تاثير تراكيز مختلفة من منظمات النمو في الاكثار الدقيق لنبات (*Eustoma grandiflora*) Lisianthus

التفات فاضل شحاذه* علي هاشم الموسوي* كاظم محمد ابراهيم**

استلام البحث 29، تشرين الاول، 2011
قبول النشر 22، تشرين الثاني ، 2011

الخلاصة :

وظفت تقنية زراعة الأنسجة النباتية في إكثار نبات الـ Lisianthus (*Eustoma grandiflora*). ضمن دراسة في تجارب عدة أختبرت فيها مرحلة نشوء الزروعات وتأثير السايتوكاينين (BA) Benzyl adenine والكاينيتين 6-Furfural amino purine (KIN). كما اختبرتاثير الاوكسين Indol butyric acid (IBA) و Naphthalene acetic acid (NAA) بالتداخل مع BA وبتراكيز مختلفة في تضاعف افرع النبات من الاجزاء النباتية المدروسة (القمم النامية، العقد وأجزاء الاوراق). فضلاً عن دراسة تأثير التداخل بين BA و IBA في زيادة عدد الافرع على الاجزاء النباتية فيما تضمنت مرحلة التجذير دراسة تأثير تراكيز مختلفة من IBA و NAA بعد تضمينها الى الوسط الغذائي Murashige and Skoog, 1962 (MS). ودرس تاثير الوسط الزراعي المكون من التربة المزيجية والبتموس وبنسب مختلفة في نجاح أقلمة النبيتات. حصلت اعلى استجابة عند اضافة 0.3 ملغم/لتر من BA لتعطي أعلى متوسط لعدد الافرع المتكونة من أجزاء الاوراق بلغ 6.8 فرع بينما اعطى التركيز 0.1 ملغم/لتر من BA اطول متوسط لطول الافرع بلغ 1.16 سم. بينما بلغ عدد الافرع المتكونة من أجزاء الاوراق 3.8 فرعاً بعد اضافة 0.7 ملغم /لتر من KIN الى وسط النشوء. واعطت العقد اعلى متوسط طول للافرع بلغ 1.6 سم عند المعاملة 0.1 ملغم/لتر من KIN. وأعطت المعاملة 1.0 ملغم/لتر IBA بالتداخل مع 0.5 ملغم/لتر BA أعلى متوسط لطول الأفرع المتضاعفة بلغ 4.4 سم. أعطت الافرع المنماة على وسط MS الحاوي على 1.0 ملغم /لتر من IBA اعلى متوسط لعدد الجذور بلغ 5.5 جذر وبطول 2.5 سم وبنسبة تجذير بلغت 70%. أقلمت النبيتات وبنسبة نجاح بلغت اقصاها 90% بعد زراعتها في وسط زراعي مكون من التربة المزيجية والبتموس بنسبة (1:2) حجم/ حجم.

الكلمات المفتاحية: الاكثار الدقيق, منظمات النمو, *Eustoma grandiflora*

المقدمة :

يعد نبات Lisianthus (*Eustoma grandiflorum* (Raf) Shinn) احد أزهار القطف المهمة في العالم اذ ينتمي الى عائلة Gentianaceae. ويمتاز بجمال ازهاره وتباين الوانه المختلفة مثل البنفسجي، الارجواني، الابيض، الازرق، البيج، الوردي وشكله يشبه ازهارالروز. اهم ما يميز زهرة Lisianthus قدرتها على البقاء على النبات أو في المزهريات بعد القطف (Vase life) لمدة تزيد 1-2 اسبوع ولاسيما اذا ما استعملت المحاليل الحافظة مثل كبريتات الالمنيـــــوم [1] لهذا فقد زاد الطلب على هذه الازهار في الاسواق الاوربية والامريكية واليابانية، لتنتج حالياً في معظم دول العالم الى الحد الذي اصبحت فيه من ازهار القطف العشر الرئيسة التي تتداول في اسواق الزهور ومزاداتها [2] . نالت الازهار اعجاب المستهلكين وحصلت على مركز السيادة واخذت تستعمل بنجاح في تنسيقات الزهور المختلفة، ومع ذلك فان البحوث حول طرائق انتاجها لازالت غير كافية [3].

ان مايميز هذا النبات هو امكانية انتاجه في الحقول المكشوفة وداخل البيوت المحمية وكما هو معروف فأن رفع الطاقة الانتاجية لوحدة المساحة تتحقق من خلال اتباع الطرائق العلمية الصحيحة للعمليات الزراعية كافة ومن ضمنها تحديد كمية الاسمدة المضافة الى التربة او النبات ونوعيتها واستعمال منظمات النمو فضلاً عن السيطرة على اوقات الاضاءة ودرجات الحرارة [4] مما يجعل انتاجه بالطرائق التقليدية مكلفا. وبسبب قلة توافرالبذور وصعوبة زراعتها فأن هناك صعوبات في اكثاره جنسياً [5] فضلاً عن ان النباتات الناتجة من البذور غالباً ماتكون غير متجانسة في ارتفاعاتها ومواعيد ونوعية ازهارها. أستعمل الكثير من الباحثين توليفات مختلفة من منظمات النمو وبتراكيز مختلفة في مراحل الزراعة النسيجية

*كلية العلوم للبنات, جامعة بغداد
** كلية العلوم, جامعة النهرين

للنبات مثل مرحلة نشوء الزروعات والتضاعف والتجذير وحصلوا على نباتات لم تلبِ الطلب العالمي المتزايد على هذا النبات، ولقلة الدراسات على هذا النبات في العراق هدفت هذه الدراسة الى اتباع تقنية الاكثار الدقيق لأنتاج اعداد كبيرة منه متجانسة مظهرياً وخلال مدة قصيرة نسبياً. وعده نباتاً واعداً مثل ازهار قطف ولغرض انتاجه بشكل واسع في العراق لملائمته للزراعة في المنطقة الوسطى منه.

المواد وطرائق العمل :

مرحلة نشوء الزروعات Culture initiation stage: أجريت التجارب في مختبر زراعة الانسجة النباتية التابع لقسم علوم الحياة، كلية العلوم للبنات،جامعة بغداد.على نبات Lisianthus "Double Eagle) Mixed" Hybrid) اذ جلبت شتلات بأرتفاع 20 سم مزروعة في أصص بقطر 12 سم من أحد المشاتل الأهلية في بغداد وهي مستوردة أصلاً من خارج العراق. قطعت الافرع الخضرية الى قطع بطول 1 سم وغسلت بتيار ماء جاري لمدة ساعة كاملة بعدها أزيلت الأوراق وغسلت بالصابون السائل ونقلت الى منضدة انسياب الهواء الطبقي(Laminar Air Flow Cabinet) لضمان عدم التلوث في اثناء عملية التعقيم. واتبعت طريقة [6] في التعقيم السطحي للاجزاء النباتية بأستعمال محلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 1.5 ولمدة 15 دقيقة.

الوسط الغذائي: أستعمل الوسط الغذائي Murashige وSkoog، 1962 (MS) [7] وأضيف السكروز بمقدار30 غم/لتر والمايوانستول بمقدار 100ملغم /لتر وأضيفت منظمات النمو الى الوسط بحسب الهدف من التجربة وبالتراكيز المبينة ازاء كل منها. وأكمل الحجم الى 1000 مل، وعدل الـ pH الى 5.7 وأضيف 8.0 غم/لتر من مادة الأكار نوع Agar-Agar وسخن الوسط على جهاز الصفيحة الساخنة الممغنط (Hotplate/Magnetic stirrer) وعلى درجة حراره 90-100 مْ الى حين الذوبان الكامل. ووزع في الدوراق الخاصة بالزراعة. وغطيت الدوراق بالقطن الطبي ورقائق الالمنيوم بعدها جرى التعقيم بجهاز الموصدة (Autoclave) على ضغط 1.04 كغم/سم^2 ودرجة حرارة 121مْ لمدة 15 دقيقة وتركت الى حين تصلب الوسط الغذائي في درجة حرارة الغرفة أذ أصبح جاهزاً للزرعة. أما الملاقط والمشارط فعقمت بالكحول الأثيلي تركيز 70% ومررت على اللهب قبل الأستعمال وبعده.

تأثير تراكيز مختلفة من BA أو KIN في نشوء الزروعات: زرعت الأجزاء النباتية (القمم النامية، العقد الساقية واجزاء الاوراق الناضجة) في وسط MS المجهز بالتراكيز (0، 0.1، 0.3، 0.5، 1.0 او 2.0 ملغم/لتر) من كل من BA أو KIN على انفراد وبسبعة مكررات لكل معاملة وبواقع جزء نباتي واحد لكل مكرر. حضنت الزروعات في غرفة النمو تحت شدة اضاءة قدرها 1000 لوكس ولمدة أضاءة 8/16 ساعة ضوء/ظلام وعلى درجة حرارة 25 مْ ولمدة أربعة أسابيع. حسب بعدها عدد الافرع الناتجة ومتوسط أطوالها.

مرحلة التضاعف Multiplication stage: جرى فصل الافرع الى أفرع منفردة ونقلت الى دوارق حاوية على اوساط جديدة من MS لمضاعفة اعدادها. وقد استعملت الاوساط السابقة نفسها لتحقيق هذا الغرض مع أختبار 25 توليفة من منظمات النمو تداخلت فيها تراكيز مختلفة من BA (0، 0.5، 1.0، 2.0 او4.0 ملغم/لتر) مع التراكيز0، 0.3، 0.5، 1.0 او2.0 ملغم /لتر من IBA بتجربة عاملية وبواقع سبعة مكررات. حسب متوسط عدد الأفرع المتضاعفة لكل معاملة ومتوسط طول الأفرع (سم) بعد أربعة أسابيع من التحضين تحت الظروف الخاصة بنشوء الزروعات نفسها.

مرحلة التجذير Rooting stage: جرى اختبار التراكيز 0، 0.3، 0.5، 1.0 أو2.0 ملغم/لتر من كل من IBA وNAA المضافة الى وسط MS في تجذير الأفرع.

مرحلة الأقلمة Acclimatization stage: استخرجت الأفرع المجذرة من انابيب الاختبار وغسل المجموع الجذري بالماء الجاري لازالة اثار مادة الاكار المتبقية وعوملت بالمبيد الفطري (بلتانول) بتركيز 1.0 مل/لتر لمدة 10 دقائق زرعت بعدها منفردة في سنادين بقطر 7سم حاوية على خلطات بنسب مختلفة من الزميج النهري والبيتموس (0:1، 1:0، 1:1، 2:1 او 1:2) وبواقع ستة مكررات لكل معاملة ووضعت السنادين في بيت زجاجي وغطيت بأغطية بلاستيكية وسقيت بمحلول أملاح MS بنصف قوة ورفع الغطاء البلاستيكي عنها بشكل تدريجي ثم كلياً وحسبت نسبة نجاح النباتات المتأقلمة بعد 4 أسابيع.

التصميم التجريبي والتحليل الاحصائي: صممت تجارب احادية أو ثنائية العوامل مع تداخلاتها وفقاً للتصميم العشوائي الكامل CRD وبعدد مكررات بحسب ماورد في المواد وطرائق العمل. حللت البيانات على

وفق تحليل التباين بأتجاهين وذلك بأستخدام البرنامج الاحصائي الجاهز (SPSS) وقورنت المتوسطات بحسب أختبار اقل فرق معنوي بمستوى احتمالية 5% [8].

النتائج والمناقشة :

تأثير تراكيز مختلفة من BA اوKIN في نشوء الزروعات: أشارت النتائج الى ان أضافة BA الى الوسط الغذائي MS قد شجع على تكوين الأفرع من الاجزاء النباتية (جدول1). حققت اجزاء الاوراق اعلى متوسط لعدد الافرع المتكونة تلتها العقد ثم القمم النامية مسجلة 4.40، 4.15 و2.95 فرع / جزء نباتي على التوالي. ويلاحظ من نتائج الجدول نفسه بأن اضافه BA وبالتراكيز المدروسة كافة قد حقق زيادات معنوية في متوسط عدد الفروع المتكونة وللاجزاء النباتية الثلاثة وصلت اقصاها 5.20 فرع عند أضافة 0.5 ملغم /لتر الى الوسط الحاوي على القمم النامية. في الوقت الذي وصلت اقصاها 6.40 فرع من العقد عند أضافة 0.3 ملغم/لتر اما أجزاء الاوراق فقد سجلت اعلى متوسط لعدد الافرع عند المعاملة 0.3 ملغم/لتر وصلت الى 6.80 فرع شكل (1). ربما يعود سبب ذلك الى ان زيادة تركيز السايتوكاينينات في الوسط الغذائي ادى الى أنخفاض في عدد الافرع، وهذا يتفق مع [9] في إن التراكيز العالية من السايتوكاينين تؤدي إلى تثبيط أو تقليل نشوء ونمو الأفرع الجانبية، او ان أضافتها بتراكيز عالية مع وجود كميات من السايتوكاينينات الداخلية أدى الى زيادة عمليات هدم مكونات الخلية مثل الكلوروفيل نسبة الى بنائها وهذا ماكده محمد ويونس [10].

جدول (1) تأثير تراكيزمختلفة من BA في متوسط عدد الأفرع المتكونة من الاجزاء النباتية للقمم النامية والعقد واجزاء الاوراق لنبات Lisianthus بعد أربعة اسابيع من زراعتها على وسط MS

BA ملغم/لتر	متوسط عدد الافرع		
	القمم النامية	العقد	اجزاءالاوراق
0.0	1.00	1.80	1.80
0.1	2.30	3.75	3.80
0.3	3.20	6.40	6.80
0.5	5.20	6.20	6.40
0.7	3.80	3.60	4.00
1.0	2.20	3.20	3.60
متوسط عدد الافرع	2.95	4.15	4.40
L.S.D 0.05	0.43	0.51	0.47

أعطت القمم النامية أعلى متوسط لطول الافرع تلتها أجزاء الاوراق ثم العقد اذ بلغت 0.91، 0.77، و0.76 سم على التوالي (جدول 2). ان اختلاف الاستجابة بين القمم النامية والعقد واجزاء الاوراق قد يعزى الى عوامل فسلجية ا والى درجة نضج وتمايز الخلايا المكونة للحزم الوعائية اذ ان الاجزاء النباتية الكبيرة الحاوية على نسيج البرنكيما والاوعية الناقلة والكامبيوم قد تظهر استجابة افضل بغض النظر عن تراكيز كل من الاوكسين والسايتوكاينين في الوسط الغذائي.

جدول (2) تأثير تراكيزمختلفة من BA في متوسط طول الأفرع المتكونة من القمم النامية والعقد واجزاء الاوراق لنبات Lisianthus بعد اربعة اسابيع من زراعتها على وسط MS.

BA ملغم/لتر	متوسط طول الأفرع (سم)		
	القمم النامية	العقد	أجزاء الاوراق
0.0	1.02	1.03	1.0
0.1	1.08	1.16	1.03
0.3	1.02	0.76	0.92
0.5	0.92	0.65	0.78
0.7	0.67	0.48	0.40
1.0	0.76	0.53	0.50
متوسط طول الافرع	0.91	0.76	0.77
L.S.D 0.05	0.38	0.27	0.22

حصل انخفاض في متوسط طول الأفرع بزيادة تراكيز BA المضافة خاصة عند التركيز 0.7 ملغم/لتراذ وصل الى 0.67 سم للقمم النامية و0.48 سم للعقد و0.40 سم لأجزاء الاوراق، ربما يرجع السبب الى ان التراكيز العالية من الـ BA في الوسط الغذائي يؤدي الى أنخفاض في متوسط أطوال التفرعات لان أمتصاصه من الأفرع ادى الى تقليل دور الاوكسين داخل التفرعات والاخير مسؤول عن أستطالة الخلايا ومن ثم تقليل أطوالها [11] وهذا ما أكدته الحسني [12] عندما أضافة تراكيز مختلفة من BA للأجزاء النباتية المستأصلة من بعض أصناف الكلاديولس، اذ أعطت التراكيز العالية أقل متوسط لأطوال الافرع، مما أدت السايتوكاينينات الى كسرالسيادة القمية للافرع شجعت ظهورالافرع الجانبية نتيجة عملها التضادي مع الاوكسينات مما يجعل النبات يتجه الى تكوين الفروع الجانبية من البراعم الابطية بدل الزيادة في الارتفاع، ولذلك ينصح بأضافة الـ BA الى الاوساط الغذائية عند الاكثار الدقيق بتراكيز مناسبة وهذا ما أكده Hussey [13] الذي اشار الى ان الـ BA من أكثر السايتوكاينينات تأثيراً وارخصها

ثمناً مما يقلل كلفة الاكثار الدقيق خارج الجسم الحي. حققت اجزاء الاوراق اعلى متوسط لعدد الافرع بلغت 2.91 فرع للجزء النباتي ومن ثم العقد التي بلغت 2.73 فرع للجزء النباتي واخيراً القمم النامية (جدول 3) اذ سجلت 1.93 فرع للجزء النباتي. ويلاحظ من الجدول نفسه حصول زيادة معنوية في عدد الأفرع المتكونة بزيادة تراكيز KIN المضافة وصولاً الى التركيز 0.5 ملغم /لترالمضاف للوسط المزروعة فيه القمم النامية وبلغ 3.2 فرع و0.7 ملغم/ لتر للعقد وأجزاء الاوراق اذ أعطى 3.6 فرع و 3.8 فرع على التوالي. في حين أعطى التركيز 0.1 ملغم/ لتر أقل متوسط لعدد الافرع بلغ 1.6 فرعاً/ جزء نباتي للقمم النامية و2.3 فرعاً/جزء نباتي للعقد و2.5 فرعاً/ جزء نباتي لأجزاء الاوراق التي جميعها تفوقت على معاملة المقارنة.

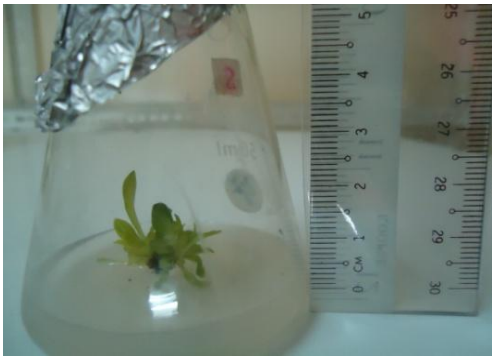
جدول (3) تأثير تراكيز مختلفة من KIN في متوسط عدد الأفرع المتكونة من الاجزاء النباتية للقمم النامية والعقد وأجزاء الاوراق لنبات Lisianthus بعد اربعة أسابيع من زراعتها على وسط MS.

KIN ملغم/لتر	متوسط عدد الأفرع		
	القمم النامية	العقد	اجزاء الاوراق
0.0	1.00	1.30	1.50
0.1	1.60	2.30	2.50
0.3	1.80	2.50	2.80
0.5	3.20	3.20	3.30
0.7	2.20	3.60	3.80
1.0	1.80	3.50	3.60
متوسط عدد الافرع	1.93	2.73	2.91
L.S.D 0.05	0.25	0.41	0.36

اما طول الافرع فيلاحظ من الجدول 4 بأن العقد حققت اعلى متوسط لطول الافرع تلتها القمم النامية ثم اجزاء الاوراق مسجلة 1.10، 0.90 و 0.83 سم على التوالي. وحصل انخفاض في متوسط طول الأفرع وذلك بزيادة تركيز الـ KIN اذ وصل الى 0.60 سم و 0.66 سم لاجزاء الاوراق والقمم النامية على التوالي عند التركيز 0.7 ملغم/لتر و0.78 سم للعقد عند التركيز1.0 ملغم/لتر من الـ KIN. دلت نتائج التجارب الحالية على أهمية السايتوكاينينات في تحفيز أستجابة الأجزاء النباتية لنبات Lisianthus للزراعة خارج الجسم الحي وهذا يعود الى الدور الذي تؤديه هذه المركبات في تحفيز انقسام الخلايا ونموها وانها تعد متطلباً أساسياً لتنظيم نشاط المرستيمات القمية والتكوين الشكلي Morphogenesis وتطور الكلوروبلاست ونمو الاوراق [14] . كما دلت النتائج كذلك على أفضلية BA على KIN ومن المعروف ان فعالية السايتوكينينات تزداد اذا مأحتوت السلسلة الجانبية على ثلاث اواصر مزدوجة كما هو الحال مع BA في الوقت الذي يحتوي KIN على اصرتين مزدوجتين فقط، وكذلك احتواؤه على حلقة Benzyl [15] لذلك يعد BA من السايتوكاينينات الفعالة.

جدول (4) تأثير تراكيز مختلفة من KIN في متوسط طول الأفرع المتكونة من القمم النامية والعقد وأجزاء الاوراق لنبات Lisianthus بعد اربعة أسابيع من زراعتها على وسط MS .

KIN ملغم/لتر	متوسط طول الأفرع (سم)		
	القمم النامية	العقد	اجزاء الاوراق
0.0	1.03	1.03	0.90
0.1	1.08	1.60	1.02
0.3	1.02	1.15	0.96
0.5	0.90	1.04	0.80
0.7	0.66	1.02	0.60
1.0	0.76	0.78	0.70
متوسط طول الأفرع	0.90	1.10	0.83
L.S.D 0.05	0.32	0.28	0.26



شكل (1): نشوء زروعات نبات Lisianthus بعد أسبوعين من زراعة أجزاء الاوراق في وسط MS حاوي على 0.3 ملغم/ لتر BA.

تضاعف الزروعات: أدت أضافة BA الى الوسط الزرعي الى زيادة متوسط عدد الافرع معنوياً جدول (5) وعند المستويات المضافة كافة مقارنة بمعاملة السيطرة وكان أقصاها عند التركيز 1.0 ملغم/لتر بلغ 6.26 فرع تلاه التركيز 2.0 ملغم/لتر الذي أعطى 4.90 فرع في حين أعطت معاملة المقارنة اقل متوسط عدد أفرع بلغ 1.38 فرعاً تلاه التركيز 0.5 ملغم/ لتر والذي أعطى متوسط عدد أفرع بلغ 3.98 فرع. وكان لتأثير تراكيز IBA في تضاعف الافرع اثراً معنوياً في تحفيزه للتضاعف

الخضري أذ تفوق التركيز 0.1 ملغم/لترعلى التراكيز الاخرى بلغ قيمة متوسط عدد الافرع 5.04 فرع للجزء النباتي الواحد تلاه التركيز 0.5 ملغم/ لتر الذي أعطى 4.94 فرع والذي تفوق معنوياً على معاملة السيطرة (دون اوكسين) فيما أنخفض متوسط عدد الافرع عند زيادة تركيز IBA وصولاً الى التركيزين 1.0 ملغم/لتر و2.0 ملغم/ لتر اللذين حققا 3.84 و3.04 فرع/جزء نباتي على التوالي. وكان للتداخل بين منظمي النمو اثراً معنوياً في تحفيز التضاعف الخضري اذ أعطت المعاملة 1.0 ملغم /لتر BA مع 0.5 ملغم/ لتر IBA أعلى متوسط لعدد الأفرع المتكونة بلغ 8.80 فرع والتي أختلفت معنوياً عند أغلب تداخلات التجربة، فيما أعطت المعاملة 2.0 ملغم/لتر من IBA اقل معدل للتضاعف وصل 1.0 فرع.

جدول (5) تأثير تراكيز مختلفة من BA و IBA (ملغم/ لتر) والتداخل بينهما في متوسط عدد الأفرع الناتجة من تضاعف نبات Lisianthus خارج الجسم الحي بعد اربعة اسابيع من زراعتها على وسط MS.

BA / IBA	0.0	0.5	1.0	2.0	4.0	متوسط تركيز IBA
0.0	1.60	3.80	6.60	4.80	3.50	4.06
0.1	1.80	4.50	7.90	5.80	5.20	5.04
0.5	1.30	4.70	8.80	5.00	4.90	4.94
1.0	1.20	3.90	4.20	5.30	4.60	3.84
2.0	1.00	3.0	3.80	3.60	3.80	3.04
متوسط تركيز BA	1.38	3.98	6.26	4.90	4.40	
L.S.D 0.05	0.75=BA 1.42= IBA		0.83= IBA		*BA	

أما عن التأثير في متوسط طول الأفرع المتكونة في مرحلة التضاعف فتشيرالنتائج المعروضة في جدول (6) الى ان معاملة المقارنة (دون سايتوكاينين) أعطت أعلى متوسط طول للافرع اذ وصل 3.8 سم، ربما يفسر السبب وجود residual effect للسايتوكاينين في البراعم المتكونة. وتلتها المعاملة 0.5 ملغم/ لترBA التي أعطت متوسط طول أفرع بلغ 3.77 سم. في حين بلغ أقل متوسط طول أفرع 1.12 سم عند التركيز 4.0 ملغم/لتر BA تلاه التركيز 2.0 ملغم/ لتر والذي سجل متوسط طول افرع 1.85 سم. ودلت النتائج على ان أضافة IBA الى الوسط الغذائي الخاص بالتضاعف أدى الى زيادة معنوية في متوسط طول الأفرع أذ أعطى التركيز 2.0 ملغم/لتر أعلى متوسط بلغ 3.16 سم تلاه التركيز 1.0 ملغم/لتر الذي أعطى متوسط طول افرع بلغ 3.07 سم واخيراً التركيز 0.5 ملغم/ لتر الذي سجل متوسط طول أفرع بلغ 2.95 سم. في حين أعطت معاملة المقارنة (دون اوكسين) اقل قيمة وصلت 2.28 سم تلتها المعاملة 0.1 ملغم/لتر

جدول (6) تأثير تراكيز مختلفة من BA وIBA (ملغم/ لتر) والتداخل بينهما في متوسط طول الأفرع الناتجه من مرحلة التضاعف لنبات Lisianthus خارج الجسم الحي بعد اربعة اسابيع من زراعتها على وسط MS.

BA / IBA	0.0	0.5	1.0	2.0	4.0	متوسط تركيز IBA
0.0	3.83	3.25	2.50	1.20	0.66	2.28
0.1	3.90	3.50	2.83	1.35	0.83	2.48
0.5	4.50	3.91	3.66	1.50	1.20	2.95
1.0	3.66	4.40	3.80	1.90	1.41	3.07
2.0	3.14	3.83	4.00	3.33	1.50	3.16
متوسط تركيزBA	3.80	3.77	3.35	1.85	1.12	
L.S.D 0.05	1.18 = IBA *BA 0.71=BA		0.66= IBA			

كما أوضحت النتائج إن تأثير التداخل بين منظمي النمو كان معنوياً في صفة طول الافرع إذ أعطت المعاملة 0.5 ملغم/لتر من IBA دون أضافة BA أعلى متوسط لطول الأفرع بلغ 4.50 سم في حين أعطت المعاملة 4.0 ملغم/لتر من BA ودون IBA اقل متوسط لطول الأفرع وصل 0.66 سم. يتضح من النتائج السابقة ان أفضل وسط لتضاعف الأفرع هو الحاوي على 1.0 ملغم /لترBA مضافاً اليه 0.5 ملغم/لتر من IBA اذ أعطى متوسط عدد أفرع بلغ 8.8 فرع وبطول 3.66 سم وبهذا فأن المعاملة 1.0ملغم/ لتر BA مع 0.5 ملغم/ لتر IBA انتجت متوسط عدد افرع أعلى من متوسط عدد الافرع الذي توصل اليه الباحث Ming-xia [16] في محاولته أكثار النبات نسيجياً أذ حصل على متوسط عدد أفرع 7.4 فرع/ جزء نباتي بعد شهر من زراعة الاجزاء النباتية المفصولة من البادرات على وسط MS المتضمن 0.6 ملغم/ لتر من BA و 0.04 ملغم/ لتر من IBA.

تجـذير الأفـرع: تشـير النتـائج الموضـحة فـي جـدول (7) الـى ان أضـافة أي مـن الاوكسـينين IBA او NAA ادت الـى تشـجيع تجـذير افـرع نبـات Lisianthus المزروعـة خـارج الجسـم الحـي. اذ زادت نسـبة التجـذير بزيـادة تركيـز الاوكسـين المضـاف عـدا التركيـز 2.0 ملغـم/ لتـر. وتبـين ان IBA اكثـر تـأثيراً مـن NAA فـي تجـذير الافـرع المزروعـة وهـذا التـأثير ربمـا يعـود الـى طبيعـة الاوكسـين المسـتخدم IBA الـذي هـو اقـرب الـى الطبيعـي مـن NAA الصـناعي. فقـد زادت النسـبة المئويـة لتجـذير الافـرع بزيـادة تركيـز الاوكسـين IBA الـى 1.0 ملغـم / لتـر الـذي سـجل أعلـى نسـبة بلغـت 70%

واعلى متوسط لعدد الجذور المتكونة بلغ 5.5 جذر وبمتوسط طول 2.5 سم (شكل2) والذي اختلف معنوياً عن معاملة المقارنة (دون اوكسين) وكذلك التركيز 0.1 ملغم /لتر. أما الاوكسين NAA فقد كان تأثيره اقل في متوسط تجذير الافرع واعطى التركيز 1.0 ملغم /لتر أعلى نسبة مئوية لتجذير الافرع بلغت 20% وبعدد جذور 1.6 وبمتوسط طول 1.5 سم الذي اختلف معنوياً عن معاملة المقارنة وكذلك عن التركيز 0.1 ملغم/لتر. واختلف التركيز 2.0 ملغم /لتر معنوياً عن جميع المعاملات اذ ادى الى تكوين الكالس فضلاً عن الجذور. يلاحظ بأن التراكيز العالية من الاوكسين تكون ذات تأثير تثبيطي لعملية التجذير والذي قد يرجع الى الزيادة التي تحدث في بناء الاثلين في انسجة الجذور ومن ثم حدوث تثبيط في نموها وتطورها [17].

جدول(7) تأثير تراكيز مختلفة من الاوكسينين IBA و NAA (ملغم/لتر) المضافة على انفراد في النسبة المئوية للتجذير ومتوسط عدد الجذور وطولها (سم) لافرع نبات Lisianthus خارج الجسم الحي بعد اربعة اسابيع من زراعتها على وسط MS.

تراكيز منظمي النمو	IBA			NAA		
	التجذير (%)	متوسط عدد الجذور	متوسط طول الجذور	التجذير (%)	متوسط عدد الجذور	متوسط طول الجذور
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.5	30	2.5	0.8	10	0.6	1.2
1.0	70	5.5	2.5	20	1.6	1.5
2.0	20	2.3	1.3	10	1.3	1.0
L.S.D0.05	15.3	1.4	0.27	9.2	0.34	0.31

وتتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه [18]في تجذير نبات Lisianthus صنف Griseb وكذلك Paek وHahn [6].يؤدي الاوكسين IBA دوراً مهماً في تجذير أفرع نبات Lisianthus الذي أعطى اعلى نسبة تجذير واعلى متوسط جذور. تكمن التأثيرات الفسيولوجية لوجود الاوكسينات في زيادة انقسام الخلايا وانها تحول الخلايا البالغة الى خلايا مرستيمية وبذلك يتكون مرستيم الجذر العرضي الذي تنقسم خلاياه لتكون الجذور[19].

شكل (2): تجذير افرع نبات Lisianthus بعد اربعة أسابيع من الزراعة في وسط حاوي على 1.0 ملغم/لتر IBA

مرحلة الاقلمة: دلت النتائج الموضحة في الجدول (8) على ان لوسط الزراعة تأثيراً واضحاً في نسبة نجاح النبيتات المتأقلمة اذ ارتفعت نسبة نجاحها الى 90%عند استعمال الوسط المكون من التربة المزيجية والبتموس بنسبة (1:2) في حين كانت اقل نسبة لنجاح الاقلمة في الوسط المكون من البتموس 20% فقط. ربما يعود سبب زيادة نجاح الاقلمة في وسط التربة المزيجية والبتموس بنسبة (1:2) الى كون البتموس يزيد قابلية الاحتفاظ بالرطوبة والعناصر الغذائية للوسط مما يسمح بأنتشار ونمو الجذور فضلاً عن ما توفره التربة المزيجية من صرف جيد، اما النسبة المئوية الواطئة للبقاء التي تم الحصول عليها من الاقلمة عند الزراعة في البتموس فقط فربما تعود الى رداءة التهوية واحتفاظها بالماء بمقداراكثر بكثير من احتياج النبيته مما ادى الى هلاكها [19].

جدول (8) النسبة المئوية لنجاح النبيتات المؤقلمة Lisianthus الناتجة عن الزراعة النسيجية في وسطي التربة المزيجية والبتموس بنسب مختلفة.

الوسط (تربة مزيجية: بتموس)	نسبة النجاح (%)
(0:1)	80
(1:0)	20
(1:1)	70
(2:1)	60
(1:2)	90

ومن الجدير بالذكر ان من احد اسباب نجاح الاقلمة هو غسل النبيتات من الوسط الغذائي تحت الماء الجاري الذي كان له الاثر في تقليل الاصابة بالمسببات المرضية، فضلا عن ذلك وضعها في الماء لمدة أسبوع مع التبديل المستمر للماء مما له دور كبيرفي نمو الجذور. وان أضافة مبيد فطري الى ماء السقي كان له أثره في تقليل الأصابة بالفطريات بشكل كبير.

المصادر :

1- Liao, L., Lin, Y., Huang, K. and Chen, W. 2001 Vase life of cut Eustoma Flowers and aluminum sulfate. Bot. Bull. Acad. Sin., 42: 35-38.

2- عبداللطيف، سوسن عبدالله 2006. دراسة فسلجية في انتاج وخزن ازهار Lisianthus (*Eustoma grandiflorum*). اطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة بغداد، جمهورية العراق.

3- Harbaugh, B. K., Mc Govern, R. J. and Jim, P.P. 1997. Potted Lisianthus: Secrets – plug Production. University of Florida, Gulf Cost Research and Education Center, Bradenton, FL., USA.

4- Harbaugh, B. K.1995 Flowering of *Eustoma grandiflorum* (Raf.) shinn. Cultivars Influenced by photoperiod and temperature. Hort. Science 30 (7): 1375–1377.

5- Farina, E. and Ruffoni, B1993. The effect of temperature regimes on micropropagation efficiency and field performance of *Eustoma grandiflorum*. Acta Horticulture, 337:73-80. (Abst).

6- Paek, K. Y. and Hahn, E. J. 2000. Cytokinins, auxins and activated charcoal affect organogenesis and anatomical characteristics of shoot-tip cultures of Lisianthus *[Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn]. *In vitro* Cell. Dev. Biol., 36:128-132.

7- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Phyiol. Plant, 15:473-497.

8- العقيلي، صالح رشيد، محمد سامر الشايب 1998 أستخدام البرنامج الاحصائي SPSS، مطبوعات الجامعة، دار الشرق للطباعة، صفحة 358.

9- Gumuscu, A., Cocu, S., Uranby, S., Ipek, A., Caliskan, M. and Arslan, N. 2008 *In vitro* Micro-propagation of endangetred ornamental plant *Neotchihatchewia isatidea* (Boiss.) Rauschert. Afric. J. of Bio., 7(3): 234-238.

10- محمد، عبد العظيم كاظم ومؤيد أحمد يونس 1991. أساسيات فسيولوجيا النبات. جامعة بغداد. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جمهورية العراق.

11- Hartmman, H.T., Kester, D. E., Davies., F. T. and R.L. Geneve 1997. Plant Propagation: Principles and Practice. 6 td ed .Prentice-Hall Internation Editions, USA.

12- الحسني، مائدة حسين محمد 2006. إكثار بعض أصناف الكلاديولوس *Gladiolus spp*. خارج الجسم الحي. رسالة ماجستير، كلية العلوم للبنات، جامعة بغداد، جمهورية العراق.

13- Hussey, G. 1980. Propagation of some members of Liliaceae, Iridacea and Amaryllidaceae by tissue culture. In: Petaloid Monocotyledons. Linn. Soc. Symp. Ser. 8: 33-42.

14- Werner, T., Motyka, V., Strnad, M. and Schmulling, T. 2001. Regulation of plant growth by cytokinin. Proc. Natl. Acad. Sci., 98:10487-10492.

15- Krishnamoorthy, H.N. 1991. Plant Growth Substances Including Application in Agriculture. Tata McGraw Hill New Delhi, p. 214.

16- Ming – xia, G. 2008. Study a rapid propagation technololgy of *Eustoma grandiflorum in vitro*. J. of Anhui Agric. Sci., 29:18:19.

17- عبد القادر، فيصل؛ فهيمة عبد اللطيف؛ أحمد شوقي؛ عباس ابو طبيح وغسان الخطيب 1982. علم فسيولوجيا النبات. مديرية دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جمهورية العراق.

18- Kunitake, H., Nakashima, T., Mori, K., Tanaka, M. and Mii, M.

19- Ibrahim, K. M., and Majeed, S. H. 2001. The Nurseries. A textbook for technical institutes. Institution of Technical Education. Iraq.

1995. Plant regeneration from mesophyll protoplasts of Lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) by adding activated charcoal into protoplast culture medium. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 43: 59-65.

The Effect of different concentration of growth regulater on micropropagtion of Lisianthus (*Eustoma grandiflora*)

Eltifat Fadhil Shahatha* ***Ali Hashim Al-Mousawi****
Kadhim M. Ibrahim**

*College of science for women, univ. Baghdad
**college of science. Unv. Nahrain

Abstract:

Plant tissue culture techniques were exploited for the micropropigation of Lisianthus (*Eustoma grandiflora*). Different concentrations of Benzyl adenine (BA), 6- Furfural amino purine (Kinetin), Indol butyric acid (IBA), were investigated in their effects at different micropropagation stages. Three explants (apical shoots, internodes, leaf discs) were used in this study. The effect of the interaction between BA and IBA on shoot multiplication was investigated in increasing the number of shoots on explants. Rooting was also studied after inclusion of IBA and NAA to Murashige and Skoog, 1962 culture medium (MS). During acclimatization stage, different ratios of river sand and peat moss as agricultural media were tested and plantlets survival was recorded. Maximum mean shoot number was recorded when leaf discs were cultured on MS medium supplemented with 0.3 mg/l of BA giving 6.8 shoots. Highest mean shoot length was obtained when BA at 0.1 mg/l was added to the culture medium giving 1.16 cm. Internodes achieved maximum mean shoot length reached 1.6 cm in the medium supplemented with 0.1 mg/l of BA, while the same concentration of KIN extended the mean shoot length up to 1.6 cm. Shoots that transferred to MS medium containing 1.0 mg/l of IBA achieved the highest root number (5.5) with mean length of 2.5 cm and achieved 70% rooting percentage. Plantlets were acclimatized achieving 90% survival when transferred to agricultural medium consisted of rivers and peat moss at 2:1 v/v ratio.