مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية
مجلد 42 العدد 2(2026): 199-212

Damascus University Journal for Agricultural Sciences Vol 42-No.2 (2026): 199-212

تأثير الطراز والوسط المغذي في استحداث الكالوس من مآبر بعض الطرز المحلية للقرنبيط (Brassica oleracea var botrytis.L)

سمية أحمد جبل[1*]، رمزي فهد مرشد[2]، أسامة حسين العبد الله[3]

1- طالبة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة دمشق. sumaya3.ja@damascusuniversity.edu.sy

2- أستاذ دكتور، تربية الخضار باستخدام التقانات الحيوية، كلية الزراعة، جامعة دمشق.
Ramzi2022.murshed@ damascusuniversity.edu.sy

3- باحث رئيسي، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، التحسين الوراثي لمحاصيل الخضار.

الملخص:

نفذ البحث في محطة بحوث الغوطة التابعة للهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية / دمشق، وفي مخبر التقانات الحيوية النباتية التابع للهيئة العامة للتقانات الحيوية – وزارة التعليم العالي/ دمشق خلال الفترة 2021-2023، وذلك بهدف استحداث الكالوس من زراعة المآبر لثلاثة طرز من القرنبيط المحلي(J-K-D) تم جمعها من منطقة ريف دمشق (دوما، كفرسوسة، جديدة عرطوز). حيث زرعت المآبر باستخدام الوسط المغذيMS مضافاً إليه تراكيز مختلفة من منظمات النمو النباتية من الأوكسين 2,4-D (0، 0.3، و0.5 ملغ/ ل) ومن الستوكينين BAP (0، 1، و2 ملغ/ ل). أظهرت النتائج تفوق الطراز K معنوياً في متوسط عدد الأيام لبدء تحفيز الكالوس (8.39 يوماً) وفي متوسط عدد الأيام لتشكل الكالوس (11.38 يوماً)، وسجل الوسط MS3 أقل متوسط لعدد الأيام اللازمة لبدء تحفيز الكالوس (12.19 يوماً) وأقل متوسط لعدد الأيام اللازمة لبدء تشكل الكالوس (15.83 يوماً) وبفروق معنوية مع الأوساط الأخرى، وسجل الطراز J أعلى متوسط لعدد كتل الكالوس المتشكلة (10.94كتلة) وبفروق معنوية مع الطرز الأخرى، كما أعطى الوسطين MS1 وMS2 أعلى متوسط لعدد كتل الكالوس (9.92، و9.33، كتلة، على التوالي) وبفرق معنوي مع الوسط MS3 (6.83 كتلة)، وسجل متوسط نسبة استحداث الكالوس الأعلى معنوياً في الطراز J (45.6 %) وبفروق معنوية مع باقي الطرز، بينما سجل متوسط نسبة استحداث الكالوس الأعلى معنوياً عند الوسطين MS1 وMS2 (41.3، 38.9%، على التوالي) وبدون فروق معنوية فيما بينهما، في حين فشلت عملية الاستحداث تماماً عند معاملة الشاهد، وامتاز الكالوس المستحدث من طرز القرنبيط المحلي بقلة نموه وإدامته على الأوساط المستخدمة، ووجود تفاوت في صفتي اللون والحجم، أما بالنسبة لقوام الكالوس فقد كان متماسكاً وذا مظهر حبيبي مرغوب في جميع الطرز.

الكلمات المفتاحية: قرنبيط، كالوس، زراعة المآبر، منظمات النمو.

تاريخ الإيداع:2024/01/23
تاريخ القبول: 2024/03/03

حقوق النشر: جامعة دمشق – سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY-NC-SA 04

The effect of Gynotype and Nutrient Medium on Callus Inductinon from anther culture of local cauliflower Gynotypes (Brassica oleracea var botrytis.L)

Sumaya Ahmad Jabal[1*], Ramzi Fahed Murshed[2], Osama Hussuin Alabdalla[3]

1- DH Student. Horticulture Science, Faculty of agriculture, University of Damascus, vegetable breeding. sumaya3.ja@damascusuniversity.edu.sy

2- Prof. Dr, Faculty of agriculture, University of Damascus, vegetable breeding using biotechnology. .Ramzi2022.murshed@ damascusuniversity.edu.sy

3- Major Researcher, General Commission for Scientific Agricultural Research, vegetable breeding.

Abstract:

The research was carried out at the Ghouta Research Station of the General Commission for Scientific Agricultural Research / Damascus, and in the Plant Biotechnology Laboratory of the National Commission for Biotechnology - Ministry of Higher Education / Damascus, during the period 2021-2023, with the aim of callus induction from the anther culture of three genotypes of local cauliflower (J-K-D) collected from the Damascus countryside area (Douma, Kafarsouseh, Jdeidet Artouz). The anthers were cultivated using MS nutrient medium plus different concentrations of phytoregulators of 2,4-D oxin (0, 0.3, and, 0.5 mg/L) and cytokinin BAP (0, 1, and 2 mg/L). The results showed significant superiority of the genotype K in the average number of days to start callus stimulation (8.39 days), and in the average number of days to form callus (11.38 days). The MS3 had the lowest average number of days required to initiate callus stimulation (12.19 days), and the lowest average number of days required for callus formation to begin (15.83 days), with significant differences with other media. Genotype J had the highest average number of callus masses formed (10.94 masses) with significant differences with other Genotypes, and MS1 and MS2 gave the highest average number of callus masses (9.92, and 9.33, respectively), with a significant difference with the MS3 medium (6.83 mass). The average rate of callus induction was recorded significantly in genotype J (45.6%) and significant differences with the rest of the genotypes, while the average rate of callus induction was recorded significantly at the mediums MS1 and MS2 (41.3, and 38.9%, respectively) and without significant differences between them, while the callus induction completely failed in the control, and the callus induction from local cauliflower genotypes were low growth and persistence on the media used, There is a variation in color and size, as for the texture of the callus was cohesive and had a desirable granular appearance in all genotypes.

Keywords: Cauliflower, Callus, Anther culture, Plant Growth Regulators.

Received: 23/01/2024
Accepted: 03/03/2024

Copyright: Damascus University- Syria, The authors retain the copyright under a CC BY- NC-SA

. المقدمة (Introduction):

ينتمي القرنبيط Brassica oleracea var. botrytis إلى الفصيلة الصليبية Brassicaceae، والجنس Brassica، والنوع Brassica oleracea، وتضم الفصيلة الصليبية أكثر من 350 جنساً ونحو 4000 نوعاً (Hywood et al., 2007, 68)، ويشمل النوع النباتي Brassica oleracea على عدة محاصيل كالملفوف والبروكولي والقرنبيط الذي يتبع لتحت النوع النباتي Botrytis ، وهو نبات ثنائي الصيغة الصبغية 2n =18، خلطي التلقيح (Ferdinando, 2008, 151)، ويزرع من أجل الحصول على القرص (curd)، الذي يطلق عليه تجاوزاً اسم القرص الزهري، حيث تؤكل حوامل النورات اللحمية السميكة التي تحمل في نهايتها مجاميع من الأنسجة الميرستيمية قبل الزهرية (بوراس وآخرون، 2006).

يعد القرنبيط من الخضار ذات القيمة الغذائية الجيدة حيث تبلغ نسبة المادة الجافة فيه 11.6 % (Holland et al., 1991,163) ويعتبر مصدراً للألياف والبروتينات ومجموعة فيتامين B والعديد من العناصر المعدنية خاصّة البوتاسيوم والكالسيوم. ويساعد الاستهلاك المنظم للخضار الصليبية في الحد من خطر أمراض القلب المزمنة والسرطان (Mandrich et al., 2020, 868). يصل إنتاج القرنبيط في العالم إلى أكثر من 25 مليون طن وبمساحة مزروعة 1357.19 ألف هكتار، حيث يزرع بشكل كبير في قارة آسيا وأوربا، ويصل إنتاجه عربيّاً إلى 0.683 مليون طن وبمساحة 26.53 ألف هكتار (FAO STAT, 2020). ويعدّ من محاصيل الخضار الشتوية الهامة غذائياً واقتصادياً في سورية، وتتركز معظم المساحة المزروعة بهذا المحصول والبالغة 1552 هكتاراً في محافظات ريف دمشق، حمص، وحلب، حيث بلغ إجمالي الإنتاج 28258 طنًا بمردود 18207 كغ/هكتار (المجموعة الإحصائية لوزارة الزراعة، 2022).

تستخدم تقانة زراعة الأنسجة لإنتاج نباتات أحادية الصيغة الصبغية (Haploid) ونباتات أحادية الصيغة الصبغية المضاعفة Double Haploid (DH) وذلك من خلال استحداث الكالوس أحادي الصيغة الصبغية. لقد أصبحت هذه التقانة من الوسائل الفعالة من أجل تسريع برامج تربية النبات ولزيادة كفاءة الانتخاب (Germana`, 2011, 839)، كما يؤدي إنتاج الكالوس الأحادي إلى الحصول على سلالات نقية في جيل واحد وتمثل السلالات DH سلالات طبيعية ذات إخصاب طبيعي (Mallikarjuna et al., 2005).

وبسبب ضيق القاعدة الوراثية لطرز القرنبيط المحلي ولضرورة الحصول على تباينات وراثية جديدة ولأهمية النباتات الأحادية في برامج التربية فإن أهمية البحث تأتي من عدم وجود طريقة عمل مناسبة لاستحداث الكالوس الأحادي باستخدام زراعة المآبر في القرنبيط وعدم وجود بيئات غذائية قياسية لذلك، لذا هدف البحث إلى تحديد التوافقات الهرمونية المناسبة لتحفيز تشكل الكالوس الأحادي مع بيان استجابة الطرز المستخدمة كنباتات مانحة لحبوب اللقاح.

2. الدراسات المرجعية (Literature Review):

في دراسة قام بها Yang وآخرون (1992) لتحديد العوامل المؤثرة في نجاح زراعة مآبر القرنبيط مخبرياً تبين أن إضافة الستوكينين BAP بتراكيز مختلفة (0.02، 0.1، 1 ملغ/ل) إلى الوسط أدى إلى خفض إنتاج الأجنة ويزداد التأثير السلبي بازدياد تركيز الهرمون في الوسط (293). وعند زراعة مآبر عدة أصناف من اللفت السويدي (Brassica napus) على وسط MS مضافاً إليه تراكيز مختلفة من السيتوكينات والأوكسينات لاستحداث الكالوس أدت إضافة 1 ملغ/ ليتر 2,4-D و0.25 ملغ/ليتر BAP إلى إعطاء أعلى نسبة استحداث كالوس (13.3%) سواء كان التحضين بالضوء أو الظلام، بينما أدت إضافة 1 ملغ/ليتر 2,4-D و0.25 ملغ/ليتر Kin إلى إعطاء نفس نسبة استحداث الكالوس عند التحضين في الظلام (Said et al., 1994, 32). وفي دراسة مماثلة على المحاصيل الزيتية التابعة للفصيلة الصليبية قام بها Alam وآخرون (2009) لإنتاج نباتات أحادية الصيغة الصبغية عن طريق زراعة المآبر لهذه المحاصيل حيث استخدم الوسط MS لاستحداث الكالوس مضافاً إليه (1، 2، 4) ملغ/ ل 2,4-D و1 ملغ/ ل BAP، تراوحت نسبة استحداث الكالوس من 12.5 % إلى 87.5% لكن أغلب الكالوس المتكون (75 %) نشأ من زراعة

المآبر على الوسط MS مضافاً إليه 4 ملغ/ ل 2,4-D و1 ملغ/ ل BAP (694). دراسة أخرى قام بها قبيلي وآخرون (2015) لتاثير الأوكسين 2,4 D (1، 3، 5 ملغ/ل) والسيتوكينين BAP (0.1,0.2,0.3 ملغ/ل) في استحداث الكالوس من مآبر أصناف الحمص، لوحظ اختلاف نسبة الاستجابة باختلاف الصنف حيث سجل الصنف غاب4 أعلى نسبة استجابة 40% بوجود تركيز 3 ملغ/ل من 2,4D في حين سجل الصنف غاب5 أعلى نسبة استجابة 40% عند التركيز 1 ملغ/ل من2,4D، وقد كان تأثير BAP على تحفيز استحداث الكالوس منخفضاً، بينما كانت نسبة الاستجابة أعلى عند استخدام الهرمونين معاً حيث سجلت 80% عند الصنف غاب 5 عند تراكيز 1ملغ/ل 2,4D و0.1 ملغ/ل BAP (153). أجرى Cilingir وآخرون (2017) دراسة لتحديد فعالية تقانة زراعة المآبر في المختبر بالنسبة لثلاثة أصناف من الملفوف الأحمر، زرعت على وسطين مغذيين MS الصلب و B5 مع إضافات 2.4-D، NAA، غلوتامين، سيرين، نترات الفضة،IAA، BAP وتراكيز مختلفة من السكروز لتحفيز تكوين الكالوس والأجنة الأحادية والنباتات الأحادية، أظهرت النتيجة أن وسط الزراعة، وتركيز السكروز، والطرز المدروسة، لها دور هام في تكوين الأجنة الذكرية الأحادية، فقد أعطى الصنف Zencibas أفضل نتيجة عند زراعته في وسط MS المضاف إليه1 ملغ/ ل NAA و1 ملغ/ ل 2,4-D و30 غ/ ل سكروز حيث بلغت نسبة الكالوس المتشكل 52% (83). كما أجرى Sood وآخرون (2019) تجربة لاستحداث الكالوس من زراعة المآبر لثلاثة أصناف من اللفت السويدي Brassica campestris على وسطين MS و N6 حيث استخدم تركيزين من السكروز 3% و4% وثلاثة توافقات هرمونية مختلفة، بينت النتائج أن الصنف HPBS-1 أعطى أفضل استحداث عند زراعته على الوسط N6 وبتوافق هرموني 0.5 ملغ/ليتر 2,4-D + 1.0 ملغ/ليتر NAA و3% سكروز (1005). وقام Singh وآخرون (2022) بدراسة مدى استجابة ثمانية طرز من القرنبيط لاستحداث الكالوس باستخدام الوسط MS مضافاً إليه تراكيز مختلفة من الهرمونات النباتية، تراوحت نسبة استحداث الكالوس من 55.8% في الطراز Jyoti إلى 25.1% في الطراز Pusa Shard، وكانت أعلى نسبة استحداث للكالوس(44.33 %) للوسط MS المضاف إليه 1.5 ملغ/ليتر 2,4-D و1ملغ/ليتر NAA بينما أعطى الوسط MS المضاف إليه 1.5 ملغ/ليتر BAP أدنى نسبة استحداث للكالوس 23.9%(3). تأتي أهمية البحث من عدم وجود طريقة عمل مناسبة لاستحداث الكالوس الأحادي في القرنبيط وعدم وجود بيئات غذائية قياسية لذلك، لذا هدف البحث إلى تحديد أفضل التوافقات الهرمونية المناسبة لتحفيز تشكل الكالوس بالنسبة لطرز القرنبيط المحلية.

3. مواد البحث وطرائقه (Materials and Methods):

مكان وزمان تنفيذ البحث: تمت زراعة النباتات المانحة للمآبر في محطة بحوث الغوطة التابعة لإدارة بحوث البستنة في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية خلال الموسم الزراعي 2021–2022، وتقع المحطة جنوب شرق دمشق، وتبعد عنها 15 كم، على ارتفاع 610 م عن سطح البحر، وتتميز بشتاء بارد ورطب وصيف حار وجاف، بينت نتائج تحليل التربة التي أجريت في مخبر إدارة بحوث الموارد الطبيعية التابع للهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية أن التربة رملية طينية، قاعدية (pH = 8.11)، محتواها من المادة العضوية جيد، نسبة كربونات الكالسيوم عالية، غير مالحة، محتواها من الفوسفور والبوتاس جيد (الجدول 1).

الجدول (1): خصائص التربة في موقع تنفيذ التجربة

pH	EC (ميلموز/سم)	CaCo3 (%)	المادة العضوية (%)	Nالكلي %	(ppm)						التحليل الميكانيكي %		
					K	P	Fe	Cu	Mn	Zn	رمل	سلت	طين
8.11	1.37	40.334	5.22	0.26	1600	160.4	2.42	2.82	1.24	7.63	48	22	30

بينما تمت زراعة المآبر نسيجياً في مخبر التقانات الحيوية النباتية التابع للهيئة العامة للتقانة الحيوية في دمشق خلال الفترة 2022–2023.

المادة النباتية: استخدم في البحث ثلاثة طرز محلية من القرنبيط تم جمعها من ريف دمشق (طراز من جديدة عرطوز J، وطراز من كفرسوسة K، وطراز من دوما D)

طريقة العمل:

أ- زراعة النباتات المانحة للمآبر:

زرعت البذور لكل الطرز المدروسة بالمشتل ضمن صواني الإنبات بتاريخ 26/8/2021، وقدمت لها كافة عمليات الخدمة الضرورية من ري وتسميد ومكافحة، وعند وصول الشتول إلى الحجم المناسب للتشتيل (3- 4 أوراق حقيقية) تم نقلها إلى الأرض الدائمة بعد تحضير الأرض وتخطيطها وتجهيزها للزراعة، حيث زرعت الشتول في 3/10/2021 ضمن قطع تجريبية بمساحة 8.4 م^2 لكل طراز تحوي ثلاث خطوط من النباتات بمعدل 5 نباتات في الخط وبفاصل 80 سم بين النبات والآخر و70 سم بين الخطوط، وبثلاثة مكررات لكل طراز. تم تقديم كافة عمليات الخدمة المطلوبة من ري وتعشيب وتسميد بحسب توصيات وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي.

ب- زراعة المآبر:

جمعت البراعم الزهرية غير المتفتحة في بداية الإزهار ونقلت مباشرة إلى جو معقم تحت جهاز العزل الجرثومي وعقمت سطحياً بغمرها بالإيتانول 70% مدة 30 ثانية ثم غمرت في محلول هيبوكلوريت الصوديوم 4% المحتوي على 2-3 نقاط من مادة مزيلة للتوتر السطحي (Tween20) إلى كل 20 مل من المحلول لتقليل التوتر السطحي لمدة 15 دقيقة، ثم غسلت لثلاث مرات بماء مقطر ومعقم كل مرة لمدة 5 دقائق (Germana`, 2011, 840)، وضعت بعدها على ورق ترشيح معقم بغية استخلاص المآبر حيث أزيلت المآبر من البراعم الزهرية بدون الخيوط باستخدام أبره حادة معقمة، حيث يحوي كل برعم زهري على ستة مآبر زرعت بشكل أفقي ضمن طبق بتري يحتوي على 20 مل من الوسط المغذيMS مضافاً إليه تراكيز مختلفة من منظمات النمو النباتية من الأوكسين 2,4-D (0 ، 0.3 و 0.5 ملغ/ل) ومن الستوكينين BAP (0، 1 و 2 ملغ/ل)، حيث زرع 24 مئبراً في كل طبق، وتم تغليف الأطباق بطبقتين من البارافيلم. وزرعت تسعة أطباق من كل معاملة لكل طراز، ثم حضنت في مكان مظلم على درجة حرارة 25°±2 م و رطوبة نسبية 70% حتى يلاحظ الكالوس المتشكل (Dias et al., 1999, 299)، وأخذت القراءات بعد مرور ثلاثة أسابيع، وتم تحديد التركيز الأمثل من المزيج الهرموني من خلال دراسة نسبة استحداث الكالوس وحجم الكالوس المتشكل.(Nasircilar et al., 2006,637).

وسط تكوين ونمو الكالوس: تم استخدام الوسط MS (Murashigue & Skoog, 1962, 473) الجدول (2)، المضاف إليه 7 غ/ ل آغار و30 غ/ ل سكروز، بدرجة حموضة (pH) 5.8، والمضاف إليه منظمات النمو النباتية (6 - بنيزيل أمينو بيورينBAP و4,2 ثنائي كلوروفينوكسي حمض الخل 2,4-D)، عقّم الوسط بالأوتوغلاف في حرارة 120°م لمدة 22 دقيقة.

التوافقات الهرمونية المستخدمة لاستحداث الكالوس:

MS 0: شاهد بدون هرمونات.

MS 1: 0.3 ملغ/ل 2,4-D + 1 ملغ/ل BAP.

MS 2: 0.3 ملغ/ل 2,4-D + 2 ملغ/ل BAP. بحسب Sayem وآخرون (2010, 332).

MS3: 0.5 ملغ/ل 2,4-D + 1 ملغ/ل BAP.

الجدول (2): تركيب الوسط MS المستخدم في زراعة المآبر

MS (mg/L)	
العناصر الكبرى	
KNO3	1.900
Ca(NO3)2 x 4H2O	-

370	MgSO4 x 7H2O
-	KH2PO4
332.2	CaC12
170	(NH4)2SO4
-	MgSO4
-	NaH2pO4
1.650	NH4NO3
العناصر الصغرى	
16.9	MnSO4 xH2O
8.6	ZnSO4 x 7H2O
6.2	H3BO3
0.25	Na2MOO4 x 2H2O
0.025	CuSO4 x5Hp
0.025	COCl2 x6H2O
0.85	KI
فيتامينات	
0.5	Nicotinic acid
0.1	Thiamine HCl
0.5	Pyridoxine HCl
2	Glycine
100	myo-Inositol
5.8	pH

المؤشرات المدروسة:

- النسبة المئوية للتلوث وذلك بحساب نسبة المآبر الملوثة إلى المجموع الكلي للمآبر خلال مرحلة الزراعة التأسيسية التي تسبق تشكل الكالوس.

- عدد الأيام لبدء تحفيز الكالوس (بدء ظهور الانتفاخات في المآبر)، عدد الأيام لبدء تشكل الكالوس (تشكل الكتل الخلوية غير المتمايزة)، متوسط عدد كتل الكالوس المتشكلة، شكل الكالوس (حبيبي، غير حبيبي)، لون الكالوس (أبيض، كريمي، أصفر، بني، أخضر)، قوام الكالوس (متماسك، نصف متماسك، غير متماسك، مائي)، حجم الكالوس (صغير، متوسط، كبير).

- النسبة المئوية لاستحداث الكالوس حسب المعادلة (Singh et al., 2022,3)

$$\text{نسبة استحداث الكالوس \%} = \frac{\text{عدد المآبر التي كونت الكالوس}}{\text{العدد الكلي للمآبر المزروعة}} \times 100$$

النتائج والمناقشة (Results and Discussion):

– مرحلة الزراعة التأسيسية: تم أخذ النسبة المئوية للتلوث بعد أسبوعين من زراعة المآبر، حيث سجل الطراز D أعلى نسبة للتلوث (49.19 %) بينما سجل الطراز K أدنى نسبة للتلوث (38.89 %) (الجدول3).

الجدول (3): النسبة المئوية لتلوث المآبر المزروعة للطرز المحلية

الطراز	الوسط				متوسط النسبة المئوية لتلوث الطراز%
	MS0	MS1	MS2	MS3	
J	33.33	33.33	55.55	43.06	41.32
K	55.56	44.44	44.44	11.11	38.89
D	60.19	88.88	33.33	14.35	49.19

- مرحلة استحداث الكالوس:

بدأ تحفيز الكالوس ببداية الأسبوع الثالث من زراعة المآبر على وسط الاستحداث حيث سجلت قراءات عدد الأيام لتحفيز الكالوس (بدء ظهور الانتفاخات في المآبر المزروعة) وعدد الأيام لتشكل الكالوس (تشكل الكتل الخلوية غير المتمايزة) وعدد كتل الكالوس المتشكلة، والنسبة المئوية لاستحداث الكالوس للطرز المدروسة ضمن التوافقات الهرمونية المختبرة، وصفات الكالوس المستحدث.

بدء تحفيز الكالوس: أظهرت نتائج التحليل الإحصائي لمؤشر بدء تحفيز الكالوس (الجدول 4) وجود فروقات معنوية بين الطرز المدروسة من جهة، وبين الوسط المغذي المعزز بمنظمات النمو من جهة أخرى، والتفاعل فيما بينهما، حيث سجل الوسط MS3 أقل متوسط لعدد الأيام اللازمة لبدء التحفيز (12.19) يوماً، وبفروق معنوية مع الأوساط الأخرى. في حين فشلت عملية التحفيز تماماً عند معاملة الشاهد MS0 (بدون هرمونات) وعند الوسط MS3 للطراز K فقط. بينما سجل الطراز K أقل متوسط لعدد الأيام لبدء التحفيز (16.78) يوماً وبفرق معنوي مع الطرازين J و D. وبالنسبة إلى تفاعل الأوساط والطرز المدروسة لوحظ أن أقل متوسط لعدد الأيام اللازمة لبدء تحفيز الكالوس (16.30) يوماً سجل عند الطراز K عند زراعته في الوسط MS2، بينما كان أعلى متوسط لعدد الأيام اللازمة لبدء التحفيز (24.17) يوماً عند الطراز D عند الزراعة في الوسط MS1. يمكن أن تعزى الفروق المعنوية في سرعة بدء تحفيز الكالوس بين الطرز المدروسة إلى وجود تباين وراثي فيما بينها، حيث بينت العديد من الدراسات تباين استحداث الكالوس باختلاف الأنواع وحتى الأصناف التابعة للنوع نفسه (Shyam et al., 2021, 122). وقد توصل Reetisana وآخرون (2018) إلى نتائج مماثلة من أن استحداث الكالوس يتأثر بالتفاعل بين أوساط الزراعة والأصناف المختبرة (9). فضلاً عن مستويات التركيز الكلي للأوكسينات والسيتوكينينات إذ يؤثر ذلك بدور حاسم في استجابة الأجزاء النباتية لاستحداث الكالوس (Mastuti et al., 2017).

الجدول (4): عدد الأيام اللازمة لبدء تحفيز الكالوس على الأوساط المدروسة

الطراز	MS0	MS1	MS2	MS3	متوسط الطرز
J	-	19.21 cd	22.50 d	18.30 bc	20.00 B
K	-	17.26 ab	16.30 a	-	16.78 A
D	-	24.17 e	20.50 c	18.27 bc	20.98 C
متوسط الأوساط	-	20.22 B	19.77 B	12.19 A	–
(LSD 1%) الطرز	0.813				
(LSD 1%) الأوساط	0.938				
(LSD 1%) تفاعل الطرز والأوساط	1.625				
CV%	6.4				

* يشير اختلاف الأحرف الصغيرة في السطر الواحد إلى الفروق المعنوية بين المعاملات ضمن الطراز الواحد ويشير اختلاف الأحرف الكبيرة في السطر الواحد إلى الفروق المعنوية بين الأوساط بينما يشير اختلاف الأحرف الكبيرة في العمود إلى الفروق المعنوية بين الطرز عند مستوى ثقة 99%.

بدء تشكل الكالوس:

تبين معطيات الجدول (5) بالنسبة لبدء تشكل الكالوس وجود فروقات معنوية بين الطرز المدروسة من جهة، الوسط المغذي المعزز بمنظمات النمو من جهة أخرى، والتفاعل فيما بينهما، حيث سجل الوسط MS3 أقل متوسط لعدد الأيام اللازمة لبدء التشكل (23.75) يوماً وبفروق معنوية مع الأوساط الأخرى، في حين فشلت عملية التشكل تماماً عند معاملة الشاهد وعند الوسط

MS3 للطراز K فقط. بينما سجل الطراز K أقل متوسط لعدد الأيام لبدء التشكل (22.75) يوماً وبفرق معنوي مع الطرازين J و D. وبالنسبة إلى تفاعل الأوساط والطرز المدروسة لوحظ أن أقل متوسط لعدد الأيام اللازمة لبدء تشكل الكالوس (22.25) يوماً سجل عند الطراز J عند زراعته في الوسط MS3، بينما كان أعلى متوسط لعدد الأيام اللازمة لبدء التشكل (31.0) يوماً عند الطراز D عند الزراعة في الوسط MS1. ويعود ذلك إلى اختلاف الطرز بسرعة بدء تحفيز الكالوس. وقد أوضح Davies (2004) أهمية إضافة منظمات النمو في زيادة معدل انقسام الخلايا النباتية واستطالتها، وأهمية التوزان الهرموني في تحفيز الكالوس (300).

الجدول (5): عدد الأيام اللازمة لتشكل الكالوس على الأوساط المدروسة

الطراز	MS0	MS1	MS2	MS3	متوسط الطرز
J	–	25.75 ^{bc}	29.75^{cde}	22.25^{a}	25.92 ^{B}
K	–	23.0^{ab}	22.50^{ab}	–	22.75^{A}
D	–	31.0^{e}	27.25^{bc}	25.25^{abc}	27.83 ^{C}
متوسط الأوساط	–	26.58^{B}	26.50^{B}	23.75^{A}	–
(LSD 1%) االطرز	1.673				
(LSD 1%) الأوساط	1.931				
(LSD 1%) تفاعل الطرز والأوساط	3.345				
CV%	10.0				

* يشير اختلاف الأحرف الصغيرة في السطر الواحد إلى الفروق المعنوية بين المعاملات ضمن الطراز الواحد ويشير اختلاف الأحرف الكبيرة في السطر الواحد إلى الفروق المعنوية بين الأوساط بينما يشير اختلاف الأحرف الكبيرة في العمود إلى الفروق المعنوية بين الطرز عند مستوى ثقة 99%.

متوسط عدد كتل الكالوس المتشكلة:

أعطى الطراز J أعلى متوسط لعدد كتل الكالوس المتشكلة (10.94) وبفروق معنوية مع الطرز الأخرى، بينما سجل أقل عدد لكتل الكالوس عند الطراز K (3)، كما أعطى الوسطين MS1 و MS2 أعلى متوسط لعدد كتل الكالوس (9.92 و9.33، على التوالي) وبفرق معنوي مع الوسط MS3 (6.83)، وقد سجل الطراز J عند زراعته على الوسط MS1 أعلى عدد لكتل الكالوس المتشكلة (16.25)، بينما سجل الطراز K عند زراعته على الوسط MS1 أدنى عدد لكتل الكالوس (5.75) (جدول 6).

الجدول (6): متوسط عدد كتل الكالوس المتشكلة

الطرز	MS0	MS1	MS2	MS3	متوسط الطرز
J	0^{c}	16.25^{a}	13.50^{a}	14.00^{a}	10.94^{A}
K	0^{c}	5.75^{b}	6.25^{b}	0^{c}	3.00b^{C}
D	0^{c}	7.75^{b}	8.25^{b}	6.50^{b}	5.62^{B}
متوسط الأوساط	0	9.92^{A}	9.33^{A}	6.83^{B}	–
(LSD 1%) الطرز	1.762				
(LSD 1%) الأوساط	2.034				
(LSD 1%) تفاعل الطرز والأوساط	3.524				
CV%	28.0				

* يشير اختلاف الأحرف الصغيرة في السطر الواحد إلى الفروق المعنوية بين المعاملات ضمن الطراز الواحد ويشير اختلاف الأحرف الكبيرة في السطر الواحد إلى الفروق المعنوية بين الأوساط بينما يشير اختلاف الأحرف الكبيرة في العمود إلى الفروق المعنوية بين الطرز عند مستوى ثقة 99%.

نسبة استحداث الكالوس:

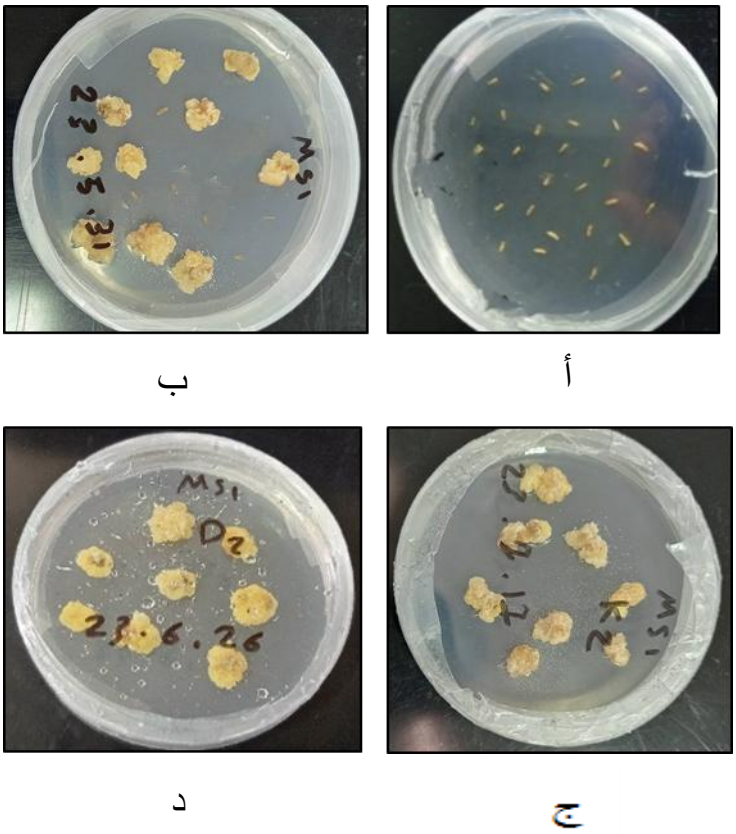
تبين النتائج في الجدول (7) وجود فروقات معنوية في نسبة استحداث الكالوس ما بين الأوساط المختلفة والطرز والتفاعل المتبادل بينهما، حيث يلاحظ أن متوسط نسبة استحداث الكالوس كان الأعلى معنوياً عند الوسطين MS1 و MS2 (41.3 و38.9%، على التوالي) وبدون فروقات معنوية فيما بينهما، وبفروق معنوية مع الوسط MS3، في حين فشلت عملية الاستحداث تماماً عند معاملة الشاهد، وعند الوسط MS3 للطراز K. وسجل متوسط نسبة استحداث الكالوس الأعلى معنوياً في الطراز J (45.6 %) وبفروق معنوية مع باقي الطرز. وبالنسبة إلى تفاعل الأوساط والطرز المدروسة لوحظ أن نسبة استحداث الكالوس الأعلى معنوياً كانت عند الطراز J في الوسط MS1 (67.71 %)، بينما كانت نسبة استحداث الكالوس الأدنى معنوية عند الطراز K في الوسط MS1 (23.96%).

تؤكد هذه النتائج أن نسبة استحداث الكالوس تتحدد بشكل أساسي بوجود الأوكسين 2,4-D في وسط الاستحداث، كما تشير النتائج إلى وجود تباين وراثي في كفاءة استحداث الكالوس مابين الطرز المدروسة، وقد بينت العديد من الدراسات دور الأوكسين 2,4-D الرئيسي في استحداث الكالوس وهذا يتوافق مع Rashid وآخرون (2009) حيث بينوا أن زيادة استحداث الكالوس بوجود الأوكسين2,4-D ناتج عن دوره في تشجيع الانقسام الميتوزي، حيث يعمل الأوكسين على زيادة معدل اصطناع الأحماض النووية RNA (2). وقد ذكر Centeno وآخرون (1996) أهمية منظمات النمو في نمو أنسجة الكالوس وتمايزها عن طريق الدور المباشر للأوكسينات في توسيع الخلية النباتية وزيادة نفاذيتها ومرونتها، ودور السيتوكينينات في انقسام الخلايا، وفي تصنيع بعض البروتينات المهمة وتكوين RNA (58).

الجدول (7): تأثير الوسط المغذي المعزز بمنظمات النمو في نسبة استحداث الكالوس (%) في طرز القرنبيط المدروسة

الطراز	MS0	MS1	MS2	MS3	متوسط الطرز
J	0 c	67.71 a	56.30 a	58.30 a	45.6 A
K	0 c	23.96 b	26.00 b	0 c	12.5 C
D	0c	32.30 b	34.40 b	27.10 b	23.4 B
متوسط الأوساط	0 C	41.3 A	38.9 A	28.5 B	–
(LSD 1%) الطرز	7.34				
(LSD 1%) الأوساط	8.48				
(LSD 1%) تفاعل الطرز والأوساط	14.68				

* يشير اختلاف الأحرف الصغيرة في السطر الواحد إلى الفروق المعنوية بين المعاملات ضمن الطراز الواحد ويشير اختلاف الأحرف الكبيرة في السطر الواحد إلى الفروق المعنوية بين الأوساط بينما يشير اختلاف الأحرف الكبيرة في العمود إلى الفروق المعنوية بين الطرز عند مستوى ثقة 99%.



الشكل (1): كالوس الطرز المحلية للقرنبيط

أ- زراعة المآبر ب- الطراز J ج- الطراز K د- الطراز D

التوصيف الشكلي للكالوس المستحدث في الأوساط المدروسة:

امتاز كالوس طرز القرنبيط المحلي بقلة نموه وإدامته على الأوساط المستخدمة، ووجود تفاوت في صفتي اللون والحجم، ويفسر اللون البني للكالوس بتشكل مركبات الفينولات في الوسط المغذي كنتيجة لعوامل عدة أهمها استخدام منظمات النمو (Ali et al., 2003,340) نتيجة نشاط بعض الأنزيمات مثل البولي فينول أوكسيداز phenoloxidae-Poly والبيروكسيداز Peroxidase التي تشارك في تحفيز أكسدة المركبات الفينولية واسمرار الأنسجة النباتية، ومن ثم فإن معدل النمو العام للخلايا ينخفض بشكل ملحوظ مع زيادة تركيز الفينولات، التي تؤدي في النهاية إلى تماوت الخلايا النباتية. أما بالنسبة لقوام الكالوس فقد كان متماسكاً وذا مظهر حبيبي مرغوب في جميع الطرز.

الجدول (8): صفات الكالوس المستحدث في طرز القرنبيط المدروسة

الطراز	شكل الكالوس	قوام الكالوس	لون الكالوس	حجم الكالوس
J	حبيبي	متماسك	أبيض	+++
K	حبيبي	متماسك	بني مصفر	+
D	حبيبي	متماسك	أصفر فاتح	++

الاستنتاجات:

– بينت الدراسة أن نسبة استحداث الكالوس في القرنبيط تتحدد بشكل رئيس بوجود الأوكسين 2,4-D بتراكيز منخفضة في وسط الاستحداث تبدأ من 0.3 ملغ/ل.

– أهمية الوسط المغذي المعزز بتراكيز مدروسة من منظمات النمو، حيث إن تركيز منظمات النمو ونوعيتها ونسبة التوازن بينهما في وسط النمو هي العامل المحدد الرئيس لعملية استحداث أنسجة الكالوس من المآبر.

– يؤثر التركيب الوراثي للطرز المدروسة بشكل أساسي بنسبة استحداث الكالوس.

التمويل:

هذا البحث ممول من قبل الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية– دمشق.

المراجع (References):

1. بوراس، متيادي وبسام أبو ترابي وابراهيم البسيط (2006). انتاج محاصيل الخضر– الجزء النظري. منشورات جامعة دمشق للزراعة. مطبعة الداودي. سوريا.
2. المجموعة الإحصائية السنوية الصادرة عن وزارة الزراعة لعام (2022). صادرة عن وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي. مديرية الإحصاء والتخطيط. قسم الإحصاء.
3. قبيلي، صالح ونزار معلا نبراس داؤد (2015). دراسة الاستجابة الوراثية لبعض أصناف الحمص (cicer arietinum L) لتكوين الكالوس أحادي الصيغة الصبغية مخبرياً. مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسة العلمية– سلسلة العلوم البيولوجية مجلد(37) العدد(2) ص 147–159.
4. Alam, M.A. Haue ,M.R. Hossain, S.c. Sarker, and R.Afroz.(2009). Haploid plant Regeneration through anther culture in oilseed Brassics species. Bangladish J.Agril. Res 34(4): 693-703.
5. Ali, N., Mulwa, R. M., Mortan, M. A., Skirvin, R. M. 2003. Micropropagation of guava (Psidium guajava L.). Journal of Horticultural Science and Biotechnology.78:739-741.
6. Centeno, M., L .Rodviquez., A .Feito and I .Fernade. (1996). Relationship between endogenous auxin and cytokinin levels and morphogenic responses in Actini deliciosa tissue culture. plant-cell-Rep, 16:58-62.
7. Cilingir A., Dogru S.M., Kurtar E.S., Balkaya A.(2017). Anther culture in Red Cabbage(Brassica oleracea L. var capitate subvar. Rubra) Embryogen esis and plantlet initiation Ekin J.3(2):82-87.
8. Davies, P.J. (2004). Plant hormones, biosynthesis, signals transduction and action. Kluwer Academic Publishers, Netherlands. pp:1-1.
9. Dias, J. and M. Martins. (1999). Effect of silver nitrate on anther culture embryo production of different Brassica oleracea morphotypes. Sci. Hort., 82: 299-307.
10. FAOSTAT, Food and agriculture organization of the United Nations. 2020.http://faostat.fao.org/. Rome, Italy.
11. -Ferdinando, B. (2008). Cauliflower and Broccoli. Handbook of Plant Breeding Vegetables. 1, 151-186.
12. Germana` M.A. (2011) Gametic embryogenesis and haploid technology as valuable support to plant breeding. In: Plant Cell Rep (2011) 30: P. 839–857.
13. Heywood, V. H., Brummitt, R. K., Culham, A., & Seberg, O. (2007). Flowering plant families of the world. (Vol. 88). Ontario: Firefly books pp 68.
14. - Holland, B., McCance, R. A., Widdowson, E. M., Unwin, I. D., & Buss, D. H. (1991). Vegetables, herbs and spices: Fifth supplement to McCance and Widdowson's The Composition of Foods (Vol. 5). Royal Society of Chemistry. pp 163.
15. Mallikarjuna N., Jadhav D., Clarke H., Coyne C., Muehlbauer F.(2005) Induction of Androgenesis as a Consequence of Wide Crossing in Chickpea. In: An Open Access Journal published by ICRISAT, December 2005, V. 1(1).
16. Mandrich, L. and E. Caputo.(2020). Brassicaceae-Derived Anticancer Agents: Towards a Green Approach to Beat Cancer. Nutrients, [online] 12(3), p.868. https://doi.org/10.3390/nu12030868.
17. Mastuti ,Retno., Aminatun, Munawarti. and Elok, Rifqi Firdiana., 2017.The Combination Effect of Auxin and Cytokinin on In Vitro Callus Formation of Physalis angulata L. – A Medicinal Plant AIP Conference Proceedings 1908, 040007. https://doi.org/10.1063/1.5012721.
18. Murashigue. T and Skoog F.(1962). Arevised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissus. Physiologia Plantarum. 15 :473-497.
19. Nasircilar, A. G., K. Turgut and K. Fiskin. (2006). Callus induction and plant regeneration from mature embryos of different Wheat Genotypes. Pak. J. Bot.38: 637-645.
20. Rashid, U., S. Ali., G. M. Ali., N. Ayub and M. S. Masood. (2009). Establishment of an efficient callus induction and plant regeneration system in Pakistan bread wheat (L.) cultivars. Electronic Journal of Biotechnology ISSN, vol.12. no.3, p.1-12.
21. Reetisana. N., R. Devi., H. Devi., J.M. Laishram and A.H. Pyngrope. (2018). In vitro haploid plantlet regeneration through anther culture in locally adapted cultivar of Indian mustard (Brassica juncea Czern and Coss), Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 7: 8–19.

22.Said, H., I. Khan and M. A. Javed. (1994). Callus induction and regeneration of plants from anthers of rapeseed. Pakistan Journal of Agricultural Research, 15(1), 32-36.
23.Sayem, M.A., Maniruzzaman, S.S. Siddique and M. Al-amin,(2010). In vitro shoot regeneration through anther culture of Brassica spp. Bangladesh J. Agric. Res., 35(2): 331-341.
24.Shyam. C., M.K. Tripathi., S. Tiwari., A. Ahuja., N. Tripathi and N. Gupta. (2021). Plant Regeneration in Indian Mustard [Brassica Juncea (Linn.) Czern & Coss]: Experimental Investigation. Book: Current Topics in Agricultural Sciences, Publisher, BP International, pp. 120–135, 2021b, 3(9).
25.Singh, R., R. Devi and N. K .Sarao. (2022). Generation of doubled haploids incauliflower. Heliyon, 8(12) pp.1-6
26.Sood, S., & Kumari, V. (2019). Efficient Callus Induction through Anther Culture in Cultivars of Brassica campestris var. Brown Sarson. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci, 8(5), 1003-1012.
27.-Yang Q, Jean E. Chauvin. And Yves Herve.(1992). Astudy of factors affecting anther culture of cauliflower (Brassica oleracea var botrytis) plant cell, tissue and organic culture 28:(289-296).