مجلة البصرة للعلوم الزراعية، المجلد 29 (1)، 214- 230 ،2016

تأثير 2,4-D وBA في استحثاث الكالس و تحفيز الأجنة الخضرية وتوليد الأفرع العرضية من زراعة قطع الأوراق الفتية في نبات الكاردينيا المتقزم *Gardenia jasminoides* Ellis صنف "Radicans"

هدى عبد الكريم الطه و لمياء حسين موسى المازني

قسم البستنة وهندسة الحدائق، كلية الزراعة، جامعة البصرة، العراق

المستخلص: أجريت هذه الدراسة في مختبر زراعة الأنسجة النباتية التابع لكلية الزراعة، جامعة البصرة، العراق خلال المدّة 2014/3/1 ولغاية 2015/3/15 بهدف دراسة تأثير تراكيز مختلفة من الاوكسين 2,4-D والسايتوكاينين BA في استحثاث الكالس وتحفيز الأجنة الخضرية وتوليد الأفرع العرضية لنبات الكاردينيا المتقزم *Gardenia jasminoides* Elli. وذلك بزراعة كل من القواعد والأجزاء الوسطية للأوراق الفتية. وتشير هذه الدراسة الى إمكانية نشوء الكالس الأولي من زراعة قطع الأوراق الفتية (القاعدية والوسطية) بنسبة 100% في الوسط MS والمزود بالاوكسين2,4-D بتركيز 3 ملغم.لتر$^{-1}$ مع وجود BA بتركيز 0.2 ملغم.لتر$^{-1}$ وفي مدة قصيرة بلغت 10.3– 15.3 يوماً في الظلام. وقد تم إعادة زراعة جزء من الكالس في الوسط الغذائي2,4-D 3 ملغم.لتر$^{-1}$ لمدة ثمانية أسابيع في الضوء الذي أدى الى ظهور العقد الجنينية وتحفيز الأجنة الخضرية فقد تميزت بعض الأجنة بلونها الأخضر. وقد نقل الجزء الآخر من الكالس الى الوسط MSو المزود بتركيزين من BA 3 و 5 ملغم.لتر$^{-1}$ مع وجود 2,4-D بتركيز 0.2 ملغم.لتر$^{-1}$، وقد تفصص الكالس ثم ظهرت نتوءات صغيرة خضراء اللون تميزت الى أفرع عرضية دقيقة لاتحصى في نهاية مدة التحضين. وقد أظهرت النتائج تكوين كالس حبيبي الشكل أبيض مسمر عند أسفل عنق الورقة في الوسط الغذائي المضاف BA بتركيز5 ملغم.لتر$^{-1}$ مع وجود NAA بتركيز ثابت (0.2 ملغم.لتر$^{-1}$) ثم ازدادت وغطت الأجزاء القاعدية جميعها بصورة كاملة عند نهاية مدة التحضين، في حين لم تتم عملية استحثاث الكالس في بقية التراكيز(3، 7، 10) ملغم.لتر$^{-1}$ BA، وقد استمرت عملية إعادة زراعة الكالس على الوسط نفسه والتركيز السابق نفسه لغرض إكثاره، ثم عملية توليد الأفرع في الوسطين المزودين بالـBA بتركيزين 1 و 2 ملغم.لتر$^{-1}$، وتوضح النتائج أيضاً عدم تحفز الكالس الأولي من زراعة الأجزاء الوسطية في أوراق الكاردينيا في التراكيز جميعها،وإنما تلونت باللون البني وماتت.

الكلمات الدالة : 2,4-D وBA وتحفيز الأجنة الخضريةو الأفرع العرضية وكاردينيا المتقزم صنف Radicans.

المقدمة

يتبع نبات الكاردينيا الى العائلة Rubiaceae وعرف أنَّ الموطن الأصلي له هو الصين واليابان والمناطق الشمالية من أمريكا واليونان ودول جنوب أفريقيا،وإنَّ الكاردينيا من النباتات المحبة للضوء والجو الرطب، ويميل إلى العيش في الأماكن المظللة ولها القابلية على تحمل الصقيع، وتنمو في الترب الحامضية ذات رقم هيدروجيني 5 – 6.5 ودرجة الحرارة الملائمة للأزهار في موسم الربيع بين21–27مْ وفي موسم الشتاء 13مْ [2].

ويعد Dumanois *et al*. [15] أول من استعمل تقنيات زراعة الأنسجة لإكثار الكاردينيا إذ نجح في تجذير النموات الحديثة الناتجة من الأنابيب بنسبة 75% متخلصاً من تأثير وقت التجذير في نجاح الإكثار الى جانب المردودالمنخفض لطر ائق الإكثار التقليدية. والـ"Radicans" هو أحد أصناف

الكاردينيا وله أسماء عديدة مرادفة (Synonym) منها Gardenia Radicans أو "Radicans" *Gardenia jasminoides* والأكثر شيوعاً هو "Radicans" *Gardenia Jasmuinoides* var. *Jasmuinoides* cv. بحسب تصنيف الباحثين (28)، وتؤدي تقنيات زراعة الانسجة النباتية دوراً كبيراً ومهماً في إكثار العديد من النباتات الاقتصادية المهمة والشجيرات الصعبة الاكثار بالطرائق التقليدية، ومن بينها الكاردينيا.

وقدبيَّنَ Mohan Reddy and Saritha [22] أن زراعة قطع الأوراق الفتية من نبات الكاردينيا *Gardenia latifolia* Ait. في الوسط الغذائي المزود بأملاح MS والاوكسين 2,4-D بتراكيز 0.5، 1، 2، 3، 4 ملغم.لتر$^{-1}$ كونت كالس أبيض اللون واستنتج الباحثان أن التركيز 3ملغم.لتر$^{-1}$ من الـ2,4-D أعطى أكبر كتلة للكالس ذي لون كريمي هش القوام وكانت النسبة المئوية في استجابة الأجزاء النباتية لتكوين الكالس عند هذا التركيز 0.10 ± 80.0% بعد مرور ثمانية أسابيع وإعادة زراعة الكالس المتكون على وسط 2,4-D بتركيز منخفض (0.5-1) ملغم.لتر$^{-1}$ سبب ذلك زيادة في كتل الكالس وازداد حجم الخلايا وتحولها الى عقد جنينية، وأشار الباحثان Mani and Senthil [20] الى عملية استحثاث كالس أخضر اللون وهش من زراعة أجزاء نباتية (أوراق والسويقة الجنينية Petila) لنبات الداودي على وسط MS ومزود الآوكسين 2,4-D بتراكيز 0، 0.5، 1، 2 ملغم.لتر$^{-1}$ وحقق التركيز العالي (2ملغم.لتر$^{-1}$ 2,4-D) أعلى نسبة مئوية لاستحثاث الكالس من زراعة (Petila) بلغت 100±0.26% و 81±0.13% للأوراق، اما التركيز 1.5 ملغم.لتر$^{-1}$ 2,4-D فقد حقق نسبة مئوية لاستحثاث الكالس من زراعة Petila بلغت 80±0.22 % وفي زراعة الأوراق فقد كانت النسبة المئوية 100±0.26%، وأوضح الباحثان ايضاً عند نقل الكالس الهش الى وسط MS والمزود BAP بتركيز 1 ملغم.لتر$^{-1}$ كون أجنة جسمية، كذلك أشارت الطه [6] الى استحثاث الكالس الأولي من زراعة نوعين من الأجزاء النباتية (القاعدية والوسطية) من نبات الاناناس صنف "Del Monte" في الوسط الغذائي MS مزود بالسايتوكاينين BA بتراكيز 2، 3، 5، 7 و10 ملغم.لتر$^{-1}$ مع وجود الآوكسين NAA بتركيز ثابت 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ في الظلام، واوضحت أن عملية استحثاث الكالس ازدادت مع زيادة تركيز BA في الوسط الغذائي وغطى الكالس أسطح الأجزاء القاعدية من الورقة جميعها خصوصاً عند تركيز 7 و 10 ملغم.لتر$^{-1}$ من BA في حين استحث الكالس من الأجزاء القاعدية الوسطية والعليا من الأوراق الفتية، ثم ولدت الأفرع العرضية من الكالس في وسط MS ومزود بالـBA بتركيز1 ملغم.لتر$^{-1}$ مع وجود NAA بتركيز0.1 ملغم.لتر$^{-1}$ وقتد كانت نسبة الأفرع المتكونة 100% وبطول يتراوح 1-1.5سم.

المواد وطرائق العمل

أجريت هذه الدراسة في مختبر زراعة الأنسجة النباتية التابع لكلية الزراعة في جامعة البصرة للمدة من 2014/3/1 الى 2015/3/15، وقد استعملت في هذه الدراسة قطع الأوراق الفتية لنبات الكاردينيا *Gardenia jasminoides* صنف "Radicans" تم الحصول عليها من مشاتل البصرة مزروعة في سنادين قطرها 15سم، قطعت الأوراق الصغيرة (الفتية) بواسطة مشرط حاد ثم اخذت الأجزاء التالية:

أ- قواعد الأوراق (Leaves bases) التي تبدو بهيأة مثلث الشكل أبعادها 0.4x0.6 سم، (لوحة1، A).

ب- الأجزاء الوسطية من الأوراق الفتية (Leaves middle) التي تبدو بهيأة مربع الشكل أبعادها 0.5x0.5 سم (لوحة1، B).

والأجزاء القاعدية والوسطية من الأوراق الفتية، تم غسلها بالماء والصابون عدة مرات للتخلص من الأتربة بعدها غسلت بالماء المقطر والمعقم عدة مرات، ثم أجريت عملية التعقيم السطحي عن طريق وضعها مباشرة في محلول الكحول الآثيلي70% ولمدة خمسة دقائق، بعدها غسلت بالماء المقطر والمعقم عدة مرات، ثم وضعت في محلول التعقيم الحاوي على هايبوكلورايد الصوديوم [تركيز المادة الفعالة 1.05%] وبتركيز 20%حجم/حجم مع أضافة 2-3 قطرات من المادة الناشرة Tween-20 لكل 100 مل من المحلول مع التحريك المستمر ولمدة 15-20 دقيقة، ثم أخرجت من محلول التعقيم وغسلت بالماء المقطر والمعقم عدة مرات لضمان ازالة التأثير الضار للمادة المعقمة، وقد تمت هذه العملية على منضدة انسياب الهواء الطبقي(Laminar flow air Cabinet)، بعدها حفظت في وعاء زجاجي معقم يحتوي على ماء مقطر معقم الى حين إجراء عملية الزراعة لمنعها من الجفاف استعمل الوسط الغائي المكون من أملاح MS (24) والمواد العضوية وهي، السكروز بتركيز 30 غم.لتر$^{-1}$ و أرثو فوسفات الصوديوم 200 ملغم.لتر$^{-1}$ وكبريتات الأدنين 80 ملغم.لتر$^{-1}$ ومايو انيوسيتول Myoinositol بتركيز 100 ملغم.لتر$^{-1}$ ومادة Polyvinyl pyrrolidone (PVP) بتركيز 1غم.لتر$^{-1}$ ومجموعة من فيتامينات والكلايسين بتركيز 1ملغم.لتر$^{-1}$، ثم اضافة الأوكسين2,4-D والسايتوكاينين BA بتراكيز مختلفة حسب الهدف من التجربة، ضبط pH الوسط الغذائي ضمن مدى 5.7-5.8، ثم اضيف الآكار بتركيز 5 غم.لتر$^{-1}$، وقد سخن الوسط الغذائي وصولاً الى درجة حرارة 90م ثم وزع في انابيب الزراعة ابعادها 18X2.5سم ثم سدت الفوهات بالقطن الطبي وغلفت بأوراق الالمنيوم وبعدها عقمت بوساطة جهاز المعقم البخاري Autoclave تحت ضغط 1.04 كغم.سم^{2} ودرجة حرارة 121م لمدة 20 دقيقة وحفظت في الحاضنة لحين زراعتها بالأجزاء النباتية المعدة، وتضمنت هذه الدراسة التالي:

1- تأثير تراكيز من الأوكسين 2,4-D في استحثاث الكالس وتحفيز الأجنة الخضرية والأفرع العرضية من زراعة الأجزاء القاعدية والوسطية من الأوراق الفتية) في نبات الكارديني المتقزم صنف "Radicans":

وزرعت قطع قواعد الأوراق الفتية بهيأة مثلث الشكل وكذلك الأجزاء الوسطية بهيأة مربع الشكل بصورة أفقية على الوسط الغذائي المكون من أملاح MS والمزود بالأوكسين 2,4-D بتراكيز 0.5، 1، 2، 3 ملغم.لتر$^{-1}$ مع وجود تركيز ثابت من السايتوكاينين BA (0.2 ملغم.لتر$^{-1}$) وتمت عملية الزراعة على منضدة انسياب الهواء الطبقي، وقد عقمت أسطح المنضدة والادوات المستعملة بالزراعة جميعها بوساطة الكحول الاثيلي70% والكلور المخفف، وقد زرعت القطع القاعدية والوسطية من الأوراق الفتية بواقع قطعة واحدة في كل أنبوبة اختبار وبواقع عشرة تكرارات للمعاملة الواحدة لكل جزء نباتي لغرض استحثاث الكالس وإكثاره، وحضنت الزروعات في غرفة النمو على درجة حرارة 25±2م° في الظلام لمدة أربعة أسابيع، أخذت القياسات التالية:

1- عدد الأيام لنشوء الكالس

2- النسبة المئوية في إستجابة القطع =

$$\frac{\text{عدد القطع المستحثة للكالس}}{\text{عدد القطع المزروعة الكلي}} \times 100$$

3- ملاحظات عامة

زرع الكالس المستحث من الأجزاء القاعدية والوسطية من الأوراق الفتية على الوسط الغذائي المزود بالأوكسين 2,4-D بتركيز 3 ملغم.لتر$^{-1}$ مع وجود BA بتركيز(0.2 ملغم.لتر$^{-1}$) لمدة أربعة أسابيع في الظلام لغرض إكثار الكالس.

وتضمنت هذه الدراسة اتجاهين، الاتجاه الأول هو استمرار زراعة جزء من الكالس الأولي في الوسط السابق نفسه أي إعادة زراعته في الوسط الغذائي

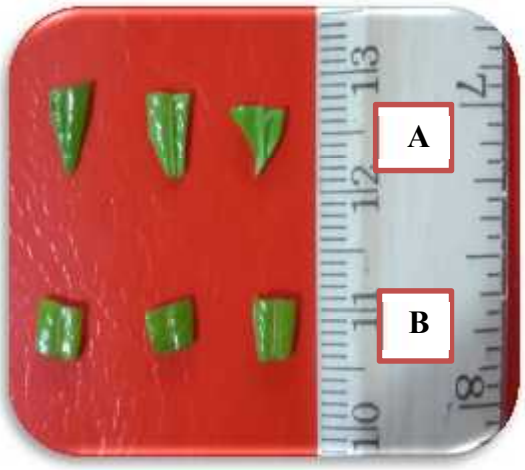
المزود الـ2,4-D بتركيز 3 ملغم.لتر$^{-1}$ مع وجود الـBA بتركيز 0.2 ملغم.لتر$^{-1}$ ولمدة ثمانية أسابيع في الضوء لغرض تحفيز الأجنة الخضرية.

اما الاتجاه الثاني في هذه الدراسة، نقل الكالس الأولي النامي في الوسط الغذائي المزود بالـ 2,4-D بتركيز 3ملغم.لتر$^{-1}$مع BA بتركيز (0.2ملغم.لتر$^{-1}$) وبعمر أربعة أسابيع الى وسط توليد الأفرع العرضية والمتكون من مكونات الوسط السابق نفسها مع اضافة السايتوكاينينBA بتركيزين 3 و5 ملغم.لتر$^{-1}$ مع وجود الآوكسين2,4-D بتركيز ثابت (0.2 ملغم.لتر$^{-1}$)على الوسطين السابقين أنفسهما وحضنت الزروعات على درجة حرارة 25+2م° وشدة إضاءة 1000 شمعة. قدم ولمدة ثمانية أسابيع.

2- تأثير تراكيز من السايتوكاينين BA في استحثاث الكالس وتوليد الأفرع العرضية adventiatious shoots من زراعة الأجزاء القاعدية والوسطية من الأوراق الفتية في نبات الكارديليا المتقزم صنف "Radicans":

وزرعت قطع الأوراق (الأجزاء القاعدية والوسطية) بصورة أفقية على الوسط الغذائي المزود بأملاح MS مع إضافة تراكيز مختلفة من السايتوكاينين BA هي 3، 5، 7، 10 ملغم.لتر$^{-1}$ مع وجود الـNAA بتركيز ثابت (0.2 ملغم.لتر$^{-1}$) وبحدود قطعة واحدة في كل أنبوبة إختبار، وقد استعمل 25مكرراً لكل نوع من القطع لكلا التجربتين، حضنت الزروعات في الحاضنة وعلى درجة حرارة 25+1م° ولمدة أربعة أسابيع في الظلام وسُجلت القياسات السابقة نفسها. وقد أعيدت زراعة الكالس (Reculture) على الوسط الغذائي المزود بأملاح MS مع وجود السايتوكاينين BA بتركيز 5 ملغم.لتر$^{-1}$ والآوكسين NAA بتركيز (0.2 ملغم.لتر$^{-1}$) لمدة أربعة أسابيع في الظلام لغرض إكثاره، بعد ذلك نُقلَ الكالس الأولي الى وسط توليد الأفرع الخضرية المزود بالسايتوكاينين BA بتركيزين 1 و2 ملغم.لتر$^{-1}$ مع وجود NAA بتركيز (0.2 ملغم.لتر$^{-1}$) وحضنت الزروعات على درجة حرارة25± 2م وشدة اضاءة 1000 شمعة.قدم لمدة ثمانية أسابيع في الضوء، ثم سُجلتْ ملاحظات حول توليد الأفرع العرضية.

وصممت تجارب هذه الدراسة بحسب التصميم العشوائي الكامل (C.R.D.) Randomized Complete Design، وحللت نتائج الدراسة استعمال تحليل التباين وقورن بين متوسطات المعاملات بموجب اختبار أقل فرق معنوي المعدل (R.L.S.D) (Revised Least Significant Difference test) عند مستوى احتمال 0.05 (3).



لوحة (1): توضح الأجزاء النباتية المأخوذة من نبات الكارديناوقواعد الأوراق (A) قطع الأوراق الوسطية (B).

النتائج والمناقشة

1- تأثير تراكيز من الأوكسين 2,4-D في استحثاث الكالس وتحفيز الأجنة الخضرية والأفرع العرضية من زراعة الأجزاء القاعدية والوسطية من الأوراق الفتية في نبات الكارديليا المتقزم صنف"Radicans"

وقد توضح النتائج في لوحة (2) زراعة قواعد الأوراق الفتية في نبات الكارديليا صنف

"Radicans" مثلثة الشكل بصورة أفقية في الوسط الغذائي المزود 2,4-D بتراكيز 0.5، 1، 2، 3 ملغم.لتر$^{-1}$ مع وجود السايتوكاينين BA بتركيز ثابت (0.2 ملغم.لتر$^{-1}$) لمدة أربعة أسابيع في الظلام إذ بدأت الأوراق بالتضخم نتيجة امتصاص المواد الغذائية من الوسط الغذائي، ثم بدأت عملية انقسام الخلايا وتكوين كالس ذي لون أبيض كريمي، مفصص القوام، تكون الكالس في بداية الأمر في منطقة القطع (وهو الجزء القاعدي من مثلث الورقة) على شكل حبيبات صغيرة ثم بعد ذلك غطى الكالس أسطح أجزاء الأوراق القاعدية جميعها في المعاملات جميعها في نهاية مدة التحضين، وازدادت كمية الكالس المستحث مع زيادة تتركيز 2,4-D المضافة في الوسط الغذائي، إذ أعطى الوسط الغذائي المزود بالاوكسين 2,4-D بتركيز 3ملغم.لتر$^{-1}$ أكبر كتلة للكالس وأكثر كثافة من التراكيز الآخرى، مع وجود بعض التلون البني في الأجزاء القاعدية في الورقة المزروعة في الوسط الغذائي المزود 2,4-D بتركيز 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$، وقد يعود سبب تكوين الكالس في قواعد الأوراق في جميع التراكيز من 2,4-D الى أن هذه الأجزاء تستجيب الى عمليات إعادة تمايز الأنسجة النباتية ومن ثم تكوين الكالس باعتبارها واقعة قرب المرستيم الأبطي Axillery meristem الذي يحتوي على مناطق مرستيمية أو تمتلك أنسجة متطورة حديثة والتي تكون خلايا سريعة الانقسام Firoozbady and Moy [16]، أو بمعنى آخر تكون الأجزاء المرستيمية في الورقة عند القاعدة إذ ترتبط الصفيحة القاعدية لذا يجب أن تحتوي قواعد الأوراق على جزء من أنسجة الصفيحة القاعدية أو قد تحتوي على مرستيمات بينية عند قواعد العقد التي تحمل الأوراق والتي وجدت مع أجزاء قواعد الأوراق والتي استعملت للزراعة ما أعطى فرصة كبرى لتكوين الكالس وتمايزه [17].

لوحة (2): توضح تأثير تراكيز مختلفة من 2,4-D مع وجود السايتوكاينين BA بتركيز ثابت (0.2 ملغم.لتر$^{-1}$) في تحفيز الكالس الأولي من قواعد الأوراق الفتية في نبات الكاردينيا لمدة أربعة أسابيع في الظلام.

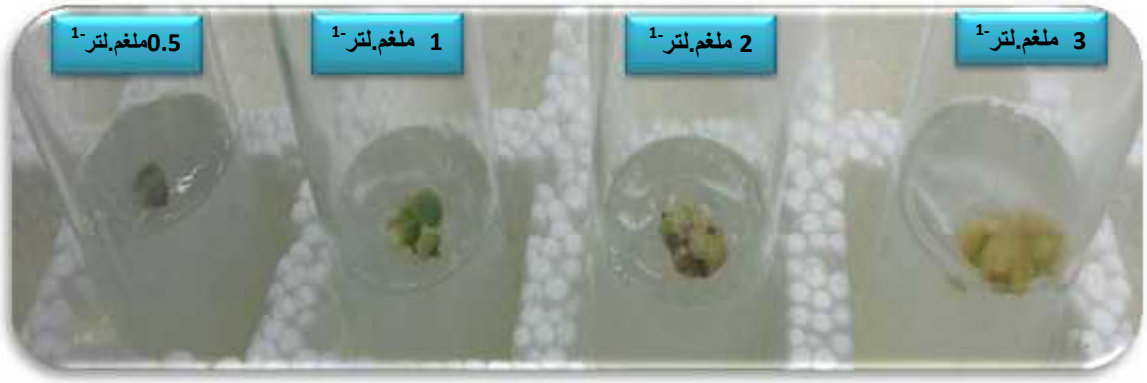
وتوضح النتائج في جدول (1) المدة اللازمة لنشوء الكالس وفي الوسط الغذائي المزود بالأوكسين 2,4-D بتراكيز مختلفة، إذ يلاحظ أن الوسط الغذائي المزود بالاوكسين 2,4-D بتركيز 3 ملغم.لتر$^{-1}$ تفوق معنوياً على الاوساط الغذائية المزودة بالأوكسين 2,4-D بتراكيز 0.5 ،1، 2 ملغم.لتر$^{-1}$، وقلت المدة اللازمة لنشوء الكالس وهي بعد مرور 10.3 أيام ثم ازدادت المدة الازمة لنشوء الكالس مع قلة تركيز الاوكسين 2,4-D في الوسط الغذائي وأعطى التركيز الواطئ من 2,4-D(0.5ملغم.لتر$^{-1}$) أطول مدة زمنية بلغت 17.6 أيام. كذلك تشير النتائج في الجدول نفسه الى النسبة المئوية في استجابة الأجزاء القاعدية من الأوراق الفتية لاستحثاث الكالس، فقد اعطى الوسط الغذائي المزود الآوكسين 2,4-D بتركيز 3 ملغم.لتر$^{-1}$ أعلى نسبة مئوية بلغت 100% وتفوقت معنوياً على النسب جميعها في الأوساط الغذائية جميعها المزودة بالـ2,4-D بتر اكيز 0.5، 1، 2 ملغم.لتر$^{-1}$ ثم بدأت النسب المئوية في استحثاث الكالس بالنتاقص مع قلة تركيز الـ2,4-D في الوسط الغذائي، إذ أعطى التركيز الواطئ من 2,4-D (0.5 ملغم.لتر$^{-1}$)اقل نسبة مئوية للاستجابة بلغت 33.4%، اما الوسطان الغذائيان المزودان الـ2,4-D بالتركيزين 1 و 2 ملغم.لتر$^{-1}$، فقد أعطيا تقريباً النسب المئوية نفسها بلغت 66.6% و 67.2% ولم تكن هناك فروقات معنوية، وقد يعود سبب تفوق الوسط الغذائي المزود الـ2,4-D بتركيز 3 ملغم.لتر$^{-1}$ و BA بتركيز (0.2 ملغم.لتر$^{-1}$) على المعاملات جميعها في إعطاء أكبر كتلة من الكالس وأقل مدة زمنية لنشوء الكالس وكذلك أعطى أعلى نسبة مئوية للاستجابة، الى أن هذا التركيز قد يَعُدَّ التركيز المثالي في هذه التجربة، وبعامّة فإن الأوكسين 2,4-D يَعُدَّ أحد الآوكسينات الأكثر نشاطاً ويعطي استجابة عالية لنشوء الكالس بسبب عمله في انقسام الخلايا واستطالتها Auge [11].

وتتفق هذه النتائج مع ما اشار اليه بعض الباحثين Snyman *et al.* [26]، عبد الفتاح وآخرون[7]، Abd-Elaleem *et al.* [10]، الطائي وباشي[5] ، Mani and Senthil [21]، Naing *et al.*[23]، Mohan Reddy and Saritha [22] والعزاوي[8] حول استحثاث الكالس وأكدوا أن التراكيز 2 و 3 ملغم. لتر$^{-1}$ 2,4- D أعطت أكبر كمية من كتلة الكالس من زراعة قطع الأوراق على نبات قصب السكر وثلاثة أصناف من نبات قصب السكر هي Co331 و Vn84-4137 و Roc-16 وقطع درنات البطاطا وقواعد الأوراق في نبات الكلاديولس وعلى الأوراق والسويقة الجنينية في نبات الداوودي ونبات الآوركيد وقطع أوراق نبات الكاردينيا الطبي *Gardenia latifolia*، على التوالي.

جدول (1): تأثير تراكيز مختلفة من الاوكسين 2,4-D و الـ BA بتركيز ثابت (0.2ملغم.لتر$^{-1}$) في استحثاث الكالس من زراعة قواعد الأوراق الفتية في نبات الكاردينيا صنف "Radicans" بعد مرور أربعة أسابيع في الظلام.

المعاملة 2,4-D ملغم.لتر	الفترة اللازمه لأستحثاث الكالس/يوم	النسبة المئوية % في استحثاث الكالس
0.5	17.6	33.4
1	17.3	66.6
2	14.6	67.2
3	10.3	100.0
R.L.S.D 0.05	0.5	4.1

توضح النتائج في لوحة (3) تأثير الاوكسين 2,4-D بتراكيز 0.5، 1، 2، 3 ملغم.لتر$^{-1}$ مع وجود السايتوكاينين BA بتركيز (0.2ملغم.لتر$^{-1}$) في استحثاث الكالس من زراعة الاجزاء الوسطية من الأوراق الفتية في نبات الكاردينيا بعد مرور أربعة أسابيع في الظلام، إذ يلاحظ تكوين كالس حبيبي الشكل حول الحواف الأربعة (مناطق القطع في الأجزاء الوسطية من الأوراق) وبعد مرور مدة الحضانة غطى الكالس معظم أجزاء القطع الوسطية في الاوساط الغذائية المزودة الـ2,4-D بتراكيز 1 و 2 و3 ملغم.لتر$^{-1}$ إذ ازدادت كتلة الكالس مع زيادة تركيز 2,4-D في الوسط الغذائي وقد أعطى الوسط الغذائي المزود الـ2,4-D بتركيز 3 ملغم.لتر$^{-1}$ أكبر كتلة من الكالس، ثم قلت كمية الكالس مع تناقص تركيز 2,4-D في الوسط الغذائي وصولا الى التركيز الواطئ من 2,4-D (0.5 ملغم.لتر$^{-1}$)، إذ يلاحظ تضخم الجزء الوسطي في الورقة نتيجة امتصاص المواد الغذائية من الوسط الغذائي ولكن لم يُستحث الكالس في هذا الوسط وإنما بقيت الأجزاء الوسطية من الأوراق خضراء اللون ولم يحدث لها تلون بني.



لوحة (3) توضح تأثير تراكيز مختلفة من 2,4-D مع وجود السايتوكاينين BA بتركيز ثابت (0.2 ملغم.لتر$^{-1}$) في تحفيز الكالس الأولي من زراعة القطع الوسطية للأوراق الفتية لنبات الكاردينيا لمدة أربعة أسابيع في الظلام

وتوضح النتائج في جدول(2) أيضاً تاثير الاوكسين بتراكيز 0.5، 1، 2، 3 ملغم.لتر$^{-1}$ في المدة اللازمة لنشوء الكالس وفي النسبة المئوية اللاستجابة، فقد تفوق معنوياً الوسط الغذائي المزود بالاوكسين 2,4-D بتركيز 3 ملغم.لتر$^{-1}$ على بقية المعاملات، إذ قلت المدة الزمنية في نشوء الكالس وبلغت 15.3 أيام وأعطت أعلى نسبة مئوية للاستجابة بلغت 100% في حين أزدادت المدة الزمنية في

نشوء الكالس مع قلة تركيز 2,4-D فيالوسط الغذائي الى أن وصلت نسبة الاستجابة المئوية 0%عند التركيز الواطئ(0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ 2,4-D)، وقد يعود السبب في عدم نشوء الكالس في التركيز الواطئ الى أن هذا التركيز غير فعال في نشوء الكالس من هذه الأجزاء. وتتفق هذه النتائج وما أشار اليه الباحثون Mohan Reddy and Saritha [22] على نبات الكاردينيا الطبي.

جدول (2): تأثير تركيز مختلفة من الاوكسين 2,4-D و الـ BA بتركيز ثابت (0.2ملغم.لتر$^{-1}$) في استحثاث الكالس من زراعة القطع الوسطية للأوراق الفتية في نبات الكاردينيا صنف "Radicans" بعد مرور أربعة أسابيع في الظلام.

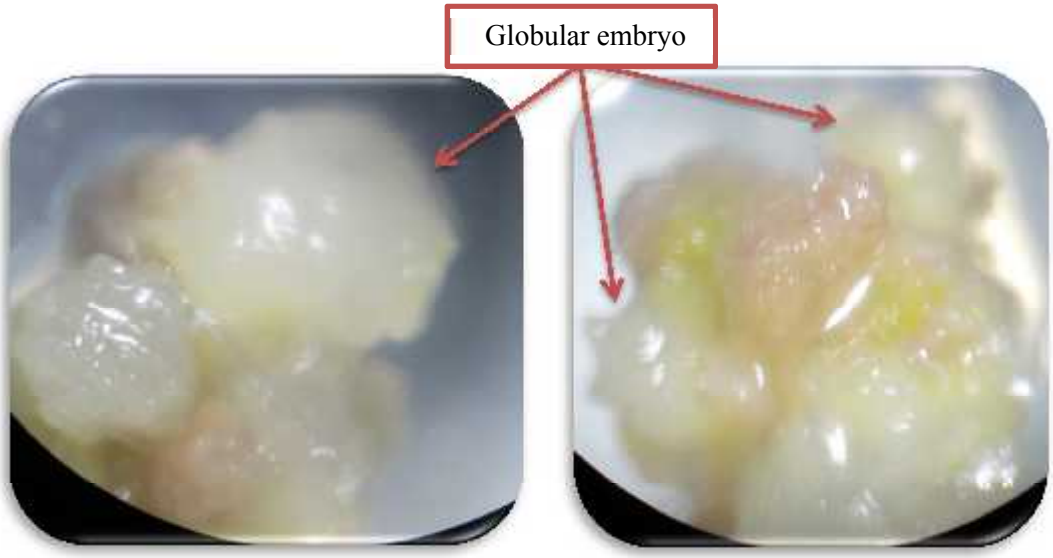
المعاملة 2.4-D ملغم.لتر$^{-1}$	الفترة اللازمة لاستحثاث الكالس/يوم	النسبة المئوية % في استحثاث الكالس
0.5	0	0
1	22.3	33.3
2	20.0	77.7
3	15.3	100.0
R.L.S.D 0.05	0.3	8.9

وتوضح اللوحة (4) عملية إعادة زراعة الكالس الأولي (Reculture) المستحث من زراعة الأجزاء القاعدية والوسطية من الأوراق الفتية في نبات الكاردينيا صنف "Radicans" في الوسط الغذائي المزود بأملاح MS وبالـ 2,4-D بتركيز 3 ملغم.لتر$^{-1}$ مع وجود الـBA بتركيز (0.2) ملغم.لتر$^{-1}$ لمدة أربعة أسابيع في الظلام، وقد يلاحظ من خلال ذلك زيادة في حجم كتلة الكالس الذي يتميز بلونه الأبيض وتحوله الى حبيبات كبيرة الحجم في نهاية مدة الحضانة.

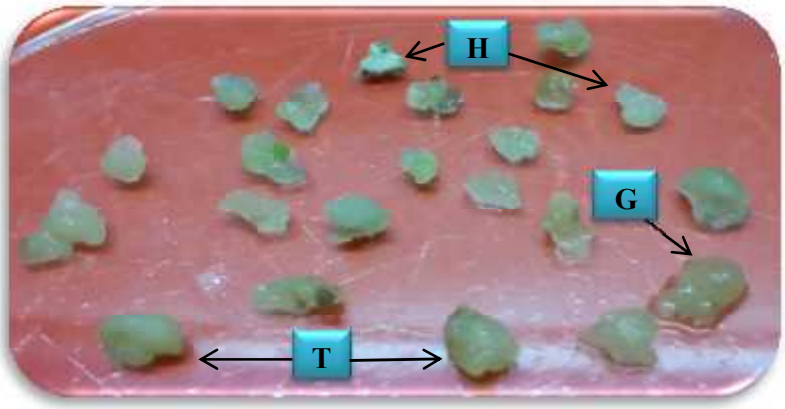
لوحة (4): توضح عملية إعادة الكالس الأولي في الوسط الغذائي المزود بالـ2,4-D بتركيز 3 ملغم.لتر$^{-1}$ مع وجود الـ BA بتركيز 0.2 ملغم.لتر$^{-1}$ وpvp بتركيز 1 غم.لتر$^{-1}$ لمدة أربعة أسابيع في الظلام

ويمكن ملاحظة اتجاهين في هذه التجربة عند استعمال الكالس الأولي المستحث من زراعة الأجزاء القاعدية والوسطية من الأوراق الفتية في نبات الكاردينيا في الوسط الغذائي المزود بتراكيز مختلفة من2,4-D مع وجود الـBA بتركيز ثابت (0.2 ملغم.لتر$^{-1}$)، الاتجاه الأول هو استمرار زراعة جزء من الكالس الأولي في الوسط الغذائي المزود

بالـ2,4-D بتركيز 3 ملغم.لتر$^{-1}$ مع وجود الـ BA بتركيز 0.2 ملغم.لتر$^{-1}$ ولمدة ثمانية أسابيع في الضوء، وتوضح النتائج في لوحة (5) ظهور العقد الجنينية بطورها الكروي، بيضاء اللون إذ ظهرت بعض الأجنة صغيرة متميزة بلونها الأخضر دلالة على تطورها الى المرحلة النهائية (الطور الفلقي Cotyledonary shape) بعد مرور 16 أسبوعاً من بداية زراعة القطع القاعدية والوسطية من الأوراق الفتية من نبات الكاردينيا عن طريق مشاهدتها تحت المجهرالألكتروني، وقد يعود السبب في ظهور أجنة بدائية Primary embryos الى أن الوسط الغذائي الغني بالأوكسين 2,4-D ساعد على تحفيز أنسجة الكالس وتخصصها الى عقد جنينية Williams and Maheswarn [28] كذلك اكد Kulkarni[18] أن استمرارية وجود الأوكسين 2,4-D في الوسط الغذائي مهم لعملية تكوين الأجنة وانباتها، توضح اللوحة (6) تفكيك الكالس الجنيني في طبق بتري، إذ يلاحظ زيادة حجم الخلايا وتخصص هذه الخلايا المرستيمية الى عقد جنينية في أطوار مختلفة (الكروي والقلبي والطوربيدي Globular, heart and Torpedo shape) وهذا ما أكده الباحثان Mohan Reddy and Saritha [22] حول الزيادة في حجم خلايا الكالس وتخصصه الى عقد جنينية في أطواره المختلفة في الوسط الغذائي المزود بالاوكسين 2,4-D.



لوحة (5): توضح ظهور العقد الجنينية بطورها الكروي الابيض اللون في الوسط الغذائي المزود الـ2,4-D بتركيز 3 ملغم.لتر$^{-1}$ مع وجود الـ BA بتركيز 0.2 ملغم.لتر$^{-1}$ وظهور أجنة خضراء صغيرة بينها متميزة بلونها الأخضر من بداية زراعة القطع القاعدية والوسطية في الأوراق الفتية من نبات الكاردينيا بعد مرور 16 أسبوعاً في الضوء.



لوحة (6): زيادة في حجم الخلايا وتخصص هذه الخلايا المرستيمية الى عقد جنينية مختلفة الاحجام في الطور الكروي والقلبي والطوربيدي Globular , Heart and Torpedo shape.

وتتفق هذه النتائج وما أشار اليه Snyman *et al.* [26] حول تكوين الأجنة الخضرية من إعادة زراعة كالس اوراق قصب السكر في وسط غذائي مزود الـ2,4-D بتركيز 3 ملغم.لتر$^{-1}$ بعد مرور 8-12 اسبوع وكذلك اتفقت مع Naing *et al.* [24] إذ اكدوا أن الوسط الغذائي المزود بالـ 2,4-D بتركيز 3 ملغم.لتر$^{-1}$ متداخلاً مع الـBA بتركيز 1ملغم.لتر$^{-1}$ والفحم المنشط بتركيز 3 ملغم.لتر$^{-1}$ من خلال دراستهم الميكروسكوبية أن الكالس العقدي القديم Gluster old callus هو الذي يكون أجنة جسمية، واتفقت مع Mohan Reddy and Saritha [22] أيضاً حول زيادة حجم الخلايا وتحولها الى عقد جنينية من كالس مستحث من أوراق نبات *Gardenia latifolia* في وسط مزود بالـ2,4-D. اما الاتجاه الثاني في هذه التجربة، نقل الجزء الآخر من الكالس النامي في الوسط الغذائي MS المزود بالـ 2,4-D بتركيز 3 ملغم.لتر$^{-1}$ مع BA بتركيز (0.2 ملغم.لتر$^{-1}$) وبعمر ثمانية أسابيع الى وسطين غذائين أحدهما مزود الـBA بتركيز 3 ملغم.لتر$^{-1}$ والأخر 5 ملغم.لتر$^{-1}$ مع وجود 2,4-D بتركيز ثابت (0.2 ملغم.لتر$^{-1}$) ولمدة ثمانية أسابيع في الضوء، إذ بدأ الكالس بالتفصص وأصبح أكثر تفككاًواخضرار اً في الأسبوع الرابع من زراعة الكالس (لوحة 7)، ثم تشكلت هذه الفصوص على هيأة نتوءات خضراء اللون صغيرة بعدها تميزت الى أفرع عرضية دقيقة جداً لاتحصى في نهاية مدة التحضين (لوحة 8)، ويلاحظ أنَّ الأفرع العرضية المتكونة من الكالس المستحث من قطع الاوراق الفتية (الوسطية والقاعدية) لم تتكون في الوسطين في الوقت نفسه، إذ بدأت الأفرع العرضية بالتكوين في الوسط الغذائي المزود الـBA بتركيز 5 ملغم.لتر$^{-1}$ مع الـ2,4-D بتركيز (0.2 ملغم.لتر$^{-1}$) قبل تكوين الأفرع العرضية في الوسط الغذائي المزود بـBA بتركيز 3 ملغم.لتر$^{-1}$ بمدة 4-5 أيام وكانت أكثر تفككاً ووضوحاًوتميز اً، وقد يعود السبب في ذلك الى إنَّ هذا التركيز (5 ملغم.لتر$^{-1}$ BA) يَعُدَّ التركيز المثالي في عملية نشوء الأفرع العرضية وتمايزها، فضلاً عن

لوحة (7) توضح بدء الكالس بالتفصص وأصبح أكثر تفككاًواخضراراً في الأسبوع الرابع من زراعة الكالس في وسط توليد الأفرع في الضوء

لوحة (8) توضح توليد الأفرع العرضية في الوسط الغذائي المزود بتركيزين 3 و 5 ملغم.لتر $^{-1}$ BA مع وجود 2,4-D بتركيز ثابت (0.2 ملغم.لتر $^{-1}$) لمدة ثمانية أسابيع في الضوء.

ذلك فإن زيادة السايتوكاينينات في الوسط الغذائي لها أهمية كبيرة في تحفيز الأفرع العرضية من خلال تأثيرها على عملية انقسام الخلايا وكذلك الـ دور الآوكسين في انقسام الخلايا وأستطالتها [11]. وهذا ما أكده Zhu *et al.* [29] أن التوليفة بين السايتوكاينين BA بالتراكيز العالية والاوكسين بالتراكيز الواطئة مفيدة لعملية تمايز الأفرع العرضية من الكالس النشط والمستحث من قطع أوراق نبات الشليك وأثبتوا أنَّ الكالس الذي يولد الأفرع العرضية يكون مفصصاً ومفككاً ومخضر اللون.

وتتفق هذه النتائج مع ما أشار اليه Dongmei and wenyu[14]، Srivastava *et al.* [27]، الحمداني وآخرون[1]، غزال وآخرون [9]، Abd-Elaleem *et al.* [10] وSaensouk [25] على نبات الشليك ونبات النارنج *C. aurantifolia* ونبات القديفة ونبات الهوم ودرنات البطاطا ونبات *Cornukaempferia aurantiflora* على التوالي. وعموماً فإن نجاح الأجزاء الورقية (القاعدية والوسطية) في استحثاث الكالس تعتمد على وجود منظمات النمو وعلى قدرة هذه الخلايا على إعادة

التكوين Totipotency للخلايا مقترنة بوجود العوامل الداخلية المتعلقة بالتركيب الوراثي في الخلايا النباتية ومستوى الهرمونات والفيتامينات فضلاً عن توافق الوسط الغذائي و الاضافة الخارجية في منظمات النمو وبالتراكيز الملائمة التي تعزز إنقسام الخلايا في الأجزاء النباتية المختلفة التي تتباين قابليتها اعتماداً على مصدرها، فالأوراق أنتجت الكالس ربما لكونها مواقع رئيسة في بناء العديد من المركبات الضرورية كالهرمونات النباتية التي تَعُدَّ مراكز تجهيز النبات بالغذاء النباتية بفقدان التمايز Dedifferentiation فتتحول الى خلايا مرستيمية مرة آخرى كما يحدث أثناء التئام الجروح Margl *et al.* [21].

2- تأثير تراكيز من السايتوكاينين BA في استحثاث الكالس وتوليد الأفرع العرضية من زراعة الأجزاء القاعدية والوسطية من الأوراق الفتية في نبات الكاردينيا المتقزم صنف "Radicans":

وتوضح النتائج في اللوحة (9) عملية استحثاث الكالس الأولي من زراعة القطع القاعدية في أوراق نبات الكاردينيا صنف ″Radicans″ في الوسط الغذائي MS والمزود بالسايتوكاينين BA بتراكيز 3، 5، 7، 10 ملغم.لتر$^{-1}$ مع وجود NAA بتركيز ثابت (0.2 ملغم.لتر$^{-1}$) بعد مرور أربعة أسابيع في الظلام، وقد لوحظ تكون الكالس عند الجزء القاعدي (رأس المثلث في قاعدة الورقة) بشكل حبيبات صغيرة بيضاء مسمرة متجمعة عند نصل الورقة، ثم بدأت كتلة الكالس بالانقسام وتكوين حبيبات مفككة بيضاء اللون وغطت سطح الأجزاء القاعدية من الورقة جميعها بصورة كاملة عند التركيز 5 ملغم.لتر$^{-1}$ BA في نهاية مدة التحضين، في حين لم يظهر الكالس عند التراكيز الباقية وإنما تلونت باللون البني عند أستمرار بقاء تلك الأجزاء النباتية على الوسط الغذائي نفسه الى نهاية مدة التحضين، إنَّ زيادة تركيز BA حتى بلوغ التركيز المثالي 5 ملغم.لتر$^{-1}$ أدى الى استحثاث في كتلة الكالس وزيادته وقد يعود السبب في ذلك الى حدوث توازن بين الآوكسينات والسايتوكاينينات مع توازن الخلايا الداخلي التي تعمل معاً على تشجيع الانقسام الخلوي واستطالة الخلايا في حين إنَّ التراكيز الواطئة التي أقل من 5 ملغم.لتر$^{-1}$ BA قد تكون أقل من التركيز المثالي في انقسام الخلايا، أما التراكيز العالية (7 و 10 ملغم.لتر$^{-1}$ BA) فقد أدت الى تثبيط استحثاث الكالس وقد يعود ذلك الى أنَّ التراكيز العالية سببت أختلالاً في التوازن بين الآوكسينات والسايتوكاينينات Dodds and Roberts [13]، وإنَّ إطالة بقائها في الوسط سبب تلون الأجزاء النباتية باللون البني وهذا ناتج من آكسدة المواد الفينولية وتكوين الكوانينات التي تعد مواد سامة مثبطة للأنسجة نفسها [19].

لوحة (9): توضح استحثاث الكالس الأولي من زراعة القطع القاعدية في أوراق نبات الكاردينيا "Radicans" في وسط غذائي مزود الـBA بتراكيز مختلفة مع وجود NAA بتركيز ثابت (0.2 ملغم.لتر$^{-1}$) بعد مرور أربعة أسابيع في الظلام.

فضلاً عن ذلك فإن للسايتوكاينيات تأثيرات مهمة في زيادة انقسام الخلايا إذ تعمل على زيادة انقسام الخلايا المرستيمية والخلايا البرنكيمية التي فقدت تخصصها وتحولها الى خلايا مرستيمية ما يؤدي الى زيادة في حجم الأنسجة المختلفة في الأعضاء النباتية سواء كانت متصلة بنبات الأم أم مفصولة ومزروعة في أوساط غذائية معقمة إذ تصل نسبة عدد خلايا النسيج النامي في الوسط الغذائي الحاوي على السايتوكاينين أو الخالي منه الى 30 :1 بعد عدة أيام من الزراعة [12] .

وتتفق هذه النتائج مع ما أشار اليه Srivastava *et al.* [27] عند زراعة الأجزاء النباتية على وسط مزود BA بتركيز 5 ملغم.لتر$^{-1}$ وقد أدى ذلك الى استحثاث الكالس من نبات نومي بصرة، كذلك اتفقت هذه الدراسة مع الحمداني وآخرون [1] إذ أوضحوا أن النسبة المئوية في استجابة تكوين الكالس من قطع سيقان نبات القديفة ازدادت على وسط MS مزود بالـ BA بتركيز 5 ملغم.لتر$^{-1}$ مع وجود 2,4-D بتركيز 0.05 ملغم.لتر$^{-1}$، وكذلك اكدوا غزال وآخرون [9] أن التركيز 5 ملغم.لتر$^{-1}$ من السايتوكاينين Kin متداخلاً مع الاوكسين 2,4-D بتركيز 1 ملغم.لتر$^{-1}$ أعطى أفضل نسبة مئوية لاستحثاث الكالس وأكبر كتلة كالس وكذلك مع Abd-Elaleem *et al.* [10] إذ أوضحوا أن التركيز 5 ملغم.لتر$^{-1}$ من BA أعطى أكبر كتلة من كالس إذ حفّز من قطع درنات البطاطا، وأكدت الطه [6] أيضاً الى استعمال تراكيز مختلفة من BA في استحثاث الكالس من قطع الأوراق القاعدية ولم تتم عملية استحثاث الكالس من الأجزاء الوسطية في أوراق نبات الأناناس.

وقد أعيدت زراعة الكالس (Reculture) على الوسط الغذائي المزود بأملاح MS مع وجود السايتوكاينين BA بتركيز 5 ملغم.لتر$^{-1}$ والآوكسين NAA بتركيز 0.2 ملغم.لتر$^{-1}$ لمدة أربعة أسابيع في الظلام لغرض إكثاره، وقد ازدادت كتلة الكالس مع تلون بعض حبيبات الكالس باللون الأخضر كما في (لوحة، 10).

لوحة (10): توضح إعادة زراعة الكالس الأولي

في الوسط الغذائي MS والمزود الـBA بتركيز 5ملغم.لتر$^{-1}$ والـ NAA بتركيز 0.2 ملغم.لتر$^{-1}$ بعد مرور أربعة أسابيع في الظلام

وتوضح النتائج في اللوحة المكروسكوبية أيضاً (11) توليد الأفرع العرضية من زراعة قطع الكالس الأولي المستحث من قطع الأوراق القاعدية من نبات الكاردينيا في الوسط الغذائي المزود أملاح MS ومكونات الوسط الغذائي السابق نفسها مع وجود BA بتركيزين 1 و 2 ملغم.لتر$^{-1}$ مع وجود NAA بتركيز ثابت 0.2 ملغم.لتر$^{-1}$، إذ يلاحظ ظهور أفرع صغيرة جداً خضراء اللون تغطي أسطح الكالس الأولي بعد مرور ثمانية أسابيع على الحضانة بالضوء.

لوحة (11): توضح توليد الأفرع العرضية في الوسط الغذائي MS والمزود الـBA بتركيزين 1 و2 ملغم.لتر$^{-1}$ مع تركيز ثابت من الـNAA (0.2 ملغم.لتر$^{-1}$) بعد مرور ثمانية أسابيع في الضوء.

وتتفق هذه النيجة مع ما أشارت اليه الطه [6] حول توليد الأفرع العرضية من الكالس المستحث من قطع الأوراق القاعدية في نبات الأناناس في وسط MS والمزود BA بتركيز 1 ملغم.لتر$^{-1}$ ومع وجود NAA بتركيز 0.1 ملغم.لتر$^{-1}$ وكذلك اتفقت مع الرمضان [4] حول توليد الأفرع العرضية من كالس مستحث من الجزء القاعدي من أوراق نبات الشليك على وسط غذائي مزود بـBA بتركيز 2 ملغم.لتر$^{-1}$ مع وجود الـNAA 0.2 ملغم.لتر$^{-1}$.

المصادر

1- الحمداني، قاسم محمود ؛ عمار عمر الأطرقجي ومزاحم قاسم الملاح (2007). تكوين نباتات القديفة *Tagetes patula* بالزراعة النسيجية. مجلة زراعة الرافدين، 35 (2): 20-28.

2- خضر، محمود (2001). نباتات الزينة. مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية منشورات جامعة حلب، كلية الزراعة – سوريا: 180-182.

3- الراوي، خاشع محمود وعبد العزيز محمد خلف الله (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل-العراق، 488 ص.

4- الرمضان، زينب عبد الواحد (2012). اكثار نبات الشليك Duch *Fragaria xananassa* صنفAlbion خارج الجسم الحي. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة البصرة. العراق.

5- الطائي، علاء هاشم يونس وبشار زكي قصاب باشي (2011). إستحداث الكالس وتكوين الأجنة الجسمية من زراعة أجزاء الورقة لنبات الكلاديولس *Gladiolus hybrida*. مجلة زراعة الرافدين، 39(3): 19-27.

6- الطه، هدى عبد الكريم (2012). تأثير معاملات مختلفة في توليد ونمو و أقلمة نبيتات الأناناس المنتجة بزراعة الأنسجة النباتية.1- الإكثار الدقيق من خلال توليد الأفرع العرضية من زراعة قطع اوراق نبيتات الاناناس *Ananascomosus.* L.Merr.cv.Del Monte. مجلة البصرة للعلوم الزراعية،. المجلد 25(1):13-21.

7- عبد الفتاح، عبد العزيز عبد الرحمن وعلاء، صالح الجنابي ووفاء أبراهيم حسن (2004). إكثار قصب السكر بواسطة الزراعة النسيجية. مجلة الزراعة العراقية، مجلد 9(1): 30-38.

8- العرادي، حليمة جبار عبد الرزاق (2013). أثر بعض عوامل الإجهاد وأشعة كاما في إنتخاب نباتات قصب السكر (*Saccharum officinarum* L.) متحملاً للملوحة خارج الجسم الحي. أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة البصرة. العراق.

9- غزال، محمد عبد النبي ؛ حمزة كاظم موسى، ويعقوب نشأت علي (2009). أستخدام تقنية زراعة الأنسجة في إكثار نبات الثوم (*Allium sativum* L.) الصنف المحلي. رسالة ماجستير، كلية التقنية-المسيب.

10- Abd-Elaleem, K. G.; Modawi, R.. S. and Khalafalla, M. M. (2009). Effect of plant growth regulators on callus indduction and plant regeneration in tuber segmant culture of polaro *Solanum tuberosum* L. cultivar Diamant. African Journal of Biotenchnology, 8(11): 2529-2534.

11- Auge, R. (1984). Les phenomenes physiologigueslies alarealisation des culture.

12- Delloloio, R. (2007). Cytokininus determine Arabidopsis root-meristem size by controlling cell differentiation. Curr. Biol., 17: 678-682.

13- Dodds, J. H. and Roberts, L. W. (1995). Experiments in plant tissue culture. Cambridge University. pp. 54-69.

14- Dongmei, Y; Wenyu, H. (1998). Effect of geotyepes and culture factors on shoots induction from leaf explant of strawberry. J. Shen Yang Agriculture University. http://en.Cnki. com.cn/ Articleen/CJFDTOAL.SYNY802.008.htm.

15- Dumanois, C.H.; Godin, B.; Lebofuf, J. and Big, C. (1984). Multplication vegtative *invitro* de *Gardenia jasminoides* Ellis. P. H. M., Review Hort., 249: 19-30.

16- Firoozbady, E. and Moy, Y. (2004). Regeneration of pineapple Plants via somatic embryogenesis and organogenesis, *In vitro* cell. Dav. Bio. Plant, 40: 67-74.

17- Hussey, G. (1980). Totipotancy in tissue explants of some members of the Liliaceae, Iridaceae and Amaryllidaceae. J. Exp. Bot., 26: 7- 9.

18- Kulkarni, S. (1989). Premilling aspects of pulse processing: a review. J. Insti. Engi. (India), 69: 73-76.

19- Maier, V. and Metzlier, D. M. (1965). Quantitative changes in date palm polyphenols and their relation to browning. J. Food Sci., 30: 80-84.

20- Mani, T. and Senthil, K. (2011). Multiplication of chrysanthemum through Somatic Embryogenesis-Asian J. pharm Tech. Vol. 1: Issue 1, Pp: 13-16.

21- Margl, L.; Tei, A.; Gyurjan, I. and Wink, M. (2002). GLC-MS analysis of thiophene derivatives in plant and in *in vitro* culture of *Tagetes patul* a (Asteraceae) Z . Naturforsch, 57: 63-71.

22- Mohan Reddy, Y. and Saritha, K. (2012). Callus induchion and somatic embryogenesis of *Gardenia latifolia* Ait. INTJCURR Sci., 4: 83-89.

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

24- Naing, A. H.; Chung, J. D. and Lim, K. B. (2011). Plant regeneration through indirect somatic emberyogenesis in *Goelogyn cristata* orchid. American Journal of Plant Science, 2: 262-267.

25- Saensouk, P. (2011). Callus induction and plant regeneration from leaf explant of *Cornukaempferia anrantiflora* Mood and Larsen. Pak. J. Bot., 43(5) : 2415-2418.

26- Snyman, S.; Hucket, B.; Botha, F. and Watt, M. (2001). A comparison of direct and indirect somatic emberogenesis the production of trangenic sugarcane. Afr. J. Bot., 62: 105-107.

27- Srivastava, R. K.; Sandhu, A. S. and Neern, S. (2000). *In vitro* plant regeneration of *Citrus aurantifolia* through callus culture. J. Our. Appl. Horti., 2 (1): 28-30.

28- Williams, E.; Maheswarn, G. (1986). Somatic embryogenesis: factors influencing coordinated behaviours of cell as an embryogenic group Annals of Botany, 57: 443-462.

Sinica. Aub., China. http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-DNYX200705010.htm.

29- Zhu, H. S; Pan, D. M; Lin, Y. Z; Zhang, Z. Z. and Wen Q. F. (2007). *In vitro* efficient regeneration system of strawberry. Acta Boreali–Occidentalia

Effect of 2,4-D and BA on Induced Callus, of Somatic Embryos and Adventitious Shoots Regeneration from Leaves Segments Culture of Dwarf *Gardenia jasminoides* Ellis. cv. Radicans

Huda A. Al-Taha* and Lamiaa H. M. Al-Mazine

Department of Horticulture and landscape design, College of Agriculture, University of Basrah, Iraq. *e-mail: tahaaltaha@gmail.com

Abstract: This study was conducted in Plant Tissue Culture Laboratory, Agriculture Collage, Basrah University, Basrah Governorate, Iraq during the period 1/ Mars/ 2014 to 15/ Mars/ 2015. The aims of this study can be summarized to effect the different of concentrations of 2,4-D and BA to induced of callus, somatic embryos and regeneration of Adeventions shoots of dwarf gardenia (*Gardenia jasminoides* Ellis.) cultivar 'Radicans' viaculture of base and middle segament of leaves,The present study has revealed that (a) The abundant primary callus formation (100%) could be achieved only from young leaf segments (basal and middle segments) within 10.3 and 15.3 days in MS medium containing 3 mg/L 2,4-D and 0.2 mg/L BA, and under dark conditions.1) Transferring the primary callus to MS medium enriched with 3mg/L 2,4-D for 8 weeks under light conditions led to induce somatic embryos, that can be identified by their nodular consistency and green color.2) While, shifting the primary callus to MS medium enriched with 3 or 5mg/L BA + 0.2mg/L 2,4-D led to converting the primary callus to compact callus, and at the end of incubation period, small adventitious shoots was generating. (b) Results also showed that white brownish granular callus initiated under dark conditions on the base of the leaf petioles (basal segment) explants grown on MS medium containing 5 mg/L BA+0.2mg/L NAA, then the callus increased to covered whole explant during the end of incubation period. However, adventitious shoots was generated from primary callus when shifted to MS medium fortify with 1 or 2 mg/L BA. Results also revealed that the middle segment of the leaf explants failed to form callus on MS medium containing different concentrations of BA used in this study but they became brown and died.

Key words: 2,4-D, BA, Somatic embryos, regeneration of a deventitious shoot, *Gardenia jasminoides* Ellis. cv. Radicans.