الاخلاف وأنتاج الكريمات من كالس نبات الكلاديولس صنفي White Prosperity وPriscilla خارج الجسم الحي

كاظم محمد إبراهيم* طارق علي العاني** مائدة حسين محمد***

تاريخ قبول النشر 2008/ 11/23

الخلاصة:

تم اخلاف النبيتات وانتاج الكريمات من كالس نبات الكلاديولس صنفي White Prosperity وPriscilla بهدف أكثار النبات نسيجياً وأنتاج الكريمات على مدار السنة. تضمنت الدراسة عدة تجارب شملت تأثير التداخل بين النفثالين حامض الخليك Naphthalene acetic acid (NAA) والكاينتين Kinetin (Kin) في استحثاث الكالس، وتأثير البنزل ادنين Benzyl adenine (BA) في أخلاف الأفرع من الكالس، فضلا عن دراسة تأثير الاوكسين (NAA) في تجذير الأفرع وللمدد الزمنية 30، 40 و50 يوماً. كما درس دور الوسط الزراعي (بتموس فقط، بتموس: تربة نهرية وتربة نهرية فقط) في نجاح النبيتات أثناء عملية الأقلمة. اظهرت النتائج ان التداخل بين الـ NAA والـ Kin أعطى أفضل استجابة لأستحثاث للكالس وذلك عند التداخل بالتركيزين (10.0، 0.5) ملغم/لتر لصنف White Prosperity و (5.0، 1.0) و(10.0، 0.5) ملغم/لتر لصنف Priscilla من NAA وKin على التوالي. حصلت أفضل استجابة للأخلاف من الكالس وللصنفين عند أضافة BA بتركيز 1.0 ملغم/لتر مع أعلى معدل لعدد الأفرع (6.2 فرعاً) وأطوالها (4.96 سم). وأعطى التركيز 0.5 ملغم/لتر NAA أعلى معدل للإستجابة على تكوين الافرع من إخلاف النبيتات من الكالس وللصنفين White Prosperity و Priscilla بلغت 100 و83.3% على التوالي. كما لوحظ زيادة في النسبة المئوية للتجذير، عدد وأطول الجذور مع زيادة المدة الزمنية (30، 40 و50 يوم) ولجميع الأجزاء ولكلا الصنفين. كما اظهرت النتائج تكوين الكريمات بعد 50 يوماً من مرحلة التجذير وبنسبة 100% وللصنفين المدروسين. بعدها نقلت النبيتات المكثرة الى وسط البتموس والذي ساهم في نجاح النبيتات مقارنة بالاوساط المدروسة الاخرى.

الكلمات المفتاحية: كلاديولي،كرومات، زراعة انسجة، اخلاف، منظمات نمو.

المقدمة:

يعد نبات الكلاديولس ***Gladiolus spp*** أحد أهم أزهار القطف في العالم[1] . ينتمي إلى العائلة السوسنية Iridaceae من ذوات الفلقة الواحدة [2]. ويعد الكلاديولس من النباتات المهمة تجارياً نظراً لجمال أزهاره الصالحة للقطف ولانتظامها على محور الشمراخ الزهري، لذلك أعتبر نبات الكلاديولس في مقدمة النباتات التي تزرع لانتاج أزهار القطف التجارية [3]. استخدمت تقنية زراعة الأنسجة النباتية في إكثار نباتات الزينة ومنها نبات الكلاديولس[6,5,4]، مما أدى إلى زيادة الطلب على أزهار القطف وامكانية التصدير بكميات كبيرة، حيث لاقت النباتات المكثرة نسيجيا طلباً متزايداً في الأسواق العالمية ومنها الكلاديولس لما تمتاز به من تجانس Uniformity في النمو والشكل.

لقد اجرى Ziv وآخرون [6] دراسة حول استجابة الاجزاء النباتية لصنفين من الكلاديولس هما Sans Souci و Jo Wago لاستحثاث الكالس بزراعة البراعم، اجزاء من العقدة وحوامل النورة الفتية حيث نجحت الاخيرة في استحثاث الكالس مقارنة بالاجزاء الاخرى وذلك بأضافة الوسط الغذائي MS المزود بالاوكسين NAA بتراكيز 5.0-10.0 ملغم/لتر والسايتوكاينين Kin بتركيز 0.5 ملغم/لتر وتم تحضينها في الظلام. واشار Bajaj وآخرون [7] ان استخدام حامل النورة الزهرية، الكريمات، البراعم، الاوراق والمتوك في استحثاث الكالس لصنفين من الكلاديولس هما Oscar وSnow Princess على وسط MS المجهز بـ 10.0 ملغم NAA /لتر و 0.5 ملغم Kin /لتر، استجابت جميع الاجزاء النباتية المزروعة لتكوين الكالس الا ان المتوك فقد اعطت اعلى استجابة عند زراعتها في وسط MS المجهز بـ 0.5 ملغم 2,4-D /لتر و0.1 ملغم Kin /لتر و5% CM بعد 6-8 اسابيع. وجد Simonsen وHildebrandt [5]ان استخدام الـ Kin بتركيز 0.5 ملغم/لتر وNAA بتركيز 0.1 ملغم/لتر قد اعطى أخلاف للكالس من البراعم لصنفي الكلاديولس Frimament وHit Parade. كما قام Ginzburg وZiv [8] باستخدام حوامل النورة لصنف الكلاديولس White Friendship في أخلاف الكالس حيث أعطت افضل اخلاف عند اضافة 0.5 ملغم/لتر Kin. اما تأثير التداخل بين الـ NAA والـ Kin فقد أعطى أستجابة اقل مما

*قسم التقانة الإحيائية /كلية العلوم/ جامعة النهرين
**قسم علوم الحياة /كلية العلوم للبنات/ جامعة بغداد
*** قسم العلاج التجريبي/ المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية/ الجامعة المستنصرية

اظهره الـKin لوحده. ودرس Badriah وآخرون [9]اخلاف النبيتات من كالس نبات الكلاديولس لصنفي White Friendship وMalang Stripe على وسط MS المجهز بـ 0.5، 1.0، 2.0 و5.0 ملغم/لتر Kin وقد أعطى التركيز 2.0 ملغم/لتر Kin أعلى استجابة للاخلاف. كما اشار Goo وآخرون [10] الى ان أفضل أخلاف للنبيتات من كالس نبات الكلاديولس قد حصل باستخدام توليفة من الـ Kin بتركيز 1.0 ملغم/لتر وNAA بتركيز 0.01 ملغم/لتر حيث كانت نسبة الإخلاف وتكوين أفرع وجذور 90%.

اما Ziv [11] فقد قام بتجذير أفرع نبات الكلاديولس صنف Eurovision على وسط MS بنصف القوة والمجهز بـ 0.5 ملغم NAA /لتر مع أضافة 0.3% من الفحم المنشط Activated Charcoal (AC) و15 غم سكروز /لتر و 0.4ملغم Thiamin-HCl /لتر. وذكر Karintanyakit وآخرون [12] ان أفرع صنفي الكلاديولس Priscilla وSummer Rose قد تم تجذيرهما على وسط MS والمجهز بـ 0.1-0.5 ملغم NAA /لتر والذي أعطى جذورا بعد 2-4 أسابيع وكريمات حيث كون الصنف Priscilla 5.6 كريمات، بينما أعطى صنف Summer Rose 10 كريمات. واشار Ziv [11] الى نقل النبيتات المجذرة لنبات الكلاديولس صنف Eurovision الى أصص تحوي 2 حجم تربة رملية و1 حجم بتموس والتي غطيت في الأسبوع الأول باكياس بلاستيكية. وفي دراسة لنفس الصنف قام بها Ziv [13] حيث نقل النبيتات المجذرة الى أصص تحوي 1 حجم بتموس و1 حجم تربة رملية ونقلت الى البيت الزجاجي مباشرة على درجة حرارة 25± 1 °م.

يهدف البحث الى الإكثار الدقيق وانتاج الكريمات من كالس صنفين من الكلاديولس هما White Prosperity وPriscilla، ثم عمل برنامج متكامل لإكثار النبات نسيجياً ابتداءاً من اختيار الجزء النباتي مروراً بإنتاج الكريمات وانتهاءاً بأقلمة الشتلات آملين أن تدخل نتائج هذا المشروع الحيز التجاري في إنتاج الكورمات وبيعها بدل استيرادها سنوياً وبالعملة الصعبة.

المواد وطرائق العمل:

استخدمت البراعم الابطية للحوامل الزهرية، الأوراق الفتية، السيقان الفتية، المتوك والاجزاء الخضرية (الافرع) في استحثاث الكالس، غمرت الأجزاء النباتية بالكحول الاثيلي C_2H_5OH تركيز 70% لمدة دقيقة واحدة، ثم غسلت بالماء المقطر المعقم، بعدها عقمت بمحلول هايبوكلورات الصوديوم NaOCl تركيز 2% لمدة 10 دقائق، ثم غسلت الأجزاء النباتية بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات.

زرعت على الوسط الغذائي MS لدراسة تأثير التداخل بين NAA وKin حيث كانت تراكيز الـ NAA (0.0، 1.0، 3.0، 5.0 أو10.0) ملغم/لتر، أما الـ Kin فكانت تراكيزه (0.0، 0.5، 1.0، 3.0، أو5.0) ملغم/لتر وبواقع 5 مكررات وجزئين لكل مكرر. اخذت الملاحظات عن استحثاث الكالس وأعيدت زراعته Sub culture لعدة مرات وعلى نفس وسط استحثاث الكالس لحين الحصول على الكمية المناسبة للشروع في تجربة الإخلاف Regeneration. ولاخلاف النباتات من الكالس فقد زرع الكالس على وسط MS المزود بالـ BA بالتراكيز (0.0 0.25، 0.5، 0.75، 1.0 أو2.0) ملغم/لتر وبواقع 5 مكررات لكل تركيز وجزئين لكل مكرر. بعد 50 يوماً من الزراعة اخذت الملاحظات عن النسبة المئوية للإخلاف وعدد الأفرع واطوالها. استخدمت النموات الناتجة من الاخلاف ونقلت إلى أوساط التجذير. حيث درس تأثير الـ NAA بتراكيز (0.0، 0.1، 0.3، 0.5، 1.0، 1.5 أو2.0) ملغم/لتر على تجذير الأجزاء النباتية للصنفين المدروسين. حضنت الزروعات تحت نفس الظروف السابقة وأخذت القياسات بعد 30، 40، و50 يوماً من الزراعة، حيث تم حساب النسبة المئوية للتجذير وعدد الجذور وأطوالها.

أختيرت النبيتات المتجانسة قدر الإمكان، أستخدم البتموس Peat moss وتربة ضفاف الأنهر وزرعت في أصص بلاستيكية وبمعدل 10 مكررات ولكل من الأجزاء المدروسة حيث أحتوى الوسط الأول على تربه نهرية والثاني على بتموس، أما الوسط الثالث فقد أحتوى خليط من تربة نهرية وبتموس بنسبة 1:1 (حجم/حجم). مع مراعاة السقي المستمر للنبيتات بالماء الحاوي على المبيد الفطري Benomyl بتركيز 0.6 غم/لتر. سجلت القياسات أسبوعياً والتي تضمنت النسبة المئوية للنجاة (Survival).

أستخدم التصميم العشوائي الكامل (CRD) وبعدد مكررات حسب ما ورد سابقا لكل تجربة، خضعت النتائج إلى تحليل التباين وأيجاد أقل فرق معنوي باحتمال 0.05 .

النتائج والمناقشة:

تأثير الاوكسينات والسايتوكاينينات في إستحثاث نسيج الكالس

اظهرت النتائج إن معظم الأجزاء النباتية المدروسة لم تستجب لإستحثاث الكالس بأستثناء الأجزاء النباتية الناشئة من نشوء الزروعات للبراعم الآبطية للحوامل الزهرية (على وسط MS

المجهز بـ 2.0 ملغم BA /لتر) لإستحثاث الكالس (صورة 1) مما يدل على صعوبة إستحثاث الكالس من الكلاديولس، حيث لم تستجب الأوراق الفتية، السيقان الفتية والبراعم الإبطية للحوامل الزهرية، ، وقد يعود السبب في عدم إستجابة الأجزاء النباتية المذكورة أعلاه لإستحثاث الكالس الى محتواها القليل من هرمونات النمو الداخلية[14]. وقد يرجع إلى التباين الموجود بين الأجزاء النباتية حيث تختلف الأستجابة لتكوين الكالس من جزء نباتي لآخر، كذلك نوع الخلايا في هذهِ الأجزاء. أما الأجزاء النباتية التي أعطت كالساً فقد يرجع السبب في ذلك الى حداثة (Juvenile) هذه الأجزاء وكون خلاياها مرستيمية نشطة وزيادة في محتواها الداخلي من هرمونات النمو [16,15].

تشير بيانات الجدول (1) الى إن أعلى إستجابة للإستحثاث كانت بوجود تراكيز عالية من الـ NAA وتراكيز منخفضة من الـ Kin في التداخل (10.0، 0.5) ملغم/لتر على التوالي يليها التداخل (10.0، 1.0) ملغم/لتر لصنف White Prosperity و(10.0،0.5) و(5.0، 1.0) ملغم/لتر لصنف Priscilla. ربما يعود السبب في إستحثاث الكالس إلى حدوث توازن بين الأوكسينات والسايتوكاينينات المضافة للوسط الزرعي مع الهرمونات الموجودة داخل الخلايا التي تعمل معا على إستطالة المحور الطولي للخلايا وتشجيع الإنقسام الخلوي[17]. وقد يعود السبب أيضاً إلى التداخل بين دور السايتوكاينين المعروف في تشجيع إنقسام الخلايا ودور الأوكسين التحفيزي على الإنقسام بوجود السايتوكاينين[18]. وبهذا أدى التداخل إلى حدوث زياده في إنقسام الخلايا وتكون نسيج الكالس، ويعتقد إن دور السايتوكاينين يرجع إلى منعه أكسدة الأوكسين الطبيعي IAA مما أدى إلى الحفاظ على مستواه الداخلي في الجزء المزروع[19].

إن هذهِ النتائج تتفق مع ما أشار اليهِ Kumar وآخرون [20] في إستحثاث الكالس من الكلاديولس عند أضافة مستويات مختلفة من الـ BA والـ NAA، إذ حصلت أفضل إستجابة باضافة 1.0 ملغم BA /لتر و10.0 ملغم NAA /لتر. وكذلك Ziv وآخرون [6]، Wilfret [4] وBajaj وآخرون [9] والذين أستحثوا الكالس من الكلاديولس بإستخدام تراكيز مختلفة من الـ NAA والـ Kin، حيث أكدوا على إن المستويات العالية من الـ NAA والمنخفضة من الـ Kin أعطت كالساً جيداً. بينما أشارت بحوث أخرى الى دور الـ 2,4-D والـ BA في إستحثاث الكالس من عدد من نباتات الزينة [23,22,21] وللكلاديولس [24]، بينما أشار Goo وآخرون [10] الى ان أضافة الـ NAA بتركيز 1.0 ملغم/لتر ادى الى إستحثاث الكالس من الكلاديولس.

جدول (1): أستجابة صنفين من الكلاديولس لنشوء الكالس عند أضافة تراكيز مختلفة من الـ Kin والـ NAA الى وسط MS للأجزاء النباتية الناتجة من نشوء الزروعات للبراعم الأبطية للحوامل الزهرية*

الأصناف	تركيز الـ Kin (ملغم/لتر)	تركيز الـ NAA (ملغم/لتر)				
		0.0	1.0	3.0	5.0	10.0
White Prosperity	0.0	-	-	-	-	-
	0.5	-	-	+	++	++++
	1.0	-	+	-	+	+++
	3.0	-	+	-	-	+
	5.0	-	-	-	-	-
Priscilla	0.0	-	-	-	+	-
	0.5	-	+	++	++	+++
	1.0	-	-	++	+++	+
	3.0	-	-	-	+	-
	5.0	-	-	-	+	-

*(-) عدم تكوين الكالس
(+) نسبة الإستجابة من 1-25%
(++) نسبة الإستجابة من 25-50%
(+++) نسبة الإستجابة من 50-75%
(++++) نسبة الإستجابة من 75-100%

تأثير البنزل ادنين BA في إخلاف النباتات من نسيج الكالس

يوضح الجدول (2) وجود فروقات معنوية بين الصنفين قيد الدراسة، إذ تفوق الصنف White Prosperityمعنويا على الصنف Priscilla وبلغت معدلاتهما 33.3 و18.3% على التوالي. كما ظهرت فروقات معنوية بين التراكيز المستخدمة، وبلغ أعلى معدل للإخلاف 55% في الوسط المجهز بـ 1.0 ملغم BA /لتر، بينما لم تستجب معاملة السيطرة للإخلاف. أما التداخل بين الصنفين والتراكيز المستخدمة فهو الآخر كان معنوياً، إذ أعطى الصنف White Prosperity المزروع على الوسط المجهز بـ 1.0 ملغم/لتر BA أعلى معدل للإخلاف بلغ 80% بينما حصل أعلى إخلاف في الـ Priscilla بتركيز 0.75 ملغم/لتر (50%) (صورة 2) بالمقارنة مع معاملة السيطرة والتي لم تظهر أي إستجابة ولكلا الصنفين.

إن تكوين الأعضاء Organogensis من الكالس يحدث عن طريق التغيير في المكونات الغذائية والهرمونية في وسط الزراعة [25]. وإن الحاجه للأوكسين والسايتوكاينين أو أحدهما لإحداث التمايز في الكالس تختلف تبعاً للنوع النباتي ومحتواه الداخلي من هذهِ المواد [26]، مما يؤدي الى تحفيز قسم من الخلايا المكونة للنسيج إلى مناطق مرستيمية مشابهة للقمة النامية وظهور بادئات الاوراق [27]. الإ أن إضافة الأوكسينات أو السايتوكاينينات إلى أوساط الزراعة لم يحفز تمايز الاعضاء في جميع التراكيز، وهذا ناشئ عن الإختلاف في المحتوى الداخلي لهذه المواد حسب طبيعة النسيج والنوع النباتي [28]. ان هذهِ النتائج لاتتفق مع Kang وChoi [29] عند دراستهما إخلاف النبيتات من كالس نبات الكلاديولس واللذان أشارا إلى أن تحفيز تكوين الأجنة الجسمية من الكالس يتم بالمعاملة بمستويات منخفضة من الـ BA (0.01 أو0.1) ملغم/لتر أو بدونه. بينما

أشارت بحوث أخرى إلى أمكانية إخلاف الكالس من نبات الكلاديولس باستعمال توليفات من الأوكسين والسايتوكاينين[30,10].

جدول (2): تأثير الـ BA في النسبة المئوية لإخلاف النبيتات من نسيج الكالس بعد 50 يوماً من نقلها الى وسط الأخلاف لصنفي الكلاديولس

تركيز الـ BA (ملغم/لتر)	White Prosperity	Priscilla	المعدل
0.0	0.0	0.0	0.00
0.25	60.0	20.0	40.00
0.5	20.0	10.0	15.00
0.75	30.0	50.0	40.00
1.0	80.0	30.0	55.00
2.0	10.0	0.0	5.00
المعدل	33.33	18.33	
LSD (0.05)	للأصناف 11.96	للتراكيز 20.73	للتداخل 29.318

كما أظهرت بيانات جدول (3) عدم وجود فروقات معنوية بين الصنفين في معدل عدد الأفرع المتكونة وأطوالها. وكان لمستويات الـ BA تأثير معنوي في زيادة عدد وأطوال الأفرع، فقد أعطى الكالس النامي في الوسط المجهز بـ1.0 ملغم BA /لتر أعلى معدل لعدد الأفرع وأطوالها بلغ 6.2 فرعاً و4.96 سم على التوالي مقارنة بمعاملة السيطرة. ولم يكن للتداخل بين الصنفين تأثير معنوي في عدد وأطوال الأفرع.

جدول (3): تأثير الـ BA في عدد وأطوال الأفرع الناتجة من إخلاف نسيج الكالس بعد 50 يوماً من نقلها الى وسط الأخلاف لصنفين من الكلاديولس

تركيز الـBA(ملغم/لتر)	عدد الأفرع للصنفين		المعدل	أطوال الأفرع(سم) للصنفين		المعدل
	White Prosperity	Oscar		White Prosperity	Oscar	
0.0	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.00
0.25	3.4	1.8	2.60	3.1	0.7	1.92
0.5	0.8	0.8	0.80	5.0	1.04	3.02
0.75	2.4	2.8	2.60	2.6	3.3	3.00
1.0	8.2	4.2	6.20	6.2	3.4	4.96
2.0	0.6	0.0	0.30	1.6	0.0	0.80
المعدل	2.56	1.60		3.15	1.42	
LSD (0.05)	للأصناف غ.م للتراكيز 2.614 للتداخل غ.م			للأصناف غ.م للتراكيز 2.43 للتداخل غ.م		

إن هذهِ النتائج تتفق مع Ziv [11] عند أكثاره نبات الكلاديولس صنف Eurovision والذي أشار الى أن إخلاف النبيتات من الكالس يعتمد على وجود السايتوكاينين، بعد أن أضاف تراكيز مختلفة من الـ Kin إلى وسط MS، وحصل على أفضل إستجابة عند التركيز 2.0 ملغم/لتر Kin والذي أنتج 5-8 أفرع. بينما حصل Logan وZattler [31] على أفضل إستجابة عند التركيز 1.0 ملغم/لتر Kin والذي أنتج 11-15 فرعاً. أما Hussey [32] حصل على معدل 6 أفرع باستخدام 0.5 ملغم BA /لتر عند أكثارهُ لنبات الكلاديوس صنف Forest Fire.

تأثير الـ NAA في النسبة المئوية تجذير الأفرع الناتجة من الكالس

يوضح جدول (4) وجود فروقات معنوية بين الصنفين اذ تفوق الصنف White Prosperity واعطى نسبة تجذير مقدارها 89.52% واختلف معنوياً على الصنف Priscilla والذي اعطى نسبة تجذير 48.11%. كما حصلت اختلافات معنوية في نسبة التجذير باختلاف تركيز الـ NAA المضاف الى الوسط الغذائي، إذ أعطى التركيزان 0.5 و2.0 ملغم/لتر أعلى معدل للتجذير لصنف White Prosperity بلغ 100% لكل منهما مقارنة بمعاملة السيطرة (53.3%)، وأعطى التركيز 0.5 ملغم/لتر أعلى معدل لصنف Priscilla بلغ 83.33% (صورة 3) بينما أعطى التركيز 2.0 ملغم/لتر أقل معدل بلغ 23.3%. وتفوقت المدة 50 يوماً ولكلا الصنفين معنوياً (77.85%) على المدتين 30 و40 يوماً اللتين بلغت معدلاتهما 57.88 و70.71% على التوالي. ولم يظهر التداخل الثلاثي أي فروقات معنوية.

جدول (4): تأثير الـ NAA في النسبة المئوية لتجذير الأفرع الناتجة من اخلاف الكالس بعد 30، 40 و50 يوماً من نقلها الى وسط التجذير

الأصناف	المدة الزمنية (يوم)	تراكيز الـ NAA (ملغم/لتر)							المعدل	معدل المدد الزمنية
		0.0	0.1	0.3	0.5	1.0	1.5	2.0		
White Prosperity	30	40	80	80	100	80	80	100	80.0	57.88
	40	60	100	100	100	100	100	100	92.3	70.71
	50	60	100	100	100	100	100	100	94.3	77.85
	المعدل	53.3	93.3	93.3	100.0	93.3	93.3	100.0	89.5	
Priscilla	30	20	30	50	70	40	20	20	35.8	
	40	40	50	60	80	50	30	20	47.14	
	50	40	60	80	100	80	40	30	61.43	
	المعدل	33.3	46.6	27.1	83.3	56.6	30.0	23.3	48.11	
المعدل العام للصنفين		43.3	69.9	60.2	91.6	74.9	61.6	61.6		
LSD (0.05)	للصنفين 9.81 للتراكيز 18.36 للأيام 12.02 للتداخل الثلاثي غ.م									

تأثير الـ NAA في معدل عدد وأطوال الجذور

تبين نتائج الجدول (5) تفوق الصنف White Prosperity معنوياً على الصنفPriscilla حيث بلغت معدل عدد الجذور لهما 10.68 و4.73 جذراً على التوالي. كما أظهرت النتائج وجود فروقات معنوية لتأثير مستويات الـ NAA، إذ أعطى التركيز 0.1 ملغم/لتر لصنف White Prosperity أعلى معدل لعدد الجذور بلغ 13.93 جذراً مقارنة بمعاملة السيطرة والتي أعطت أقل معدل 3.26 جذراً. وفي صنف Priscilla أعطى التركيز 0.5 ملغم/لتر أعلى معدل لعدد الجذور وصل الى 8.40 جذراً، بينما أعطى التركيز 2.0 ملغم/لتر أقل معدل بلغ 1.40 جذراً. وتفوقت المدة 50 يوماً معنوياً على المدتين 30 و40 يوماً حيث بلغت معدلاتها 9.61، 5.75 و7.75 على التوالي. ولم يعطِ التداخل الثلاثي فروقات معنوية.

جدول (5): تأثير الـ NAA في معدل عدد الجذور المتكونة على الأفرع الناتجة من أخلاف الكالس بعد نقلها الى وسط التجذير

الأصناف	المدة الزمنية(يوم)	تراكيز الـ NAA (ملغم/لتر)							المعدل	معدل المدد الزمنية
		0.0	0.1	0.3	0.5	1.0	1.5	2.0		
White Prosperity	30	1.6	11.2	6.6	12.0	8.4	10.0	9.0	8.40	5.75
	40	3.4	14.2	12.2	12.8	10.6	12.2	11.0	10.91	7.75
	50	4.8	16.4	13.6	15.0	13.8	13.0	12.6	12.74	9.61
	المعدل	3.26	13.93	10.80	13.26	10.93	11.73	10.86	10.68	
Priscilla	30	1.0	6.2	3.4	6.6	2.2	1.4	1.0	3.11	
	40	1.6	7.4	9.6	7.6	3.0	2.0	1.0	4.60	
	50	2.6	9.0	11.8	11.0	5.0	3.8	2.2	6.48	
	المعدل	1.73	7.53	8.26	8.40	3.40	2.40	1.40	4.73	
المعدل العام للصنفين		2.48	10.7	9.53	10.83	7.15	7.06	6.13		
LSD (0.05)	للصنفين 1.44 للتراكيز 2.69 للأيام 1.76 للتداخل الثلاثي غ.م									

وفيما يخص معدل أطوال الجذور فقد أظهرت نتائج الجدول (6) وجود فروقات معنوية بين الصنفين المدروسين، إذ تفوق الصنف White Prosperity البالغ معدل طول الجذور فيهِ 1.52 سم معنوياً على الصنف Priscilla والذي بلغ معدلهُ 0.62 سم. وكان لمستويات الـ NAA تأثير معنوي هي الأخرى، إذ تفوق التركيز 0.1 ملغم/لتر لصنفWhite Prosperity معنوياً (2.18 سم) في أطوال الجذور مقارنة بمعاملة السيطرة (1.04 سم)، بينما أعطى التركيز 0.5 ملغم/لتر لصنف Priscilla أعلى معدل بلغ 1.05 سم وأعطى التركيز 2.0 ملغم/لتر أقل معدل بلغ 0.11 سم. وبذلك فأن أطوال الجذور قد أنخفضت مع زيادة تراكيز الـ NAA وهذا يتفق مع Karintanyakit وآخرون [13] الذين استخدموا الـ NAA بالتراكيز 0.1-0.5 ملغم/لتر في تجذير أفرع صنفين من الكلاديولس هما Priscilla وSummer Rose. وتفوقت المدة 50 يوماً معنوياً والذي بلغ مقدار أطوال الجذور فيها 1.59 سم على المدتين 30 و40 يوماً واللتين بلغت معدلاتهما 0.56 و1.06 سم على التوالي. ولم يظهر تأثير التداخل الثلاثي وجود فروقات معنوية.

جدول (6): تأثير الـ NAA في معدل أطوال الجذور للأفرع الناتجة من أخلاف الكالس بعد نقلها الى وسط التجذير (سم)

الأصناف	المدة الزمنية(يوم)	تراكيز الـ NAA (ملغم/لتر)							المعدل	معدل المدد الزمنية
		0.0	0.1	0.3	0.5	1.0	1.5	2.0		
White Prosperity	30	0.48	0.38	0.72	0.95	0.84	0.86	0.98	0.74	0.56
	40	1.12	2.28	1.09	2.19	1.49	1.42	1.12	1.53	1.06
	50	1.51	3.88	2.48	2.42	2.27	1.94	1.62	2.30	1.59
	المعدل	1.04	2.18	1.43	1.85	1.53	1.40	1.24	1.52	
Priscilla	30	0.36	0.18	0.42	0.74	0.54	0.35	0.06	0.38	
	40	0.56	0.4	1.09	0.82	0.68	0.5	0.1	0.59	
	50	1.26	0.62	0.84	1.58	0.84	0.86	0.16	0.88	
	المعدل	0.70	0.40	0.78	1.05	0.68	0.57	0.11	0.62	
المعدل العام للصنفين		0.87	1.29	1.11	1.45	1.11	0.98	0.67		
LSD (0.05)		للصنفين 0.22		للتراكيز 0.41		للأيام 0.27		للتداخل الثلاثي غ.م		

تكوين الكريمات خارج الجسم الحي

تكونت الكريمات بعد 50 يوماً من نقل النباتات المكثرة الى وسط التجذير وبنسبة 100% والتي تراوحت أوزانها بين 0.05-0.1 غم/كريمة ولجميع الأجزاء المدروسة وللصنفين قيد الدراسة (صورة 4). إن إحدى التأثيرات الفسيولوجية للاوكسين هي نشوء الجذور العرضية على قواعد العقل، اذ تقوم بتحفيز بناء واضافة السكريات المتعددة الخاصة بجدار الخلية فضلاً عن زيادة لدانته عن طريق تحفيز بناء الأنزيمات ذات العلاقة ببناء السكريات المتعددة لجدار الخلية أو تنشيط فعالية الأنزيمات الموجودة أصلاً، إضافة الى وجود السايتوكاينين المصنع من قبل بادئات الجذور المتكونة لذلك تتجمع النواتج الكاربوهيدراتية مما يؤدي الى إنتاج كريمات صغيرة الجحم والتي تصبح أكبر مصب للخزن. وأثناء المراحل النهائية تقوم الكريمات بتقليل نشاطها الحيوي العام وتبقى كونها موقع خزن [33]. وبذلك يلاحظ أن اضافة الاوكسين NAA الى أوساط التجذير كان كافياً لأنتاج الكريمات وهذا يتفق مع كل من Lilien-Kipnis وKochba [34] وKarintanyakit وآخرون[13]. بينما تختلف مع Ziv [12] و De Bruyn وFerreira [35] الذين أضافوا السايتوكاينينات بدل الاوكسينات في هذه العملية.

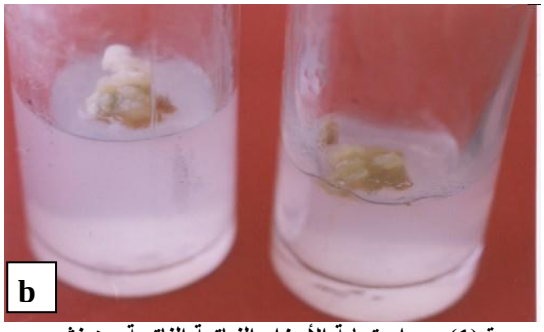
مرحلة الأقلمة Acclimatization Stage

أظهرت نتائج الجدول (7) بان نسبة نجاح نبيتات الكلاديولس المنقولة الى أوساط الاقلمة المتكونة من بتموس فقط، بتموس: تربة نهرية (1:1) حجم/حجم وتربة نهرية فقط واخذت الملاحظات بعد (1، 2، 3 و4) أسابيع من نقلها وجد بأن أفضل وسط زرعي كان وسط البتموس لوحده، وقد الوحظ أنخفاض في النسبة المئوية للنبيتات المؤقلمة خلال الأسبوع الثاني، الثالث والرابع ولجميع الأجزاء المدروسة (صورة 5).

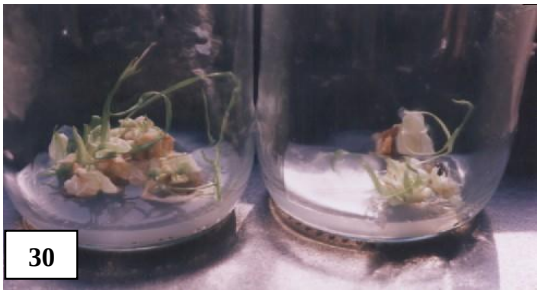
جدول (7): تأثير نوع الوسط الزراعي المستخدم في الأقلمة ولفترات زمنية مختلفة في النسبة المئوية لنجاة النبيتات الناتجة من زراعة الأجزاء النباتية المختلفة

وسط الأكثار	الفترة الزمنية	النسبة المئوية لنجاح الأقلمة (%)	
		Wh.	Pr.
بتوس	الأسبوع الأول	90	90
	الأسبوع الثاني	90	80
	الأسبوع الثالث	90	60
	الأسبوع الرابع	80	60
بتموس: تربة نهرية (1:1)	الأسبوع الأول	90	90
	الأسبوع الثاني	70	60
	الأسبوع الثالث	50	50
	الأسبوع الرابع	40	50
تربة نهرية	الأسبوع الأول	60	60
	الأسبوع الثاني	40	50
	الأسبوع الثالث	30	30
	الأسبوع الرابع	10	30

كما يلاحظ بأن نسبة النجاح قد أنخفضت للنبيتات المزروعة في التربة النهرية. إن هذه الأختلافات قد تعود الى أن وسط البتموس يحتفظ بالرطوبة وذات محتوى جيد من العناصر الغذائية، وجيد التهوية وهش يسهل على الجذور الجديدة أختراقه، وقد يرجع سبب أنخفاض نسب النجاح في وسط التربة النهرية الى عدم أحتفاظ هذا الوسط بالماء إضافة الى افتقاره للمواد الغذائية. إن هذه النتائج تتفق مع Simonsen وHildebrandt [5] اللذين استخدما تربة نهرية، بينما استخدم Ziv [11] 2 حجم تربة نهرية: 1 حجم بتموس وZiv [12]الذي استخدم 1 حجم تربة نهرية: 1 حجم بتموس.



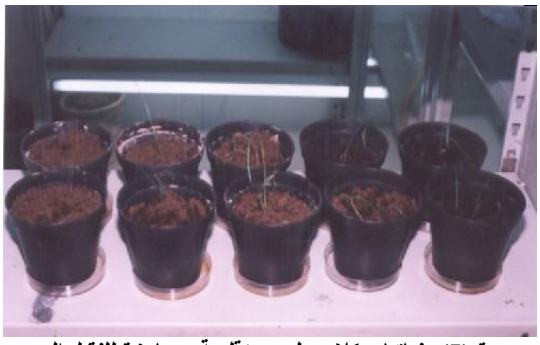
صورة (1): a. استجابة الأجزاء النباتية الناتجة من نشوء الزروعات للبراعم الأبطية للحوامل الزهرية لإستحثاث الكالس بعد نقلها الى وسط الإستحثاث لصنف White Prosperity
b. كالس نبات الكلاديولس المفصول من الأجزاء النباتية



صورة (2): إخلاف الكالس بعد 15 و30 يوماً من النقل الى وسط وسط MS والمجهز بـ 1.0ملغم/لتر BA لصنفين من الكلاديولس (من اليمين الى اليسارWhite Prosperity وPriscilla)

صورة (3): تكوين الجذور بعد 40 و50 يوماً من النقل الى وسط MS والمجهز بـ 0.5 ملغم/لتر NAA لصنف Priscilla

صورة (4): أنتاج الكريمات خارج الجسم الحي وبحجوم مختلفة



صورة (5): نباتات كلاديولس مؤقلمة وجاهزة للنقل الى الزراعة المكشوفة

المصادر:

1. بدر، مصطفى؛ محمود خطاب؛ محمد ياقوت؛ علم الدين نوح؛ طارق القيعي؛ محمد هيكل ومصطفى رسلان 1985. الزهور ونباتات الزينة. الطبعة الثانية. كلية الزراعة. جامعة الأسكندرية.

2. الكاتب، يوسف منصور2000 تصنيف النباتات البذرية. دار الكتب للطباعة والنشر. الطبعة الثانية. جامعة بغداد. وزارة . التعليم العالي والبحث العلمي. جمهورية العراق.

3. Shatha, I.I.1979. Effects of two flower preservatives on some physico-chemical changes in unstored and stored ***Gladiolus*** spikes (cv. friendship). MSc. Thesis. Univ. Phillipp. Les. Bafios.

4. Wilfret, G.J. 1971. Shoot tip culture of ***Gladiolus***: An evaluation of nutrient media for callus tissue development. Proc. Flo. State Hortic. Soc. 84: 389-393.

5. Simonsen, j. and A.C. Hildebrandt 1971. ***In vitro*** growth and differentitious bud formation of ***Gladiolus*** plants from callus culture. Can. J. Bot. 49: 1817-1819.

6. Ziv, M.; A.H. Halevy and R. Shilo. 1970. Organs and plantlets regeneration of ***Gladiolus*** through tissue culture. Ann. Bot. 34: 671-676.

7. Bajaj, Y.P.S.; M.M.S. Sidhu and A.P.S. Gill 1983. Some factors affecting the ***in vitro*** propagation of ***Gladiolus***. Sci.Hortic. 18: 269-275.

8. Ginzburg, C. and M. Ziv 1973. Hormonal regulation of cormel formation in ***Gladiolus*** stolons grown ***in vitro***. Ann. Bot. 37: 219-224.

9. Badriah, D.S.; T. Sutater and N.T. Mathius 1998. Response of two ***Gladiolus*** cultivars to growth substances on *in vitro* culture. J.Hor. (Indonesia). 8: 1048-1059.

10. Goo, D.H.; H.Y. Young and K.W. Kim 2003. Differentiation of ***Gladiolus*** plantlets from callus and subsequent flowering. Acta. Hort. 620. Vol. 1. No. 57. (Abstract).

11. Ziv, M.1979. Transplanting ***Gladiolus*** plants propagated ***in vitro***. Sci. Hortic. 11: 257-260.

12. Karintanyakit, P.; H. Ong-Art and B. Chalong Chai 1997. ***In vitro*** production of ***Gladiolus*** cormel. Kasetsart University. Bangkok. Thailand. (Email: Libarn @ Ku. Ac. Th.). (Abstract). (http: \\ www. Kasetsart. Uni. Bank. Th.).

13. _____1990. The effect of growth retardants on shoot proliferation and morphogenesis in liquid cultured ***Gladiolus*** plants. Acta Hortic. 280: 207-214.

14. محمد، عبد المطلب سيد ومبشر صالح عمر 1990. المفاهيم الرئيسة في زراعة الخلايا والأنسجة والأعضاء للنبات. جامعة الموصل. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جمهورية العراق.

15. Kartush, R. and B. Mittendorfer 1990. Ultraviolet radiation increase nicotine production in ***Nicotiana*** callus cultures. J. Plant Physiol. 136: 110-114.

16. Radojevic, L.J. and S. Stankovic 1988. Plant regeneration of ***Horseches tnut*** by ***in vitro*** culture. M.R. Ahuja (ed.) Somatic Cell Genetics of woody plants. pp. 53-54.

17. Dodds, J.H. and L.W. Roberts 1995. Experiments in Plant Tissue Culture. Cambridge Univ. Press. London.

18. محمد، عبد العظيم كاظم ومؤيد أحمد اليونس 1991. أساسيات فسيولوجيا النبات. الجزء الثالث. كلية الزراعة. جامعة بغداد .جمهورية العراق.

19. عبدول، كريم صالح 1987. منظمات النمو النباتية. الجزء الأول. مطبعة جامعة الموصل. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جمهورية العراق.

20. Kumar, A.; A. Sood; L.M.S. Palni and A.K. Gupta 1999. ***In vitro*** propagation of ***Gladiolus hybridus*** hort.: Synergistic effect of heat shock and sucrose on morphogenesis. Plant Cell, Tiss. and Org. Cult. 57: 105-112.

21. Gozo, O.Y.; Y. Miney Uki; N. Masahiro; N. Ryujiro; Y. Katsuyuki; Y. Mitsuo and N. Shoji 1993. ***In vitro*** propagation of ***Iris pallida***. Plant Cell Reports (Historical Archive). 13 (1): 12-16.
22. Bacchetta, L.; P.C. Remotti; C. Bernardini and F. Saccardo 2003. Adventitious shoot regeneration from leaf explants and stem nodes of ***Lilium***. Pla. Cel. Tis. Org. Cul., 74 (1): 37-44.
23. Chen, L.S.; Z. Xueyi; G. Li and W. Jian 2005. Efficient callus induction and plant regeneration from anther of Chines Narcissus (***Narcissus tazetta*** L.var. Chinensis Roem). Plant Cell Reports. 24(7): 401-407.
24. Suzuki, A.K.; Y. Takatsu; T. Genai; M. Kasumi 2005. Plant regeneration and chromosome doubling of wild ***Gladiolus*** species. Acta Horticulturae 673: IX Intennational Symposium on Flower Bulbs. Vol. 2. No. 110. (Abstract) (http: \\ www.acta hort. org\).
25. Reinert, J. and Y.P.S. Bajaj 1977. Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell Tissue and Organ Culture. Springer-Verlay. Berlin Heidelberg. New York.
26. سلمان، محمد عباس1988 . أساسيات زراعة الخلايا والأنسجة النباتية. جامعة بغداد. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جمهورية العراق.
27. الرمضاني، روضة محمد أمين 1985. تأثير بعض منظمات النمو على أستحداث ونمو كالس نبات الفستق ***Pistacia vera*** Lرسالة ماجستير. كلية العلوم. جامعة الموصل. جمهورية العراق.
28. Izvorska, N. 1980. Effect of auxins and cytokinins on morphological processes in isolated meristem tissue of different plants. Fizio. na. Rasten. 6 (3): 99-106.
29. Kang, M.S. and J.D. Choi 1998. Effects of culture conditions on adventitious bud formation from callus of ***Gladiolus*** "Topaz". J.Kor. Soc. Hort. Sci. 39: 338-342.
30. Ziv, M. and H. Lilien-Kipnis 2000. Bud regeneration from inflorescence explants for rapid propagation of geophytes ***in vitro***. Plant Cell Reports. 19: 845-850.
31. Logan, A.E. and F.W. Zettler 1985. Rapid ***in vitro*** propagation of virus indexed Gladioli. Acta. Hort. 164: 169-180.
32. Hussey, G. 1975. Totipotency in tissue explants of some members of the Liliaceae, Iridaceae and Amaryllidaceae. J.Exp. Bot., 26: 253-262.
33. العاني، طارق علي 1991. فسلجة نمو النبات وتكوينه. جامعة بغداد. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جمهورية العراق.
34. Lilien-Kipnis, H. and M. Kochba 1987. Mass propagation of new ***Gladiolus*** hybrids. Acta. Hort. 212: 631-638.
35. De Bruyn, M.H. and D.I. Ferreira 1992. ***In vitro*** corm production of ***Gladiolus dalenii*** and ***G. tristis***. Pla. Cel. Tiss. Org. Cult. 31: 123-128.

Regeneration and Cormels Production of White Prosperity and Priscilla Gladiolus Varities *In Vitro*

***Kadhim M. Ibrahim** ****Tariq A. AL-Ani**

*****Maeda H. Mohammad**

*Department of Biotechnology/ College of Science / AL-Nahrain University.
**Department of Biotechnology/ College of Science for Women/ Baghdad University.
***Department of experimental Therapy, Iraqi Center for cancer and Medical Genetic research, AL-Mustanseriyah University.

Abstract:

Plant regeneration and cormel production was carried out from callus cultures initiated from White Prosperity and Priscilla Gladiolus Varities. It is aimed to produce plants and cormels ***in vitro*** all year round. The study included many experiments, these were the effect of Naphthalene acetic acid (NAA) and Kinetin (Kin) interaction on callus initiation, effect of Benzyl adenine (BA) on shoot regeneration from callus culture, effect of NAA on rooting after 30, 40 and 50 days in culture. The role of the type of agricultural medium (Peat moss or river sand and their mixture on plantlets survival after weaning was studied.

Results showed that the interaction between NAA and Kin induced callus on axillary bud explants. Callus was best initiated by using a combination (10.0, 0.5) mg/l for White Prosperity, (0.5, 1.0) and (10.0, 0.5) mg\l for Priscilla of NAA and Kin respectively.

Regeneration for the two varieties was best occurred when media were supplemented with BA at 1.0 mg/l achieving maximum number of shoots (6.2) and height (4.96 cm.). Highest response for shoot regeneration from callus occurred at a concentration of 0.5 mg/l NAA reached 100% and 83.3% for White Prosperity and Priscilla respectively. An obvious increase in rooting percentage, root number and length over time. Both varieties showed 100% response for cormels formation 50 days after rooting. Plantlets are well established in peat moss.