تكوين النباتات من كالس الفلق والسيقان لصنف الخيار (*)

*Cucumis sativus L.*Beita –Alpha-Fi-Hybrid

م. عدنان محمود عبدالله أنسام أحمد سعدون

جامعة الموصل/ كلية التربية

تاريخ تسليم البحث : ٢٠٠٧/١٢/١٠ ؛ تاريخ قبول النشر : ٢٠٠٨/٤/١٧

ملخص البحث :

تم في هذه الدراسة اختبار قابلية تكوين الكالس من أجزاء (فلق ، سيقان ، أوراق وجذور) بادرات الخيار *Cucumis sativus. L* في وسط MS المضاف اليه تراكيز متباينة من NAA أو 2,4-D ومتداخلة مع تراكيز مختلفة من BA ، وكان لقطع الفلق قابلية جيدة على استحداث الكالس في معظم الأوساط المختبرة تليها السيقان ثم الأوراق وفشلت الجذور في ذلك ، وكان الوسط MS المحتوي ٢.٠ ملغم / لتر BA و ١.٠ ملغم / لتر NAA و 2,4-D ملائماً لاستحداث الكالس من أجزاء الفلق (١٠٠%) ، بينما كان الوسط الحاوي على ١.٠ ملغم / لتر لكل من BA و NAA مناسباً في حالة السيقان (٥٧%) ، اظهر الكالس المزروع في الوسط MS المدعم بتراكيز (٠.٠ – ١.٠) ملغم / لتر NAA ومتداخلة مع تراكيز (١.٠– ٤.٠) ملغم / لتر BA قابلية على التمايز وتكوين الأفرع الخضرية ، وامتاز كالس الفلق بكفاءته في تكوين المجاميع الخضرية مقارنة بكالس السيقان وكان الوسط MS المحتوي ٠.١ ملغم/لتر NAA و ٤.٠ ملغم/لتر من BA افضل وسط لتمايز كلا نوعي الكالس، وتمكنت الافرع الخضرية الناتجة من تكوين الجذور في وسط MS الخالي من منظمات النمو وتمكنت مجموعة من النباتات الناتجة من تحمل الظروف البيئية والتكيف عند نقلها إلى التربة .

Plant Formation from Callus of Cotyledons and Stems of *Cucumis sativus. L var* Beita-Alpha-Fi-Hybrid

Adnan M. Abulla **Ansam A. Sa'doon**

University of Mosul / College of Education

Abstract:

This study included the formation of callus from the explants (cotyledons, stems, leaves and roots) of *Cucumis sativus. L* seedlings . MS medium supplemented with various concentration of (NAA or 2,4-D)

(*) البحث مستل من رسالة ماجستير الباحث الثاني .

in combination with different concentration of BA were used . The response of cotyledons explants for callus induction was the best, followed by stems and leaves. MS medium containing 2.0 mg/L BA and 1.0 mg/L NAA or 2,4-D was favorable for callus induction from cotyledon (100%), while the medium containing 1.0 mg/L of NAA and BA was best in sustaining callus formation for stem (57%). The ability of callus for regeneration was tested, in MS medium containing different concentrations (0.0-1.0) mg/L of NAA combining with various concentrations (0.0- 4.0) mg/L of BA, callus of cotyledons showed the best response in comparison with the callus of stems. The best regeneration medium for cotyledons and stems was MS medium with 0.1 mg/L of NAA and 4.0 mg/L of BA . The regenerated stems could form roots in MS free medium ,and the plant which formed were adapted to the environmental conditions .

Women recently has been paid a considerable deal of attention by researchers and writers particularly after the increased arguments about her role in the society; her importance and her equality with man; and to what extent woman should exist in the sectors of everyday work. The Islamic movements paid attention to woman depending on the Islamic concepts of the Glorious Quran and sunna which urge Moslems to take care of woman and to respect her rights and position in the society.

The importance of this research lies in focusing on the stand of the Islamic movements towards woman issues represented by her right in learning and saharing man in politics and public positions. The research includes an introduction and three chapters.

Chapter one deals with the case of woman in the Glorious Quran and sunna, while chapter two deals with woman in the ideologies of modern Islamic pioneers. Chapter three is devoted to shed light on the attitude of the Islamic movements towards issues woman through

teaching her and allowing her to participate in politics represented in her right to take part in the elections, her membership in parlaments in addition to her participation in public positions. The research reached at several findings. The most important of which is that the Islamic movements deals with the issues of woman in terms of their understanding of the Glorious Quran and sunna, and it is agreed that woman must gain her rights in learning and participating in elections. At the same time, Islamic movements have different stands towards her participation in parlaments membership and public positions.

المقدمة

تعد العائلة القرعية Cucurbitaceae والتي تضم نبات الخيار *Cucumis sativus. L* من العوائل النباتية المنتشرة في العالم لأهميتها الاقتصادية والغذائية . أجريت على نباتات هذه العائلة كالخيار (Punja وآخرون ، ١٩٩٠) والقرع (Pal وآخرون ،٢٠٠٧) والرقي (Sultana وآخرون ، ٢٠٠٤) العديد من الدراسات بهدف التعرف إلى مدى استجابتها للزراعة النسيجية ، فقد اشارت عدد من الدراسات إلى ملاءمة اجزاء الفلق لمعظم نباتات العائلة ومنها الخيار لاستحداث الكالس في اوساط تحتوي تراكيز متباينة من منظمات النمو ، وان زيادة تراكيز السايتوكاينينات ادى إلى تمايز الكالس (Kim وآخرون ، ١٩٨٨ ، Novak و Dolezelova ، ١٩٨٢) . اوضحت دراسات Malepszy و Orczyk – Nadolsky(١٩٨٣) ، Malepszyو El-kazzaz،(١٩٩٠) ان إضافة NAA أو 2,4-D إلى الوسط MS شجع اوراق الخيار على تكوين الكالس واستحث الكالس على التمايز عند إضافة ١.٠ ملغم / لتر من BA . كما استحدث الكالس من البراعم الساقية للخيار بوجود 2,4-D (Halder و Gadgll ، ١٩٨٢) في حين تكون الكالس من العقد الساقية لنبات الخيار وتمايز إلى أفرع خضرية عند إضافة BA إلى الوسط الغذائي (Ahmad و Anis ، ٢٠٠٥) ، أشارت دراسة أخرى إلى تحفيز المتوك لأصناف مختلفة من الخيار والتي لوحظ فيها التباين في قابلية متوك الاصناف على استحداث الكالس والتمايز (Kumar وآخرون ، ٢٠٠٣) ، كما تمكنت دراسة أخرى من عزل البروتوبلاست من أوراق الخيار ونجح هذا البروتوبلاست من تكوين الكالس والتمايز (Punja و Raharjo ، ١٩٩٢) . تهدف الدراسة الحالية إلى معرفة قابلية أجزاء نبات الخيار المختلفة على تكوين الكالس خارج الجسم الحي ، واختبار قدرة الكالس المتكون على التمايز للحصول على نباتات خيار كاملة .

المواد وطرائق العمل

(١) الحصول على فلق وبادرات الخيار المعقمة

عقمت بذور الخيار الصنف (Beita – Alpha – Fi-Hybrid) ذات الانتاجية الجيدة والتي تم إدخالها الى العراق حديثاً والتي تم الحصول عليها من السوق المحلي بغمرها في الكحول الاثيلي ٧٠% لمدة دقيقتين تبعها في محلول هايبوكلورات الصوديوم (NaOCl) تركيز ٣% (القاصر التجاري ٦%) لمدة ١٠ دقائق بعدها غسلت بالماء المعقم ثلاث مرات (٣دقائق / مرة) (I.S.T.A، ١٩٧٦) زرعت البذور المعقمة في دوارق زجاجية حجم ١٠٠ مل احتوت ٢٠ مل من وسط MS (Murashige ، Skoog، ١٩٦٢) الصلب الخالي من منظمات النمو بمعدل ٤ بذور / دورق، حفظت العينات في غرفة النمو عند درجة حرارة ٢٥ ± ٢°م لمدة أربعة أيام في ظروف الظلام اعقبها ظروف الإضاءة (١٦ ساعة ضوء / ٨ ساعة ظلام وشدة إضاءة ١٥٠٠ لوكس) وقد اعتمدت البادرات المعقمة بعمر ١٥ يوماً كمصدر للأجزاء النباتية (قطع السيقان والجذور بطول ١ سم وقطع الاوراق بمساحة ٠.٥ سم٢) . ولتهيئة أجزاء الفلق المعقمة ، نقعت البذور المعقمة سطحياً بالماء المعقم مع التحريك لمدة ٣ ساعات بعدها أزيل غلاف البذور وفصلت الفلق عن بعضها وأزيل الجنين بعناية مع أجزاء صغيرة من حواف الفلق ، بعدها غمرت أجزاء الفلق بمحلول هايبوكلورات الصوديوم تركيز ٣% لمدة عشرة دقائق ثم غسلت ثلاث مرات بالماء المعقم ونشرت على اوراق ترشيح معقمة في ظروف معقمة للتخلص من الماء العالق بها (Novak و Dolezelova ، ١٩٨٢).

(٢) أختبار قابلية الاجزاء النباتية على استحداث الكالس.

زرعت الأجزاء النباتية (السيقان ، الأوراق ، الجذور) والمأخوذة من بادرات الخيار المعقمة في دوارق زجاجية سعة ١٠٠مل أحتوت٢٥ مل من وسط MS الصلب المدعم بتراكيز مختلفة من السايتوكاينين BA (٠.٠ ، ٠.٥ ، ١.٠ ، ١.٥ ، ٢.٠ ملغم/لتر) ومتداخلة مع الاوكسينات NAA أو 2,4-D وبالتراكيز ذاتها ، في حين زرعت أجزاء الفلق في وسط MS الصلب المحتوي على NAA او 2,4-D بتراكيز (٠.٠ ، ٠.٥ ، ١.٠ ، ٢.٠، ٣.٠ ملغم / لتر) ومتداخلة مع التراكيز ذاتها من BA بمعدل ٢ قطعة / دورق وبواقع (٥مكررات) لكل معاملة ولجميع المعاملات . أديم الكالس المتكون من أجزاء السيقان في وسط (MS + ١.٠ ملغم / لتر BA + ١.٠ ملغم / لتر NAA) وأديم كالس الفلق في الوسط (MS + ٢.٠ ملغم / لتر BA + ١.٠ ملغم / لتر NAA) كل ٣٥ يوماً .

أستخدم التصميم العشوائي الكامل C.R.D بطريقة التجارب العاملية Factorial بعاملين (٥×٥) (خمسة مستويات من العامل الأول وخمسة مستويات من العامل الثاني) وبخمسة مكررات وحللت التجربة احصائياً بالاعتماد على برنامج SAS باستخدام الحاسوب الالي (البطش ، ١٩٩٤) . وأختبر الفرق المعنوي بين المتوسطات باستعمال اختبار دنكن متعدد الحدود (Duncan ، ١٩٥٥) .

تكوين النباتات الجديدة من تمايز الكالس ونقلها إلى التربة واقلمتها.

تتضمن عملية انتاج النباتات الكاملة مرحلتين ، الأولى تكوين الأفرع الخضرية من تمايز الكالس والثانية تجذير الأفرع الخضرية المتكونة ، وعليه فقد اختبرت قدرة الكالس المستحدث من أجزاء الفلق والسيقان على التمايز بزراعة قطع الكالس (١ غم / قطعة) وبعمر ٣٠ يوماً في دوراق زجاجية احتوت ٣٠ مل من وسط MS الصلب المضاف اليه NAA بتراكيز (٠.٠ ، ٠.١ ، ٠.٥ ، ١.٠ ملغم / لتر) ومتداخلة مع BA بتراكيز (١.٠ ، ٢.٠ ، ٣.٠ ، ٤.٠ ملغم / لتر) وبواقع ٨ قطع كالس لكل معاملة . وقد تم تحليل نتائج هذه التجربة العاملية لعاملين(٤×٤) بالاعتماد على البرنامج الاحصائي ذاته لمعرفة التداخل بين المعاملات.

كما استخدم الوسط MS الخالي من منظمات النمو لحث الأفرع الخضرية المتمايزة على تكوين الجذور . إذ استأصلت الأفرع الخضرية المتكونة ذات الأطوال المناسبة (٢-٤ سم) ونقلت إلى دوراق زجاجية احتوت ٣٠ مل من الوسط . حضنت جميع العينات في غرفة النمو عند ٢٥ ± ٢°م وظروف الإضاءة (١٦ ساعة ضوء / ٨ ظلام) ، بعدها أخذت النباتات ذات المجموعة الجذرية الجيدة من الوسط الغذائي بعناية وغسلت جذورها بالماء الجاري لتخليصها من الوسط وغرست في سنادين بلاستيكية معقمة قطر ١٥ سم وسعة ١ كغم احتوت على مزيج التربة والبتموس المعقمتين بالموصدة بنسبة (٢:١) حجم : حجم . غطيت النباتات بأغطية بلاستيكية شفافة ومثقبة وتركت في ظروف غرفة النمو لمدة ٧ أيام ، بعدها نقلت الى منطقة مضاءة جيداً وعند درجة حرارة المختبر ولمدة ٥ أيام ثم أزيلت الأغطية عنها واستمرت العناية بالنباتات .

النتائج

تكوين مزارع الكالس من أجزاء بادرات الخيار

أتضح من النتائج التباين في قابلية استجابة الأجزاء النباتية (الفلق ، السيقان ، الأوراق والجذور) لاستحداث الكالس في الوسط الزرعي ، تبين أن أجزاء الفلق كانت الأفضل في استحداثها للكالس إذ بلغت النسبة ٦٨.٤% في مجمل الأوساط المختبرة ، تلتها أجزاء السيقان بنسبة استحداث ٥٧% في حين كانت أجزاء الاوراق ضعيفة في استجابتها للاستحداث ١٧.١% وفشلت جميع أجزاء الجذور في تكوين الكالس.

استحداث الكالس من أجزاء الفلق

أظهرت النتائج ان معظم الاوساط المستخدمة كانت ملائمة لتكوين الكالس من الفلق . كما لوحظ زيادة اعداد أجزاء الفلق المستحدثة للكالس مع زيادة تراكيز NAA أو 2,4-D في الوسط الغذائي (الجدول ١) . يبين التحليل الاحصائي ان تأثير العوامل BA، NAA ، 2,4-D مستقلة كانت معنوية،وكذلك تأثير التداخل بين مستويات BA مع NAA أو 2,4-D كان معنوياً . عند مستوى احتمال ٠.٠٥ . وكان الوسط MS المدعم بـ ٢.٠ ملغم/ لتر BA و ١.٠ ملغم / لتر NAA من الاوساط الجيدة في سرعة استحداثه للكالس واعطائه نسبة استحداث ١٠٠% ، إذ تحولت أجزاء الفلق إلى كالس بعد مرور ٢٥ يوماً وامتاز الكالس بلونه الأصفر الفاتح وبنيته الهشة وعدم تكوين الجذور من الكالس المستحدث على هذا الوسط (الشكل ١-A). لم يؤدِ إضافة 2,4-D بدلاً من NAA وتداخله مع BA إلى فروقات واضحة في نسبة استحداث الكالس ، الا أن نشوء الكالس ونموه كان أسرع في الاوساط الحاوية على 2,4-D ، اذ تحولت أجزاء الفلق كلياً إلى كالس خلال ٢٠ يوماً وامتاز الكالس ببنيته المتماسكة . وعلى الرغم من أن معظم الاوساط الحاوية على تراكيز ٢.٠ و ٣.٠ ملغم/ لتر NAA أو 2,4-D اعطت نسبة استحداث ١٠٠% من أجزاء الفلق ، الا أنها اهملت بسبب تكون الجذور وبشكل غزير من الكالس المتكون .

استحداث الكالس من أجزاء السيقان

بينت نتائج زراعة أجزاء سيقان بادرات الخيار على وسط MS الصلب المضاف اليه تراكيز مختلفة من NAA او 2,4-D ومتداخلة مع تراكيز من BA ، ان معظم الاوساط المختبرة كانت مناسبة لاستحداث الكالس من السيقان ، وان اعلى نسبة استحداث اظهرتها السيقان بلغت ١٠٠% وأقلها ١٠% (الجدول ٢) . أظهر التحليل الاحصائي ان تأثير العوامل BA ، NAA ، 2,4-D مستقلة كانت معنوية وكذلك التداخلات بين BA مع NAA أو

2,4-D كانت معنوية عند مستوى احتمال ٠.٠٥ . لوحظ من النتائج زيادة في نسبة الاستحداث والتي كانت متناسبة مع زيادة تراكيز منظمات النمو في الوسط ، وقد استغرقت قطعة الساق المزروعة على وسط (MS + ١.٠ ملغم / لتر لكل من NAA و BA) أربعة أسابيع لتتحول كلياً إلى كالس والذي امتاز بلونه الكريمي وبنيته الهشة (الشكل ١ – B) ، في حين كانت المدة اللازمة ٢٠ يوماً في الاوساط المضاف اليها 2,4-D ، وكان الكالس بلون أصفر وبنية متماسكة . اعتمد الوسط (MS + ١.٠ ملغم / لتر NAA و ١.٠ ملغم / لتر BA) في نمو وإدامة كالس السيقان بسبب حث أجزاء السيقان على استحداث الكالس السريع والنمو الجيد فضلاً عن عدم تكون الجذور في الكالس .

تكوين الأفرع الخضرية من كالس الفلق والسيقان

أظهرت نتائج (الجدول ٣) ان كالس الفلق والسيقان المزروع على أوساط التمايز المتكونة من الوسط MS المدعم بمستويات متباينة ومتداخلة من منظمات النمو (NAA و BA) ، له القابلية الجيدة على تكوين الأفرع الخضرية والتي بلغت نسبتها ١٣٨ % في حالة كالس الفلق في حين كانت كفاءة كالس السيقان على التمايز أقل . وبلغت نسبتها في مجمل الاوساط المختبرة ٦٨.٧% .

كما يلاحظ من الجدول زيادة في اعداد الأفرع الخضرية المتكونة والتي تناسبت مع زيادة تراكيز BA في الوسط ، وكانت الاوساط المحتوية على ٣.٠ و ٤.٠ ملغم / لتر من BA الأفضل في حثها الكالس على التمايز . وأمتاز الوسط (MS + ٤.٠ ملغم / لتر BA و٠.١ ملغم / لتر NAA بأفضلية في تكوين الأفرع الخضرية في كلا نوعي الكالس ، إذ بلغت النسبة ٣٥٠% في حالة الفلق واستطاعت عدد من قطع الكالس المزروعة على هذا الوسط من تكوين ٤–٥ أفرع خضرية (الشكل ١– C) . كما لوحظ تكون جذور سميكة وبيضاء في عدد من الافرع الخضرية بعد مرور اكثر من ٢٥ يوماً على التمايز . في حين كانت النسبة ١٣٧% من كالس السيقان ولم تستطع أي من قطع كالس السيقان أن تكون أكثر من فرعين خضريين (الشكل ١– D) وكانت المدة الزمنية اللازمة لتكوين الأفرع الخضرية في كالس الفلق ٣٠ يوماً بينما تباعدت الى ٤٠ يوماً في حالة السيقان. أظهر التحليل الاحصائي ان تأثير العامل NAA بشكل منفرد وفي حالة السيقان فقط كان غير معنوي عند مستوى احتمال ٠.٠٥، بينما كانت بقية التداخلات معنوية . وعلى الرغم من تجاوز نسبة تكوين الأفرع الخضرية ١٠٠% في العديد من أوساط التمايز المختبرة وبالذات تلك الحاوية على تراكيز ٣.٠ و ٤.٠ ملغم / لتر BA ولكلا نوعي الكالس ، الا ان النتائج تشير إلى أفضلية كالس الفلق على التمايز وتكوين افرع خضرية مقارنة بكالس السيقان .

الجدول (٣) تكوين الأفرع الخضرية من كالس الفلق والسيقان في أوساط MS الصلبة المضاف إليها تراكيز مختلفة من NAA وBA

BA (ملغم / لتر)	العدد الكلي للأفرع الخضرية المتكونة الأفرع الخضرية %									
	الفلق					السيقان				
	NAA (ملغم / لتر)				المعدل	NAA (ملغم / لتر)				المعدل
	٠.٠	٠.١	٠.٥	١.٠		٠.٠	٠.١	٠.٥	١.٠	
١.٠	١ ١٢ e	٤ ٥٠ E	٣ ٣٧ e	١ ١٢ e	٢.٢٥ d	٠ ٠ e	٠ ٠ e	١ ١٢ de	٠ ٠ e	٠.٢٥ d
٢.٠	6 75 e	٥ ٦٢ E	5 2٦ e	٢ ٢٥ e	٤.٥٠ c	٣ ٣٧ b-e	٣ ٣٧ b-e	٧ ٨٧ abc	٢ ٢٥ cde	٣.٧٥ c
٣.٠	١١ ١٣٧ d	١٩ ٢٣٧ Bc	١٧ ٢١٢ c	١٦ ٢٠٠ c	١٥.٧٥ b	8 ١٠٠ ab	10 ١٢٥ a	9 ١١٢ a	٦ ٧٥ a-d	25.8 b
٤.٠	17 ٢١٢ c	28 ٣٥٠ A	٢٣ ٢٨٧ b	١٩ ٢٣٧ bc	١٩.٢٥ a	١٠ ١٢٥ a	١١ ١٣٧ a	٩ ١١٢ a	٩ ١١٢ a	٩.٧٥ a
المعدل	٨.٧٥ d	١٤.٠ A	12 b	٩.٥ c		٥.٢٥	٦	٦.٥	٤.٢٥	

* تأثير العامل (BA) مستقل كان معنوياً عند مستوى احتمال ٠.٠٥

* تأثير العامل (NAA) مستقل في حالة الفلق معنوياً عند مستوى احتمال ٠.٠٥ .

تأثير العامل (NAA) مستقل في حالة السيقان غير معنوي

* تأثير التداخل بين (BA و NAA) في كلا الحالتين معنوياً عند مستوى احتمال ٠.٠٥ .

تجذير وأقلمة الأفرع الخضرية المتكونة من الكالس وصفاتها المظهرية

أبدت الأفرع الخضرية الناتجة من كالس الفلق والسيقان كفاءة وسهولة في تكوين الجذور في وسط MS الصلب الخالي من منظمات النمو (الشكل ١-E) وبلغت نسبة التجذير في الأفرع الناتجة من الفلق ٩٠% في حين كانت ٧٨% في كالس السيقان (الجدول٤). ولم تظهر الأفرع الخضرية لكلا نوعي الكالس أية فروقات في عدد الجذور وسرعة تكوينها . واستطاعت عدد من النباتات المتكونة من تحمل ظروف البيئة والتأقلم عند نقلها إلى التربة (الشكل ١-F) . كما لم تلاحظ فروقات واضحة عند مقارنة النباتات الناتجة من الكالس وتلك الناتجة من البذور في صفات معدل (عدد الأوراق ، عدد الأفرع ، عدد الأزهار) في حين كان الفرق واضحاً في صفة ارتفاع النبات ، حيث كان معدل أطوال ٦ نباتات ناتجة من الكالس ١٦.٥ سم بينما كانت ٢٩ سم في النباتات الناتجة من البذور .

الجدول (٤) تجذير الأفرع الخضرية الناتجة من كالس الفلق والسيقان لبادرات الخيار في وسط MS الخالي من منظمات النمو

مصدر الأفرع الخضرية	عدد الأفرع الخضرية المنقولة للتجذير	عدد الأفرع الخضرية المجذرة	التجذير (%)
كالس الفلق	٥٢	٤٧	٩٠
كالس السيقان	٣٧	٢٩	٧٨

المناقشة

أهتمت معظم الدراسات التي استخدمت فيها تقنيات الزراعة النسيجية في نباتات العائلة القرعية على الاكثار السلالي وتكوين المجاميع الخضرية من الاجزاء المختلفة للنبات بمرحلة واحدة دون المرور بمرحلة الكالس كما حدث في فلق نبات البطيخ (Stipp وآخرون ٢٠٠١) وأوراق الرقي (Sultanaوآخرون ٢٠٠٤) ومن العقد الساقية للخيار (Ahmad و Anis ، ٢٠٠٥) . في حين تبين قلة الدراسات التي تشير الى تكوين الكالس من نباتات هذه العائلة . فقد أشير الى تكون الكالس من سيقان القرع (Pal وآخرون ،٢٠٠٧) وفلق الرقي (Compton وآخرون ، ٢٠٠٤) وكذلك من البراعم الطرفية لنبات الخيار (Halder و Gadgll ، ١٩٨٢) ، وعليه فقد أهتمت الدراسة الحالية بمحاولة استحداث الكالس من الاجزاء المختلفة لنبات الخيار وامكانية تمايزه للحصول على نباتات كاملة .

بينت نتائج الدراسة أن اجزاء الفلق والسيقان كانت كفوءة في استجابتها لتكوين الكالس مقارن بأجزاء الاوراق والجذور. إذ اعطت نسبة استحداث ١٠٠% في وسط MS الحاوي على ٠.٥-٣.٠ ملغم / لتر من BA والمتداخلة مع التراكيز ذاتها من NAA أو 2,4-D . الا ان استحداث الكالس في الاوساط الحاوية على 2,4-D كان أسرع من تلك الحاوية على NAA ، وهذا يؤكد ان استحداث الكالس من نبات الخيار لا يعتمد على نوع الجزء النباتي المستخدم مقترنة بمحتواه الداخلي من منظمات النمو فحسب وأنما على المضاف منها الى الوسط الغذائي . فقد اشارت عدد من الدراسات الى التباين في استحداث الكالس من اجزاء نبات الخيار حيث ذكر Ragiaselcaran وآخرون (١٩٨٣) ملائمة الوسط MS المحتوي على ٠.١ ملغم/ لتر NAA و ٢.٠ ملغم /لتر BA في تكوين الكالس من السيقان تحت الفلقية، في حين كان الوسط ذاته المدعم بـ ٢.٥ ملغم / لتر NAA أو 2,4-D مع ١.٠ ملغم / لتر مناسباً لاستحداث الكالس من الاوراق (Malepszy و Naddsky-Orczyk ، ١٩٨٣) . وقد يكون سبب الاستجابة العالية لاجزاء الفلق والسيقان الى احتوائها على مجاميع معينة من الخلايا التي لها القدرة على الانقسام بمعدلات عالية وتكوين الكالس . لوحظ تكون الكالس الهش وبالذات في حالة الفلق عند إضافة NAA والمتماسك في حالة 2,4-D ، فقد أشارت دراسة Sekioka و Tanaka (١٩٨١) على نبات الخيار الى هذه الحالة ، وقد يكون سبب الاختلاف في بنية الكالس الى انواع منظمات النمو المضافة وتراكيزها ، حيث أشير الى أن نمو وشكل وبنية الكالس يتأثران بمكونات الوسط وأنواع وتراكيز منظمات النمو المضافة (Novak و Dolezelova ، ١٩٨٢) .

ان تكوين المجاميع الخضرية من الكالس يعد خطوة اساسية في تكامل نظام انتاج نباتات جديدة بتقنية الزراعة النسيجية ، بينت النتائج القابلية العالية لكالس الفلق على تكوين الافرع الخضرية مقارنة بكالس السيقان ، كما لوحظ ان تمايز كلا نوعي الكالس تطلب إضافة تراكيز عالية نسبياً من BA ، وكان الوسط MS المحتوي على ٤.٠ ملغم/لتر BA و ٠.١ ملغم/لتر NAA الافضل في حث الكالس على التمايز باعطائه نسبة ٣٥٠ و ١٣٧ % لكل من الفلق والسيقان على التوالي وهذا يؤكد ملائمة الوسط MS ومنظمات النمو BA و NAA في تمايز كالس الخيار . وقد أشارت العديد من الدراسات الى التأثير المحفز لهذه المنظمات في تمايز كالس فلق البطيخ (Chee ،١٩٩١) والقرع (Pal وآخرون ، ٢٠٠٧) وكالس سيقان الخيار(Gambley و Dood،١٩٩٠) وفي بروتوبلاست أوراق الخيار (Punja و Raharjo ، ١٩٩٢) . في حين اشار Sekioka و Tanaka (١٩٨١) الى ملائمةKinetin و NAA في تكوين المجاميع الخضرية من كالس أوراق الخيار . وقد يعزى التباين في قابلية تمايز كالس الفلق والسيقان الى نوعية الكالس ومصدره وأنواع وتراكيز منظمات النمو المستخدمة وتداخلها مع

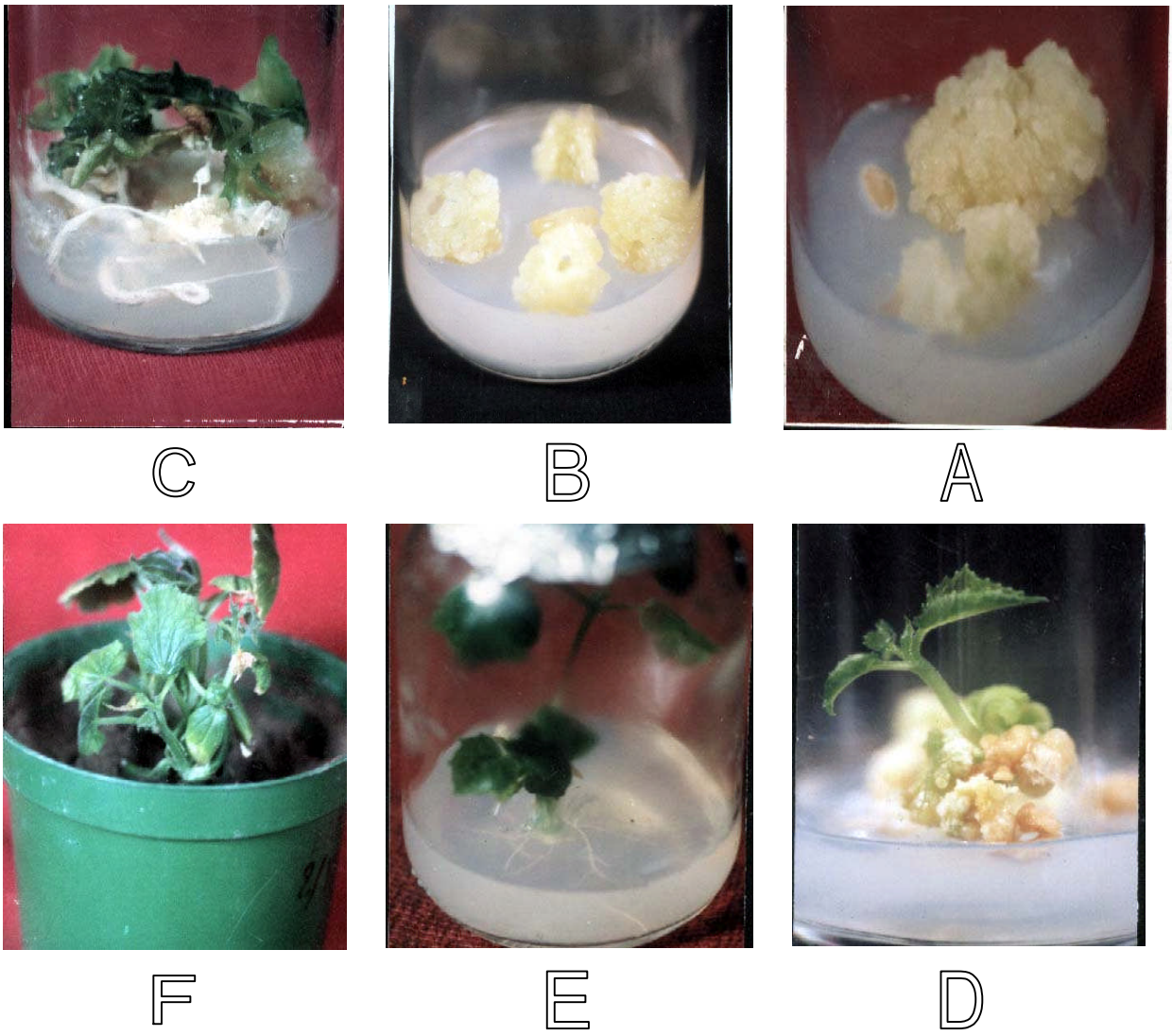
مستواها الداخلي في خلايا الجزء النباتي (Novak و Delezelova ، ١٩٨٢). تبين ان الوسط MS الخالي من منظمات النمو كان مناسباً في حث الافرع الخضرية المتكونة على التجذير فقد أشارت دراسة Stipp وآخرون (٢٠٠١) في نبات البطيخ الى نتائج مشابهة . في حين ذكر Ahmad و Anis (٢٠٠٥) ضرورة إضافة ١.٠ ملغم / لتر NAA لتجذير الافرع الخضرية للخيار . وقد تعود قابلية التجذير للأفرع الخضرية في الوسط الخالي من منظمات النمو الى المحتوى الداخلي العالي من الاوكسين في الأفرع الناتجة مما حفزها على تكوين الجذور . ويكتمل نجاح الزراعة النسيجية عادة بنقل النباتات الناتجة الى التربة ، فقد أبدت نباتات الخيار المتكونة كفاءة على التأقلم للظروف البيئية الطبيعية أسوة بالعديد من نباتات هذه العائلة الناتجة من الزراعة النسيجية كالرقي والقرع (Sultana وآخرون ،٢٠٠٤ ، Urbanek وآخرون ، ٢٠٠٥) . وعليه تعتبر الدراسة المتحققة والنتائج التي توصلت اليها خطوة إضافية في مجال الزراعة النسيجية لهذا النبات .

المصادر

- البطش، محمد وليد وخالد العجلوني (١٩٩٤) دليل الباحث في استخدام الحاسب في التحليل الاحصائي.ج١،الرزمة الاحصائية ساس (SAS) .الجامعة الاردنية،ص ١٢٠.
- Ahmad , N. and Anis , M. (2005) . *In Vitro* mass propagation of *Cucumis sativus L.* from nodal segments . Tuk.Bot., 29: 237-240.
- Chee, P.P.(1991) Plant regeneration from cotyledons of *Cucumis melo*. Topmark. Hort. Sci. 26:908-910 .
- Compton, M.E; Gray, D.J; Gaba, V.P.(2004) . Use of tissue culture and biotechnology for the genetic improvement of watermelon. Plant Cell Tiss. Org. Cult.77: 231-243.
- Duncan,D.(1955).Multiple range and multiple F.test.Biometric 11:1-2.
- Gambley , Rl. and Dood , W.A. (1990) . An *In vitro* technique for the production of de novo multiple shoots in cotyledon explants of cucumber (*Cucumis sativus L.*) Plant Cell Tiss. Org. Cult. 20:177-183.
- Halder, T.and Gadgll, V.N.(1982) . Shoot bud differentiation in long-term callus cultures of momordia and cucumis. Ind. Exp. Biol., 20:780-782.
- I.S.T.A.(1976) Proceeding of the international Seed Testing Association . International Rules for Seed Testing.Wageningen. Netherlands.
- Kim , S.G.; Chang, J.R.; Cha, H.C. and Lee , K.W.(1988) . Callus growth and plant regeneration in diverse cultivars of cucumber (*Cucumis sativus L.*) Plant Cell Tiss. Org. Cult. 12:67-74.
- Kumar, H.G.A; Murthy, H.N. and peak , K.Y(2003) Embryogenesis and plant regeneration from anther cultures of *Cucumis sativus L.* Sci. Hort. 98 : 213-222.
- Malepszy, S, and El-Kazzaz, A. (1990) *In Vitro* culture of *Cucumis sativus* ,Selection to *Fusarium oxysporum*. Acta Hort. 280: 455-458.

- Malepszy, S.; and Nadolsky-Orczyk, A. (1983) . *In Vitro* culture of *Cucumis sativus L.* regeneration of plantlets from callus formed by leaf explants. Phytopathology Z., 111 : 273-276.
- Murashige , T. and Skoog , (1962) . A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant 15: 473-497.
- Novak , F.J. and Dolezelova , M.(1982) . Hormone control of growth and differentiation in the *In Vitro* cultured tissue of cucumber (*Cucumis sativus L.*) Biologa, 37:283-290.
- Pal, S.P., Alam, I.; Anisuzzaman , M.; Sarker, K.K; Sharmin , S.A; Alam, M.F.(2007).Indirect organogenesis in summer squash (Cucurbita pepel) .Turk.J. Agric . 31:63-70.
- Punja , Z.K. and Raharjo, S.H.T. (1992) . Regeneration of Plants from protoplasts of *Cucumis sativus L.* In. Bajaj Yps (Ed) plant Protoplast and Genetic Engineering . Vol. 3. Springer – Verlag Berlin .
- Punja,Z.K.; Abbas, N.; Sarmento , G.G. and Tang, F.A.(1990) . Regeneration of *Cucumis sativus* var hardwic kii, *C.melo*, and *C. metuliferus* from explants through somatic embryogensis and organogenesis influence of explant source, growth regulator regime and genotype. Plant Cell , Tiss. Org. Cult., 21:93-102.
- Ragiasekaran, K. : Mullins, M.G.and Nair, Y (1983) . Plant formation *In Vitro* by hypocotyl explants of *cucumber*(*Cucumis sativus L.*) Ann-Bot., 52-417.
- Sekioka, T.T. and Tanaka , J.S. (1981) . Differentiation in callus cultures of cucumber (*Cucumis sativus L.*) Hort.Sci, 16:451-455.
- Stipp,L.C; Mendes , B.M.; Piedade, S.M.; Rodriguz, A.P.(2001) *In Vitro* morphgenesis of *Cucumis melo* . Plant Cell Tiss. Org. Cult. 65:81-89.

- Sultana, R.S.; Bari , M.A.; Rahman , H.H.; Rahman , M.M.; Siddique , N.A.and Khatun , N.(2004) . *In vitro* rapid regeneration of plantlets from leaf explant of water melon (*Citrullus lanatus* Thumb.) Biotechnology , 3:131-135 .
- Urbanek, A.; Zechmann, B. and Muller, M. (2005) . Plant regeneration via somatic embryogenesis in styrian pumpkin cytological and biochemical investigation . Plant Cell Tiss. Org. Cult., 79:329-340.



الشكل (١) تكوين نباتات الخيار من كالس الفلق والسيقان

A . الكالس المتكون من أجزاء فلق الخيار بعمر ٣٠ يوماً في وسط MS + ٢.٠ ملغم / لتر BA + ١.٠ ملغم / لتر NAA .

B . الكالس المتكون من اجزاء السيقان بعمر ٣٠ يوماً في وسط MS + ١.٠ ملغم / لتر BA + ١.٠ ملغم / لتر NAA .

C . تمايز كالس الفلق في وسط (MS + ٤.٠ ملغم / لتر BA + ٠.١ ملغم / لتر NAA). تلاحظ الجذور السميكة المتعمقة .

D . تمايز كالس السيقان في وسط التمايز ذاته .

E . تجذير الأفرع الخضرية الناتجة في وسط MS الصلب الخالي من منظمات النمو.

F . نبات الخيار الكامل بعد نقله إلى التربة .