تأثير منظمات النمو النباتية ونوع الجزء النباتي في انتاج المركبات الفينولية لنباتات الشليك النامية في ظروف الحقل وبالزراعة النسيجية*

اياد عاصي عبيد[1،3] وسام مالك داود[2] عماد خلف العزاوي[2]

[1] قسم البستنة وهندسة الحدائق- كلية الزراعة – جامعة ديالى، العراق.
[2] قسم علوم الحياة- كلية التربية للعلوم الصرفة- جامعة ديالى، العراق.

[3]المسؤول عن النشر: Ayadassi73@gmail.com

المستخلص

نُفذت الدراسة في البيت البلاستيكي والظلة الخشبية التابعة لكلية الزراعة جامعة ديالى، واجريت التجارب في مختبر زراعة الأنسجة النباتية التابع لقسم البستنة وهندسة الحدائق/ كلية الزراعة/ جامعة ديالى، بهدف دراسة تأثير منظمات النمو النباتية في نشوء الكالس وإنتاج المركبات الفينولية من الكالس ومقارنتها بالنباتات النامية في الحقل للشليك *Fragaria vesca* و *Fragaria ananassa* Duch صنف Salwan. بينت نتائج اختبار تاثير منظمات النمو في نشوء الكالس من اوراق صنف Salwan، ان تأثير 2,4 -D بتركيز 0.5 ملغم لتر$^{-1}$ أعطى أعلى نسبة تكون للكالس بلغت 70%، وبلغ معدل وزنه الجاف 0.039 غم، أما عن تأثير تداخل 2,4-D مع Kin. أو BA، وجد إن الأوساط الغذائية المحتوية على 1.0 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 1.0 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D أعلى متوسط للوزن الطري بلغ 2.560 غم، اما نتائج تداخل NAA مع BA أو Kin.، وجد أن معاملة 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 1 ملغم لتر$^{-1}$ NAA سجلت أعلى متوسط للوزن الطري والجاف بلغ 2.107 و 0.127 غم على التتابع. ونميت الاجزاء الخضرية النسيجية للشليك نوع *Fragaria vesca* L. على اوساط غذائية مجهزة بمنظمي النمو Kin. و NAA بهدف انتاج الكالس لتقدير المركبات الفينولية. بينت نتائج تقدير الفينولات من الكالس والأنسجة المزروعة في الحقل أن الأنسجة المتمايزة أعطت مستويات عالية في معظم المركبات الفينولية قياساً بأنسجة الكالس إذ أعطت أوراق الشليك vesca أعلى قيم في مركبات Meryctin و Caffic acid و Gallic acid وأعطت إزهار النوع نفسه أعلى قيم لمركبات Alpha penine و Comarins و Quercetin ، وأعطت جذور النوع نفسه أعلى كمية لمركبي P-hydroxy benzoic acid و Ferulic acid، في حين أعطى كالس النوع نفسه أعلى كمية لمركب Camphene و Ellagic acid وأعطى كالس الشليك Salwan أعلى كمية لمركب Catachin.

الكلمات المفتاحية : الشليك، الكالس، منظمات النمو النباتية، المركبات الفينولية.

المقدمة

الشليك نبات عشبي معمر يمتاز بشكله الجميل وطعم ثماره اللذيذ ويعد من الفواكه ذات الثمار الصغيرة المنتشرة في العالم لما يتمتع به من قيمة غذائية وعلاجية جيدة، وينتمي الشليك إلى رتبة Rosales والعائلة الوردية Rosaceae وتحت العائلة Rosaideae والى الجنس *Fragaria* (السعيدي، 2000). تتميز ثمار الشليك بكونها غنية بالمواد الغذائية لاحتوائها على بعض العناصر المعدنية، تؤكل ثماره طازجة، ويصنع منها العصير والحلويات والمربى والشراب وتستخدم أوراقه في خلطة الشاي، ويعتقد إن للأوراق والجذور خصائص طبية أو دوائية، ويستخدم عصير الثمار علاجاً للإنسان (Aprona، 2006). تستخدم التقنيات الحياتية في المجالات الزراعية والصناعية والطبية وفي إنتاج مركبات مفيدة في ظل ظروف مسيطر عليها واستخراج مواد فعالة ذات استخدامات طبية من كالس

*البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثالث.

استلام البحث: 2017/6/18
قبول النشر: 2017/9/17

النباتات طيلة أيام السنة دون التقيد بموسم النمو (Park وآخرون، 2008 ؛ Ramawat، 2004). إن نجاح زراعة الخلية والنسيج يعتمد على تكوين مزارع الكالس الجيد للنبات (Khatun وآخرون، 2003). الحصول على المركبات الطبية في تقنية الزراعة النسيجية يتم من خلال التحكم في المسارات الايضية للخلايا النباتية في مزارع الأنسجة لإنتاج هذه المركبات ومن ضمنها الدوائية، الذي يصعب احداثه في النباتات النامية في بيئاتها الطبيعية (Purohit، 1999 ؛ الزبيدي، 2004)، تم عزل أكثر من 200 مركبٍ من المركبات الاروماتية من مزارع المعلقات الخلوية للشليك وتمكن Hong وآخرون (1990) من الحصول على البيوتانول والالفاكيتوفالريت كأمثله أخرى على المركبات الاروماتية المستحصلة من المزارع الخلوية للشليك، فضلاً عن الحصول على الاستيل الديهايد والايثانول المستحصلة من المزارع الخلوية للشليك (Drawert و Berger، 1983)، وتعد المركبات الفينولية من المواد الطبية المهمة التي تستخدم في مجالات عديدة أهمها في مقاومة أورام السرطان (Mohan وآخرون، 2008)، فقد أمكن استخلاص المركبات الفينولية من ثمار الشليك من قبل Aharoni وآخرون، (2002) و Maatta-Riihinen وآخرون، (2004) و Aaby وآخرون، (2007) ومن الأوراق (Hukkanen وآخرون، 2007) وتمكن Hanhineva واخرون، 2008 من استخلاصها من الأزهار.

المواد وطرائق العمل

جهزت شتلات الشليك صنف *Fragaria ananasa* L. Salwan من مركز الزراعة العضوية/ وزارة الزراعة العراقية، وزرعت في تربة نهرية في ظروف البيت البلاستيكي وبنظام الري بالتنقيط، بهدف الحصول على مزارع للأمهات. فصلت الاجزاء النباتية وعقمت بعد غسلها بالماء باستعمال القاصر التجاري (الفاس) الذي يحتوي على 5 % من هايبوكلوريت الصوديوم (NaOCl) وتم تخفيف القاصر إلى 0.05 % بالماء المقطر ولمدة 15 دقيقة واستخدم الصابون السائل بوصفه مادةً ناشرة بتركيز0.1 %، ثم غسلت الاجزاء النباتية أربع مرات بالماء المقطر المعقم لمدة 5 دقائق في كل مرة للتخلص من آثار مادة التعقيم، علما بان كافة خطوات التعقيم كانت تجري تحت ظروف معقمة في كابينة الزراعة Laminar air flow cabinet. استعملت أملاح الوسط الغذائي MS (Murashige و Skoog، 1962)، وتم تعديل الدالة الهيدروجينية (pH) إلى 5.8-5.7 ثم وزع الوسط الغذائي بعد إضافة منظمات النمو النباتية وبحسب التجارب وعقمت على درجة حرارة 121 ْم وضغط 1.04 كغم سم$^{-2}$ وذلك باستخدام جهاز المؤصدة Autoclave ولمدة 15 دقيق (محمد وعمر، 1990).

تجارب نشوء الكالس للصنف Salwan: اجريت التجارب بزراعة اقراص ورقية بمساحة 1 سم^2 على اوساط لدراسة نشوء الكالس ووزنه الطري والجاف على وفق التجارب الاتية: درس تأثير اضافة 2,4–D بالتراكيز 1،2 و4 ملغم لتر$^{-1}$ مع BA او Kin. بالتركيزين 1 و 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ لكل منهما على انفراد، ودرس ايضا اضافة NAA مع BA او Kin. بنفس التركيز السابق وبتجارب مستقلة عن اضافة 2,4– D، وبهدف مقارنة نتائج الصنف Salwan مع صنف اخر لمحتواه من المركبات الفينولية ومحتوى الجذور والازهار من هذه المركبات، وتم زراعة بذور الشليك نوع *Fragaria vesca* L. في الظلة وزرعت ايضا نسجيا اذ تم تحفيز نشوء الكالس للشليك *F. vesca* بناءً على نتائج التجارب السابقة للصنف Salwan، اذ نميت الاجزاء الخضرية النسيجية على اوساط غذائية مجهزة بمنظمي النمو 1 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 1 ملغم لتر$^{-1}$ NAA بهدف انتاج الكالس (صورة 1).

التقدير الكمي والنوعي للمركبات الفينولية: قدرت المواد الفاعلة في الكالس وفي أوراق وجذور وأزهار النباتات المزروعة في البيت البلاستيكي في وزارة العلوم والتكنولوجيا العراقية، جفف الكالس على درجة

حرارة 60 °م ولمدة 24 ساعة ثم طحن واخذ من المسحوق 1 غم وأضيف له 10 مل من كحول الميثانول وبنفس الطريقة للنباتات الحقلية، وضعت العينات في جهاز الهزاز ذي الموجات فوق الصوتية لمدة 15 دقيقة ثم وضعت في عمود من النتروجين السائل ورشح المحلول باستخدام ورق ترشيح بقطر 0.2 ملم وحقن كل من المحلول القياسي والعينة في جهاز HPLC نوع Shimadzu LC -10A لتحديد زمن الاحتجاز (Retention time) وارتفاع حزمة العينة Area لكل من المحلول القياسي والعينة حيث حقن المستخلص في عمود (Column) من نوع 50 ×4.6 I.D mm وطور متحرك (mobile phase) يتكون من 0.1 % acetic acid in Dionized water :acetonitrile وبنسبة 80:20 v/v وكانت سرعة جريان الجهاز 1.5مل دقيقة$^{-1}$، وقيست القراءات على طول موجي قدره 275 نانومترا وعلى درجة حرارة 30 ْم وبحسب تركيز كل عينة باستخدام المعادلة الآتية:

$$\text{تركيز النموذج} = \frac{\text{مساحة حزمة النموذج}}{\text{مساحة حزمة القياس}} \times \text{تركيز المحلول القياسي} \times \text{عدد مرات التخفيف}$$ (Hadi، 1999)

التصميم التجريبي والتحليل الإحصائي: استخدم التصميم العشوائي الكامل (Completely Randomized Design, CRD) واستعمل البرنامج الجاهز SAS (1996) لتحليل البيانات وتم المقارنة بين المتوسطات على وفق اختبار دنكن المتعدد الحدود، واستعمل اختبار T في تجارب استخلاص الفينولات، وقورنت المتوسطات باستعمال اقل فرق معنوي لبيان الفروق الإحصائية بين المعاملات وعلى مستوى احتمال 0.05 (الساهوكي ووهيب، 1990).

النتائج والمناقشة

1: تأثير منظمات النمو في نشوء الكالس للصنف Salwan

1-1: تأثير اضافة BA مع 2,4- D في نشوء الكالس ونموه

نسبة تكون الكالس: تبين النتائج الموضحة في الجدول 1 إن تأثير التداخل بين BA و 2,4-D كان معنوياً في نسبة تكون الكالس بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة وتفوقت المعاملة 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ BA + 4 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D في أعطاء أعلى نسبة لتكون الكالس بلغت 100% ، تلتها معاملة 1ملغم لتر$^{-1}$ BA + 4 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4- D التي أعطت نسبة بلغت 90% إذ تفوقت معنوياً على الأوساط الغذائية المجهزة بتركيزي 1.5 ملغم لتر$^{-1}$BA + 1 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D التي أعطت اقل نسبة لتكون الكالس وبلغت 40 %، ولم تختلف معنويا عن معاملات 1 ملغم لتر$^{-1}$BA + 1 أو 2 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D في حين أعطت الأوساط المجهزة بتركيز 1.5 ملغم لتر$^{-1}$BA + 2 ملغم /لتر 2,4-D نسبة تكون للكالس بلغت 80 %.

الجدول 1 . تأثير تداخل BA مع 2,4-D في نسبة تكون الكالس ووزنه الطري والجاف من الأوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS

تراكيز منظمي النمو ملغم /لتر		نسبة تكون الكالس %	الوزن الطري (غم)	الوزن الجاف (غم)
BA	2,4-D			
1	1	ab 60	b 0.890	b 0.070
	2	ab 70	ab 1.140	ab 0.082
	4	ab 90	a 1.534	a 0.106
1.5	1	b 40	ab 1.257	ab 0.086
	2	ab 80	ab 1.135	ab 0.087
	4	a 100	ab 0.986	ab 0.079

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا بحسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

الوزن الطري (غم): تشير النتائج (الجدول 1) إلى تفوق معاملة 1 ملغم لتر$^{-1}$ BA + ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D التي أعطت 1.534غم وبفارق معنوي عن الوسط الغذائي المجهز بتركيز 1 ملغم لتر$^{-1}$ BA + 1 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D التي حققت اقل قيمة للوزن الطري وبلغت 0.890 غم، في حين أعطت معاملات 1 ملغم لتر$^{-1}$ BA + 2 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D و 1.5ملغم لتر$^{-1}$ BA + 1 أو 2 أو 4 ملغم لتر$^{-1}$ متوسط للوزن الطري بلغ 1.140 و 1.257 و 1.135 و 0.986 غم على التتابع.

الوزن الجاف (غم): تشير النتائج المبينة في الجدول 1 إلى ظهور فروقٍ معنوية في تداخلات تراكيز BA و 2,4-D فقد أعطت الأوساط الغذائية المحتوية على 1 ملغم لتر$^{-1}$ BA + 4 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D أعلى قيمة للوزن الجاف بلغت 0.106 غم وبفارق معنوي عن معاملة 1 ملغم لتر$^{-1}$ BA + 1ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D التي أعطت اقل وزن بلغ 0.070 غم في حين أعطت الأوساط المجهزة بالتراكيز 1 ملغم لتر$^{-1}$ BA + 2 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D و 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ BA + 1 أو 2 أو 4 متوسط وزن جاف بلغ 0.082 و0.086 و 0.087 و 0.079 غم على التتابع.

بينت النتائج أن تداخل السايتوكاينينات مع الاوكسينات شجع على نحو كبير استحداث الكالس ونموه قياسا باستخدام الاوكسين منفردا (العزاوي، 20012)، ربما يعزى ذلك إلى توافر مستوى معين من منظمات النمو الداخلية والتي تتداخل مع المركبات المضافة للوسط الغذائي، ذلك أن الكالس ينشأ عادة عن انقسامات كثيرة في الخلايا لتغير من قطبيتها (فقدان التميز) لقسم منها ويمكن أن تستمر بالانقسام والتوسع مكونة نسيج الكالس، وأشار Dodds وRoberts (1985) إلى إن الزيادة في الوزن الطري للكالس هي انعكاس للتغيرات في المحتويات المختلفة لخلاياه معتمدة على نموه في الوسط الغذائي المستعمل والذي يعتمد بالدرجة الأساس على منظمات النمو المضافة، يرافق عملية انقسام خلايا الكالس زيادة في المحتويات المهمة لإدامة الانقسام والنمو مثل البروتينات والأحماض الامينية مع تغيرات خاصة داخلية تؤدي إلى انقسام الخلايا تم تخصصها (Wiesman وآخرون، 1989). يعتمد نمو الكالس في تقنيات زراعة الأنسجة على قابلية خلاياه على الانقسام وتكوين خلايا جديدة ويقدر ذلك بمقدار الزيادة الحاصلة بالوزن الطري والجاف ومكونات الخلايا (Mohammad وAbood، 1989) ويؤثر الأوكسين عادة من خلال تأثيره في زيادة فعالية الخلايا لبناء المواد الأساس للنمو.

1 -2: تأثير اضافة Kin. مع 2,4-D في نشوء الكالس ونموه

نسبة تكون الكالس: تبين النتائج الموضحة في الجدول 2 ظهور فروق معنوية بين المعاملات في تأثير تداخل 2,4-D مع Kin. في نسبة تكون الكالس بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة، إذ تفوقت معاملتا 1 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 1 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D و 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 4 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D في إعطاء أعلى نسبة لتكون الكالس وبلغت 90% لكل منهما وبفارق معنوي عن معاملة 1 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 4 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D التي أعطت اقل نسبة لتكون الكالس بلغت 40%، في حين أعطت الأوساط المجهزة بالتراكيز 1 ملغم لتر$^{-1}$ Kin.+ 2 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D و 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 1 أو 2 ملغم لتر$^{-1}$ نسبة لتكون الكالس بلغت 70 و 80 و 60 % على التتابع.

الوزن الطري (غم): تبين النتائج الموضحة في الجدول 2 إن تأثير تداخل Kin. مع 2,4-D نجح في زيادة الوزن الطري للكالس بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة وأدى ذلك إلى ظهور فروقٍ معنوية بين المعاملات إذ تفوق الوسط المجهز بتركيز 1 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 1 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D في إعطاء أعلى قيمة للوزن الطري بلغت 2. 560 غم تلتها معاملة 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 1 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D التي أعطت 2.137 غم إذ تفوقتا معنوياً على المعاملات الأخرى الباقية، في حين بلغت اقل قيمة للوزن الطري

0.496 غم عند إضافة 1 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 4 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D وبفارق معنوي عن معاملتي 1 أو 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 2 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D اللتين أعطتا متوسط الوزن الطري بلغ 1.595 و1.324 غم على التتابع، وأعطت الأوساط المجهزة بتركيز 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 4 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D متوسط وزن طري بلغ 0.803 غم (صورة 1).

الوزن الجاف (غم): تشير النتائج الموضحة في الجدول 2 لتأثير تداخل 2,4-D مع Kin. في صفة الوزن الجاف إلى ظهور فروقٍ معنوية بين المعاملات وتفوقت معاملات 1 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 2 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D وأعطت أعلى قيمة للوزن الجاف بلغت 0.146 غم تلتها معاملتا 1 أو 1.5ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 1 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D اللتان أعطتا 0.145 غم لكل منهما وبفارق معنوي عن بقية المعاملات الأخرى، في حين بلغت اقل قيمة للوزن الجاف للكالس 0.067 غم عند تجهيز الأوساط بالتراكيز 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ Kin.+ 4 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D وأعطت معاملتا 1 ملغم Kin. + 4 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D و 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 2 ملغم 2,4-D وزناً جافاً بلغ 0.075 و 0.083 غم على التتابع.

الجدول 2. تأثير اضافة Kinetin مع 2,4-D في نسبة تكون الكالس ووزنه الطري والجاف من الأوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS

تراكيز منظمي النمو ملغم لتر$^{-1}$		نسبة تكون الكالس %	الوزن الطري (غم)	الوزن الجاف (غم)
Kinetin	2,4-D			
1	1	a 90	a 2.560	a 0.145
	2	ab 70	b 1.595	a 0.146
	4	b 40	c 0.496	b 0.075
1.5	1	ab 80	a 2.137	a 0.145
	2	ab 60	b 1.324	b 0.083
	4	a 90	c 0.803	b 0.067

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا بحسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

3-1: تأثير اضافة NAA مع BA في نشوء الكالس ونموه

نسبة تكون الكالس: بينت نتائج التحليل الإحصائي في الجدول 3 وجود تداخلات معنوية بين NAA و BA في نسبة تكون الكالس بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة وتفوقت المعاملة 1 ملغم لتر$^{-1}$ BA مع 2 ملغم لتر$^{-1}$ NAA في أعطاء أعلى نسبة لتكون الكالس بلغت 90% وبفارق معنوي على معاملة 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ BA + 4 ملغم لتر$^{-1}$ NAA والتي أعطت اقل نسبة لتكون الكالس بلغت 30%، تلتها معاملة 1ملغم لتر$^{-1}$ BA + 1 ملغم لتر$^{-1}$ NAA نسبة تكون للكالس بلغت 80% وأعطت معاملات (1 BA + 4 NAA و 1.5 BA + 1 NAA و 1.5 BA + 2 NAA) ملغم لتر$^{-1}$ نسب لتكون الكالس بلغت 50 و60 و 70 % على التتابع.

الوزن الطري (غم): تشير النتائج الموضحة في الجدول 3 أن معاملة 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ BA + 2 ملغم لتر$^{-1}$ NAA أعطت أعلى وزن طري للكالس المستحث من الأوراق بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة وبلغ 1.131 غم تلتها الأوساط المجهزة بالتراكيز 1 ملغم لتر$^{-1}$ BA + 1 ملغم لتر$^{-1}$ NAA التي أعطت متوسط وزن طري 1.127 غم، في حين أعطت معاملة 1 ملغم لتر$^{-1}$ BA + 4 ملغم لتر$^{-1}$ NAA اقل متوسط وزن طري للكالس بلغ 0.685 غم وأعطت معاملات 1 BA + 2 NAA و 1.5 BA + 1 NAA و 1.5 BA + 4 NAA ملغم لتر$^{-1}$ متوسط وزن طري للكالس بلغ 0.807 و 0.773 و 0.733 غم على التتابع، ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقاً معنوية بين المعاملات.

الوزن الجاف (غم): تبين نتائج تأثير التداخل بين BA و NAA في صفة الوزن الجاف للكالس (الجدول 3) أن معاملة 1 ملغم لتر$^{-1}$ BA+ 1 ملغم لتر$^{-1}$ NAA أعطت أعلى وزن للكالس المستحث من الأوراق بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة بلغ 0.089 غم، تلتها معاملة 1 ملغم لتر$^{-1}$ BA + 2 ملغم لتر$^{-1}$ NAA التي أعطت متوسط وزن جاف بلغ 0.085 غم، في حين أعطت الأوساط المجهزة بتركيزي 1 ملغم لتر$^{-1}$ BA + 4 ملغم لتر$^{-1}$ NAA اقل وزن جاف للكالس بلغ 0.045 غم وأعطت معاملات 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ BA + 1 أو 2 أو 4 ملغم لتر$^{-1}$ متوسط وزن جاف للكالس بلغ 0.071 و 0.077 و 0.058 غم على التتابع، ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقاً معنوية بين المعاملات.

النمو الجيد للكالس في وسط الزراعة يحصل بفعل التوازن الفسيولوجي لنسيج الكالس والمدعم بتركيز الأوكسين والسايتوكاينين، وان زيادة تركيز أي منهما على حساب الآخر سوف يؤثر سلبا في نمو الكالس (Mineo، 1990)، وان إضافة كلا منظمي النمو إلى وسط الزراعة ضروري لاستحثاث الكالس إذ يعمل السايتوكاينين بتوافر الأوكسين بوصفه مفتاحاً لبدء الانقسام الخلوي (Skoog و Miller، 1957). اختلاف استجابة الجزء النباتي المزروع إلى توليفات الاوكسينات والسايتوكاينين قد يعود إلى اختلاف محتواها الداخلي من الهرمونات النباتية وهذه بدورها تؤثر على بلوغ التركيز المثالي في استحثاث الكالس من الأوكسين أو السايتوكاينين عند إضافتهما إلى الوسط الغذائي.

الجدول 3 . تأثير اضافة BA مع NAA في نسبة تكون الكالس ووزنه الطري والجاف المستحث من الأوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS

تراكيز منظمي النمو (ملغم لتر$^{-1}$)		نسبة تكون الكالس %	الوزن الطري (غم)	الوزن الجاف (غم)
BA	NAA			
1	1	a 80	a 1.127	a 0.089
	2	a 90	a 0.807	a 0.085
	4	ab 50	a 0.685	a 0.045
1.5	1	ab 60	a 0.773	a 0.071
	2	ab 70	a 1.131	a 0.077
	4	b 30	a 0.733	a 0.058

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا بحسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

1 - 4: تأثير اضافة Kin. مع NAA في نشوء الكالس ونموه

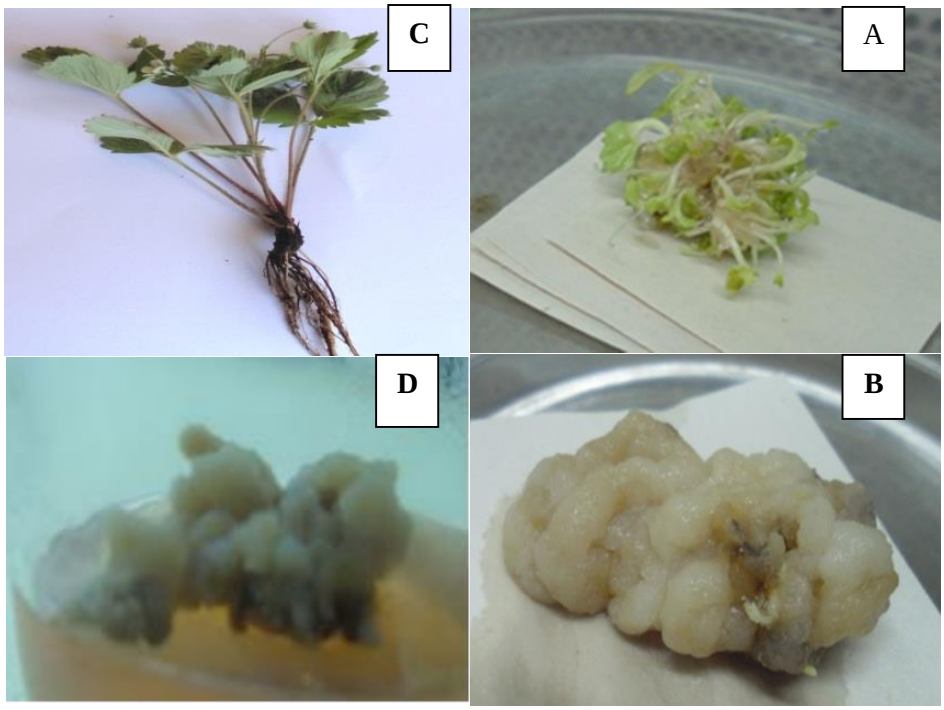
نسبة تكون الكالس: تظهر النتائج الموضحة في الجدول 4 تأثير تداخل Kin. و BA إن أعلى نسبة لتكون الكالس بلغت 60% في معاملة 1 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 1 ملغم لتر$^{-1}$ NAA، في حين بلغت اقل نسبة 20% في الأوساط المجهزة بتركيزي 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 1 ملغم لتر$^{-1}$ NAA وبلغت نسبة تكون الكالس50% لجميع المعاملات الأخرى، ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقاً معنوية بين المعاملات.

الوزن الطري (غم): تبين النتائج في الجدول 4 تأثير تداخل Kin. مع NAA وجود فروقٍ معنوية بين المعاملات في صفة الوزن الطري للكالس بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة إذ تفوقت المعاملة 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 1 ملغم لتر$^{-1}$ NAA على المعاملات جميعاً وأعطت 2.107 غم قطعة ورقية$^{-1}$، في حين بلغ اقل وزن طري للكالس المستحث 0.337 غم في الوسط الغذائي المجهز بتركيز 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 2 ملغم لتر$^{-1}$ NAA وبفارق معنوي عن معاملتي 1 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 1 أو 2 ملغم لتر$^{-1}$ NAA اللتين أعطتا وزناً طرياً بلغ 1.230 و 1.010 غم على التتابع، في حين أعطت الأوساط المجهزة بتركيز 1 أو 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 4 ملغم لتر$^{-1}$ NAA متوسط وزن طري للكالس بلغ 0.596 و 0.443 غم على التتابع (صورة 1).

الجدول 4. تأثير تداخل Kinetin مع NAA في نسبة تكون الكالس ووزنه الطري والجاف المستحث من الأوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS

تراكيز منظمي النمو ملغم لتر$^{-1}$		نسبة تكون الكالس %	الوزن الطري (غم)	الوزن الجاف (غم)
Kinetin	NAA			
1	1	a 60	b 1.230	b 0.099
	2	a 50	bc 1.010	c 0.066
	4	a 50	bcd 0.596	cd 0.049
1.5	1	a 20	a 2.107	a 0.127
	2	a 50	d 0.337	cd 0.039
	4	a 40	cd 0.443	d 0.035

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا بحسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.



صورة 1. كالس شليك ناشئ على وسط غذائي MS بعد مرور8 أسابيع من الزراعة، A – الافرع النسيجية للنوع *vesca* المستخدمة في نشوء الكالس B – كالس النوع *vesca* للوسط المضاف له 1 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 1 ملغم لتر$^{-1}$ NAA ، C- نبات النوع vesca النامي في الظلة، D – الصنف Salwan في وسط مضاف له إضافة 1 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 1 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D

الوزن الجاف (غم): تشير النتائج (الجدول 4) حول تأثير تداخل Kin. مع NAA إلى ظهور فروقٍ معنوية بين المعاملات في صفة الوزن الجاف للكالس بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة، إذ تفوقت المعاملة 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ Kin.+ 1 ملغم لتر$^{-1}$ NAA في إعطاء أعلى قيمة للوزن الجاف بلغت 0.127 غم، في حين بلغت اقل قيمة 0.035 غم في الوسط المجهز بتركيز 1.5ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 4 ملغم لتر$^{-1}$ NAA وبفارق معنوي عن معاملتي 1 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 1 أو 2 ملغم لتر$^{-1}$ NAA اللتين أعطتا متوسط وزن جاف للكالس بلغ 0.099 و 0.066 غم على التتابع وأعطت معاملتا 1 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 4 ملغم لتر$^{-1}$ NAA و 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ Kin. + 2 ملغم لتر$^{-1}$ NAA متوسطاً للوزن الجاف بلغ 0.049 و 0.039 غم على التتابع.

قد يعود السبب في نجاح نشوء الكالس ونموه عند تداخل الكاينتين مع NAA إلى حصول حالة التوازن بين السايتوكاينين والاوكسين التي أشار إليها Skoog و Miller (1957) إذ إن الاوكسينات والسايتوكاينينات تستخدم عادة في جميع تقنيات زراعة الأنسجة النباتية لما لها من اثر بارز ومهم في استحثاث نسيج الكالس ونموه من جهة ونشوء وتضاعف الفروع الخضرية وتكوين الجذور عليها من جهة أخرى (George وآخرون، 2008) مما يؤكد أن منظمات النمو تعد من العوامل الأساسية لنجاح زراعة الأنسجة النباتية، وقد أتفقت بعض الدراسات إلى دور تداخل السايتوكاينين والاوكسين في نشوء الكالس ونموه ومنها ما وجده Karim وآخرون (2011) عند زراعتهم الأجزاء الورقية للشليك أن تداخل NAA مع BA و 2,4-D مع BA أعطى نسبة تكون للكالس بلغت 93.33%، وقام Biswas وآخرون (2010) باستحثاث الكالس من زراعة نصل الورقة والعقدة وقطع المدادات للشليك، أما Truong وآخرون (2012)، فقد حفزوا نشوء الكالس من البراعم الزهرية للشليك.

Meryctin: تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقا معنوية بين المعاملات في كمية مركب Meryctin المفصول من العينات (الجدول 5)، إذ تفوقت الأوراق للنوع vesca في إعطاء أعلى كمية بلغت 163.56 مايكروغرام مل$^{-1}$، تلتها كميتة في الجذور للشليك vesca وبلغت 127.05 مايكروغرام مل$^{-1}$، في حين بلغت اقل كمية 48.19 مايكروغرام مل$^{-1}$ في الكالس المزروع على الأوساط الغذائية المجهزة بمنظمي النمو NAA +BA، وأعطت الأوراق للصنف Salwan وإزهار الشليك vesca كمية لمركب Meryctin بلغت 108.04 و 96.48 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع، في حين أعطى الكالس المزروع على الأوساط الغذائية المجهزة بمنظمات النمو 2,4-D و 2,4-D + Kin. و NAA + Kin. محتوى لمركب Meryctin بلغت 87.90 و 50.66 و 106.82 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع.

Ellagic acid: تبين النتائج الموضحة في الجدول 5 تفوق كالس الشليك Salwan المجهز بـ.Kin + NAA وأعطت 167.55 مايكروغرام مل$^{-1}$، تلتها أوراق الشليك vesca التي أعطت 156.05 مايكروغرام مل$^{-1}$، في حين بلغت اقل كمية له في أزهار vesca وبلغت 84.54 مايكروغرام مل$^{-1}$، وأعطى الكالس المزروع على الأوساط الغذائية المجهزة بمنظمات النمو 2,4-D و 2,4-D + Kin. و أوراق الصنف Salwan وجذور الشليك vesca كمية لمركب Ellagic acid بلغت 106.95 و131.68 و 118.23 و 130.46 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع، في حين لم تظهر أي قراءة للمركب في الكالس المزروع على الوسط الغذائي المجهز بـNAA+BA، وبينت نتائج اختبار t فروقا معنوية بين المعاملات.

Camphene: توضح النتائج (الجدول 5) ان كمية مركب Camphene المفصولة من الكالس فروقاً معنوية بين العينات على وفق اختبار t، وتفوق الكالس للشليك vesca المزروع على الوسط الغذائي المجهز بمنظمي النمو NAA + Kin. بكمية بلغت 230.51 مايكروغرام مل$^{-1}$، تلتها الأوراق والجذور للنوع vesca وأعطت 207.23 و 220.71 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع، في حين بلغت اقل كمية 24.35 مايكروغرام مل$^{-1}$ في أزهار الشليك vesca، وأعطى الكالس المزروع على الأوساط الغذائية المجهزة بمنظمات النمو 2,4-D و 2,4-D + Kin. و وأوراق الصنف Salwan كمية لمركب Camphene بلغت 140.09 و 141.14 و68.43 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع، في حين لم تظهر أي قراءة للمركب في عينة الكالس المزروع على الوسط الغذائي المجهز بـ NAA +BA.

الجدول 5. المركبات الفينولية المفصولة بتقنية الفصل الكروموتوكرافيHPLC من الكالس والاجزاء النباتية لنبات الشليك *Fragaria vesca* والصنف Salwan

Camphene	Ellagic acid	Meryctin	p-hydroxy benzoic acid	Alpha penine	المركبات الفينولية / العينات النباتية
140.09	106.950	87.90	59.63	28.66	2,4-D Salwan callus
141.14	131.68	50.66	45.18	52.81	2,4-D+Kin. Salwan callus
--	--	48.19	--	42.51	NAA+BA Salwan callus
68.43	118.23	108.04	115.11	34.06	Salwan leave
230.51	167.55	106.82	42.66	35.92	NAA +Kin. vesca callus
207.23	156.05	163.56	86.22	--	Vesca leave
220.71	130.46	127.05	124.90	--	Vesca roots
24.35	84.54	96.48	106.28	130.34	Vesca flowers
**4.930	**11.922	**7.288	**6.405	3.426 n.s	قيمة اختيار T

Caffic acid: توضح نتائج التحليل الإحصائي (الجدول 6) فروقاً معنوية بين الاجزاء النباتية المختلفة على وفق اختبار t في كميات مركب Caffic acid المفصولة من عينات الشليك، وتفوقت الأوراق للنوع vesca في أعطاء أعلى كمية بلغت 277.53 مايكروغرام مل$^{-1}$، تلتها كميتة في كالس النبات نفسه المزروع على الوسط الغذائي المجهز بمنظمي النمو .NAA + Kin وبلغت 206.24 مايكروغرام مل$^{-1}$، في حين بلغت اقل كمية للمركب 34.36 مايكروغرام مل$^{-1}$ في أزهار الشليك vesca، وأعطى الكالس المزروع على الوسط المجهز بمنظمات النمو .2,4-D + Kin وNAA + BA وأوراق الصنف Salwan وجذور النبات الحقلي vesca كمية لمركب Caffic acid بلغت 133.60 و134.75 و98.48 و141.49 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع، في حين لم تظهر قراءة للمركب في الكالس المزروع على وسط مجهز ب 2,4-D (الشكل 1).

Ferulic acid: تشير النتائج الموضحة في الجدول 6 إلى تفوق الجذور للشليك vesca في أعطاء أعلى كمية لمركب Ferulic acid بلغت 135.60 مايكروغرام مل$^{-1}$، تلتها كميتة في الأوراق والأزهار للنوع vesca النامي في الحقل التي أعطت 104.22 و 118.36 مايكروغرام مل$^{-1}$، في حين بلغت اقل كمية للمركب 52.32 مايكروغرام مل$^{-1}$ في الكالس للنوع vesca المزروع على الوسط الغذائي المجهز بمنظمي النمو .NAA + Kin ، وأعطت عينات الكالس للشليك Salwan لكل من 2,4-D و.Kin + 2,4-D مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع، أما محتوى المركب في أوراق الصنف Salwan فقد بلغت 95.83 مايكروغرام مل$^{-1}$، وبينت نتائج اختبار t فروقٍ معنوية بين المعاملات.

Gallic acid: تبين النتائج الموضحة في الجدول 6 تفوق الأوراق للنوع vesca في محتواها من مركب Gallic acid وأعطت 134.21 مايكروغرام مل$^{-1}$، في حين بلغت اقل كمية للمركب في الكالس للصنف Salwan المزروع على الأوساط الغذائية المجهزة بمنظمات النمو 2,4-D و NAA + BA وبلغت 45.20 و 41.48 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع، وأعطى الكالس للشليك Salwan المزروع على وسط

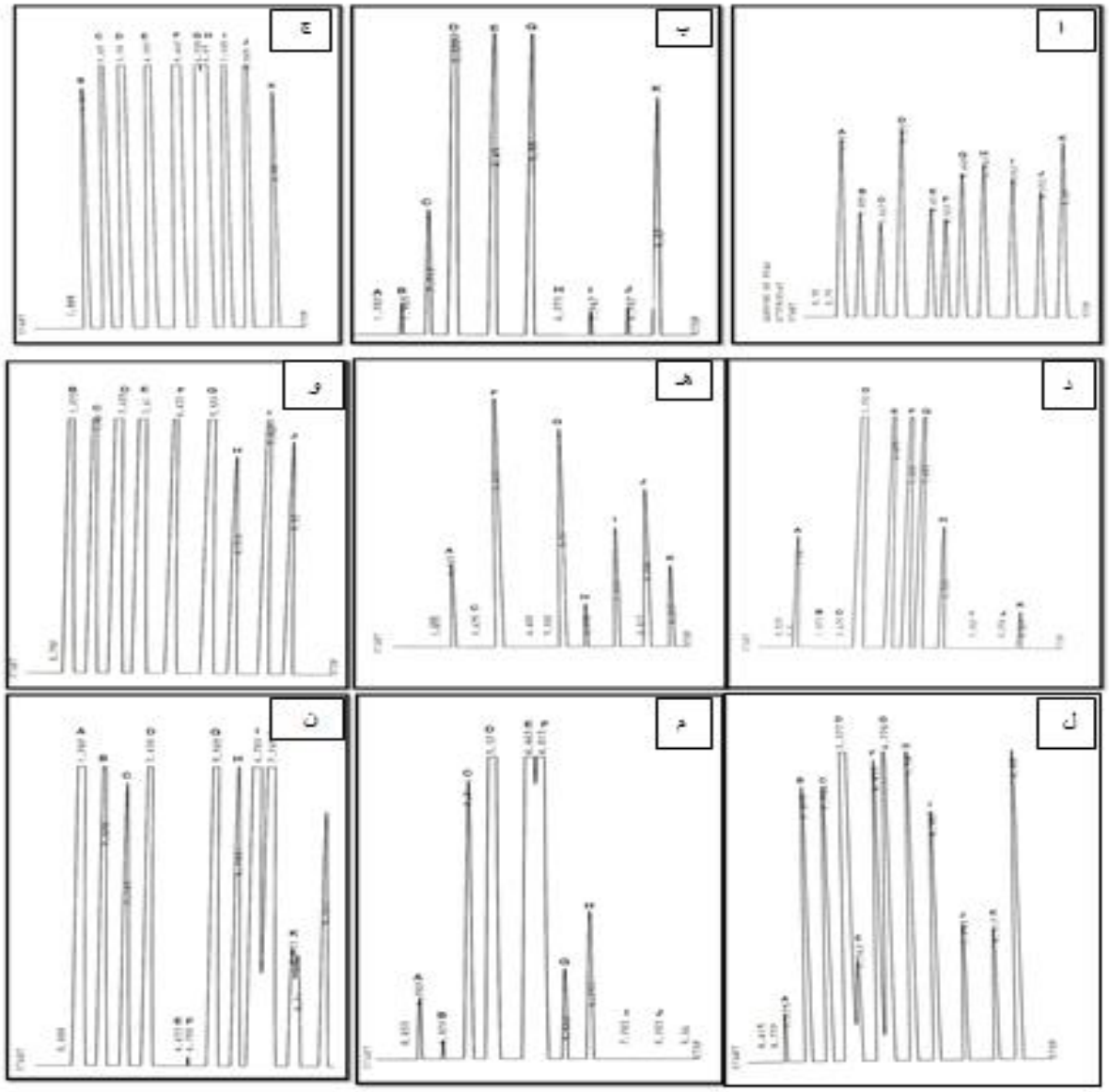
2,4-D + Kin. وأوراق الصنف Salwan كمية لمركب Gallic acid بلغت 63.21 و 84.44 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع، اما محتوى المركب في الكالس للنوع vesca المزروع على الوسط الغذائي المجهز بمنظمي النمو NAA + Kin. والجذور والأزهار للشليك vesca فقد بلغت 59.15 و64.89 و70.89 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع، وبينت نتائج اختبار t وجود فروقاً معنوية بين المعاملات.

Comarins: تظهر نتائج التحليل الإحصائي (الجدول 6) وجود فروقٍ معنوية بين العينات على وفق اختبار t في كمية مركب Comarins، تفوقت أزهار الشليك vesca في إعطاء أعلى كمية له بلغت 208.29 مايكروغرام مل$^{-1}$ وبفارق معنوي عن بقية العينات الأخرى، في حين أعطى الكالس المزروع على الأوساط الغذائية المجهزة بمنظمات النمو 2,4-D + Kin. و NAA + Kin. اقل كمية للمركب بلغت 38.15 و17.54 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع للصنفين Salwan و vesca وأعطت أوراق الصنف Salwan وجذور الشليك vesca والكالس للنوع Salwan المزروع على الاوساط الغذائية المجهزة بـ 2,4-D و NAA + BA كمية لمركب Comarins بلغت 83.04 و 93.82 و 51.87 و58.18 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع.

Quercetin: تشير النتائج الموضحة في الجدول 6 إلى تفوق أزهار الشليك vesca وأعطت 213.70 مايكروغرام مل$^{-1}$، تلتها عينات الكالس للصنف Salwan المزروع على الوسط الغذائي المجهز بمنظمي النمو NAA + BA وأوراق النوع vesca إذ أعطت 191.99 و 118.89 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع وبفارق معنوي على وفق اختبار t على بقية العينات الأخرى في حين بلغت اقل كمية لمركب Quercetin في الكالس المستحث من الوسط الغذائي المجهز بمنظمات النمو 2,4-D + Kin. و Kin. + NAA للصنفين Salwan و vesca والتي أعطت 29.91 و 22.51 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع، أما محتوى المركب في الكالس للصنف Salwan المزروع على وسط 2,4-D وأوراق النباتات النامية في الحقل لنفس الصنف وجذور الشليك vesca فقد بلغت 52.95 و 63.82 و 80.12 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع.

الجدول 6. المركبات الفينولية المفصولة بتقنية الفصل الكروموتوكرافي HPLC من الكالس والاجزاء النباتية لنبات الشليك *Fragaria vesca* والصنف Salwan

Catachin	Quercetin	Comarins	Gallic acid	Ferulic acid	Caffic acid	المركبات الفينولية / العينات النباتية
74.04	52.95	51.87	45.20	94.97	--	2,4-D Salwan callus
48.90	29.91	38.15	63.21	99.07	133.60	2,4-D+Kin. Salwan callus
62.07	191.99	58.18	41.48	77.03	134.75	NAA+BA Salwan callus
48.43	63.82	83.04	84.44	95.83	98.48	Salwan leave
--	22.51	17.59	59.15	52.32	206.24	NAA +Kin. vesca callus
64.26	118.89	122.51	134.21	104.22	277.53	vesca leave
--	80.12	93.82	64.89	135.60	141.49	vesca roots
32.27	213.70	208.29	70.89	118.36	34.36	vesca flowers
**9.019	**3.770	**3.942	**6.785	**10.903	**4.995	قيمة اختيار T



الشكل 1. منحنيات الفينولات المفصولة بتقنية الكروماتوكرافيا من عينات نبات الشليك *Fragaria vesca* وSalwan
(أ- المحلول القياسي، ب- 2,4-D Salwan callus ، ج -vesca leave، د- 2,4-D+ Kin. Salwan callus، هـ- NAA+BA Salwan callus و- vesca root، ل- vesca leave، م- NAA + Kin. vesca callus ، ن - (vesca flower

Catachin: تظهر النتائج (الجدول 6) تفوق الكالس للصنف Salwan المزروع على الوسط الغذائي المجهز بمنظم النمو 2,4-D في أعطاء أعلى كمية لمركب Catachin آذ بلغت 74.04 مايكروغرام مل$^{-1}$ تلتها عينات الكالس للصنف Salwan المزروع على الوسط الغذائي المجهز بمنظمي النموNAA + BA وأوراق الشليك vesca التي أعطت كمية للمركب بلغت 62.07 و 64.26 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع وبلغ محتوى المركب في الكالس المزروع على وسط مجهز بـ .2,4-D + Kin والأوراق النامية في الحقل للصنف Salwan، 48.90 و 48.43 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع، في حين لم تظهر قراءة لمركب Catachin في معاملتي الكالس النامي على وسط .NAA + Kin وجذور الشليك vesca، وبينت نتائج اختبار t فروقاً معنوية بين المعاملات.

بينت نتائج تقدير المركبات الفينولية من أنسجة الكالس والأنسجة النامية في الحقل إن تراكيز المواد المفصولة كانت بمستويات عالية في الأنسجة النامية في الحقل قياساً بكمياتها في أنسجة الكالس. وهذه النتيجة تعد طبيعية كون الأنسجة المتخصصة تنتج المركبات الثانوية بكميات أعلى من الأنسجة البرنكيمية غير المتخصصة (Ramawat ، 2004)، باستثناء مركب Ellagic acid و Camphene في كالس الشليك vesca ومركب Catachin في كالس الشليك Salwan. وبينت نتائج إضافة الاوكسينات 2,4-D و NAA مع السايتوكاينينات BA و .Kin، إن إضافة الكاينتين إلى 2,4-D زاد مستويات معظم المركبات المفصولة وأدى إلى رفع تركيز Caffic acid الى 133.60 مايكروغرام مل$^{-1}$، في حين لم تظهر له قراءة عند إضافة 2,4-D منفرداً. أما الكالس المزروع على وسط مجهز بـ NAA مع BA فقد تبين ان مستويات المركبات المفصولة قد انخفضت في معظم المركبات المفصولة ولم تظهر قراءات لمركبات P-hydroxy benzoic acid و Ellagic acid و Camphene، في حين أن مركب Quercetin زاده تركيزه بنسبة تصل إلى 400% في هذه المعاملة. وهذه النتائج تشير إلى مستويات استجابة مختلفة تبعاً لنوع المركب وعلاقته بمنظمات النمو النباتية والتي تلعب دوراً مهماً في زيادة أو تقليل إنتاج المركبات الثانوية (Ramawat، 2004).

المصادر

الزبيدي، لمى ذنون صالح .2004. التقدير الكمي لمركب الدايوسجنين في الكالس والمعلقات الخلوية والجذور الشعرية لنبات الحلبة .*Trigonella foenum* graecum بتقنية كروماتوغرافيا السائل العالي الكفاءة. رسالة ماجستير، كلية التربية - جامعة الموصل، العراق.

الساهوكي، مدحت مجيد وكريمة وهيب. 1990. تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب، دار الحكمة للطباعة والنشر، الموصل، العراق.

السعيدي، إبراهيم حسن. 2000. إنتاج الثمار الصغيرة. دار الكتب والنشر، جامعة الموصل، العراق.

العزاوي، عماد خلف نجم. 2012. استجابة نبات الشليك للإكثار، ونشوء الكالس، وإنتاج بعض المركبات الطبية خارج الجسم الحي، رسالة ماجستير، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة ديالى، العراق.

فهمي، فكري جلال محمد. 2003. زراعة الأنسجة، دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع، مصر.

محمد، عبد المطلب سيد ومبشر صالح عمر. 1990. المفاهيم الرئيسية في زراعة الخلايا والأنسجة والأعضاء للنبات، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جامعة الموصل، العراق.

Aaby, K. D. E. and G. Skrede. 2007. Characterization of phenolic compounds in Strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) fruits by different HPLC detectors and contribution of individual to total antioxidant capacity. *J. Agric Food Chem.* 55: 4395–4406.

Aharoni, A. CHR. D., HA. Verhoeven, CA. Maliepaard, G. Kruppa, R. Bino and DB. Goodenow. 2002. Nontargeted metabolome analysis by use of fourier transform ion cyclotron mass spectrometry. OMICS 6: 217–234.

Aprona, P. 2006. Micropropagation and field evaluation of strawberry in bangladish, M. Sc. Thesis, Department of Botany, University of Rajishahi, Bangladesh.

Biswas, M. K., U. K. Roy, I. Rafiul and H. Monzur. 2010. Callus culture from leaf blade nodal and runner segments of three strawberry (*Fragaria sp*) clones. *Turk. J. Biol*. 34: 75- 80.

Drawert, F. and R. G. Berger.1983. Biogenesis of arema compound in plant and fruits XVIII: Influence of particle size on aroma biosynthesis in fruit essence. *Z. Lebensm Unters forsch*. 176: 275- 280.

Dodds, J. H. and L. W. Roberts .1985 . "Experiments in Plant Tissue Cultures". Cambridge University Press, UK.

George, E. F., M. A. Hall and G. D. Klerk. 2008. Plant Propagation by Tissue Culture. 3rd edition. published by springler, pp: 1 - 479.

Hadi, S. M. 1999. Production vinblastine and vincristine from callus tissue of *catharnthus roseus* using plants tissue culture technique. M. Sc. Thesis Collage of Science, Baghdad University, Iraq.

Hanhineva, K., I. Rogachev, H. Kokko, S. Mintz-Oron, I. Venger, S. Karenlampi and A. Aharoni. 2008. Non-targeted analysis of spatial metabolite composition in strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) flowers. *Phytochemistry,* 69: 2463–2481.

Hong, Y. C. A., L. C. Huang, G. A. Reineccius, S. K. Harlander and T. P. Labuza. 1990. Production of aroma compounds from strawberry cell suspension cultures by addition of precursors. *Plant Cell Tissue and Organ Cult*. 21(3): 245 -251.

Hukkanen, A. T., HI. Kokko, AJ. Buchala, GJ. McDougall, Stewart D. S. O. Karenlampi and R. O. Karjalainen. 2007. Benzothiadiazole induces the accumulation of phenolics and improves resistance to powdery mildew in Strawberries. *J. Agric. Food Chem.* 55: 1862–1870.

Karim, M. R., M. Abdul Aziz, U. K. Roy, M. A. Hoque and M. M. Hossain. 2011. *In vitro* response of strawberry (*Fragaria ananassa* Duch) for callus induction and shoot regeneration. *Int. J. Agr. Agri. Res*., 1(1): 29-36.

Khatun, M. M., M. H. Ali and N. V. Desamero. 2003. Effect of genotype and culture media on callus formation and plant regeneration from mature seed scutella culture in rice. *Plant Tiss. Cult*. 13(2): 99-107.

Maatta-Riihinen, K. R., A. Kamal-Eldin and R. Trrnen. 2004 . Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus species* (Family Rosaceae). *J. Agric. Food Chem*. 52: 6178–6187.

Mineo, L. 1990. Plant Tissue Culture Techniques. Pp: 151-174. *In:* C.A. Goldman, (Editor), Tested Studies for Laboratory Teaching. V. 11.

Proceeding of the 11th workshop/conference of the association for biology laboratory education (ABLE), 195 p.

Mohammad, A. M. S. and S. A. Abood. 1989. Propagation of lettuce (*Lactuca sativa* L. c.n. longiflora) by tissue culture. *Agri. Biol. Chem*., 51: 1320-1324.

Murashige, T. and F. Skooge. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant*. 15: 473 -497.

Park, S. V., M. R. Uddian, H. xu Y. K. Kim and S. Y. lee. 2008. Biotechnological applications for rosmarinic acid production in plant. *Afr. J. of Biot*. 7(25): 4954 – 4965.

Purohit, S. S. 1999. Agricultural Biotechnology. Agro Botanica, J. N. V. Yas Nagger, Bikaner, India.

Ramawat, K. G. 2004. Plant Biotechnology. S. Chand and Company LTD New Delhi, India.

SAS. 1996. Statistical Analysis System, release7, SAS Institute Inc. Cary. N.C. USA.

Skoog, F. and C. O. Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. symp. *Soc. Exp. Biol*. 11: 118 – 148.

Trigiano, R. N. and D. J. Gray. 1996. Plant Tissue Culture Concepts: An Laboratory Exercises. Boca Raton, Fl CRC Inc., pp: 11-17.

Truong, X. N., Y. Susong and M. P. Sung. 2012. Haploid plant production through another culture in Day-Neutral strawberry (*Fragaria ananassa* Duch) *J. ISSAN*. 18(1): 173-184.

Wiesman, Z., J. Riov, and E. Epstein. 1989. Characterization and rooting ability of indol-3-butyric acid conjugates formed during rooting of mung bean cuttings. *Plant Physiol.*, 91: 1080-1084.

EFFECT OF PLANT GROWTH REGULATORS AND TYPE OF EXPLANT ON PHENOLIC PRODUCTION FROM STRAWBERRY PLANT IN VIVO AND *IN VITRO*

Ayad Assi Obaid[1,3] Wessam Malek Dawood[2] Emad Khalaf Al-Azawy[2]

[1]Dept. of Horticulture, College of Agric., Univ. of Diyala, Iraq.
[2]College of Education for Pure Sciences, Univ. of Diyala, Iraq.

[3]Corresponding author: Ayadassi73@gmail.com

ABSTRACT

This experiment was conducted in the plastic house and the Lath house /College of Agriculture/ Diyala University while the tissue experiment was conducted in the plant tissue culture lab./ Horticulture Dept./ College of Agriculture/ Diyala University. The aim of this research is to study the effect of plant growth regulators on initiation of callus and phenolic compound in callus and comparing them with the plants in the field. The effect of the interaction of 2,4-D with Kin. or BA. The result showed when the medium supplemented with 1 mg l^{-1} Kin. + 1 or 2 mg l^{-1} 2,4-D increase the fresh and dry weight of callus to 2.560 and 0.146 g respectively. The results of the effect of interaction NAA with BA or Kin. The result showed when the medium supplemented with 1.5 mg l^{-1} Kin. + 1 mg l^{-1} NAA increase the fresh and dry weight of callus to 2.107 g and 0.127 g respectively. On the experiment of evaluating phenolices from the callus and the planted tissues in the field, the results showed that the particular tissues gave the high levels of phenolices compounds as compared to callus tissues. The leaf of *Fragaria vesca* gave high quantity of merycitn compounds and caffic acid and gallic acid. The flowers of the same type gave the quantity of alpha penine compounds, comarine and quercetin. The roots of the same type gave high quantity of P-hydroxy benzoic acid and ferulic acid. The callus of the same type gave the high quantity of camphene compound and ellagic acid, while Salwan type gave high quantity of catachin compound.

Key words: Strawberry, Callus, Plant Growth Regulators, Phenolic Compounds.