تمايز الكالس الناتج من زراعة البراعم الساكنة والجذور لنبات الزعفران *Crocus sativus*.

علاء هاشم يونس الطائي *

* مدرس - قسم البستنة و هندسة الحدائق - كلية الزراعة والغابات - جامعة الموصل.Alaa_altaee40@yahoo.com

المستخلص

أجريت هذه الدراسة في مختبر زراعة الخلايا والأنسجة النباتية التابع لقسم البستنة وهندسة الحدائق / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل خلال المدة من كانون الثاني إلى آب (٢٠١١) على نبات الزعفران (. *Crocus sativus L*) ، إذ زرعت براعم ساكنة بطول ٠.٥ سم على وسط MS المجهز بتراكيز مختلفة من منظمات النمو : NAA و2,4-D و TDZ بهدف استحداث الكالس و تمايزه . كما أخذت أجزاء من الجذور بطول ١ سم لنباتات ناتجة من الحقل وزرعت على وسط MS المجهز بمنظمات النمو المختلفة بهدف استحداث الكالس و تمايزه ، إذ بينت النتائج أن أعلى نسبة لتكوين الكالس (٩٠ %) تم الحصول عليها من زراعة البراعم الساكنة على وسط MS المزود بـ ٠.٢ ملغم / لتر 2,4-D والتي أعطت بدورها اكبر كمية كالس واحتاجت إلى ٢٩ يوما لبدء استحداث الكالس ، الكالس الناتج تمت زراعته على وسط MS الخالي من منظمات النمو (معاملة المقارنة) أو المزود بـ (١ ملغم / لتر Kin +٠.١ ملغم / لتر NAA) أو المزود بـ (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 الكالس (٨٠ %) وأعلى معدل لعدد الأفرع ١٠ فرع / جزء نباتي وبمعدل أطول فرع ٦.٥ سم وأعلى معدل لعدد الجذور ١٢ جذر/ جزء نباتي وبمعدل أطول جذر ٣.٨ سم أما الكالس المزروع في معاملة المقارنة فقد بقي بدون تمايز ، وتم الحصول على الكالس بنسبة تراوحت بين (٧٠ - ٩٠ %) من زراعة أجزاء من الجذور بينما تم 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 و ١ ملغم / لتر NAA + ١ ملغم / لتر Kin . الكالس الناتج عند التركيز ٢ ملغم / لتر 2,4-D + ٠.٦ ملغم / لتر Kin زرع على وسط MS المزود بـ صفر ، ١ ملغم / لتر Kin ، ٢ ملغم / لتر BA والذي أعطى أعلى نسبة استجابة لتكوين الأفرع بلغت (٩٠ %) من الزراعة على الوسط المزود بـ ٢ ملغم / لتر BA وأعلى معدل لعدد الأفرع ٧ فرع / جزء نباتي وأطول فرع ٥.٣ سم وأعلى قيمة لعدد الجذور ١٥ جذر / جزء نباتي وأعلى معدل لأطول جذر ٦.٦ سم ، مع ملاحظة أن الكالس في معاملة المقارنة لم يتمايز . زرعت الأفرع الناتجة من تمايز الكالس زرعت على وسط MSالمزود بـ ١ ملغم / لتر IBA بهدف تجذيرها ، بعدها نقلت إلى المختبر ومن ثم إلى الحقل لتنمو بشكل طبيعي وبنسبة بقاء ١٠٠ % .

الكلمات المفتاحية : الزعفران ، كالس الجذر ، كالس البرعم ، استحداث كالس الزعفران .

المقدمة

يعود جنس الزعفران *Crocus sativus* إلى العائلة السوسنية (Iridaceae) . تعتبر مناطق البحر الأبيض المتوسط الموطن الأصلي له (رسول ، ١٩٨٨ ; السلطان وآخرون ، ١٩٩٢) ، النبات قصير يتراوح طوله بين ٤-٧ سم وعديم الساق أزهاره قمعية الشكل ذات ألوان زاهية عديدة تتفتح عند وجود أشعة الشمس ، وهو نبات عشبي حولي من ذوات الفلقة الواحدة ، يتكاثر الزعفران جنسيا

تاريخ استلام البحث ٢٩ / ١١ / ٢٠١١ .
تاريخ قبول النشر ٤ / ٤ / ٢٠١٢ .

بالبذور وخضريا بزراعة الكورمات أو الكريمات (لارسون ، ١٩٨٥ ; طواجن ، ١٩٨٧ ; خطاب و وصفي ، ١٩٨٨) . دورة حياة كورمة الكروكس ٣ سنوات وتنتج الكورمة الواحدة ٥- ٨ أزهار . يضم جنس الزعفران ٨٠ نوعا . (خطاب ووصفي ، ١٩٨٨ ; السلطان وآخرون ، ١٩٩٢) . يعد إكثار

النبات خضريا من أهم التطبيقات العملية لزراعة الأنسجة في الوقت الحاضر ، إذ أمكن و باستخدام التقنيات المختلفة للزراعة النسيجية الحصول على أعداد كبيرة تصل إلى الملايين من النباتات المتجانسة وذلك من تضاعف الأفرع أو استحداث و تمايز الكالس إذ أوضح Darvishi وآخرون (٢٠٠٦) عند زراعتهم المرستيم القمي لنبات الزعفران *Crocus sativus* على وسط LS المجهز بتراكيز مختلفة من NAA و 2,4-D وثلاثة أنواع سايتوكاينينات هي BA ، Kin ، 2ip إن المعاملة بـ ٢ ملغم / لتر NAA + ٢ ملغم / لتر BA أدت إلى الحصول على الكالس . و تمكن الطائي (٢٠١٠) من خلال زراعة البراعم الساكنة لنبات الكلاديولس على وسط MS الحاوي على ٦ ملغم / لتر NAA من الحصول على الكالس ، وتمايز هذا الكالس إلى أفرع عند إعادة زراعته على الوسط MS الحاوي على ٢ ملغم / لتر Kin + ٠.٢ ملغم / لتر NAA . و من 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 عن 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 آو 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 .

تهدف هذه الدراسة إلى معرفة تأثير منظمات النمو المختلفة في استحداث الكالس وتمايزه إلى أفرع من زراعة البراعم الساكنة وأجزاء من الجذور لنبات الزعفران ثم تجذير الأفرع الناتجة وأقلمتها في المختبر ثم زراعتها في الحقل لإنتاج نباتات كاملة وسليمة .

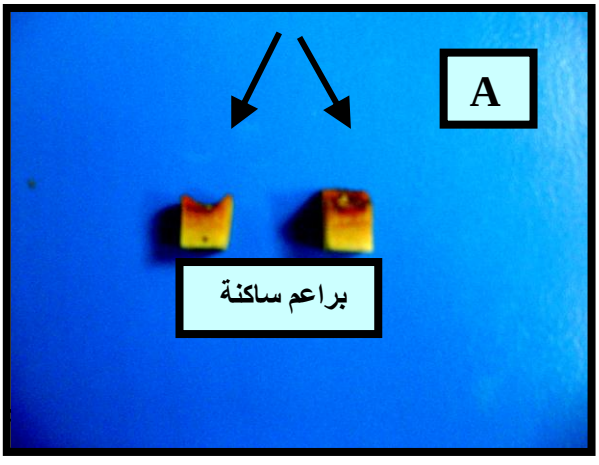
المواد وطرائق البحث

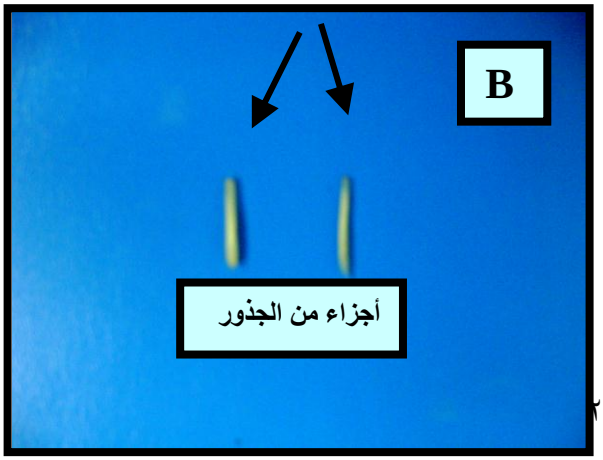
أجريت هذه الدراسة في مختبر زراعة الخلايا والأنسجة النباتية التابع لقسم البستنة وهندسة الحدائق / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل خلال المدة من كانون الثاني لغاية آب (٢٠١١) على نبات الزعفران ، إذ زرعت براعم ساكنة بطول ٠.٥ سم على وسط MS الصلب المحور الجدول (١) المجهز بمنظمات النمو التالية : NAA بالتراكيز (صفر ، ١.٥ ، ٢.٥ ، ٣.٥ ، ٤.٥) ملغم / لتر ، 2,4-D بالتراكيز (صفر ، ٠.٠٢ ، ٠.٠٣ ، ٠.١ ، ٠.٢) ملغم / لتر ، TDZ بالتراكيز (صفر ، ٠.٥ ، ١.٠ ، ٢.٠ ، ٤.٠) ملغم / لتر ، بهدف استحداث الكالس . الكالس الناتج من أفضل معاملة أعيدت زراعته على وسط MS المجهز بمنظمات النمو الآتية : (صفر ، ١ ملغم / لتر Kin +٠.١ ملغم / لتر NAA ، ٢ ملغم / لتر Kin+ ٠.٢ ملغم / لتر NAA) بعد تجزئته إلى حجم ٥ ملم^{3} بهدف تمايزه إلى أفرع وأخذت بياناتها بعد ثمانية أسابيع من الزراعة (Goo وآخرون ، ٢٠٠٣) . كما تمت زراعة أجزاء من الجذور بطول ١ سم لنباتات ناتجة من الحقل وزرعت على وسط MS المجهز بمنظمات النمو التالية : (٢ ملغم/لتر 2,4-D + ٠.٦ ملغم/لتر Kin) . (٥ ملغم/لتر 2,4 -D+ ٢ ملغم / لتر Kin) . (١ ملغم / لتر NAA + ١ ملغم / لتر Kin) . (١ ملغم / لتر NAA + ٠.٥ ملغم/لتر Kin) . (١ملغم/لتر IBA) . (٥ ملغم/لتر BA + ٠.٥ ملغم/لتر NAA) . (٤ ملغم / لتر BA) (Yasseen ، ٢٠٠٠ ; الطائي ، ٢٠١٠) . وأخذت البيانات بعد ١٠ أسابيع من الزراعة . الكالس الناتج من أفضل معاملة زرع على وسط MS المجهز بالتراكيز التالية من منظمات النمو (صفر ، ١ ملغم / لتر Kin ، ٢ ملغم / لتر BA) بعد تجزئته إلى حجم ٥ ملم^{3} بهدف تمايزه وأخذت بياناتها بعد ثمانية أسابيع من الزراعة (Yasseen ، ٢٠٠٠ ; Kasumi وآخرون ، ٢٠٠٤) . الأفرع الناتجة زرعت بعد فصلها على وسط MS المجهز بـ ١ ملغم / لتر IBA بهدف تجذيرها ، نقلت الأجزاء النباتية إلى إناء زجاجي معقم سعة واحد لتر في منضدة الزراعة وسكب عليها محلول هايبوكلورات الصوديوم التجاري NaOCl بنسبة ١٠ % حجم / حجم إلى أن غمرت الأجزاء النباتية كاملة ، وبعد انتهاء مدة التعقيم البالغة ١٠ دقائق غسلت الأجزاء النباتية بالماء المقطر والمعقم ثلاث

مرات متتالية لمدة ثلاث دقائق في كل 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 ثلاث دقائق لكل مرة نقلت بعد ذلك إلى منضدة الزراعة بعد تنشيفها بورق الترشيح لإزالة قطرات الماء المعلق بها في أطباق بتري معقمة وقطعت نهاياتها التي كانت ملامسة لمحلول التعقيم ليصبح طولها ٠.٥ سم وذلك باستعمال ملاقط مدببة النهاية وشفرة جراحية (الطائي ، ٢٠١٠) . استعملت لزراعة الأجزاء النباتية قنان زجاجية حجم٢٠٠سم^3 وضع بها٢٠ سم^3 من الوسط الغذائي ، وغُطِّيت فوهة القناني بورق الألمنيوم ، بعدها تم تعقيم الوسط الغذائي بجهاز المؤصدة (Autoclave) بدرجة حرارة ١٢١ مْ و ضغط ١.٠٤ كغم / سم^2 لمدة ٢٠ دقيقة وأجريت عملية الزراعة في منضدة انسياب الهواء الطبقي (Laminar – air – flow cabinet) ، بعدها نقلت الزروعات إلى غرفة النمو Growth Room تحت شدة إضاءة ٣٠٠٠ لوكس وطول فترة ضوئية ١٦ساعة / يوم مجهزة من أنابيب الفلورسنت البيضاء تعقبها ٨ ساعات ظلام وبدرجة حرارة ٢٥ ± ٢مْ . كل معاملة تكونت من عشرة مكررات كل مكرر احتوى على جزء نباتي واحد و وزعت المعاملات باستخدام التصميم العشوائي الكامل CRD و استعمل البرنامج الجاهز SAS (١٩٩٦) لتحليل البيانات وتم مقارنة المتوسطات حسب اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى احتمال ٥% (داؤود وعبد الياس ،١٩٩٠) .

جدول 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
My-Inositol	١٠٠	Nicotinic acid	٠.٥
Sucrose	٣٠٠٠٠	Glycine	٢.٠
Thiemine-HCl	٠.١	Agar-Agar	٦٠٠٠





شكل ١ . الأجزاء النباتية المستخدمة في الزراعة النسيجية لنبات الزعفران *Crocus sativus* .
A = البراعم الساكنة . B = أجزاء من الجذور .

النتائج والمناقشة

١- تأثير إضافة منظمات النمو إلى وسط الزراعة في استحداث الكالس من زراعة البراعم الساكنة :-

يبين الجدول (٢) تأثير كل من NAA و 2,4-D و TDZ في تكوين الكالس من زراعة البراعم الساكنة لنبات الزعفران *Crocus sativus* ، إذ أظهرت النتائج أن أعلى نسبة مئوية للأجزاء التي كونت الكالس (٩٠ %) تم الحصول عليها من زراعة البراعم الساكنة على وسط MS المزود بـ ٠.٢ ملغم / لتر 2,4-D ، والتي بدورها أعطت اكبر كمية كالس . واحتاجت البراعم إلى ٢٩ يوما لبدء استحداث الكالس .

جدول ٢ . تأثير إضافة NAA أو 2,4-D أو TDZ إلى وسط MS في استحداث الكالس من زراعة البراعم الساكنة لنبات الزعفران *Crocus sativus* بعد ٨ أسابيع من الزراعة .

منظمات النمو	التراكيز (ملغم / لتر)	بدء استحداث الكالس (يوم)	الأجزاء التي كونت كالس (%)	كمية الكالس المتكون
NAA	٠.٠٠	-	-	-
	١.٥٠	٥٠	٢٠	+
	٢.٥٠	٤٢	٣٠	+
	٣.٥٠	٤٤	٣٠	+
	٤.٥٠	٣٦	٦٠	++
2,4-D	٠.٠٠	-	-	-
	٠.٠٢	٤٥	١٠	+
	٠.٠٣	٤٤	٢٠	+
	٠.١	٣٧	٤٠	+
	٠.٢	٢٩	٩٠	+++
TDZ	٠.٠٠	-	-	-
	٠.٥٠	٥٠	٢٠	+
	١.٠٠	٤٦	٣٠	+
	٢.٠٠	٣٦	٦٠	++
	٤.٠٠	٤٠	٣٠	+

* - لم يتكون كالس + كالس قليل بقطر ٠.٥ سم ++ متوسط بقطر ١سم ++ كالس بقطر ١.٥- ٢ سم .

٢- تكوين الأفرع الخضرية من كالس البراعم الساكنة :

الكالس المتكون 'زرع على وسط MS خال من منظمات النمو (معاملة المقارنة) أو المزود بـ (١ ملغم / لتر Kin + ٠.١ ملغم / لتر NAA) أو المزود بـ (٢ ملغم / لتر 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 ، إذ تم الحصول على أعلى نسبة لتمايز الكالس المزروع (٨٠ %) وأعلى معدل لعدد الأفرع ١٠ فرع / جزء نباتي وبمعدل أطول فرع ٦.٥ سم وأعلى معدل لعدد الجذور ١٢ جذر / جزء نباتي وبمعدل أطول جذر ٣.٨ سم كما يبين الجدول أن الكالس المزروع في معاملة المقارنة لم يتمايز إلى أفرع أو جذور في حين تم الحصول على ٣ فرع / جزء نباتي بطول ٥.٢ سم و ٩ جذر / جزء نباتي وبطول ٢.٩ سم من الزراعة على الوسط المزود بـ ١ ملغم / لتر Kin + ٠.١ ملغم / لتر NAA . والشكل (٢) يبين تكوين الكالس وتمايزه ، قد تفسر النتائج على أساس حصول

حالة التوازن بين الهرمونات الموجودة في الجزء النباتي مع ما أضيف من منظمات نمو خارجية متمثلة بالاوكسينات و السايتوكاينينات و بالتالي حصول حالة تمايز الكالس المزروع (سلمان ، ١٩٨٨ ; Razdan ، ٢٠٠٣) ، وهذه النتيجة تتوافق مع ما وجده Goo وآخرون (٢٠٠٣) والطائي (٢٠١٠) في دراستهم لتمايز كالس نبات الكلاديولس .

جدول ٣ . تكوين الأفرع الخضرية من كالس البراعم الساكنة لنباتات الزعفران *Crocus sativus* على بعض أوساط التمايز بعد ٨ أسابيع من الزراعة .

أوساط التمايز (ملغم / لتر)	تمايزالكالس (%)	عدد الأفرع / جزء نباتي	طول أطول فرع (سم)	عدد الجذور	طول أطول جذر (سم)
صفر	- ج	- ج	- ج	- ج	- ج
١ ملغم / لتر Kin + ٠.١ ملغم / لتر NAA	٣٠ ب	٣ ب	٥.٢ ب	٩ ب	٢.٩ ب
٢ ملغم / لتر Kin + ٠.٢ ملغم / لتر NAA	٨٠ أ	١٠ أ	٦.٥ أ	١٢ أ	٣.٨ أ

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

شكل ٢ . تمايز الكالس الناتج من زراعة البراعم الساكنة لنبات الزعفران *Crocus sativus* على الوسط MS المزود بـ ٠.٢ ملغم / لتر 2,4-D بعد زراعته على وسط MS مجهز بـ (٢ ملغم/ لتر Kin + ٠.٢ ملغم / لتر NAA) .

١- تأثير إضافة منظمات النمو إلى وسط الزراعة في استحداث الكالس من زراعة أجزاء من الجذر:

يبين الجدول (٤) أن زراعة أجزاء من الجذر لنبات الزعفران على وسط MS المزود بتراكيز مختلفة من الأوكسينات والسايتوكاينينات أدت إلى تكوين الكالس بنسبة تراوحت بين (٧٠ -٩٠ %) من زراعة الأجزاء على الأوساط المزودة بـ ٢ ملغم / لتر 2,4-D + ٠.٦ملغم / لتر Kin ، ٥ ملغم / لتر 2,4-D + ٢ ملغم / لتر Kin ، ١ ملغم / لتر NAA + ١ ملغم / 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

، ٥ ملغم / لتر BA + ٠.٥ ملغم / لتر NAA و ٤ ملغم / لتر BA فشلت في تحفيز نشوء الكالس ، وأن أكبر كمية كالس تم الحصول عليها من معاملات ٢ ملغم / لتر 2,4-D + ٠.٦ ملغم / لتر Kin ، ٥ ملغم / لتر 2,4-D + ٢ ملغم / لتر Kin و ١ ملغم / لتر NAA + ١ ملغم / لتر Kin ، كما في الشكل (٣) .

٢- تكوين الأفرع الخضرية من كالس الجذر :

الكالس المتكون عند التركيز ٢ ملغم / لتر 2,4-D + ٠.٦ ملغم / لتر Kin والمزروع على وسط MS المزود بـ صفر ، ١ ملغم / لتر Kin ، ٢ ملغم / لتر BA (جدول ٥) أعطى أعلى نسبة استجابة لتكوين الأفرع (٩٠ %) عند الزراعة على الوسط المزود بـ ٢ ملغم / لتر BA مقارنة مع (٤٠ %) للمعاملة ١ ملغم / لتر Kin وبعدد أفرع ٧ فرع / جزء نباتي مقارنة مع ٤ فرع / جزء نباتي للمعاملة ١ ملغم / لتر Kin ، كما أن التركيز ٢ ملغم / لتر BA أعطى أعلى معدل لطول أطول فرع ٥.٣ سم ، وأعلى قيمة لعدد الجذور ١٥ جذر / جزء نباتي ، وأعلى معدل لأطول جذر ٦.٦ سم مقارنة مع ٣.٢ سم و٥ جذر / جزء نباتي و ٤ سم للأجزاء المزروعة عند المعاملة ١ ملغم / لتر Kin على التوالي مع ملاحظة عدم تمايز الكالس في معاملة المقارنة . والشكل (٤) يبين تكوين الكالس وتمايزه . قد يعود السبب في ذلك إلى اختلاف استجابة الأجزاء النباتية لتكوين الكالس تبعا لمكونات الوسط الغذائي و بالأخص منظمات النمو . وهذا يتوافق مع كل من Yasseen (٢٠٠٠) و Kasumi وآخرين (٢٠٠٤) والطائي (٢٠١٠) في دراستهم للحصول على الكالس من زراعة أجزاء من جذور نبات الكلاديولس ومن ثم يخصص الكالس الناتج إلى أفرع .

جدول ٤ . تأثير إضافة تراكيز مختلفة من الاوكسين والسايتوكاينين وتداخلهما في استحداث الكالس من قطع جذور نبات الزعفران *Crocus sativus* 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 / لترKin	٣٠ أ	٩٠ أ	+++
٥ ملغم / لتر 2,4-D + ٢ ملغم / لتر Kin	٣٦ أ	٨٠ أ	++
١ ملغم / لتر NAA + ١ ملغم / لتر Kin	٣٢ أ	٨٠ أ	+
١ ملغم / لتر NAA + ٠.٥ ملغم / لتر Kin	٣٥ أ	٧٠ أ	+
١ ملغم / لتر IBA	- ب	- ب	-
٥ ملغم / لتر BA + ٠.٥ ملغم / لتر NAA	- ب	- ب	-
٤ ملغم / لتر BA	- ب	- ب	-

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

- لم يتكون كالس

+ كالس قليل بقطر ٠.٥ سم

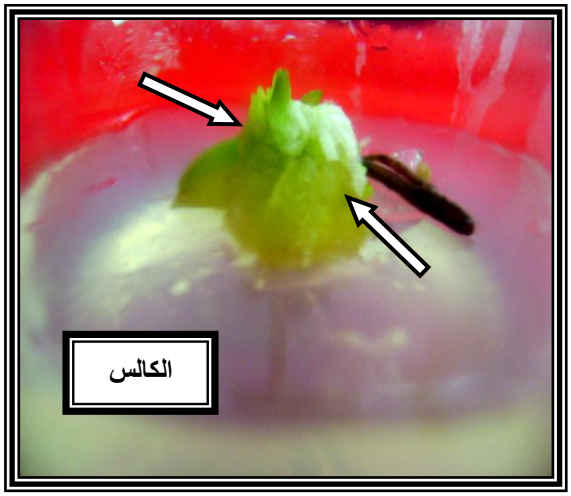
++ كالس متوسط بقطر ١ سم

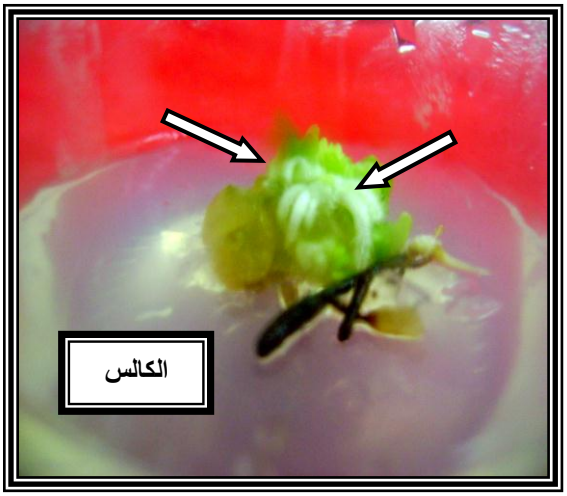
+++ كالس جيد بقطر ١.٥- ٢ سم

جدول ٥ . تأثير تراكيز مختلفة من منظمات النمو في تخصص كالس نبات الزعفران *Crocus sativus* الناتج عن زراعة الجذر على الوسط المزود بـ ٢ ملغم / لتر 2,4-D+ ٠.٦ ملغم / لتر Kin 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	- ج	- ج	- ج	- ج	- ج
١ Kin	٤٠ ب	٤ ب	٣.٢ ب	٥ ب	٤.٠ ب
٢ BA	٩٠ أ	٧ أ	٥.٣ أ	١٥ أ	٦.٦ أ

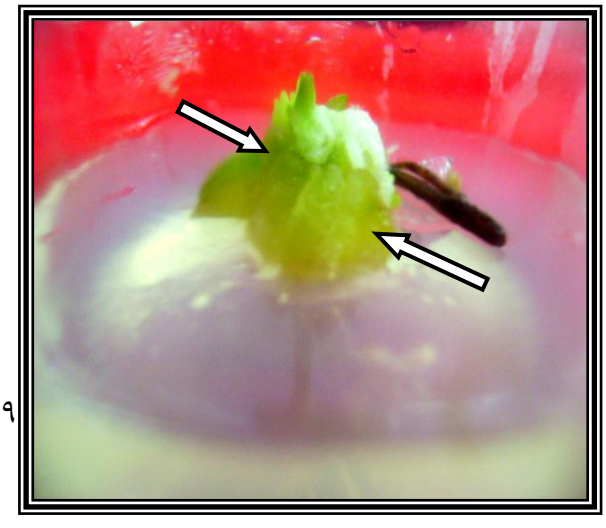
*الأرقام ذات الأحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنويا فيما بينها حسب اختبار دنكن المتعدد الحدود عند مستوى احتمال ٥ % .





شكل ٣ . الكالس المتكون من زراعة الجذر على وسط MS المزود بـ ٢ ملغم / لتر 2,4-D + ٠.٦ ملغم / لتر Kin لنبات الزعفران *Crocus sativus* .

إن استجابة البراعم والجذور لاستحداث الكالس في الأوساط المحتوية على NAA أو 2,4-D أو TDZ قد تعزى إلى الطاقة الكامنة (Totipotency) للخلايا مقترنة بوجود العوامل الداخلية المتعلقة بالتركيب الوراثي للخلايا النباتية ومستوى الهرمونات والفيتامينات ، فضلا عن توافق الوسط الغذائي مع الإضافة الخارجية لمنظمات النمو بالتراكيز الملائمة والتي قد تعزز انقسام خلايا الأجزاء النباتية التي قد تتباين قابليتها اعتماداعلى مصدرها ، فالبراعم مراكز نمو تجذب تجاهها مواد النمو و هي مصنعة للـ IAA ، بينما الجذور مناطق لتصنيع السايتوكاينينات و تمتاز مثل هذه الخلايا الموجودة في هذه الأجزاء النباتية بقدرتها على فقدان التمايز (Dedifferentiation) فتتحول إلى خلايا مرستيمية مرة أخرى كما يحدث في التئام الجروح (Margl وآخرون ، ٢٠٠٢) .



شكل ٤ . تمايز الكالس الناتج عن زراعة الجذر لنبات الزعفران *Crocus sativus* على الوسط MS المزود بـ ٢ ملغم / لتر 2,4-D + ٠.٦ ملغم / لتر Kin بعد 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 (الطائي ، ٢٠١٠) و جذرت بنسبة ١٠٠ % بعدها تمت أقلمة النبيتات الناتجة في المختبر بنسبة بقاء ١٠٠ % هذه النباتات تم نقلها إلى الحقل لتنمو بشكل طبيعي.

المصادر

السلطان ، سالم محمد وطلال محمود الجلبي و محمد داؤود الصواف . ١٩٩٢ . الزينة . مطابع دار الكتب للطباعة والنشر . جامعة الموصل . جمهورية العراق .

الطائي ، علاء هاشم يونس . ٢٠١٠ . إكثار نبات الكلاديولس *Gladiolus hybrida* خارج الجسم الحي . أطروحة دكتوراه . كلية الزراعة والغابات . جامعة الموصل .

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 و الأنسجة النباتية . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة بغداد . جمهورية 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 و عبد العزيز كامل . 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.

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 .

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 . and PH . 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 .

DIFFERANTIATION OF CALLUS PRODUCED FROM CULTURE DORMANT BUDS AND ROOTS OF *Crocus sativus* L .

Alaa Hashem. Y. Altaee*

*** College of Agriculture and Forestry –Univ. of Mosul -Iraq. Alaa_altaee40@.com**

ABSTRACT

The study was carried out in Plant Tissue Culture Laboratory Department of Horticulture and Landscape Design , College of Agriculture and Forestry , Mosul University, during the period from Jan till Aug 2011 of *Crocus sativus* were cultured dormant buds at length 0.5cm on MS medium supplemented with NAA , 2,4-D , TDZ . and 1 cm part of root produced in field cultured in MS medium supplemented with different growth regulator for callus induction and differentiation, Data refers that highest percentage for callus formation (90 %) was obtained from culturing dormant buds on MS medium supplemented with 0.2 mg/L 2,4-D this amount of callus needs 29 days for induction . this 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 10 shoot/explant with highest shoot length 6.5 cm and highest number of root 12 root/explant with longer root 3.8 cm) . Callus cultured on control treatment did not differentiate . Callus obtained with percentage 70 – 90 % from culturing roots parts on MS medium supplemented with 2 mg/L 2,4-D+0.6 mg /L NAA , 5 mg/L 2,4-D + 2 mg/L kin and 1 mg/L NAA + 1 mg/L kin . Callus produced from 2 mg/L 2,4-D + 0.6 mg/L NAA treatment cultured on MS medium supplemented with (0.0 , 1 mg/L kin , 2 mg/L BA) and this callus gave highest percentage (90%) of shoots production from culturing on MS supplemented with 2 mg/L BA and highest shoot lengths(5.3) cm and highest number of root (15 root/explant), and 6.6 cm length. Shoots produced from callus cultured on MS medium with 1 mg/L IBA to rooting transported to laboratory and field to grow normally gave 100 % survival percentage .

Key words : *Crocus sativus* , root callus , bud callus , crocus callus induction .