

استحثاث كالس السيقان وتمايزنباتات المطاط *Ficus elastica Decora* منه ومن القمم النامية في الوسط الزراعي

Stimulation of Stem Callus and Regeneration of *Ficus elastica* "Decora" and from Apical Tips *in vitro*

مzahim قاسم الملاح

رغد محمد عبد الله

كلية التربية / جامعة الموصل

Ragad M. Abdullah

Mazahim K. AL-Mallah

College of Education/ University of Mousl

المستخلص

تكونت مزارع الكالس من سيقان وأوراق الصنف *Decora* من نباتات المطاط *Ficus elastica*. النامية في الحقل على الوسط الغذائي MS الصلب . وبينت النتائج ان وسط الاستحثاث MS الحاوي على 1.0 ملغم لتر⁻¹ من البنزاييل ادنين BA و 0.8 ملغم لتر⁻¹ ثنائي كلوروفينوكسي حامض الخليك 2,4-D اعطى نسبة استحثاث الكالس من السيقان بواقع 87.5% في حين حققت نسبة استحثاث 76.6% في الوسط MS المدعم باضافة 0.5 ملغم لتر⁻¹ BA اندول بيوترك حامض الخليك IBA . وبلغت نسبة استحثاث الكالس من زراعة الاوراق 75% على الاوساط ذاتها . اظهر كالس السيقان قابلية محدودة في التمايز وتكوين في الوسط (MS+1.0 ملغم لتر⁻¹ 2,4-D و 0.5 ملغم لتر⁻¹ kin) وفي الوسط (MS 0.5 ملغم لتر⁻¹ 2,4-D و 0.5 ملغم لتر⁻¹ BA و 0.1 ملغم لتر⁻¹ اندول بيوترك حامض الخليك IBA نموها واستطالتها . وعند زراعة الافرع في وسط التجذير MS0 الصلب لم تتحفظ في تكوين الجذور . ونظراً لقلّة أعداد الافرع الناتجة من الكالس لم تختبر اوساط تجذير اخرى . واکدت النتائج حصول زيادة في محتوى الكلورفيل والبروتين في الافرع الخضرية الناتجة من كالس السيقان قياسا الى محتواها في نباتات المطاط النامية في الحقل . وظهرت البيانات تكون الافرع الخضرية عند زراعة القمم النامية لنباتات المطاط في مجموعة من الاوساط الزراعية ، وعدّ الوسط MS 4.0 ملغم لتر⁻¹ من البنزاييل ادنين BA الأمثل لزراعة القمم المزروعة وإنتاج الافرع الخضرية منها . وامكن تجذيرها بسهولة عند زراعتها في وسط MS الصلب الخالي من منظمات النمو الذي رفعت فيه كمية نترات البوتاسيوم KNO₃ من 1900 ملغم لتر⁻¹ الى 2000 ملغم لتر⁻¹ . وكذلك في الوسط MS ذاته مدعماً باضافة 3.0 ملغم لتر⁻¹ IBA و 1.0 ملغم لتر⁻¹ BA . ونجحت اقلّمة النبيتات المتكونة جميعاً عند زراعتها في البتموس .

Abstract

Calli cultures of stems and leaves explants excised from field-grown rubber, *Ficus elastica Decora*, plants were formed on agar-solidified Murashige and Skoog (MS) medium. The results proved that MS medium supplemented with 1.0 mg L⁻¹ benzyl adenin (BA) and 0.8 mg L⁻¹ 2,4-dichloro-phenoxy acetic acid (2,4-D) was suitable to stimulate stem's callus at ratio 87.5% . Whereas supplementation of MS medium with 0.5 mg L⁻¹ of both BA and Indole-3-butyric acid (IBA) encouraged callus formation to reach 76.6%. Leaves showed responses for callus initiation up to 75% at the same media. Stem calli showed limited ability to regenerate shoots on both agar solidified MS medium containing 1.0 mg L⁻¹ 2,4-D and kinetin (kin) 0.5 mg L⁻¹ and MS medium supplemented with 0.5 mg L⁻¹ of both BA and IBA. Transferring of shoots to differentiation medium (MS+0.5 mg L⁻¹ BA+ 0.1 mg L⁻¹ IBA) stimulated the growth and elongation of these shoots. Shoots were transferred to agar-solidified

MS medium free from growth regulators failed to form roots. Because of the less number of shoots, other rooting media were not tested. The data showed, that shoot tips succeeded to regenerate shoots when they were cultured in different MS. The results proved clear increase in chlorophyll and protein content of the rubber shoots as compared with content of field grown rubber plants. It was noticed that agar-solidified MS medium supplemented with 4.0 mg L^{-1} BA was considered the optimum medium for shoots regeneration. All plants regenerated from shoot tips were readily rooted in agar-solidified MS medium with increasing Potassium Nitrate KNO_3 from 1900 mg L^{-1} to 2000 mg L^{-1} , and at the same medium supplemented with 3.0 mg L^{-1} IBA and 1.0 mg L^{-1} BA. All these plants were successfully acclimated and transferred to peat moss.

المقدمة

تنتمي نباتات المطاط *Ficus elastica* الصنف Decora ، الى العائلة التوتية Moraceae . ويطلق على هذه النباتات احياناً Rubber Plants أو India rubber Plants ويشير اسم النوع *elastica* الى وجود الحليب النباتي الذي تفرزه عند تعرضها للتجريح [1] . ومن الأنواع الأخرى التابعة لجنس *Ficus* هي : *F. benghalensis*, *F. benjamina*, *F. deltoide*, *F. carica*, *F. ribes*, *F. religiosa* [2] وتشير المصادر إلى كثرة الدراسات التي تناولت الإكثار الخضري بالطرق التقليدية لهذا النوع او غيره من الانواع التابعة لهذه العائلة [3] . وقد تعزى قلة الدراسات خارج الجسم الحي لهذا النبات إلى عدم وجود مشاكل حقيقية تواجه اكثاره خضرياً باستخدام الطرق التقليدية ووضحت المصادر [4] ان غالبية الانواع التابعة للجنس *Ficus* باستثناء النوع *F. elastica* قد درست خارج الجسم الحي . فقد تمكنت دراسة [5] من تكوين مزارع الكالس من بعض اجزاء نباتات المطاط *F. elastica* في وسط MS الصلب المجهز بإضافة 0.05 و 0.5 ملغم لتر⁻¹ BA وامتاز الكالس المتكون بقدرته على تصنيع الحامض الاميني polyisoprene . وذكرت دراسة اخرى [6] نجاح إكثار نباتات التين البري *F. carica* من زراعة القمم النامية في الوسط الصلب MS المجهز بإضافة 0.5 ملغم لتر⁻¹ من BA و 0.1 ملغم لتر⁻¹ من IBA . وأشارت دراسة اخرى [3] الى امكانية إكثار نباتات *F. religiosa* ، من زراعة القمم النامية والبراعم الابضية في الوسط الصلب MS المزود بإضافة 0.5 ملغم لتر⁻¹ من BA و 0.1 ملغم لتر⁻¹ و IAA مكونة 16 فرعاً. وأفاد فريق من الباحثين [7] ان زراعة العقد والقمم النامية المستأصلة من اشجار المطاط البنغالي *F. benghalensis* على الوسط MS بنصف قوة أملاحه والمجهز بإضافة BA 0.5 ملغم لتر⁻¹ حفز تفتح البراعم وتكوين الافرع الخضرية . ووضحت إحدى الدراسات [4] امكانية استحثاث مزارع كالس أوراق التين البري *F. carica* على وسط MS المدعم بإضافة 4.52 مايكرومول من 2,4-D و 2.32 مايكرومول من kin وسهولة تمايزه مكوناً الافرع الخضرية . ونجاح تجديرها في الوسط الصلب MS المجهز بإضافة 2 ملغم لتر⁻¹ من IBA و 0.1 ملغم لتر⁻¹ من NAA وأقلمتها أيضاً . تهدف هذه الدراسة الى استحثاث الكالس وامكانية تمايزه عند زراعة اجزاء من سيقان ،اوراق والقمم النامية لنباتات المطاط الصنف *F.elastica* Decora خارج الجسم الحي .

المواد وطرائق العمل

جهزت نباتات المطاط *Ficus elastica* الصنف Decora بعمر سنتين من احد المشاتل الاهلية في مدينة الموصل . استؤصلت السيقان والقمم النامية والاوراق وعقمت سطحياً بغمرها لمدة ثلاث دقائق في 75% من الكحول الايثيلي ومن ثم غمرها في محلول التعقيم المتكون من 50% من NaOCl القاصر التجاري والماء لفترات غمر 5 , 10 دقائق . بعدئذ أزيلت العينات من محلول التعقيم وغسلت جيداً بالماء [8]. أخذت قطع السيقان خالية من العقدة بطول 1.0 سم والاوراق بمساحة 2 سم² المعقمة سطحياً وزرعت على سطح 25 مل من اوساط MS الصلب [9] المدعمة باضافات منتخبة في هذه الدراسة منفردة او متداخلة من منظمات النمو كما مبين ادناه .

MSO (مقارنة)

MS + BA 2.0 mgL^{-1}

- MS + BA 3.0 mgL⁻¹
 MS + BA 4.0 mgL⁻¹
 MS + BA 0.9 mgL⁻¹ + NAA 0.5 mgL⁻¹
 MS + BA 1.0 mgL⁻¹ + NAA 1.0 mgL⁻¹
 MS + BA 2.0 mgL⁻¹ + NAA 0.5 mgL⁻¹
 MS + BA 1.0 mgL⁻¹ + 2,4-D 0.8 mgL⁻¹
 MS+ BA 0.5 mgL⁻¹ + IBA 0.5 mgL⁻¹
 MS+ BA 0.5 mgL⁻¹ + IBA 0.1 mgL⁻¹ [6]
 MS + 2,4-D 1.0 mgL⁻¹ + Kin 0.5 mgL⁻¹ [4]
 MS + 2,4-D 0.5 mgL⁻¹ + Kin 0.5 mgL⁻¹ [4]

جهزت قطع بوزن غرام واحد من كلا نوعي الكالس المستحث من السيقان والاوراق على الاوساط المبيئة ادناه .
 (المقارنة) MSO

- MS + BA 1.5 mgL⁻¹ + 2,4-D 0.5 mgL⁻¹
 MS + BA 2.0 mgL⁻¹ + 2,4-D 0.75 mgL⁻¹
 MS + Kin 0.5 mgL⁻¹ + 2,4-D 1.0 mgL⁻¹
 MS + Kin 1.0 mgL⁻¹ + 2,4-D 0.75 mgL⁻¹
 MS + Kin 2.0 mgL⁻¹ + 2,4-D 0.5 mgL⁻¹
 MS + BA 0.5 mgL⁻¹ + IBA 0.1 mgL⁻¹ [6]

استخدمت قناني زجاجية حجم 100 مل تحوي على 25 مل من وسط التمايز وبمعدل قطعة / قنينة ، استؤصلت الافرع الخضرية الناتجة من تمايز كالس السيقان الحاوية على عدد من الوريقات وغرست قواعدها بوضع قائم في 25 مل من وسط التجدير MS0 [10] . وكذلك استؤصلت مجموعة من العقل الطرفية بطول 2.0 سم من أطراف سيقان المطاط المعقمة وزرعت في مجموعة من أوساط MS .

(مقارنة) MSO

- MS + BA 4.0 mgL⁻¹.
 MS + BA 5.0 mgL⁻¹.
 MS + Kin 2.0 mgL⁻¹ + 2,4-D 1.0 mgL⁻¹.
 MS + BA 0.5 mgL⁻¹ + IBA 0.1 mgL⁻¹ [6]

ازيلت الافرع النامية الناتجة من تحفيز نمو البراعم الابيطية وزرعت في أوساط MS الصلب بكامل او نصف قوة املاحها . وكما اختبرت مجموعة اخرى من أوساط MS التي رفع فيها تركيز KNO₃ من 1900 إلى 2000 ملغم لتر⁻¹ فضلاً عن تدعيمها بإضافة 0.5 , 1.5 , 2.5 , 3.0 ملغم لتر⁻¹ IBA متداخلة مع 1.0 ملغم لتر⁻¹ من BA . واختبر ايضاً وسط MS الصلب المدعم بإضافة 2.0 ملغم لتر⁻¹ من NAA مع 1.0 ملغم لتر⁻¹ من BA . وبعد تكوينها الجذور ازيلت النبيتات من الوسط وغسلت جذورها بالماء لازالة بقايا الوسط ومن ثم غرست مجموعة منها في البتموس ومجموعة اخرى في مزيج التربة والبتموس (1حجم:1حجم) وغطيت باكياس نايلون شفافة مثقبة لمدة سبعة ايام ثم رفعت الأكياس عنها . وحفظت الزروعات تحت درجة حرارة 25 ± 2 درجة سيليزية ونظام الاضاءة 16 ساعة ضوء و 8 ساعات ظلام وشدة اضاءة مقدارها 1500 لوكس . اديمت مزارع الكالس دورياً مرة كل 3-4 اسابيع .

قدرت الكمية الكلية للكلوروفيل في أوراق نباتات المطاط *F. elastica* الناتجة من كالس السيقان فضلاً عن عينات المقارنة باعتماد الطريقة القياسية [11] كما قدرت كمية البروتين بتبايع طريقة فولن [12] المحورة عن طريقة لوري [13] . وتم حساب الانحراف القياسي للمتوسطات .

النتائج

استحثاث الكالس من السيقان والأوراق وإدامتها

برهنت النتائج تكوين مزارع كالس السيقان على مجموعة متباينة من أوساط الاستحثاث . وسجلت أعلى نسبة استحثاث في الوسط MS المجهز بإضافة 1.0 ملغم لتر⁻¹ من BA و 0.8 ملغم لتر⁻¹ 2,4-D جدول (1) وقد استغرق تكوين هذه المزارع ثلاثة عشر يوماً من الزراعة واتصف الكالس الناتج بقوامه الهش وبلونه الاصفر

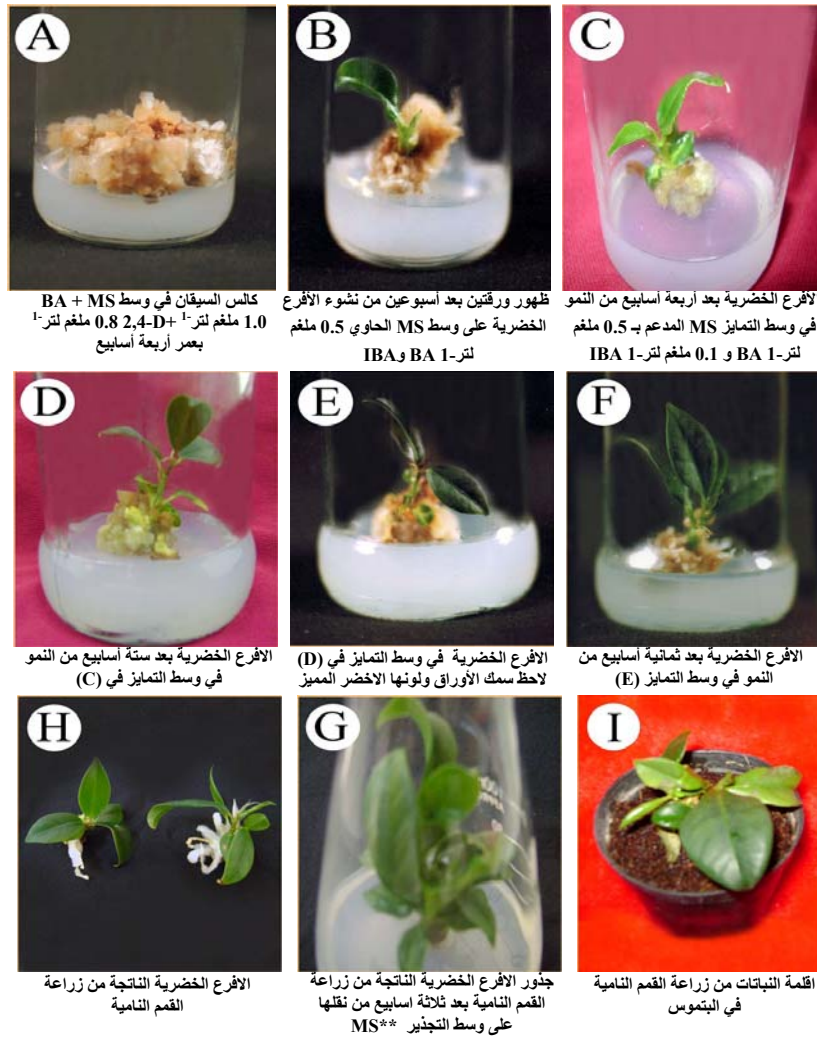
المائل إلى الابيض شكل (A.1) . واتضح عموماً وجود صعوبات في استحثاث كالس الاوراق بدلالة ضعف استحثائه وفشله احياناً في الأوساط المختبرة جدول (1) وسجل الوسط (MS + 1.0 ملغم لتر⁻¹ من BA + 0.8 ملغم لتر⁻¹ 2,4-D) المناسب لاستحثاث كالس السيقان ، افضليته لاستحثاث كالس الاوراق ايضاً استلزمت قطع الاوراق لتباشر استحثاتها للكالس فترة اطول من تلك التي استغرقتها السيقان إذ تراوحت وبين 12-27 يوماً . واتصف الكالس ببنيته المتماسكة وظهوره باللون الاخضر في جميع الأوساط المستخدمة . اديمت مزارع الكالس المتكون مرة كل ثلاثة اسابيع .

جدول (1): استحثاث الكالس سيقان واوراق نباتات المطاط *Ficus elastica* Var. *Decora* المزروعة في الوسط MS الصلب المدعم بتداخلات متباينة من منظمات النمو

استحثاث الكالس (%)	عدد قطع الأوراق		الاستحثاث (%)	عدد قطع السيقان		أوساط الاستحثاث
	المختبرة	المستحثة		المختبرة	المستحثة	
0	0	10	0.0	0	20	MS0 (مقارنة)
40.0	4	10	43.4	10	23	MS + BA 2.0
37.5	3	8	13.3	2	15	MS + BA 3.0
33.3	3	9	28.5	4	14	MS + BA 4.0
50	5	10	60.0	12	20	MS + BA 0.9 + NAA 0.5
22.2	2	9	53.0	8	15	MS + BA 2.0 + NAA 0.5
75.0	15	2	87.5	35	40	MS + BA 1.0 + 2,4-D 0.8
44.4	4	9	63.3	19	30	MS + 2,4-D 1.0 + Kin 0.5
28.5	2	7	68.1	15	22	MS + 2,4-D 0.5 + Kin 0.5
0	0	10	33.3	5	15	MS + BA 0.5 + IBA 0.1
0	0	8	76.6	23	30	MS + BA 0.5 + IBA 0.5
0	0	7	0	0	7	MS+ BA1.0 + IBA1.0

SD : الانحراف القياسي لمتوسط القطع المختبرة ± 20.7

SD : الانحراف القياسي لمتوسط القطع المستحثة ± 11.3



شكل (1): مراحل تمايز الكالس (A-f) السيقان وتكوين الأفرع الخضرية من زراعة القلم النامية (G-I) لنبات المطاط *Ficus elastica* في الاوساط الزرعية

تكوين الأفرع الخضرية من كالس السيقان

أظهر كالس السيقان أثناء ادامته قدرته المحدودة على التمايز جدول (2) . حين نقلته الثالثة فقد لوحظ نشوء فرعين خضريين تكونا بعد أربعة أسابيع من إدامتهما متمثلاً بدء التمايز بتكوين أوراق منفردة شكل (B.1) وتطور ظهورها في الوسط MS الحاوي على BA , IBA شكل (D.C.1) بينما فشلت بقية قطع كالس السيقان في التمايز . نقل هذين الفرعين إلى الوسط الصلب MS المجهز باضافة 0.5 ملغم لتر⁻¹ BA و 0.1 ملغم لتر⁻¹ IBA الذي حفز نموها واستطالتها واكتساب أوراقها اللون الاخضر والسمك المميز لها وزيادة اطوالها التي تراوحت بين (3-5) سم وعدد الاوراق بين 3-5 اوراق منبسطة بشكل كامل ومميزة بأنها لنباتات المطاط شكل (E.F.1). استؤصلت هذه الأفرع إلى وسط MS0 وبقائها فيه مدة أربعة أسابيع ونجاح احداها من الاستمرار بالنمو والزيادة في الحجم دون تجديره وموت الفرع الثاني. علما بان بقية اوساط التمايز المختبرة فشلت في تكوين الأفرع .

جدول (2): تمايز كالس سيقان المطاط *Ficus lastica* Var. Decora المزروعة في اوساط MS الصلبة المدعمة بتدخلات من منظمات النمو

عدد الفروع المتكونة	عدد القطع المتميزة	عدد قطع الكالس المستخدمة	اوساط التمايز
1	1	20	MS + 2,4-D 1.0 + Kin 0.5
1	1	25	MS + BA 0.5 + IBA 0.5

تكوين نباتات المطاط من زراعة القمم النامية

أنتجت زراعة القمم النامية المعقمة، المستأصلة من نباتات المطاط النامية في الحقل بعمر سنتين في مجموعة متباينة من الاوساط الزرعية تكوينها النباتات الكاملة . وعدّ الوسط MS المدعم بإضافة 4.0 ملغم لتر⁻¹ من BA الافضل لتكوين الأفرع الخضرية حيث سجلت نسبة تكوينها 100% . ولوحظ انخفاض في اعداد الأفرع الخضرية المتكونة مع زيادة تركيز BA في الوسط . ولوحظ فشل تكوينها في الوسط MS المجهز بالكابنتين kin و 2,4-D . وظهر ان قسماً من العينات المزروعة رافقها تكوين الكالس عند قواعدها واستمرار نموها مع تكوينها للأفرع الخضرية شكل (G.1) . وعموماً بدأت الأفرع الخضرية بالظهور في الأسبوع الخامس من زراعة القمم النامية . واستلزم تكوينها وتطورها ثمانية أسابيع من زراعتها. وقد جذرت هذه الأفرع عند غرس قواعدها مع التخلص من الكالس المرافق في وسط MS الصلب الخالي من منظمات النمو جدول (3) المدعم بإضافة 2000 ملغم لتر⁻¹ بدلاً من 1900 ملغم لتر⁻¹ من نترات البوتاسيوم KNO₃ في اقل من أسبوعين في هذا الوسط شكل (H.1) . وفشلها في حالة تدعيمها بإضافات متداخلة من الـ BA , IBA جدول (3) .

واظهرت النتائج نجاح نقل النباتات المتكونة من القمم النامية إلى البتموس وأقلمتها واستمرارها بالنمو وزيادة ارتفاعاتها لتصل إلى (5-7)سم شكل (I.1) . بينما لوحظ على النباتات المنقولة إلى مزيج التربة والبتموس علامات ذبول الاوراق وتساقطها ثم موت هذه الأفرع .

جدول (3): تأثير الاوساط الزرعية في تجذير الافرع الخضرية الناتجة من زراعة القمم النامية لنباتات المطاط *F. elastica* Var. Decora وأقلمتها .

اوساط التجذير	عدد الافرع المزروعة	عدد الافرع المجذرة	عدد الافرع المنقولة الى البتموس
MS0	4	0	7
MS0*	10	9	0
1/2 MS0	4	0	0
MS* + 3IBA + BA 1.0	8	6	6

MS0* : وسط MS الحاوي على 2000 ملغم لتر⁻¹ KNO₃ بدلاً من 1900 ملغم لتر⁻¹

محتوي الكلورفيل والبروتين في اوراق نباتات المطاط الناتجة من كالس السيقان

أظهرت بيانات تقدير محتوى الكلوروفيل والبروتين في اوراق النباتات الناتجة من كالس السيقان ان كميتهما في هذه النباتات كانت أعلى من كميته في اوراق نباتات المطاط النامية في الحقل جدول (4) وانعكست زيادة الكلورفيل على شدة اللون الأخضر لأوراق النباتات الناتجة من كالس السيقان .

جدول (4): محتوى الكلوروفيل والبروتين في اوراق نباتات المطاط *F. elastica*. الناتجة من كالس السيقان

العينات النباتية	كمية الكلوروفيل ملغم/غم وزن طري	كمية البروتين ملغم/غم وزن طري
أوراق النباتات الناتجة من كالس السيقان	2.8	5.8
أوراق النباتات النامية في الحقل(مقارنة)	2.0	3.9

المناقشة

إن العبات التي تصاحب عملية تكوين مزارع الكالس وتمايزه في الأنواع النباتية الخشبية قد يعزى الى صعوبة استحاث الكالس او بطء النباتات الخشبية في تكوينها لهذه المزارع . وقد وصفت عملية تكوين الكالس وتمايزه في المطاط بأنها محاولات جريئة لاحد النباتات متعدد الاغراض وذات القيمة الطبية [7] . إن تكوين الكالس من المطاط *Ficus elastica* في هذه الدراسة يُعد حالة مهمة ومرغوبة بسبب قلة البحوث والدراسات التي تتناولت تحقيق هذا الامر باستثناء دراسة واحدة [5] تمكنت من اكاره من الكالس . ومن المحتمل ان تعزى الصعوبات التي تواجه تكوين مزارع الكالس وتمايزه من هذا النبات بالرغم من توفير كافة متطلباتها من الاوساط وتدعيمها بمنظمات النمو المناسبة نوعاً وتركيزاً , الى احتواء الحليب النباتي Latex الذي تفرزه هذه النباتات على عدد من الانزيمات بضمنها المحللة للجدر الخلوية [14] . وعزت بعض الدراسات إن قسماً من الانشطة الفسلجية في هذه النباتات قد تتأثر بافراز الحليب النباتي [15] فضلاً عن مجموعة من الافتراضات التي تؤكد ان جمع الحليب

النباتي من نباتات المطاط تتسبب في ضرر انسجته [16]. ان توظيف كالس السيقان وزراعة القمم النامية في هذه الدراسة لانتاج نباتات المطاط في الوسط الزراعي اظهر تفوق BA عن kin ووجد بانه الاكفأ لتكوين الافرع الخضرية واستطالتها [17]. يشارك دراسات أخرى أكدت ان BA كان افضل من kin وعدت إضافته في الوسط الزراعي ضرورية في تحفيزه القمم النامية المستأصلة من نباتات المطاط على تكوين الافرع الخضرية ونموها وفشل تكوينها في الاوساط الحاوية على انواع اخرى من منظمات النمو. وذكرت احدى الدراسات [7] ان زراعة القمم النامية للمطاط البنغالي *F. benghalensis* على وسط MS الصلب المدعم بإضافة BA كان وسطاً مناسباً لنشوء الافرع الخضرية مع تكوين الكالس مصاحباً لنشوء الافرع الخضرية بعض انواع النباتات الخشبية مثل نباتات *Dalbergia sissoo* [18] ونباتات *F. religiosa* [17]. ان تجذير الافرع الخضرية الناتجة من القمم النامية في وسط MS الصلب المدعم بإضافة 2000 ملغم لتر⁻¹ من نترات البوتاسيوم KNO₃ وايضا في وسط MS المدعم بإضافة BA و IBA يفسر كفاءة هذه الاوساط من التغلب على مشكلة تجذير الافرع الخضرية في نباتات *F. carica* [19]. وفي بعض اشجار الغابات، التي تتصف بأنعدام قابليتها احياناً او صعوبة اثمارها [20] ويحتم اللجوء الى زراعة القمم النامية في الاوساط الزراعية للحصول على النباتات في اغلبية الانواع الخشبية [21].

يستنتج من الدراسة الحالية امكانية استحداث الكالس من سيقان نباتات المطاط، كما هو الحال في بقية الانواع النباتية، وان تمايزه يتطلب المرور بمرحلتين وضرورة اخضاع هذا النبات لمزيد من البحوث في مجال الزراعة النسيجية لانه يعد من النباتات المهمة يستتبعاً باعتباره احد انواع نباتات الزينة.

المصادر

1. Starr, F., Starr, K., and Loope, L. (2003). *Ficus elastica* India rubber tree, Moraceae. United state Geological Survey. Biological Resources Division Haleaka-laField station, Maui , Hawaii ,U.S.A.
2. داؤد ، محمود داؤد . (1979) . تصنيف اشجار الغابات . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة الموصل .
3. Hassan, S., Aforz, F., Jahan, M. and Khatun, R. (2009). *In vitro* regeneration through apical and axillary shoot proliferation of *Ficus religiosa* L. A multi-purpose woody medicinal plant. Plant Tiss. Cult. Biotech. 19: 71-78.
4. Ferreira, E. A., Pasqual, M. and Rezande, J. C. (2008). 2,4-D and Kinetin in callogenesis of *Ficus carica* L. Hort. Sci. 738: 1-2.
5. Kolchugina, I.B. and Markarova, E. N. (2009). Photoheterotrophic Callus Culture *Ficus elastica*. The formation of polyisoprene synthesis. Mos.Univ. Biol. Sci. Bull. 64: 28-31.
6. Pontikis, C. A. and Melas, P. (1989). Micropropagation of *Ficus carica* L. Hort. Sci. 21(1) :153-154.
7. Rahman, M., Amin, N. and Hussain, F. (2004). *In vitro* Propagation of Banyan Tree *Ficus benghalensis* L. a multipurpose and keystone species of Bangladesh. Plant Tiss. Cult. 14:135-142.
8. Shajahan, A., Kathiravan, K. and Ganapathi, A. (1995). Induction of embryo-like structures by liquid mulberry (*Morus alba* L.). Breeding Sci. 45:413 - 417.
9. Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Planta. 15: 473-497.
10. Gomez-Leyva , J. F., Acosta , M. L. A. , Muraria , L. I. G., Espino, S. H., Coravantes, R. F. and Gonzales, A. I. (2008). Multiple shoot regeneration of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) from a shoot apex culture system. Int. J. Botany. 4 : 326-330
11. Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenol

- oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol. 24: 1-15.
12. Schacterale, G. R. and Pollak, R. L. (1973). A simplified methodsfor the quantitative assay of small amount of protein in biologic material. Ann. Bio. Chem. 51: 651-655.
 13. Lowery, O. H., Rosebrongh, N. J. , Farr, A. L. and Randad , R. J. (1951). Protein measurement with folin-phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 257-265.
 14. Kramer, D. E. and Whitaker, J. R. (1964). Properties of the proteolytic enzymes from the Latex of *Ficus carica* variety kadota. Biol. Chem. 239: 2178-2183.
 15. [http:// en. Wikipedia. Org/wiki/ Latex](http://en.Wikipedia.Org/wiki/Latex)
 16. Rapepun, W., Piyaporn, P., Kamonwan, K. and Dhirayos W. (2008). A role for a *Hevea* Latex Lectin-like protein mediating rubber particle aggregation and Latex coagulation. Phytochem. 69: 339-347.
 17. Amin, M. N., Habib, M. A., Azad, M. and Akhteruzzaman, M. (2001). Large scale plant regeneration in *Ficus religiosa* L. 4th Int. Conf. Plant Tiss. Cult. (1-3Nov. Dhaka).
 18. Gill, S. S., Gill, R. I. S. and Gosal, S. S. (1997). Rapid propagation of *Dalbergia sissoo* from mature tree through tissue culture. Plant Tiss. Cult. 7:13-19.
 19. Hepaksoy, S. and Aksoy, U. (2006). Propagation of *Ficus carica* L. Clones by *in vitro* culture. Biol. Planta. 50: 433-436.
 20. Zimmerman, R. H. (1986). Regeneration in woody ornamental and fruit trees. Cell Cult.&Somat. Cell Gene.Plants 3:243-258.
 21. Limburger, R. D. (1980). Tissue Culture of Woody Plants. Buckeye Nurseryman, Columbus, Ohio, U.S.A.