استحداث الكالس وتمايزه من زراعة البراعم الطرفية الساكنة والجذور لنبات الكلاديولس *Gladiolus hybrida*

علاء هاشم يونس الطائي بشار زكي قصاب باشي
قسم البستنة / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل / العراق

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة خلال المدة من تشرين الأول (٢٠٠٨) لغاية نيسان (٢٠٠٩) على نبات الكلاديولس صنف " White prosperity" , إذ زرعت براعم طرفية ساكنة بطول ٠,٥ سم على وسط MS المجهز بتراكيز مختلفة من منظمات النمو : NAA و 2,4-D و TDZ و BA بهدف استحداث الكالس وتمايزه . كما أخذت أجزاء وسطية من الجذور بطول ١ سم لنباتات ناتجة من الزراعة النسيجية وزرعت على وسط MS المجهز بمنظمات النمو المختلفة بهدف استحداث الكالس وتمايزه , أظهرت النتائج أن أعلى نسبة لتكوين الكالس ٨٠ % تم الحصول عليها من زراعة البراعم الطرفية الساكنة على وسط MS المزود بـ ٦ ملغم / لتر NAA وهذه المعاملة بدورها أعطت اكبر كمية كالس واحتاجت إلى ٣٥ يوما لبدء استحداث الكالس , الكالس المتكون 'زرع على وسط MS خالي من منظمات النمو (معاملة المقارنة) أو المزود بـ ١ ملغم / لتر Kin + ٠,١ ملغم / لتر NAA أو ٢ ملغم / لتر Kin + ٠,٢ ملغم / لتر NAA وتبين أن معاملة ٢ ملغم / لتر Kin + ٠,٢ ملغم / لتر NAA تفوقت معنويا على باقي المعاملات من حيث الحصول على أعلى نسبة لتمايز الكالس٨٠ % وأعلى معدل لعدد الأفرع ٩ فرع / جزء نباتي و بمعدل طول لأطول فرع ٥,٥ وأعلى معدل لعدد الجذور ١٥ جذر / جزء نباتي وبمعدل طول لأطول جذر ٤,٥ سم أما الكالس المزروع في معاملة المقارنة بقى بدون تمايز , وتم الحصول على الكالس بنسبة تراوحت بين ٧٠ - ٩٠ % من زراعة الأجزاء الوسطية للجذور وتم الحصول على أكبر كمية كالس من معاملات ٢ ملغم / لتر 2,4-D + ٠,٦ ملغم / لتر Kin , ٥ ملغم / لتر 2,4-D + ٢ ملغم / لتر Kin و١ ملغم / لتر NAA +١ ملغم / لتر Kin . الكالس المتكون عند التركيز ٥ ملغم / لتر 2,4-D + ٢ ملغم / لتر Kin زرع على وسط MS المزود بـ صفر و ١ ملغم / لتر Kin و ٢ ملغم / لتر BA أعطى أعلى نسبة استجابة لتكوين الأفرع بلغت ٨٠ % من الزراعة على الوسط المزود بـ ٢ ملغم / لتر BA و أعلى معدل لطول أطول فرع ٥ سم و أعلى قيمة لعدد الجذور ١٦ جذر / جزء نباتي وأعلى معدل لطول أطول جذر٥,٥ سم مع ملاحظة أن الكالس في معاملة المقارنة لم يتمايز . الأفرع الناتجة من تمايز الكالس زرعت على وسط MS المزود بـ ١ ملغم / لتر IBA بهدف تجذيرها بعدها نقلت إلى المختبر لتنمو بشكل طبيعي وبنسبة بقاء ١٠٠ % .

المقدمة

يعود جنس الكلاديولس إلى العائلة السوسنية (Iridaceae) . تعتبر جنوب إفريقيا الموطن الأصلي له (رسول , ١٩٨٨ و Goldblatt و Manning , ١٩٩٨) , ويعد من أجود أزهار القطف التي تزرع تجاريا إذ يمكن زراعته على مدار العام , وهو نبات عشبي حولي مزهر من ذوات الفلقة الواحدة ذات أوراق سيفية , يتكاثر الكلاديولس جنسيا بالبذور وخضريا بزراعة الكورمات أو الكريمات (لارسون , ١٩٨٥ وطواجن ، ١٩٨٧ وخطاب و وصفي , ١٩٨٨) . وترجع أهمية الكلاديولس إلى قصر الفترة اللازمة لنموه إلى حين الوصول إلى مرحلة الإزهار وتكوين الكريمات , فضلا عن تعدد أشكاله وألوان أزهاره وطول حياة الأزهارالمقطوفة في المزهرية وكذلك وجود بعض الأنواع التي تكون أزهارها عطرية (خطاب ووصفي , ١٩٨٨) . يعد إكثار النبات خضريا من أهم التطبيقات العملية لزراعة الأنسجة في الوقت الحاضر , إذ أمكن وباستخدام التقنيات المختلفة للزراعة النسيجية الحصول على أعداد كبيرة تصل إلى الملايين من النباتات المتجانسة وذلك من تضاعف الأفرع أو استحداث وتمايز الكالس فقد استحدث Goo وآخرون (٢٠٠٣) الكالس من زراعة القمة النامية لنبات الكلاديولس على وسط MS المجهز بـ ١ ملغم / لتر NAA والكالس الناتج تمايز إلى أفرع عند زراعته على وسط MS المجهز بـ

مستل من أطروحة دكتوراه للباحث الأول .
تاريخ تسلم البحث ٢٠١٠/٦/٢١ وقبوله ٢٠١٠/٩/٢٠

١ ملغم/ لتر Kin + ٠,٠١ ملغم / لتر NAA . وأوضح Darvishi وآخرون (٢٠٠٦) عند زراعتهم المرستيم القمي لنبات الزعفران *Crocus sativus* على وسط LS المجهز بتراكيز مختلفة من NAA و 2,4-D وثلاث أنواع سايتوكاينينات هي 2ip , Kin , BA إن المعاملة بـ ٢ ملغم / لتر NAA + ٢ ملغم / لتر BA أدت إلى الحصول على الكالس. ومن الدراسات التي أجريت لإنشاء مزارع الكالس من زراعة أجزاء الجذور ما وجده Yasseen (٢٠٠٠) حين قام بزراعة أجزاء من جذور نبات الكلاديولس صنف " Eurovision " الناتجة من الزراعة النسيجية على وسط MS المجهز بـ ٢ ملغم / لتر 2,4-D + ٠,٧ ملغم / لتر Kin , أن قطع الجذور كونت كالس بعد ٦- ٨ أسابيع من الزراعة , وعند إعادة زراعة هذا الكالس على وسط MS السائل المجهز بـ ١ ملغم / لتر Kin في ظروف الظلام التام على الجهاز الهزاز تمايز إلى أفرع . وبين Kasumi وآخرون (٢٠٠٤) أن زراعة أجزاء من جذور نبات الكلاديولس صنف "Grandiflora "على وسط MS مجهز بـ NAA مع أو بدون BA أدى إلى الحصول على الكالس , وان زراعة هذا الكالس على وسط MS مجهز بـ ٢ ملغم / لتر BA أدى إلى تمايز هذا الكالس إلى أفرع .

هدفت هذه الدراسة إلى استحداث الكالس وتمايزه إلى أفرع أو جذور من زراعة البراعم الطرفية الساكنة وأجزاء من الجذور لنبات الكلاديولس ثم تجذير الأفرع الناتجة وأقلمتها في المختبر .

مواد البحث وطرائقه

أجريت هذه الدراسة في مختبر زراعة الخلايا والأنسجة النباتية التابع لقسم البستنة وهندسة الحدائق / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل خلال المدة من تشرين الأول (٢٠٠٨) لغاية نيسان (٢٠٠٩) على نبات الكلاديولس صنف " White prosperity", إذ زرعت براعم طرفية ساكنة بطول ٠,٥ سم على وسط MS الصلب المحور (الجدول ١) بعد تعديل الدالة الهيدروجينية (pH) للوسط إلى ٥,٧ والمجهز بمنظمات النمو الآتية : NAA بالتراكيز صفر و ١,٠ و ٢,٠ و ٤,٠ و ٦,٠ ملغم / لتر, 2,4-D بالتراكيز صفر و ٠,٠١ و ٠,٠٢ و ٠,١ و ٠,٢ ملغم / لتر, TDZ بالتراكيز صفر و ١,٠ و ٢,٠ و ٣,٠ و ٤,٠ ملغم / لتر , BA بالتراكيز ١,٥ و ٢ و ٢,٥ ملغم / لتر بهدف استحداث الكالس . الكالس الناتج من أفضل معاملة أعيدت زراعته على وسط MS المجهز بمنظمات النمو الآتية : صفر و ١ ملغم / لتر Kin + ٠,١ ملغم / لتر NAA و ٢ ملغم / لتر Kin + ٠,٢ملغم / لتر NAA بعد تجزئته إلى حجم ٥ ملم بهدف تمايزه إلى أفرع (Goo وآخرون , ٢٠٠٣) وأخذت بياناتها بعد ثمانية أسابيع من الزراعة . كما تم زراعة أجزاء وسطية من الجذور بطول ١ سم لنباتات ناتجة من الزراعة النسيجية وزرعت على وسط MS المجهز بمنظمات النمو التالية : ٢ ملغم / لتر2,4-D + ٠,٦ ملغم / لتر Kin و ٥ ملغم / لتر 2,4-D + ٢ ملغم / لتر Kin و ١ ملغم / لتر NAA + ١ ملغم / لتر Kin و ١ ملغم / لتر NAA + ٠,٥ ملغم / لتر Kin و ١ ملغم / لتر IBA و ٥ ملغم / لتر BA + ٠,٥ ملغم / لتر NAA و ٤ ملغم / لتر BA (Yasseen, ٢٠٠٠). وأخذت البيانات بعد ١٠ أسابيع من الزراعة . الكالس الناتج من أفضل معاملة زرع على وسط MS المجهز بالتراكيز التالية من منظمات النمو صفر و ١ ملغم / لتر Kin و ٢ ملغم / لتر BA بعد تجزئته إلى حجم ٥ ملم ^{٣} بهدف تمايزه وأخذت بياناتها بعد ثمانية أسابيع من الزراعة (Yasseen , ٢٠٠٠ وKasumi و آخرون , ٢٠٠٤) . الأفرع الناتجة زرعت بعد فصلها على وسط MS المجهز بـ ١ ملغم / لتر IBA بهدف تجذيرها . نقلت الأجزاء النباتية الحقلية إلى إناء زجاجي معقم سعة واحد لتر في منضدة الزراعة و غمرت الأجزاء النباتية كاملة في محلول هايبوكلورات الصوديوم التجاري NaOCl بنسبة ١٠ % حجم / حجم , و بعد انتهاء مدة التعقيم البالغة ١٠ دقائق غسلت الأجزاء النباتية بالماء المقطر والمعقم ثلاث مرات متتالية لمدة ثلاثة دقائق لكل مرة لإزالة التأثير الضار للمادة المعقمة . بعدها وضعت في إناء زجاجي معقم سعة لتر واحد وأضيف إليها محلول كلوريد الزئبق $HgCl_2$ بتركيز ٢ غم / لتر وتركت في محلول التعقيم لمدة ١٥ دقيقة بعدها غسلت بالماء المقطر والمعقم خمسة مرات متتالية لمدة ثلاثة دقائق لكل مرة نقلت بعد ذلك إلى أطباق بتري معقمة وقطعت نهاياتها التي كانت ملامسة لمحلول التعقيم ليصبح طولها ٠,٥ سم ، تم تعقيم الوسط الغذائي بجهاز المؤصدة (Autoclave) بدرجة حرارة ١٢١ مْ وضغط ١,٠٤ كغم / سم ^{٢} لمدة ٢٠ دقيقة وأجريت عملية الزراعة في منضدة انسياب الهواء

الطبقي (Laminar – air – flow cabinet) ، بعد زراعة جميع الأجزاء النباتية وللتجارب المختلفة نقلت الزروعات إلى غرفة النمو (Growth room) تحت شدة إضاءة ٣٠٠٠ لـوكس وطـول فتـرة ضوئية ١٦ ساعة / يوم مجهزة من أنابيب الفلورسنت البيضاء وبدرجة حرارة ٢٥ ± ٢ مْ . تم تحليل البيانات باستخدام التصميم العشوائي الكامل CRD وكل معاملة تكونت من عشرة مكررات كـل مكـرر احتوى على جزء نباتي واحد واستعمل البرنامج الجاهز SAS (١٩٩٦) لتحليل البيانات وتـم مقارنـة المتوسطات حسب اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى احتمال ٥% (داؤود وعبد الياس ، ١٩٩٠) .

الجدول (١) : مكونات الوسط الغذائي MS الصلب بكامل قوته المحور.

المركب	التركيز (ملغم / لتر)	المركب	التركيز (ملغم / لتر)
MS salts	قوة كاملة	Pyridoxine-HCl	٠,٥
Inositol	١٠٠	Nicotinic acid	٠,٥
Sucrose	٣٠٠٠٠	Glycine	٢,٠
Thiamine-HCl	٠,١	Agar-Agar	٦٠٠٠

النتائج والمناقشة

يبين الجدول (٢) تأثير كل من NAA و 2,4-D و TDZ في تكوين الكالس من زراعة البـرعم الطرفي الساكن لنبات الكلاديولس صنف " White prosperity ", إذ أظهرت النتائج أن أعلى نسبة مئوية (٨٠) % للأجزاء التي كونت الكالس تم الحصول عليها من زراعة البراعم الطرفية الساكنة على وسط MS المزود بـ ٦ ملغم / لتر NAA و هذه بدورها أعطت اكبر كمية كالس واحتاجت إلى ٣٥ يوما لبدء استحداث الكالس , الكالس المتكون 'زرع على وسط MS خالي من منظمات النمو (معاملة المقارنـة) أو المزود بـ ١ ملغم / لتر Kin + ٠,١ ملغم / لتر NAA أو المزود بـ ٢ ملغـم / لتـر Kin + ٠,٢ ملغم / لتر NAA كما في الجدول (٣) الذي يبين أن معاملة ٢ ملغم / لتر Kin + ٠,٢ ملغم / لتر NAA تفوقت معنويا على معاملة ١ ملغم / لتر Kin + ٠,١ ملغم / لتر NAA والأخيرة تفوقت معنويا على معاملة المقارنة لجميع الصفات المدروسة , إذ تم الحصول على أعلى نسبة لتمايز الكالس المزروع ٨٠ % وأعلى معدل لعدد الأفرع ٩ فرع / جزء نباتي وبمعدل طول لأطول فرع ٥,٥ وأعلى معـدل لعدد الجذور١٥ جذر / جزء نباتي وبمعدل طول لأطول جذر ٤,٥ سم كما يبين الجـدول أن الكـالس المزروع في معاملة المقارنة لم يتمايز إلى أفرع أو جذور في حين تم الحصول على ٤ فرع / جزء نبـاتي و٤,٤ سم و١١ جذر / جزء نباتي و٣,٢ سم من الزراعة عند الوسط المزود بـ ١ ملغـم / لتـر Kin +٠,١ ملغم / لتر NAA . والشكل (١) يبين تكوين الكالس (A-١) وتمايزه (B -١), قـد تفـسر النتائج على أساس حصول حالة التوازن بين الهرمونات الموجودة في الجزء النباتي مع مـا مـضاف مـن منظمات نمو خارجية متمثلة بالاوكسينات والسايتوكاينينات وبالتالي حصول حالة تمايز الكالس المزروع (سلمان , ١٩٨٨) , وهذه النتيجة تتوافق مع ما وجده Goo وآخرون (٢٠٠٣) في دراسـتهم لتمـايز كالس نبات الكلاديولس . أما زراعة البراعم الطرفية الساكنة على وسط MS المزود بـ BA بالتراكيز (١,٥ و ٢ و ٢,٥) ملغم / لتر لم يؤدي إلى تكوين الكالس وإنما أدى إلى حصول انتفاخات لهذه الأجزاء ومن ثم تحولها إلى اللون البني ثم اضمحلالها وموت النسيج النباتي . قد يعود السبب في ذلك إلـى أن هذه التراكيز كانت اكبر من الحد اللازم لتكوين الكالس وان هذه الزيادة في التركيز عن الحد الأمثل أدت إلى حدوث تأثير عكسي وبالتالي موت الخلايا النباتية (Razdan و Fscg ، ٢٠٠٣) .

يبين الجدول (٤) أن زراعة أجزاء من الجذر لنبات الكلاديولس صـنف " White prosperity" على وسط MS المزود بتراكيز مختلفة من الأوكسينات والسايتوكاينينات أدى إلى تكوين الكالس بنسبة تراوحت بين ٧٠ - ٩٠ % من زراعة الأجزاء على الأوساط المزودة بـ ٢ ملغـم / لتـر 2,4-D + ٠,٦ملغم / لتر Kin و ٥ ملغم / لتر 2,4-D + ٢ ملغم / لتر Kin و ١ ملغم / لتر NAA + ١ ملغـم / لتر Kin و ١ ملغم / لتر NAA + ٠,٥ ملغم / لتر Kin في حين أن الأجزاء المزروعة على الأوساط المزودة بـ ١ ملغم / لتر IBA و ٥ ملغم / لتر BA + ٠,٥ ملغم / لتر NAA و ٤ ملغم / لتر BA

فشلت في تحفيز نشوء الكالس , وأن أكبر كمية كالس 'حصلَ عليها من معاملات ٢ ملغم / لتر 2,4-D +٠,٦ ملغم / لتر Kin و ٥ ملغم / لترD- 2,4 + ٢ ملغم / لتر Kin و ١ ملغم / لتر NAA + ١ ملغم / لتر Kin , كما في الشكل (٢) .

الجدول (٢) : تأثير إضافة NAA أو 2,4-D أو TDZ في وسط MS في استحداث الكالس من زراعة البراعم الطرفية الساكنة لنبـــات الكلاديـــولس *Gladiolus hybrida* للـــصنف "White prosperity"بعد ٨ أسابيع من الزراعة .

منظمات النمو	التراكيز (ملغم / لتر)	بدء استحداث الكالس (يوم)	الأجزاء التي كونت كالس (%)	كمية الكالس المتكون
NAA	٠,٠٠	صفر	صفر	صفر
	١,٠٠	٤٥	٢٠	+
	٢,٠٠	٤٧	٢٠	+
	٤,٠٠	٤٠	٣٠	+
	٦,٠٠	٣٥	٨٠	+++
2,4-D	٠,٠٠	صفر	صفر	صفر
	٠,٠١	صفر	صفر	صفر
	٠,٠٢	٤٣	٢٠	+
	٠,١	٤٠	٤٠	+
	٠,٢	٣٥	٧٠	++
TDZ	٠,٠٠	صفر	صفر	صفر
	١,٠٠	٤٢	٣٠	+
	٢,٠٠	٤٨	٢٠	+
	٣,٠٠	٤٥	٢٠	+
	٤,٠٠	٤٠	٨٠	++

صفر لم يتكون كالس + كالس قليل بقطر ٠,٥سم ++ متوسط بقطر ١سم ++ كالس بقطر ١,٥- ٢ سم

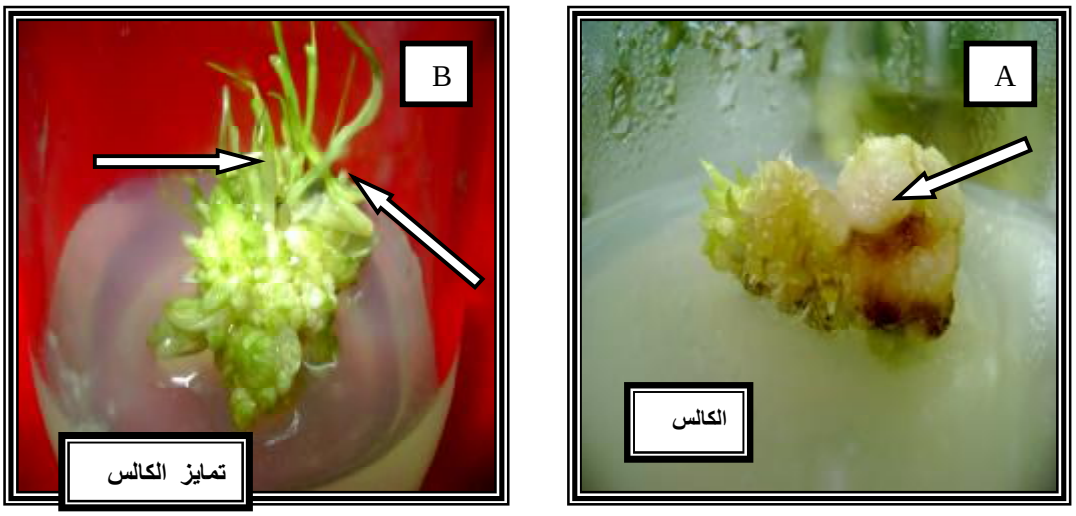
الجدول (٣) : تكوين الأفرع الخضرية من كالس البراعم الطرفيـــة الـــساكنة لنباتـــات الكلاديـــولس *Gladiolus hybrida* صنف " White prosperity " على بعض أوساط التمايز بعد ٨ أسابيع من الزراعة .

أوساط التمايز (ملغم / لتر)	تمايز الكالس(%)	عدد الأفرع / جزء نباتي	طول أطول فرع (سم)	عدد الجذور	طول أطول جذر(سم)
صفر (المقارنة)	صفر ج	صفر ج	صفر ج	صفر ج	صفر ج
١ ملغم / لتر Kin + ٠,١ ملغم / لتر NAA	٤٠ ب	٤ ب	٤,٤ ب	١١ب	٣,٢ ب
٢ ملغم / لتر Kin + ٠,٢ ملغم / لتر NAA	٨٠ أ	٩ أ	٥,٥ أ	١٥ أ	٤,٥ أ

*الأرقام ذات الأحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنويا فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال ٥ % .

الكالس المتكون عند التركيز ٥ ملغم / لتر 2,4-D + ٢ ملغم / لتر Kin زرع على وسط MS المزود بـــ صفر , ١ ملغم / لتر Kin , ٢ ملغم / لتر BA كما في الجدول (٥) إذ أعطى أعلى نسبة استجابة لتكوين الأفرع ٨٠ % من الزراعة على الوسط المزود بـــ ٢ ملغم / لتر BA مقارنة مع ٣٠ % للمعاملة ١ ملغم / لتر Kin وبعدد أفرع ٨ فرع / جزء نباتي مقارنة مع ٥ فرع / جزء نباتي للمعاملة ١ ملغم / لتر Kin , كما أن التركيز ٢ ملغم / لتر BA أعطى أعلى معدل لطول أطول فرع ٥ سم وأعلى

قيمة لعدد الجذور ١٦ جذر / جزء نباتي وأعلى معدل لطول أطول جذر ٥,٥ سم مقارنة مع ٣,٥ سم و٦ جذر / جزء نباتي و ٣ سم للأجزاء المزروعة عند المعاملة ١ ملغم / لتر Kin على التوالي مع ملاحظة أن الكالس في معاملة المقارنة لم يتمايز .



الشكل (١) : تمايز الكالس الناتج من زراعة البراعم الطرفية الساكنة لنبات الكلاديولس صنف " White prosperity " على الوسط MS المزود بـ ٦ ملغم / لتر NAA ثم زراعته على وسط MS مجهز بـ ٢ ملغم / لتر Kin + ٠,٢ ملغم / لتر NAA .

و الشكل (٣) يبين تكوين الكالس (٣ - A) وتمايزه (٣ - B) . قد يعود السبب في ذلك إلى اختلاف استجابة الأجزاء النباتية لتكوين الكالس تبعا لمكونات الوسط الغذائي وبالأخص منظمات النمو . وهذا يتوافق مع كل من Yasseen (٢٠٠٠) و Kasumi وآخرون (٢٠٠٤) في دراستهم للحصول على الكالس من زراعة أجزاء من جذر نبات الكلاديولس ومن ثم تخصص الكالس الناتج إلى أفرع .

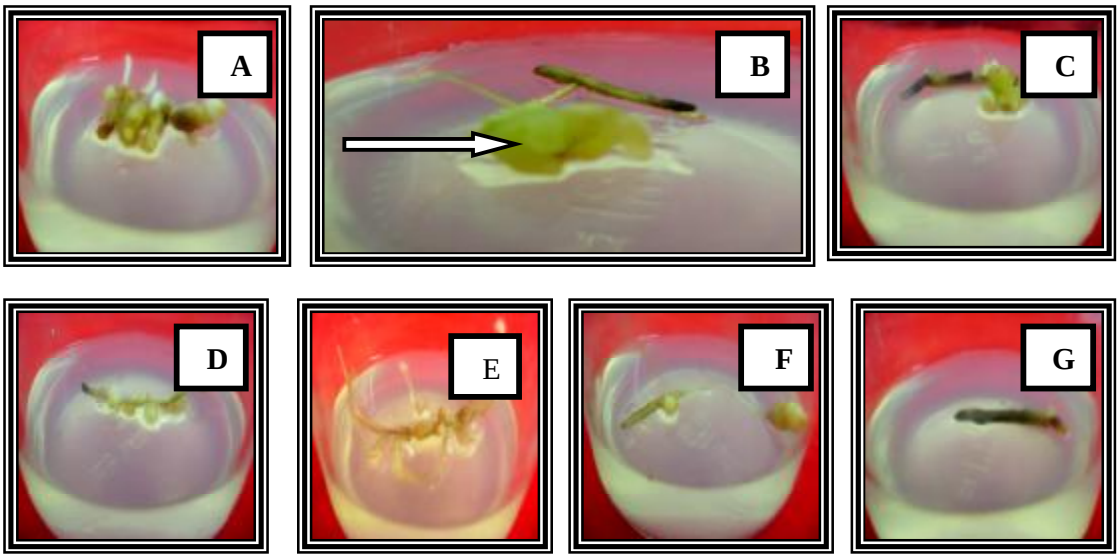
الجدول (٤) : تأثير إضافة تراكيز مختلفة من الاوكسين والسايتوكاينين وتداخلهما في استحداث الكالس من قطع جذور نبات الكلاديولس *Gladiolus hybrida* صنف" White prosperity " المزروعة على وسط MS الصلب بعد ١٠ أسابيع من الزراعة.

أوساط استحداث الكالس	بعد ١٠ أسابيع من الزراعة		
	بدء استحداث الكالس (يوم)	نسبة الاستحداث (%)	كمية الكالس
٢ ملغم / لتر 2,4-D + ٠,٦ ملغم / لتر Kin	٢٥ أ	٨٠ أ	++
٥ ملغم / لتر 2,4-D +٢ ملغم / لتر Kin	٢١ أ	٩٠ أ	+++
١ ملغم / لتر NAA + ١ ملغم / لتر Kin	٢٣ أ	٨٠ أ	+
١ ملغم / لتر NAA + ٠,٥ ملغم / لتر Kin	٢٧ أ	٧٠ أ	+
١ ملغم / لتر IBA	صفر ب	صفر ب	صفر
٥ ملغم / لتر BA + ٠,٥ملغم / لترNAA	صفر ب	صفر ب	صفر
٤ ملغم / لتر BA	صفر ب	صفر ب	صفر

*الأرقام ذات الأحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنويا فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال ٥ % .

صفر لم يتكون كالس + كالس قليل بقطر ٠,٥سم ++ كالس متوسط بقطر ١سم +++ كالس جيد بقطر ١,٥ - ٢سم

إن نجاح والبراعم والجذور في استجابتها لاستحداث الكالس لا سيما في الأوساط المحتوية على NAA أو 2,4-D أو TDZ ربما يعزى إلى الطاقة الكامنة (Totipotency) للخلايا مقترنة بوجود العوامل الداخلية المتعلقة بالتركيب الوراثي للخلايا النباتية ومستوى الهرمونات والفيتامينات فضلا عن توافق الوسط الغذائي والإضافة الخارجية لمنظمات النمو بالتراكيز الملائمة التي قد تعزز انقسام خلايا الأجزاء النباتية المختلفة التي قد تتباين قابليتها اعتمادا على مصدرها فالبراعم مراكز نمو تجذب تجاهها مواد النمو وهي مصنعة للـ IAA والجذور مناطق لتصنيع السايتوكاينينات وتمتاز مثل هذه الخلايا الموجودة في هذه الأجزاء النباتية على قدرتها على فقدان التمايز (Dedifferentiation) فتتحول إلى خلايا مرستيمية مرة أخرى كما يحدث في التئام الجروح (Margl وآخرون , ٢٠٠٢)

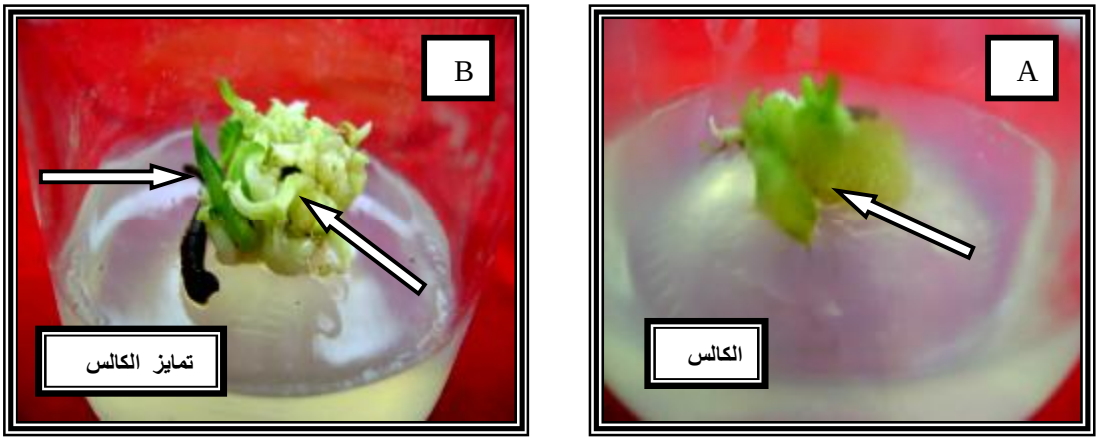


الشكل (٢) : الكالس المتكون من زراعة الجذرعلى أوساط MS لنبات الكلاديولس صنف " White prosperity "
المزود بـــ : A = ٢ ملغم / لتر 2,4-D + ٠,٦ ملغم / لتر Kin , B = ٥ ملغم / لتر 2,4-D + ٢ ملغم / لتر Kin
, C = ١ ملغم / لتر NAA + ١ ملغم / لتر Kin , D = ١ ملغم / لتر NAA + ٠,٥ ملغم / لتر Kin
, E + F + G = لم يتكون كالس .

الجدول (٥) : تأثير تراكيز مختلفة من منظمات النمو في تخصص كالس نبات الكلاديولس *Gladiolus hybrida* صنف " White prosperity " الناتج من زراعة الجذر على الوسط المزود بـــ ٥ ملغم / لتر 2,4-D + ٢ ملغم / لترKin بعد ٨ أسابيع من الزراعة.

منظمات النمو (ملغم / لتر)	تمايز الكالس (%)	عدد الأفرع / جزء نباتي	طول أطول فرع (سم)	عدد الجذور	طول أطول جذر (سم)
صفر (مقارنة)	صفر ج	صفر ج	صفر ج	صفر ج	صفر ج
١ Kin	٣٠ ب	٥ ب	٣,٥ ب	٦ ب	٣,٠ ب
٢ BA	٨٠ أ	٨ أ	٥,٠ أ	١٦ أ	٥,٥ أ

*الأرقام ذات الأحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنويا فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال ٥ % .



الشكل (٣) : تمايز الكالس الناتج من زراعة الجـذور لنبـات الكلاديـولس *Gladiolus hybrida* صـنف " White prosperity " على الوسط MS المزود بـ ٥ ملغم / لتر 2,4-D + ٢ ملغم / لتر Kin من زراعته على وسط MS مجهز بـ (٢) ملغم / لتر BA .

جميع الأفرع الناتجة من تمايز الكالس للأجزاء المختلفة فصلت وزرعت على وسط MS المزود بـ ١ ملغم / لتر IBA وجذرت بنسبة ١٠٠ % بعدها تم أقلمة النبيتات الناتجة في المختبر بنسبة بقاء ١٠٠ % هذه النباتات تم نقلها إلى الحقل لتنمو بشكل طبيعي الشكل (٤) .

الشكل (٤) نباتات الكلاديولس الناتجة من تمايز الكالس الناتج من زراعة الجذر والبرعم الطرفي الساكن وهي مزروعة في الحقل .

INDUCTION AND DIFFERENTIATION OF CALLUS FROM TERMINAL DORMANT BUDS AND ROOTS OF *Gladiolus hybrida*

Alaa Hashem. Y. Altaee Bashar. Z. Kassab bashi
College of Agriculture and Forestry – Mosul. Univ., Iraq

ABSTRACT

The present study was carried out in October . (2008) to April (2009), of Gladiolus plants " White prosperity " cv. terminal dormant buds length 0.5cm cultured on MS medium supplemented with NAA , 2,4-D , TDZ , BA . or 1cm part of root produced in vitro cultured in MS medium supplemented with different growth

regulator for callus induction and differentiation , data taken after 10 weeks . Data refers , highest percentage for callus formation was obtained from culture dormant terminal buds on MS medium supplemented with 6 mg/L NAA and this gave large amount of callus which need 35 days for induction , these callus cultured on MS medium free from hormones as control or supplemented with (1 mg/L kin + 0.1 mg/L NAA) or (2 mg/L kin + 0.2 mg/L NAA) the treatment at (2 mg/L kin + 0.2 mg/L NAA) gave significant effect for all parameter , high percentage 80% for callus differentiation and highest number of shoot 9 shoot / explant with highest shoot length 5.5 cm and highest number of root 15 root / explant with longer root 4.5 cm , callus cultured on control treatment did not differentiation . Callus obtained with percentage 70-90 from cultured parts of root on MS medium supplemented with (2 mg/L 2,4-D + o.6 mg/L NAA) , (5 mg/L 2,4-D + 2 mg/L kin) , (1 mg/L NAA + 1 mg/L kin) . Callus produced from (5 mg/L 2,4-D + o.6 mg/L kin) treatment cultured on MS medium supplemented with (0.0 , 1 mg/L kin , 2 mg/L BA) and this callus gave highest percentage 80% of shoots production from cultured on MS medium supplemented with 2 mg/L BA and highest shoot lengths 5 cm and highest number of root 16 root / explant and 5.5 cm length . shoots produced from Callus , cultured on MS medium with 1 mg/L IBA to rooting after that transport to laboratory to grow normally with survival 100%.

المصادر

خطاب ، محمود وعماد الدين وصفي (١٩٨٨) . أبصال الزينة . دار فجر الإسلام للطباعة والنشر /الإسكندرية .

داؤود ، خالد محمد و زكي عبد الياس (١٩٩٠) ، الطرق الإحصائية للأبحاث الزراعية . مطابع التعليم العالي / جامعة الموصل .

رسول ، طاهر نجم (١٩٨٨) . هندسة الحدائق . مطبعة جامعة الموصل ، ٢٢١ صفحة .

سلمان , محمد عباس (١٩٨٨) . أساسيات زراعة الخلايا والأنسجة النباتـــية . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة بغداد – العراق .

طواجن ، أحمد محمد موسى (١٩٨٧) . نباتات الزينة . مطبعة جامعة البصرة ، ٥٠٢ صفحة .

لارسون , روي ا (١٩٨٥) . مقدمة في نباتات الزينة . ترجمة . عبد الرحمن العريان وعبد العزيز كامـــل .الدار العربية للتوزيع والنشر .

Darvishi . E ; R . Zarghami ; C. A . Mishani. ; M .Omidi and A .Sarkhosh . (2006). *In Vitro* production of Pathogen – free plantlets via Meristem Culture in Saffron *(Crocus sativus*) . Biotechnology 5(3) : 292 – 295.

Goldblatt P and J . C . Manning (1998) . Gladiolus in Southern Africa Systematics, Biology, and Evolution , Fernwood Press, Cape Town .

Goo , D. H ; H . Y . Young and K .W. Kim (2003) . Differentiation of Gladiolus Plantlet from callus and subsequent flowering . Acta Horticulture 620: 339–343

Kasumi ، M ; Y. Takatsu ; K . Suzuki ; T . Gonai ; M . Nogi ; T . Yamada and T Manabe (2004) . Callus Formation and Plant Regeneration from root Explant of Gladiolus (*Gladiolus × grandiflora* Hort .) . J .Jpn . Soc. Vol . 4 , No . 1 April . 7.

Kim , K .W. and M . S . Kang and D . H . Goo (1991) . External and histological eristic of organogenesis form Gladiolus callus .. J . Kor . Soci . Hort Sci. 32 (1):125 - 130.

Margl , L ; A , Tei ; I , Gyurjan and M , Wink . (2002) . GLC – MS analysis of thiophene derivatives in plant and in *In Vitro* culture of *Tagetes patula* (Asteraceae) Z . Naturforsch . (57) : 63 – 71 .

Razdan , M . K . ; P . D. Fscg (2003) . Introduction to Plant Tissue Culture. Department of Botany Ramjas College , University of Delhi . INDIA

SAS (1996) . Statistical Analysis System , Release7, SAS . Institute . Inc . Cary. USA.

Yasseen . M . Y.(2000) . *In Vitro* somatic embryogenesis and plant regeneration from Gladiolus root explant.Annals of Agri . Sci . Ain Shams Univ, Cairo. 45 (2) : 647 - 657.