

## دراسة تأثير بعض العوامل في التضاعف السلالي (Clonal propagation) لنبات الكاردينيا *Gardenia jasminoides* var. *Veitchii* بالزراعة النسيجية

عمار زكي قصاب باشي

قسم البستنة وهندسة الحدائق / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل / العراق

dr.ammar\_albash@yahoo.com

### الخلاصة

نفذ البحث لتوضيح تأثير عدد من العوامل المهمة في نمو وتضاعف نبات الزينة الشجيري الكاردينيا *Gardenia jasminoides* عند زراعته على وسط MS المحور خارج الجسم الحي. شملت الدراسة تأثير موقع الجزء النباتي على الفرع (قمة نامية، العقدة الأولى، الثانية، الثالثة والرابعة)، تركيز المايواينوسيتول (50، 75، 100، 125، 150) ملغم/لتر، قيمة pH الوسط الغذائي (5، 5.2، 5.4، 5.6، 5.8، 6.0)، نوع الحديد المخليبي وتركيزه (Fe-EDTA بحوي 5.6 ملغم/ لتر و Fe-EDDHA بحوي 5.6، 11.2، 16.8، 22.4 ملغم/ لتر Fe) بالإضافة إلى تركيز الآكار Agar (4، 5، 6، 7، 8) غم/لتر. أوضحت النتائج بعد مرور ثمانية أسابيع من الزراعة تفوق العقدة الثانية معنوياً على القمة النامية والعقدة الأولى في عدد الأفرع/جزء نباتي. وتكوّن أكبر عدد من الأفرع/ عقدة وأكبر عدد من الأفرع الأطول من 0.5 سم/ عقدة في الأوساط التي احتوت 125 ملغم/لتر مايواينوسيتول. وتفوق الأوساط التي بلغت دالتها الهيدروجينية 6 معنوياً على بقية الأوساط ذات الـ pH المختلفة المدروسة في كل من عدد الأفرع / عقدة وعدد الأفرع الأطول من 0.5 سم/ عقدة. وتفوق الحديد المخليبي Fe-EDDHA على Fe-EDTA في جميع الصفات المدروسة في معظم المعاملات وبلغت هذه الزيادات درجة المعنوية عند استخدامه بتركيز 187 ملغم/لتر في حين مثل تركيز 5 غم / لتر آكار التركيز الأفضل لإعطاء أطول طول للأفرع وأكبر عدد من الأفرع الأطول من 0.5 سم بينما سبب التركيز 4 غم/ لتر آكار نمو أكبر عدد من الأفرع وتفوق معنوياً على التراكيز 7 و 8 غم / لتر آكار.

الكلمات الداله: *Gardenia jasminoides*، زراعة الأنسجة، نوع الحديد، pH الوسط، آكار، مايواينوسيتول.

تاريخ تسلم البحث 2011/10/5 وقبوله في 2011/12/12

### المقدمة

الكاردينيا *Gardenia jasminoides* نبات زينة شجيري مستديم الخضرة يعود الى عائلة Rubiaceae (الكاتب، 1988). ينتمي إلى الجنس *Gardenia* حوالي 200 نوع من أهمها *jasminoides* الذي يضم الصنف *Veitchii* وهو من أكثر الأصناف شعبية (عبدالله وآخرون، 2003). تعد شجيرات الكاردينيا من الشجيرات الجميلة التي تزدان بها الحدائق المنزلية والعامّة بالإضافة الى استخدام أزهارها للقطف واستخراج العطور (السلطان وآخرون، 1992) وصناعة الأصباغ لاحتوائها على مادة Crocetin (George وآخرون، 1993). اكنثر نبات الكاردينيا بالبذور غير مرغوب فيه لأنه يعطي نباتات غير مشابهة لنبات الام ولذلك يكثر خضريا اما بالتطعيم او بالعقلة (السلطان وآخرون، 1992) او باستخدام تقانات الزراعة النسيجية (النوح، 2009) وتعد الطريقة الاخيرة من الاكثار من احدث وافضل طرق الاكثار حالياً وذلك لما تتمتع به من مميزات لا تتوفر في طرق الاكثار الخضري الاخرى، منها انتاج نباتات بأعداد كبيرة من نباتات امهات قليلة العدد بمدة قصيرة وضمن مساحات صغيرة وعلى مدار السنة (سلمان، 1988، Hartmann وآخرون، 2002).

هناك عوامل عديدة تلعب دوراً في تضاعف الجزء النباتي عند اكنثاره بالزراعة النسيجية منها نوع الجزء النباتي ورقم الدالة الهيدروجينية للوسط المزروع فيه الجزء النباتي، فقد ذكر كاظم والاطرقي (1993) بأن القمم النامية والبراعم الزهرية لكل من الأصل البذري لنبات الكاردينيا *Gardenia jasminoides* والصنف *Veitchii* تفوقت في استجابتها للنمو خلال مرحلة النشوء على كل من البراعم الجانبية والأوراق الكاملة النمو وأن الأجزاء المزروعة على اوساط دالتها الهيدروجينية (5) تفوقت على اقرانها من الأجزاء المزروعة على اوساط بلغت دالتها الهيدروجينية 4 أو 4.5 أو 5.5. كما ذكر Page و Visser (1989) بان الموقع الذي كان يشغله الجزء النباتي على فرع نبات الأم تأثير في نمو الجزء النباتي

وتضاعفه اللاحق وذلك عند مقارنتهم ما بين استجابة القمة النامية والعقدة الاولى والثانية لنبات الزينة العشبي *Chamelaucium uncinatum* على التضاعف عند زراعتها على وسط يحتوي على تراكيز مختلفة من BA. كذلك توصل عبيد (2009) إلى إن استبدال الحديد المخليبي Ethylenediamine tetraacetic acid (Fe-EDTA) 6% Fe الذي يستخدم كمصدر للحديد في وسط MS بالحديد المخليبي Ethylenediamine di-o-hydroxyphenylacetic acid (Fe-EDDHA) 12% ساعد في زيادة نسبة الكلوروفيل والوزن الرطب والجاف لأفرع نبات الخوخ *Prunus persica L. Batsch* المكثرة نسيجياً. من جهة أخرى أشار Gürel و Gulssen (1998) إلى أن إضافة المادة المصلية (Agar) بتركيز 5 غم/لتر إلى الوسط الغذائي كان له التأثير الأفضل في تضاعف أفرع نبات اللوز *Amygdalus communis L.* ونموها مقارنة مع التراكيز (6، 7، 8، 9) غم/لتر. أما الشرفاوي والعبيدي (1999) فقد ذكرا بأن إضافة المايواينوسيتول إلى الوسط الغذائي يحسن من كفاءة التخليق التجديدي للأنسجة المزروعة لأنه يدخل في تفاعلات انقسام الخلايا (جندية، 2003).

تأسيساً على ما تقدم ولقلة أو عدم توفر دراسات حول تأثير نوع الجزء النباتي، تركيز المايواينوسيتول، نوع الحديد المخليبي وتركيزه، تركيز الأكار ودرجة الدالة الهيدروجينية للوسط الغذائي أجريت الدراسة من أجل التوصل إلى أفضل المعاملات الملائمة للتضاعف السلالي السريع Rapid Clonal Propagation لنبات الكاردينيا بهدف الحصول على نباتات مشابهة لنبات الام (الخفاجي والمختار، 1989، وجندية، 2003).

#### مواد البحث وطرقه

أجريت التجارب في مختبر زراعة الأنسجة والخلايا النباتية /كلية الزراعة والغابات /جامعة الموصل. أخذت فروع غضة حديثة النمو بطول 2-3سم من نبتة ام واحدة (Clone) نامية في الحقل يتراوح عمرها ما بين 10-12 سنة جيدة النمو خالية من الاصابات المرضية والحشرية، ازيلت الاوراق من الفروع ثم غسلت الفروع بالماء الجاري لمدة 30 دقيقة بعدها غمرت في خليط من محلول حامض الاسكوربيك (Ascorbic acid) بتركيز 150 ملغم/لتر وحامض الستريك (Citric acid) بتركيز 100 ملغم/لتر بنسبة 1:1 وذلك للتقليل من التأثير الضار لأكسدة المركبات الفينولية. ولأجل اجراء التعقيم السطحي للفروع، نقلت إلى كابينة انسياب الهواء الطبقي Laminar- air flow cabinet حيث غمرت في محلول المبيد الفطري البنوميل benomyl بتركيز 1غم/لتر لمدة 2-3 دقيقة مع التحريك المستمر ثم غسلت بماء مقطر مرة واحدة بعدها غمرت في محلول هايوكلورات الصوديوم NaOCl (تم تحضيره من إضافة 10 مل من محلول القاصر التجاري علامة فاس الحاوي على 6% هايوكلورات الصوديوم إلى 90 مل ماء مقطر) مضافاً له عدة قطرات من المادة الناشرة Tween-20 مع التحريك المستمر للأجزاء النباتية وبعد مرور 20 دقيقة، غسلت الفروع بماء مقطر ومعقم اربع مرات متتالية للتخلص من اثار المادة المعقمة ثم وضعت على أوراق ترشيع معقمة لإزالة العالق بها من الماء، نمت الاجزاء النباتية بعد تجهيزها في وسط غذائي تكون من املاح الوسط MS (Murashige و Skoog، 1962) مضافاً له 0.1 ملغم/لتر Thiamine-HCL و 0.5 ملغم/لتر Pyridoxine-HCl و 0.5 ملغم/لتر Nicotinic acid و 100 ملغم/لتر Myo-Inositol و 2 ملغم/لتر Glycin و 30غم/لتر Sucrose و 1ملغم/لتر benzyl adenine (BA) (النوح، 2009). بعد تحضير الوسط اضيف له 6 غم/لتر آكار من نوع Agar-Agar وضبطت حامضيته عند 5.7-5.8 ومن ثم قسم على قناني زجاجية حجم 200 مل بواقع 20 مل وسط غذائي لكل منها ثم عقم لمدة 20 دقيقة عند درجة حرارة 121 °م باستخدام المعقم، علماً بأنه اجريت بعض التحويلات على الوسط الغذائي اعلاه وحسب ظروف الدراسة، عند الزراعة قطعت الفروع الى نوعين من الاجزاء النباتية (اطراف افرع و عقد مفردة) بطول 1سم تقريبا لكل منها وزرعت بشكل عمودي على الوسط الغذائي الصلب ومن ثم حضنت الزروع في غرفة النمو عند 23-25 °م وشدة اضاءة 2000 لوكس جهزت من انابيب الفلورسنت البيضاء لمدة 16 ساعة/يوم. أعيدت زراعة النبيتات كل 4 أسابيع بعد تقطيعها على وسط طازج جديد من نفس المكونات اعلاه، وبعد ان تم الحصول على العدد الكافي من نباتات الامهات النسيجية نفذت التجارب التالية :

1- دراسة تأثير نوع الجزء النباتي وموقعه على الفرع في التضاعف، درس في هذه التجربة مدى استجابة القمة النامية، العقد اللاحقة لها (العقدة الاولى) والتي بعدها بالتسلسل (العقدة الثانية) والعقدة الثالثة والرابعة لتكوين الافرع Proliferation .

- 2- دراسة تأثير تركيز المايواينوسيتول Myo-Inositol ، درس في هذه التجربة تأثير خمسة تراكيز مختلفة من المايواينوسيتول (50 و 75 و 100 و 125 و 150) ملغم /لتر في تضاعف العقد المفردة.
  - 3- دراسة تأثير حامضية (pH) الوسط الغذائي في تضاعف العقد المفردة. وذلك عند قيم (5 و 5.2 و 5.4 و 5.6 و 5.8 و 6.0) من حامضية الوسط الغذائي في تضاعف العقد المفردة .
  - 4- دراسة تأثير نوع وتركيز الحديد المخليبي المكون للوسط الغذائي في تضاعف العقد المفردة. تم في هذه الدراسة مقارنة تأثير الحديد المخليبي Ethylenediamine tetraacetic acid (Fe-EDTA) المستخدم في الوسط الغذائي MS والمتحصل عليه من (إضافة 37.25 ملغم /لتر Na<sub>2</sub>EDTA الى 27.8 ملغم/لتر FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O) والحاوي 5.6 ملغم/لتر Fe مع الحديد المخليبي Ethylenediamine di-*o*-hydroxyphenylacetic acid (Fe-EDDHA) بتراكيز (93.5، 187، 280، 374) ملغم / لتر والحاوي 5.6 ، 11.2 ، 16.8 ، 22.4 ملغم/لتر Fe على التوالي.
  - 5- دراسة تأثير تركيز المادة المصلبة للوسط الغذائي (Agar-Agar). بخمسة تراكيز (4 و 5 و 6 و 7 و 8) غم /لتر من مادة الاكار إلى الوسط الغذائي في نمو وتضاعف العقد المفردة .
- أخذت القراءات بعد مرور 4 و/أو 8 أسابيع من الزراعة وتمثلت بعدد الأفرع/جزء نباتي، طول الفرع الرئيسي (سم) وعدد الأفرع الأطول من 0.5 سم /جزء نباتي. الأفرع الناتجة من تجارب التضاعف تم تجديدها في وسط MS مجهز بـ 0.5 ملغم / لتر IBA (النوح، 2009). استخدم التصميم العشوائي الكامل C.R.D في تنفيذ التجارب (الراوي وخلف الله، 1980) وبواقع 20 مكرر لكل معاملة وتمت مقارنة المتوسطات وفق اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى احتمال 5٪ واستعمل البرنامج الجاهز (SAS، 1996) لتحليل البيانات .

### النتائج والمناقشة

#### أولاً: مرحلة التضاعف:

1- تأثير نوع الجزء النباتي: يتضح من الجدول (1) وبعد مرور اربعة اسابيع من الزراعة بأنه لم تحدث فروقات معنوية ما بين الاجزاء النباتية المزروعة في صفة عدد الافرع المتكونة على الجزء النباتي في حين ظهرت هذه الفروقات وبشكل واضح بعد مرور ثمانية اسابيع من الزراعة اذ كونت العقدة الثانية اكبر عدد من الافرع (9.3) فرع/عقدة وتفوقت معنويًا على كل من القمة النامية والعقدة الاولى في حين لم تختلف معنويًا عن العقدة الثالثة والرابعة، كذلك يلاحظ من الجدول بأن اكبر زيادة في طول الأفرع بعد اربعة اسابيع من الزراعة تم الحصول عليها من زراعة القمم النامية اذ بلغ معدل طول الأفرع 3.9 سم وتفوقت معنويًا على باقي الاجزاء النباتية. في حين اختفت الفروقات المعنوية بعد مرور ثمانية اسابيع من الزراعة بين الاجزاء النباتية المزروعة، علماً بأن اكبر زيادة في طول الأفرع تم الحصول عليه من زراعة العقدة الثالثة وبلغت 6.8 سم. اما فيما يخص عدد الأفرع الأطول من 0.5 سم /جزء نباتي بعد مرور ثمانية اسابيع من الزراعة، فيلاحظ بأن اكبر عدد من الافرع تكون من زراعة العقدة الثالثة وبلغ 1.7 فرع ولم يختلف معنويًا عن عدد الأفرع المتكونة على العقد المفردة الأولى والثانية لكنه اختلف معنويًا عن عدد الأفرع المتكونة على العقدة المفردة الرابعة. ان اختلاف الاستجابة ما بين اطراف الافرع والعقد المختلفة الموقع على الفرع قد يعزى الى عوامل فسلجية تتعلق بمحتوى هذه الأجزاء من المواد الغذائية والهرمونية والذي يعد عامل محدد للاستجابة (Trigiano و Gary، 1996، Bowes، 1999) أو الى اختلاف درجة نضج وتمايز الخلايا المكونة لها والتي تعتمد عليها عملية نقل المغذيات الممتصة من الوسط الغذائي، اذ اشار عبيد (2009) الى ان الاوعية الناقلة للعقدة اكثر تمايزاً من اوعية اطراف الافرع وبالتالي فإن الاجزاء النباتية الكبيرة الحاوية على نسيج البرنكيما والاعوية الناقلة والكامبيوم تظهر استجابة افضل بغض النظر عن تراكيز الاوكسين والسايبتوكاينين في الوسط الغذائي (Omura و Hidaka، 1992) سلكت هذه النتائج سلوك مشابه لما ذكره Page و Visser (1989) حول اختلاف قدرة القمة النامية والعقدة الاولى والعقدة الثانية لنبات *Chamelaucium uncinatum* Schauer على التضاعف عند زراعتها على وسط غذائي مجهز بتراكيز مختلفة من BA، إذ تفوقت القمم النامية في تضاعفها على كل من العقدة الاولى والثانية عند الزراعة في وسط احتوى 0.1 أو 0.5 ملغم / لتر BA في حين تفوقت العقدة الاولى في تضاعفها على كل من القمة النامية والعقدة الثانية عند الزراعة على وسط احتوى 1 أو 5 أو 10 ملغم/لتر BA علماً بأن المعاملات الأخيرة أعطت أفضل النتائج.

الجدول (1): تأثير نوع الجزء النباتي في نمو وتضاعف عقد نبات الكاردينيا *Gardenia jasminoides* var. Veitchii المزروعة على وسط MS المجهز بـ 1 ملغم/لتر BA بعد مرور 4 و 8 أسابيع من الزراعة.

Table (1): Effect of explant type on growth and multiplication of *Gardenia jasminoides* var. Veitchii culturing on MS medium with 1mg/L BA after 4 and 8 weeks.

عدد الأفرع الأطول من 0.5 سم/جزء نباتي بعد مرور No. of shoots longer than 0.5 (cm)/explant after	طول الأفرع (سم) بعد مرور Shoots length (cm)/explant after		عدد الأفرع /جزء نباتي بعد مرور No. of shoots/explant after		نوع الجزء النباتي Type of Explant
	8 أسابيع 8 weeks	4 أسابيع 4 weeks	8 أسابيع 8 weeks	4 أسابيع 4 weeks	
1.6 ab	4.6 ab	3.9 a	6.1 b	1.9 a	القمة النامية
1.4 ab	4.5 ab	2.8 b	6.6 b	1.9 a	العقدة الأولى
1.3 ab	5.3 ab	2.3 bc	9.3 a	2.5 a	العقدة الثانية
1.7 a	6.8 a	2.1 c	8.3 ab	3.2 a	العقدة الثالثة
1.2 b	5.5 ab	2.3 bc	8.3 ab	3.1 a	العقدة الرابعة

المعدلات التي تحمل احرفاً متشابهة في العمود الواحد لا تختلف عن بعضها معنوياً حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

2- تأثير تركيز المايوانوسيتول: يلاحظ من الجدول (2) بأن زيادة تركيز المايوانوسيتول سبب زيادة تضاعف الجزء النباتي وأطوال الأفرع الأطول من 0.5 سم /جزء نباتي اذ تكون اكبر عدد من الأفرع لكل عقدة (9.2) واكبر عدد من الأفرع الأطول من 0.5 سم/عقدة (5.2) عند زراعة العقد في وسط احتوى

الجدول (2): تأثير تركيز المايوانوسيتول في نمو وتضاعف عقد نبات الكاردينيا *Gardenia jasminoides* var. Veitchii المزروعة على وسط MS المجهز بـ 1 ملغم/لتر BA بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة.

Table (2): Effect myo-inositol concentration on growth and multiplication of *Gardenia jasminoides* var. Veitchii nodes culturing on MS medium with 1mg/L BA after 8 weeks.

عدد الأفرع الأطول من 0.5 سم/عقدة No. of shoots longer than 0.5 cm/node	طول الأفرع (سم) Shoots length (cm)	عدد الأفرع/عقدة No. of shoots/node	تركيز المايوانوسيتول (ملغم/لتر) Conc. Of myo- inositol (mg/L)
3.6 b	3.5 a	6.2 b	50
4.1 ab	3.5 a	7.6 ab	75
4.5 ab	3.1 a	7.9 ab	100
5.2 a	3.4 a	9.2 a	125
4.5 ab	3.7 a	8.2 ab	150

المعدلات التي تحمل احرفاً متشابهة في العمود الواحد لا تختلف عن بعضها معنوياً حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

125 ملغم/لتر مايوانوسيتول وتفوقت هاتان الصفتان لهذه المعاملة معنوياً عن العقد المزروعة في الوسط المجهز بـ 50 ملغم/لتر مايوانوسيتول لكنها لم تفرق معنوياً عن المعاملات التي زرعت فيها العقد على وسط احتوى 75 أو 100 أو 150 ملغم/لتر مايوانوسيتول في حين لم يظهر أي تأثير معنوي لتركيز المايوانوسيتول في أطوال الأفرع. إن التأثير المعنوي لإضافة 125 ملغم/لتر مايوانوسيتول في الصفات أعلاه ربما يعود إلى ملائمة هذا التركيز لإحداث تأثيره من خلال دخوله في تصنيع الدهون المفسفرة والمواد البكتينية التي تدخل في تركيب الأغشية الخلوية والجدران الخلوية على التوالي (الكناني، 1987).

3- تأثير pH: يتضح من الجدول (3) بأن زيادة pH الوسط الغذائي إلى 6 سبب زيادة معنوية في قدرة الأجزاء النباتية على التضاعف وكذلك عدد الأفرع الأطول من 0.5 سم لكل عقدة مقارنة مع الأجزاء النباتية المزروعة على الأوساط التي تراوحت دالتها الحامضية ما بين 5- 5.8. إذ تم الحصول على 12.5 فرع/عقدة و 8.2 فرع أطول من 0.5 سم / عقدة عند زراعة الأجزاء النباتية على أوساط بلغت دالتها الهيدروجينية 6 مقابل 4.3 فرع/عقدة و 1.9 فرع أطول من 0.5 سم/عقدة عند زراعة الأجزاء النباتية على الأوساط التي بلغت دالتها الهيدروجينية 5. من جهة أخرى لم يسبب تغير pH الوسط الغذائي ضمن المستويات المدروسة أي فروقات معنوية في أطوال الأفرع.

إن سبب تفوق الأجزاء المزروعة على الأوساط ذات الدالة الهيدروجينية 6 ربما يعود إلى حصول الاستفادة الأفضل للجزء النباتي من عنصر الحديد الموجود في هذا الوسط مقارنةً مع الأوساط ذات 5.8 pH أو أقل. إذ ذكر Dalton وآخرون (1983) بأن الحديد المخليبي الداخل في تركيبة وسط (MS) (Fe-EDTA) يفقد حوالي 45% من الحديد المُكوّن له عندما تكون حامضية الوسط 5.8 أو أقل. سلكت هذه النتائج سلوك مشابه لما ذكره Shibli وآخرون (1998) من حيث أن رفع pH الوسط الغذائي إلى 6 يسبب زيادة معدل التضاعف للجزء النباتي.

الجدول (3): تأثير pH الوسط الغذائي في نمو وتضاعف عقد نبات الكاردينيا *Gardenia jasminoides* var. Veitchii المزروعة على وسط MS المجهز بـ 1 ملغم/لتر BA بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة. Table (3): Effect of medium pH on growth and multiplication of *Gardenia jasminoides* var. Veitchii nodes culturing on MS medium with 1mg/L BA after 8 weeks.

عدد الأفرع الأطول من 0.5 سم/عقدة No. of shoots longer than 0.5 (cm)/node	طول الأفرع (سم) Shoots length (cm)	عدد الأفرع /عقدة No. of shoots/ node	pH
1.9 d	3.0 ab	4.3 c	5.0
1.5 d	3.2 ab	4.2 c	5.2
2.8 c	3.7 a	6.1 c	5.4
3.7 c	2.8 b	6.6 c	5.6
4.8 b	3.7 a	9.8 b	5.8
8.2 a	3.4 ab	12.5 a	6.0

المعدلات التي تحمل احرفاً متشابهة في العمود الواحد لا تختلف عن بعضها معنوياً حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

**4- تأثير نوع الحديد المخليبي وتركيزه:** يتضح من الجدول (4) بأن استخدام الحديد المخليبي Fe-EDDHA بكافة تراكيزه المدروسة سبب زيادة في عدد الأفرع النامية من الجزء النباتي مقارنة مع استخدام الحديد المخليبي Fe-EDTA والذي يمثل صيغة الحديد المستخدمة في معظم الأوساط الغذائية وخاصة وسط MS الشائع الاستخدام وبلغت هذه الزيادات درجة المعنوية عند استخدام Fe-EDDHA بتركيز 187 ملغم/لتر إذ تم الحصول على 12.6 فرع/عقدة مقابل 7.2 فرع/عقدة عند استخدام Fe-EDTA بالتركيز المستخدم في الوسط MS (27.8 ملغم / لتر). كذلك يلاحظ من الجدول بأن استخدام الحديد المخليبي Fe-EDDHA بالتركيز (93.5، 187، 280) ملغم /لتر سبب زيادة كل من أطوال الأفرع وعدد الأفرع الأطول من 0.5 سم/عقدة مقارنة بالحديد المخليبي Fe-EDTA وتم الحصول على أطول الأفرع (3.4 سم) واكبر عدد من الأفرع الأطول من 0.5 سم/عقدة (6.4) عند زراعة العقد على الأوساط التي احتوت 187 ملغم / لتر Fe-EDDHA والتي تفوقت معنوياً على المعاملات التي احتوت Fe-EDTA و Fe-EDDHA بتركيز 374 ملغم / لتر. إن سبب تفوق الحديد المخليبي Fe-EDDHA على الحديد المخليبي Fe-EDTA في جميع الصفات المدروسة ولمعظم التراكيز ربما يعود إلى قلة ثبوتية Fe-EDTA في الأوساط الغذائية التي تكون درجة حامضيتها 5.8 أو أقل وهذا واقع حال وسط MS الذي تتراوح درجة حامضيته ما بين 5.7-5.8، إذ ذكر Dalton وآخرون (1983) بأنه في الأوساط التي تبلغ درجة الحامضية فيها 5.8 أو أقل يفقد 45% من الحديد المكون للحديد المخليبي Fe-EDTA مقارنة مع ثبوتية Fe-EDDHA في الأوساط الغذائية التي تتراوح درجة حامضيتها ما بين 4-10 (النعمي، 1999) وهذا بدوره يؤدي إلى قلة تراكم المواد السامة ومنع تحول الحديد إلى صورة غير جاهزة (Dalton وآخرون 1983، Hangarters، Stasinopoulous، 1991) مما يتيح الفرصة لحدوث النمو والتضاعف بشكل أفضل. من جهة أخرى أشار Singh و Krikorian (1980) إلى أن سبب ضعف نتائج Fe-EDTA مقارنة مع Fe-EDDHA ربما يعود إلى التركيز المفرط لمادة Na<sub>2</sub>EDTA (37.3 ملغم/لتر) والذي يزيد عن الحد الضروري لخلب الحديد

Fe<sup>2+</sup> وهذا ما يؤثر في جاهزية كتيونات العناصر الغذائية الصغرى الأخرى الثنائية التكافؤ، سلكت هذه النتائج وفقاً لما ذكره Antonopoulou و Dimassi (2007) من أن إضافة الحديد المخلبي Fe-EDDHA بدلاً من Fe-EDTA إلى الأوساط الغذائية المستخدمة في الإكثار الدقيق لأنواع نباتية مختلفة يعطي نتائج إيجابية.

الجدول (4) تأثير نوع الحديد المخلبي وتركيزه في نمو وتضاعف عقد نبات الكاردينيا *Gardenia jasminoides* var. *Veitchii* المزروعة على وسط MS المجهز بـ 1 ملغم/ لتر BA بعد مرور 8 اسابيع من الزراعة.

Table (4): Effect of type and concentration of chelated iron on growth and multiplication of *Gardenia jasminoides* var. *Veitchii* nodes culturing on MS medium with 1mg/L BA after 8 weeks.

عدد الافرع الاطول من 0.5 سم/عقدة No. of shoots longer than 0.5 cm/node	طول الأفرع (سم) Shoots length (cm)	عدد الافرع /عقدة No. of shoots/node	تركيز Fe% في مركب الحديد Conc. of Fe% in iron compound	تركيز مركب الحديد (ملغم / لتر) Conc. of iron compound (mg/L)	نوع الحديد المخلبي Type of chelated iron
3.7 b	2.3 b	7.2 b	5.6	27.8	Fe-EDTA
4.1 ab	3.0 a	8.5 b	5.6	93.5	Fe-EDDHA
6.4 a	3.4 a	12.6 a	11.2	187	Fe-EDDHA
4.4 ab	3.2 a	8.7 b	16.8	280	Fe-EDDHA
3.7 b	1.8 b	8.6 b	22.4	374	Fe-EDDHA

المعدلات التي تحمل احرفاً متشابهة في العمود الواحد لا تختلف عن بعضها معنوياً حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5% .

5- تأثير تركيز الاكار ( Agar-Agar ) : بالنظر للنتائج المعنوية المتحصلة من التجربة السابقة من خلال إضافة Fe-EDDHA للوسط MS بدلاً من Fe-EDTA لذا تم إضافة Fe-EDDHA إلى الوسط الغذائي بتركيز 187 ملغم/ لتر لدراسة تأثير تركيز الاكار. يتضح من الجدول (5) بأن زيادة تراكيز الاكار من 4- 8 غم / لتر قللت عدد الافرع المتكونة من العقد إذ تكون أكبر عدد من الأفرع 16.1 فرع/عقدة في الوسط الذي الجدول (5) تأثير تركيز الاكار في نمو وتضاعف عقد نبات الكاردينيا *Gardenia jasminoides* var. *Veitchii* المزروعة على وسط MS المجهز بـ 1 ملغم/ لتر BA بعد مرور 8 اسابيع من الزراعة\*.

Table (5): Effect of Agar concentration on growth and multiplication of *Gardenia jasminoides* var. *Veitchii* nodes culturing on MS medium with 1mg/L BA after 8 weeks.

عدد الافرع الاطول من 0.5 سم/عقدة No. of shoots longer than 0.5 cm/node	طول الأفرع (سم) Shoots length (cm)	عدد الافرع /عقدة No. of shoots/node	تركيز الاكار (غم/لتر) Agar conc. (gm/L)
11.6 ab	2.4 b	16.1 a	4
12.4 a	3.5 a	14.6 ab	5
8.7 a-c	2.4 b	13.4 a-c	6
7.3 bc	2.7 b	11.9 bc	7
6.7 c	2.3 b	11.1 c	8

المعدلات التي تحمل احرفاً متشابهة لا تختلف عن بعضها معنوياً حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5% .  
\*تم استبدال الحديد المخلبي Fe-EDTA (5.6 ملغم/لتر Fe) بالحديد المخلبي Fe-EDDHA (11.2 ملغم/لتر Fe).

احتوى 4 غم/ لتر أكار والذي تفوق معنوياً عن عدد الأفرع المتحصل عليها من إضافة 7 أو 8 غم / لتر أكار لكنها لم تختلف معنوياً عن تلك التي احتوت 5 أو 6 غم /لتر. من جهة أخرى يلاحظ بأن إضافة الأكار بتركيز 5غم/لتر سبب زيادة معنوية في أطوال الأفرع (3.5سم) مقارنة مع تلك النامية في الوسط المجهز بـ 4 أو 6 أو 7 أو 8 غم/لتر أكار كذلك سبب الأكار بتركيز 5 غم /لتر تكوين أكبر عدد من الأفرع الأطول من 0.5 سم/ عقدة (12.4 فرع) والذي تفوق معنوياً عن عدد الأفرع المتكونة من الزراعة على الوسط المجهز بـ 7 أو 8 غم/لتر لكنه لم يختلف معنوياً عن عدد الأفرع المتكونة من الزراعة على الوسط المجهز بـ 4 أو 6 غم/لتر. إن زيادة عدد الأفرع النامية من العقد المزروعة على الوسط المجهز بـ 4 غم/ لتر أكار والزيادة المعنوية لأطوال الأفرع وعددها الأطول من 0.5 سم/عقدة عند زراعة العقد النامية على الوسط المجهز بـ 5 غم / لتر أكار، ربما يعود إلى أن زيادة تركيز الأكار أدت إلى زيادة صلابة الوسط الغذائي مما أثر سلباً على أزموزيته وبالتالي قلل من قدرة العناصر الغذائية على الحركة والامتصاص من قبل الجزء النباتي (Gürel و Gulsen، 1998).

ثانياً: مرحلة التجذير: أمكن الحصول على نسبة تجذير 95% للفروع بعد مرور 4 أسابيع من زراعتها على وسط MS ومجهز بـ 1 ملغم/لتر IBA علماً بأن النبيتات الناتجة أقمّت للنمو في ظروف الظلة الخشبية وبنسبة نجاح 100%.

## STUDY OF SOME FACTORS AFFECT ON CLONAL PROPAGATION FOR "GARDENIA" PLANT *Gardenia jasminoides* VAR. VEITCHII BY TISSUE CULTURE

Ammar Zeki Kassab Bashi

College of Agriculture and Forestry- University of Mosul

dr.ammar\_albash@yahoo.com

### ABSTRACT

This experiments were conducted to study the effect of some important factors on growth and multiplication of ornamental plant dendritic "Gardenia" *Gardenia Jasminoides* var. Veitchii culturing on MS medium *In vitro*. The study includes the effect of explant position on shoot (Apical shoot , 1<sup>st</sup> , 2<sup>nd</sup> , 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> node), concentration of Myo-inositol (50 , 75 , 100 , 125 and 150 mg/L), pH of medium (5 , 5.2 , 5.4 , 5.6 , 5.8 and 6), Type of chelate Iron with its concentration (Fe-EDTA contains 5.6 mg/L Fe and Fe-EDDHA contains 5.6 , 11.2 , 16.8 and 22.4 mg/L Fe) in addition to Agar concentrations (4 , 5, 6, 7 and 8 g/L). After 8 weeks from culturing, the results revealed predominant of the 2<sup>nd</sup> node significantly over the apical shoot and 1<sup>st</sup> node in number of shoots / explant. The largest number of shoots / node and the number of the shoots longer than 0.5 cm / node was formed in the media which contain 125 mg / L myo-inositol. The medium with PH 6 was highly significant in comparison with other media in different pH , in number of shoots and number of shoots longer than 0.5 cm / node. The chelate ferrous Fe-EDDHA differed significantly from Fe-EDTA in all the studied traits for all treatments, which showed significant increase at concentration of 11.2 mg/L, while the best plant height and of shoots longer than 0.5 cm was appeared when applied agar at concentration 5 g/L, but the concentration 4 g/L Agar as well caused the largest number of shoots and significantly dominant over the agar concentration 7 and 8 g / L.

**Key words:** *Gardenia jasminoides*, Micropropagation, Type of (Fe), pH of medium, Agar, Myo-inositol.

### المصادر

- جندية ، حسن (2003) . فسيولوجيا أشجار الفاكهة . الدار العربية للنشر والتوزيع . مدينة النصر – مصر .  
الخفاجي، مكي علوان وفيصل عبد الهادي المختار (1989). إنتاج الفاكهة والخضر. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جامعة بغداد، بيت الحكمة.
- الراوي ، خاشع وعبدالعزیز محمد خلف الله(1980) . تصميم وتحليل التجارب الزراعية . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل ، العراق .
- السلطان ، سالم محمد ومحمد داؤد الصواف وطلال محمود الجلي (1992) . نباتات الزينة. مطابع دار الكتب للطباعة والنشر/ جامعة الموصل – العراق .
- سلمان ، محمد عباس (1988) . أساسيات زراعة الخلايا والأنسجة النباتية . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل ، العراق .
- الشرقاوي، أحمد و أحمد العبيدي (1999). الهندسة الوراثية وتطبيقاتها في الانتاج النباتي. مركز جامعة القاهرة للطباعة والنشر.
- عبدالله، غسان رشيد وعبداللطيف الخطيب ومحمد سراج علي (2003) . تأثير تراكيز منظمات النمو (IAA و BAP ) على الاكثار الخضري الدقيق للكاردينيا *Gardenia jasminoides* صنف Veitchii باستخدام تقنية زراعة الانسجة. *Agriculture & Marine Science* . 8 (1) : 40-53 .
- عبيد ، أياد عاصي (2009) تأثير الوسط الغذائي والمجال المغناطيسي في الاكثار والصفات التشريحية لاصل الخوخ *Prunus persica* L. Batsch صنف محلي بيضاوي بالزراعة النسيجية. اطروحة دكتوراه، كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل – العراق .
- الكاتب ، يوسف منصور (1988) . تصنيف النباتات البذرية. وزارة التعليم والبحث العلمي / جامعة بغداد – العراق .
- كاظم ، حسين محسن وعمار عمر الاطرقجي (1993) . اثمار الكاردينيا بزراعة الانسجة . مجلة زراعة الرافدين . 25 (3) : 47-52 .
- الكناني ، فيصل رشيد (1987). زراعة الانسجة والخلايا النباتية . مديرية دار الكتب للطباعة والنشر / جامعة الموصل – العراق .
- النعمي ، سعد الله نجم عبدالله (1999) . الأسمدة وخصوبة التربة . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، مطبعة جامعة الموصل ، العراق .
- النوح ، خولة محمود (2009) إكثار شجيرات الكاردينيا *Gardenia jasminoides* رسالة ماجستير، كلية الزراعة والغابات/جامعة الموصل – العراق .
- Anononymous, (1996). Statistical Analysis System, Release 7, SAS. Institute. Inc. Cary. USA.
- Antonopoulou, C. and K. Dimassi (2007). The effect of Fe-EDDHA and of ascorbic acid on *In vitro* rooting Of the peach rootstock GF-677 explant. *Acta, Physiological Plant*. 29:559- 561.
- Bowes, B. G. (1999). A Colour Atlas Of Plant Propagation and Conservation. Manson Publishing L<sup>th</sup>, London. U. K.
- Dalton , C. C.; K. Iqbal and D. A.Trver (1983). Iron phosphate precipitation in murashige and skoog media . *Physiological Plant* . 57: 472-476 .
- George, P. S.; G. A. Ravishanker and L. V. Venkataraman (1993). Clonal multiplication of *Gardenia jasminoides* Ellis through axillary bud culture . *Plant Cell Reports*. 13(1) : 59-62 .
- Gürel, S. and y. Gülesen (1998). The effect of different sucrose, agar and pH levels on *In vitro* shoot production of almond (*Amygdalus communis* L.). *Turkish Journal Of Botany*. 22: 363- 373.



- Hangarter, R.P. and T. C. Stasinopoulos (1991). Effect of Fe-catalyzed photooxidation of EDTA on root growth in plant culture media. *Plant Physiology*. 96:843-847 .
- Hartmann , H. T.; D. E. Kester , F. T. Davies and R. L. Geneve (2002). Plant Propagation Principles and Practices .7<sup>th</sup>. ed., Prentice Hall, Inc., New Jersey. U.S.A .
- Murashige, T. and F. Skoog (1962). Arevised medium for rapid growth and bio-assays with tobaco tissue culture. *Physiological Plant*. 15: 475- 497.
- Omura , M. and T. Hidaka (1992). Shoot tip culture of citrus. Longevity of culture shoots . Bulletin, *Fruit Tree Research Station*, Japan, 22: 37-48 .
- Page, Y. M. and J. H. Visser (1989). *In vitro* propagation of geraldton wax: initiation, proliferation, and rooting . *Horticulture Science*. 24(2): 381- 382.
- Shibli R. A.; A. A. Jaradat; M. M. Ajlouni; S. Aljanabi and W. Khawaldeh, (1998). *In vitro* multiplication of bitter almond (*Amygdalus communis* L.). *Agriculture Science*. 14: 110- 120.
- Singh, M. and A.D. Krikorian (1980). Chelated iron in culture media. *Annual of Botany*. 46:807-809.
- Trigiano, R. N. and D. J. Gray (1996). Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises. Boca Raton, FL: CRC Press Inc, p: 11-17.