialisLanata* خارج الجسم الحي . أطروحة دكتوراه - كلية الزراعة - جامعة بغداد .

المختار، سراب عبد الهادي محمد (2008).دراسة انتاج بعض القلويدات المورفينية من نبات الخشخاش .L *Papaver somniferum* خارج الجسم الحيرسالة ماجستير- كلية الزراعة-جامعة بغداد.

الموسوي، زينب جار الله نعمة.(2017).تاثير بعض العوامل الفيزيائيةوالكيميائية في انتاج المواد الثانوية من نبات .L *Tanacetum purthenium* المزروع حقليا ومختبريا. اطروحة دكتوراه- كلية الزراعة- جامعة بغداد.

الناجي, سالي بدويز (2012). تأثيرات مستخلصات ورق الزيتون والكالس على بعض معايير الكيمياء الحيوية والمناعية في الفئران المصابة بالسكري المحدث تجريبيا بواسطة لالوسكان. رسالة ماجستير, كلية العلوم, جامعة النهرين. العراق.

٦-٢: المصادر الاجنبيه

Abdul Razak, U. N. A.A., Ong, C. B., Yu, T. S., Lau, L.K. (2014). In vitro Micropropagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni in Malaysia. Brazilia Archives of Biologyand Technology. 57(1): 23-28.

Abou-Arab, A. E., Abou-Arab, A. A., and Abu-Salem, M. F. (2010). Physico-chemical assessment of natural sweeteners steviosides produced from Stevia rebaudiana Bertoni plant. African Journal of Food Science, 4(5), 269-281.

Abudula, R., Matchkov, V. V., Jeppesen, P. B., Nilsson, H., Aalkjaer, C., & Hermansen, K. (2008). Rebaudioside A directly stimulates insulin secretion from pancreatic beta cells: a glucose-dependent action via inhibition of ATP-sensitive K+-channels. Diabetes, Obesity and Metabolism, 10(11), 1074-1085**.**

Ahmed, M. B., Salahin, M., Karim, R., Razvy, M. A., Hannan, M. MSultana, R., ... & Islam, R. (2007). An efficient method for in vitro clonal propagation of a newly introduced sweetener plant (*Stevia rebaudiana* Bertoni.) in Bangladesh. American-Eurasian Journal of Scientific Research, 2(2), 121-125.

Ali, A; I. Gull; SH. Naz; and SH. Afghan. 2010. Biochemical Investigation During Different stages of in vitro propagation of *Stevia rebaudiana*. Pak. J. Bot.42(4):2827-2837.

Aliyu, O. M. (2005). Application of tissue culture to cashew (*Anacardium occidentale* L.) breeding: An appraisal. African Journal of Biotechnology, 4(13).

Al-Khafaji, M. A. (2014). Plant Growth Regulators, Application and Utilizations in Horticulture. Bookstore for Printing, Publishing and Translating, University of Baghdad. p: 132-138.

Almukhtar, S. A. (2022). The effect of gamma ray and sugars on increasing the concentration of cardiac glycoside compounds of Digitalis lanata In vitro. Journal of Kerbala for Agricultural Sciences, 9(2), 116-127

Altaf, N., Khan, A. R., Ali, L., & Bhatti, I. A. (2009). Tissue culture of gerbera. Pak. J. Bot, 41(1), 7-10.

Álvarez-Robles, M. J., López-Orenes, A., Ferrer, M. A., and Calderón, A. A. (2016). Methanol elicits the accumulation of bioactive steviol glycosides and phenolics in *Stevia rebaudiana* shoot cultures. Industrial Crops and Products, 87, 273-279.

Aphalo, P. J. 2006 . light signals and the growth and development of plants-a gentle introduction. The plant photobiolo., 1, 39.

Ceunen, S., Werbrouck, S., & Geuns, J. M. (2012). Stimulation of steviol glycoside accumulation in Stevia rebaudiana by red LED light. Journal of plant physiology, 169(7), 749-752**.**

Chand, S. and A.K.Singhl.(2004). In vitro shoot regeneration from cotyledonary node explants of a multipurpose leguminous tree, Pterocarpus marsupium Roxb. In vitro Cell Dev Biol- Plant, 40:167- 170

Clemente, E.S.; S.G.Nebauer; J.Segura; W. Kreis and I.Arrillaga.(2011). Digitalis, chapter 5, pp:73- 112.In C.Kde(ed.) Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources, Plantation and Ornamental Crops. Springer- Verlag Berlin Heidelberg.

Clemente, E.S.; S.G.Nebauer; J.Segura; W. Kreis and I.Arrillaga.(2011). Digitalis, chapter 5, pp:73- 112.In C.Kde(ed.) Wild Crop Relatives: Genomic

and Breeding Resources, Plantation and Ornamental Crops. Springer- Verlag Berlin Heidelberg.

Crammer, B., and Ikan, R. (1987). Progress in the chemistry and properties of rebaudiosides. Developments in sweeteners estimation of the concentrations of chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoids in soybean leaves. Remote sensing of environment, 39(3), 239-247.

Dąbrowski, P., Cetner, M. D., Samborska, I. A., & Kalaji, M. H. (2015). Measuring light spectrum as a main indicator of artificial sources quality. J Coast Life Med, 3, 400-40.

Davies, P. J. (Ed.). (2004). Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action!. Springer Science & Business Media.

Davies, P. J. (2010). The plant hormones: their nature, occurrence, and functions. In Plant hormones (pp. 1-15). Springer, Dordrecht.

Devlin, R.M. and F.H. Witham. (1998). Plant physiology. Forth ed.Wadsworth publishing Company Belmont California.

DeVries, D. P., Dubois, L. A. M., Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davies Jr, F. T., & Geneve, R. L. (2003). Postemergence Oxalis Control in Container-grown Oxalis Nursery Crops1©. InCombined Proceedings International Plant Propagators' Society(Vol. 53, p. 284.

Escutia-López, K., Sánchez-Pardo, M., & Mora-Escobedo, R. (2019). A comprehensive review on the nutritional and therapeutical aspects of Stevia rebaudiana Bertoni. J Appl Biotechnol Bioeng.

Evans, W. C. (2009). Trease and Evans' pharmacognosy. Elsevier Health Sciences.,

Fan, X. X., Xu, Z. G., Liu, X. Y., Tang, C. M., Wang, L. W., & Han, X. L. (2013). Effects of light intensity on the growth and leaf development of young

tomato plants grown under a combination of red and blue light. Scientia horticulturae, 153, 50-55.

Flaih, H. H. (2013). The effect of alkaloids and glycosides extracted from Shangina aegyptiaca on growth of Lashmania major promastigote. The Iraqi Journal of Veterinary Medicine, 37(1).

Gardana, C., Scaglianti, M., and Simonetti, P. (2010). Evaluation of steviol and its glycosides in *Stevia rebaudiana* leaves and commercial sweetener by ultra-high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. Journal of chromatography A, 1217(9), 1463-1470.

George , E. F., Hall, M. A. and Klerk, G. D. (2008). Plant propagation by tissueculture 3rd edition. Published by spring. pp:1- 479.

Gerami, M., Abbaspour, H., Ghasemi Omran, V. A., Pirdashti, H. A., & Majidian, P. (2017). Effect of Chemical Mutagen on Some Biochemical Properties of *Stevia rebaudiana* Bertoni.Journal of Genetic Resources, 3(1), 26-35.

Ghaheri, M., Miraghaee, S., Babaei, A., Mohammadi, B., Kahrizi, D., Haghighi, Z. M. S., and Bahrami, G. (2018). Effect of *Stevia rebaudiana* Bertoni extract on sexual dysfunction in Streptozotocin-induced diabetic male rats. Cellular and Molecular Biology, 64(2), 6-10.

Ghanem, S. A., Aboul-Enein, A. M., El-Sawy, A., Rady, M. R., & Ibrahem, M. M. (2010). In vitro propagation and cardiac glycosides content of Digitalis lanata. Int J Acad Res, 2(6), 349-356.

Ghorbani, T., Kahrizi, D., Saeidi, M., & Arji, I. (2017). Effect of sucrose concentrations on *Stevia rebaudiana* Bertoni tissue culture and gene expression. Cellular and Molecular Biology,63(8), 33-37.

Goodwin, T. W. (1976). Chemistry and biochemistry of plant pigments.

Goyal, S. K., Samsher, N., & Goyal, R. K. (2010). Stevia (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: a review. International journal of food sciences and nutrition**.**

Gupta, E., Purwar, S., Sundaram, S., & Rai, G. K. (2013). Nutritional and therapeutic values of Stevia rebaudiana: A review. Journal of Medicinal Plants Research, .

Gurel, E.; B. Yucesan; E. Aglic; S. K. Verma and M. Sokmen. (2011). Regeneration and cardiotonic glycoside production in Digitalis davisiana Heywood (Alanya foxglove) . Plant Cell, Tiss. and Org. Culture. 104 217-225.

Handa, A. K., Bressan, R. A., Handa, S., & Hasegawa, P. M. (1982). Characteristics of cultured tomato cells after prolonged exposure to medium containing polyethylene glycol. Plant. Physiology, 69(2), 514-52.

Hassanen, S. A and R. M. A. Khalil. 2013. Biotechnological Studies for Improving of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) in vitro plantlets. Middle-

East Journal of Scientific Research 14(1):93-106.

Hartmann, H. T.; D. E. Kester ; F. T. Davies and R. L. Geneve .(2002). Plant. Propagation Principles and Practices . 7th. ed. Perntice Hall. Inc . New Jersey. USA.

Hayat, S. and A. Ahmed. (2007). Salicylic acid: A plan hormone. Published inSpringer: 401.

Hurum, D. and J. Rohrer. 2011. Steviol Glycoside Determination by HPLCwith Charged Aerosol and UV Detections Using the Acclaim Trinity P1 Column., Thermo Fisher Scientific Application Note 293., Sunnyvale, CA .SUSA.

Idrees, M., Sania, B., Hafsa, B., Kumari, S., Khan, H., Fazal, H., ... & Ahmad, N. (2018). Spectral lights trigger biomass accumulation and production of antioxidant secondary metabolites in adventitious root cultures of *Stevia rebaudiana* (Bert.). Comptes rendus biologies, 341.

Imtiaz, M.; Khattak, A.M.; Iqbal, N.; Ara, A. and Rahman, H.U. (2014).

Jitendra, G.P.; M.L.Ahire; S.Panda and V.P.Bhatt.(2013). In vitro propagation and production of cardiotonic glycosides in shoot cultures of *Digitalis purpurea* by elicitation and precursor feeding. Appl Microbio Biotechnol, 97: 2379- 2393.

John,S.S.; K. B. Garry and E. Morgan. 2003. Acclimatization of tissue culture plants: Reducing the shock. Combined proceedings International plant propagators society, 53:86-90.

Joslyn, M. A. (1970). Physical, chemical, and instrumental methods of analysis. Methods in Food Analysis

Kadhim, S. H., & Almukhtar, S. A. (2023, April). Effect of Explants Type and Plant Growth Regulators on the Stimulation and Multiplication of Vegetative Branches of Trigonella foenum-graecum L. in Vitro. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 1158, No. 4, p. 042031). IOP Publishing

Karuppusamy, S.(2009). A review on trends in production of secondary metabolites from higher plants by in vitro tissue, organ and cell culture. Jornal of Medicinal Plants Research, Vol. 3(13), PP:1222- 1239.

Kozak , D. 2011. The influence of light quality and BA on in vitro growt and development of Gerbera jamesonii Ellis. Acta Sci. Pol.Hor. Cul. 10(4) :65-73.

Laribi, B., Rouatbi, N., Kouki, K., & Bettaieb, T. (2012). In vitro propagation of Stevia rebaudiana (Bert.)-A non caloric sweetener and antidiabetic medicinal plant. International Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 2(2), 333-339.

Laurain-Mattar, D. 2008. Production of alkaloids in plant cell and tissue cultures. In Bioactive Molecules and Medicinal Plants (pp.165-174). Springer Berlin Heidelberg.

Lemus-Mondaca, R., Vega-Gálvez, A., Zura-Bravo, L., and Ah-Hen, K. (2012). *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. Food chemistry, 132(3), 1121-1132.

Li, X. Y., Lu, W. M., Shen, W. F., Wu, Y., Liu, Y. P., Tuo, Y., & Liu, Y. L. (2017). Growth inhibitory effect of stevioside on ovarian cancer through Akt/ERK pathway. Biomedical Research,28(4), 1820-1827.

Lila, M. A. (2005). Valuable secondary products from in vitro culture. P: 285-289. Plant Development and Biotechnology, Eds. Trigiano, RN and Gray D. CRC Pres, London, New York, Washigton.

López-Carbón, V., Sayago, A., González-Domínguez, R., and Fernández-Recamales, Á. (2019). Simple and efficient green extraction of steviol glycosides from *Stevia rebaudiana* leaves. Foods, 8(9), 402.

Macedo , A. F.; M. V. Leal-Costa ; E. S. Tavares , C. L. S. Lage and

M.A. Esquibel . 2011. The effect of light quality on leaf production and development of in vitro - cultured plants of *Alternanthera brasiliana* kuntze . Environ. Exp. Bot. 70 : 43-50.

Maiti, R. K., & Purohit, S. S. (2008). Stevia: A miracle plant for human health. Agrobios.

Martono, Y., Rohman, A., Riyanto, S., & Martono, S. (2018), AprilAnalysis study of stevioside and rebaudioside a from stevia rebaudiana bertoni by normal phase SPE and RP-HPLC. In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering(Vol. 349, No. 1, p. 012071). IOP Publishing.Medicine, 28 (10): 921 –923.

Massa,G.D.,Kim H.-H., Wheeler R. M., Mitchell C. A. .(2008). Plantproductivity in response to LED Lighting. HortScience, 43(7): 1 951–1 956.

Mehaboob, V. M., Faizal, K., Shamsudheen, K. M., Raja, P., Thiagu, G., & Shajahan, A. (2019). Direct organogenesis and microrhizome production in ginger (*Zingiber officinale* Rosc.).Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 8(3), 2880-2883.

Mishra, P., Singh, R., Kumar, U., & Prakash, Y. V. (2010). Stevia rebaudiana–A magical sweetener. Global Journal of Biotecnology & Biochemistry, 5(1), 62-74.

Miyazaki, Y. and H. Wantenabe. 1974. Studies on the cultivation of Stevia;
on the propagation of plant. Japanese Journal of Tropical Agriculture,
SSSS 17:154-157.

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

Nalawade,S.and H.S. Tsay.(2004). In vitro Propagation of some important Chinese Medicinal Plants and their sustainable usage, In vitro Cellular and Development Biology – Plant, Volum 40, Number 2, PP. 143- 154 (12) .

Noordin, N; R. Ibrahim; N. H. Sajahan; S. M. M. Nahar; S. H. M. Nahar and N. R. Abdul Rashid. 2012. Micropropagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni through temporary Immersion Bioreactor System. Azlina @ nuclearmalavsia.gov.mv.

Park, S. U., Uddin, R., Xu, H., Kim, Y. K., & Lee, S. Y. (2008). Biotechnological applications for rosmarinic acid production in plant. African Journal of Biotechnology, 7(25).

Perez-Alonso, N. ; A. Capote-Perez ; E. Jime´nez ; D. Wilken ; A. Gerth ; A. Jahn; H. M. Nitzsche and G. Kerns (2009). Cardiotonic glycosides from biomass of Digitalis purpurea L. cultured in temporary immersion systems. Plant Cell Tissue. Organ Culture. 99:151–156.

Pistelli, L., Noccioli, C., D'Angiolillo, F., & Pistelli, L. (2013). Composition of volatile in micropropagated and field grown aromatic plants from Tuscany Islands. Acta Biochimica Polonica, 60(1).

Phebe, D., Rashid, M. A., & Hassan, S. A. (2021). Effects of light sources and drying methods on plant growth and steviol glycoside content of Stevia rebaudiana Bertoni Plant Sci., 24(1):229-233.

Prakash, I., Markosyan, A., and Bunders, C. (2014). Development of next generation stevia sweetener: Rebaudioside M. Foods, 3(1), 162-175.

Ramawat, K. G. (2004). Plant Biotechnology Printed in India ,pp:1-265.

Ranjan, R., Jaiswal, J., & Jena, J. (2011). Stevia as a natural sweetener. International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry.

Raj, S., & Saudagar, P. (2019). Plant cell culture as alternatives to produce secondary metabolites. In Natural bio-active compounds (pp. 265-286). Springer, Singapore.

Rasool, R.; Ganai B. A.;Kamili ; A.N. Akbar; S,Masood A. (2013). Artemisia amygdalina(Asteraceae), a critically endangered plant of Kashmir.pak.J. Bot.;45(2):629-634.

Razak, U. N. A. A., Ong, C. B., Yu, T. S., & Lau, L. K. (2014). In vitro micropropagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni in Malaysia. Brazilian Archives of Biology and Technology, 57, 23-28.

Roychoudhry, S., & Kepinski, S. (2022). Auxin in root development. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 14(4), a039933.

Schmülling, T. (2004) CytokininsIn Encyclopedia of BiologicalChemistry. Academic Press/Elsevier Science.

Ssiatkowska, K., Chraniuk, M., Bollin, P., & Banasiuk, R. (2021). Light emitting diodes optimisation for secondary metabolites production by Droseraceae plants. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 224, 112308.

Singh, M., Saharan, V., Dayma, J., Rajpurohit, D., Sen, Y., & Sharma, A. (2017). In vitro propagation of *Stevia rebaudiana* (Bertoni): An overview. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 6(7), 1010-1022.

Singh, P., Singh, M., & Singh, S. K. (2013). Analysis & Trouble Shooting of the Contamination, Arised in North Indian Zones during Plant tissue culture. International Journal of Scientific and Research Publications**.**

Singh, S. D., & Rao, G. P. (2005). Stevia: The herbal sugar of 21st century. Sugar tech, 7(1), 17-24.

Son, N.V. ; A.N. Mokashi; R.V. Hegde; V.S. Patil , and S. Lingaraju.

2011 . Response of Gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus)varieties to micropropagation . Karnataka J. Agric. Sci.24(3)
: 354-357.

Sujata, M.(2013). Conservation of Biodiversity Through Tissue Culture, Research and Reviews: Jornal of Microbiology and Biotechnology, Volum 2, Issue 3.

Soufi, S., Aabaoui, S., Jelleli, S., Salah, R., and Bettaieb, T. (2019). High Photochemical Efficiency and Nutrient Homeostasis in Stevia (Stevia rebaudiana) plant leaf increases tolerance to saline irrigation water. International Journal of Agricultural and Biology, 22, 1059-1064.

Taiz , L. and E. Zeiger. (2006). Plant Physiology 4th. Sinauer Assciates , Inc. Publishers . Sunderland.

Taiz, L., & Zeiger, E. (2010). Plant Physiology. 5th edn Sinauer Associates Inc.

Tavarini, S., and Angelini, L. G. (2013). Stevia rebaudiana Bertoni as a source of bioactive compounds: the effect of harvest time, experimental site and crop age on steviol glycoside content and antioxidant properties. Journal of the Science of Food and Agriculture, 93(9), 2121-2129.

Tiwari, S; R. Arnold; A. Saxena; R. M. Mishra; A. S. Tiwari; A. Rajak; and p. Singh. 2013. Studies on rapid Micropropagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni. A natural Sweetener. International Journal of Pharmacy & Life Sciences. 4(5): 0976-7126.

Tripathi, M. K., Mishra, N., Tiwari, S., Shyam, C., Singh, S., & Ahuja, A. (2019). Plant tissue culture technology: Sustainable option for mining high value pharmaceutical compounds. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 8(02), 1002-1010.

Ummi Nur Ain.:A.Chong Boom ong.:T.Sing Yu and L.Kiaw Lau.(2014). In vitro micropropagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni in Malaysia.vol 57.n.1;pp 23-28.

Vanisree, M., Lee, C. Y., Lo, S. F., Nalawade, S. M., Lin, C. Y., & Tsay, H. S. (2004). Studies on the production of some important secondary metabolites from medicin al plants by plant tissue cultures. Bot. Bull. Acad. Sin, 45(1), 1-22.

Verpoorte, R., Contin, A., & Memelink, J. (2002). Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. Phytochemistry reviews, 1(1), 13-25.

Walter, J. M., & Soliah, L. (2010). Objective measures of baked products made with Stevia. Journal of the American Dietetic Association, 9(110), A54.

Whitelam, G. and K. Halliday .(2007). Light and plant development.

Wilczek.Plant. Cell. Tissue Organ. Culture, 72: 203-207.

Williams, M. E. (2010). Introduction to phytohormones. The Plant Cell.

Williams,M.E. (2011). Introduction to phytohormones . Doi / 10 . 1105 / tpc.110. Tt 0310.

Yao, Z. Z**. (2003).** Effect of factors on callus biomass and synthetic mass of hypericin in *Hypericum perforataum* L. National library of.

Yadav, A. K., Singh, S., Dhyani, D., and Ahuja, P. S. (2011). A review on the improvement of stevia [***Stevia rebaudiana*** (Bertoni)]. Canadian Journal of Plant Science, 91(1), 1-27.

Yoneda, Y., Shimizu, H., Nakashima, H., Miyasaka, J., and Ohdoi, K. (2018). Effect of treatment with gibberellin, gibberellin biosynthesis inhibitor, and auxin on steviol glycoside content in ***Stevia rebaudiana*** Bertoni .Sugar Tech, 20, 482-491.

Yuajit, C., Homvisasevongsa, S., Chatsudthipong, L., Soodvilai, S., Muanprasat, C., & Chatsudthipong, V. (2013). Steviol reduces MDCK Cyst

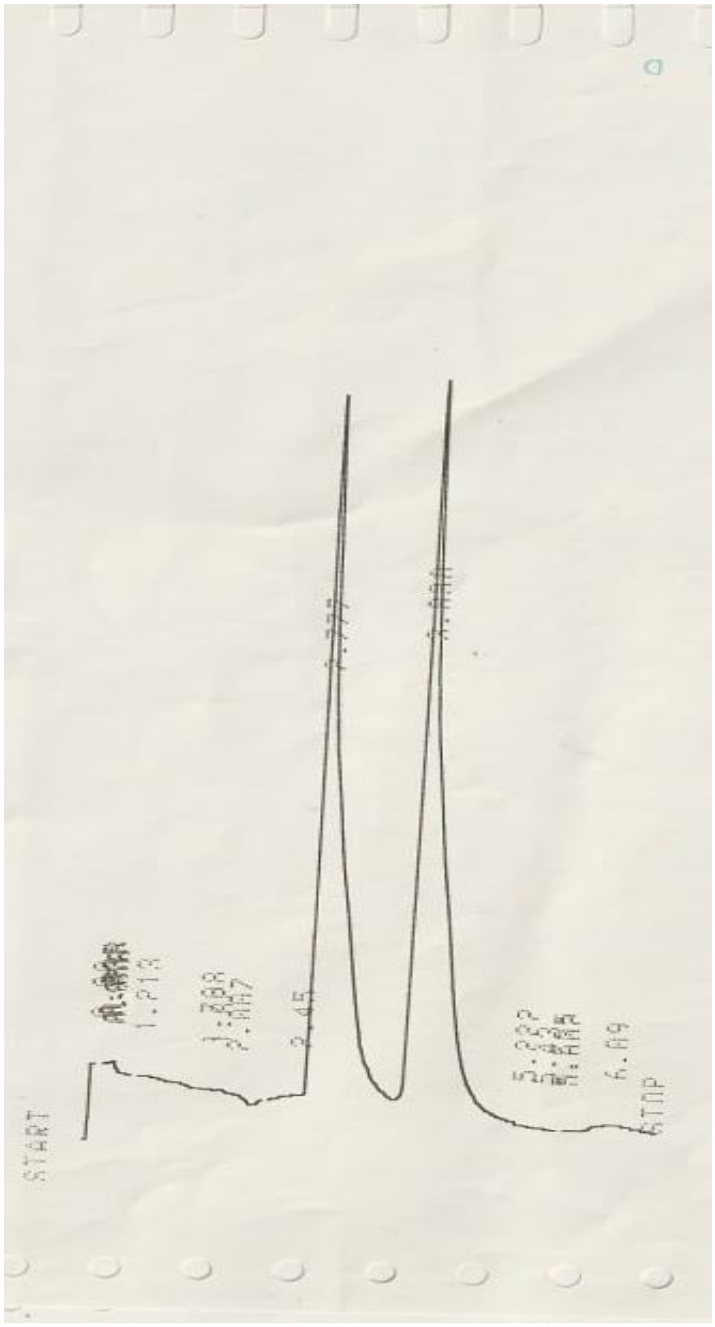
formation and growth by inhibiting CFTR channel activity and promoting proteasome-mediated CFTR degradation. PLoS One, 8(3), e58871.

Zielińska, S., & Matkowski, A. (2014). Phytochemistry and bioactivity of aromatic and medicinal plants from the genus Agastache (Lamiaceae). Phytochemistry Reviews, 13(2), 391-416.

Zhang, Q., Yang, H., Li, Y., Liu, H., and Jia, X. (2017). Toxicological evaluation of ethanolic extract from **Stevia rebaudiana** Bertoni leaves: Genotoxicity and subchronic oral toxicity. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 86, 253-259.

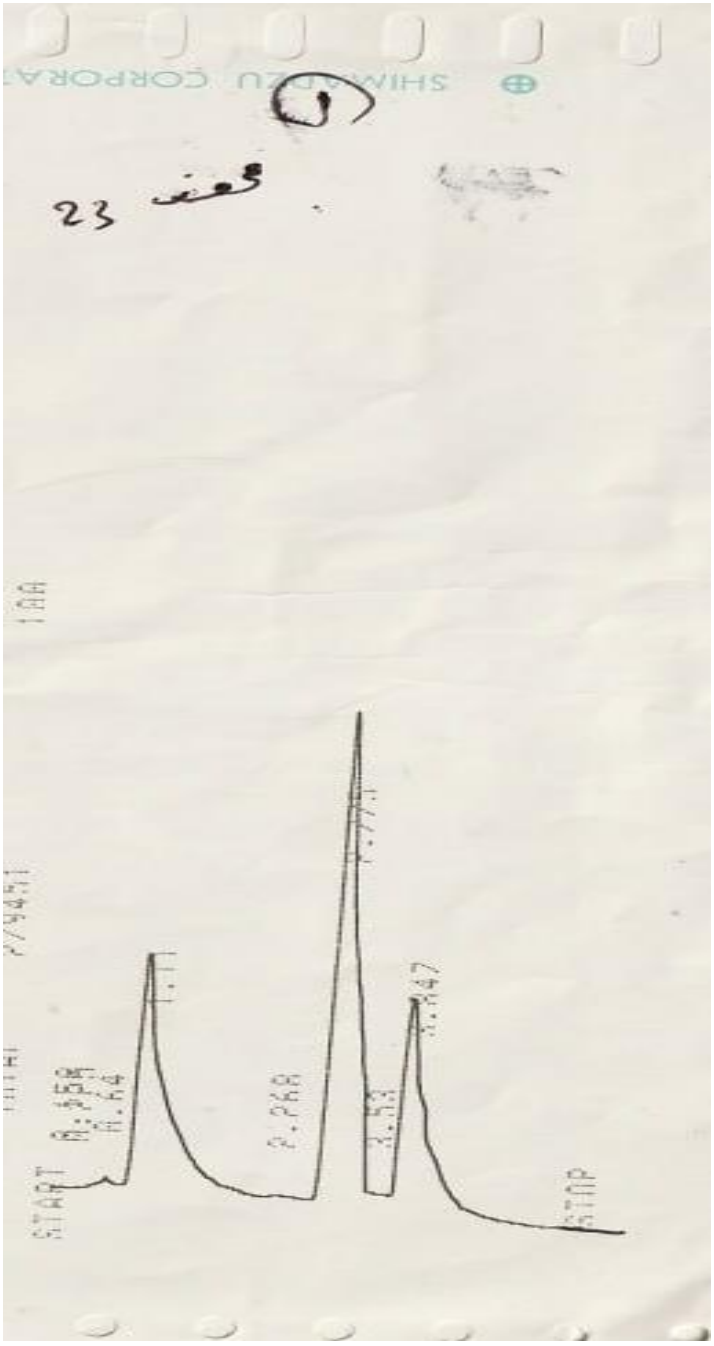
Zhou, L. G. and J.Y. Wu. (2006). Development and Application of Herbal Medicine in China. Nat. Prod. Rep. 23. 789-810.

٧- الملاحق



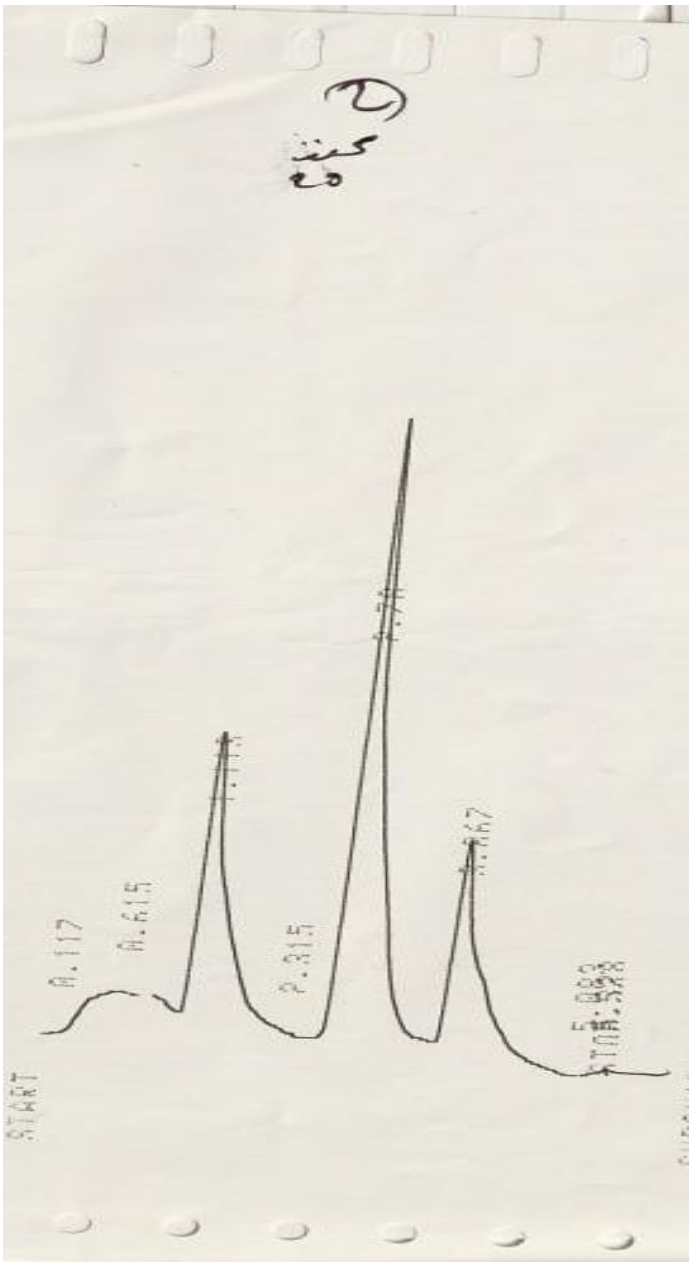
Seq	Compound	Retention time
١	Stevioside	٢,٧٧٧
٢	Rebaudioside A	٣,٨٣٨

ملحق (1) المحاليل القياسية للكلايكوسيد Stevioside و Rebaudioside A



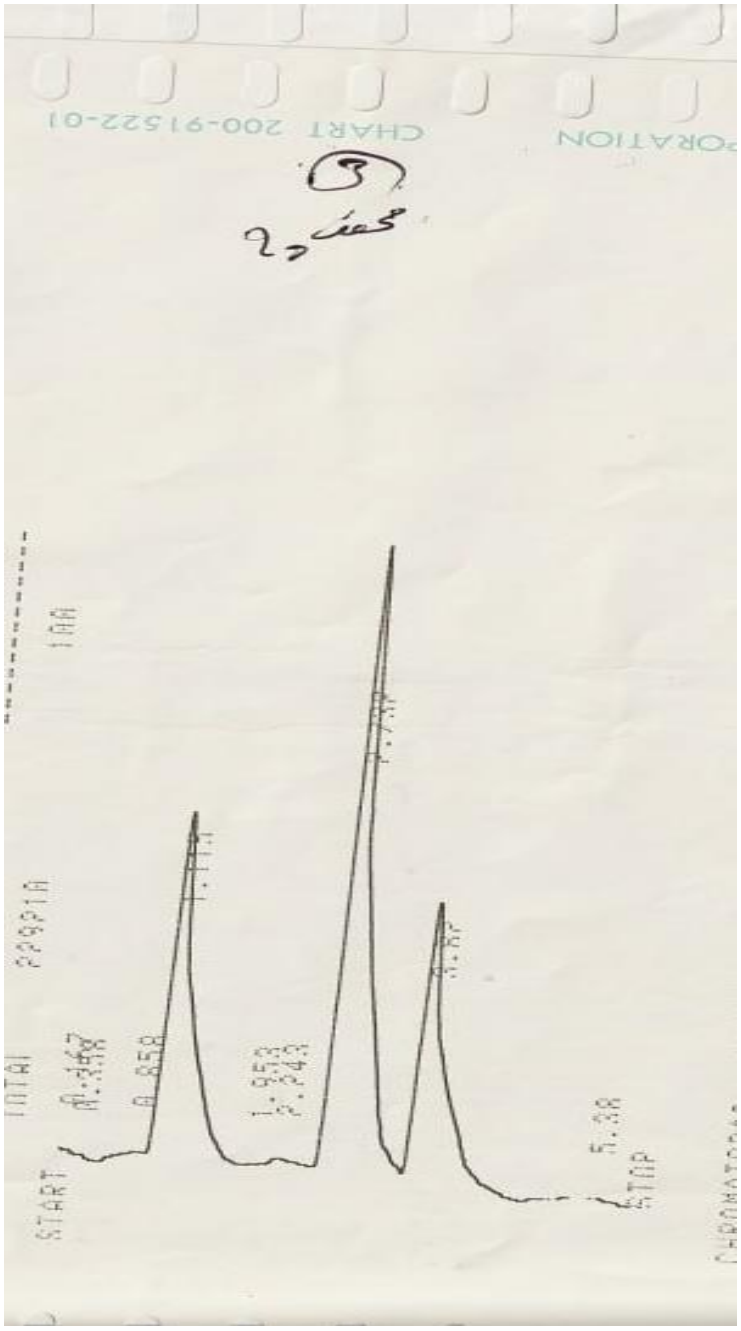
Seq	Compound	Retention time
١	Stevioside	٢,٧٧٧
٢	Rebaudioside A	٣,٨٣٨

ملحق (٢) تاثير BA بتركيز0 ملغم لتر$^{-١}$ وNAA بتركيز0.1 ملغم لتر$^{-١}$ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS



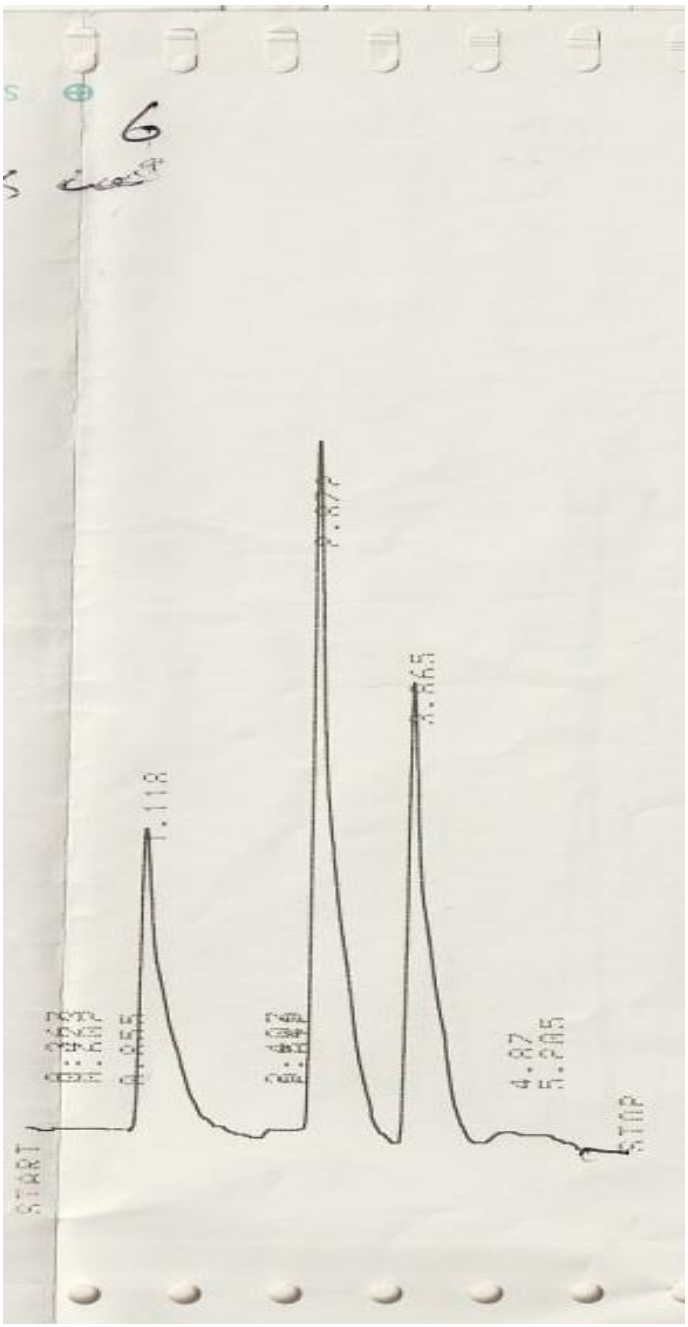
Seq	Compound	Retention time
١	Stevioside	٢,٧٧٧
٢	Rebaudioside A	٣,٨٣٨

ملحق (٣) تاثير BA بتركيز1 ملغم لتر$^{-١}$ وNAA بتركيز 0.3 ملغم لتر$^{-١}$ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS



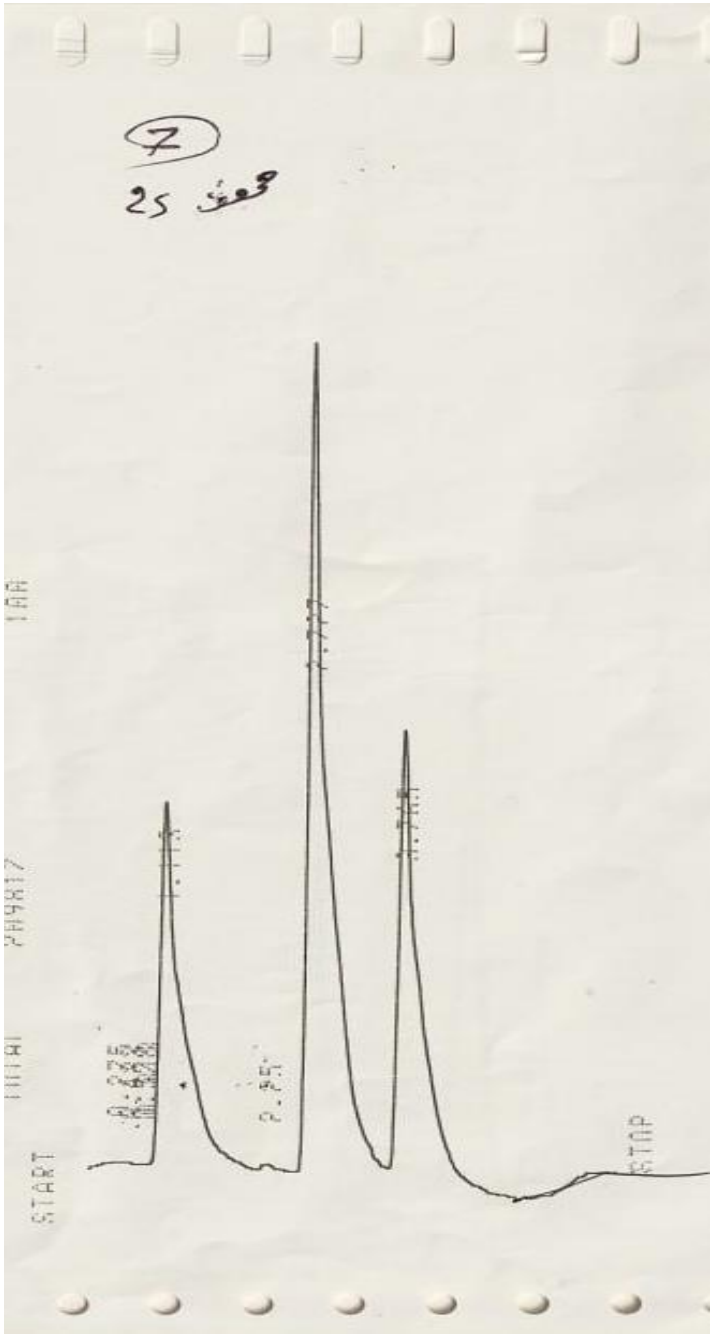
Seq	Compound	Retention time
١	Stevioside	٢,٧٧٧
٢	Rebaudioside A	٣,٨٣٨

ملحق (٤) تاثير BA بتركيز1 ملغم لتر$^{-١}$ وNAA بتركيز 0.4 ملغم لتر$^{-١}$ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS



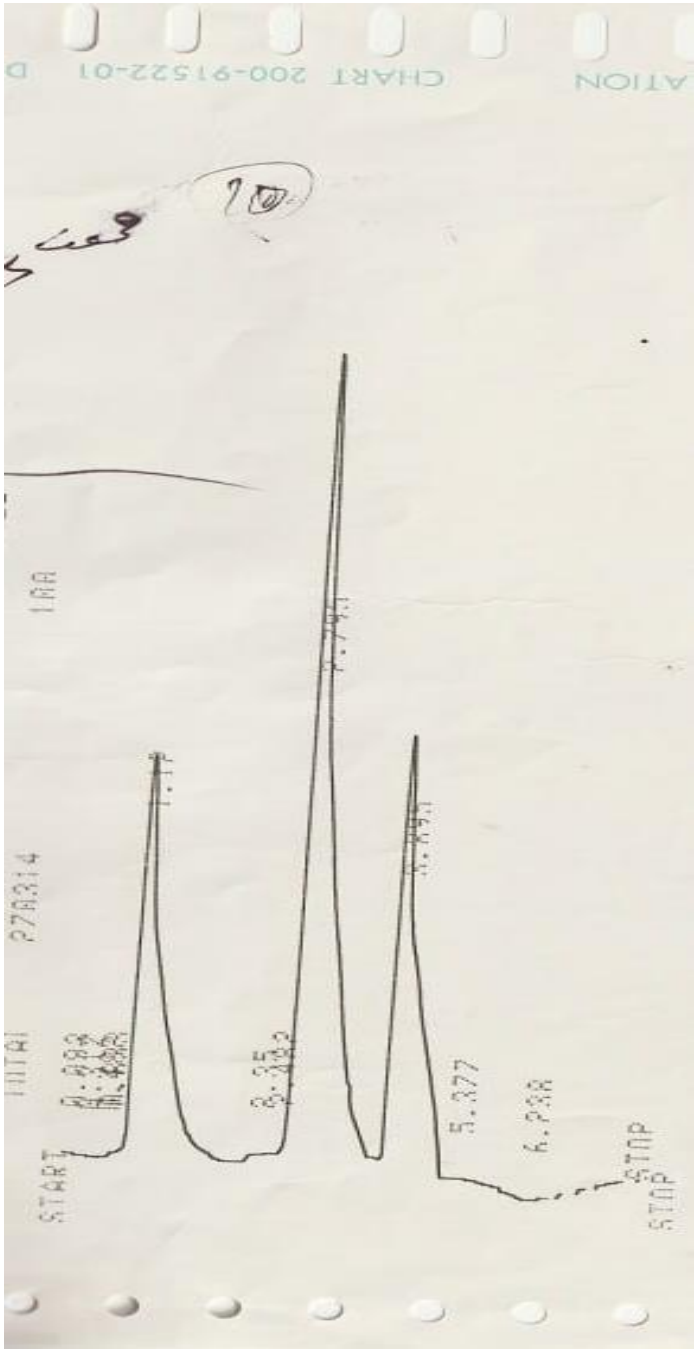
Seq	Compound	Retention time
١	Stevioside	٢,٧٧٧
٢	Rebaudioside A	٣,٨٣٨

ملحق (5) تاثير BA بتركيز2 ملغم لتر-١ وNAA بتركيز 0.3 ملغم لتر-١ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS



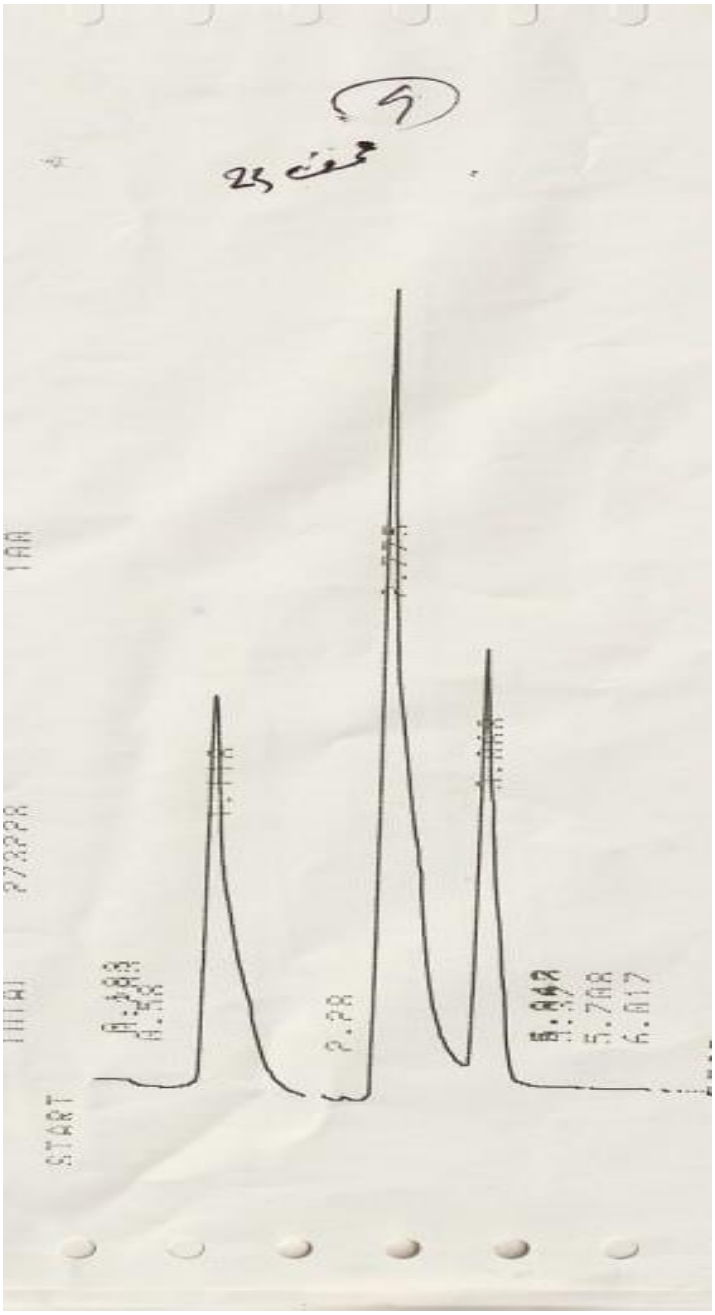
Seq	Compound	Retention time
١	Stevioside	٢,٧٧٧
٢	Rebaudioside A	٣,٨٣٨

ملحق (6) تاثير BA بتركيز2 ملغم لتر$^{-1}$ وNAA بتركيز 0.4 ملغم لتر$^{-1}$ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS



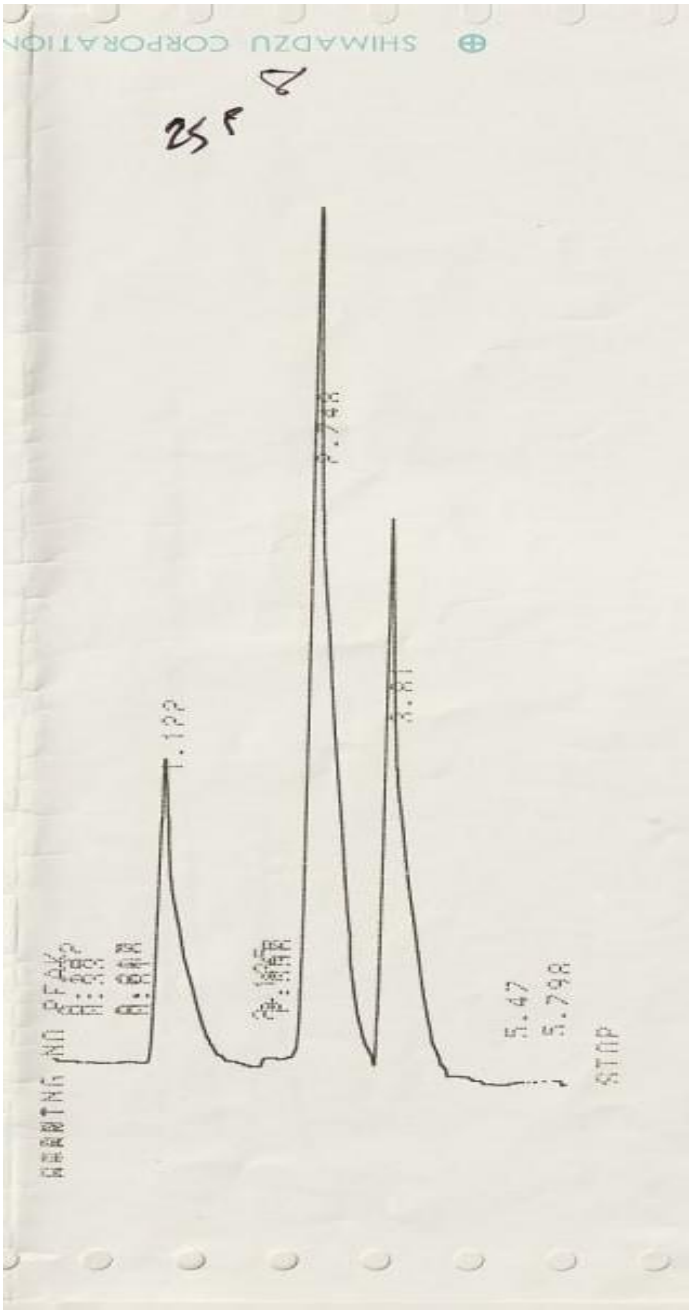
Seq	Compound	Retention time
١	Stevioside	٢,٧٧٧
٢	Rebaudioside A	٣,٨٣٨

ملحق (7) تاثير BA بتركيز3 ملغم لتر-١ وNAA بتركيز 0.3 ملغم لتر-١ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS



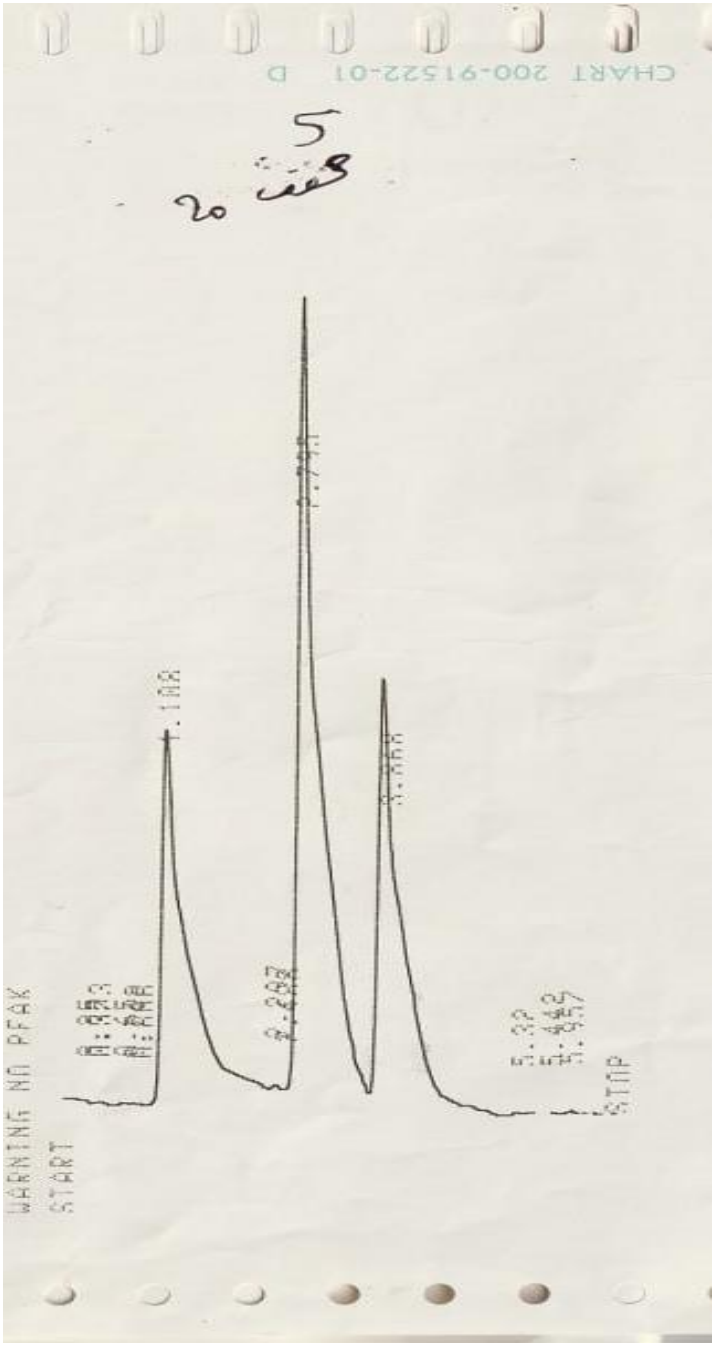
Seq	Compound	Retention time
١	Stevioside	٢,٧٧٧
٢	Rebaudioside A	٣,٨٣٨

ملحق (8) تاثير BA بتركيز3 ملغم لتر$^{-1}$ وNAA بتركيز 0.4 ملغم لتر$^{-1}$ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS



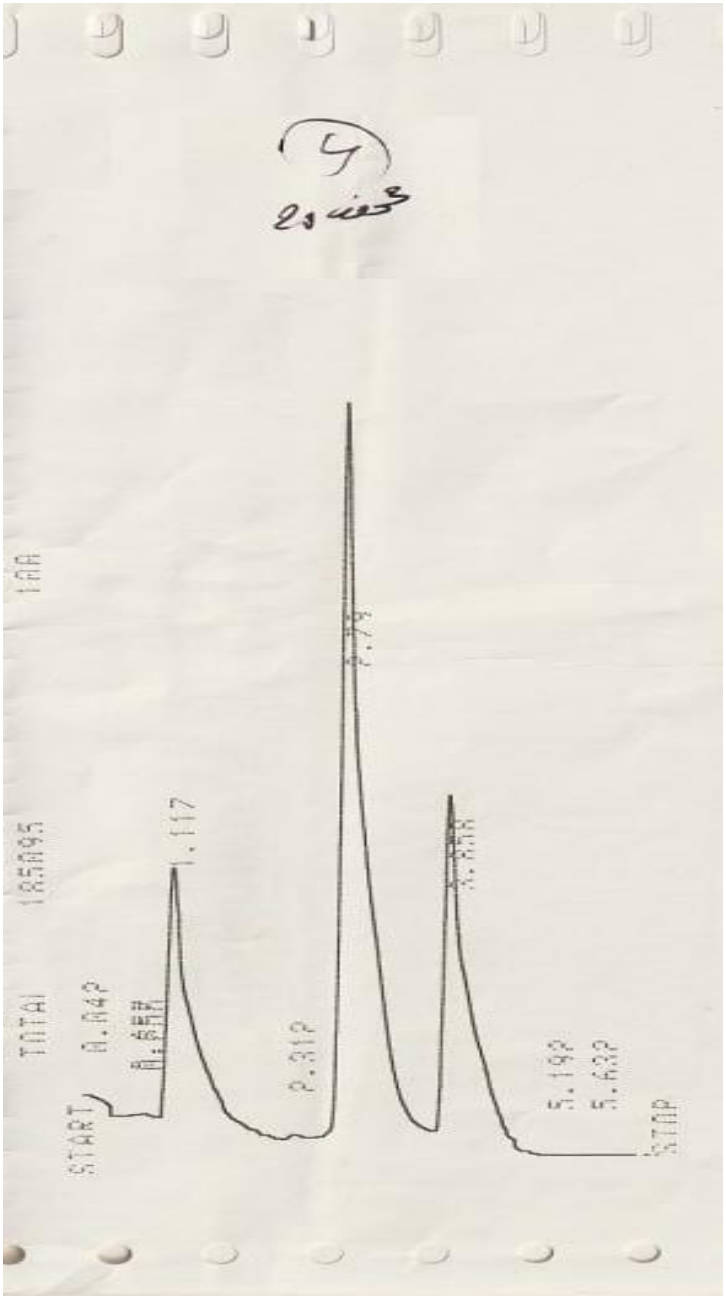
Seq	Compound	Retention time
١	Stevioside	٢,٧٧٧
٢	Rebaudioside A	٣,٨٣٨

ملحق (9) تاثير BA بتركيز4 ملغم لتر$^{-1}$ وNAA بتركيز 0.3 ملغم لتر$^{-1}$ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS



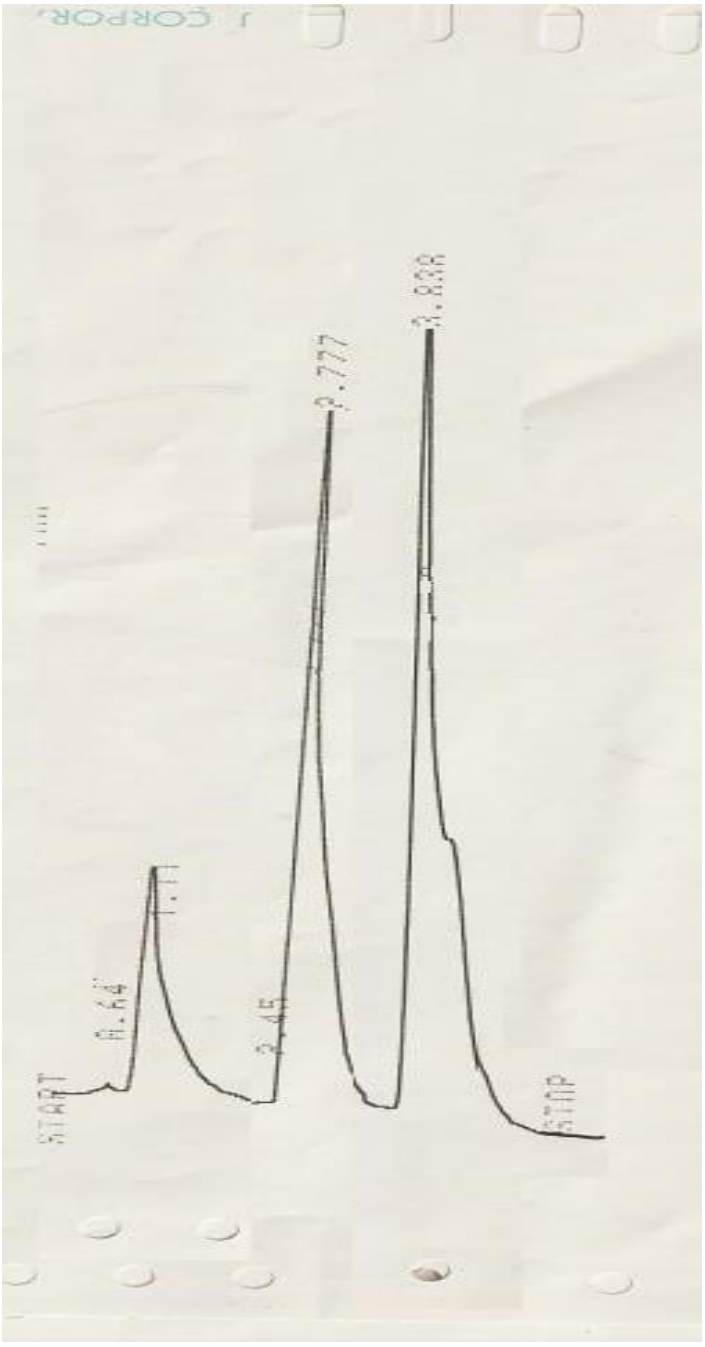
Seq	Compound	Retention time
١	Stevioside	٢,٧٧٧
٢	Rebaudioside A	٣,٨٣٨

ملحق (10) تاثير BA بتركيز4 ملغم لتر$^{-١}$ وNAA بتركيز 0.4 ملغم لتر$^{-١}$ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS



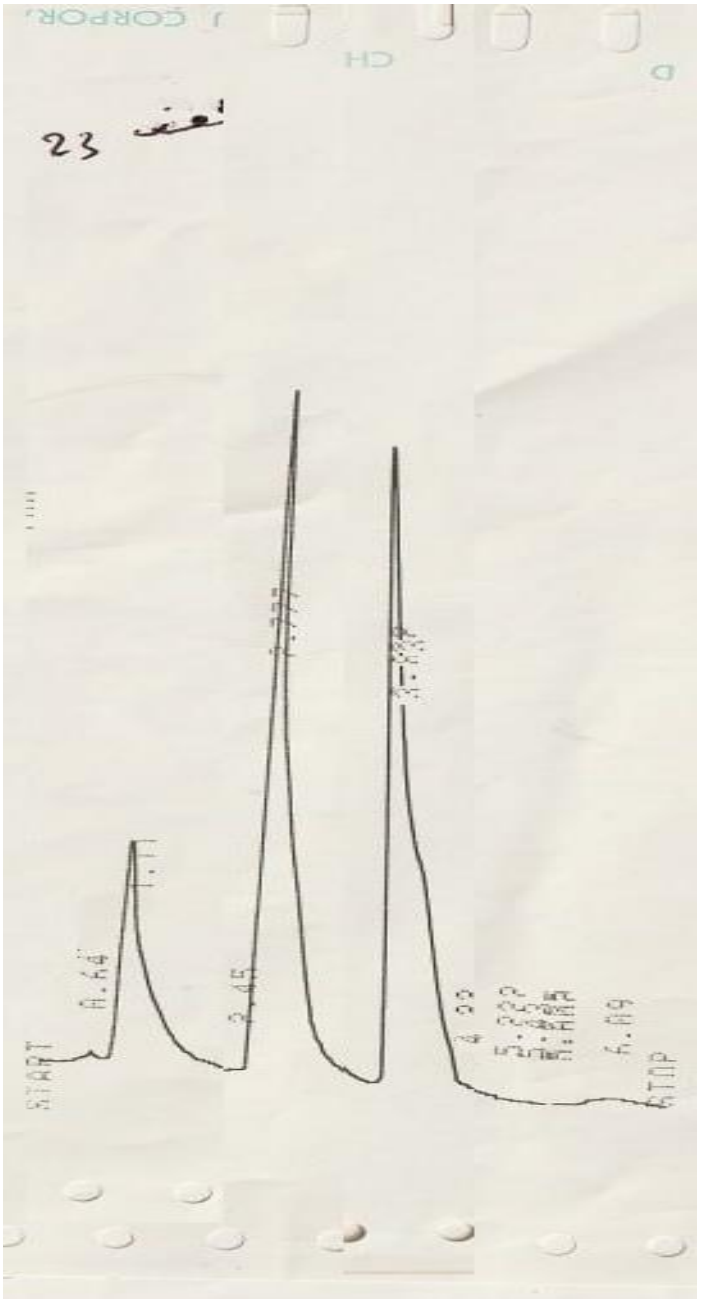
Seq	Compound	Retention time
١	Stevioside	٢,٧٧٧
٢	Rebaudioside A	٣,٨٣٨

ملحق (11) تاثير مصابيح الفلورسنت والسكروز بتركيز ٤٥ غم لتر$^{-١}$ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS



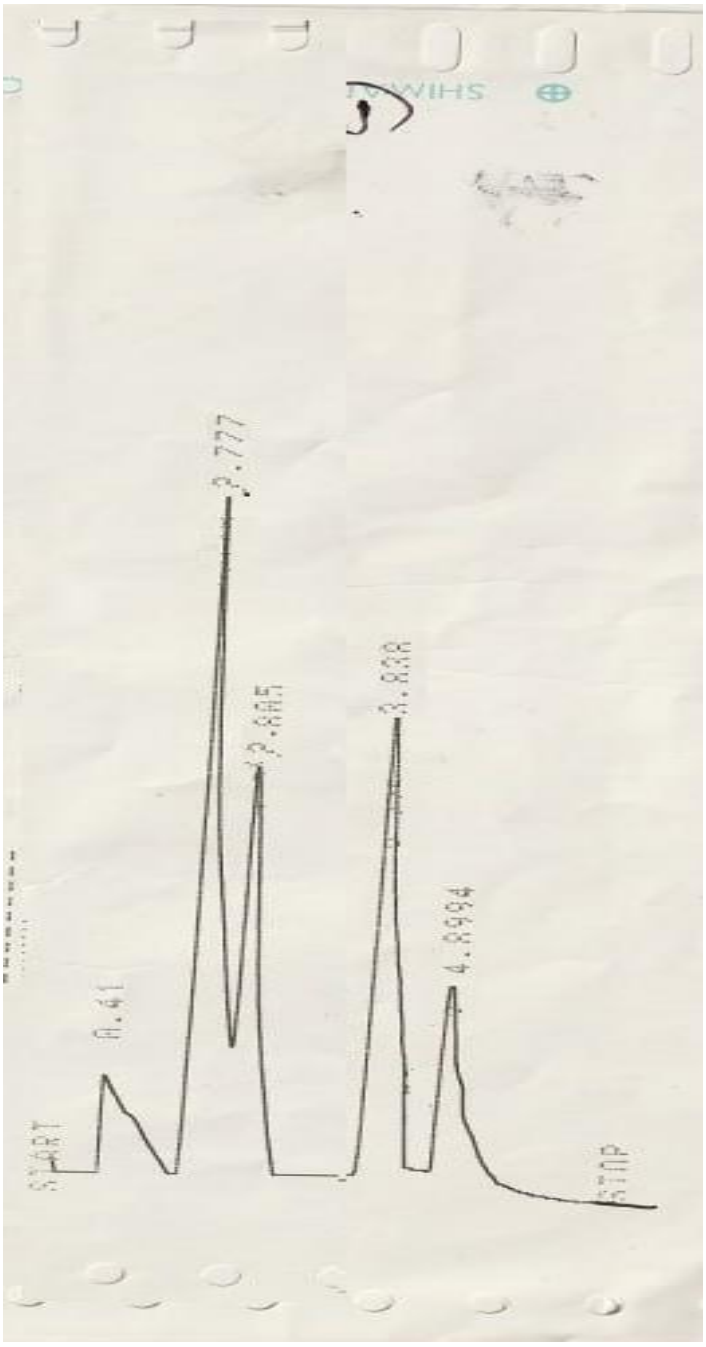
Seq	Compound	Retention time
١	Stevioside	٢,٧٧٧
٢	Rebaudioside A	٣,٨٣٨

ملحق (١٢) تاثير مصابيح الفلورسنت والسكروز بتركيز ٦٠ غم لتر-١ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS



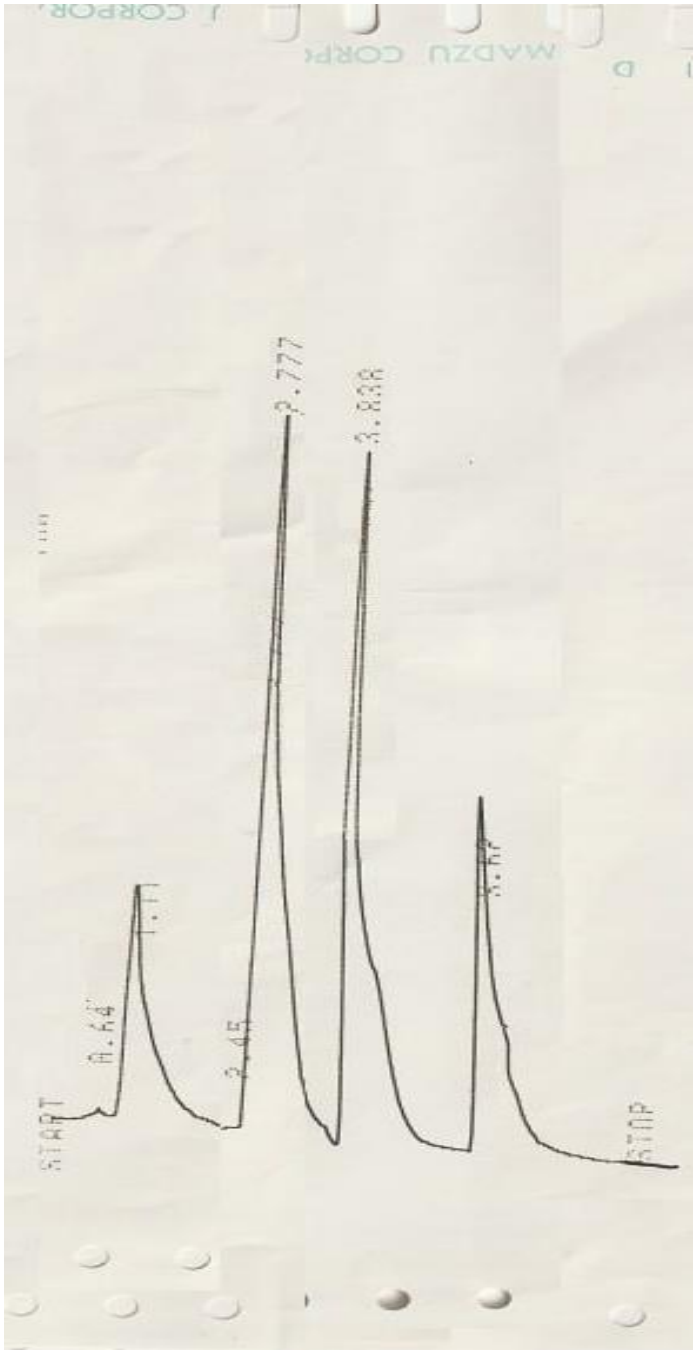
Seq	Compound	Retention time
١	Stevioside	٢,٧٧٧
٢	Rebaudioside A	٣,٨٣٨

ملحق (١٣) تاثير مصابيح LED الابيض والسكروز بتركيز ١٥ غم لتر$^{-١}$ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS



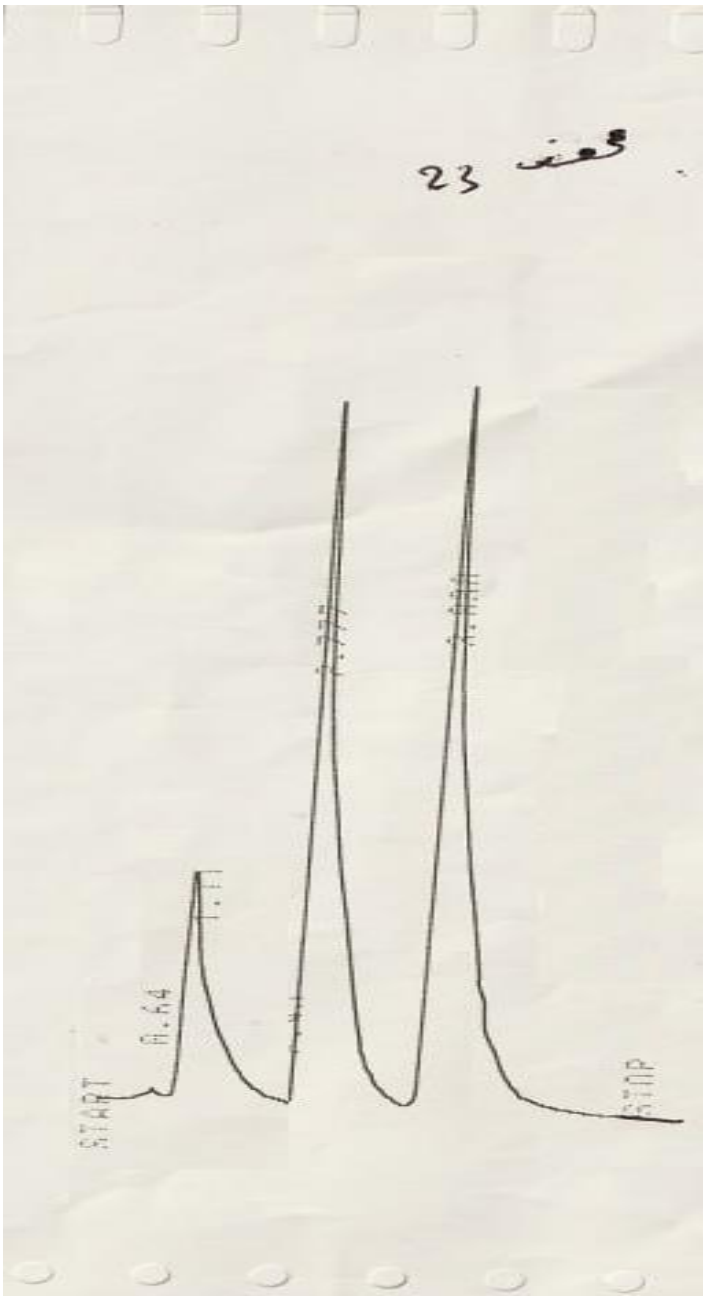
Seq	Compound	Retention time
١	Stevioside	٢,٧٧٧
٢	Rebaudioside A	٣,٨٣٨

ملحق (١٤) تاثير مصابيح LED الابيض والسكروز بتركيز ٣٠ غم لتر$^{-١}$ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS



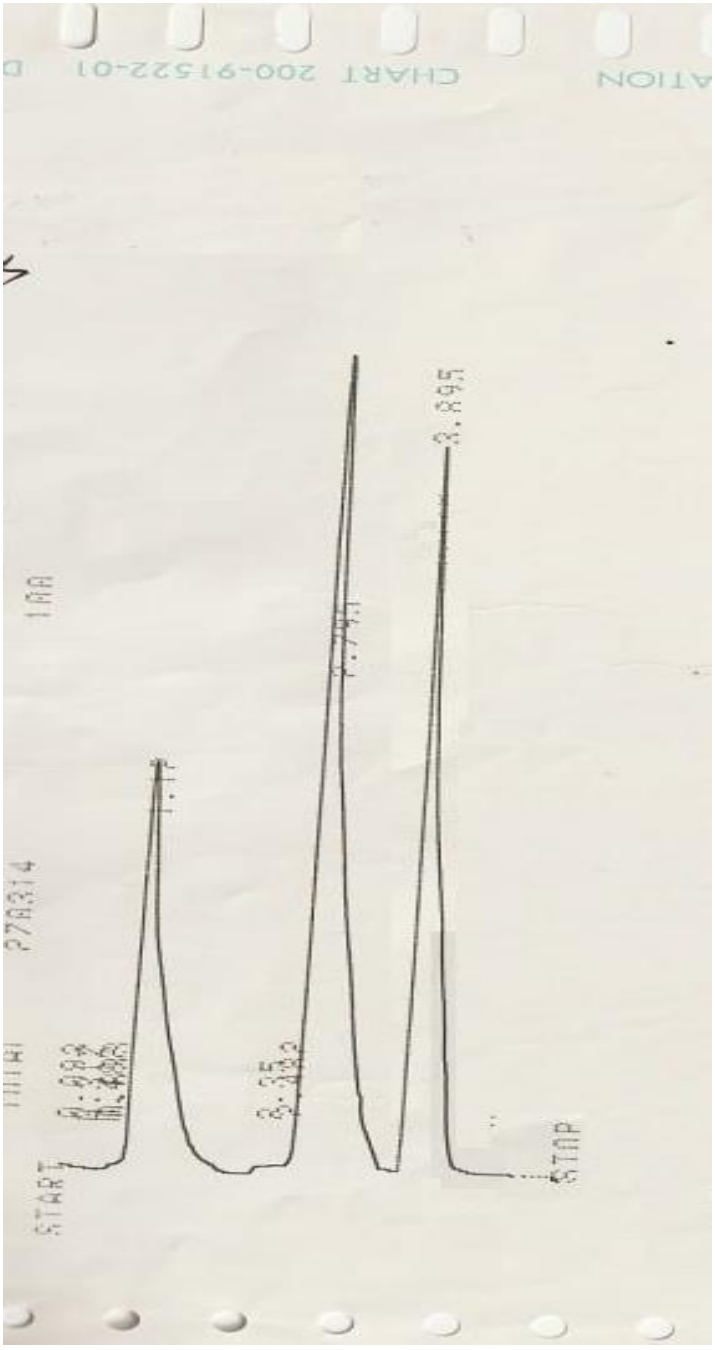
Seq	Compound	Retention time
١	Stevioside	٢,٧٧٧
٢	Rebaudioside A	٣,٨٣٨

ملحق (١٥) تاثير مصابيح LED الابيض والسكروز بتركيز ٤٥ غم لتر$^{-١}$ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS



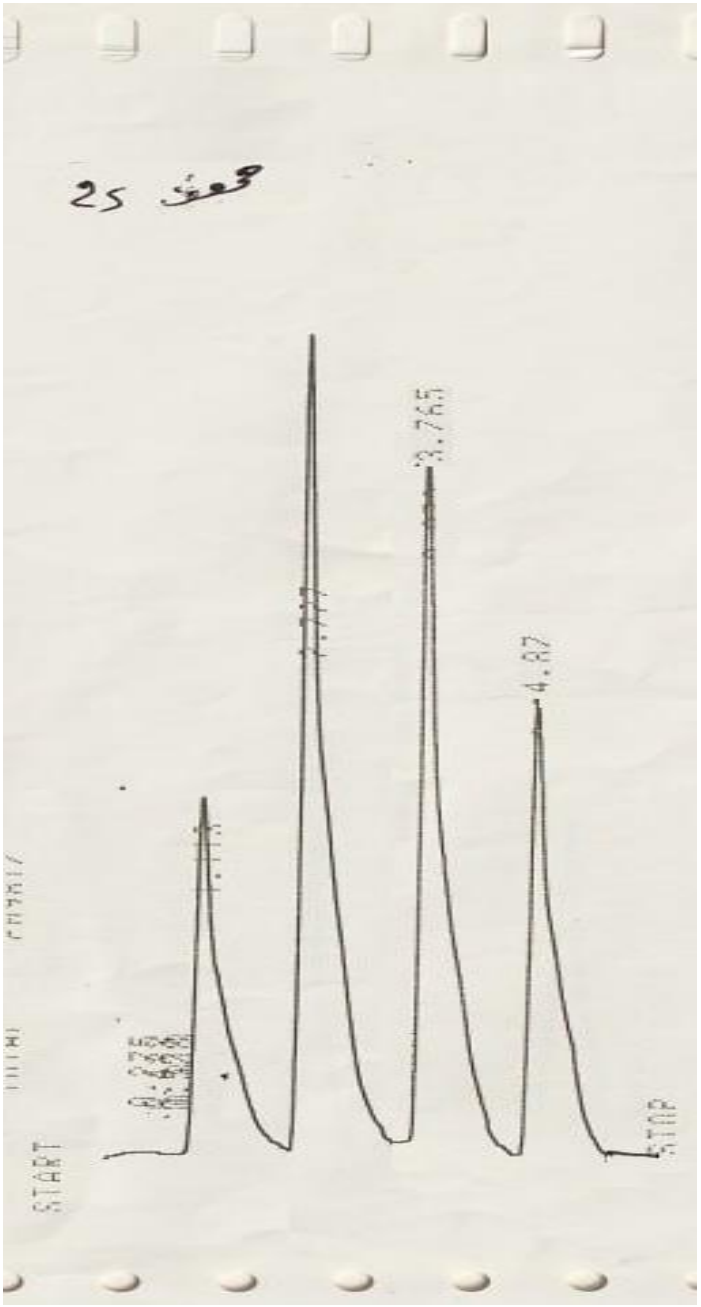
Seq	Compound	Retention time
١	Stevioside	٢,٧٧٧
٢	Rebaudioside A	٣,٨٣٨

ملحق (١٦) تاثير مصابيح LED الابيض والسكروز بتركيز ٦٠ غم لتر$^{-1}$ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS



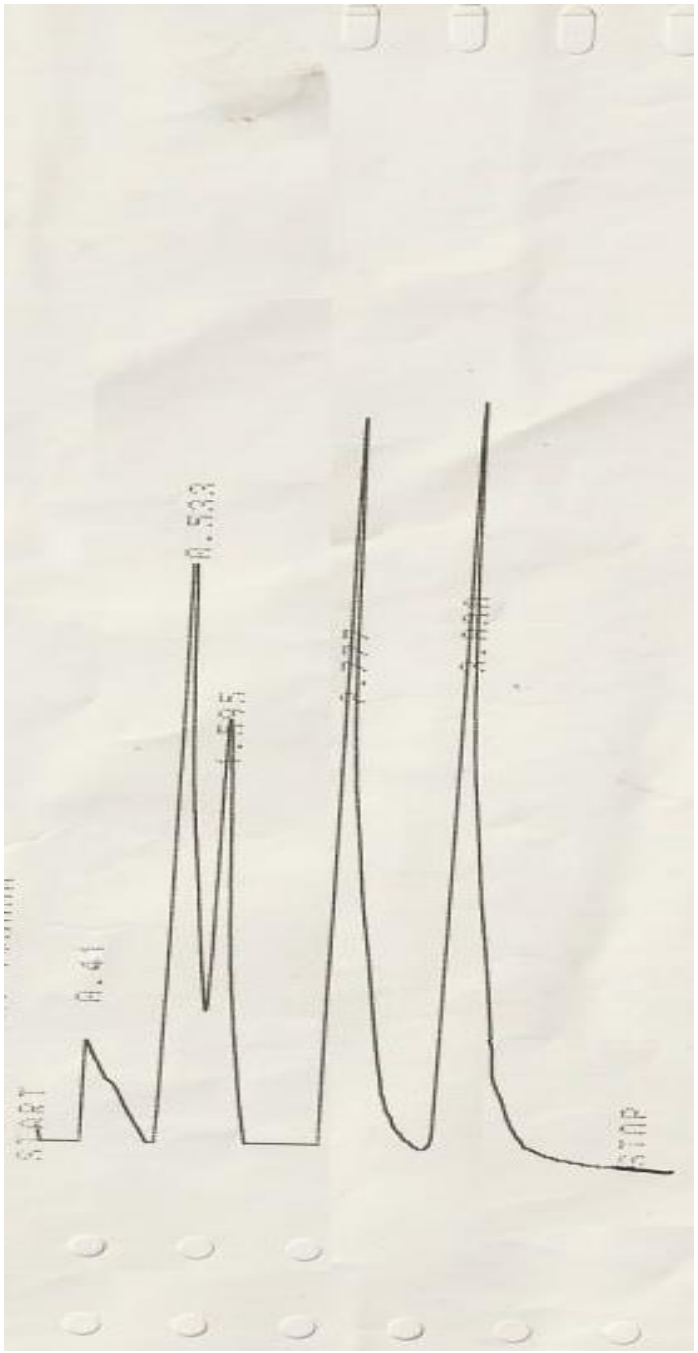
Seq	Compound	Retention time
١	Stevioside	٢,٧٧٧
٢	Rebaudioside A	٣,٨٣٨

ملحق (١٧) تاثير مصابيح LED الملون والسكروز بتركيز١٥ غم لتر$^{-١}$ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS



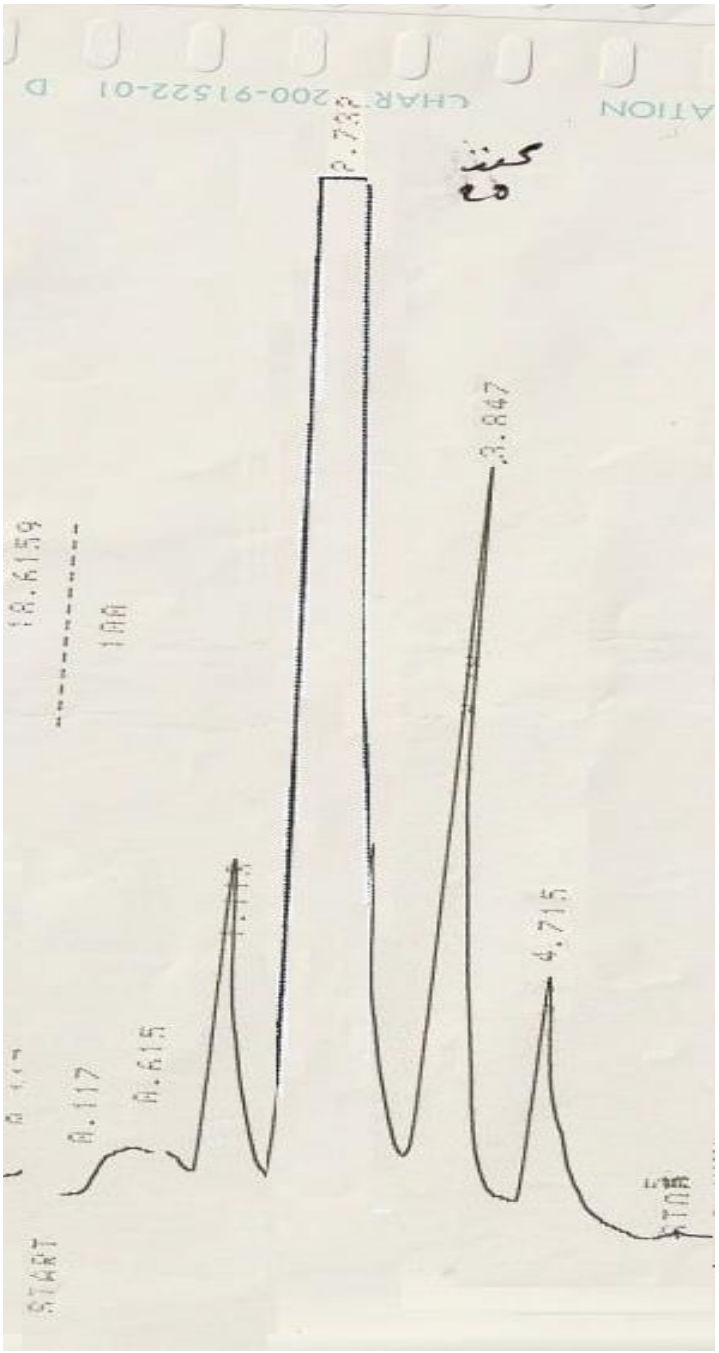
Seq	Compound	Retention time
١	Stevioside	٢,٧٧٧
٢	Rebaudioside A	٣,٨٣٨

ملحق (١٨) تاثير مصابيح LED الملون والسكروز بتركيز ٣٠ غم لتر$^{-١}$ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS



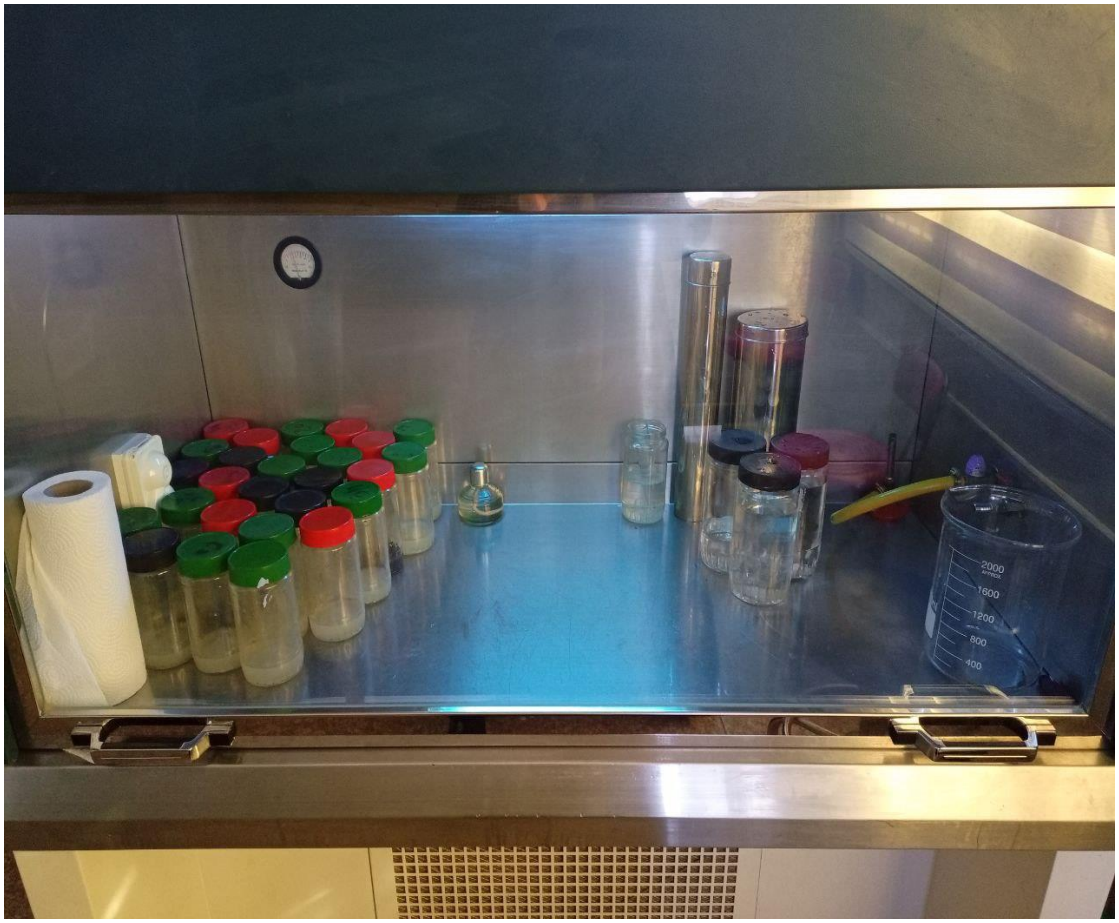
Seq	Compound	Retention time
١	Stevioside	٢,٧٧٧
٢	Rebaudioside A	٣,٨٣٨

ملحق (١٩) تاثير مصابيح LED الملون والسكروز بتركيز ٤٥ غم لتر$^{-١}$ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

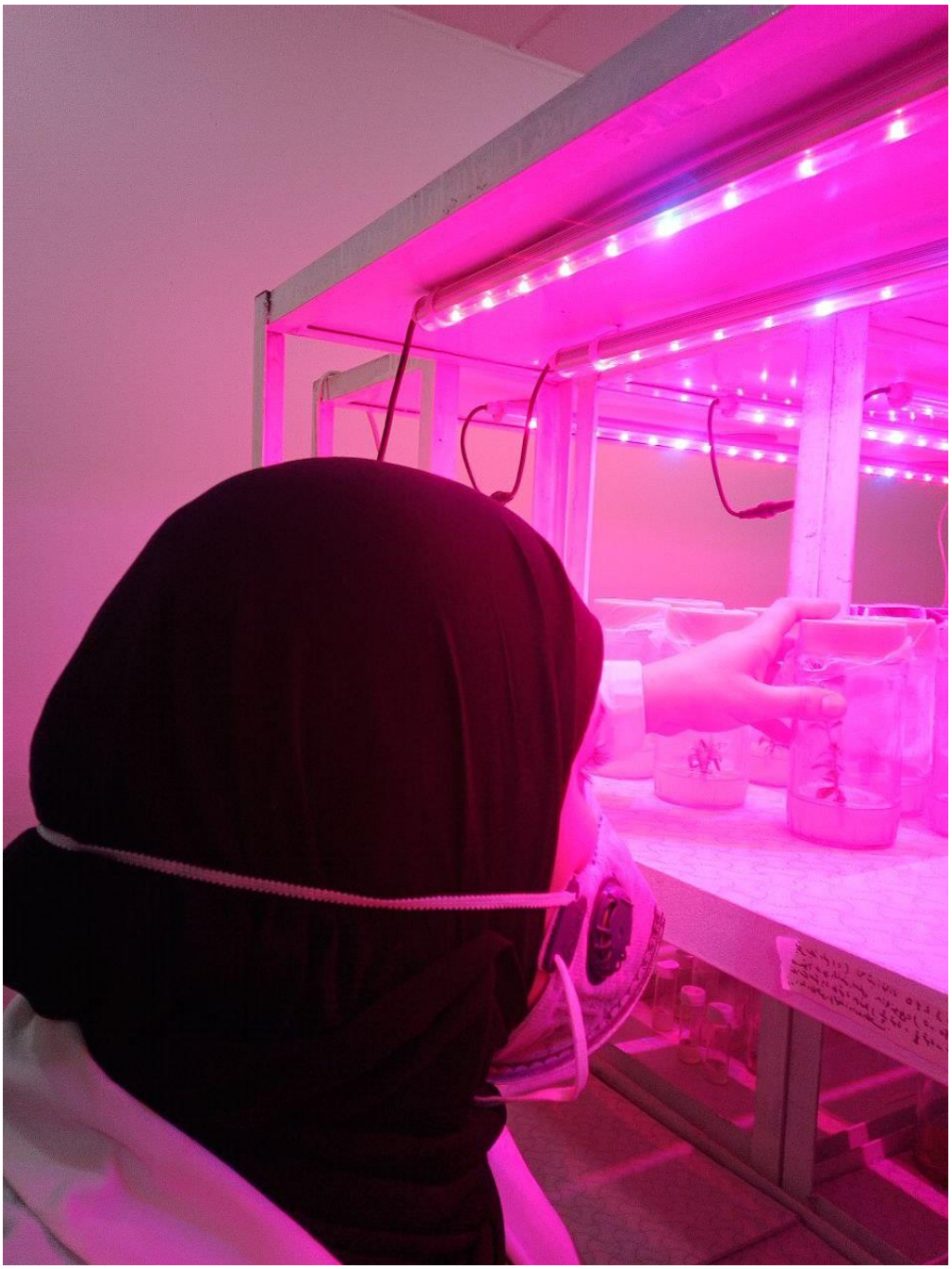


Seq	Compound	Retention time
١	Stevioside	٢,٧٧٧
٢	Rebaudioside A	٣,٨٣٨

ملحق (٢٠) تاثير مصابيح LED الملون والسكروز بتركيز ٦٠ غم لتر$^{-١}$ في انتاج المركبات الايضية من الافرع الخضرية لنبات الستيفيا بعد ٦ اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS



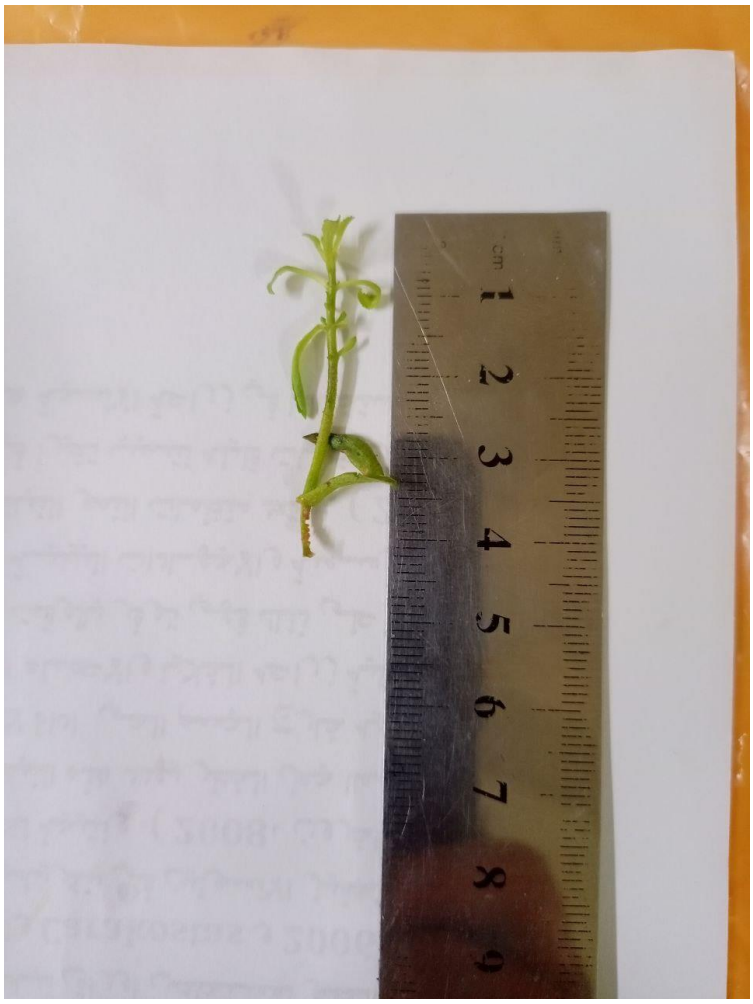
ملحق (٢١) تجهيز كابينة الزراعة



ملحق (٢٢) متابعة النباتات داخل منظومة الاضاءة

ملحق (٢٣) القمة المستخدمة بالزراعة

ملحق(٢٤) الزراعة داخل كابينة الزراعة



ملحق (٢٥) قياس طول الافرع خلال مرحلة التضاعف

ملحق(٢٦) تاثير منظمات النمو النباتية في تضاعف نبات الستيفيا

Abstract

This study was carried out in the Plant Tissue Culture Laboratory of the College of Agriculture - University of Karbala, and HPLC analyzes were completed in the White Fields Company for Investments, Environmental and Engineering Studies for the period from 2022 to 2023. The study included the suse of plant tissue culture technique in propagating the Stevia plant and stimulating it to increase the production of glycosides of medical importance. The study was carried out in three stages after conducting the sterilization process: the first included the establishment of vegetative shoots by using different combinations of plant growth regulators (Auxins and Cytokinines). The second stage was carried out by exposing the vegetative offshoot cultures to several types of lighting and different concentrations of sucrose to stimulate it to increase the production of secondary metabolites. The third stage included the rooting of the vegetative offshoots obtained from the multiplication stage by cultivating them on nutrient media equipped with different concentrations of MS and IBA salts. Then the tissue plants were acclimated. All phases were carried out in independent factorial experiments within a completely randomized design (CRD). The results can be summarized as follows:

1- The best treatment for sterilizing plant parts is sodium hypochlorite (NaOCl) at a concentration of 1% for 15 minutes.
2- The growing tops as a plant part used in the emergence stage gave the highest response amounting to 70.00%, while the lateral shoots gave the highest response amounting to 54.68%.
3- The nutrient medium supplemented with BA at a concentration of 3 mg L-1 was the best in increasing the number of branches, their length, the number of leaves, and the tender weight of the vegetative, which reached 33.35 branches of $Plant^{-1}$ and 8.20 cm, and 109.77 leaves of $Plant^{-1}$ and

7.46 mg, respectively, while The concentration of 2 mg l^{-1} achieved the highest rate of dry weight of the shoot amounted to 3.94 mg.

4- The concentration of 0.3 mg l^{-1} NAA achieved the highest mean of the number of branches, their length, the number of leaves, and the fresh and dry weight of the vegetative, which reached 30.87 branches $Plant^{-1}$, 7.65 cm, , 94.55 leaves $Plant^{-1}$, 6.98 mg, and 3.85 mg, respectively.

5- Concentration 4 mg l^{-1} BA achieved the highest average concentration of chlorophyll a and total chlorophyll a which reached 1.37 mg g^{-1} and 2.47 mg g^{-1} respectively, while the concentration of 3 mg l^{-1} BA achieved the highest average of chlorophyll b amounted to 0.93 mg g^{-1}.

6- The concentration of 0.3 mg l^{-1} NAA achieved the highest average concentration of chlorophyll a, b and total, which reached 1.21 mg g^{-1}, 0.87 mg g^{-1} and 2.09 mg g^{-1}, respectively.

7- The concentration of 4 mg g^{-1} BA achieved the highest percentage of soluble and insoluble carbohydrates, which reached 19.48% and 45.88%, respectively.

8- NAA, at a concentration of 0.4 mg g^{-1}, achieved the highest percentage of soluble carbohydrates, amounting to 18.22%, while the concentration of 0.3 mg g^{-1} achieved the highest percentage of insoluble carbohydrates, amounting to 43.74%.

9- The concentration of 4 mg g^{-1} BA achieved the highest mean concentrations for Stevioside and Rebaudioside A, which reached 2461.40 and 1475 µg g^{-1}, respectively.

10- The concentration of 0.4 mg g^{-1} NAA achieved the highest mean concentrations for Stevioside and Rebaudioside A, which reached 1659.20 and 1293 µg g^{-1}, respectively.

11- The colored LED lights achieved the highest rate of the number of branches, their length, the number of leaves, and the fresh and dry weight

of the vegetative, which reached 38.66 branches plant^{-1}, 10.73 cm, 147.30 leaves plant^{-1}, 10.65 mg, and 4.17 mg, respectively. When the medium was treated with different concentrations of sucrose, the concentration of 45 g l^{-1} achieved the highest rate of the number of branches, their length, the number of leaves, and the fresh and dry weight of the vegetative total, which reached 38.47 branches Plant^{-1}, 7.63 cm, 124.38 leaves Plant^{-1}, 8.82 mg, and 3.23 mg respectively.

12- The colored LED lamps achieved the highest concentrations of chlorophyll a and b, totaling 2.29, 1.91 and 4.20 mg g^{-1} respectively. When the media was treated with different concentrations of sucrose, the concentration of 60 g l^{-1} achieved the highest average concentration of chlorophyll a, b and total which reached 2.25, 1.98 and 4.23 mg g^{-1} respectively.

13- The colored LED lamps achieved the highest percentage of soluble and insoluble carbohydrates, which amounted to 21.52 and 48.15% respectively. When the medium was treated with different concentrations of sucrose, the concentration of 45 g l^{-1} achieved the highest percentage of soluble and insoluble carbohydrates, which amounted to 20.50 and 48.83%, respectively.

14- The colored LED lamps achieved the highest levels of Stevioside and Rebaudioside, which amounted to 3000 and 2751 µg g^{-1} respectively. When the medium was treated with different concentrations of sucrose, the concentration of 60 g l^{-1} achieved the highest rate for the two compounds of Stevioside and Rebaudioside, which amounted to 2740 and 2167 µg g^{-1}, respectively.

University of Kerbala

College of Agriculture

Horticulture and Landscape Department

The effect of some growth regulators and the type of lighting and sucrose on the micro propagation and production of some secondary metabolite compounds of *Stevia rebaudiana In vitro* .

Thesis Submitted to the Council of the College of Agriculture / University of Kerbala in Partial Fulfilment Requirements for the Master degree in Agricultural Sciences / Horticulture and Landscape

Submitted By

Neamat Ryadh Naeem Talal

Supervisered by

Asst. Prof. Dr. Sarab Abdul Hadi Mohammad Al-Mukhtar

2023 A.D **1444 A.H**