مجلة زراعة الرافدين ISSN: 2224-9796 (Online) ISSN: 1815 – 316 X (Print) المجلد (٤٠) العدد (٣) ٢٠١٢

تكوين الأجنة الجسمية والأفرع العرضية من اجزاء الورقة والعقد الساقية لنبات *Lilium longiflorium*

بشار زكي قصاب باشي
قسم البستنة /كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل /العراق

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في مختبر زراعة الخلايا والأنسجة النباتية التابع لقسم البستنة في كلية الزراعة والغابات – جامعة الموصل لإكثار نبات الليليم *Lilium longiflorium* صنف Aster lily ذو الأزهار البيضاء عن طريق تضاعف العقد المأخوذة من الحقل بتاريخ ٥ ايار بعد إزهار النباتات وزراعتها على وسط MS المزود بتراكيز مختلفة من الكاينتين أو BA ثم تجذير النموات الناتجة من التضاعف ، بالإضافة إلى دراسة تأثير السكروز على البصيلات المتكونة على الأفرع المجذرة ، كما زرعت أجزاء وسطية أو قاعدية من الأوراق على وسط MS المزود بتراكيز من BA متداخلة مع 2,4-D أو على وسط MS المزود بـ NAA مع BA ، كما زرعت عقد بتاريخ ١٠ تموز قبل دخول النباتات في السكون على وسط MS المزود بتراكيز مختلفة من 2,4-D . تشير النتائج إلى الحصول على أعلى معدل لعدد الأفرع ٨,١ فرع /جزء نباتي من زراعة العقد على الوسط المزود بـ ٠,٥ ملغم/لتر BA بعد ثمانية أسابيع من الزراعة ، الحصول على أعلى نسبة تجذير ١٠٠% وأعلى معدل لعدد الجذور ١١,٨ جذر/جزء نباتي من الزراعة على الوسط المزود بـ ٠,٥ ملغم/لتر IBA ، وتم الحصول على أعلى معدل لوزن وحجم البصيلات المتكونة على الأفرع المجذرة ٠,٩٩غم و ٠,٤٣ سم٣ على التوالي من الزراعة عند الوسط المزود بـ ١٢٠ غم/لتر سكروز . الكالس الناتج من زراعة العقد لثلاث مرات على وسط MS المزود بـ ٠,٢ ملغم/لتر 2,4-D تكونت عليه الأفرع بنسبة ٥٠% وبمعدل ٥ فرع/جزء نباتي من زراعته على وسط MS الخالي من منظمات النمو ولوحظت الأطوار الثلاثة للأجنة الجسمية الكروي والقلبي والطوربيدي على الكالس المتكون . تكونت الأفرع على الأجزاء القاعدية للورقة مباشرة من زراعتها على وسط MS المزود بـ ٠,١ ملغم/لتر 2,4-D ، في حين تكون الكالس على الأجزاء القاعدية للورقة من زراعتها على وسط MS المزود بـ ٠,٥ ملغم/لتر BA مع ٠,١ ملغم/لتر NAA وبإعادة زراعة الكالس المتكون لوحظت عليه الأطوار الثلاثة للأجنة الجسمية الكروي والقلبي والطوربيدي وتكونت عليه الأفرع لاحقا ، جميع النبيتات الناتجة من الزراعة النسيجية تمت أقلمتها في المختبر ونقلت إلى البيت البلاستيكي ثم إلى الحقل وبنسبة بقاء ١٠٠% .

المقدمة

نبات الليليم *Lilium longiflorium* من نباتات الابصال الحقيقية المزهرة ينتمي إلى العائلة Liliaceae ويضم الجنس *Lilium* ١٠٠ نوع تقريبا نشأ معظمها في المناطق الشمالية المعتدلة في أوربا وشمال امريكا ووسط وشرق اسيا، أوراقه شريطية وأزهاره صالحة للقطف متعددة الأشكال والألوان وقد تكون عطرية او عديمة الرائحة، يتراوح ارتفاع النبات ٣٠- ٩٠ سم، تزرع نباتات الليليم في الحدائق العامة والخاصة كما تزرع داخل أحواض الزهور او على حوافها وتزرع في سنادين وتستعمل في تزيين الشرفات وتعد نباتات الليليم ذو قيمة اقتصادية عالية لأنها من الازهار الصالحة للقطف لجمال أزهارها ولبقائها في المزهريات مدة لاباس بها بالاضافة إلى حاصل الأبصال والبصيلات، تتكاثر نباتات الليليم بالأبصال والبصيلات والاوراق الحرشفية ويتكاثرالنبات بالبذور (السلطان وآخرون،١٩٩٢ وخضر، ٢٠٠٧). بين العديد من الباحثين الدور الذي تلعبه منظمات النمو في تضاعف الأجزاء النباتية المختلفة وتكوين الجذور عليها، بالإضافة إلى استحداث الكالس وتمايزه إلى أفرع وجذور او تكوين الأجنة الجسمية على الأجزاء المزروعة مباشرة أو من خلال مرورها بمرحلة تكوين الكالس، إذ زرع Nhut (١٩٩٨) عقد نبات الليليم الناتجة من الزراعة النسيجية على وسط MS المزود بتراكيز مختلفة من BA وحصل على أعلى معدل للبصيلات من الزراعة على الوسط المزود بـ ١ ملي مول BA. وبين Chang وآخرون (٢٠٠٠) إن زراعة الزهيرات الصغيرة لنبات الليليم *Lilium speciosum* الصنف Gloviosoides على وسط MS المزود بتراكيز مختلفة من 2,4-D أدت إلى تكوين الكالس من الزراعة عند الوسط المزود بـ ٣ ملغم

تاريخ تسلم البحث ٢٤ / ٤ / ٢٠١١ وقبوله ٢٧/ ٦ / ٢٠١١

ميلات بعد شهر من الزراعة على الوسط المزود بـ ٠,١ ملغم /لتر NAA مع ١ غم /لتر فحم نشط ، البصيلات المتكونة كونت النبيتات

بطول ٥ سم بعد ثلاثة أشهر من الزراعة . وزرع Wawrosch وآخرون (٢٠٠١) أطراف أفرع نبات الليليم *Lilium nepalense* على وسط MS المزود بتراكيز مختلفة من الزياتين متداخلة مع تراكيز من IAA، IBA ، NAA وحصلوا على أعلى معدل لعدد الأفرع ٧,٢٢ فرع /جزء نباتي من الزراعة عند الوسط المزود ٢٠ ملي مول زياتين بعد أربعة أسابيع من الزراعة ، الأفرع الناتجة من الزراعة النسيجية جذرت بنسبة ١٠٠ % من زراعتها على وسط MS كامل أو نصف تركيز الأملاح المدعم بتراكيز مختلفة من IBA أو IAA . Bacchetta وآخرون (٢٠٠٣) زرعوا الأجزاء الطرفية والقاعدية من ورقة نبات الليليم *Lilium longiflorium* لأربعة أصناف ناتجة من الزراعة النسيجية على وسط MS نصف أو كامل تركيز الأملاح المدعم بتراكيز مختلفة من IAA ,IBA , BA , TDZ كل على انفراد أو متداخلة ولاحظوا تكون الأفرع على الأجزاء القاعدية للورقة مباشرة دون تكوين الكالس وبنسبة ٨٣,٣ % وبعدد ١٢,٣ فرع / جزء نباتي من زراعة أوراق الصنف Star Gazer على وسط MS نصف تركيز الأملاح والمدعم بـ ٠,١ ملغم / لتر BA مع ١ ملغم /لتر IAA في حين أعطت أوراق الصنف Elite أعلى نسبة استجابة ٣٣,٣ % وبعدد أفرع ٨,٣ فرع / جزء نباتي من زراعتها على نفس الوسط السابق ، في حين أعطت أوراق الصنف Pollyanna أعلى عدد للأفرع ٤,٨ و ٤,٢ فرع من زراعتها على الوسط المزود بـ ١ ملغم / لتر IBA أو TDZ على التوالي ، وذكر نفس الباحثين إن زراعة عقد نبات الليليم الصنف Pollyanna الناتجة من زراعة الأنسجة على وسط MS مزود بتراكيز من BA و TDZ كونت الأفرع من الزراعة عند الوسط المزود ٠,١ ملغم /لتر BA و ٠,١ أو ٠,٢ ملغم / لتر TDZ وبمعدل ٧ و٦,٨ و٧,٨ فرع / جزء نباتي على التوالي إلا أن الأفرع المتكونة على الوسط المزود بـ TDZ كانت مشوهة. وبين Kedra و Bach (٢٠٠٥) أن زراعة السويقة الجنينية أو أجزاء طولية من البصيلات أو أجزاء من الجذور لنبات *Lilium martagon* لنبيتات ناتجة من الزراعة النسيجية على وسط MS مزود بكل من Picloram و BA أدت إلى نشوء الكالس بنسبة ٨٠- ١٠٠% من زراعة السويقة الجنينية على الوسط المزود بـ ٠,٥ – ٥,٠ ملي مول Picloram و ٥ ملي مول Picloram مع ٥ ملي مول BA ولاحظوا تكون الأجنة الجسمية على أجزاء البصيلات والسويقة الجنينية ولم تلاحظ الأجنة الجسمية على أجزاء الجذور. وزرع Azadi و Khosh –Khui (٢٠٠٧) قواعد الأوراق الحرشفية لنبات الليليم *Lilium ledebourii* على وسط MS خالي من منظمات النمو أو مزود بـ ٠,١ ملغم /لتر BA مع ٠,١ ملغم /لتر NAA أو ٠,٥ ملغم/لتر BA مع ٠,٥ ملغم/لتر NAA متداخلة مع تراكيز من السكروز ٣و ٦و ٩ % ، وحصلوا على أعلى نسبة لتكوين البصيلات ٨٣,٣ % من الزراعة عند الوسط المزود بـ ٠,٥ ملغم /لتر BA مع ٠,٥ ملغم /لتر NAA وأعلى معدل لعدد البصيلات كان ٥,٤١ بصيلة /جزء نباتي من الزراعة عند الوسط المزود ٠,١ ملغم /لتر BA مع ٠,١ ملغم / لتر NAA ولاحظوا إن زيادة تركيز السكروز تقلل من عدد البصيلات ، كما وجدوا إن زيادة تركيز السكروز إلى ٦% مع وجود ٠,١ ملغم /لتر BA مع ٠,١ ملغم / لتر NAA أدى إلى زيادة الوزن الرطب للبصيلات . وذكر Khosravi واخرون (٢٠٠٧) إن زراعة الأجزاء القاعدية والوسطية والعلوية للأوراق الحرشفية لنبات الليليم *Lilium longiflorium* على وسط MS المزود بـ Picloram و 2,4-D ادت إلى الحصول على اعلى عدد من الأجنة الجسمية ٣٠,٦ جنين /جزء نباتي من زراعة الأجزاء الوسطية على الوسط المزود بـ ٢ ملغم / لتر Picloram . وبين Ault و Siqueira (٢٠٠٨) إن زراعة المقاطع العرضية لأبصال نبات الليليم *Lilium michiganense* الناتجة من الزراعة النسيجية على وسط MS المزود بـ Dicamba , Picloram , NAA , 2,4-D أدت إلى الحصول على اعلي معدل لعدد الأفرع ٧,٩ فرع / جزء نباتي من الزراعة عند الوسط المزود بـ ٠,٤ ملغم /لتر NAA ومعاملة ١ ملغم /لتر Dicamba في حين أعطى 2,4-D اقل عدد من الأفرع مقارنة مع باقي المنظمات، وتكون الكالس من الزراعة عند الأوساط المزودة بكل من Dicamba وPicloram و NAA وبفارق معنوي عن معاملات 2,4-D.

تهدف هذه الدراسة إلى إكثار نبات الليليم *Lilium longiflorium* الصنف Aster lily وبإعداد كبيرة عن طريق استغلال بقايا النباتات المزهرة المتمثلة بالسيقان لأخذ العقد والأوراق منها كمصدر للأجزاء النباتية الداخلة في الدراسة باستخدام تقنية الزراعة النسيجية عن طريق تضاعف العقد المأخوذة من الحقل و زراعتها على أوساط MS المزودة بتراكيز مختلفة من الكاينتين و BA وتجذير النموات الناتجة من التضاعف ، بالإضافة إلى دراسة تأثير السكروز على البصيلات المتكونة من الأفرع المجذرة ، كما تهدف

الدراسة إلى متابعة تكوين الأجنة الجسمية إما مباشرة على الأوراق والعقد أو عن طريق استحداث الكالس عليهما ومن ثم تمايز الكالس الناتج إلى أفرع وجذور ثم أقلمة النبيتات الناتجة وزراعتها في الحقل.

مواد البحث وطرائقه

أجريت هذه الدراسة في مختبر زراعة الخلايا و الانسجة النباتية التابع لقسم البستنة بكلية الزراعة والغابات في جامعة الموصل ، اخذت عقد ساقية من نباتات الليليم *Lilium longiflorium* الصنف Aster lily ذو الازهار البيضاء بطول ٣ سم من امهات نامية في الظلة الخشبية التابعة لقسم البستنة بتاريخ ٥ ايار بعد الانتهاء من مرحلة الازهار مباشرة ، نقلت الى المختبر وازيلت منها الاوراق ووضعت تحت الماء الجاري لمدة ٢٠ دقيقة بعدها عقمت بمحلول القاصر التجاري الحاوي على ٦ % NaOCl بنسبة ١٠ % حجم : حجم لمدة ٢٠ دقيقة مع اضافة المادة الناشرة Tween – 20 ثم غسلت بالماء المقطر والمعقم لثلاث مرات ٣- ٥ دقائق لكل مرة بعدها قطعت لتصبح بطول١ سم ، ثم زرعت على وسط MS المزود بـ ٣٠ غم /لتر سكروز والمدعم بـ ٦ غم /لتر Agar عند pH ٥,٧ والمزود إما بالكاينتين بالتراكيز صفر و ١ و٢ و٤ و ٦ ملغم /لتر أو BA بالتراكيز صفر و ٠,٥ و١ و٢ و٤ ملغم /لتر ، الافرع الناتجة من التضاعف زرعت على وسط MS الصلب المزود بالتراكيز صفر و ٠,٥ و١ و٢ و٤ ملغم/لتر IBA بهدف التجذير ، النبيتات الناتجة من التجذير بعمر اربعة اسابيع زرعت على وسط MS المدعم بالاكار ٣ غم/لتر و المزود بالسكروز ٣٠ و ٦٠ و ٩٠ و ١٢٠ غم /لتر لمعرفة تاثير السكروز في تكوين البصيلات ، كما اخذت عقد من نفس الامهات بتاريخ ١٠ تموز قبل دخول النبات بمرحلة السكون وزرعت على نفس الوسط المزود بـ 2,4-D عند التراكيز صفر و ٠,٥ و١ و ١,٥و ٢ ملغم/لتر وبعد تكون الكالس عليها اعيدت زراعتها لثلاث مرات متتالية على نفس الوسط أربعة اسابيع لكل زراعة وبعد وصول الكالس حجم مناسب نقلت الى وسط MS خالي من منظمات النمو، كما زرعت أجزاء وسطية وقاعدية من اوراق نباتات الامهات النامية بالحقل بتاريخ ٧- تموز قبل دخول النبات بمرحلة السكون على نفس الوسط والمزود بالتراكيز صفر و ٠,٥ و ١ ملغم /لتر BA متداخلة مع صفر و ٠,١ و ٠,٢ ملغم/لتر 2,4-D واعيدت زراعتها مرتين على نفس الوسط بهدف تكوين الكالس أو تكوين الافرع مباشرة على الاجزاء المزروعة ، زرعت اجزاء قاعدية من الاوراق على وسط MS المزود بـ ٠,٥ ملغم/لتر BA متداخل مع NAA بالتراكيز ١ و٢ و٣ ملغم/لتر ونميت بالظلام لمدة ٢٠ يوم وبعد تكون الكالس اعيدت زراعتها على نفس الاوساط مرتين أربعة اسابيع لكل مرة، استعملت لزراعة الاجزاء النباتية قناني زجاجية حجم ٢٠٠ مل وضع فيها ٢٠ مل من الوسط الغذائي وغطيت فوهة القنينة بورق الالمنيوم، عقم الوسط بجهاز المؤصدة Autoclave عند درجة حرارة ١٢١ م° وتحت ضغط ١,٠٤ كغم/سم٢ لمدة ٢٠دقيقة، بعد زراعة جميع الأجزاء النباتية للتجارب المختلفة نقلت الزروعات الى غرفة النمو تحت شدة اضاءة ٣٠٠٠ لوكس وطول فترة ضوئية ١٦ ساعة ضوء/يوم مجهزة من انابيب الفلورسنت البيضاء ودرجة حرارة ٢٥ ± ٢ م° ، استخدم في تنفيذ تجارب التضاعف والتجذير التصميم العشوائي الكامل Complete Randomized Design ، تمت مقارنة المتوسطات حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال ٥% (داؤود وعبد الياس ، ١٩٩٠) ، كل معاملة ضمت عشرة مكررات وكل مكرر احتوى على جزء نباتي واحد ، تم عمل مقاطع عرضية في قاعدة الورقة والجزء الوسطي منها بأخذ نماذج تشريحية باليد الحرة بواسطة شفرة الحلاقة العادية وضع الإنموذج على الشريحة الزجاجية ووضع غطاء الشريحة فوقه،استخدمت الكاميرا الرقمية بوضعها على عدسة المجهرالضوئي للتصوير و بقوة تكبير ٢٨٠ .

النتائج والمناقشة

يبين الجدول (١) تأثير Kin في نشوء وتضاعف عقد نبات الليليم إذ تم الحصول على اعلى معدل لعدد الافرع ١,٩ فرع /جزء نباتي من زراعة العقد على الوسط المزود ٤ ملغم/لترKin بعد اربعة اسابيع من الزراعة (مرحلة نشوء) ويلاحظ بشكل عام انه لاتوجد فروقات معنوية في معدل عدد الافرع للمعاملات المختلفة كما يبين الجدول عدم وجود اختلاف في معدلات طول اطول الافرع وكذلك الحال في معدل عدد الاوراق ، ومن مراجعة بيانات مرحلة التضاعف (بعد ٨ اسابيع من الزراعة) يبين الجدول (١) ان العقد المزروعة على الوسط المزود بـ ٦ ملغم/لتر Kin اعطت اعلى معدل لعدد الافرع ٥,٦ فرع/جزء نباتي (الشكل ١، أ) متفوقة معنويا على باقي المعاملات عدا معاملة ٤ ملغم/لتر Kin ، وتم الحصول على اعلى

معدل لطول اطول فرع ١,٥٣ سم من معاملة ٦ ملغم/لتر والتي بدورها تفوقت على جميع المعاملات وهذه المعاملة بدورها اعطت اعلى معدل لعدد الاوراق ١١,٧ ورقة وتفوقت معنويا على باقي المعدلات لعدد الاوراق .

الجدول (١): تاثير Kin في نشوء و تضاعف عقد نبات الليليم *Lilium grandiflorium* الصنف Aster Lily المزروعة على وسط MS الصلب.

Kin ملغم / لتر	بعد ٤ أسابيع			بعد ٨ أسابيع		
	عدد الأفرع	طول أطول فرع (سم)	عدد الأوراق	عدد الأفرع	طول أطول فرع (سم)	عدد الأوراق
٠,٠	١,٥ أ	٠,٦٣ أ	٣,٥ أ	٢,١ ب	١,٣٠ د	٥,٠ د
١,٠	١,٦ أ	٦٣ , أ	٢,٩ أ	٢,٦ ب	١,٢٨ هـ	٥,٩ ج د
٢,٠	١,٦ أ	٠,٦٦ أ	٢,٦ أ	٢,٩ ب	١,٥٠ ب	٧,٦ ب ج
٤,٠	١,٩ أ	٠,٦٦ أ	٣,٣ أ	٤,٦ أ	١,٣٧ ج	٩,١ ب
٦,٠	١,٤ أ	٠,٦٨ أ	٣, ٣ أ	٥,٦ أ	١,٥٣ أ	١١,٧ أ

- الأرقام ذات الأحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد لاتختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد المدى عند مستوى احتمال 5 % .

الشكل (١): أ - تضاعف عقدة على وسط MS المزود بـ ٦ ملغم/لتركاينتين بعد ثمانية أسابيع من الزراعة ، ب - تضاعف عقدة على وسط MS المزود بـ ٠,٥ ملغم/لترBA بعد ثمانية أسابيع ، ج - تجذير ألأفرع على وسط MS المزود بـ ٠,٥ ملغم /لتر IBA بعد أربعة أسابيع .

ويبين الجدول (٢) تاثير BA في نشوء وتضاعف عقد نبات الليليم اذ تم الحصول على اعلى معدل لعدد الافرع ٣,٢ فرع/جزء نباتي من الزراعة على الوسط المزود بـ ٤ ملغم/لتر وذلك بعد ٤ اسابيع من الزراعة (مرحلة نشوء) وهذا المعدل تفوق معنويا على معاملة المقارنة الا انه لم يختلف عن باقي المعدلات وتم الحصول على اعلى معدل لطول اطول فرع ٠,٥٩ سم من الزراعة عند الوسط المزود بـ ٢ ملغم/لتر BA وتم الحصول على اعلى معدل لعدد الاوراق ٣,٦ ورقة /جزء نباتي من الزراعة عند المعاملة ٠,٥ ملغم/لتر ، ومن مراجعة بيانات مرحلة التضاعف (بعد ٨ اسابيع من الزراعة) يبين الجدول الحصول على اعلى معدل لعدد الافرع ٨,١ فرع/جزء نباتي من الزراعة على الوسط المزود بـ ٠,٥ ملغم /لتر BA (الشكل ١، ب) وتم الحصول على اعلى معدل لطول اطول فرع ١,٢١ سم من معاملة المقارنة والتي لم تختلف معنويا مع المعاملات ٠,٥ و١ و٢ ملغم/لتر ويبين الجدول ان الزراعة عند المعاملة ٠,٥ ملغم/لتر اعطت اعلى معدل لعدد الاوراق ١٦,٩ ورقة/جزء نباتي وان جميع معاملات BA تفوقت معنويا على معاملة المقارنة لذات الصف ، من مراجعة بيانات الجدولين (١و ٢) نلاحظ ان كل من الكاينتين

الجدول (٢): تاثير BA في نشوء وتضاعف عقد نبات الليليم *Lilium grandiflorium* الصنف Aster Lily المزروعة على وسط MS الصلب.

BA ملغم/لتر	بعد ٤ أسابيع			بعد ٨ أسابيع		
	عدد الافرع	طول أطول فرع (سم)	عدد الاوراق	عدد الافرع	طول أطول فرع (سم)	عدد الاوراق
صفر	١,٥ ب	٠,٥١ أ	١,٦ ج	١,٩ ب	١,٢١ أ	٠٥,٠ ب
٠,٥	٢,٣ أب	٠,٥٧ أ	٣,٦ أ	٨,١ أ	١,١٥ أ	١٦,٩ أ
١,٠	٢,٣ أب	٠,٥٦ أ	٢,٤ ب ج	٧,١ أ	١,١٧ أ	١٣,٠ أ
٢,٠	٣,٠ أ	٠,٥٩ أ	٣,٢ أب	٦,٧ أ	١,٠٢ أ	١٢,٥ أ
٤,٠	٣,٢ أ	٠,٣٨ ب	٣,٤ أب	٥,٧ أ	٠,٥٧ ب	١٢,٨ أ

* الأرقام ذات الأحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد لاتختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد المدى عند مستوى احتمال 5 % .

وBA ادى الى زيادة معدل الافرع للاجزاء النباتية المزروعة عند مرحلة التضاعف قد يعود السبب الى ان كل من Kin و BA يعدان من السايتوكاينينات التي تحفز نمو البراعم الجانبية الساكنة الموجودة في اباط الاوراق وذلك عن طريق القضاء على السيادة القمية ، وتبين النتائج ان BA كان اكثر فاعلية في تضاعف الافرع مقارنة مع الكاينتين قد يعود السبب في ذلك الى ان BA يحتوي في سلسلته الجانبية على حلقة بنزايل والتي تحتوي على ثلاث اواصر مزدوجة مقارنة مع الكاينتين الذي تحتوي سلسلته الجانبية على اصرتين مزدوجة اذ من المعروف ان زيادة الاواصر المزدوجة في المركب تزيد من فاعليته (Weaver، ١٩٧٢). ويبين الجدول (٣) تاثير IBA في تجذير الافرع الناتجة من التضاعف إذ تم الحصول على اعلى نسبة تجذير ١٠٠ % من معاملة المقارنة ومعاملة ٠,٥ ملغم/لتر IBA وان معاملة ٠,٥ ملغم/لتر اعطت اعلى معدل لعدد الجذور ١١,٨ جذر/جزء نباتي (الشكل١، ج) وهذه بدورها تفوقت معنويا على معاملة المقارنة ومعاملة ٤ ملغم/لتر IBA وان نفس المعاملة اعطت اعلى معدل لطول اطول جذر ١,٤٢ سم ويلاحظ عدم وجود فروق معنوية بين المعدلات المختلفة لطول الجذور قد تفسر هذه النتائج ان IBA هو احد الاوكسينات المشجعة للتجذير بالاضافة للدور الذي يلعبه في تحسين نوعية الجذور من حيث عددها واطوالها (Hartmann واخرون ، ٢٠٠٢) . ويبين الجدول (٤) تاثير السكروز في مواصفات البصيلات المتكونة على الافرع المجذرة لنبات الليليم اذ تم الحصول على اعلى وزن للبصيلات ٠,٩٩٧غم من معاملة ١٢٠غم/لتر سكروز وهذه بدورها تفوقت معنويا على معدل وزن معاملة المقارنة الا انها لم تختلف معنويا مع معدلات باقي المعاملات ، كما يبين الجدول الحصول على اكبر حجم للابصال

الجدول (٣): تاثير IBA في تجذير افرع نبات الليليم *Lilium grandiflorium* الصنف Aster Lily من زراعتها على وسط MS بعد ٤ اسابيع من الزراعة.

IBA (ملغم/لتر)	التجذير %	عدد الجذور	معدل اطوال الجذور(سم)
٠,٠	١٠٠ أ	٦,٩ ب	١,٢٢ أ
٠,٥	١٠٠ أ	١١,٨ أ	١,٤٢ أ
١,٠	٨٠ أ	١١,٢ أ	١,١٤ أ
٢,٠	٨٠ أ	١١,٢ أ	١,١٢ أ
٤,٠	٧٠ أ	٦,٢ ب	١,١٥ أ

* الأرقام ذات الأحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد لاتختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد المدى عند مستوى احتمال 5 %.

٠,٤٣ سم٣ من معاملة ١٢٠ غم/لتر سكروز وهذه بدورها تفوقت معنويا على معدلات باقي المعاملات قد تفسر هذه النتائج ان السكروز يعتبر مصدر للطاقة وان أي زيادة في كمية السكروز تزيد في كمية الكاربوهيدرات الى كمية الاملاح في الوسط وبالتالي تحفز نمو المجموع الخضري والجذري وتحسن مواصفاتها (البحر واخرون ، ١٩٩٩ والرفاعي والشوبكي، ٢٠٠٢) وهذا يتماشى مع ما وجده Dantu و

Bhojwani (١٩٨٧) اذ بينوا ان التراكيز العالية من السكروز اسرعت في تكوين الكريمات لنبات الكلاديولس وزادت من وزنها وحجمها.

الجدول (٤): تاثير السكروز في تكوين البصيلات على الافرع المجذرة لنبات الليليم *Lilium grandiflorium* صنف Aster Lily من زراعتها على وسط MS الصلب بعد ثمانية اسابيع من الزراعة .

تركيز السكروز (غم/لتر)	وزن البصيلة (غم)	حجم البصيلة (سم٣)
٣٠	٠,٦٤٨ ب	٠,١٦ ج
٦٠	٠,٦٧٩ أب	٠,٢٩ ب
٩٠	٠,٨٧٥ أ ب	٠,٣٥ ب
١٢٠	٠,٩٩٧ أ	٠,٤٣ أ

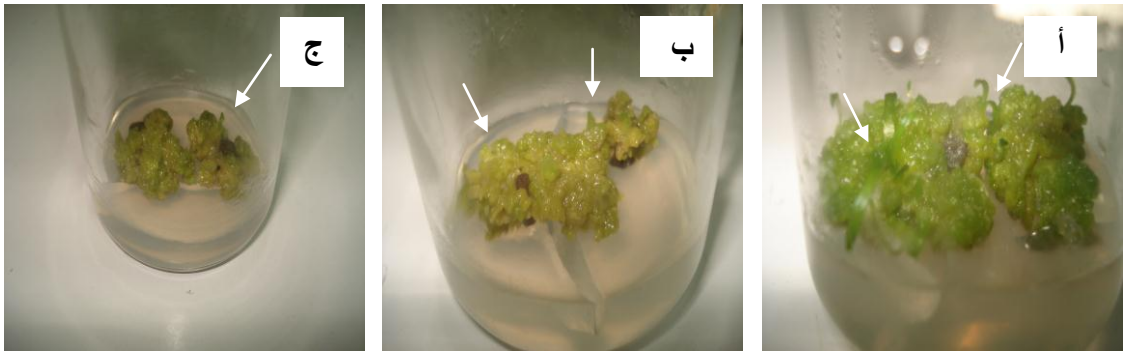
* الأرقام ذات الأحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد لاتختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد المدى عند مستوى احتمال 5 %.

ويبين الجدول (٥) تاثير 2,4-D في استحداث وتمايز الكالس من زراعة العقد بتاريخ ١٠- تموز ، اذ تكون الكالس في جميع المعاملات وبنسبة ١٠٠ % وذلك من الزراعة الاولى وازداد حجمه مع اعادة الزراعة على نفس الوسط لثلاث مرات وكان ذات لون اخضركريمي لامع ومن النوع الحبيبي قد تفسر هذه النتائج على اساس ان عملية استحداث الكالس على الاجزاء النباتية يتاثر بعدة عوامل منها نوع النسيج ، الوسط الغذائي و ظروف الزراعة اذ ربما احد هذه العوامل او مجتمعة ادت الى الاستجابة لظهور الكالس (سيد محمد ،١٩٩٠) ، ومن اعادة زراعة الكالس على الوسط الخالي من منظمات النمو تكونت الافرع عليه وتم الحصول على اعلى نسبة تكوين للافرع ٥٠ % من الكالس الناتج من الزراعة على الوسط المزود بـ ٢ ملغم/لتر 2,4-D الشكل (٢، أ) والذي بدوره اعطى اعلى معدل لعدد الافرع ٥,٠ فرع/جزء، حث الكالس لاستحداث الاجنة الجسمية بطرق مختلفة معتمدة بشكل رئيسي على مكونات الوسط الغذائي المستخدم وتتضمن العملية استحداث الاجنة من خلال خلايا خاصة من الكالس لها القابلية على تكوين الاجنة تدعى Embryonic cell والتي تمتاز بوجود حبيبات النشا فيها وذات سايتوبلازم كثيف كما مبين في الشكل(٣، أ) وتمر بعدة أطوار مظهرية لتكوين الاجنة والمتمثلة بالطورالكروي والقلبي والطوربيدي (سيد محمد وعمر، ١٩٩٠)، ومن نتائج زراعة الأجزاء الوسطية والقاعدية للأوراق على الوسط المزود بـ BA متداخل مع 2,4-Dتكونت الافرع على الاجزاء القاعدية فقط ولم تتكون على الأجزاء الوسطية كما موضح بالشكل (٣، ب) قد يعود السبب في ذلك الى أن الأجزاء القاعدية من الأوراق تحتوي على خلايا مرستيمية الشكل (٣، ج) غير موجودة في الأجزاء الوسطية من الأوراق الشكل(٥، أ) وهذه بدورها

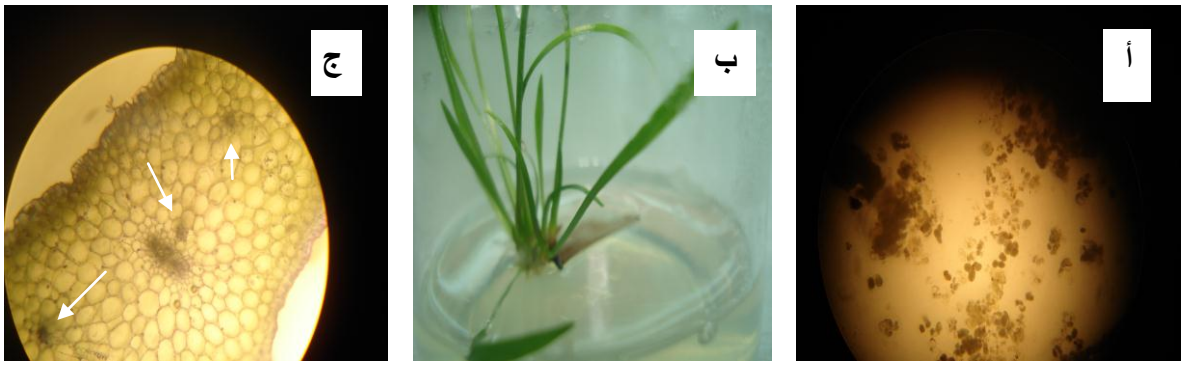
الجدول (٥) : تاثير 2,4-D في استحداث وتمايز الكالس من زراعة عقد نبات الليليم *Lilium grandiflorium* الماخوذة من الحقل للصنف Aster Liliy على وسط MS الصلب لثلاث مرات متتالية ثم زراعتها على الوسط الخالي من منظمات النمو .

تركيز 2,4-D (ملغم/لتر)	تكوين الكالس %	كمية الكالس	تكوين الأفرع %	عدد الأفرع/قطعة كالس
٠,٠	١٠٠	++	-	-
٠,٥	١٠٠	++	٢٠	١,٠
١,٠	١٠٠	+++	٢٠	٣,٠
١,٥	١٠٠	+++	٣٠	٣,٠
٢,٠	١٠٠	+++	٥٠	٥,٠

ولوحظت الاطوار الثلاثة للاجنة الجسمية (الطور الكروي والقلبي والطوربيدي) على الكالس المتكون مما يدل ان الافرع الناتجة كانت من اجنة جسمية كما بالشكل (٢، ب ، ج) تفسر هذه النتائج على ضوء

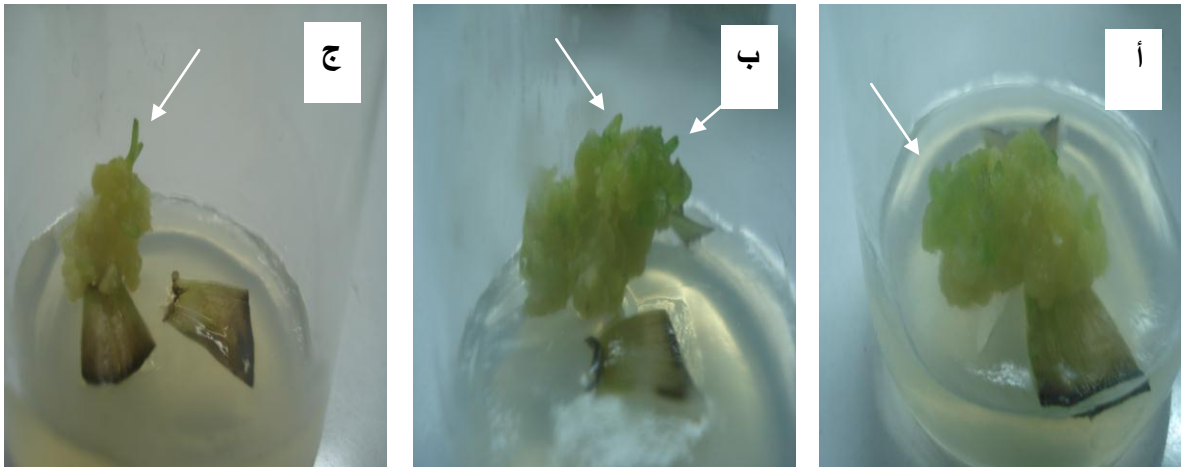


الشكل (٢): أ - تخصص كالس العقدة الى افرع بعد ٣ مرات زراعة على الوسط المزود ٢,٠ ملغم/لتر 2,4-D بعدها زرعت على وسط خالي من منظمات النمو ، ب - الطور الكروي والقلبي ، ج - الطور الطوربيدي .



الشكل (٣): أ- تشريح لخلايا كالس العقدة يبين خلايا الكالس الجنيني إذ امتازت الخلايا بوجود حبيبات النشا فيها ، ب- تخصص قاعدة الورقة من زراعتها على وسط MS المزود بـ ١و٠ ملغم / لتر 2,4-D ج- مقطع عرضي في قاعدة الورقة يوضح الخلايا المرستيمية

تطورت الى افرع. لوحظت في هذه الدراسة تكون الافرع على الاجزاء القاعدية للاوراق المزروعة على الوسط المزود بـ ٠,١ أو ٠,٢ ملغم /لتر 2,4 –D وبنسبة استجابة ٣٠ و ٢٠ % وبعدد افرع ٧ و ٥ فرع / جزء نباتي على التوالي (النتائج لم تعرض في جداول)، ومن زراعة الاجزاء القاعدية للاوراق على الوسط المزود بـ ٠,٥ ملغم /لتر BA متداخل مع تراكيز مختلفة من NAA تكون الكالس على جميع المعاملات في المرحلة الاولى من الزراعة وباعادة زراعتها على نفس الاوساط لوحظت عليها الاشكال الثلاثة لمراحل الاجنة الجسمية من الزراعة عند الوسط المزود بـ ٠,٥ ملغم/لتر BA مع ٠,١ ملغم/لتر NAA والتي تطورت فيما بعد الى افرع كما موضح في الشكل (٤- أ ، ب ، ج) ، جميع النباتات الناتجة من الزراعة النسيجية تمت اقلمتها في المختبر بعدها نقلت الى البيت البلاستيكي ثم الى الحقل واستمرت بالنمو بشكل اعتيادي وبنسبة بقاء ١٠٠% الشكل (٥).



الشكل (٤): أ- الطور الكروي ، ب - الطور القلبي والطوربيدي من زراعة كالس قاعدة الورقة على

الشكل (٥): أ- مقطع عرضي في الجزء الوسطي للورقة يوضح عدم وجود الخلايا المرستيمية ، ب و ج- نباتات ليليم ناتجة من زراعة الأنسجة نامية بالحقل بعد الاقلمة

.

SOMATIC EMBRYOGENESIS AND ADVENTITIOUS SHOOT REGENERATION FROM LEAF EXPLANTS AND STEM NODES OF *Lilium longiflorium* PLANT

Bashar Z.A.Kassab Bashy
Hort. Dept. College of Agriculture & Forestry , Mosul Univ. Iraq .

ABSTRACT

The present study was carried out in Plant Tissue Culture Laboratory Department of Horticulture , College of Agriculture & Forestry , Mosul University to propagate lilium plants *Lilium longiflorium* cv. Aster lily a white flowers *in vitro* by using nodes from plants growing in field in 5 May after flowering and cultured in MS medium supplemented with different concentrations of Kinetin or BA and rooting the shoots produced *in vitro* , as well as to explain the effect of sucrose on bulblet produced on rooted shoots , also medium or basal parts of leaves were cultured on MS medium supplemented with different concentrations of BA interacted with different concentrations of 2,4-D or on MS medium supplemented with BA and NAA , nodes taken from plants grown in field also cultured in 10 July before plant dormancy on MS medium supplemented with different concentrations of 2,4-D . Data refers that highest number of shoots 8.1 shoot/explant obtained from nodes cultured on MS medium supplemented with 0.5 mg/l BA after eight weeks

from planting date , 100% rooting and highest number of roots 11.8 root/explant was obtained from cultured shoots produced *in vitro* on MS medium supplemented with 0.5 mg/l IBA , highest weight and volume 0.997gm , 0.43 cm3 for bulblet were obtained from cultured rooted shoots on MS medium supplemented with 120 gm/l sucrose , callus produced from culturing nodes three time on MS medium with 0.2 mg/l 2,4-D produced 50% shoots with average 5 shoot /explant after cultured on MS medium without growth regulators and stages of somatic embryogenesis were observed (globular, heart, torpedo) on callus, shoots initiated directly on basal leaf parts cultured on medium supplemented with 0.1 mg/l 2,4-D , otherwise callus initiated on basal leaf parts cultured on medium supplemented with 0.5 mg/l BA and 0.1mg/l NAA and when recultured these callus somatic embryogenesis were observed on it , all plantlets produced *in vitro* acclimated in laboratory and transferred to plastic house and then to field with 100% survival.

المصادر

البحر ، محمد كمال وفؤاد عبد الرحيم ومحمود محمد صقر (١٩٩٩) . التكنولوجيا الحيوية النباتية . زراعة الانسجة والهندسة الوراثية . الشركة العربية للنشر والتوزيع .القاهرة – مصر .

خضر ، محمود (٢٠٠٧). نباتات الزينة . مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية – كلية الزراعة – جامعة حلب .

داؤود ، خالد محمد و زكي عبد الياس (١٩٩٠) . الطرق الإحصائية للأبحاث الزراعية . مطابع وزارة التعليم العالي / الموصل .

الرفاعي ، عبد الرحيم توفيق و سمير عبد الرازق الشوبكي (٢٠٠٢). تقنيات القرن ٢١ لتحسين النبات باستخدام زراعة الانسجة . دار الفكر العربي للطبع والنشر. الطبعة الأولى. القاهرة –مصر.

السلطان ، سالم محمد و طلال محمود الجلبي و محمد داؤد الصواف . (١٩٩٢). الزينة ، دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل – العراق.

سيد محمد ، عبد المطلب و مبشر صالح عمر (١٩٩٠). المفاهيم الرئيسية في زراعة الخلايا والأنسجة والأعضاء للنبات . دار الكتب للطباعة والنشر/جامعة الموصل- العراق .

Ault, J.R . and S. S. Siqueira (2008). Morphogenetic response of *Lilium michianense* to four auxitype plant growth regulators *In vitro.* HortScience. 43(6) 1922- 1924.

Azadi, P. and M. Khosh-Khui (2007). Micropropagation of *Lilium ledebourii* (Baker) boiss as affected by plant growth regulator, sucrose concentration, harvesting season and cold treatment. Electronic Journal Biotecnology 10(4):582-591.

Bacchetta, L.; P.C. Remotti; C. Bernardini and F. Saccardo (2003). Adventitious shoot regeneration from leaf explants and stem nodes of *Lilium*. Plant Cell , Tissue and Organ Culture .74 : 37-44.

Chang, C.; C. Chen; Y. Tsai and W. Chang (2000). A Tissue culture protocol for propagation of a rare plant, *Lilium speciosum* Thumb. var gloriosoides Baker. Bot. Acad. Sin. 41: 139-142.

Dantu, P.K. and S.S. Bhojwani (1987). *In vitro* propagation and corm formation in Gladiolus. Graten Bauvissen Craft . 52 : 90 – 93 .

Hartmann, H. T.;D. K. Kester; F. T. Davies and R. L. Geneve (2002). Plant Propagation Principles and Practices. 7th .ed., Prentice Hall. Ins. New Jersey. USA.

Kedra, N. and A. Bach (2005). Morphogenesis *Lilium martagon* L. explants in callus culture. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 47(1): 65-73.

Khosravi, S.; A. V. Azghandi; N. Mojtahedi and R. Haddad (2007). *In vitro* propagation of *Lilium longiflorum* Var Ceb–Dazzle through direct Somatic Embryogenesis . Pakistan Journal Biological Science 10(15) : 2517- 2521 .

Nhut, D. T. (1998). Micropropagation of Lily (*Lilium longiflorum*) via *in vitro* stem node and pseudo- bulblet culture . Plant Cell Report .17: 913-916.

Wawrosch, C.; P. R. Malla and B. Kopp (2001). Clonal propagation of *Lilium nepalense* D. Don, athreatened medicinal plant . Plant Cell Reports. 20: 285- 288.

Weaver, J. R. (1972). Plant Growth Substances in Agriculture. Copyright by Freeman and Company. Printed in U.S.A.