تأثير بعض منظمات النمو في نمو الكالس وإستحداث النباتات من خمسة أصناف من الرز *Oryza sativa* L. في ظروف الشد الملحي

أروى عبد الكريم توفيق [1] صالح محسن بدر [2] سعد محمود المشهداني [3]

[1] قسم علوم الحياة، كلية العلوم للبنات، جامعة بغداد

[2] الهيئة العامة للبحوث الزراعية

[3] كلية الصيدلة، الجامعة المستنصرية

الاستلام 2009/7/1 القبول 2010/3/2

الخلاصة

درس تأثير تراكيز مختلفة من منظمات النمو في إستحداث الكالس من البذور الناضجة لخمسة أصناف من الرز العراقي هي عنبر المناذرة وعنبر بغداد وعنبر 33 وبسمتي العراق والعباسية، وكان التركيز 3 ملغم/ لتر 2,4-D و 0.2 ملغم/ لتر BA و 300 ملغم/ لتر كازئين متحلل مائياً المضاف إلى وسط MS قد أعطى أفضل إستجابة. كما درس تأثير ملح كلوريد الصوديوم NaCl بالتراكيز 0.25 و 0.5 و 0.75 و 1 و 1.25 و 1.5 % في نمو الكالس وإخلاف النباتات منه. بينت النتائج وجود إختلافات بين التراكيب الوراثية في إستجابتها لتكوين الكالس من البذور الناضجة وكان صنف العباسية أقل الأصناف إستجابة ولم تختلف باقي الأصناف معنوياً فيما بينها فضلاً عن كونه الأكثر تأثراً بالملح بالنسبة إلى وزن الكالس الطري إذ إنخفض معدل الوزن فيه بعد إضافة أقل تركيز للملح وهو 0.25% يليه صنفا المناذرة وعنبر 33 اللّذان تأثر الوزن فيهما عند التركيز 0.5%. لم يتم الحصول على نبيتات من كالس الرز ضمن التراكيز المستعملة وتفوق وسط MS المحتوي على 2 ملغم/ لتر لكل من NAA و K في إعطاء الجذور فقط والتي تباينت نسبها بين الأصناف كذلك إذ تفوق صنف البسمتي بإستجابته التي بلغت 100% وكانت أقل إستجابة للصنفين عنبر 33 والعباسية إذ بلغت 28.5%.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

EFFECT OF SOME GROWTH REGULATORS ON CALLUS GROWTH AND PLANT REGENERATION IN FIVE VARIETIES OF RICE *ORYZA SATIVA* L. UNDER SALINE CONDITIONS

Arwa A. Tawfiq[1]* Salih M. Bader[2] Saad M. Al-Mashhadani[3]

[1]Department of Biology, College of Science for Women, Baghdad University
[2]State Board for Agricultural Research
[3]College of Pharmacy, Al-Mustansiriyah University

Received 1/7/2009 Accepted 2/3/2010

ABSTRACT

***In vitro* study was carried out to evaluate the response of five rice *(Oryza sativa* L.*)* cultivars (Al-Manathera, Ambar Baghdad, Ambar 33, Iraqi – Basmati and Al-Abasia) to plant growth regulators and NaCl salinity on callus growth and regeneration. Murashige Skoog medium(MS) supplemented with 3mg/L 2,4- D, 0.2mg/L of 6-Benzyladenine(BA) and 300 mg/L casein hydrolysate was the best for callus induction from mature seeds of rice. The effects of 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.25, 1.5% NaCl on callus growth and regeneration were studied. The result showed that differences were recorded between genotypes in response of callus induction and regeneration. Al-Abasia had the lower percent among the cultivars tested in callus induction and its fresh weight which decreasd in the lowest concentration of NaCl (0.25%) treatment followed by Al-Manathera and Amber 33 treated with 0.5% NaCl. None of the used media for regeneration succeeded in giving plantlets and only the MS medium supplemented with 2mg/L of both 1-Naphthalene acetic acid(NAA) and Kinetin(K) gave roots in different concentrations of salt which varied among cultivars. Basmati showed the highest response that reached 100% while the less responded were Amber 33 and Al-Abasia (28.5%).**

Key words: *Oryza sativa*, Callus, Regeneration, NaCl

***To whom correspondence should be addressed.**

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

المقدمة

يأتي معظم غذائنا من عدد قليل من المحاصيل الزراعية ومن الطبيعي ان رفع معدلات إنتاجها يوفر مصدراً مهماً من مصادر الغذاء حالياً ومستقبلاً، ومن هذه المحاصيل الرز الذي يعد من أكثرها أهمية بعد الحنطة لكون حبوبه غنية بالكاربوهيدرات وسهلة الهضم إذ يحتاجها الإنسان لإمداده بالطاقة (1). ويشكل إنتاجه في البلدان الآسيوية ما يقارب 90% من الإنتاج العالمي، ويعد الغذاء الرئيس لأكثر من نصف سكان الكرة الأرضية (2). تعد الملوحة إحدى أهم الأسباب المؤثرة في إنتاج الرز في الأراضي المزروعة في العالم وبخاصة في المناطق الجافة وشبه الجافة(3)، إذ تؤثر فعلياً في معظم إن لم يكن جميع العمليات الفسلجية في النبات وخاصة على المستوى الخلوي(4)، ويعد الرز متوسط الحساسية للملوحة(5)، وبالإمكان زيادة قابليته على تحمل الملوحة من خلال طرائق عديدة كالتضريب مع الأصناف المتحملة للملوحة أو مع الأصناف البرية ذات التحمل العالي إذ يحدث إنتقال للجينات من الأصناف المتحملة إلى الأقل تحملاً أو عن طريق زراعة الخلايا وتمايزها خـــارج الجسم الحي *In vitro* (6).

تطورت خلال العقود القليلة الماضية تقنية زراعة الأنسجة النباتية التي ركزت في جزء منها على دراسة ميكانيكية تحمل الملوحة على مستوى الخلية النباتية وتطوير أصناف متحملة عـــن طريق إنتخاب الخلايا التي تتحمل الملوحة وتنمو في التراكيز العالية وإكثارها(7) وقد أمكن الحصول على كالس الرز من زراعة البذور الناضجة(8،9)، وحبوب اللقاح(10)، وأجزاء البادرات المحتوية على عقدة غمد الرويشة(11)، وقد وجد إن الكالس الجنيني المستحدث من العناقيد الزهرية غير الناضجة أعطى نسباً عالية للتمايز عند زراعته على وسط MS يحتوي على الكاينتين و NAA بتركيز 2 ملغم/لتر لكل منها(12)، كما تم الحصول على أجنة ونباتات متمايزة عند تعريض الكالس لتجفيف جزئي إذ إن إزالة الماء dehydration مدة 24 ساعة من كالس الخلايا المعلقة للأصناف اليابانية للرز رفع نسبة تمايز الأفـــرع الهوائية من 5 إلى 27 ضعف(13)، وسجلت كذلك نسب عالية للنباتات المتمايزة عن الكالس الناشيء عن البذور الناضجة لصنفين من الرز الهندي (82% و 63.1%) بعد تعريضها للتجفيف الجزئي مدة 48 ساعة بدرجة 25 ± 1°م في الظلام(14).

تؤثر الملوحة في نمو الكالس وفي إخلاف النباتات منه وقد أمكن الحصول على نباتات متمايزة من الكالس النامي في ظروف ملحية على الرغم من تباين الإستجابة بين الأصناف (15،16، 17).

يهدف البحث إلى دراسة تأثير منظمات النمو في إستحداث الكالس من الأجنة الناضجة لبذورالرز فضلاً عن دراسة تأثير الملح NaCl في نمو الكالس وإخلاف النباتات منه.

المواد وطرائق العمل

أستعملت البذور الناضجة لخمسة أصناف من الرز العراقي *Oryza sativa* L. ذات النوعية الجيدة والمواصفات التصنيعية العالية وهي عنبر المناذرة و عنبر بغداد و عنبر 33 و بسمتي العراق و العباسية.

استحداث الكالس

أُستعملت البذور الناضجة لغرض إستحداث الكالس بعد إزالة أغلفتها ثم تعقيم السطح الخارجي لها بالكحول الأثيلي 70% مـــدة دقيقة واحدة ثم بمحلول هايبوكلورات الصوديوم NaOCl بتركيز 3% مع قطرات من المادة

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

الناشرة (Tween 20) مدة 15 دقيقة وأخيراً بالكحول الأثيلي 70% مدة 30 ثانية، غسلت البذور بعد ذلك ثلاث مرات بماء مقطر معقم ثم زرعت مباشرةً في أنابيب الزراعة التي تحتوي على الوسط الغذائي MS (18) كامل القوة لزراعة هذه البذور بعد إضافة تراكيز مختلفة من منظمات النمو إليه وكذلك أستعمل بنصف القوة (جدول1).

جدول (1): تراكيز منظمات النمو(ملغم/لتر) المستعملة مع وسط MS لغرض إستحداث كالس الرز

رقم المعاملة	تركيز منظمات النمو (ملغم/لتر)
1	سيطرة : بدون منظمات نمو
2	BA 1 + 2,4-D 0.5
3	K 0.1 + NAA 2 + 2,4-D 0.5
4	2,4-D 2
5	BA 0.2 + 2,4-D 2
6	BA 0.5 + 2,4-D 2
7	K 0.1 + 2,4-D 2
8	K 0.2 + 2,4-D 2
9	IAA 2 + 2,4-D 2
10	NAA 2 + 2,4-D 2
11	BA 1 + NAA 1 + 2,4-D 2
12	K 0.1 + NAA 1 + 2,4-D 2
13	MS ½ + K 0.1 + NAA 1 + 2,4-D 2
14	K 0.5 + NAA 1 + 2,4-D 2
15	2,4-D 3
16	BA 0.2 + 2,4-D 3
17	BA 0.2 + 2,4-D 3 + كازئين متحلل مائياً
18	BA 0.5 + 2,4-D 3
19	2,4-D 3.5
20	2,4-D 4
21	BA 0.5 + 2,4-D 4
22	K 0.5 + NAA 1 + 2,4-D 4
23	NAA 2

حضنت الزروعات في غرفة النمو في الظلام وبدرجة حرارة 28 ±2°م لمدة شهر. نقل الكالس الناتج إلى أوساط غذائية جديدة تحتوي على الملح NaCl بالتراكيز 0.25 و0.5 و 0.75 و 1 و1.25 و 1.5% فضلاً عن معاملة السيطرة الخالية من الملح وبمعدل 70 ملغم لكل مكرر. حضنت النماذج عند ذات الظروف السابقة. تم حساب وزن الكالس بعد شهر وأُخذت القراءة له ومثل الفرق بين القراءة الثانية والأولى مقدار الزيادة أو النقصان في وزن الكالس وإستجابته للتراكيز الملحية.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

اخلاف النباتات

نقل الكالس الجيد بعد شهر من نموه في التراكيز الملحية إلى وسط MS مضافاً له تراكيز مختلفة من منظمات النمو لغرض تحفيز نشوء الأفرع الخضرية والجذور عليه. وقد أُستعملت عدة تراكيز كما موضح في الجدول(2). حضنت الزروعات في ضوء مستمر وبدرجة حرارة 28 ±2°م، وأُخذت القراءات بعد شهر من الزراعة.

جدول (2): تراكيز منظمات النمو(ملغم/ لتر) المستعملة في اخلاف النباتات من كالس الرز على وسط MS

رقم المعاملة	تركيز منظمات النمو (ملغم/لتر)
1	بدون هرمونات
2	2,4-D 2.25 + BA 0.22
3	IAA 1 + BA 0.5
4	NAA 0.05 + BA 0.5
5	BA 1
6	(1/2 MS) NAA 1 + BA 1
7	K 1 + NAA 0.5 + BA 2.5
8	IAA 0.5 + NAA 0.5 + BA 4
9	NAA 2 + K 2
10	K 3
11	NAA 1.86 + K 4.3
12	2,4-D 0.2 + IAA 0.5

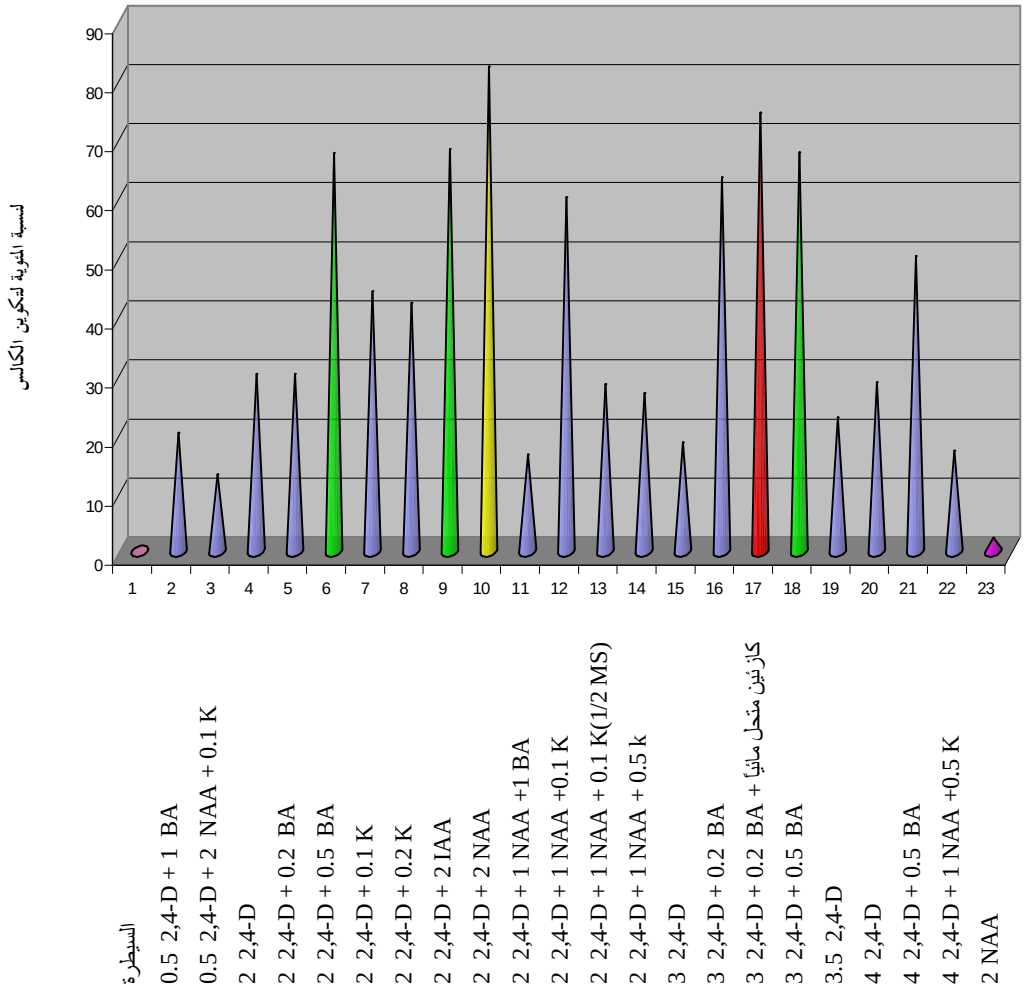
خضعت جميع النتائج للتحليل الإحصائي لمقارنة معدلات الاستجابة بالنسبة للتراكيز الملحية وبالنسبة للاصناف بإستعمال فحص تحليل التباين Analysis of Variance.

النتائج والمناقشة

أظهرت النتائج إستجابة مختلفة في إستحداث الكالس من بذور الأصناف المزروعة على الوسط الغذائي MS تبعاً لنوع منظمات النمو المستعملة وتراكيزها (شكل1) وقد لوحظ إن معاملة السيطرة الخالية من منظمات النمو دفعت البذور إلى الانبات وتكوين مجموع خضري وجذري جيد و لم يتكون الكالس منها إطلاقاً.

وجد عند إضافة الأوكسين بمفرده ان dichlorophenoxy acetic acid(2, 4-D) أعطى نتائج أفضل لتحفيز نشوء وتكون الكالس من NAA والذي جاء بعد معاملة السيطرة الخالية من منظمات النمو وكان معدل إستحداث الكالس فيه لجميع الأصناف 2.3%. وبالرغم من عدم وجود إتجاه واضح مرتبط بتركيز الاوكسين إلا أن أفضل الاستجابات كانت عند مستوى 2 و 3 ملغم/لتر من 2, 4-D. إن قابلية 4-D , 2 على تحفيز نشوء الكالس في الأوساط الغذائية يتأتى عن طريق تشجيعه الخلايا على النمو والانقسام (19،20،21).

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



شكل(1): النسبة المئوية لمعدل إستحداث الكالس من البذور الناضجة للرز على وسط MS بعد شهر من الزراعة.

أدى إستعمال 2،4-D بمفرده وبالتراكيز 2 و3 و3.5 و4 ملغم/لتر إلى تكوين كالس على الأجزاء الخضرية ولم يعط كالساً جنينياً. وعند إستعمال نوعين من الأوكسينات فقط بدون سايتوكاينين وهما NAA و IAA مع 2 , 4-D وبتركيز 2 ملغم/ لتر لكل منها تم الحصول على معدلات جيدة لإستحداث الكالس وكانت أفضلها بإستعمال NAA إذ بلغت 82%. أما إضافة IAA مع 2 , 4-D فقد أعطت نسبة 68% وكان الكالس في كلا المعاملتين من النوع المائي وذي لون أبيض مائل إلى الاصفرار.

أعطى الكاينتين متداخلاً مع 2 , 4-D نتائج أفضل وبخاصة عند التراكيز الواطئة (0.1 و0.2 ملغم/لتر) وكان التركيز 0.1 ملغم/لترهوالأفضل عن التركيز 0.2 ملغم/لتر وبوجود 2 ملغم/لتر من 2 , 4-D وكان الفرق في

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

النسبة المئوية بين معدل المعاملتين قليلاً إذ بلغ 44% و 42% لكل منهما على التوالي، ولكن التباين في الإستجابة كان بين الأصناف. وكان الكالس المتكون من النوع الكثيف والمتماسك Compact ويبدو إن إضافة السايتوكانينات يساعد في الحصول على كالس أكثر كثافة وتماسكاً(22)إذ أشيرإلى أنه عند إستعمال السايتوكانينات تم الحصول على كالس متماسك وغير أملس من نبات الحنطة، ولكن الفرق بين المعدل كان أوضح عند إستعمال 0.1 و 0.5 ملغم/لتر من الكاينتين مع كل من 4-D , 2 وNAA بتركيز 2 ملغم/لتر و1 ملغم/ لتر لكل منهما على التوالي إذ كان معدل المعاملة المحتوية على 0.1 ملغم/لتر من الكاينتين 59.9% مقارنة بالمعاملة المحتوية على 0.5 ملغم/ لتر منه والتي كان معدلها 26.8%.

أما البنـــزيل أدينين BA فكان أفضل من الكاينتين في زيادة النسبة المئوية لإستحداث الكالس وكان تركيز 0.5 ملغم/ لتر منه جيد مع 4-D , 2 بالتراكيز 2 و 3 ملغم/لتر إذ أعطى معدل 67.4% و 67.5% لكل منهما على التوالي، ولكن إضافته بتركيز 0.2 ملغم/ لتر مع 3 ملغم/لتر 4-D , 2 و 300 ملغم/لتر كازئين متحلل مائياً أعطت إستجابة أفضل وكان المعدل فيها 74.2%. يلاحظ مما سبق أن 4-D , 2 كان الأفضل في إستحداث الكالس وقد أدى إستعمال السايتوكاينينات معه إلى إعطاء نتائج أفضل وذلك لإن السايتوكاينينات تشجع الخلايا على الانقسام وخاصة في مزارع إستحداث الكالس وإنها تعمل بشكل أفضل في حال إستعمال الاوكسينات (23). أخيراً ويوضح الشكل السابق إن إستعمال أملاح MS بكامل القوة كان أفضل من إستعمالها بنصف القوة إذ إنخفض معدل النسبة المئوية لإستحداث الكالس إلى أقـــل من النصف عند إستعمال 4-D ,2 بتركيز 2 ملغم/لتر مع 1 ملغم/لتر NAA و0.1 ملغم/لتر كاينتين مع 1/2 MS فقد إنخفض المعدل من 59.9 إلى 28.3% وهذا يدل على إن تراكيز الأملاح في وسط MS الكامل جيدة ومناسبة لنمو كالس الرز خارج الجسم الحي.

أما بالنسبة إلى الاختلافات بين الأصناف فهي موضحة في الجدول(3) والشكل(2) وفيه نلاحظ إن صنف العباسية هو الأقل نسبة لاستحداث الكالس (31.3%) والتي إختلفت فيه هذه النسبة مع الأصناف الآخرى. وكان أعلى معـــدل للصنف بغداد إذ بلغ 40.7% وتشابه فيها مع كـــل من صنف المناذرة وعنبر 33 والبسمتي.

يعود التباين بين الأصناف إلى الاختلافات الوراثية فيما بينها وإلى الاختلاف في محتوى الهورمونات الداخلية ودورها في عمليات النمو المختلفة وكذلك إلى الاختلاف في نوع الخلايا ضمن الجزء النباتي (24 و25).

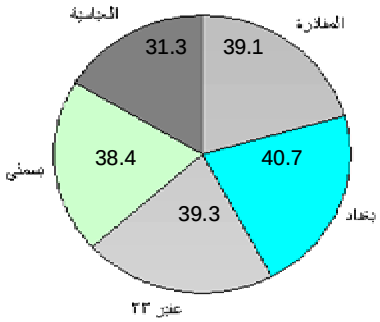
وقد ذكر إن إستجابة الأصناف المختلفة من الرز للزراعة خارج الجسم الحي تقع تحت سيطرة جينية معقدة وإن مجاميع منفصلة من الجينات تكون مشتركة في السيطرة على نشوء الكالس وعلى نموه وعلى نشوء النباتات منه (15). أستعمل في التجارب اللاحقة والخاصة بإختبار التراكيز الملحية كالس متماسك أمكن الحصول عليه باستعمال وسط MS المحتوي على 4-D , 2 بتركيز 3 ملغم/لتر والبنزل أدنين BA بتركيز 0.2 ملغم/لتر و300 ملغم/لتر من الكازئين المتحلل مائياً وكان جيداً على الرغم من إنه تراوح بين متوسط وصغير الحجم إذ تميزت معظم التجارب بعدم الحصول على كالس كبير الحجم.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

جدول(3): إستجابة أصناف الرز المختلفة لاستحداث الكالس (%)

Exp. No.	المعاملات	المناذرة	بغداد	عنبر33	بسمتي	عباسية	المعدل
1	السيطرة	0	0	0	0	0	0
2	0.5 2,4-D + 1 BA	12.5	12.5	25	25	25	20
3	0.5 2,4-D + 2 NAA + 0.1 K	10	10	5	20	20	13
4	2 2,4-D	60	40	20	20	10	30
5	2 2,4-D + 0.2 BA	30	30	20	40	30	30
6	2 2,4-D + 0.5 BA	56.2	77.7	81.8	56.5	65.2	67.4
7	2 2,4-D + 0.1 K	60	70	20	40	30	44
8	2 2,4-D + 0.2 K	50	40	60	40	20	42
9	2 2,4-D + 2 IAA	90	70	50	60	70	68
10	2 2,4-D + 2 NAA	80	90	90	60	90	82
11	2 2,4-D + 1 NAA +1 BA	27.2	27.2	9	10	9	16.4
12	2 2,4-D + 1 NAA +0.1 K	47	50	73.5	73.5	55.8	59.9
13	2 2,4-D + 1 NAA + 0.1 K(1/2 MS)	16.6	33.3	58.3	25	8.3	28.3
14	2 2,4-D + 1 NAA + 0.5 k	30	20	30	44.4	10	26.8
15	3 2,4-D	20	11.1	30	11.1	20	18.4
16	3 2,4-D + 0.2 BA	55.5	80	80	61.1	40	63.3
17	3 2,4-D + 0.2 BA + كازئين متحل مائياً	61.1	80	90	90	50	74.2
18	3 2,4-D + 0.5 BA	80	70.5	79.1	52	56	67.5
19	3.5 2,4-D	11.1	20	22.2	20	40	22.6
20	4 2,4-D	33.3	20	10	50	30	28.6
21	4 2,4-D + 0.5 BA	50	60	50	60	30	50
22	4 2,4-D + 1 NAA +0.5 K	20	20	14.2	20	11.1	17.06
23	2 NAA	0	5.8	0	5.8	0	2.3
	المعدل	39.1 A	40.7 A	39.9 A	38.8 A	31.3 B	

الأحرف المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية



شكل(2): النسب المئوية لمعدل الاستجابة لاستحداث الكالس بين أصناف الرز بعد شهر من الزراعة

تأثير الملح NaCl في معدل الوزن الطري للكالس

سببت تراكيز NaCl المدروسة إنخفاضاً في الوزن الطري للكالس بعد شهر من النمو وإن هذا التأثير متبايناً بين الأصناف ففي صنفي المناذرة وعنبر 33 أثرت الملوحة في معدل الوزن الطري للكالس عند تركيز0.5%

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

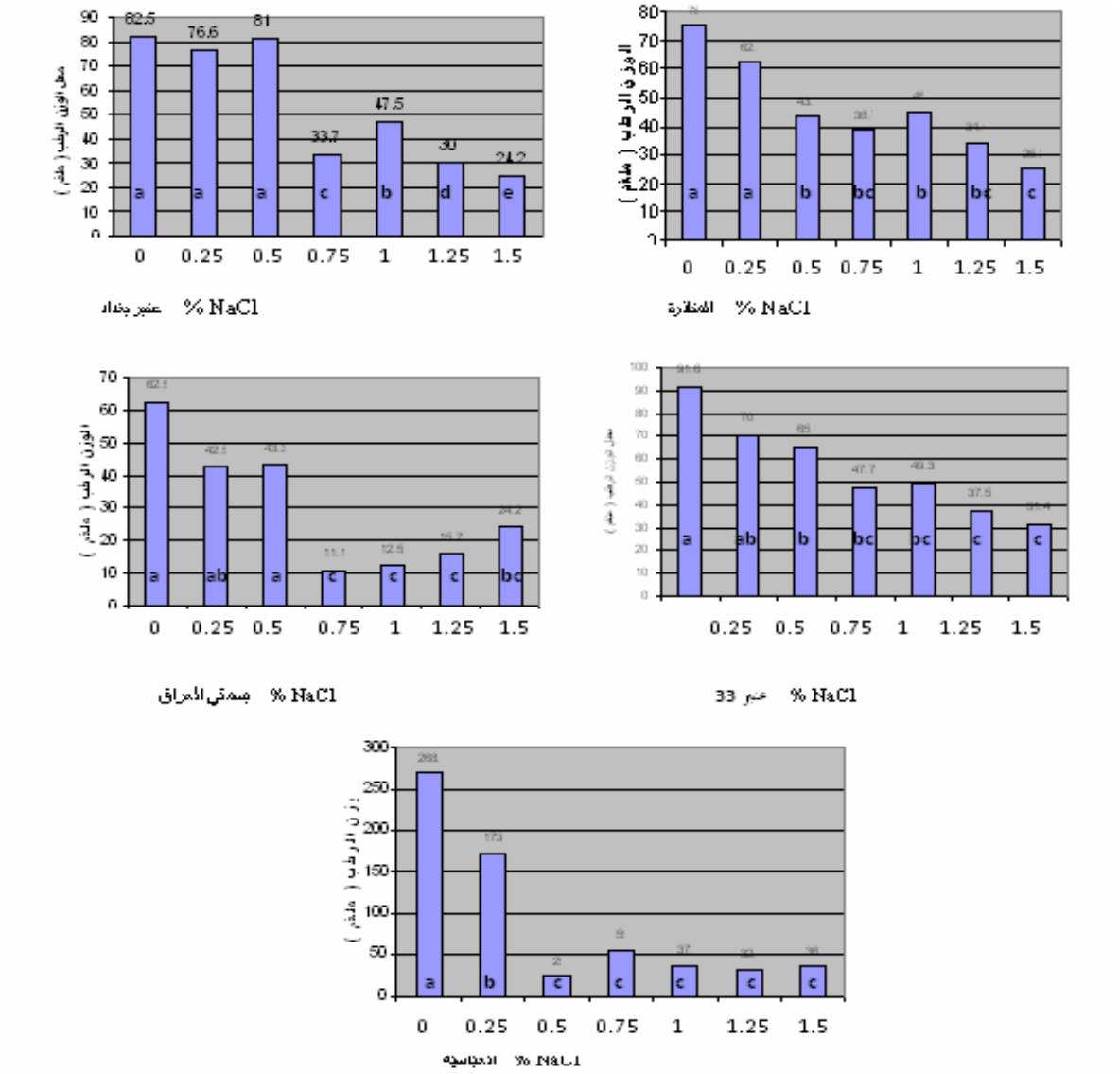
الذي إختلف فيه الوزن معنوياً مقارنة بمعاملة السيطرة وأستمر الوزن بالانخفاض وبلغ أقل مستوى عند التركيز 1.5% (شكل3)، أما صنفي عنبر بغداد وبسمتي العراق فكانت أكثر تحملاً للملوحة وإنخفض الوزن فيهما عند التركيز 0.75% ولكن الفرق إن صنف البسمتي أخذ معدل الوزن فيه بالارتفاع عند التركيز 1% وبلغ عند التركيز 1.5% أكثر من ضعف وزن الكالس في التركيز 0.75%.

أما صنف عنبر بغداد فقد إزداد الوزن فيه عند تركيز 1% فقط. إن هذه الزيادة في معدل الوزن قد تكون ناتجة عن حصول تغيرات وراثية وفسلجية في خلايا الكالس المعرض للشد الملحي بإتجاه زيادة تحملها، وقد لوحظ في كل الأصناف عدا العباسية إرتفاع نسبي في الوزن عند التركيز 1%. كان صنف العباسية أكثر الأصناف تأثراً وإنخفض معدل الوزن فيه معنوياً عند أقل تركيز 0.25% بالرغم من إنه أعطى أعلى معدل للوزن مقارنةً ببقية الأصناف وكان الانخفاض حاداً إبتداءً من التركيز 0.5% مقارنةً بمعاملة السيطرة.

يوضح الشكل(a4) تأثير التراكيز الملحية في معدل الوزن الرطب للكالس إذ كان للتراكيز الملحية المضافة إلى الوسط الغذائي تأثيراً معنوياً في معدل الوزن فقد انخفض الوزن بزيادة التراكيز وكان أقل معدل لنمو الكالس عند التركيز 1.5% وبلغ 28.3 ملغم والذي لم يختلف معنوياً مع كل تراكيز الملح عدا التركيز0.25% الذي كان معدل وزن الكالس فيه 84.9 ملغم ومعاملة السيطرة التي أعطت أعلى معدل بلغ 115.9ملغم. وقد بدأ تأثير الملح في نمو الكالس عند التركيز0.5%.

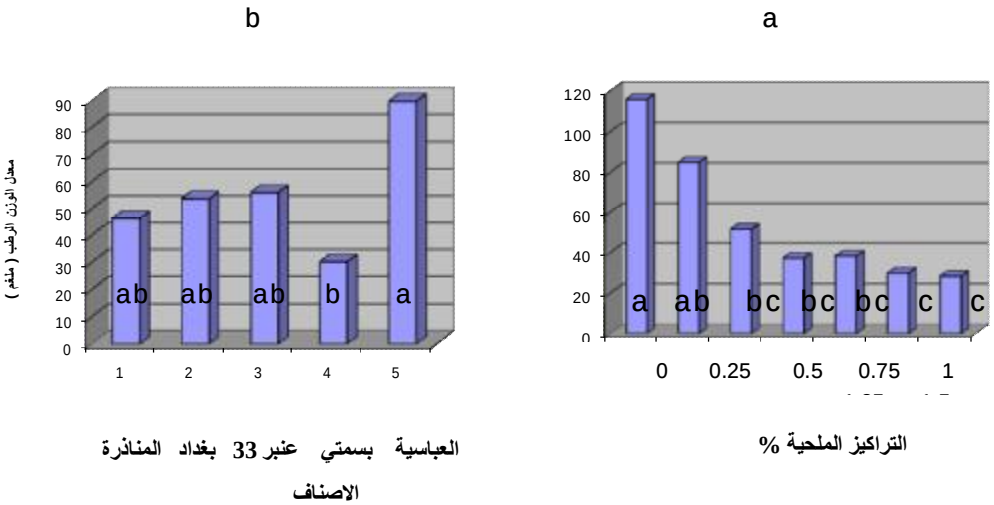
بالنسبة لتأثير الأصناف في معدل الوزن الرطب للكالس (شكل4b) أعطى صنف العباسية أعلى معدل للوزن الرطب بلغ 89.6 ملغم بالرغم من تأثره بدأً بالتركيز 0.25% و رز بسمتي العراق كان له أوطأ معدل للوزن بلغ 30.2 ملغم بالرغم من أنه لم يتأثر بالملح إلا عند التركيز 0.75%. أما عن التداخل بين الأصناف والتراكيز الملحية فقد كان التأثير معنوياً. وقد تفوق صنف العباسية في إعطاء أعلى معدل للوزن الرطب للكالس عند المعاملة 0.25% كلوريد الصوديوم والتي أعطت وزناً رطباً بلغ 173.3 ملغم، أما أدنى معدل فقد كان عند التركيز 0.75% في صنف البسمتي وبلغت قيمته 11.1 ملغم، إن إنخفاض وزن الكالس الرطب قد يعود إلى إنخفاض المحتوى المائي له بسبب الملوحة (26)، وان نقص الماء الحاصل نتيجة التغير في الجهد الازموزي يؤثر بدرجة كبيرة في العمليات الأيضية ومن ثم نمو وإنقسام الخلايا، أو قد يعود الانخفاض إلى التأثير السمي للأيونات إذ يحفز التعرض المتكرر أو الدائم للاجهاد الملحي زيادة محتوى كل من الآيونات Na^+ و Cl^- وإنخفاض تركيز K^+ و Ca^{+2} و NO_3^- و PO4 (27)، وإن أصناف الرز المتحملة تتراكم فيها كميات أقل من Na^+ و Cl^- عن الأصناف الحساسة (28).

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



شكل(3): تأثير كلوريد الصوديوم في معدل الوزن الطري لكالس المناذرة وعنبر بغداد وعنبر 33 وبسمتي العراق والعباسية (ملغم)
الأحرف المتشابهة تعني عدم وجود فرق معنوي.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



شكل(4): تأثير (a) التراكيز الملحية و (b) الأصناف في معدل الوزن الرطب للكالس (ملغم)

الأحرف المتشابهة عدم وجود فرق معنوي

تأثير الملح NaCl في عملية الاخلاف

بينت النتائج إن المعاملات المختلفة التي أستعملت لغرض الاخلاف Regeneration من الكالس النامي سابقاً في التراكيز الملحية لم يكن لها تأثير إيجابي في الحصول على نبيتات أو أفرع خضرية منه، وإن معاملة واحدة فقط حفزت تكوين الجذور Rhizogenesis بدون أفرع وهي 2 ملغم/لتر كاينتين و2 ملغم/لترNAA (جدول4).

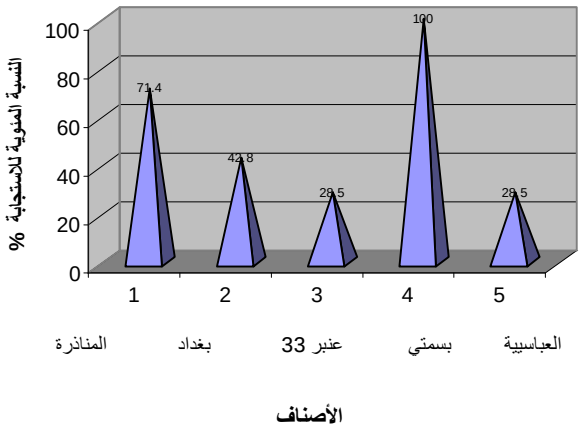
جدول(4): تأثير تراكيز مختلفة من منظمات النمو في استجابة الكالس للتمايز والاخلاف (ملغم/لتر)

رقم المعاملة	منظمات النمو	الاستجابة للإخلاف
1	بدون منظمات نمو	-
2	2,4-D 2.25 + BA 0.22	-
3	IAA 1 + BA 0.5	-
4	NAA 0.05 + BA 0.5	-
5	BA 1	-
6	(1/2 MS) NAA 1 + BA 1	-
7	K 1 + NAA 0.5 + BA 2.5	-
8	IAA 0.5 + NAA 0.5 + BA 4	-
9	NAA 2 + K 2	+
10	K 3	-
11	NAA 1.86 + K 4.3	-
12	2,4-D 0.2 + IAA 0.5	-

تباينت الإستجابة بين الأصناف وحسب التراكيز الملحية أيضاً، ونرى من الشكل(5) إن أعلى معدل إستجابة لتكوين الجذور كان في صنف البسمتي وبلغ 100% أي أنه كون جذوراً حتى في تركيز 1.5% من الملح يليه صنف المنانرة بنسبة 71.4% والذي أستمرت قابلية الكالس فيه على تكوين الجذور حتى تركيز 1%، أما أقل

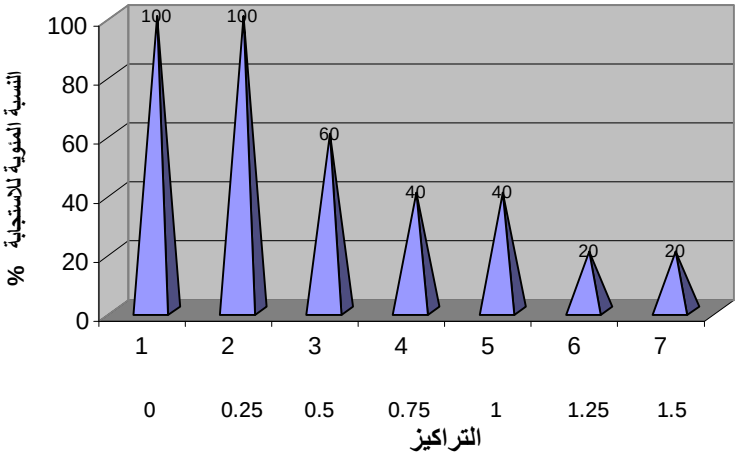
PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

إستجابة فكانت لصنفي عنبر33 والعباسية وبلغت28.5% إذ كانت إستجابتهما لإعطاء الجذور عند معاملتي السيطرة و0.25% فقط.



شكل(5): تأثير الاصناف في النسبة المئوية لتكوين الجذور في الوسط الزرعي المحتوي على تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم

كانت أفضل الإستجابات عند التراكيز الملحية التي في معاملتي السيطرة والتركيز0.25% من الملح وبلغت 100% ثم إنخفضت النسبة بإرتفاع مستوىكلوريد الصوديوم في الوسط وتساوت في التركيزين 1.25% و 1.5% والتي أعطت أقل نسبة لتمايز الجذور بلغت 20% (شكل6)



شكل(6): تأثير التراكيز الملحية في النسبة المئوية لتكوين الجذور من كالس أصناف الرز بعد شهر من الزراعة

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

يؤثر وجود الملح NaCl في وسط الاخلاف ويؤدي إلى حدوث إنخفاض شديد في نسبة إخلاف النباتات (4)، وإن قابلية الاخلاف أو تكوين الأعضاء Organogenesis سواءً الأفرع أوالجذور من الكالس المعرض للملوحة أو غير المعرض تكون مرتبطة إرتباطاً وثيقاً بالتراكيب الوراثية للأصناف المختلفة، فقد تكون هناك أصناف سهلة في تكوين الأعضاء وهناك أصناف على عكس ذلك.

تأكيداً لذلك وجد إن أصناف الرز الياباني لها القابلية على تكوين الكالس وإنشاء النباتات منه أكثر من الأصناف الهندية والتي تكون زراعتها أكثر صعوبة أو تعقيداً خارج الجسم الحي (29،7)، وفي دراسة لتأثير الملح NaCl في 15 صنف من أصناف الرز الهندي وجد إن 7 أصناف أعطت كـــالساً جنينياً وإن 4 منها فقط تمايز الكالس فيها إلى نباتات (30).

الأمور المهمة الأخرى التي تؤثر في تمايزالكالس Differentiation هي منظمات النمو فقد ذكر إن الخلايا التي تنقسم بإستمرار مرستيمية في حين إن الخلايا المتطاولة هي التي تنقسم في النهاية وهذا يعتمد على تراكيز الاوكسينات والسايتوكاينينات إذ تحفز التراكيز العالية من الاوكسين نمو الجذور، أما تراكيز السايتوكاينينات فتحفز تكوين البراعم والأفرع بينما التراكيز المتساوية تقريباً من كليهما فأنها تبقي الكالس غير متمايز(19)، وهذه الهورمونات تقع أيضاً تحت السيطرة الجينية.

ان عملية إستحداث الكالس والحصول على نباتات منه يتأثر بعدة عوامل منها مكونات وسط الزراعة وتوليفة منظمات النمو فيه ومصدر الجزء النباتي والتركيب الوراثي والمحيط(31) ومن الباحثين من يعدّ التركيب الوراثي والمكونات الغذائية هما المصدرين الأساسيين للاختلاف في الإستجابة عند الزراعة خارج الجسم الحي (24،7). ويعتقد بأن تمايز الأفرع متعلق كذلك وإلى درجة كبيرة بحالة الماء في الخلية إذ تكون مرتبطة به عمليات تكوين الأجنة والأعضاء وإن تغير الجهد الأزموزي يؤثر سلباً في إمتصاص الماء وفي كميته الموجودة داخل الخلايا(32). وقد أشار العديد من الباحثين إلى أن قابلية الكالس على الاخلاف تقع تحت سيطرة جينية وإن بعض الأصناف قد تفقد عمل الجين المسؤول عن التمايز عند زراعتها خارج الجسم الحي (33).

المختصرات :

BA: 6-Benzyladenine; 2 ,4-D: dichlorophenoxy acetic acid; IAA: Indol-3-acetic acid; K: Kinetin; MS: Murashige and Skoog medium; NAA: 1-Naphthalene acetic acid.

المصادر

1- Julians, B.O.(1993). Rice in human nutrition FAO food and nutrition , series No.26, Int. Rice Res. Inst.

2- Chourey, K.; Ramani, S. and Apte, S. K.(2003). Accumulation of LEA proteins in salt (Na Cl) stressed young seedling of rice (*Oryza sativa* L.) cultivar Bura Rata and their degradation during recovery from salinity stress. *J. Plant Physiol. Issue*, 10: 1165-1174.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

3- Zeng, L. and Shannon, M. C.(2000). Salinity effects on seedling growth and yield components of rice. *Crop Sci.,* 40:996 –1003 .
4- Lutts, S.; Kinet, J. M. and Boharmont, J.(1998). NaCl impact on somacloned variation exhibited by tissue culture-derived fertile plants of rice (*Oryza sativa* L.). *J. Plant Physiol*., 152: 92 –103 .
5- Yeo, A. R.; Yeo, M.E.; Flowers, S. A. and Flowers, T. J.(1990). Screening of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes for physiological characters contributing to salinity resistance, and their relationship to overall performance. *Theor. Appl. Genet.*, 79: 377 –384 .
6- Winicov, I.(1996). Characterization of rice (*Oryza sativa* L.) plants regeneration from salt-tolerance cell lines. *Plant Sci.,* 113: 105-111 .
7- Shah, M.I.; Jabeen, M. and Elahi, I.(2003). *In vitro* callus induction, its proliferation and regeneration in seed explants of wheat (*Triticum aestivum* L.) var. Lu-265. Pack. *J. Bot.*, 35(2) :209 -217.
8- Lutts, S.; Kinet, J. M. and Boharmont, J.(1996). Effects of various salts and of mannitol on ion adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) callus cultures. *J. Plant Physiol.*, 149:186 –195 .
9- Yoo, K. A. and Lee, M.Y.(2002). Enzymatic properties of fast-migrating cationic peroxidase isozyme from rice callus. *J. Plant Biotech.*, 4(1):39 –44 .
10- Chen, C.H.(1978). Effects of sucrose concentration on plant production in anther culture of rice. *Crop Sci.,* 18 :905 -906 .
11- Brown, D. J. and Beevers, H.(1987). Growth and respiration of rice (*Oryza sativa* L.) cells in suspension culture. *Plant Cell, Tis. and Org. Cult.,* 10:175 -186.
12- Ling, D. H.; Chen, W.Y.; Chen, M. F. and Ma, Z. R.(1983). Somatic embryogenesis and plant regeneration in an interspecific Hybrid of Oryza. *Plant Cell Report,* 2:169-171 .
13- Tsukahara, M. and Hirosawa, T.(1992). Simple dehydration treatment promotes plantlets regeneration of rice (*Oryza sativa* L.) callus. *Plant Cell Rep*., 13: 647-65.
14- Saharan, V.; Yadav, R. C.; Yadav, N. R. and Chapagain, B. P.(2004). High frequency plant regeneration from desiccated calli of indica rice (*Oryza sativa* L.). *Afr. J. of Biotech.,* 3(5): 256 –259 .
15- Abe, T. and Futsuhara, Y. (1986). Genotypic variability for callus formation and plant regeneration in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.,* 72:3 –10 .
16- Kattak, M. S. K.(1996). Plant regeneration and biochemical changes in rice (*Oryza sativa* L.) under NaCl stress. Ph.D. thesis. University Putra Malaysia.
17- Lutts, S.; Kinet, J. M. and Boharmont, J.(1999). Improvement of rice callus regeneration in the presence of NaCl. *Plant Cell, Tis. and Org. Cult.*, 57:3-11 .
18- Murashige, T. and Skoog, F.(1962). A revised medium for reapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15:473-497.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

19- Skoog, F. and Miller, C. O.(1957). Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue culture *In vitro*. *Symposium of the Society for Experimental Biology*, 11:118 –130 .

20- Katiyar, S. K.; Chandel, G.; Singh, P. and Pratibha, R.(1999). Genetic variation and effect of 2,4-D in *In vitro* plant regeneration in indica rice cultivars. *Oryza*, 36:254-256.

21- Zhenyn, G.; Goazy, H. D. and Huang, D. N.(1999). Some factors influencing callus formation and plant regeneration in Indica rice varieties. *Plant. Physiol. Comm.*, 35:113 –115.

22- Sesek, S.(1993). The influence of cytokinin concentration on callus induction and plant regeneration in wheat embryo culture. *Zemljiste I. Biljka*., 42(2): 133-139.

23- زيد، سليم حسين واغا، حنان شحاده (2001). التشكيل النباتي. الجزء العملي لطلاب السنة الثالثة. علوم طبيعية، جامعة دمشق.

24-Khanna, H. K. and Raina, S.K.(1998). Genotype culture media interaction effects on regeneration resonse of three indica rice cultivars. *Plant cell, Tis. and Org. Cult.*, 52: 145-153 .

25- Mahmuda K, M.; Hazart, A. M. and Desamero, N. V.(2003). Effect of genotype and culture media on callus formation and plant regeneration from mature seed scutella culture in rice. *Plant Tis. Cult.*, 13(2): 99-107 .

26- التكريتي، شذى عايد يوسف (2002). تقويم واخلاف نباتات الرز المتحملة للملوحة باستخدام تقانات مختلفة. أطروحة دكتوراه، قسم المحاصيل الحقلية، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

27- Grieve, C.M.; Lesch, S.M.; Francois, L.E. and Maas, E.V.(1992). Analysis of main-spike yield components in salt-stressed wheat. *Crop Sci.*, 32: 697-703 .

28- Akita, S. and Cabuslay, G.S.(1990). Physiological basis of differential response to salinity in rice cultivars. *Plant and Soil*, 123: 277-295 .

29- Raman, R.; Chahal, G.S. and Dhaliwal, H. S.(1994). Screening of genotype for callus induction and plant regeneration in rice. *Crop Improv.*, 21: 1-2.

30- Hartke, S. and Lorz, H.(1989). Somatic embryogenesis and plant regeneration from various indica rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *J. Genet. Breed.* , 43: 205 –214 .

31- Torbert, K. A.; Rines, H.W. and Somers, D. A.(1998). Trasformation of oat using mature embryo derived tissue cultures. *Crop Sci.*, 38: 226-231.

32- Huang, W. and Liu, L. (2002). Carbohydrate metabolism in rice during callus induction and shoot regeneration induced by osmotic stress. *Bot. Bull. Acad. Sin.*, 43:107 –113.

33- Bhaskaran, S. and Smith, R. H.(1990). Regeneration in cereal tissue culture*: Rev. Crop Sci.*, 30: 1328 –1337.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com