إكثار نبات الداليا *Dahlia variabilis* خارج الجسم الحي

محمد عباس سلمان ، محمد شهاب حمد و شيماء محمد سعيد الأحمر
كلية الزراعة / جامعة بغداد

الخلاصة

نفذت عدد من التجارب بهدف اكثار نبات الداليا *Dahlia variabilis* خارج الجسم الحي في مختبر زراعة الانسجة النباتية – كلية الزراعة – جامعة بغداد للفترة من 2004–2005. واشتملت التجارب على تأثير نوع الاجزاء النباتية، منظمات النمو، سلفات الادنين ومستخلص بذور السفرندة في مراحل نشوء وتضاعف وتجذير الزروعات.

اظهرت النتائج ان زراعة القمم النامية او العقد المفردة في وسط MS الخالي من منظمات النمو اعطت نسبة استجابة بلغت 100% وتم الحصول على اعلى معدل لعدد الافرع المتكونة اذ بلغت (4.00) فروع/جزء نباتي عند زراعة الافرع في وسط MS المجهز بـ 2 مايكرومول لكل من من الـBA و الـIAA. اما اضافة سلفات الادنين عند التركيز 60 ملغم/لتر الى زيادة معدل عدد الافرع المتكونة الى 6.80 فرع/جزء نباتي وبطول 7.27 سم. ادت اضافة 300 مل/لتر من المستخلص الكحولي لبذور السفرندة في الطور الحليبي فقد ادى الى زيادة معدل عدد الافرع اذ بلغت 2.50 فرع/جزء نباتي. بينما ادت اضافة 200 مل/لتر من المستخلص المائي لبذور السفرندة الناضجة الى اعطاء اعلى معدل لطول الافرع بلغ 7.76 سم. وكان اعلى معدل لعدد وطول الجذور عند وسط MS المجهز بـ 3 مايكرومول من IBA اذ بلغ 5.00 جذر/ فرع و 5.00 سم على التوالي. ان زيادة مستوى السكروز المضاف الى وسط MS بنصف قوة املاحه الى 45 غم/لتر مع اضافة 3 مايكرومول من الـIBA ادى الى اعطاء اعلى معدل لعدد الجذور بلغ 8.00 جذر/فرع واعلى معدل لطول الجذور 10.40 سم. وبلغت نسبة النجاح للنباتات المتأقلمة 100% عند زراعتها في خليط من الزميج والبتموس بنسبة 1:1 ورطوبة مسيطر عليها.

In vitro propagation of *Dahlia variabilis*

Mohamed A. Salman , Mohamed Sh. Hamad and Shayma M. Al-Ahmer
College of Agriculture/ University of Baghdad

Abstract

Several experiments were carried out to propagate *Dahlia variabilis* throughout tissue culture during period of 2004 to 2005. In tissue culture lab.- Horticulture- College of Agriculture- University of Baghdad. The studies included the effects of type of explants, plant growth regulators, adenine sulphate and seed extraction of Johnson grass.

The results indicated that 100% response was achieved when apical shoots and single nods explants were cultured on free MS medium. The highest number of shoots/explant (4.00) were achieved when shoots were cultured on MS medium

supplemented with 2µM of both BA and IAA. Adding of 60 mg/l adenine sulphate to the medium increased shoots number to 6.80 with 7.27 cm length. The addition of 300 ml/l of alcoholic extract from immature seeds of Johnson grass increased shoot number (2.50 shoots/explants), while modifying the medium with 200 ml/l of water extract of mature seeds of Johnson grass was superior on shoots length (7.76 cm).

The highest root number/explant (5.00) and length (5.00 cm) were achieved when MS medium supplemented with 3 µM IBA. Shoots cultured on half MS salt strength supplemented with 45 g/l sucrose and 3 µM of IBA gave the highest number and length of roots (8.00 roots/explants, 10.40 cm). A 100% success of acclimatized of plantlets was achieved when they were planted in 1:1 peatmoss and loam under controlled humidity.

المقدمة

تعد الداليا *Dahlia variabilis* من نباتات الزينة العشبية التي تصنف من نباتات الابصال غير الحقيقية وتعود للعائلة المركبة Compositae وساق الداليا عشبي مجوف والاوراق مركبة تتكون من 3–7 وريقات (1). وتكون الازهار على نوعين اما شعاعية او قرصية ومختلفة الاحجام اذ يكون قطرها من 10–25 سم كما تكون الازهار ثنائية او متعددة التلون تشتمل الابيض والاصفر والبرتقالي والاحمر والارجواني وتمتاز الداليا بكثر اصنافها كما تكون بعض الاصناف منها رباعية المجموعة الكروموسومية والتي تحتل المرتبة الاولى من الناحية الجمالية لذا فانها تزرع في الحدائق في مراقد الزهور Bedding plants وهي من الازهار الصالحة للقطف اذ يكون عمرها المزهري من 10–15 يوماً. وتعد من اجمل ازهار القطف ولاتتحمل درجات الحرارة المنخفضة وتحفظ جذورها في فصل الشتاء في مكان درجة حرارتة 5 ْم وتزهر في اشهر الصيف واحياناً في شهر اذار تبعاً للصنف ومكان الزراعة (2).

تتكاثر الداليا بطريقتي الاكثار الجنسي بالبذور والاكثار الخضري بواسطة الجذور الدرنية والاقلام. ويعد الاكثار بالزراعة النسيجية احدى الطرق المتبعة حالياً في اكثار انواع عديدة من النباتات العشبية منها والخشبية لما تمتاز به هذه الطريقة من ميزات لعل من اهمها الحصول على اعداد كبيرة وفي اي وقت من اوقات السنة اضافة الى امكانية انتاج شتلات خالية من الاصابات المرضية المختلفة (3). استعملت المستخلصات النباتية المختلفة التي تنتجها النباتات في مجال زراعة الخلايا والانسجة النباتية كونها تحوي على مواد مساعدة للنمو ومن هذه المستخلصات مستخلص الخميرة ومستخلص الشعير ومستخلص البطاطا والموز الاخضر بالاضافة الى حليب جوز الهند ومستخلصات الاعشاب والادغال (4).

وبناءاً على ذلك فقد تم توظيف هذه التقنية لدراسة افضل المعاملات التي يمكن اتباعها لاكثار نبات الداليا خارج الجسم الحي من خلال معرفة الجزء النباتي Explant الملائم للأكثار والتوليفة المناسبة من منظمات النمو ومستخلص بذور نباتات السفرندة لمرحلة النشوء والتضاعف اضافة الى دراسة افضل نوع وتركيز من الاوكسينات لمرحلة التجذير وافضل طريقة لاجراء عملية الاقلمة ونقل النباتات الى الظروف الطبيعية.

المواد وطرائق العمل

اجريت هذه التجارب في مختبر زراعة الانسجة النباتية التابع لقسم البستنة في كلية الزراعة/ جامعة بغداد للمدة من شهر شباط 2004 لغاية شهر كانون الثاني 2005.

مرحلة النشوء:

أ- تحضير الاجزاء النباتية وتعقيمها

اخذت الاجزاء النباتية من نباتات هجين الداليا red-yellow-dahlia المزروعة في اصص فخارية منماة في بيت زجاجي. وتم اختيار اقلام ساقية غضة بطول 15 سم من النموات الحديثة وازيلت اوراقها وقسمت الى اطراف الافرع Apical shoots بطول 1 سم واقلام ساقية تحمل عقدة واحدة single node cuttings بطول 1- 1.5 سم.

عقمت هذه الاجزاء بغسلها بالماء الجاري ومنظف سائل لازالة الاتربة والمواد العالقة بها. ثم غمرت بمحلول كلوريد الزئبق $HgCl_2$ بتركيز 0.1% لمدة خمس دقائق بوجود Tween-80 مع الرج المستمر. بعد ذلك تم غسلها بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات لازالة اثار المادة المعقمة.

ب- تحضير الوسط الغذائي

استخدم الوسط الغذائي MS (5) المحور كوسط اساس لكل التجارب (جدول 1). عدل الرقم الهيدروجيني pH الى 5.7 ±0.1 باستعمال محلول واحد عياري من هيدروكسد الصوديوم او حامض الهيدروكلوريك قبل اضافة الاكار. وزرع الوسط الغذائي في انابيب اختبار (25 × 150) ملم. ثم عقمت في جهاز الموصدة Autoclave لمدة 20 دقيقة تحت درجة حرارة 121 ْم وضغط 1.04 كغم/سم^2.

جـ- زراعة الاجزاء النباتية

زرعت الاجزاء النباتية في الوسط الغذائي الذي يحتوي على تراكيز مختلفة من السايتوكاينينات BA و Kin و 2ip هي (0 و 1 و 2 و 3 و 4) مايكرومول/لتر لكل منها كلاً على حدة. ودرس تاثير هذه السايتوكاينينات وتراكيزها على تكشف الاجزاء النباتية.

جدول (1) مكونات الوسط الغذائي MS من المركبات الخاصة بالزراعة

المادة	الكمية ملغم/ لتر
MS salt	قوة كاملة
Thiamine-HCl	0.4
Nicotinic acid	0.5
Pyrodoxine-HCl	0.5
Glycine	2.0
Sucrose	30000
Agar	6000
Myo-inositol	100

مرحلة التضاعف

أ- تأثير التداخل بين السايتوكاينين والاوكسين

تم اختبار تأثير التداخل بين تراكيز مختلفة من BA (0 و 2 و 3 و 4) مايكرومول مع تراكيز مختلفة من IAA (0 و 1 و 2 و 3 و 4) مايكرومول/لتر.

ب- تأثير سلفات الادنين

درس تأثير اضافة سلفات الادنين بالتراكيز (0 و 20 و 40 و60 و80) ملغم/لتر بوجود 2 مايكرومول/لتر من BA و 2 مايكرومول/لتر من IAA.

جـ- تاثير مستخلص بذور السفرندة

جمعت البذور المراد استخلاصها بالطور الحليبي والطور الناضج واتبعت طريقتين للاستخلاص هما الاستخلاص المائي والاستخلاص الكحولي(6). واجريت دراسة تأثير مستخلص البذور من خلال اضافته الى وسط MS المحور بتركيز (0 و 100 و 200 و 300) مل/لتر.

مرحلة التجذير

نقلت الافرع الناتجة من مرحلة التضاعف الخضري الى وسط MS وتم دراسة مايأتي:

1-تأثير اضافة الاوكسينات IAA و IBA و NAA الى الوسط الغذائي بالتراكيز (0 و 1 و 2 و 3 و 4) مايكرومول/ لتر.

2-تأثير اضافة خمسة تراكيز من السكروز الى الوسط MS بنصف قوة املاحه وهي (0 و 15 و 30 و 45 و 60) غم/ لتر بوجود 3 مايكرومول/ لتر من IBA.

ظروف التحضين

حضنت الزروعات في الحاضنة على درجة حرارة 25±2 م وشدة اضاءة 1000 لوكس لمدة 16 ساعة يعقبها 8 ساعات ظلام. واخذت النتائج بعد اربعة اسابيع من الزراعة وللتجارب كافة.

مرحلة الاقلمة

بعد مرور شهر من تجذير الافرع تمت المباشرة بعملية اقلمة النبيتات الناتجة بعد ان اخرجت من الوسط وغسلت جذورها جيداً بالماء للتخلص من بقايا الوسط ووضعت في انابيب اختبار تحتوي على 25 مل من الماء المقطر لمدة يوم واحد وعوملت بمبيد البيلتانول (فطري -بكتيري) ثم زرعت في اصص مملوءة بخليط الزميج والبتموس بنسبة 1:1. غطيت النبيتات بغطاء بلاستيكي شفاف للمحافظة على الرطوبة حولها. وخلال هذه المدة رشت النباتات بمحلول MS بربع قوة املاحة في الاسبوع الاول ومحلول MS بنصف قوة املاحة في الاسبوع الثاني والثالث ومحلول MS بقوة كاملة في الاسبوع الرابع واخيراً رفع الغطاء البلاستيكي عن النباتات تدريجياً. بعدها حسبت النسبة المئوية للنباتات الناجحة بعد الاقلمة.

التحليل الاحصائي

نفذت جميع التجارب كتجارب عاملية باتباع تصميم القطاعات العشوائية الكاملة RCBD وبواقع عشرة مكررات لكل معاملة لجميع التجارب عدا تجارب الاقلمة اذ كانت بواقع 20 مكرر لكل معاملة. وقورنت متوسطات المعاملات وفق اختبار اقل فرق معنوي (LSD) تحت مستوى احتمال 5% واستعمل البرنامج الجاهز SAS (7) في التحليل الاحصائي.

النتائج والمناقشة

1-مرحلة النشوء

تشير نتائج الجدول (2) الى انخفاض نسبة الاستجابة معنوياً عند زيادة تركيز السايتوكاينينات اذ كانت اعلى استجابة في الوسط الخالي من السايتوكاينين 100% الذي اختلف معنويا عن بقية التراكيز عدا التركيز 2 مايكرومول/ لتر والذي بلغ 95% الذي لم يختلف معنوياً عن بقية التراكيز التي اعطت نسبة استجابة 86% ويلاحظ من الجدول نفسه تفوق العقد المفردة على اطراف الافرع في نسبة الاستجابة كما يلاحظ من الجدول (2) ان زراعة الاجزاء النباتية سواءا" كانت اطراف الافرع ام العقد المفردة على وسط خالي من السايتوكاينين قد تفوقت معنويا"على اطراف الافرع المزروعة على اوساط غذائية احتوت على 1و 3 و4 مايكورمول /لتر من السايتوكاينيات المستعملة اذ بلغت نسبة الاستجابة 100% . ويلاحظ من الجدول (3) ان الاجزاء النباتية المزروعة على الوسط الخالي من السايتوكاينين والوسط الذي احتوى على BA بتركيز 2 و 3 و 4 مايكرومول/لتر قد تفوقت معنوياً في استجابتها التي بلغت 100% عن الاجزاء النباتية المزروعة على الوسط الذي احتوى على 2ip بالتراكيز 1 و 3 و 4 مايكرومول/لتر التي بلغت 75 و 80 و 75% على التوالي والوسط الذي احتوى على Kin بتركيز 3 مايكرومول/لتر فبلغت 80% في حين لم تختلف معنوياً عن باقي التداخلات.اما بالنسبة لنوع السايتوكاينين فقد تفوق الـBA على كل من الـ Kin و 2ip واللذين لم يختلفا معنويا" فيما بينهما .وقد تفوقت الاجزاء النباتية المزروعة في الوسط الخالي من السايتوكاينين معنويا" في النسبة المئوية للاستجابة بلغت 100% مقارنة ببقية التراكيز بأستثناء التركيز 2 مايكرو مول /لتر الذي بلغ 95%.

جدول (2) تأثير تراكيز السايتوكاينينات في النسبة المئوية للأستجابة من اطراف الافرع والعقد المفردة المزروعة على وسط MS بعد اربعة اسابيع من الزراعة

التركيز µM/L / الجزء النباتي	0	1	2	3	4	معدل الجزء النباتي
اطراف الافرع	100.0	80.0	93.0	80.0	83.0	87.0
العقد المفردة	100.0	93.0	96.0	43.0	90.0	94.0
معدل التركيز	100.0	86.0	95.0	86.0	86.0	
أ.ف.م 0.05						
الجزء النباتي			6.0			
التركيز			10.0			

الجزء النباتي × التركيز	14.0

جدول (3) تأثير نوع وتركيز السايتوكاينين في النسبة المئوية لأستجابة الاجزاء النباتية للداليا المزروعة على وسط MS بعد اربعة اسابيع من الزراعة

التركيز µM /L / الجزء النباتي	0	1	2	3	4	معدل نوع السايتوكاينين
BA	100	95	100	100	100	99
Kin	100	90	95	80	85	90
2ip	100	75	90	80	75	84
معدل التركيز	100	86	95	86	86	

أ.ف.م 0.05	
الجزء النباتي	7.0
التركيز	10.0
الجزء النباتي × التركيز	17.0

ان انخفاض نسبة الاستجابة عند اضافة السايتوكاينين الى الوسط قد يعود الى المحتوى العالي للافرع من السايتوكاينين الداخلي خاصة وان الداليا من النباتات التي تتكاثر بواسطة الجذور الدرنية والمعروف ان احد المواقع الرئيسية لبناء السايتوكاينينات هي الجذور وبما ان جذور هذه النباتات خازنة للمواد الغذائية فربما يكون محتواها من هذه السايتوكاينينات عاليا (8) وهذا ما اكدته هذه الدراسة اذا كانت استجابة الاجزاء النباتية المزروعة على الوسط الخالي من السايتوكاينين عالياً قياساً بأستجابتها عند زراعتها على الوسط الحاوي على السايتوكاينين.

2-مرحلة التضاعف الخضري

تشير نتائج الجدول (4 أ) ان الاجزاء النباتية المزروعة على الوسط المجهز بـ 2 مايكرومول من IAA قد تفوقت معنوياً في معدل عدد الافرع بلغ 2.68 فرع/جزء نباتي، على الاجزاء النباتية المزروعة على الوسط المجهز بالتراكيز الاخرى من الـ IAA وكان اقلها عند الوسط الخالي من الـ IAA اذ بلغ 1.28 فرع/جزء نباتي. اما عن تأثير الـ BA فيلاحظ من الجدول ان الاجزاء النباتية المزروعة على الوسط المجهز بـ 2 مايكرومول من الـ BA قد اعطت اعلى معدل لعدد الفروع بلغ 2.98 فرع/ جزء نباتي والذي تفوق معنوياً على بقية المعاملات. كما نلاحظ ان اقل معدل لعدد الافرع كان في الاجزاء النباتية المزروعة على الوسط الخالي من الـ BA الذي بلغ 1.06 فرع/ جزء نباتي.

اما بالنسبة لتأثير التداخل بين بين الـ IAA والـ BA فقد اعطت الاجزاء النباتية المزروعة على الوسط المجهز بـ 2 مايكرومول من كل من الـ IAA والـ BA اعلى معدل لعدد الفروع بلغ 4.0 فرع/ جزء نباتي والذي تفوق معنوياً على بقية التداخلات بأستثناء التداخل بين 2 مايكرومول من الـ BA و 4 مايكرومول/لتر من الـ IAA الذي اعطى 3.40 فرع/جزء نباتي. وتشير النتائج في الجدول (4 ب) الى ان الاجزاء النباتية المزروعة على الوسط

المجهز بـ IAA بتركيز 1 مايكرومول/لتر قد تفوقت معنوياً على بقية التراكيز اذ بلغ معدل طول الفرع 4.80 سم في حين اعطى التركيز 4 مايكرومول/لتر اقل معدل لطول الفرع بلغ 3.24 سم. اما بالنسبة لتركيز الـ BA فقد اعطت الاجزاء النباتية المزروعة على الوسط المجهز بـ 2 مايكرومول/لتر من الـ BA اعلى معدل لطول الافرع بلغ 4.66 سم والذي تفوق معنوياً على بقية المعاملات عدا المعاملة بالتركيز 4 مايكرومول/لتر الذي بلغ معدل طول الفرع فيها 4.16 سم.

اما عن تأثير التداخل بين الـ IAA و الـ BA فقد اعطت الاجزاء النباتية المزروعة على الوسط المجهز بـ (1) مايكرومول من الـ IAA و (2) مايكرومول/لتر من الـ BA اعلى معدل لطول الفرع بلغ 6.30 سم.

ان ظهور الافرع على النسيج النباتي المزروع يعتمد على التجهيز الخارجي للاوكسين والسايتوكاينين ثم حدوث حالة التوازن بينهما داخل الجزء النباتي (9) وعليه فان تفوق الوسط المجهز (2) مايكرومول من الـ IAA و الـ BA في معدل عدد الافرع قد يرجع الى زيادة تركيز السايتوكاينين داخل الجز النباتي والذي أدى الى تحرير البراعم من السيادة القمية مما حفزها على النمو (10) وهذا ما اكده (11) على ضرورة التوازن بين الاوكسين والسايتوكاينين عند مضاعفة افرع هجن الداليا. كما ان تفوق الافرع المزروعة على اوساط مجهزة بـ (2) مايكرومول من الـ BA و (1) مايكرومول من الـ IAA في اطوالها قد يعود الى حالة التوازن الهرموني التي ادت الى تحفيز انقسام الخلايا واستطالتها بشكل افضل من بقية التوليفات المستعملة من الـ IAA و BA ادت الى تقليل اطوال الافرع الذي قد يعود الى ان اضافة السايتوكاينين يؤدي الى زيادة تركيزه في الوسط الغذائي مسبباً تقليل دور الاوكسين الداخلي المسؤول عن استطالة الخلايا بأتجاه المحور الطولي(3) و(12).

جدول (4) تأثير تراكيز الـIAA و الـBA وتداخلهما في معدل عدد وطول الافرع (سم) لنباتات الداليا المزروعة على وسط MS بعد اربعة اسابيع من الزراعة

أ- عدد الافرع

IAA µM/L / BA µM/L	0	1	2	3	4	المعدل
0	1.00	1.20	1.10	1.00	1.00	1.06
2	1.80	3.00	4.00	2.70	3.40	2.98
4	1.40	2.80	3.10	2.90	2.50	2.54
6	1.20	2.20	2.70	2.50	2.30	2.18
8	1.00	1.90	2.50	2.00	1.80	1.84
المعدل	1.28	2.22	2.68	2.22	2.20	

أ.ف.م 0.05

تركيز IAA= 0.30

تركيز BA= 0.30

التداخل= 0.67

ب- طول الافرع (سم)

IAA µM/L / BA µM/L	0	1	2	3	4	المعدل
0	3.50	2.60	4.00	3.50	2.50	3.22
2	4.50	6.30	5.00	4.00	3.50	4.66
4	4.00	5.60	3.20	4.20	3.80	4.16
6	3.70	5.30	2.30	3.90	3.40	3.72
8	3.00	4.20	2.11	3.50	3.00	3.16
المعدل	3.74	4.80	3.32	3.82	3.24	

أ.ف.م 0.05

تركيز IAA= 0.52

تركيز BA= 0.52

التداخل= 1.17

تأثير سلفات الادنين

ازداد معدل معدل عدد الافرع وطولها/ جزء نباتي معنوياً بزيادة تركيز مستويات سلفات الادنين في الوسط الغذائي ليصل اعلى معدل لها عند التركيز 60 ملغم/لتر والذي بلغ 6.80 فرع ومعدل طول 7.27 سم مقارنة بأقل معدل عدد الافرع واطوالها بلغ 4.00 و 5.00 سم على التوالي في الوسط الخالي من سلفات الادنين (جدول 5).

ان زيادة معدل عدد الافرع وطولها بزيادة مستويات سلفات الادنين قد يعزى الى احتوائها على قاعدة نتروجينية او مصدر عضوي للنتروجين (9) او قد يعود الى دور سلفات الادنين غير المباشر في تحفيز انقسام الخلايا وتحفيز تكوين الانسجة الوعائية للبراعم والافرع مسهلاً انتقال الماء والمغذيات مما يؤدي بالنتيجة الى زيادة طول الافرع (12(و(13).

جدول (5) تأثير سلفات الادنين في معدل عدد وطور الافرع (سم) لنبات الداليا بعد اربعة اسابيع من الزراعة على وسط MS المضاف اليه 2 مايكرومول BA و 2 مايكرومول IAA

التركيز ملغم/ لتر	معدل عدد الافرع	معدل طول الفرع (سم)
0	4.00	5.00
20	4.60	5.50
40	5.70	6.70
60	6.80	7.27
80	6.20	7.00

أ.ف.م. **0.05**	1.12	2.05

تأثير مستخلص بذور السفرندة

توضح النتائج في الجدول (6 أ) تفوق الاجزاء النباتية المزروعة عل الوسط المجهز بـ 300 مل/لتر من المستخلص الكحولي لبذور السفرندة في الطور الحليبي في معدل عدد الافرع اذ بلغ 2.50 فرع/جزء نباتي التي تفوقت معنوياً على بقية التداخلات عدا المعاملات التي استعمل فيها المستخلص المائي للبذور الناضجة وبالتراكيز 100 و 200 و 300 مل/لتر كذلك عند استعمال المستخلص الكحولي للبذور في الطور الحليبي بتركيز 200 مل/لتر. في حين اعطت معاملة المقارنة اقل عدد من الافرع بلغ 1.00 فرع/جزء نباتي. اما المعاملات التي استعمل فيها المستخلص الكحولي للبذور الناضجة بالتراكيز 100 و 200 و 300 مل/لتر فانها لم تعط اي استجابة بل على العكس فقد تدهورت وادت هذه المعاملة الى موت الاجزاء النباتية.

ان الزيادة المعنوية في عدد الافرع/ جزء نباتي بفعل تأثير مستويات مختلفة من مستخلص بذور السفرندة قد يعود لاحتواء هذا المستخلص على مركبات ثانوية لها القدرة في احداث تأثير في نمو النباتات الاخرى. (14) و(15)و (16) .

وان سبب موت الاجزاء النباتية عند استعمال المستخلص الكحولي لبذور السفرندة الناضجة قد يعود الى ان الاستخلاص الكحولي ادى الى تحرير مركبات الفينولك Phenolic والكلوروجينك Chlorogenic الموجودة في البذور الناضجة لنبات السفرندة(17) وان هذه المركبات التي يحتويها المستخلص ربما تثبط انزيم COA Reductase (18) وسببت موت الاجزاء النباتية بسبب تثبيط عمليتي انقسام الخلايا واستطالتها (12) واثرت على امتصاص العناصر المغذية من الوسط الغذائي (17).

وتفوقت المعاملة التي زرعت فيها الاجزاء النباتية على الوسط المجهز بـ 200 مل/لتر من المستخلص المائي للبذور الناضجة على بقية التداخلات اذ بلغ طول الفرع فيها 7.76 سم (جدول 6 ب) عدا الاجزاء النباتية المزروعة على الوسط المجهز بـ 300 مل/ لتر من المستخلص المائي للبذور الناضجة والوسط المجهز بـ 100 مل/ لتر من المستخلص المائي للبذور في الطور الحليبي. كما يلاحظ من الجدول نفسه ان الاجزاء النباتية المزروعة على الوسط المجهز بـ 300 مل/ لتر من المستخلص المائي للبذور في الطور الحليبي قد اعطت اقل معدل لطول الفرع بلغ 2.67 سم. في حين اخفقت الاجزاء النباتية المزروعة على الوسط المجهز بالمستخلص الكحولي للبذور الناضجة بالتراكيز 100 و 200 و 300 مل/ لتر بالاستمرار بالنمو.

ان قصر طول الافرع بزيادة تركيز المستخلص المائي للبذور في الطور الحليبي وعند استعمال المستخلص الكحولي للبذور الناضجة ربما يرجع الى تثبيط النمو من خلال زيادة فعالية انزيم IAA- oxidase او اعاقة عملية انتاج الطاقة او التداخل مع الهرمونات مما يعيق عملها وهذا التأثير يعود الى وجود مركبات ثانوية التي ربما ثبطت استطالة الخلايا وانقسامها(19). وهذه المركبات هي مركبات الفينولك والكلوروجينيك واحماض الكوماريك.

جدول (6) تأثير طور نضج البذور وطريقة الاستخلاص والتراكيز في معدل عدد الافرع وطولها للاجزاء النباتية المزروعة على وسط MS بعد اربعة اسابيع من الزراعة

أ. معدل عدد الافرع

اطوار النضج	طريقة الاستخلاص	التركيز مل/لتر			
		0	100	200	300
طور حليبي	مائي	1.00	1.80	1.70	1.60
	كحولي	1.00	1.60	2.00	2.50
طور ناضج	مائي	1.00	2.10	2.20	2.10
	كحولي	1.00	0.00	0.00	0.00
أ.ف.م 0.05		0.54			

ب. معدل طول الفرع (سم)

اطوار النضج	طريقة الاستخلاص	التركيز مل/لتر			
		0	100	200	300
طور حليبي	مائي	3.50	6.02	3.79	2.67
	كحولي	3.50	3.50	4.66	5.45
طور ناضج	مائي	3.50	5.44	7.76	6.94
	كحولي	3.50	0.00	0.00	0.00
أ.ف.م 0.05		1.77			

3-مرحلة التجذير

يلاحظ من نتائج الجدول (7 أ) ان الافرع المرزوعة على وسط MS المحتوي على تركيز 3 مايكرومول/لتر من الاوكسين قد تفوقت معنوياً في معدل عدد الجذور/ فرع على بقية المعاملات اذ بلغ 3.86 جذر ماعدا التركيز 4 مايكرومول/لتر الذي بلغ 3.23 جذر/ فرع في حين اعطت معاملة المقارنة اقل عدد من الجذور بلغ 0.30 جذر/ فرع.

اما بالنسبة لتأثير نوع الاوكسين فأن الافرع المزروعة على الوسط المجهز بـ IBA اعطت اعلى معدل لعدد الجذور بلغ 2.60 جذر/ فرع غير انه لم يختلف معنويا" عن كل من الـ IAA والـNAA. اما بالنسبة للتداخل بين نوع الاوكسين والتركيز فقد تفوقت الافرع المزروعة على الوسط المجهز بـ 3 مايكرومول/لتر من الـ IBA على بقية التداخلات فبلغ 5.00 جذر/ فرع عدا الافرع المزروعة على الوسط المجهز بـ 4 مايكرومول/لتر من الـ IBA،

والوسط المجهز بـ 3 و 4 مايكرومول/لتر من الـ IAA. ووما تجدر الاشارة اليه ان المعاملة بتراكيز مختلفة من NAA ادت الى تكوين نسيج الكالس.

وتشير نتائج الجدول (7 ب) الى تفوق الافرع المزروعة على الوسط المجهز بـ 3 مايكرومول من الاوكسين في معدل طول الجذور الذي بلغ 4.00 سم على تلك المزروعة على الوسط الخالي من الاوكسينات ولكنها لم تختلف معنوياً عن التركيزين 2 و 4 مايكرومول/لتر. اما عن الاوكسينات فنلاحظ تفوق الافرع المعاملة بـ IBA في معدل طول الجذر على تلك المعاملة بـ NAA و IAA اذ بلغ معدل طول الجذر 3.10 سم الذي لم يختلف معنوياً عن المعاملات الاخرى، في حين اعطت الافرع المرزوعة على الوسط الحاوي على الـ IAA اقل معدل لطول الجذر بلغ 1.92 سم. كذلك تشير النتائج في نفس الجدول الى تفوق الافرع المعاملة بـ 3 مايكرومول والمعاملة بـ 1 مايكرومول من الـ NAA ومعاملة المقارنة. ولكنه لم يختلف عن بقية التداخلات اذ بلغ معدل طول الجذر قيمة 5.00 سم في حين اعطت معاملة المقارنة اقل معدل لطول الجذر بلغ 0.50 سم.

تعود كفاءة الاوكسين IBA في عملية التجذير الى ثباتيته العالية نسبياً العائدة لعدم تأثره بالانزيمات المسؤولة عن هدم الاوكسينات (20).

جدول (7) تأثير نوع وتركيز الاوكسين والتداخل بينهما في معدل عدد وطول الجذور للأفرع الداليا المزروعة على وسط MS بعد أربعة اسابيع من الزراعة

أ. معدل عدد الجذور

نوع الاوكسين / التركيز µM/L	IAA	NAA	IBA	معدل التركيز
0	0.30	0.30	0.30	0.30
1	1.00	1.70	1.60	1.43
2	1.50	2.50	2.20	2.06
3	3.80	2.80	5.00	3.86
4	3.10	2.70	3.90	3.23
معدل الاوكسين	1.94	2.00	2.60	
أ.ف.م. 0.05				
الاوكسين=	0.69			
التركيز=	1.29			
التركيز × الاوكسين	2.27			

ب. معدل طول الجذور (سم)

نوع الاوكسين / التركيز µM/L	IAA	NAA	IBA	معدل التركيز
0	0.50	0.50	0.50	0.50
1	1.10	2.10	2.60	1.93
2	1.70	2.40	3.90	2.66

3	3.50	3.50	5.00	4.00
4	2.80	3.10	3.50	3.13
معدل الاوكسين	1.92	2.32	3.10	
أ.ف.م. 0.05				
الاوكسين=	1.27			
التركيز=	1.41			
التركيز × الاوكسين	2.50			

تأثير السكروز

لم يلاحظ وجود اية فروقات معنوية في نسبة التجذير في حالة اضافة تراكيز مختلفة من السكروز اما اعلى نسبة تجذير فقد كانت 100% عند اضافة 45 غم/ لتر من السكروز الى الوسط الغذائي الذي بنصف قوة املاحة يوجود 3 مايكرومول/لتر من الـ IBA (جدول 8). اما بالنسبة لمعدل عدد الجذور فقد تفوقت معنويا" الافرع المزروعة على الوسط الحاوي على 45 غم/لتر من السكروز على بقية التراكيز اذ بلغ معدل عدد الجذور 8.00 جذر/ فرع في حين اعطت الافرع المزروعة على الوسط المحتوي 60 غم/ لتر اقل معدل لعدد الجذور بلغ 4.30 جذر/ فرع.

ويلاحظ من الجدول (8) ان اضافة 45 غم/ لتر من السكروز الى الوسط قد اعطت اعلى معدل لطول الجذر بلغ 10.40 سم والذي تفوق معنوياً على باقي التراكيز المستعملة. ان زيادة نسبة الكربوهيدرات/ النتروجين تؤدي الى زيادة في نسبة التجذير وزيادة معدل طول الجذور (21) وان عدم وجود السكروز الذي يعد مصدراً للطاقة (22) ادى الى اخفاق في عملية التجذير اذ تعد الكربوهيدرات عامل محدد ومهم للتجذير حيث ان المستوى العالي منها يرتبط مع نشوء الجذور وزيادة نسبة التجذير (23).

ان انخفاض معدل التجذير بزيادة تركيز السكروز عن 45 غم/ لتر ربما يعزى الى الخلل الازموزي اذ ان الكاربوهيدرات بالمستويات الطبيعية تعمل بالحفاظ على الضغط التنافذي للوسط الغذائي (12)و(24).

جدول (8) تأثير تراكيز مختلفة من السكروز في النسبة المئوية للتجذير ومعدل عدد وطول الجذور على افرع نبات الداليا المرزوعة على وسط MS بنصف قوة املاحه والمجهز بـ 3 مايكرومول من IBA بعد اربعة اسابيع من الزراعة

تركيز السكروز (غم/ لتر)	نسبة التجذير %	معدل عدد الجذور	معدل طول الجذور سم
0	0	0	0
15	80	5.1	4.7
30	90	5.4	5.6
45	100	8	10.4
60	90	4.3	3.5
أ.ف.م. 0.05	24	2.18	2.02

4- الاقلمة

بلغت اعلى نسبة نجاح 100% عند استعمال الوسط المكون من المزيج النهري والبتموس بنسبة 1:1. ان الحصول على نسبة نجاح 100% عند الزراعة على هذا الوسط يرجع الى قابلية الوسط على الاحتفاظ بكمية كافية من الماء وعدم جفافه بسهولة. كذلك يعود السبب الى ان وضع النباتات بالماء المقطر يعمل على تخفيف المواد التي امتصها النبات من الوسط الغذائي اثناء نموه فيه اذ يتدفق الماء الى خلايا الجذر تبعاً لقوانين الانتشار (12). ولاجل رفع نسبة نتح النباتات فان الانابيب تركت مفتوحة اذ ان النباتات النامية خارج الجسسم الحي تفتقر الى طبقة الكيوتكل بالاضافة الى عدم قيام الثغور بوظيفتها بصورة طبيعية لنموها في بيئة عالية الرطوبة (25)، وهذا يساعد على تدفق الماء من المحيط الخارجي الى انسجة النبات ومن ثم تخفيف العصير الخلوي. وبعد مرور 45 يوماً من النقل الى الاصص البلاستيكية نقلت النباتات الى سنادين بلاستيكية بحجم اكبر اذ بدأت النباتات بتكوين الجذور الدرنية وبعد مرور 2–3 اسبوع بدأت النباتات بالتزهير (شكل 1).

شكل (1) تطور وازهار النباتات بعد 60 يوما من النقل الى البيت الزجاجي

المصادر

1- Dole, J.M. and H.F. Wilkins. (1999). Floriculture Principles and Species Viacom Company. Upper Saddle River, New Jersey. 07458. pp 287-291.

2– السلطان، سالم محمد والجلبي، طلال محمود. (1992). الزينة. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة الموصل. العراق.

3- George, E.F.; M.A. Hall and G. JanDeklerk. (2008). Plant propagation by tissue culture. 3rd edition. Volume 1.

4-Ramawat, k.G. (2004). Plant biotechnology. S. Chand and Company LTD, Ram Nagar, New Delh.

5-Murashige, T. and F. Skoog. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tabacoo tissue culture. Physiol. Plant. 15: 437-497.

6- الاحمر، شيماء محمد سعيد. (2005). اكثار نبات الداليا المزروعة خارج الجسم الحي بأستعمال اطراف الافرع .رسالة ماجستير .كلية الزراعة .جامعة بغداد.(العراق).

7-SAS, 2002. STAT User Guide for Personal Computer SAS. Institute Inc, Cary, N.C. USA.

8-سلمان، محمد عباس. (2004). محاضرات منظمات نمو. كلية الزراعة. جامعة بغداد.

9-Trigiano, R.N. and D.J. Gray. (2000). Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises. CRC. Press LLC.

10-Pilate, B.G.; R.Maldiney; J Acues; M. Sossountzov and E. Miginiae. (1989). Abscisic acid, IAA and Cytokinins changes in bud Quiescence release. Physiol. Plant. 76: 100-106.

11-Kongthong, K. (1996). *In vitro* culture of dahlia. Thesis (M.Sc. in Agriculture). Kasetsart Univ. Bankok (Thialand).

12-Taiz, L. and E. Zeiger. (2006). Plant Physiology. 4th edition, Inc. Publisher, Sunderland.

13-Salman, M.A.; M.A. Hani and S.M. Bader. (1994). *In vitro* shoot multiplication of sour orange (*C. aurantium* L.) buds. Iraqi J. Agric. Sci. 25(1): 42-51.

14-Guenzi, W.D. and T.M. Mccalla. (1966). Phenolic acid residues and their phytotoxicity. Agronomy. J. 58: 303-304.

15-Petterson, D.T. (1981). Effect of allelopathic chemicals on growth and physiological response of soybean (*Glycine max*). weed Science. 29: 53- 59.

16-الحيدر، ماجد جعفر ابو بكر. (2002). استخدام مستخلصات بعض الاعشاب والادغال لتحسين القابلية الخزنية والزراعة النسيجية للبطاطا *Solanum tuberosum*. اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد. العراق.

17-Rice, E.L. (1984). Allelopathy. Academic 2nd ed. Press New York, USA. A-pp. 419.

18-Hartmans, K.J.; P. Diepenhorst and K. Oosterhaven. (1993). The coumarin and scopoletin on the standard root growth pattern. Am. J. Bot. outlook for *Carvonasa* "natural" sprouting inhibiters. Kartoffelbau. 44(12): 493-496.

19- Avers, C.J. and R.H. Goodwin. (1985). Studies on roots. Effect of 43: 612-620.

20-Nissen, S.J. and E.G. Sutter. (1990). Stability of IAA and IBA in nutrient medium to several tissue culture procedures. Hort. Science. 25(7):800-802.

21-سلمان، محمد عباس. (1988). اساسيات زراعة الخلايا والانسجة النباتية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة بغداد. العراق.

22-Smith, R.H. (2000). Plant Tissue Culture. Technique and Experiments. 2nd Edition. Academic Press. San Diego, New York.

23-Hartman, H.T. and D.E Kester. (1983). Plant Propagation Principles and Practices. 4th ed. New Jersey.

24-Skirvin, R.M. (1981). The tissue culture of fruit crops. Principles and Practices of Doing Agricultural Plant *In vitro* Technique. CRC Press, Inc. florida, pp. 51-139.

25-Read, P.E.; A.S. Economou and C.D. Fellma. (1984). Manipulating stock plants for improved *In vitro* masspropagation. Plant Tissue and Cell Culture. Zechoslovakia. p. 160.