تأثير منظمات النمو ووسط MS المحور على الزراعة النسيجية لنبات قرع الكوسا *Cucurbita pepo*

أ.م.د.عبد الله نجم ألنعيمي م.م. إسلام ياسر عبد الله

قسم علوم الحياة

كلية التربية / جامعة الموصل

تاريخ تسليم البحث: ٢٠١٢/٩/١٨ ؛ تاريخ قبول النشر: ٢٠١٢/١١/٢٩

ملخص البحث:

استحدث كالس (الأوراق، السيقان، الأوراق الفلقية، السيقان تحت الفلقية) لنبات قرع الكوسا *Cucurbita pepo* على وسطMS الصلب المدعم بأنواع وتراكيزمختلفة من الاوكسينات (IAA, NAA, 2,4-D) والسايتوكاينينات (Kin, BA) وقد عدّ الوسط (MS + ١,٠ ملغم/لتر BA + 0.5 ملغم/لتر NAA) أفضل الأوساط المستخدمة لاستحداث الكالس وبنسبة ١٠٠% من قطع الأوراق والسيقان والسيقان تحت الفلقية يليها قطع الأوراق الفلقية بنسبة استحداث ٨٣% للكالس الذي سجل أعلى نسبة وزن طري بلغت ٢ غم تلاها كالس السيقان ١,٢ غم.

كذلك نجحت الدراسة بالحصول على نسبة استحداث عالية ٨٥% لكالس الأجنة غير الناضجة على وسط (MS + ٠,٥ملغم/لتر BA + 0.1 ملغم/لتر NAA) بعد تحفيز الأجنة على وسط MS المدعم بـ ٣٠ ملغم/لتر 2,4-D لمدة أسبوعين، كما نجح وسط MS الحاوي على ١,٥ ملغم/لتر BA + 0.1 ملغم/لتر NAA بإعطاء نسبة استحداث ١٠٠% من قطع الأوراق الفلقية وحققت أوساط الاستحداث نسبة ٨٣-١٠٠% لقطع الفلق منزوعة الأجنة.

أظهرت نتائج تحوير مكونات وسط MS المنتخب (MS + ١,٠ ملغم/لترBA + 0.5 ملغم/لتر NAA) بإضافة ٧ مل/لتر من NH_4NO_3 بدلا من ٤ مل/لتر (وسطMSN) إعطاء نسبة استحداث للكالس بلغت ١٠٠% للسيقان تحت الفلقية و ٨٥% للأوراق الفلقية وعند زيادة مركب KNO_3 إلى ١٤ مل/لتر بدلا من ٨ مل/لتر (وسطMSK) على نفس تركيز وسط MS المنتخب حققت قطع الأوراق الفلقية أعلى نسبة استحداث ٨٧%، وقد لوحظ آن أعلى وزن طري كان1.8غم لكالس السيقان تحت الفلقية على هذا الوسط في حين سجل كالس الأوراق الفلقية أعلى وزن طري بلغ 2.0غم على وسط MSN.

الكلمات المفتاحية: زراعة الانسجة، قرع الكوسا، وسط BA،NAA،MS .

Effect of Growth Regulators and Modified MS Medium on the Tissue Culture of *Cucurbita pepo* Plant

Assist. prof. Dr. Abdullah N. AL-Niemi   Assist. Lect. Islam Y. Abdullah
Department of Biology
College of Education / Mosul University

Abstract:

Callus induction of the plant parts (leaves,stems,cotyledons, hypocotyls) of *Cucurbita pepo* on the solid medium enriched with different concentrations of auxins such as (2,4-D , IAA,NAA) and cytokinins such as (kin,BA). The medium (MS+1.0mg/L BA+0.5mg/L NAA)has been selected the best medium used to originate callus with an average estimated at 100%in the plant parts namely leaves ,stems and hypocotyls and the cotyledons respectively with an average 83% of callus ,and this was the highest percentage of the fresh weight amounte to 2.0 gm and stems callus at 1.2 gm.

The study also succeded in originating callus of immature embryos with high percentage 85% on the medium (MS 0.5mg/L BA+0.1mg/L NAA) after it has been deduced on medium MS supported with 30mg/L 2,4-D for two weeks.

Also the medium MS contained 1.5mg/L BA and 0.1mg/L NAA succeded in producing deduction percentage 100% from the cotyledons similary deduction media achieved a percentage ranged between 83-100% of cotyledons with out embryos.

The results of altering the components of the selected MS medium (MS+1.0mg/L BA+0.5mg/L NAA)has shown deduction percentage amounted to 100% for the hypocotyls and 85% for the cotyledons when added 7ml/L of NH_4NO_3 instead of 4ml/L(MSN medium).Once we increased the amount of KNO_3 compound up to 14ml/L instead of 8ml/L(MSK medium)on the same concentration of MS medium,the parts of cotyledons achieved the highest percentage of deduction 87%.

Finally,the highest fresh weight of hypocotyls callus was noticed in this medium 1.8gm and the highest fresh weight of the cotyledons callus was noticed in MSN medium which was 2.0gm .

Key words:Tissue culture,*Cucurbita pepo*, MS medium,NAA,BA.

المقدمة:

قرع الكوسا *Cucurbita pepo*

ينتمي نبات قرع الكوسا إلى العائلة القرعية Cucurbitaceae (الكاتب، ٢٠٠٠) ويعدّ من النباتات ذات القيمة الطبية والغذائية معا(Viale,2012) وتتضمن العائلة القرعية مجموعة كبيرة من النباتات ذات الأهمية الطبية وتتضمن عدة أجناس منها:

Trichosanthes, Lagenaria, Luffa, Benincasa, Momordica, Cucumis, Citrullus, Cucurbita, Bryonopsis and Corallocarpus.

.(Joy et al,1998)

تأثير منظمات النمو على الزراعة النسيجية لنباتات العائلة القرعية:

أجريت العديد من الدراسات حول تأثير منظمات النمو على نمو وتطور مزارع الكالس لنباتات العائلة القرعية إذ تمكن الباحثان (Katavic & Jelaska,1991) من دراسة تأثير منظمات النمو النباتية المختلفة على تكوين مزارع كالس من الشعيرات الجذرية لنبات قرع الكوسا وتمكنت دراسة أخرى من إجراء دراسة مظهرية وتشريحية لنبات قرع الكوسا الناتج من الكالس والجذور الشعرية المحولة وراثيا ببكتريا *Agrobacterium rhizogenes* R1601 (الرجبو، ٢٠١٠).

وتمكن Ahad وجماعته (1994) من دراسة إمكانية تكوين مزارع كالس وإنتاج نباتات كاملة من الأجنة الناضجة وغير الناضجة لنبات الرقي Water melon كذلك أجرى الباحثان (Srivastava et al,1989) دراسة حول تكون مزارع كالس وتطورها إلى نباتات رقي كاملة، كما وأجريت دراسة عن تأثير منظمات النمو المختلفة على استحداث كالس الخيار Cucumber والبطيخ Cucumis وتكوين نباتات جديدة من الكالس إذ استخدمت الاوكسينات IAA,NAA,2,4-D والسايتوكاينينات Zeatin,Kin,BA (Raharjo &Punja,1993). كما وأجريت دراسة حول نبات الحنظل *Citrullus colocynthis* استخدمت فيها تداخلات وبتراكيز مختلفة من المنظمات 2,4-D مع BAP و 2,4-D مع TDZ لغرض تكوين أفرع خضرية من قطع الأوراق والسيقان .(Savith et al ,2010)

أهمية أملاح النيتروجين والبوتاسيوم وتأثيرها على النباتات:

يحتاج كل نبات إلى عناصر أساسية بكميات مثلى لنموه الطبيعي والعناصر الكبرى تحتاجها كل النباتات لذلك لابد من إضافتها في البيئة التي ينمو فيها النبات وهي سبعة عناصر: النيتروجين N والفسفور P والبوتاسيوم K والكبريت S والكالسيوم Ca والمغنيسيوم Mg والحديد Fe (عطا، ٢٠١٠).

زيادة نسبة النتروجين تسبب زيادة في قوة النمو ومصادر النيتروجين في بيئات الزراعة النسيجية هي مركبات الامونيوم NH_4^+ والنترات NO_3 وتوجد على هيئة نترات الامونيوم NH_4NO_3 ونترات البوتاسيوم KNO_3 أما البوتاسيوم K فهو ضروري للانقسام الطبيعي ونترات البوتاسيوم KNO_3 وفوسفات البوتاسيوم KH_2PO_4 هما مصادر شائعة للبوتاسيوم في بيئات زراعة الانسجة أما كلوريد البوتاسيوم فيستعمل أحيانا (الحديدي، ٢٠٠٠).

أجريت عدة دراسات لمعرفة تأثير هذه العناصر على نمو النباتات إذ تمكنت دراسة من السيطرة على تطور الأجنة الجسمية لقرع الكوسا عن طريق إضافة مكونات النتروجين إلى وسط الزراعة إذ استخدم وسط محور (MS شبه صلب) باستخدام NH_4Cl كمصدر وحيد للنتروجين وملاحظة تأثيره على نمو وتطور الأجنة الجسمية (Dunja et al,2004). وأجريت دراسة حول استخدام التراكيز العالية من NH_4NO_3 إذ وجد انه يحل محل NAA في الوسط لغرض تمايز كالس الاجنة لنبات الدخن (Poddar et al., 1997). كما تمكن (Randall & Terrence,2007) من استخدام أملاح NH_4NO_3 لدراسة إمكانية استخدامها كمنظمات نمو للسيطرة على نمو كالس البرتقال الحلو.

يهدف البحث الى التعرف على تأثير بعض منظمات النمو ومكونات وسط MS على الزراعة النسيجية لنبات قرع الكوسا.

مواد وطرق العمل:

تحضير وتعقيم الأوساط الغذائية المستخدمة:

استخدم وسط MS (Murashige & Skoog, 1962) الصلب المحضر مختبريا وإضافة مادة الاكار بمقدار ٨ غم/لتر والسكروز ٣٠ غم/ ثم ضبطت دالته الهيدروجينية pH باستخدام جهاز pH meter بحدود ٥,٨ -٦,٠ وزع الوسط على قناني حجميه سعة ١٠٠ مل بمقدار ٢٥ -٥٠ مل. وغطيت الفوهات بورق الالمنيوم وادخل الوسط إلى جهاز المؤصدة Autoclave لغرض تعقيمه وبدرجة حرارة ١٢١°م وضغط ١اجو لمدة ٢٠ دقيقة. بعد ذلك استخدم هذا الوسط لغرض زراعة البذور وإنتاج البادرات السليمة.

التعقيم السطحي لبذور نبات قرع الكوسا: ***Cucurbita pepo***

استخدم محلول القاصر التجاري (هايبوكلورايت الصوديوم) NaOCl والماء المقطر لغرض تعقيم البذور وكما يأتي:

معقم: ماء	مدة التعقيم (دقيقة)*
2:1	5
2:1	10
1:1	5
1:1	10

*10بذور/معاملة

وبعد الانتهاء من مدة التعقيم غسلت البذور بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات بمعدل ٣ دقائق/مرة ونقلت إلى أوراق ترشيح معقمة لتجفيفها قبل زراعتها على وسط MS الخالي من منظمات النمو (MSO).

استحداث الكالس وتقدير وزنه الطري:

أخذت الأجزاء النباتية (الأوراق والسيقان والأوراق الفلقية والسيقان تحت الفلقية) من البادرات السليمة بعمر ١٥ يوما وزرعت على وسط MS المدعم بتراكيز مختلفة ومتداخلة من منظمات النمو وحسب المخطط الأتي: -

منظمات النمو (ملغم/لتر)*					
2,4-D + Kin		IAA + Kin		NAA + BA	
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.5	1.0	0.5	0.5	0.1	0.5
0.5	2.0	0.5	1.0	0.1	1.0
0.5	3.0	0.5	1.5	0.5	1.0
1.0	1.0	0.5	2.0	0.5	1.5
1.0	2.0				
1.0	3.0				

*التركيز (0.0) هو وسط MSO الخالي من منظمات النمو (معاملة المقارنة) في هذه الدراسة.

وبعد استحداث الكالس تمت إدامة مزارعه كل ٣-٤ أسابيع زرع الكالس بعمر ٣٠ يوما و بمعدل وزن 1.0 غم/ قطعة/ جزء نباتي وبعد مرور ٣٠ يوما من زراعته على وسط الإدامة لحساب وزنه الطري ليصبح عمر الكالس ٦٠ يوما.

استحداث كالس الأجنة غير الناضجة لقرع الكوسا:

بعد التعقيم السطحي للبذور أخذت الأجنة غير الناضجة وحفزت على وسط MS مضاف إليه ٣٠ ملغم/لتر 2,4-D ولمدة أسبوعين بعدها زرعت على وسط MS مدعم بالتركيزين الآتيين لغرض استحداث كالسها:

MS (ملغم/لتر)		
0.1	0.5	NAA + BA
0.1	1.0	NAA + BA

استحداث كالس فلق نبات قرع الكوسا بعد إزالة الأجنة:

استحدث كالس فلق نبات قرع الكوسا بعد تعقيم الفلق سطحيا بمحلول (هايبوكلورايت الصوديوم) وإزالة الجنين وزرعت على وسط MS مضاف إليه تراكيز مختلفة من (NAA + BA) وكالاتي:

الوسط الغذائي (ملغم/لتر)		
0.1	0.5	NAA + BA
0.1	1.0	NAA + BA
0.5	1.0	NAA + BA

أوساط MS المحورة في هذه الدراسة:

اعتمد وسط MS في استنباط الوسطين المحورين الآتيين:

1 - MSK بزيادة المادة KNO_3 بمعدل 6 مل/لترفي مكونات الوسط MS.

2 - MSN بزيادة المادة NH_4NO_3 بمعدل 3 مل/لترفي مكونات الوسط MS .

وقد اعتمد هذان الوسطان المحوران في عملية استحداث الكالس بعد إضافة أفضل تركيز للاستحداث في هذه الدراسة (1.0+MS ملغم / لتر 0.5+BA ملغم / لتر NAA).

*انتخب الوسطان أعلاه من خلال اختبارهما في تجارب هذه الدراسة.

استحداث الكالس على وسطي MSK وMSN وحساب وزنه الطري:

استحدثت مزارع الكالس لكل من الأوراق والأوراق الفلقية والسيقان تحت الفلقية على وسطي MSK وMSN المحورين ، وتم حساب معدل وزنها الطري على نفس الوسط إذ اخذ ١غم لكل قطعة كالس بعمر ٣٠ يوما وبعد مرور ٣٠ يوما أخرى على زراعته وبذلك أصبح عمر الكالس 60 يوما ثم حسب الفرق في الوزن علما أن قطع السيقان لم تستجب.

النتائج والمناقشة:

كفاءة التعقيم السطحي للبذور:

أظهرت نتائج اختبارات التعقيم السطحي لبذور قرع الكوسا *C.pepo* بمحلول هايبوكلورايت الصوديوم NaOCl كفاءة عالية بلغت ١٠٠% عند استخدام تركيز بنسبة ١حجم محلول معقم: ١ حجم ماء مقطر معقم لمدة١٠ دقائق إذ كان هذا التركيز هو الأفضل في تكوين البادرات السليمة من بين التراكيز المستخدمة في هذه الدراسة (الجدول ١) وعليه اعتمد هذا التركيز في تعقيم بذور القرع المستخدمة في البحث.

الجدول (١): كفاءة تعقيم بذور نبات قرع الكوسا *C. pepo* في محلول هايبوكلورايت الصوديوم NaOCl

المحلول المعقم حجم المعقم: حجم الماء	مدة التعقيم (دقيقة)	كفاءة التعقيم (%)
١: ٢	٥	٨٠
١: ٢	١٠	٩٠
١: ١	٥	٥٠
١: ١	١٠	١٠٠

تكونت البادرات السليمة من بذور قرع الكوسا المعقمة سطحيا بعد مرور ١٥ يوما من زراعتها على وسط MS الصلب الخالي من منظمات النمو، وقد أشارت بعض الدراسات إلى استخدام مادة هايبوكلورايت الصوديوم في تعقيم بذور نباتات أخرى ضمن العائلة القرعية مثل بذور نبات الرقي (Mahmoud et al., 2008).

أوضحت نتائج (الجدول ٢) الاستجابة العالية لاستحداث الكالس في جميع قطع الأجزاء النباتية لقرع الكوسا (الأوراق والسيقان والأوراق الفلقية والسيقان تحت الفلقية) عند استخدام وسط MS الحاوي على (١,٠ ملغم/لتر BA + ٠,٥ ملغم/لتر NAA) (شكل ١).

إذ بلغت أعلى نسبة استحداث في قطع الأوراق والسيقان والسيقان تحت الفلقية ١٠٠% وبمدة زمنية قصيرة إذ تراوح بدء الاستحداث في هذه القطع من ٦ -٨ أيام على التوالي تلتها قطع الأوراق الفلقية بنسبة استحداث ٨٣% وخلال ١٠ أيام من زراعتها على الوسط وهذا يتوافق مع ما أشار إليه (Raharjo & Punja, 1993) عند دراستهما لتأثير منظمات النمو على استحداث وتمايز كالس نبات الخيار Cucumber.

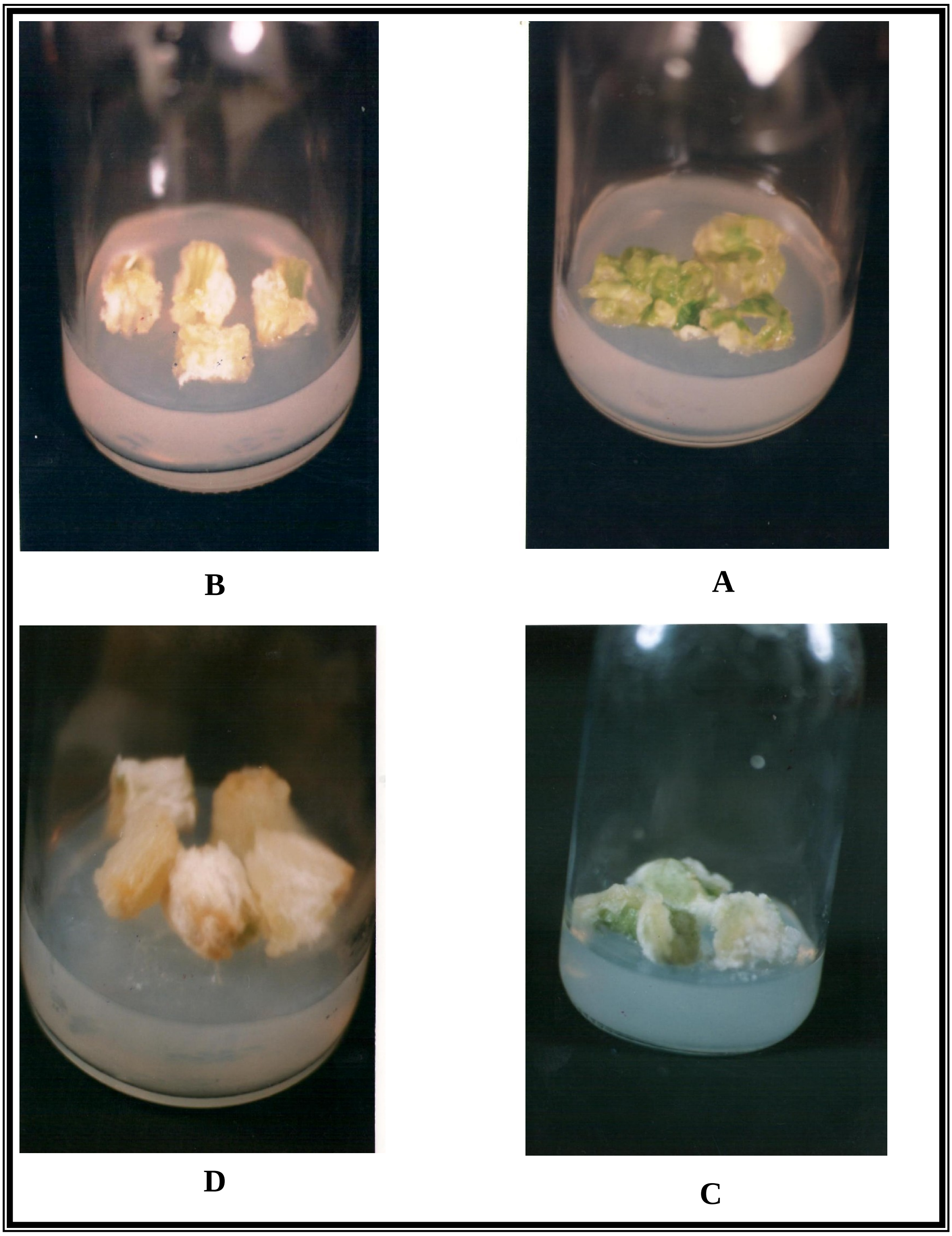
في حين كانت استجابة القطع لبقية التراكيز المتداخلة لمنظمات النمو متفاوتة بين الاستجابة العالية وأحيانا عدم استجابة القطع لاستحداث الكالس وربما يعزى هذا التباين إلى عوامل وراثية وأخرى غير وراثية مثل حجم الجزء النباتي وعمره الفسيولوجي ومصدر هذا الجزء (الكناني،

١٩٨٧)، فضلا عن التوافق بين المحتوى الداخلي للأجزاء النباتية من الهرمونات مع منظمات النمو المضافة إلى الوسط الغذائي للاستحداث(Katavic & Jelaska, 1991).

(الجدول ٢): استجابة الأجزاء المختلفة من نبات قرع الكوسا *C. pepo* لاستحداث الكالس منها في وسط MS الحاوي على منظمات النمو المختلفة

الوسط الغذائي MS (ملغم/لتر)		الأوراق			السيقان			الأوراق الفلقية			السيقان تحت الفلقية		
BA	NAA	نسبة الاستحداث٪	بدء يوم	اكتمال يوم	نسبة الاستحداث٪	بدء يوم	اكتمال يوم	نسبة الاستحداث٪	بدء يوم	اكتمال يوم	نسبة الاستحداث٪	بدء يوم	اكتمال يوم
٠,٥	٠,١	٦٠	٩	٢٨	٨٠	٩	٣٢	٨٧	١١	٢٨	٧١	٤	٣٣
١,٠	٠,١	٢١	٦	٤٢	١٤	٣	٢٨	٦٧	٣	٣٣	١٠٠	٣	٣١
١,٠	٠,٥	١٠٠	٦	٣١	١٠٠	٨	٣١	٨٣	١٠	٢٨	١٠٠	٨	٢٥
١,٥	٠,٥	-	-	-	٦٠	٥	٤٤	٧٥	٥	٤٢	٧٥	٦	٢٨
Kin	IAA												
٠,٥	٠,٥	-	-	-	٦٢	١٠	٢٨	-	-	-	١٠٠	٥	٣٢
١,٠	٠,٥	-	-	-	٧٠	٧	٣٩	-	-	-	٧٥	٥	٢١
١,٥	٠,٥	٥٥	٨	٣٩	٦٤	٨	٤٠	٣٠	٥	٣٨	٦٢	٥	٣٩
٢,٠	٠,٥	٥٥	١٠	٤٠	٧٠	٥	٣٨	٦٠	٧	٤٠	٧٠	٥	٤٠
Kin	2,4-D												
١,٠	٠,٥	٣٣	٥	٣٥	٨٠	٣	٣٩	٨٣	٣	٢٣	١٠٠	٣	٢٥
٢,٠	٠,٥	٣٣	٦	٣٦	١٠٠	٣	٣٩	١٠٠	٢	٢٢	٨٠	٢	٢٩
٣,٠	٠,٥	٦٧	٧	٢٨	١٠٠	٧	٢٨	٣٣	٦	٢٥	٦٧	٦	٢٢
١,٠	١,٠	٦٧	٧	٣٠	-	-	-	-	-	-	٨٠	٧	٣١
٢,٠	١,٠	٧٥	٨	٣٦	١٠٠	٤	٢٦	٦٧	٨	٢٨	٧٥	٣	٢٩
٣,٠	١,٠	٦٧	٨	٣١	٧٥	٥	٣٨	٦٧	٧	٤١	٧٥	٣	٤٠

- توضح عدم حصول استجابة.



الشكل (1**): كالس الأجزاء النباتية لنبات قرع الكوسا بعمر** 30 **يوماً على وسط** MS **الحاوي على (**1.0 **ملغم/لتر** BA+ 0.5 **ملغم/لتر** NAA).

(A): **كالس الأوراق.**

(B): **كالس السيقان.**

(C): **كالس الأوراق الفلقية.**

(D): **كالس السيقان تحت الفلقية.**

أظهرت نتائج (الجدول3) تفوق كل من قطع الأوراق الفلقية وقطع السيقان في إنتاج الكالس بزيادة بلغت ٢ غم و1.2غم على التعاقب بعد 30يوما من تحضين الكالس بوزن 1غم لكل جزء نباتي بينما لوحظ أدنى زيادة 0.4غم في وزن الكالس أظهرته قطع السيقان تحت الفلقية، وقد يعزى هذا التباين في زيادة الوزن إلى اختلاف مستويات المواد الأساسية داخل الخلية كالبروتينات والأحماض أو إلى تأثير مكونات الوسط الغذائي من حيث تركيز المواد والظروف المستخدمة في زراعته (Murashige, 1974).

(الجدول ٣): الوزن الطري لكالس نبات قرع الكوسا *C. pepo* بعمر ٦٠ يوما في وسط MS الحاوي على ١,٠ ملغم/لتر BA و ٠,٥ ملغم/لتر NAA.

كالس الجزء النباتي	معدل الوزن الطري (غم)*
الأوراق	١,٦
السيقان	٢,٢
الأوراق الفلقية	٣
السيقان تحت الفلقية	١,٤

*معدل ٣ مكررات / 1.0 غم كالس/ جزء نباتي.

أوضحت نتائج (الجدول ٤ والشكل ٢) استجابة قطع الأجنة غير الناضجة لنبات قرع الكوسا *C.pepo*المحفزة على وسط MS الحاوي على ٣٠ ملغم/لتر 2,4-D قبل زراعتها لاستحداث الكالس وبنسبة ٨٥% على وسط MS الحاوي على ٠,٥ملغم/لتر BA و٠,١ملغم/لتر NAA وخلال ستة أيام من زراعتها على هذا الوسط واكتمالها خلال أسبوعين من بدء استحداثها في حين كانت نسبة الاستحداث اقل في وسط MS الحاوي على ١,٠ ملغم/لتر BA و ٠,١ ملغم/لتر NAA إذ بلغت ٧٧%.

الجدول (٤): استحداث كالس الأجنة غير الناضجة لنبات قرع الكوسا *C.pepo*

الوسط الغذائي MS (ملغم/لتر)		نسبة الاستحداث ٪	بدء الاستحداث (يوم)	اكتمال الكالس (يوم)
BA	NAA			
٠,٥	٠,١	٨٥	٦	١٤
١,٠	٠,١	٧٧	٥	١٢

الشكل (2): **كالس الأجنة غير الناضجة لنبات قرع الكوسا بعمر** 30 **يوماً على وسط** MS **الحاوي على** (0.5 **ملغم/لتر** BA+ 0.1 **ملغم/لتر** NAA).

أنسجة الأعضاء المختلفة للنباتات يمكن لها أن تكون كالس وهناك عدة عوامل ممكن لها أن تحفز على تكوين الكالس مثل بعض العوامل الكيميائية بضمنها المغذيات المعدنية ومنظمات النمو النباتية فضلا عن عوامل الضوء والحرارة(Robert & Dennis, 2000)، وقد أشارت بعض الدراسات إلى أن 2,4-D يعد من الاوكسينات واسعة الاستخدام لاستحداث كالس القرع (Shakti et al, 2007) كما أن بعض الدراسات أشارت إلى أن نباتات العائلة القرعية تحتاج إلى تراكيز عالية من 2,4-D لغرض تحفيز الاستحداث (Sultana et al, 2004).

من ناحية أخرى لوحظ أن أفضل وسط لاستحداث كالس فلق نبات قرع الكوسا كان وسط MS الحاوي على ١,٠ ملغم/لتر BA و ٠,١ ملغم/لتر NAA (الجدول 5 والشكل 3) بنسبة استحداث ١٠٠% وخلال مدة ٤ أيام ابتداء من يوم زراعة الفلق على الوسط والاكتمال كان خلال ١٢ يوما يليه وسط MS الحاوي على ٠,٥ ملغم/لتر BA و٠,١ ملغم/لتر NAA أيضا بنسبة ١٠٠% خلال ٧ أيام من بدء الزراعة ،وهذا يؤكد ما جاء به (.Esuola&Akinyemi,2011 Ficcadenti & Rotino,1995)من دراسة على BA إذ أشارت الدراسة إلى أن تداخلات BAأو BAP مع بعض الاوكسينات سجلت تفوقا عاليا في استحداث الكالس من الأجزاء النباتية المختلفة لنبات قرع الكوسا كما أكدت ذلك دراسة (Raharjo & Punja,1993) على استحداث كالس نبات الخيار بنسبة 100%عند استخدام تداخلات هذه المنظمات وقد استخدمت عدة دراسات مزارع كالس الفلق لدراسة تأثير منظمات النمو على نتائج الايض الثانوي فيها لنباتات

Ecballium elaterium(Attard & Brincat,2000)، كما لوحظ من خلال نتائج (الجدول 5) أن زيادة الاوكسين NAA من 0.1 ملغم /لتر إلى 0.5 ملغم /لتر خفض نسبة الاستحداث إلى 83%وربما يعود السبب في ذلك إلى عدم توافق نسبة الهرمونات الطبيعية في هذا الجزء النباتي مع التركيز المضاف من NAA إذ أشارت بعض الدراسات إلى أن بعض الاوكسينات ممكن أن تكون مثبطة لاستحداث الكالس من بعض الأجزاء النباتية لقرع الكوسا عند إضافتها بتراكيز عالية مع السايتوكاينين (Katavic & jelaska,1991).

الجدول (٥): استحداث كالس فلق نبات قرع الكوسا *C.pepo* على وسط MS الحاوي على تراكيز مختلفة من منظمات النمو.

الوسط الغذائي MS (ملغم/لتر)		نسبة الاستحداث ٪	بدء الاستحداث (يوم)	اكتمال الكالس (يوم)
BA	NAA			
٠,٥	٠,١	١٠٠	٧	١٤
١,٠	٠,١	١٠٠	٤	١٢
١,٠	٠,٥	٨٣	٥	١٣

الشكل (3): كالس فلق نبات قرع الكوسا بعمر 30 يوماً على وسط MS الحاوي على (1.0 ملغم/لتر BA + 0.1 ملغم/لتر NAA).

أوضحت نتائج (الجدول ٦ والشكل٤ (١)) أن أعلى نسبة استحداث سجلت في وسط MSK المحور كانت لقطع الأوراق الفلقية بنسبة استحداث ٨٧% تلتها قطع الأوراق ٦٦% ثم قطع السيقان

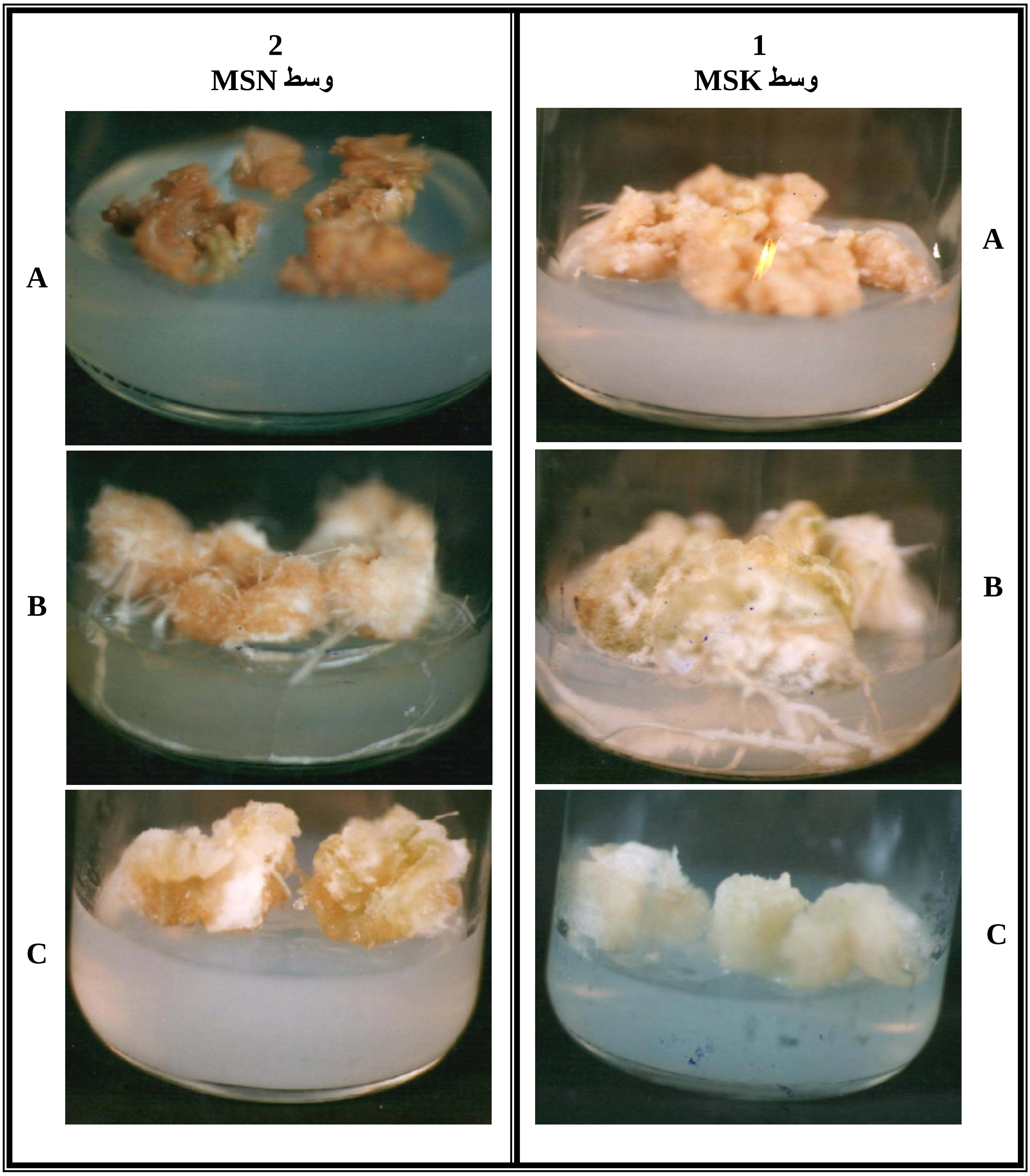
تحت الفلقية ٦٢% إلا أن كالس السيقان تحت الفلقية سجل أعلى معدل زيادة في الوزن الطري حيث بلغ ٠,٨ غم وربما يعزى هذا التباين في استجابة القطع المختلفة لاستحداث الكالس على وسط MS المحور إلى أن مقدرة النبات على تحمل نسبة زائدة من العناصر المعدنية يتوقف على النوع النباتي وخاصيته الوراثية ومقدرته على امتصاص وتراكم ايونات مختلفة (عطا، ٢٠١٠). وربما يعزى زيادة الوزن الطري لكالس السيقان تحت الفلقية مقارنة ببقية الأجزاء إلى استجابة هذا الجزء النباتي لزيادة مستوى النتروجين في الوسط والذي أدى إلى حدوث زيادة في مستويات إنتاج الأحماض الامينية والتي تكوّن البروتين وهو أساس بناء الخلية، ومن خلال (الجدول ٦ والشكل ٤(٢))،يتبين أن أعلى نسبة استحداث سجلت على وسط MSN المحور كانت لقطع السيقان تحت الفلقية بنسبة استحداث ١٠٠% مقارنة مع الأوراق الفلقية التي سجلت نسبة استحداث اقل بلغت ٨٥% لكن بمعدل وزن طري أعلى من السابق حيث بلغ1.0 غم ،وهذا يتوافق مع ما توصل إليه (Randall & Terrence, 2007) إذ أكدت الدراسة اعتبار مركبات NH_4NO_3 بالإضافة إلى الحديد عوامل مهمة جدا ومؤثرة على نمو الكالس كما سجلت نتائج عن زيادة استجابة الكالس عند إضافة هذا المركب إلى الأوساط الزرعية.

كما لوحظ من خلال (الجدول ٦ والشكل 2-A) فشل استجابة قطع الأوراق لهذا الوسط في استحداث الكالس وربما يعزى سبب ذلك إلى زيادة تراكيز بعض العناصر الغذائية في الوسط يؤدي إلى تأثر بقية العناصر الأخرى وان بعض المغذيات المعدنية لو وجدت بكميات أعلى مما يحتاجه النبات فان النبات يمتصها ولكن قد تتراكم داخله على شكل مركبات سامة تؤثر سلبيا على نموه (عطا، ٢٠١٠).

(**الجدول ٦**): **استحداث كالس نبات قرع الكوسا C.pepo على وسطي MSK و MSN المحورين عند وسط MS المنتخب**.

الجزء النباتي	MSK+1.0ملغم/لترBA+0.5ملغم/لترNAA				MSN+1.0ملغم/لترBA+0.5ملغم/لترNAA			
	نسبة الاستحداث %	بدء (يوم)	اكتمال (يوم)	معدل الوزن الطري (غم)*	نسبة الاستحداث %	بدء (يوم)	اكتمال (يوم)	معدل الوزن لطري (غم)*
الأوراق	٦٦	٩	٢٧	١,٥	-	-	-	-
الأوراق الفلقية	٨٧	٤	٣٥	١,٣	٨٥	٤	٣٦	٢,٠
السيقان تحت الفلقية	٦٢	٣	٣٠	١,٨	١٠٠	٥	٣١	١,٧

*معدل ثلاث مكررات/1.0غم كالس/جزء نباتي خلال 30 يوما.



الشكل (4): **كالس الأجزاء النباتية لقرع الكوسا بعمر** 30 **يوماً على وسط** MSK **و**MSN

(1-A): **كالس الأوراق.**

(1-B): **كالس الأوراق الفلقية.**

(1-C): **كالس السيقان تحت الفلقية.**

(2-A): **كالس الأوراق.**

(2-B): **كالس الأوراق الفلقية.**

(2-C): **كالس السيقان تحت الفلقية.**

المصادر:

١. **الحديدي**، محمد علي حسين(2000). نباتات من أنابيب الاختبار.مقدمة للإكثار الدقيق بالأنسجة النباتية.دارالفكر للطباعة والنشر والتوزيع. عمان. الطبعة الأولى.

٢. **الرجبو**، نازك احمد حسن (2010). دراسة مظهرية وتشريحية مقارنة لنباتات القرع *Cucurbita pepo L.* الناتجة من الكالس والجذور الشعرية المحولة وراثيا ببكتريا *Agrobacterium rhizogenes* R1601. رسالة ماجستير .كلية التربية .جامعة الموصل.

٣. **عطا**،جمعة محمد(2010). الأضرار الناتجة عن زيادة العناصر المعدنية (التسمم المعدني). كلية الزراعة. جامعة الإسكندرية.

٤. **الكاتب**،يوسف منصور(2000). تصنيف النباتات البذرية .دار الكتب للطباعة والنشر.جامعة الموصل.

٥. **الكناني** ،فيصل رشيد ناصر(1987). زراعة الأنسجة والخلايا النباتية .دار الكتب للطباعة والنشر.جامعة الموصل.

6. **Ahad**, A, Islam. R, Hossain. M, Khalek Uzaman and Joarder. O. (1994). Plant regeneration from immature and mature embryo axes of water melon. Plant Tissue Culture. 2:39-44.
7. **Attard**, E.,Scicluna-Spiteri,A. and Brincat, M.P.(2000).*Ecballium elaterium* L.in Malta:The growth,quality and potential of the Maltese squirting cucumber as a source of the anti-cancer tetracyclic triterpenoid ,cucurbitacin E.Aromatic and medicinal plants.University of Malta . Institute of Agriculture Research.
8. **Dunja Leljak - Levanic**, Natasa Bauer, Snjezana Mihaljevic and Sibila Jelaska.(2004).Somatic embryogenesis in Pumpkin *Cucurbita pepo* L.: Control of so matic embryo development by nitrogen compounds. Journal of plant Physiology.161(2):229-236.
9. **Esuola,**C.O and Akinyemi,S.O.S.(2011).Effect of cytokinins combination on the proliferaytion of fluted pumpkin(*Telfairia occidentalis Hook.F*).continental J.Biological Sciences 4(2):49-54.
10. **Ficcadenti**, N. and Rotino G.L.(1995).Genotype and medium affect shoot regeneration of melon.Plant Cell Tiss-Drg-Cult.40:293-295.
11. **Joy**, P.P, Thomas. J, Samuel. M and Skaria. B. (1998). Medicinal plants. KERALA AGRICULTURRAL UNIVERSITY. India.
12. **Katavic**, V. and Jelaska.S.(1991).The influence of plant growth regulators on callus induction in Pumpkin *Cucurbita pepo* L. hairy roots.Int.J.Dev.Biol.35:265-268.
13. **Mahmoud** I. Nasr, Ibrahim A. Ibrahim, Hala M. Habib and Tarek. Kapiel.(2008).Rapid micropropagation of diploid and tetraploid

watermelon *(Citrullus lanatus)* cultivars.Genetic Engineering and Biotecnology Research Institute(GEBRI), Sadat city, Cairo Univercity.

14. **Murashige**, T. and Skoog, F.(1962).A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture, Physiol Plant.15:473-497.
15. **Murashige**, T. (1974).Plant cell and organ culture methods in the establishment of pathogen-free stock.2nd Annual. A.W. Dimock. Memorial lecture. Cornell University, Ithaca. New York.
16. **Poddar**, K, Vishnoi, R. K. and Kothari, S. L. (1997).Plant regeneration from embryogenic callus of finger millet *Eleusine coracana* L. Gaertn.on higher concentrations of NH_4NO_3 as a replacement of NNA in the medium. Plant Sci.129:101-106.
17. **Raharjo**,S.H.T and Punja,Z.K.(1993).Plant regeneration from petiol explants of the african horned Cucumber, *Cucumis metuliferus*. Cell Tissue and Organ Culture. 32:169-174.
18. **Randall** P. Nieds and Terrence J. Evens.(2007).Regulating plant tissue growth by mineral nutrition. In Vitro celluler and development biology - plant. 43(4):370-381.
19. **Robert** N. Trigiano and Dennis J.Gray.(2000).plant tissue culture concepts and laboratory exercise.second edition.printed in USA.
20. **Savith**, R., Shasthree, T. and Sudhakar, B. (2010). High frequency of plantlet regeneration and Multiple Shoot induction from leaf and stem explants of *Citrullus colocynthis* CL. Schrade, An endangered medicinal cucurbit. International Journal of Pharma and Bio Sciences.V1(2).
21. **Shakti Prosad PAL**, Iftikhar ALAM, ANISUZZAMAN, Kanak Kanti SARKER,Shamima Akhtar SHARMIN and Mohammad Firoz ALAM. (2007) .Indirect organogenesis in summer squash *Cucurbita pepo* L. Turk J Agric. 31:63-70.
22. **Srivastava**, D.R, Andrianov, V.M and Piruzian, E.S (1989).Tissue culture and plant regeneration of water melon *Citrullus vulgaris* Schard. cv. Melitopolski. Plant Cell Rep.8:300-302.
23. **Sultana**, R.S, Bari, M. A, Rahman, M. H, Rahman, M. M, Siddique, N. A. and Khatun N.(2004).In vitro rapid regeneration of plantlets from leaf explants of water melon *Citrullus lanatus* Thumb. University of Rajshahi - Bangladesh. Biotecnology.3(2):131-135.
24. **Viale Ortles**. (2012). Anatural remedy for benign prostatic hyperplasia (BPH). Milano. Italy. Tel:0257496.1.,Fax:0257404620.

This document was created with Win2PDF available at http://www.daneprairie.com.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.