# Propagation of ( Gladiolus hybrida ) cv. Priscilla by shoots production and multiplication in vitro

# إكثار الكلاديولاس ( *Gladiolus hybrida* ) صنف Priscilla بإنتاج الأفرع وتضاعفها خارج الجسم الحي

عبدالرزاق عثمان حسن زينب أحمد علي*
جامعة البصرة / كلية الزراعة / قسم البستنة والنخيل
*البحث مستل من رسالة ماجستير الباحث الثاني

## Abstract

An experiment was conducted at tissue culture laboratory belong to private sector company which located at Abu-Alkhasib\ Basrah\ Iraq, from September 2003 to December 2004 .The objectives of the experiment were to test the effect of many treatments on response of gladiolus corm slices cv. Priscilla *in vitro* culture .The experiment included 14 treatments which were a combination between ammonium nitrate at 0.825 gm/l and 1.65 gm/l with coconut milk 10% and 20% and Benzyl adenine 0.5 mg/l .A combination also made between Naphthalene acetic acid 1 mg/l and ammonium nitrate and coconut milk .Treatments of shoot multiplication medium included four concentrations of Benzyl adenine which were : 0 , 0.5 , 1 , 1.5 , mg/l . It could be suggested.

Best response of corm slices was to that cultured on MS medium supplemented with coconut milk 10% and Benzyl adenine at 0.5 mg/l , its response was 80%. The response was the production of adventitious bud on slice. Benzyl adenine treatment of 1 mg/l caused the highest multiplication rate which were 5.2 shoots after six weeks and 17.2 shoots after twelve weeks.The lowest concentration of benzyl adenine ( 0.5 mg/l ) increased shoot length after 6 and 12 weeks of culture which was 10.25 cm and 15.81 cm respectively, whereas , The highest concentration of benzyl adenine ( 1.5 mg/l ) reduced shoot length.

## الخلاصة

نفذت هذه التجربة في مختبر الزراعة النسيجية التابع للقطاع الخاص في قضاء أبو الخصيب / محافظة البصرة / العراق للفترة من أيلول 2003 إلى كانون الأول 2004 .وكان الهدف من التجربة هو اختبار تأثير معاملات عديدة على استجابة قطع كورمات الكلاديولس ( *Gladiolus hybrida cv. Priscilla* ) للزراعة خارج الجسم الحي .و تضمنت التجربة أربعة عشر معاملة عبارة عن توليفات بين نترات الامونيوم بتركيز 0.825 غم / لتر و 1.650 غم / لتر مع حليب جوز الهند بتركيز 10% و 20% مع البنزيل أدنين بتركيز 0.5 ملغم / لتر وكذلك توليفات بين نفثالين حامض الخليك NAA بتركيز 1 ملغم / لتر مع نترات الامونيوم و حليب جوز الهند . أما معاملات الوسط الغذائي الخاص بتضاعف الأفرع فقد تضمن تراكيز عديدة من البنزيل أدنين وهي : ( صفر، 0.5 ، 1 ، 1.5 ملغم / لتر ) و التي أضيفت إلى hgوسط و يمكن تلخيص النتائج بما يلي :

كانت أفضل استجابة لقطع الكورمات المزروعة على وسط MS و المجهز بنترات الأمونيوم بتركيز (1.65 غم / لتر) مع حليب جوز الهند بتركيز 10 % و البنزيل أدنين (0.5 ملغم / لتر) حيث كانت نسبة استجابتها 80% وكانت الاستجابة عبارة عن إنتاج برعم عرضي على قطعة الكورمة المزروعة. كما سببت المعاملة المحتوية على البنزيل أدنين بتركيز 1 ملغم / لتر أعلى معدل للتضاعف بعد 6 أسابيع من الزراعة حيث بلغ 5.2 فرعا و التي ارتفعت إلى 17.2 فرعا بعد 6 أسابيع إضافية على وسط جديد التركيبة السابقة ، وأدى التركيز المنخفض من البنزيل أدنين ( 0.5 ملغم / لتر ) إلى زيادة معنوية في طول الأفرع بعد 6 و 12 أسبوعا من الزراعة اذ بلغ 10.25 سم و 15.81 سم على التوالي في حين إن التركيز العالي من البنزيل أدنين ( 1.5 ملغم / لتر ) أدى إلى تقليل طول الأفرع الناتجة .

## المقدمة :

يعد الكلاديولس( ***Gladiolus hybrida***) من أجود أزهار القطف التي تزرع تجاريا اذ يمكن زراعته في أي وقت من السنة و إنتاج أزهاره على مدار السنة دون الحاجة إلى بيوت زجاجية . وهو نبات عشبي بصلي زهري حولي ،وأزهاره جالسة متبادلة على شكل نورة طرفية سنبلية (1) . يعود للجنس *Gladiolus* 18 نوعا species وأكثر من عشرة ألاف صنفا ويعود الكلاديولس للعائلة السوسنية Iridaceae (2). لقد أشارت العديد من الدراسات إلى إمكانية إكثار نبات الكلاديولس خارج الجسم الحي *in vitro*عن طريق تحفيز نمو البراعم الإبطية و تكوين الأعضاء Organogenesis في أنواع مختلفة من الكلاديولس .(3 و4)

ووجد (5) إن البنزيل أدنين منع السكون وحفز نمو الأفرع الخضرية في ثلاثة أصناف من الكلاديولس و لكنه في الوقت نفسه ثبط من تطور الجذور .ونفس النتيجة توصل إليها (6) حيث ذكر بأن البنزيل أدنين يؤدي إلى تكشف البراعم في أربعة أصناف من الكلاديولس . وهناك نتائج متضاربة حول التركيز الأمثل من البنزيل أدنين الذي يضاف إلى الوسط الغذائي من أجل تضاعف النموات الخضرية. حيث إن التراكيز القليلة من البنزيل أدنين(0.12-0.25ملغم/ لتر) كانت ضرورية و مفيدة في بعض أصناف الكلاديولس مثل "Bellariana"و "Friend ship" و"Her Majesty" (7) . في حين ان أصناف أخرى من الكلاديولس كانت استجابتها أفضل عند استعمال تراكيز أعلى من البنزيل أدنين ( 0.5- 1 ملغم / لتر ) لذلك أوصي باستعمالها لتلك الأصناف (8 و 9) . و لم تتوفر لدينا أي دراسة عن استخدام حليب جوز الهند في الأوساط الغذائية المستعملة في إكثار الكلاديولس خارج الجسم الحي حيث إن هذه المادة استعملت في العديد من الأوساط الغذائية المعدة لإكثار عدد من النباتات الأخرى . وقد أشارت الدراسات إلى احتواء حليب جوز الهند على مركبات نيتروجينية مختزلة وتشمل أحماض امينية واميدات amides (10) . وأشار (11) إلى عزل حوالي خمسين مكوناً من مكونات حليب جوز الهند ومن أهمها السايتوكاينينات مثل الزياتين رايبوسايد .

ونظرا" للأهمية التجارية لنبات الكلاديولس وإمكانية إنتاج كورماته محليا عن طريق الزراعة النسيجية ، أجريت التجربة الحالية على الكلاديولس الصنف الزراعي Priscilla بهدف اختبار تأثير معاملات عديدة في تحفيز إنتاج البراعم العرضية على قطع الكورمات المزروعة خارج الجسم الحي .وفصل البراعم الناتجة وزراعتها على أوساط غذائية جديدة تحتوي على تراكيز مختلفة من السايتوكاينين بنزيل أدنين BA بهدف تحفيز تكون الأفرع عليها ومن ثم الاستمرار بمضاعفة الأفرع الناتجة.

## المواد و طرائق العمل :

تم تنفيذ هذه التجربة في مختبر الزراعة النسيجية التابع للقطاع الخاص والواقع في قضاء أبو الخصيب – محافظة البصرة للفترة من أيلول 2003 إلى كانون الأول 2004.

استعملت كورمات مصدقة من نبات الكلاديولس صنف **Priscilla** الهولندية المنشأ و التي كانت بقطر 4-5 سم . وتم تنظيف الكورمات و ذلك بغسلها بالماء الجاري مع منظف سائل عدة مرات و بعد ذلك قطعت الكورمات إلى أجزاء مكعبة بأبعاد 3×3×3 ملم. وضعت هذه الأجزاء في محلول القاصر التجاري بتركيز 20% (حجم / حجم ) الحاوي على المادة الناشرة (Tween-20) لمدة 15 دقيقة مع التحريك المستمر بعد ذلك غسلت تلك الأجزاء بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات لإزالة أي أثر للمادة المعقمة ( هايبوكلورايت الصوديوم NaOCl ) وتمت عملية التعقيم و الغسيل في منضدة سريان الهواء الطبقي بعدها زرعت في وسط غذائي معقم يتكون بشكل أساس من أملاح MS (12) و فضلا عن تلك الأملاح فقد تم إضافة المواد الأخرى و الموضحة في جدول (1) و هي مواد ثابتة لجميع المعاملات .

**جدول(1). تراكيز المواد المضافة للأوساط الغذائية ***

| أسم المادة | الكمية غم / لتر |
|---|---|
| السكروز Sucrose | 30 |
| اورثو فوسفات الصوديوم الحامضية Sodium dihydrogen orthophosphate | 0.170 |
| ميزو انيستول Mesoinositol | 0.100 |
| كبريتات الأدنين Adenine Sulphate | 0.040 |
| ثيامين Thiamine . HCl | 0.0005 |
| ---------- | ---------- |
| الأكر Agar | 7.0 |

**معاملات الوسط الغذائي الخاص بزراعة قطع الكورمات :**

تضمنت معاملات الوسط الغذائي الخاص بزراعة قطع الكورمات إضافة المواد التالية بالإضافة إلى المواد المذكورة في جدول (1)

1- نترات الأمونيوم $NH_4NO_3$ ( 1.65 غم/لتر ) + بنزيل أدنين BA (0.5 ملغم/ لتر).
2- نترات الأمونيوم ( 1.65غم/لتر) + حليب جوز الهند بتركيز ( 10 % ) .
3- نترات الأمونيوم ( 1.65غم/لتر) + حليب جوز الهند بتركيز ( 10 % ) + بنزيل أدنين (0.5ملغم/لتر) .
4- نترات الأمونيوم ( 1.65غم/لتر) + حليب جوز الهند بتركيز ( 20 % ) + بنزيل أدنين (0.5ملغم/لتر) .
5- نترات الأمونيوم ( 1.65غم/لتر) فقط.
6- نترات الأمونيوم ( 0.825غم/لتر) + بنزيل أدنين ( 0.5 ملغم / لتر ).
7- نترات الأمونيوم ( 0.825غم/لتر) + حليب جوز الهند بتركيز (10%).
8- نترات الأمونيوم ( 0.825غم/لتر) + حليب جوز الهند بتركيز (10%) + بنزيل أدنين (0.5 ملغم / لتر ).
9- نترات الأمونيوم ( 0.825غم/لتر) + حليب جوز الهند بتركيز (20%) + بنزيل أدنين (0.5 ملغم / لتر ).
10- نترات الأمونيوم ( 0.825غم/لتر) فقط .
11- نترات الأمونيوم (1.65 غم/لتر) + حليب جوز الهند بتركيز (10%) + بنزيل أدنين (0.5 ملغم / لتر ) + نفثالين حامض الخليك NAA ( 1 ملغم / لتر ) .

12- نترات الأمونيوم (1.65 غم/لتر) + نفثالين حامض الخليك NAA ( 1 ملغم / لتر ) .
13- نترات الأمونيوم ( 0.825غم/لتر) + حليب جوز الهند بتركيز (10%)+ بنزيل أدنين (0.5 ملغم / لتر ) + نفثالين حامض الخليك NAA ( 1 ملغم / لتر ) .
14- نترات الأمونيوم (0.825 غم/لتر) + نفثالين حامض الخليك NAA ( 1 ملغم / لتر )

وقد تم تحضير حليب جوز الهند السائل( ماء جوز الهند Coconut water ) وذلك باستخراجة من ثمار جوز الهند المتوفرة في الأسواق المحلية واضافتة بشكل مباشر الى الوسط الغذائي حسب التركيز المطلوب لكل معاملة ، ففي حالة التركيز 10% تم اضافة 100 مليلتر من حليب جوز الهند لكل لتر من الوسط الغذائي وتضاعف الكمية عند التركيز 20% ويخضع لنفس ظروف تهيئة الوسط الغذائي من خلط وتسخين وتعقيم.

**معاملات الوسط الغذائي الخاصة بتضاعف الأفرع Shoot multiplication medium**

بعد الحصول على أفرع بطول 2.5- 3.0 سم على قطع الكورمات المزروعة تم فصلها تحت ظروف معقمة و زرع كل فرع في أنبوبة اختبار تحتوي على المواد المذكورة في جدول (1) بالإضافة إلى تراكيز مختلفة من السايتوكاينين بنزيل أدنين BA ( 0 و 0.5 و 1.0 و 1.5 ملغم / لتر ) وتضمن البحث القياسات الآتية :

**1- النسبة المئوية لأستجابة قطع الكورمات المزروعة :**

ثم حسبب النسبة المئوية للأستجابة كما يلي :

$$\text{نسبة الاستجابة \%} = \frac{\text{عدد القطع التي استجابت}}{\text{العدد الكلي لقطع الكورمات في المعاملة}} \times 100$$

**2- تضاعف الأفرع** Shoot multiplication

تم حساب عدد الأفرع المتكونة على الفرع الأصلي المزروع بطول ( 2.5-3.0 سم ) تحت معاملات البنزيل أدنين BA المختلفة و ذلك بعد 6 أسابيع من الزراعة و بعد ذلك تم إعادة الزراعة reculture للأفرع المتضاعفة و زرعت على التراكيز المختلفة من البنزيل أدنين و تركت لمدة ستة أسابيع أخرى و حسب عدد الأفرع المتكونة نتيجة تضاعف الفرع الأصلي المزروع على المعاملات المختلفة .

**3- معدل طول الأفرع (سم)**

تم قياس المعدل بأخذ مجموع أطوال الأفرع المتكونة تحت تأثير التراكيز المختلفة من السايتوكاينين بنزيل أدنين و ذلك بعد ستة أسابيع من الزراعة و ذلك بقياس مجموع طول الافرع لكل مكرر و قسمتها على العدد الكلي و ذلك باستخدام مسطرة قياس .

**التصميم والتحليل الإحصائي**

صممت التجربة وفق نظام التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design واستعملت خمسة مكررات لكل معاملة وكل مكرر يتكون من معدل 5 قراءات وقورنت متوسطات النتائج باستعمال اختبار دنكن متعدد المدى Duncan multiple range test حسب (13) .

## النتائج و المناقشة

**1- النسبة المئوية للأستجابة :**

تشير النتائج في جدول ( 2) الى وجود فروق معنوية بين المعاملات في النسبة المئوية للأستجابة اذ تفوقت المعاملة المزروعة على وسط MS المجهز بحليب جوز الهند بتركيز 10% و البنزيل أدنين بتركيز ( 0.5 ملغم / لتر ) مقارنة بجميع ا لمعاملات الأخرى حيث كانت نسبة استجابتها 80 % تلتها المعاملة المكونة من أملاح MS و المحتوية على نصف تركيز نترات الأمونيوم ( 0.825 ملغم / لتر ) وحليب جوز الهند تركيز 10% والبنزيل أدنين تركيز 0.5 ملغم / لتر والتي تفوقت معنويا مقارنة بالمعاملات الأخرى ، حيث كانت نسبة استجابة قطع الكورمات المزروعة فيها هي 60% بأستثناء المعاملة المحتوية على أملاح MS والمجهز بنترات الأمونيوم بتركيز 1.65 غم / لتر مع حليب جوز الهند بتركيز 10 % والتي كانت نسبة استجابة قطع الكورمات فيها 50% ،وهناك العديد من المعاملات لم يكن لها أي تأثير على قطع الكورمات مع استمرار الزراعة الثانوية لها لأربعة مرات حيث لم يبدو أي تأثير لتلك المعاملات في استجابة قطع الكورمات المزروعة فيها بأي شكل من الأشكال.

أما طبيعة الاستجابة للمعاملات التي كان لها تأثير في قطع الكورمات المزروعة فكانت في جميعها هي عبارة عن إنتاج برعم عرضي واحد على قطع الكورمة .

يبدو من النتائج التأثير الايجابي للخلطة المكونة من حليب جوز الهند بتركيز 10% والبنزيل أدنين 0.5 ملغم / لتر مع أملاح MS بالقوة الكاملة على زيادة نسبة الاستجابة مقارنة بجميع المعاملات الأخرى وهذا قد يعود إلى وجود محفزات النمو و مواد أخرى في حليب جوز الهند (11) بتراكيز تداخلت مع المكونات الأخرى للوسط الغذائي بحيث أدت إلى تحفيز تكوين البراعم العرضية على اكبر عدد من قطع الكورمات المزروعة خارج الجسم الحي .

**2- تضاعف الأفرع Shoot multiplication :**

و الجدول ( 3 ) يوضح تفوق البنزيل أدنين معنويا بتركيز 1 ملغم / لتر على جميع المعاملات الأخرى في معدل تضاعف الأفرع حيث بلغ 5.2 فرعا في حين لم تختلف المعاملتين ( 0.5 و 1.5 ملغم / لتر ) عن بعضها معنويا في التأثير في معدل التضاعف و الذي بلغ 1.4 و 2.4 فرعا على التوالي و عند تجزئة الأفرع ( لوحة 1 ، 2 ) المتكونة بعد 6 أسابيع من الزراعة و نقلها إلى وسط جديد يحتوي على نفس التراكيز المختلفة من البنزيل أدنين و تركت لفترة 6 أسابيع أخرى اذ وجد إن معدل تضاعف الأفرع زاد بشكل كبير جدا مقارنة بالزراعة الأولى( لوحة 3 ) واحتفظ التركيز 1 ملغم / لتر من البنزيل أدنين بتفوقه المعنوي على جميع المعاملات الأخرى حيث بلغ معدل التضاعف 17.4 فرعا .

إن احد التأثيرات الرئيسية المعروفة للسايتوكايتينيات هو تحفيزها لانقسام الخلايا حيث عند زراعة الأنسجة على أوساط غذائية تحتوي على السايتوكانينات تسبب في انقسام مستمر لتلك الخلايا (11) كذلك فأنه لتشجيع نمو البراعم الابطية axillary buds وتقليل السيادة القمية فيوصى عادة باستعمال واحد أو أكثر من أنواع السايتوكاينينات في الوسط الغذائي (14).

**دول (2) تأثيرالمعاملات المختلفة في النسبة المئوية لاستجابة قطع الكورمات المزروعة خارج الجسم الحي ***

| المعاملة | النسبة المئوية للاستجابة |
|---|---|
| نترات الأمونيوم NH4NO3 (1.65غم/ لتر)+ بنزيل أدنينBA (0.5 ملغم/ لتر) | 0 د |
| نترات الأمونيوم ( 1.65غم/لتر) + حليب جوز الهند بتركيز ( 10 % ) | 50 ب ج |
| نترات الأمونيوم ( 1.65غم/لتر) + حليب جوز الهند بتركيز ( 10 % )+ بنزيل أدنين (0.5ملغم/لتر) | 80 أ |
| نترات الأمونيوم ( 1.65غم/لتر) + حليب جوز الهند بتركيز ( 20 % )+ بنزيل أدنين (0.5ملغم/لتر) | 10 د |
| نترات الأمونيوم ( 1.65غم/لتر) فقط | 0 د |
| نترات الأمونيوم ( 0.825غم/لتر) + بنزيل أدنين ( 0.5 ملغم / لتر ) | 0 د |
| نترات الأمونيوم ( 0.825غم/لتر) + حليب جوز الهند بتركيز (10%) | 40 ج |
| نترات الأمونيوم (0.825غم/لتر) + حليب جوز الهند بتركيز(10%)+بنزيل أدنين(0.5 ملغم / لتر ). | 60 ب |
| نترات الأمونيوم ( 0.825غم/لتر) + حليب جوز الهند بتركيز(20%)+بنزيل أدنين(0.5 ملغم / لتر ) | 20 د |
| نترات الأمونيوم ( 0.825غم/لتر) فقط | 0 د |
| نترات الأمونيوم(1.65 غم/لتر)+حليب جوز الهند بتركيز(10%) +بنزيل أدنين(0.5 ملغم/ لتر)+ نفثالين حامض الخليك NAA(1 ملغم/لتر) | 0 د |
| نترات الأمونيوم (1.65 غم/لتر) + نفثالين حامض الخليك NAA ( 1 ملغم / لتر ) | 0 د |
| نترات الأمونيوم (0.825غم/لتر)+حليب جوز الهند بتركيز(10%) +بنزيل أدنين(0.5 ملغم/لتر)+نفثالين حامض الخليك NAA (1 ملغم/ لتر) | 0 د |
| نترات الأمونيوم (0.825غم/لتر)+ نفثالين حامض الخليك NAA (1ملغم / لتر) | *0* د |

الأرقام المتبوعة بحروف غير متشابهة تختلف عن بعضها معنويا عند مستوى احتمال 5% حسب اختبار دنكن متعدد المدى DMRT

**جدول (3) تأثير تركيز البنزيل أدنين BA في عدد الأفرع المتكونة بعد 6 أسابيع و 12 أسبوعا من الزراعة ***

| تركيز البنزيل أدنين ملغم / لتر | عدد الأفرع بعد 6 أسابيع | عدد الأفرع بعد 12 أسبوع |
|---|---|---|
| 0 | 0 ج | 0 د |
| 0.5 | 1.4 ب ج | 2.5 ج |
| 1.0 | 5.2 أ | 17.4 أ |
| 1.5 | 2.4 ب | 4.4 ب |

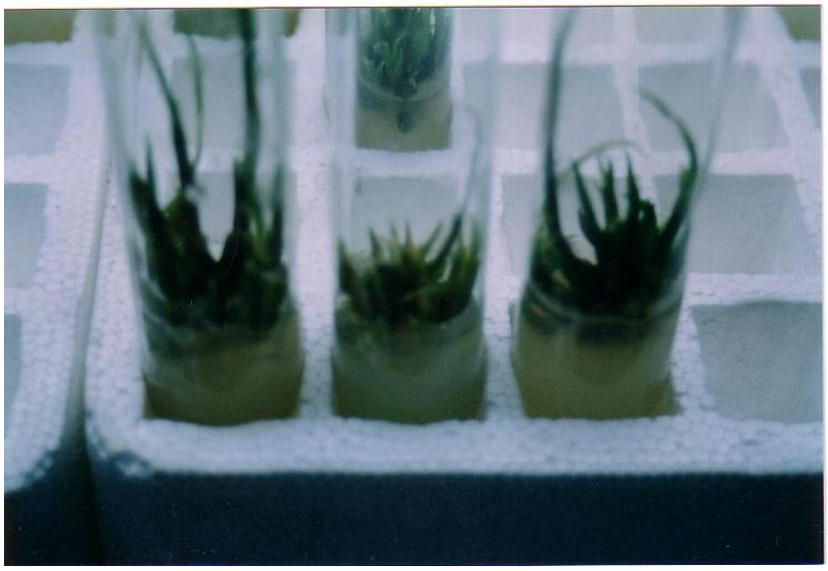
* الأرقام المتبوعة بحروف غيرمتشابهة تختلف عن بعضها معنويا عند مستوى احتمال 5% حسب اختبار دنكن متعدد المدى DMRT

في التجربة الحالية فأن استعمال البنزيل أدنين بتركيز 1 ملغم / لتر كان من أفضل التراكيز التي نجحت في تحفيز تضاعف الأفرع و زيادة عددها مع مرور الزمن و نفس النتائج على أصناف أخرى من الجلاديولس تم التوصل إليها في الدراسات السابقة (8 و 15) ولكن بعض الباحثين (7) وجدوا إن استعمال تراكيز اقل من البنزيل أدنين مقارنة بالتراكيز المستعملة في التجربة الحالية بحدود (0.12 – 0.5 ملغم / لتر) كانت ذات تأثير في الحصول على أعداد

كبيرة من الأفرع الخضرية في أصناف أخرى من الجلاديولس و هذا قد يعود إلى تأثير الصنف في اختلاف الاستجابة لتأثير تركيز البنزيل ادنين المستعمل في الوسط الغذائي .

**لوحة ( 1 )**
بداية تضاعف الأفرع

**لوحة ( 2 )**
تضاعف الأفرع بعد 6 أسابيع من الزراعة



**لوحة ( 3 )**
تضاعف الأفرع بعد 12 أسبوعا من الزراعة

**3-معدل طول الأفرع (سم).**

النتائج الموضحة في جدول ( 4 ) تشير إلى أن التركيز المنخفض من البنزيل أدنين (0.5 ملغم / لتر ) أدى إلى زيادة معنوية في معدل طول الأفرع اذ بلغت 10.25 سم بعد 6 أسابيع من الزراعة و 15.81 سم بعد 12 أسبوعا من الزراعة فيها مقارنة بالتركيزين الأخرين .و إن التراكيز الأعلى من البنزيل أدنين والتي لم تختلف معنويا فيما بينهما أدت إلى تقليل معدل طول الأفرع اذ بلغت 8.06 سم بعد 6 أسابيع و 13.18 سم بعد 12 أسبوع عند التركيز 1.5 ملغم / لتر.

و هذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه (16) حينما استخدم البنزيل ادنين BA عند التركيزي 0.5 او 1.0 ملغم/ لتر وجد ان عدد الأفرع الناتجة قد ازداد زيادة معنوية وعلى العكس من ذلك فأن التركيزات العالية من البنزيل ادنين ادت الى اقل قيم مستحصل عليهافي طول الأفرع الناتجة .وكذلك تتفق مع (17 و 18) .

| تركيز البنزيل أدنين ملغم / لتر | معدل طول الأفرع بعد 6 أسابيع | معدل طول الأفرع بعد 12 أسبوع |
|---|---|---|
| 0 | 0ج | 0ج |
| 0.5 | 10.25أ | 15.81أ |
| 1.0 | 8.12ب | 14.05ب |
| 1.5 | 8.06ب | 13.18ب |

**جدول (4) تأثير تركيز البنزيل أدنين BA في معدل طول الأفرع (سم) بعد 6 أسابيع و 12 أسبوعا من الزراعة ***

* الأرقام المتبوعة بحروف غير متشابهة تختلف عن بعضها معنويا عند مستوى احتمال 5% حسب اختبار دنكن متعدد المدى DMRT

**المصادر**


1- طواجن، احمد محمد موسى ( 1987 ). نباتات الزينة. مطبعة جامعة البصرة، 502 صفحة.

2- Sinha, P. and S.K. Roy(2002). Plant regeneration through *In vitro* cormel formation from callus culture of Gladiolus. Plant Tissue Culture, 12(2): 139-145.

3- Kumar, A.; A.Sood; L.Paini and A. Gupta (1999). In vitro propagation of Gladiolus hybrids, :Synergistic effect of heat shock and sucrose on morphogenesis. Plant cell. Tissue and Organ Culture, 57(2): 105-112.

4- Hussain, I.; A.Muhammad ; H. Rashid and A.Quraishi (2001). In vitro Multiplication of Gladiolus. Plant Tissue Culture,11:121-126.

5- Hussey,G.(1977).*In vitro* propagation of Gladiolus by precocieas shoot formation. Scientia Horticulturae, 6 (4 ) : 287-296.

6- Aminuddin, A. and B.P. Singh (1993) .Multiplication of Gladiolus culivars for Producing virus –free propegules. Indian Journal of Virology , 9:74 – 77 .

7- Bertaccini,A. and F. Marani ( 1986 ) BY M.V-Free clones of eight Gladiolus cultivars obtained by meristem tip culture .Acta Horticulturae, No. 177 : 299-308.

8- Dantu , PK. and S.S. Bhojwani ( 1995 ) . *In vitro* corm formation and field evaluation of corm – derived plants of Gladiolus. Scientia Horticulturae, 61 : 115-129.

9- Nagaraju, V.; G. Bhowmik and V.A. Parthasarathy (1996). *InVtro* propagation of Gladiolus: Optimization of conditions for shoot proliferation and rooting. International Journal of Tropical Agriculture, 14:131-139.

10- Puchooa,D. and R. Ramburn (1991 ). A study on use of carrot juice in the tissue culture of *Daucus carota* . African Journal of Biotechnology 3 (4) : 248-252.

11- George, E. F. ( 1993 ). Plant Propagation by Tissue Culture, Part 1, Exegetics, 2nd, edition,page 319.

12- Murashige, T. and F.A. Skoog (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco Tissue culture . Physiol. Plant, 15: 473-492.

13- الراوي، خاشع محمود و عبد العزيز محمد خلف الله (1980) . تصميم و تحليل التجارب الزراعية. مطبعة جامعة الموصل، 487 صفحة.

14- Hussey,G.(1986). Plant cell culture technology. In: vegetative propagation of plants by Tissue culture p 36. Blackwell Scientific Publications, London, U.K.

15- Wang, T.; M. Chen ; T.Y. Wang and M.M. Chen (1998).Clonse establishment of selected Gladiolus seedlings. Special publication Taichung District Agricultural Improvement Station, 40: 39-48.

16- El-Gendy, S.A.;A.M.Hashim ;F.F.Hosni and Lasheen ( 2001 b ) . *In vitro* shoot proliferation of Gladiolus from either terminal and buds segments of cormes. Arab univ. J.Agric .Sci .,9(2):889 -913.

17- Sen, J. and S. Sen (1995). Two-step bud culture technique for a high frequency regeneration of Gladiolus cormes. Scientia Horticulturae, 64:133-138.

18- Dantu , PK. and S.S. Bhojwani ( 1987 ). *In Vitro* propagation and corm formation in Gladiolus . Graten Bauvissen Chaft . 52: 90-93 .