ألزراعة ألنسيجية لنباتات ألكرفس *Apium graveolens* L. خارج ألجسم ألحي

رغد نواف جرجيس ألزيدي

قسم علوم الحياة ، كلية التربية ، جامعة ألموصل ، الموصل ، العراق

(تاريخ الاستلام: ٢٩ / ٧ /٢٠٠٨ ، تاريخ القبول: ٨ / ٦ / ٢٠٠٩)

الملخص

تمكنت الدراسة الحالية من استحداث مزارع الكالس لنبات الكرفس*pium graveolens* من الاجزاء النباتية(الجذور السيقان تحت الفلقية، والاوراق) على وسط MS الصلب المجهز بتراكيز متباينة من الاوكسينات والسايتوكينينات ،وبلغت نسبة استحداث الكالس(١٠٠)%من قطع الجذور والسيقان تحت الفلقية والاوراق باستخدام اوساط MS ألحاوية على Kin بالتراكيز (٣,٠،١,٠،٢,٠ ملغم/لتر)و2,4-D بالتراكيز (١,٠،٠,٥،٠,٥ ملغم/ لتر) على التوالي.

واظهر كالس الاجزاء المختلفة لنبات الكرفس قابلية عالية على التمايز وتكوين الافرع الخضرية في الوسط الزرعي، إذ اعطى كالس الجذور اعلى نسبة لتكوين الافرع الخضرية، يليه كالس السيقان تحت الفلقية ثم الاوراق.فضلا عن حصول ظاهرة تكوين الافرع الخضرية بمرحلة واحدة (One step regeneration)ولجميع انواع الكالس، وكان افضل وسط لتمايز كالس الجذور وسط MS الحاوي(٣,٠ملغم/لترkin و ١,٠ ملغم/لتر2,4-D) بينما كان افضل وسط لتمايز كالس السيقان تحت الفلقية والاوراق وسط MS الحاوي (٠,٦ ملغم/لتر kin و ٠,٥ ملغم/لتر2,4-D) .

تمت اقلمة نباتات الكرفس الناتجة من المزارع النسيجية في ظروف البيت الزجاجي، بعد نجاح عملية التجذير إذ جذرت الافرع الخضرية في وسط MS الحاوي (١,٠ ملغم/لترNAA).

ألمقدمة

تضم العائلة الخيمية *Apiaceae* (٢٠٠)جنس وما يقارب(٣٠٠٠) نوع، وتعد نباتات هذه العائلة مصدراً لعدد من المواد الغذائية مثل الجزر*Daucus carota* والمعدنوس*Petroselinum hortense* والكرفس *Apium graveolens* والتوابل مثل الكمون *Cuminun cyminum* والكزبرة *Coriandrums sativum* وللعقاقير الطبية مثل الانسون *Pimpinella anisum* [٤ و٦] .

نبات الكرفس*Apium graveolens* نبات حولي له جذر لحمي ومجموعة من الاوراق المركبة ذات الاعناق الطويلة، يبلغ ارتفاعه(٦٠-٨٠)سم وينتهي الساق بخيمات من الازهار البيضاء، وبعد النضج تحمل الثمار المزدوجة بنية اللون والثمار لها رائحة عطرية نفاذة[٨] .

تحتوي جميع النباتات ذات الرائحة القوية على زيوت عطرية وتنتمي الى حوالي(٦٠)عائلة،ولكن تتميز بها على وجه الخصوص الفصائل الاسية *Myrtaceae* والخيمية *Apiacea* والشفوية *Libiateae* والمركبة *Compositeae* وغيرها من العوائل[٩].

ومن الاستخدامات المهمة للزيوت الطيارة صناعة العقاقير بوصفها مواد طاردة للديدان او مدرة للبول او مضادة للفطريات والبكتريا او مطهرة للمعدة والامعاء[١] ومسكناً ومهدئاً للجهاز العصبي ومقوي عام فضلاً عن استخدام اوراق الكرفس كتوابل ممتازة[٨] .

اثبتت بعض الدراسات نجاح استخدام مستخلص الكرفس كمضاد للبكتريا*Protus vulgaris* و*Bacillus subtillis*[١٦] ومستخلص بذوره كمضاد للامراض الفطرية عند مزجه مع الزيوت الطيارة لنباتات اخرى بنسب متساوية[٢٣] وفي خفض الكوليسترول وضغط الدم في الجرذان[٣٥] والفئران [٣٦].

لقد حظيت العائلة الخيمية باهتمام الباحثين في مجال زراعة الانسجة النباتية احدى اهم التقانات الاحيائية، فقد أجريت بعض الدراسات منها استحداث كالس نبات اليانسون *Pimpinella anisuml* [١٨و١٧و٧] واستحداث كالس البقدونس *Petroselinum craspium*[٣٧] وكالس الكرفس*Apium graveolens* [١٩و٢٦] وتناولت دراسة اخرى اكثار نبات *Thapsia grarganica* احدى النباتات الطبية لهذه العائلة[٢٧] امكن الحصول على بعض المركبات الثانوية من مزارع الكرفس [٢١و٣٨] ومن كالس نبات الشبت *Anethum graveolens* [٢٨].

وفي دراسات اخرى استخدمت الاجنة الجسمية لانتاج البذور الصناعية Artificial seeds للجزرDaucus carota[٣١] والكرفس [٣٤] واليانسون[٣٢].

اهداف الدراسة

تعتبر هذه الدراسة من اولى الدراسات التي اجريت على نباتات الكرفس المحلي والتي اهتمت بما يلي :

١. استحداث الكالس من قطع الجذور والسيقان تحت الفلقية والاوراق .

٢. دراسة امكانية انتاج نباتات من الكالس ومن ثم تجذيرها واقلمتها ، واختيار افضل الاوساط لذلك .

ألمواد وطرائق العمل

١) الوسط الغذائي

حضر مختبريا وسطMS[٢٩] بأذابة كافة مكوناته إذابة تامة في حجم مناسب من الماء ثم اضافة السكروز(٣٠غم/لتر) والاكار(٨غم/لتر) واكمل الحجم النهائي الى لتر واحد، وضبط الاس الهيدروجيني الPH بحدود(٥,٨-٦,٠) وزع الوسط في دوارق زجاجية وغطيت فوهاتها برقائق الالمنيوم وعقم الوسط بدرجة حرارة١٢١ْم وضغط(١)كغم/سم٢ لمدة(٢٠)دقيقة باستخدام جهاز الموصدة(Autoclave)، واستخدم هذا الوسط لزراعة البذور واستحداث الكالس وتمايزه، وانجزت كافة العمليات ابتداءاً من تعقيم البذور وزراعتها وتقطيع الاجزاء النباتية(Explants) وزراعتها واستحداث الكالس وادامته، وزراعة الافرع الخضرية وتجذيرها داخل جهاز النقلHepaire (الكابينة ذات الجو المعقم) .

٢) التعقيم السطحي للبذور وانتاج البادرات السليمة

عقمت بذور الكرفس *Apium graveolens* L. التي تم الحصول عليها من الاسواق المحلية وتم تصنيفها في كلية التربية – قسم علوم الحياة بغمرها في محلول من الماء المقطر المعقم والقاصر التجاريNaOCl بتركيز(٣%) بنسبة(١حجم مادة معقمة:١ حجم ماء مقطر) ولمدة (١٠) دقائق، وغسلت بعد كل معاملة ثلاث مرات متتالية بالماء المقطر المعقم ولمدة(٥)دقائق في كل مرة لازالة آثار المادة المعقمة، ثم نقلت الى سطح ورق الترشيح whatmanNol لغرض تجفيفها من الماء العالق بها .

زرعت البذور المعقمة سطحياً على(٢٠)مل من وسط MS الصلب الخالي من منظمات النمو في انابيب اختبار بمعدل بذرتين في كل انبوبة، وحفظت العينات في غرفة التنمية Growth Room بدرجة حرارة(٢٥±٢)°م وظروف الظلام في الاسبوع الاول من الزراعة وبعد انباتها نقلت الى ظروف نظام الاضاءة والظلام التعاقبي (١٦ساعة ضوء/٨ ساعات ظلام، شدة اضاءة٢٠٠٠ لوكس) .

٣) استحداث الكالس

استعملت النباتات السليمة النامية في ظروف معقمة وبعمر شهر واحد كمصدر للاجزاء النباتية Explants، إذ قطعت بمعدل(١)سم لكل من الجذوروالسيقان تحت الفلقية وبمساحة(٠,٥)سم^2 للاوراق وفي جو كامل التعقيم، زرعت الاجزاء النباتية المعقمة في دوارق زجاجية حجم(١٠٠–١٢٥) مل والحاوية على وسط MS ألمدعم بتراكيز مختلفة من kin بالتراكيز(٣,٠،٢,٠،١,٠،٠,٦،٠,٠)ملغم/لتر مع2,4-D بالتراكيز (٠,٠، ٠,٢٥،٠,٥،١,٠،٢,٠)ملغم/لتر وتمت الزراعة بمعدل(١٠) قطع/جزء نباتي /معاملة، وتمت إدامة مزارع الكالس دورياً كل(٣–٤) اسابيع وقدر والوزن الطري للكالس بعمر (٤٥) يوماً .

٤) تمايز الكالس

نقل الكالس المستحدث من قطع الجذور والسيقان تحت الفلقية والاوراق بمعدل(١ غم/قطعة كالس) على سطح (٤٠–٥٠)مل من الاوساط المخصصة للتمايز وهي وسط MS الحاوي تداخلات من kin بتراكيز (٣,٠،٠,٦،٠ ملغم/ لتر) مع2,4-D (١,٠،٠,٥،٠ ملغم/ لتر) وبمعدل(٣ قطع كالس/جزء نباتي/معاملة) وبثلاث مكررات لكل معاملة، حفظت العينات في غرفة التنمية في الظروف السابقة الذكر كما في الفقرة(٢) .

٥) تجذير الافرع الخضرية

بعد تكوين الافرع الخضرية استئصلت هذه الافرع وأزيل عنها بقايا الكالس وقطعت عند قاعدتها بواسطة مشرط حاد معقم حجم(٢٤) ونقلت الى دوارق زجاجية حاوية على وسط MS الخالي من منظمات النمو او MS الحاوي على NAA بتراكيز (١,٠،٠,٥،٠,١،٠ ملغم/ لتر) لغرض تجذيرها .

٦) اقلمة النباتات الناتجة من الزراعة النسيجية ونقلها الى التربة

بعد تكوين النباتات السليمة غسلت الجذور جيداً بالماء للتخلص من بقايا الوسط الغذائي ، ثم نقلت الى سنادين حاوية على تربة معقمة [تربة مزيجية + تربة رملية بنسبة حجمية (٣ :١) + قليل من البتموس) ثم اخذت السنادين وغطيت باغطية بلاستيكية مثقبة وسقيت بماء معقم وتركت لمدة(٣–٤) أيام في ظروف غرفة النمو ثم ازيلت عنها الاغطية ونقلت بعد ذلك الى ظروف الحقل .

ألنتائج والمناقشة

- **كفاءة التعقيم السطحي للبذور وانتاج النباتات السليمة**

تباينت التراكيز المستخدمة من المحلول المعقم والمدة الزمنية للمعاملة ، إذ اعطى التعقيم السطحي لبذور الكرفس *Apium graveolens* L. كفاءة عالية في الحصول على بادرات غير ملوثة بلغت اعلى نسبة للانبات(٨٦%) عند معاملتها بنسبة (١ حجم معقم:١ حجم ماء مقطر) ولمدة(١٠) دقائق .

- **إستحداث مزارع ألكالس**

اشارت نتائج الدراسة الحالية بصورة عامة الى الاستجابة الجيدة لنباتات الكرفس لنظام الزراعة النسيجية متمثلة بنجاح الاجزاء الثلاثة الجذور والسيقان تحت الفلقية والاوراق لاستحداث الكالس في وسطMS الصلب المدعم بتراكيز متباينة من منظمات النمو(ألجدول١). اذ اعطت قطع الجذور اعلى نسبة استحداث وبلغت(١٠٠)% في ألاوساط الحاوية على 2,4-D بالتراكيز(١,٠،٠,٥،٠,٠١ملغم/ لتر) وkin بالتراكيز (٢,٠،٣,٠، ٣,٠ ملغم/لتر) بمدة زمنية ما بين(١٥–٢٠) يوماً. في حين تباينت نسب الاستحداث في المعاملات الاخرى ولم تظهر معاملة المقارنة وسط MS الخالي من منظمات النمو تحفيز لاستحداث الكالس وتميز غالبية كالس الجذور بلونه الاخضر وقوامه بين الهش والمتماسك حسب تركيز منظمات النمو المستخدمة. ان تباين نسب استحداث الكالس وتغاير قوامه ولونه ربما يعزى الى تغاير الظروف البيئية اثناء تنمية الكالس المستحدث في غرفة التنمية التي يتكامل تأثيرها بوجود منظمات النمو النباتية على تكوين وفعالية الانزيمات المسيطرة على الفعاليات الفسيولوجية الخاصة بأنقسام الخلايا [١١] وظروف الزرع [٣٩]

كما اظهرت النتائج ان افضل نسبة استحداث للكالس(١٠٠)% من قطع السيقان تحت الفلقية(ألجدول١) كانت على وسط MS الصلب الحاوي (٠,٥ ملغم/لتر) من 2,4-D و(١,٠ ملغم/لتر) kin وبعد (٢٠) يوما من زراعة القطع، يليه وسط MS المدعم بالتركيز(٠,٥ ملغم/ لتر) 2,4-D مع(٣,٠ملغم/ لتر) kin بنسبة(٩٥)% وبنفس المدة، وتباينت نسب الاستحداث ومددها في بقية المعاملات(٧٥–٩٠)% وخلال (٣٥–٣٩) يوماً وكذلك تميز غالبية كالس السيقان تحت الفلقية بلونه الكريمي وقوامه بين الهش والمتماسك حسب تركيز منظمات النمو المستخدمة . ولم تشجع معاملة المقارنة وسط MS الخالي من منظمات النمو والتركيز الواطيء من2,4-D(٠,٢٥ ملغم/لتر) على استحداث الكالس،وربما يرجع السبب في ذلك الى اختلال التوازن الهرموني بين داخل الخلايا وخارجها[٣٣] وهذا يفسر عدم اكتمال متطلبات الدورة الخلوية النباتية Plant cell cycle التي تتأثر غالباً بوجود النوعين من منظمات النمو الاوكسينات والسايتوكاينينات في الوسط الغذائي[٣] .

كما بينت نتائج زراعة قطع الاوراق(ألجدول١) ان المعاملتين لوسط MS الحاويتين على(٠,٥ ملغم/لتر)2,4-D مع (٢,٠ أو ٣,٠ ملغم/ لتر) kin اعطتا نسبة استحداث(١٠٠)% وخلال(٢٢) يوماً لكل منهما. وامتاز الكالس بلونه الاخضر وتماسكه، ولوحظت ان الاوساط الحاوية على بعض التراكيز العالية من kin شجعت على استحداث الكالس في حين لم تستجب قطع الاوراق في الوسطMS الخالي من منظمات النموفي غالبية الاوساط الحاوية على التركيز الواطيء من2,4-D (٠,٢٥ ملغم/ لتر)، على ضوء

نتائج هذه الدراسة لوحظ ان استخدام وسطMS المدعم بتراكيز متباينة من 2,4-D kin كان مشجعا لنشوء واستحداث كالس الكرفس وهذا يتفق مع ما اشارت إليه يعض الدراسات[٢٠ و٢٥] التي اكدت تميز الاوساط الحاوية على kin2,4-D في تحفيزها استحداث وتمايز كالس نبات الكرفس وربما يعزى نجاح الاستحداث الى قابلية2,4-D العالية في تحفيز الخلايا على الانقسام[٥]، وان تباين نسب الاستحداث ربما يعود الى تباين التداخلات المختلفة لمنظمات النمو المستخدمة والى نوع الجزء النباتي والتوافق بين المحتوى الداخلي للاجزاء النباتية من الهرمونات النباتية والمضاف من منظمات النمو الى الوسط الغذائي[١٠ و١٢] والى اختلاف محتوى هذه الاجزاء من الخلايا ذات الطاقة الكامنة مما يدعم من معدلات انقسام الخلايا لتكوين الكالس[٣٠] .

ألجدول (١) استحداث كالس الجذور والسيقان تحت الفلقية والاوراق لنباتات الكرفس .*Apium graveolens* L في وسط MS الصلب المدعم بتراكيز متباينة من 2,4-D و kin .

منظمات النمو (ملغم/ لتر) 2,4-D – kin	الجذور		السيقان تحت الفلقية		ألأوراق	
	مزارع لكالس (يوم)	استحداث الكالس* (%)	مزارع الكالس (يوم)	استحداث الكالس* (%)	مزارع الكالس (يوم)	استحداث الكالس* (%)
0.0 -0.0	—	—	—	—	—	—
0.6 - 0.5	45	60	37	80	45	60
1.0 – 0.25	—	—	—	—	—	—
1.0 – 0.5	50	20	20	100	30	80
2.0 – 0.25	—	—	—	—	—	—
2.0 – 0.5	30	85	35	90	22	100
2.0 – 1.0	17	100	35	85	40	60
3.0 – 0.25	60	80	—	—	65	20
3.0 – 0.5	20	100	20	95	22	100
3.0 – 1.0	15	100	39	75	43	50
3.0 – 2.0	25	80	38	80	45	30

*(١٠) قطع / معاملة وبثلاث مكررات .

— عدم الاستجابة .

-1- A

-٢- C B A

-3- C B A

شكل رقم (١) : استحداث الكالس من اجزاء نبات الكرفس .*Apium graveolens* L

١. نبات كرفس ناتج من البذور المعقمة .

٢. الاجزاء النباتية

A. الجذور – B . السيقان تحت الفلقية .- C . الاوراق .

٣. مزارع كالس الاجزاء النباتية بعمر (٤٥) يوماً .

A. مزرعة الكالس المشتق من قطع الجذور على وسط MS الحاوي (٣,٠) ملغم / لتر Kin و (١,٠) ملغم/ لترD-2,4 .

B. مزرعة الكالس المشتق من قطع السيقان تحت الفلقية على وسط MS الحاوي (١,٠) ملغم / لتر Kin و (٠,٥) ملغم / لترD-2,4 .

C. مزرعة الكالس المشتق من قطع الاوراق على وسط MS الحاوي (٢,٠) ملغم / لتر Kin و (٠,٥) ملغم/ لترD-2,4 .

- **إدامة مزارع الكالس وتقدير الوزن الطري**

استنادا الى نتائج الجدول(١) إعتمدت افضل اوساط MS الغذائية لأدامة كالس كل جزء نباتي وحساب وزنه الطري وقد اظهرت نتائج ألجدول(٢)ان افضل زيادة في الوزن الطري للكالس(٢,٢غم) كانت في كالس الجذور، في حين تقاربت الزيادة(١,٢و١,٥ غم) في كالس السيقان تحت الفلقية والاوراق على التوالي. وربما يرجع السبب في اختلاف معدلات الوزن الطري للاجزاء النباتية الثلاث الى الطاقة الكامنة للخلايا وعددها مما يدعم معدلات انقسام الخلايا لتكوين الكالس[٣٠] والى الحالة الخلوية للانسجة النباتية[١٠و١٥] فضلا عن توافق المضاف من منظمات النمو والمحتوى الداخلي للهرمونات النباتية.

ألجدول (٢) الوزن الطري لكالس اجزاء نباتات الكرفس *Apium graveolens* L. بعمر (٤٥) يوماً في أوساط MS المنتخبة .

مصدر الكالس	منظمات النمو (ملغم / لتر) kin – 2,4-D	معدل الوزن الطري للكالس (غم)*
الجذور	2.0 – 1.0	3.2
السيقان تحت الفلقية	1.0 – 0.5	2.2
الأوراق	2.0 – 0.5	2.5

*(١) غم كالس / قطعة / معاملة / جزء نباتي .

- **تكوين الافرع الخضرية بمرحلة واحدة من كالس الاجزاء النباتية**

أظهرت نتائج استخدام اوساط MS الغذائية المدعمة بتراكيز متباينة منkin, 2,4-D تكوين افرع خضرية بمرحلة واحدة بعد استحداث الكالس وتمايزه على نفس الوسط الغذائي رغم ان عملية التمايز لكالس الاجزاء النباتية الثلاث صعبة ومحدودة وفق نتائج(ألجدول٣)، وتميز الوسط (MS + 2,4-D ١,٠ + Kin ٣,٠ ملغم/لتر) بالنسبة للجذور لاعطاء اعلى نسبة تكوين بلغت(٩٠%) وبمدة زمنية استغرقت(٣٥) يوماً من زراعة الكالس، بينما اعطى الوسط (MS +2,4-D ٠,٥ + 0.6 kin ملغم/لتر) لكل من قطع كالس السيقان تحت الفلقية والاوراق بنسبة تكوين للافرع الخضرية بلغت(٥٠)% بعد(٢٠) يوماً وبنسبة(٣٠)% بعد(٢٢) يوماً من زراعة الكالس على نفس الوسط على التوالي.

واكدت النتائج ان تمايز كالس الجذور جاء بالمرتبة الاولى ثم السيقان تحت الفلقية فالاوراق وربما يرجع التباين في تمايز كالس الاجزاء المختلفة بأختلاف التراكيز المضافة الى توافق المضاف من منظمات النمو مع الهرمونات الداخلية مما شجع حصول عملية الانقسام في الخلايا وبالتالي تمايزها [١٣] والذي يختلف تأثيره باختلاف الجزء النباتي والحالة الخلوية للانسجة النباتية[١٠،١٥] وجاءت نتائج التمايز لكالس الاجزاء الثلاث متفقة مع ما جاء في دراسة[٧] في تمايز كال اليانسون لنفس الاجزاء النباتية وتكوين الافرع الخضرية وبمرحلة واحدة.

ألجدول (٣) تكوين الافرع الخضرية بمرحلة واحدة من كالس الاجزاء النباتية للكرفس *Apium graveolens* L. في أوساط MS المنتخبة .

مصدر الكالس	الوسط المنتخب	تكوين الافرع الخضرية(%)	ألمدة (يوم)
الجذور	(MS الصلب +٣,٠ ملغم /لتر kin +١,٠ ملغم / لتر 2,4-D)	90	35
السيقان تحت الفلقية	(MS الصلب +٠,٦ ملغم /لتر kin +٠,٥ ملغم / لتر 2,4-D)	50	20
الأوراق		30	22

(١٠) قطع كالس / جزء نباتي / معاملة وبثلاث مكررات .

A B C

شكل رقم (٢) : تمايز الافرع الخضرية من كالس نباتات الكرفس *Apium graveolens* L.

A . أفرع خضرية متكونة من كالس الجذور في وسط MS الحاوي(٣,٠) ملغم/لترKin و(١,٠٩)ملغم/ لتر 2,4- D .

B . أفرع خضرية متكونة من كالس السيقان تحت الفلقية في وسط MS الحاوي(٠,٦) ملغم/لترKin و(٠,٥) ملغم/لتر2,4-D .

C . أفرع خضرية متكونة من كالس الاوراق في وسط MS الحاوي (٠,٦) ملغم/لتر Kin و(٠,٥) ملغم/لتر2,4-D .

- **تجذير واقلمة الافرع الخضرية**

اظهرت نتائج تجذير الافرع الخضرية الناتجة من الكالس صعوبة تجذيرها، اذ لم تنجح عملية التجذير على اوساط MS الخالية من منظمات النمو وكذلك الحاوية على (٠,١ أو٠,٥ ملغم/لترNAA) وانما نجحت عملية التجذير للافرع الخضرية على وسط MS الحاوي (١,٠ ملغم/لترNAA) فقط(ألجدول ٤) وتكونت نباتات كاملة، ولوحظت اعلى نسبة تجذير لافرع السيقان تحت الفلقية(٨٠)%، يليها الافرع الخضرية لكالس الاوراق(٥٣,٣)% ثم الافرع الخضرية الناتجة من كالس الجذور (٥٢,٦)%.

إن عدم امكانية تجذير الافرع الخضرية على وسط MS الخالي من منظمات النمو وضرورة اضافة الاوكسين(NAA) لتحفيز عملية التجذير يطابق ما جاء في دراسة[١٤] على نبات الداتور و[٢] على نبات اليانسون، ويرجع ذلك الى القابلية العالية للخلايا على امتصاص(NAA) من قبل الخلية بصورة افضل لهذا الاوكسين عند هذا المستوى، وربما الى طول مدة فعاليته داخل الخلية النباتية[٢٢]. ان تفوق الافرع الخضرية الناتجة من كالس لسيقان تحت الفلقية تلته الافرع الخضرية الناتجة من كالس الاوراق ثم الجذور، ربما يعود الى االتشريح الداخلي لكل جزء نباتي او الحالة الفسيولوجية للنبات الأم [١٠و١٥] .

ألجدول (٤) تجذير الأفرع ألخضرية الناتجة من كالس الأجزاء النباتية لنباتات الكرفس *Apium graveolens* L. في وسط MS المدعم بالتركيز (١,٠) ملغم / لتر NAA .

منشأ الأفرع ألخضرية	عدد الأفرع ألخضرية		ألتجذير (%)
	ألمستخدمة	ألمكونة للجذور	
كالس ألجذور	١٩	10	52.6
كالس ألسيقان تحت الفلقية	٢٥	20	80
كالس ألأوراق	١٥	8	53.3

A

B

شكل رقم (٣) تجذير وأقلمة نباتات الكرفس *Apium graveolens* L. الناتجة من الكالس

A . تجذير الافرع الخضرية المتكونة من الكالس في وسط MS الحاوي (١,٠) ملغم / لتر NAA (لاحظ كثافة نشوء الجذور واطوالها) .

B . نبات ناتج من كالس السيقان تحت الفلقية بعمر أسبوع بعد أقلمته وتقسيته .

المصادر

١. العبيدي، مهند جميل محمود(٢٠٠٠).النباتات الطبية بين الطب الشعبي والبحث العلمي.مجلة علوم العدد١١٢.

٢. العقراوي، هاوژين صلاح خليل(٢٠٠٦).تعريض بذور واعضاء وكالس نبات اليانسون.*Pimpinella anisum* L للاشعة فوق البنفسجية وتقدير محتوى الانيثول بوساطة كروموتوغرافيا السائل عالي الاداء. رسالة ماجستير/ كلية التربية. جامعة الموصل .

٣. القصيمي، علياء حازم عبدالرزاق سليمان(٢٠٠٦).الفعالية البايولوجية لعديد السكريات الدهنية المستخلصة من بكتريا Sinorhizobium meliloti على تكوين العقد الجذرية واستحداث الكالس وانقسامات خلايا المعلقات الخلوية، لبادرات الحلبة rigonella foenumرسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل، العراق .

٤. الكاتب، يوسف منصور.(٢٠٠٠). تصنيف النباتات البذرية(الطبعة الثانية).دار الكتب للطباعة والنشر– جامعة الموصل .

٥. الكناني، فيصل ورشيد ناصر (١٩٨٧). زراعة الأنسجة والخلايا النباتية. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل .

٦. الموسوي، علي حسين عيسى.(١٩٨٧). علم تصنيف النبات (الطبعة الاولى) .

٧. النعيمي،عبدالله نجم ومحمود، سهاد احمد (٢٠٠٥) .الزراعة النسيجية لنبات اليانسون.*Pimpinella anisum* L خارج الجسم الحي. مجلة التربية والعلم المجلد (١٧) العدد (١):١ –١٣ .

٨. حسين، فوزي طه قطب(١٩٨١). النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها. دار المريخ للنشر. الرياض. السعودية .

٩. زاهر، عبد الجليل وخليل،احمد إبراهيم (١٩٥١). النبات الاقتصادي .مكتبة الانجلو مصرية.مصر .

١٠. سلمان، محمد عباس (١٩٨٨) أساسيات زراعة الخلايا والانسجة النباتية . جامعة بغداد. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل.

١١. محمد، عبدالعظيم كاظم.(١٩٨٥). علم فسلجة النبات، الجزء الثالث، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جامعة الموصل، العراق

١٢. محمد، عبد المطلب سيد وعمر، مبشر صالح (١٩٩٠).المفاهيم الرئيسية في زراعة الخلايا والأنسجة والاعظاء للنبات. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل .

١٣. ياسين، بسام طه .(٢٠٠١) . اساسيات فسيولوجيا النبات، مطابع دار الشرق، قطر.

١٤. يونس، اواب وعد ألله (١٩٩٧). رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل.

15. Ammirato, P.v. Evans, D.A. Sharp, W.R. and yamada, Y. (1984). Hand book of plant cell culture.university of manchester, U.K .

16. Atta,A. and Alkofahi, A. (1998). Anti- nociceptive and anti inflammatory effects of some Jordanian medicinal plant extracts. J. of Ethnopharmaclogy. 60(2): 117- 124.

17. Bajaaj , Y.P.S., (1989) Medicinal and aromatic plants II . Berlin ,Springer – Verlag.

18. Chand , S.; Sharawat AK, and parkash D. (1997) . *In vitro* culture of *Pimpinella anisum* L. (anise) . J. of plant Biochemistry and Biotechnology . 6(2) : 91-95 .

19. Dohya, N., Matsubara, S. and Murakami, K. (1997). Callus formation and regeneration of adventitious embryo from celery Microspores by anther and isoated Microspore cultures. J. Jap. Soc. sci. 65(4): 747-752.

20. Donovan, A., Collin, H.A., Isaac, S. and Mortimersr, A.M. (1994). Analysis of potential sources of variation in tissue culture derived celery plants. Annals of Applied Biology. 124 (2): 383- 398.

21. Dornenburg, H. and Knorr, D. (1996). Generation of colors and flavors in plant cell and tissue cultures. Critical Reviews in plant sci. 15(2): 141-168.

22.Hartmann, H.T, Kester ,D.E., Devies ,F.T.and Geneve ,R.L.(2002). Plant propagation principles and practices . Seventh Edition ,Prentice , Hall ,upper saddle river, New gersy .

23. Jain, S.R. and Jain, M.R. (1973). Effect of Some common essential oils or pathogenic fungi. planta medica. 24 (2): 127 – 132.

24. Khudiar, K.K. (2002). The effect of the Aqueous extract of parsley (*Petroselinum sativum*) Seeds on lipid metabolism of cholesterol fed rats. 1(1): 34- 40.

25. Lacy, M.L., Grumet, R., Toth, K.F., Krebs, S.L., Cortright, B.D. and Hudgins, E. (1996). MSU-SHK: asoma clonally derived Fusarium resistant celery line. Hortscience. 31 (2): 289- 290.

26. Loskutov, A., and Sink, K.C., (2004). Herbicide resistant celery (*Apium graveolens* L.) plants produced by Agrobacterium-mediated Transformation using the Bare gene plant transformation. Plant Transformation. Michigan State University pages 20- 36.

27. Makunga, N.P.; Jäger, A.K.and Staden, J.V.(2003) .Micropropagation of *Thapsia garganica* a medicinal plant. Plant Cell Reports. 21(10): 967-973.

28. MÖhle, B.and Welimann, E.(1982). Indication of phenylpropanoid compounds by UV-B irradiation in roots of seedling and cell cultures from dill (*Anethum graveolens* L.) Plant Cell Reports. 1(5): 183-185.

29.Murashige,T.and Skoog, F.(1962). A revised medium for rapid growth bioassay with tobacco tissue culture . Physiol . Plant .15:473-497.

30. Negrutui, I.; Jacobs,M. and Dorina, C.Z.(1978) Some factors controlling in vitro morphogenesis of Arabidopsis thaliana. Z. pflanzen physiol, 86:113-124.

31. Rodriguez , D. L.; kitto, S.L.and Lomax, K.M.(1990). Mechanical purification of torpedo stage somatic embryos of *Dacus carota* L. plant cell tissue and organ culture. 23: 4-9 .Kluwer Academic Publishers Printed In Netherlands.

32.Sajina, A,Geetha ,S.P., Minoo, D.and Rema ,J.(1997) .Micropropagation of some important herbal spices . Proceeding of the national seminar of Biotechnology of Spices, medicinal and aromatic plants 27:79-86 .

33. Schroder, G.;Waffens chmidt; Weiler, E.W.and Schroder, J.(1984) .T-region of Ti-plasmids cobs from enzyme synthesizing indole -3-actic acid .EurJ.Biochem .,138:387-391.

34. Suenara, K.I., Kohketsu, K., Uozumi, N. and Kobay Ashi, T. (1995).Efficient production of celery embryos and plantlets released in culture of immobilized gel beads. Journal of Fermentation and Bioengineering. 79 (6): 585- 588.

35. Tsi, D., and Tan, B., (1997).Cardiovascular pharmacology of 3-n-butylphthalide in spontaneously hypertensive rats. Phytotherapy- research. 11(8):576-582.

36. Tsi, D., Das, N.P.and Tan .,B.(1995) Effets of aqueous celery (*Apium Graveolens* L.) extract on lipid parameters of rats fed a high fat diet. Planta .Medica .6(1):18-21 .

37. Tun, N., Holk, A. and Scherer, G. (2001). Rapid increase of no release in Plant cell cultures induced by cytokinin. FEBS. Letters. 509 (2): 174- 176.

38. Vitova, L.,Bartonichova, A. and Lipavska ,H .(2002) Mannitol utilization by celery (*Apium graveolens*) plants grown under different conditions in vitro .J. plant Science, 163(4): 907-916.

39. Wlighte, M.S.; Ward, D.V.;Thinchess, M.A.; Carnes, M. G. and Kaufman,R.J.(1987). Regeneration of soybean (Glycin max L.merr.) from cultured primary leaf tissue . Plant Repts .,6:83-89 .

Abstract

The current study succeded to induce cultures of callus out of explants *Apium graveolens* L. from roots, hypocotyles and leaves in asolid MS medium. This medium is reinforced by adifferent concentrations of auxins and cytoaukynines. The percentage of callus induction reached to (100)% in roots, hypocotyles and leaves by using MS medium. This combination contains of kin (2.0,1.0,3.0) mg/L and 2,4-D(1.0, 0.5, 0.5) mg/L respectively . Regeneration of shoots from the callus was obtained, specially from callus of roots which gave the higher percentage then come the callus of hypocotyles and leaves . Also the result show the one step regeneration for all types of callus . the best medium with (3.0)mg/L kin and(1.0)mg/L 2,4-D , while the best medium to differentiate of hypocotyles and leaves explants is MS medium with (0.6) mg/L kin +(0.5) mg/L 2,4-D.

Apium graveolens L. shoots that have been watched in callus culture was customized in greenhouses. After rooting in MS medium containing (1.0)mg/L NAA,The plants proved to be highly successful when they are cultured in the soil.