مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (39) العدد (6) 2017
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (39) No. (6) 2017

Micropropgation of Carnation (Diantus caryophll L)

Dr. Hussin Al-athba*
Ahed Rashid**

(Received 27 / 9 / 2017. Accepted 12 / 11 /2017)

□ ABSTRACT □

The aim of the study was to examine shoots (1-2cm) containing (shoot tips and node segments) which were excised and surface – disinfected , they were cultured on MS (Murashige and Skoog 1962) , then placed onto based medium containing a combination of growth regulators at different concentrations (BAP, NAA, GA3) . After that they were placed into MS based medium containing NAA at different concentrations. Result showed that the highest number of growth was 39.6 when (1.33µM BAP+1 µMNAA) were adding , while the highest of the growth was 5.1 cm in medium MS5 after adding ((1.33µM BAP+1 µMNAA+2.4 µM GA3) . The observed rooting was (6.9 root,5.7cm length and %64 in percentage of rooting) in R3 (MS+ 7.33 µMNAA) . Acclimatized plants grow well under greenhouse condition(%85) .

Key word ; in vitro **m**icropropagation , growth regulators , *Diantus caryophll*

*Botany Department -Faculty of science Damascus University – Syria

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (39) العدد (6) 2017
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (39) No. (6) 2017

الإكثار الدقيق لنبات *Diantus caryophll*

د. حسين العذبة*
عهد رشيد**

(تاريخ الإيداع 27 / 9 / 2017. قبل للنشر في 12 / 11 / 2017)

□ ملخّص □

لقد تم تطوير تقنية لإكثار نبات القرنفل المعمر *Diantus caryophll* مخبريا بمعدل إكثار مرتفع بواسطة تقنية زراعة الأنسجة النباتية بدأ من أفرع بطول (1-2) سم وتحتوي على العقد والقمم النامية . والتي زرعت في أنابيب أختبار تحوي وسطا مغذيا MS (Murashige and Skoog 1962) وبعد ذلك أ كثرت على وسط MS مضاف إليه منظمات نمو مختلفة (أمينو بيورين PAB ، ونفثالين أسيتك أسيد NAA ، والجبريلين GA3) و ثم زرعت النموات الخضرية الناتجة على وسط MS يحتوي تراكيز مختلفة من NAA من أجل تجذيرها ، أوضحت النتائج تشكل أكبر عدد للنموات 39.6 في المعاملة MS3 التي تحتوي 1.33 µM من *BAP و NAA 1µM. في حين لوحظ أكبر طول للنموات 5.1 سم في المعاملة MS5 التي تحتوي GA3 2.4µM+1.33µMBAP+1µMNAA* . أما في مرحلة التجذير فكانت للمعاملة R3 التي تحتوي MS+7.3µMNAA القضلى . إذ كانت نسبة التجذير 64% *وعدد الجذور 6.9% ، أما طولها فكان 5.7 سم وكانت الأقلمة 85%* .

الكلمات المفتاحية : إكثار دقيق ، القرنفل ، زراعة الأنسجة ، منظمات النمو .

---

* قسم علم الحياة النباتية ، كلية العلوم ، جامعة دمشق

مقدمة

يعد نبات القرنفل *Dianths caryophyllus* من نباتات الزينة والطبية والعطرية المهمة وتمتاز بوجود المواد الفعالة الهامة من الناحية الطبية والصيدلانية والصناعية لاستخدام زيتها العطري الطيار في صناعة الأدوية والعطور ومساحيق التجميل .ويزرع نبات القرنفل على نطاق واسع في الحدائق المنزلية والعامة كنبات زينة ، إذ يزرع في الأصص ويعد من أزهار القطف المهمة لتميزها بجمال أزهارها و طول فترة تزهيرها .القرنفل من النباتات العشبية المعمرة التي تعطي أزهارا كثيرة ذات ألوان جذابة ورائحة عطرية مميزة.وقد تناوله الكثير من العلماء بالتربية والتحسين والتهجين.حيث جرى الكثير من الدراسات الوراثية على الأصول البرية بدأ من القرن السادس عشر، وما الأصناف التي تزرع في أيامنا هذه ضمن الزراعات المحمية إلا أصناف جديدة تختلف اختلافا كبيرا عن الأصول البرية التي كانت قصيرة في ارتفاعاتها وتفتح أزهارها خلال الصيف فقط (نبيل البطل ، 2004). وباستمرار عمليات التهجين و الانتخاب بين الأنواع المستنبطة أصبح في متناول المنتج أصناف ذات أزهار مختلفة الألوان والأحجام وكلها تتميز بموسم إزهار طويل ، ولهذا تحتل زراعة المحصول مكانة تزداد يوما بعد يوم .

لقد لجأ العلماء و الباحثين خلال الستون السنة الأخيرة إلى علم زراعة الأنسجة النباتية ، من أجل تطوير وتحسين الإنتاج ، وإنتاج أعداد كبيرة من النباتات المتماثلة والخالية من الفيروسات والأمراض. وأجريت العديد من الأبحاث الأكاديمية كانت من نتيجتها زيادة الفهم عن كيفية تمييز وكشف تكوين الأعضاء أو الأجزاء النباتية المفصولة والمنماة في البيئات الصناعية ، وأدت أيضا إلى ابتكار العديد من الطرق الحديثة في هذا المجال وأمكن توجيه تلك الأبحاث الأكاديمية لخدمة النواحي التطبيقية في سبيل تطوير الإنتاج الزراعي والتغلب على العديد من المشاكل التي تواجه إنتاج نقاوي للمحاصيل (**Villabobs, A 1986**) .

تشير بعض المصادر إلى أن زراعة أنسجة نبات القرنفل بدأت في سنة (Ston,O.M.1963) إذ أمكن الحصول على النباتات الكاملة من القرنفل بزراعة القمة النامية على أوساط غذائية صناعية .

نبات القرنفل

المواد وطرائق العمل

نفذ هذا البحث في مخبر زراعة الأنسجة النباتية بكلية العلوم – قسم علم الحياة النباتية – جامعة دمشق .

المادة النباتية : نبات أم وحيد من القرنفل حصل عليه من مشتل تجاري لنباتات الزينة .وأستخدم كمصدر وحيد للأجزاء النباتية التي استخدمت طول التجربة .

مراحل تنفيذ البحث:

1- **مرحلة إعداد الجزء النباتي المستخدم في التكاثر وزراعته في بيئة معقمة :**

تعتبر هذه المرحلة من أهم مراحل زراعة الأنسجة حيث يتم فصل النسيج النباتي تحت ظروف التعقيم وزراعته في بيئة صناعية ثم حفظه في حضانات تحت درجة حرارة ورطوبة

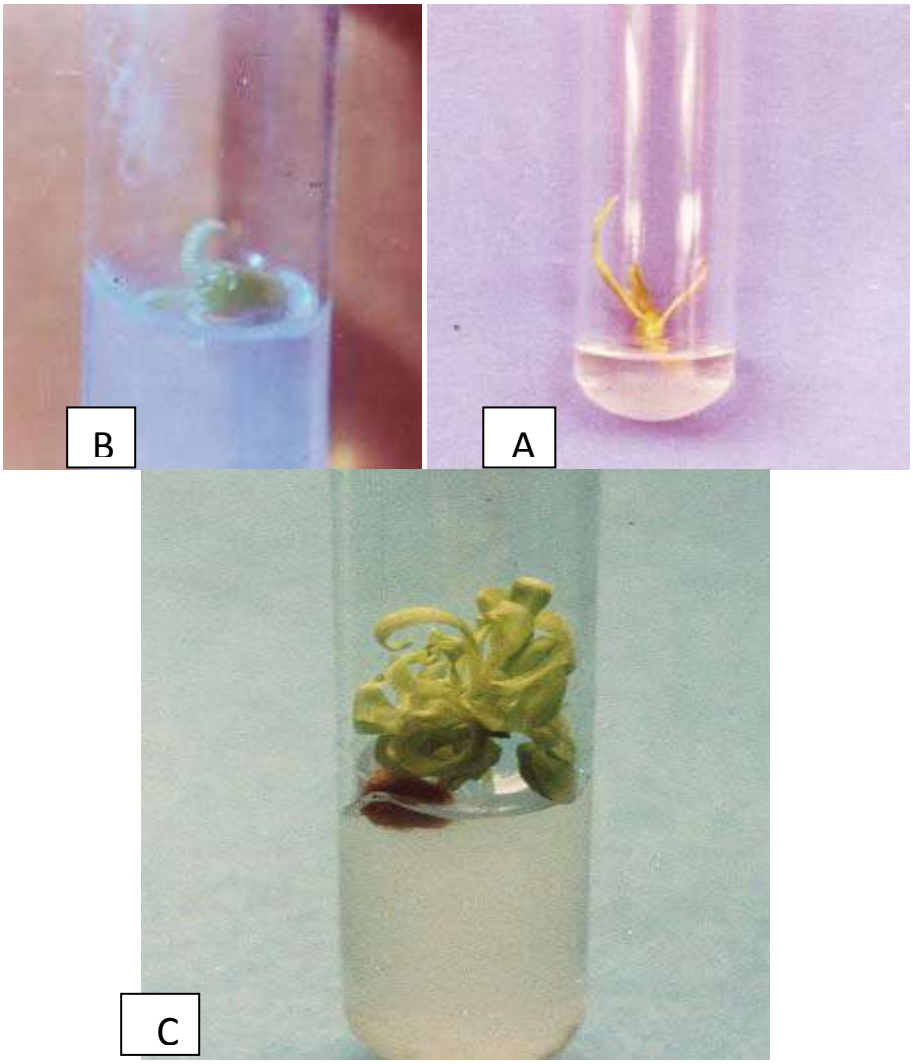
وإضاءة معينة .لقد استخلصت القمم النامية مع 2- 3 أزواج من الأوراق بطول حوالي (1-2) سم . جمعت الأجزاء النباتية ووضعت في أوعية زجاجية ثم غسلت تحت الماء الجاري مدة ساعة ، ثم عقمت بالمبيد الفطري اكوبسين بتركيز 0.5 % مدة 15 دقيقة ، غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات ،وذلك قبل إخضاعها للتعقيم السطحي تحت جهاز العزل الجرثومي بحسب المعاملات الواضحة في الجدول الأول ، وأضيف محلول Tween 20 وبمعدل قطرة واحدة إلى كل 100مل من محلول التعقيم من أجل خفض التوتر السطحي وزيادة تماس الأجزاء النباتية مع مادة التعقيم وبعد التعقيم غسلت الأجزاء النباتية ثلاث مرات بالماء المقطر مدة خمس دقائق لكل مرة للتخلص من آثار المادة المعقمة .

الجدول (1) معاملات التعقيم المستعملة في مرحلة الزراعات الأولية

رقم المعاملة	معاملات التعقيم	عدد القمم المزروعة
1	كلوركس 20 % مدة 10 دقائق	85
2	كلوركس 20 % مدة 5 دقائق	85
3	كلوركس 15 % مدة 10 دقائق	85
4	كلوركس 15 % مدة 5 دقائق	85
5	كلور الزئبق 0.1 % مدة 1 دقيقة	85
6	كلور الزئبق 0.1 % مدة 1.5 دقيقة	85
7	كلور الزئبق 0.1 % مدة 2 دقيقة	85

زرعت الأجزاء النباتية المعقمة بطول(2 -1) سم في أنابيب أختبار على وسط الزراعة التأسيسة MS والخالي من منظمات النمو وذلك مدة ثلاثة أسابيع، وحضنت الزراعات في غرفة النمو في الشروط التالية :

- درجة الحرارة 24±1 م نهارا و16±1 م ليلا
- مدة الإضاءة 16 ساعة إضاءة و 8 ساعات ظلام في أثناء النمو
- شدة الإضاءة 2000-3000 لوكس عند مستوى الزراعات . الشكل (1) .



الشكل (1) الزراعة التاسيسية A الأسبوع الأول ، B الأسبوع الثاني ،C الأسبوع الثالث

2 – **مرحلة الإكثار أو التضاعف :**

تهدف هذه المرحلة إلى زيادة أعداد الخلايا النباتية في المخبر حيث تنقل النبيتات النامية (النموات) إلى بيئة أخرى ذات تركيب كيميائي معين لتشجيع تكوين فروع جديدة للنباتات ويتم تكرار هذه العملية حتى نحصل على الأعداد المطلوبة من النبات . في هذه المرحلة وبعد ثلاثة أسابيع من الزراعة التأسيسية تم أخذ النبيتات الخضرية المتشكلة والخالية من الملوثات وزرعت على عدة معاملات إكثار (أوساط غذائية مضاف إليها تراكيز من منظمات النمو المختلفة)موضحة

بالجدول (2) . جرت الزراعة بأوعية زجاجية وبمعدل 30 مكرر / معاملة إذ أضيف إلى الوعاء 30 مل من الوسط المغذي وحضنت الزرعات في غرفة النمو بنفس الشروط السابقة اشكل (2) .

الجدول (2) التوافقات الهرمونية في إكثار نبات Dianths caryophyllus مخبريا in vitro

منظم النمو / رمز المعاملة	BAP(µM)	NAA(µM)	GA3(µM)
MS0	0	0	0
MS1	0.44	1	0
MS2	0.88	1	0
MS3	1.33	1	0
MS4	2.22	1	0
MS5	1.33	1	2.4
MS6	2.22	1	2.4

الشكل (2) : مرحلة الإكثار ، (A) حجم النبيتات الزراعية التي يعاد زراعتها (0.5-2) سم.
(B) تشكل النموات الخضرية الجديدة بعد اربعة اسابيع .

2- مرحلة تجذير النموات الخضرية :

نقلت النباتات الناتجة في مرحلة الإكثار السابقة و بطول 4-5 سم إلى بيئة التجذير ومضافا إليها تراكيز مختلفة من نفثالين أسيتك أسيد NAA وفق الجدول (3). جرت عملية الزراعة بأوعية زجاجية وبمعدل 25/ معاملة ، إذ أضيف إلى الوعاء 30 مل من الوسط المغذي وبعد 15 يوما نقلت إلى وسط MS خال من الهرمونات وحضنت النباتات ضمن الشروط ذاتها الخاصة بمرحلة الإكثار. في نهاية هذه المرحلة وبعد 4 أسابيع من الزراعة على بيئة التجذير ، أخذت النتائج بالنسبة إلى عدد الجذور وطولها ونسبة التجذير .

الجدول (3) المعاملات المستعملة في تجذير نبات القرنفل مخبريا

رمز المعاملة	منظم النمو NAA(µM)
R1	2.4
R2	4.9
R3	7.3
R4	9.8
R0	0

3-تقسية النباتات :

في هذه المرحلة يتم استخراج النبيتات الناتجة عن عملية التجذير من الأنابيب وغسل الجذور بالماء غسلا جيدا لإزالة آثار الأغار وزرعها في أصص بلاستيكية تحوي خليطا معقما من التورب والبرليت بنسبة 1/2 (حجم/حجم) من أجل عملية الأقلمة ، وغطيت بأكياس بلاستيكية شفافة للمحافظة على الرطوبة العالية وحضنت بظروف غرفة النمو في درجة حرارة 1±23 نهارا و 1±16 ليلا وشدة إضاءة 2000-3000 لوكس ورطوبة 70% وذلك مدة أربع أسابيع مع تثقيب تدريجي للأكياس حتى إزالتها تماما بهدف تقليل الرطوبة تدريجيا تمهيدا لمرحلة التأسيس في الحقل بعد 35 يوما بعد الزراعة .

4- **التحليل الإحصائي :**

حللت النتائج باستخدام البرنامج الإحصائي SPSS وفق اختبار دونكان لمقارنة متوسطات 30 عينة نباتية لكل إكثار و25 عينة نباتية لكل معاملة تجذير علما أن النتائج أعيدت ثلاث مرات وقورنت المتوسطات عند مستوى المعنوية 0.05%.

النتائج والمناقشة

التطهير السطحي للأجزاء النباتية :

توضح النتائج في الجدول (4) تأثير معاملات التعقيم المختلفة النبيتات الحية بعد أربع أسابيع من الزراعة على بيئة الإدخال ، وقد تبين أفضل نتيجة تم الحصول عليها عند أستخدام كلوركس (هيبوكلوريد الصوديوم) بنسبة 15% ولمدة 10 دقائق .إذ وصلت النسبة المئوية للنبيتات الحية الخالية من التلوث 71.59% ، كما تظهر النتائج إن الكلوركس أظهر كفاءة تعقيم أفضل من كلوريد الزئبق بشكل واضح ، إذ وصل متوسط النسبة المئوية للنبيتات الحية وغير الملوثة 56.71 عند استعمالنا كلوركس 15%/10 دقائق ، في حين لم يتعد المتوسط 14.253 عند استعمال كلوريد الزئبق وهذا ما يتوافق مع ماتوصلا إليه Jona and Minini) 1990) ، حيث تؤدي التراكيز المرتفعة من الكلوركس إلى تهتك الأنسجة وكذلك تؤدي التراكيز المرتفعة من كلوريد الزئبق إلى السمية (Lizarraga et al.1991) ،في حين أدى استخدام التراكيز المنخفضة من الكلوركس إلى فعالية عالية في عملية التطهير السطحي في معظم النبيتات المكاثرة مخبريا مقارنة بمواد أخرى منخفضة التأثير نتيجة انخفاض معدل النفاذية عبر الأغشية الخلوية مثل (الكلوركس) وهي النتيجة ذاتها توصلا إليها Pevalek and Jelaska,1987)) ، إلا إنه وبشكل عام هنالك دور

هام وفعال حين أختبار النبات الأم للحصول على الخزعة النباتية وتطهيرها سطحيا بحيث يتم تقليل معدل التلوث إلى أقل قدر ممكن تكون فيه هذه الخزع صالحة للزراعة مخبريا .

الجدول (4) كفاءة معاملات التعقيم المستخدمة في مرحلة الزراعات الأولية

رقم المعاملة	معاملات التعقيم	عدد القمم المزروعة	عدد القمم الملوثة	عدد القمم الميتة	عدد القمم الحية	النسبة المئوية للقمم الحية %	متوسط النتائج بحسب نوع مادة التعقيم
1	كلوركس 20% مدة 10 د	85	14	46	25	29.41	
2	كلوركس 20% مدة 5 د	85	13	20	52	61.17	
3	كلوركس 15% مدة 10 د	85	13	12	60	71.59	56.717
4	كلوركس 15% مدة 5 د	85	17	13	55	64.70	
5	كلوريد الزئبق 0.1 مدة 1د	85	20	45	20	23.52	
6	كلوريد الزئبق 0.1مدة1.5د	85	13	57	10	17.64	14.253
7	كلوريد الزئبق 0.1مدة2د	85	19	44	22	25.88	

إكثار النموات الخضرية مخبريا :

درس تأثير توافقات هرمونية مختلفة من البنزيل أمينو بيورين BAP مع نفثالين أستيك أسيد NAA والجبريلين GA3 في متوسط عدد النبيتات الجديدة المتشكلة وطولها ويوضح الجدول (5) هذه النتائج .

الجدول (5) تأثير التوافقات الهرمونية المختلفة إكثار النبيتات الخضرية لنبات

Dianths caryophyllus (متوسط 30 جزءا نباتيا ± الخطأ المعياري SE)

رمز الوسط	تركيب الوسط (µM)	متوسط طول النبيتات (سم)	متوسط عدد النبيتات/خزعة
MS0	MS	4.1±0.02b	2.6±0.02c
MS1	MS+0.44BAP+1NAA	1.35±0.07c	19.78±0.08bc
MS2	MS+0.88BAP+1NAA	1.43±0.05bc	25.3±0.01b
MS3	MS+1.33BAP+1NAA	3.81±0.05bc	39.61±o.o1a
MS4	MS+2.22BAP+1NAA	2.42±0.04cb	29.22±o.07b
MS5	MS+1.33BAP+1NAA+2.4GA3	5.11±00.01c	39.61±0.01a
MS6	MS+2.22BAP+1NAA+2.4GA3	3.08±0.08bc	29.21±0.07b

الأرقام ذات الحروف المختلفة في العمود يوجد بينها فروق معنوية عند مستوى المعنوية 0.05%.

توضح النتائج في الجدول (5) تأثير المعاملات بتراكيز مختلفة من منظمات النمو البنزيل أمينو بيورين BAP والنفثالين أسيتك آسيد NAAوالجبريلين GA3 في متوسط عدد النموات الجديدة المتشكلة وطولها ، أدت المعاملات المدروسة جميعها إلى زيادة متوسط نمو الأفرع مقارنة بالشاهد MS0 الخالي من منظمات النمو .

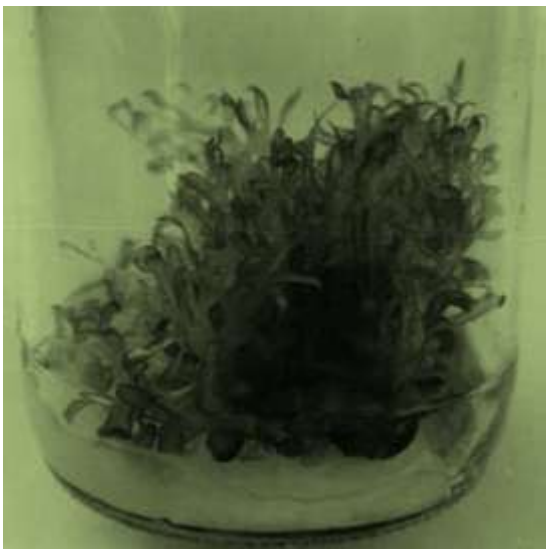
وكذلك تبين أن المعاملة MS5 وMS3 أعطت النتائج من حيث تأثيرها في متوسط عدد النموات الجديدة المتشكلة ، إذ بلغ متوسط عدد النموات 39.61 كل أربعة أسابيع من نمو واحد وكذلك الفروق المعنوية مع المعاملة MS1وMS2 ،أما بالنسبة إلى متوسط طول النموات فكانت المعاملة MS5 هي الفضلى إذ بلغ متوسط طول النموات على هذا الوسط 5.11 سم لكل نمو بعد 4 أسابيع بدءا من نمو واحد وكانت الفروق معنوية مع باقي المعاملات (شكل 3,4) . من جهة أخرى أدت زيادة تركيز السيتوكينينات إلى خفض معدل الإكثار معنوياً مقارنة بباقي المعاملات ومن دون فروق معنوية مقارنة بالشاهد وذلك لأن السيتوكينين يحفز الإنقسام الخلوي والنمو القطري الشعاعي فيزيد من معدل الإكثار في النبات وهذا يتطابق مع ما توصلا إليه (Pyoot& Joverse, 1981) ويحدث ذلك حين استخدام السيتوكينين بتراكيز منخفضة أو حينما يكون حجم الخزعة النباتية صغيرا مما يزيد في معدل الاستجابة لعمليات الإنقسام الخلوي حسب (Huang ,1984) وهذا يتطابق مع نتائج الدراسة الحالية .

لوحظ أن وجود الأكسينات في أوساط الإكثار ضرورية لتعزيز دور السيتوكينينات لتحفيز النمو وتكوين نموات جديدة وزيادة معدل الإكثار، وهذا يتوافق مع ما توصل إليه (Pieri et,1987)،

و قد أشار (Conti etl 1991) أن هذا يعود على الصنف المدروس ونوع الهرمون وتركيزه .ولكن بشكل عام فإن التركيز المنخفض من الأكسين يعد مهماً في مرحلة الإكثار لما له من تأثير فيزيولوجي مباشر في زيادة معدل النفاذية الخلوية والزيادة الأسموزية ومن ثم تعديل النظام الأسموزي وزيادة معدل نسخ المادة الوراثية وتكوين بروتينات جديدة ويتوافق ذلك مع ما أشار إليه (Rossignol et al 1990) .

إن إضافة الجبريلين إلى أساط الإكثار يؤدي إلى زيادة طول النموات ويختلف تأثير هذا الهرمون باختلاف الأنواع النباتية . كما أن له دوراً في زيادة مساحة سطح الورقة ((Christison& warmick,1988).

أدى استعمال (BAP) بتركيز 1.33 ميكرومول مع (NAA) بتراكيز 1ميكومول مضافا إليها 2.4 ميكرومول (GA3) إلى الحصول على أفضل معدل نمو إذ وصل متوسط عدد النموات الجديدة المتشكلة بدءاً من برعم واحد إلى 39.61 نمواً ومتوسط طولها إلى 5.11 سم وهذه النتيجة لا تتوافق مع ما توصلا إليه (Austarita & Santaren ,2003) .



الشكل (3) وسط MS3

الشكل (4) وسط MS5

مرحلة التجذير:

توضح النتائج في الجدول (6) تأثير معاملات الأكسين (NAA) المختلفة في معدل التجذير وعدد الجذور المتشكلة وطولها

الجدول (6) تأثير المعاملات المختلفة في تجذير نبات القرنفل Dianths caryophyllusمخبرياً

رمز الوسط	تركيب الوسط µM	النسبة المئوية للتجذير	متوسط طول الجذر سم	متوسط عدد الجذور
R1	MS+2.4NAA	%22	3.6 ± 0.01c	3.2 ± 0.04b
R2	MS+4.9NAA	%40	3.1 ± 0.04c	3.4± 0.06b
R3	MS+7.3NAA	%64	5.7 ± 0.01b	6.9 ± 0.02a
R4	MS+9.8NAA	%49	6.3 ± 0.04a	4.9 ± 0.03b
R0	MS	%0	0	0

تختلف المتوسطات عن بعضها عند مستوى المعنوية 0.05 %

تبين من خلال النتائج التي حصل عليها أن أعلى نسبة تجذير 64% لقد تم الحصول عليها في وسط يحوي (NAA) بتركيز 7.3µM وبلغ متوسط عدد الجذور 6.9 ومتوسط طول الجذر 5.7 فكانت المعاملة R3 هي الفضلى وبفروق معنوية عن بقية المعاملات، الشكل (5). وجاءت نتائج التجذير في هذا البحث متوافقة مع نتائج العديد من الباحثين وقد أشار (Gupta ,1968) و (Fitch,1987) و (Vuylsteke ,1989) إلى أنه من المفضل في مرحلة التجذير زراعة النباتات على بيئة لا تحوي سيتوكينين فهو هرمون الإكثار والإنقسام الخلوي ومن ثم يتم تثبيط أفرع جديدة والحد من نمو براعم جانبية وتشجيع تكوين مبادئ الجذور . كما أن تأثير الأكسين في عملية التجذير يختلف بحسب تركيزه ونوعه ووجود أكسين واحد أو عدة أكسينات بالوسط .ولكن بشكل عام يعمل الأكسين على زيادة معدل التباين الأيوني والنفاذية الخلوية والنشاط الأنزيمي ومعدل نقل الشوارد حسب ما أشار إليه (Rossignol et al 1990,) . تكوين الجذور على الأفرع المزروعة ونتيجة دوره المهم والمباشر في أهم مرحلة من مراحل التجذير وهي مرحلة الدفع الجذري ويتطابق هذا التفسير مع توصل إليه (Haissing ,1986)

الشكل (5) تجذير الوسط R3

أقلمة النباتات الناتجة عن عملية التجذير(التقسية) :

لقد استجابت نبيتات القرنفل المجذرة مخبرياً إلى عملية التقسية في البيت الزجاجي الشكل (6,7) وذلك ضمن خلطة معقمة مؤلفة من التورب والبرليت بنسبة 1/2 (حجم /حجم) التي تم إمدادها في

البداية برطوبة عالية ومن ثم تم تجفيفها تدريجياً إلى أن تأقلمت مع الوسط الخارجي حيث وصلت بذلك نسبة نجاح التقسية إلى 85% من النباتات قابلة للحياة بعد ثلاثة أشهر من النقل وهذه النسبة تعد جيدة لأن مرحلة التقسية هي من المراحل الحرجة بالنسبة إلى الإكثار الخضري. الشكل (7,6) .

الشكل (7) : نبيتات مؤقلمة من القرنفل (8 أسابيع)

الاستنتاجات والتوصيات :

جرى الإكثار الخضري الدقيق لنبات القرنفل Dianths caryophyllus بطريقة زراعةالأنسجة النباتية بهدف الحصول على أعداد كبيرة من هذا النبات ذات مواصفات جيدة وخالية من الأمراض وفي وقت قصير ولهذا يمكن تحديد التوصيات الثلاث :

1- أدت الزراعة على وسط (MS+1.33µMBAP+1µMNAA+2.4µMGA3) إلى أفضل وسط للإكثار الخضري من حيث عدد النبيتات وطولها .

2- أدت الزراعة على وسط (MS+7.3µMNAA) إلى أفضل وسط للتجذير من حيث نسبة التجذير وعدد الجذور .

3- يوصى باستخدام هذه الطريقة تجارياً للحصول على أعداد كبيرة من هذا النبات بهدف استخلاص المواد الفعالة منه بعد زراعته مخبرياً .

المراجع

1-نبيل البطل ، نباتات الزينة المحمية ، منشورات جامعة دمشق ، (2005-2004).

2-الباحثون المصريون ،علم استنساخ النبات وزراعة الأنسجة ، (2016) .

3-الغيطاني ، محمد يسري. "الزهور ونباتات الزينة وتنسيق الحدائق". 1994، مطابع دار المعارف

4-المطلب سيد ومبشر صالح عمر. "المفاهيم الرئيسية لزراعة الخلايا والانسجة والاعضاء في النبات". دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق 1990.

5-قصاب باشي،بشار زكي ، أمين عمار زكي،تضاعف وتجذير أطراف فروع نبات القرنفل Dianthus بزراعة الأنسجة. ، (2006)

1- Austarita , L. and Santarem E, (2003) . Multiple shoot formation in Hypricum perfor atum L . and hypericin production porto Alegre . R.S. Brasil.

2-Ahmadian ,M .Babaei, a. S,Shokri Hessami,S. 2017 Micropropgation of Carnation*(Diantus caryophll L)* In liquid medium by temporary bioreactor in comparison *with solid culture* .Journal of Genetic Engineering and Biotechnology.

3 - A,H, Mohamed . 2010 ,A Protoco Formass- Micropropgation of Carnation *(Diantu* caryphyllus L) The Journal of Horticultural Science and Biotechnology.volum 86 ,issue 2 .)

4- L. Rojas-Martínez, R.G. Visser, G.J. de Klerk Propag Ornament Plants, 10 (4) (2010), pp. 169-175

5- . Conti, I.; Frangi, P.; Tosca, A. and Verga, P. (1991). Breeding clones of gerbera hybrids suitable to micropropagation and pot cultivation. Acta Hort., 300: 103-106.

6 - Fitsh, M. (1987). Propagation by means of tissue culture technique, organ culture Subtropica, 8:10-16

7 - Jona, R, and Menini, V. G. (1987). Tissue culture of selected tropical fruit plants. FAO and Agricultural organization of the United Nation, 29.124pp.

8-Jose L.Casas , Enique Q lmos , Abel Piqueras. 2010 . In vitro propagation of carnation (Dianthus caryophyllus L.).Methods Mol Biol. 2010;589:109-16. doi: 10.1007/978-1-60327-

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

10- Stone , O.M. Ann . Appl. Biol , 52 ; 199-209 (1963) .

11-. Pereira A. M. S., bertoni b. W., Lopes N. P., Paron M. E., França S. C. and Amarante, V. S. 2005. In vitro propagation and germplasm conservation of Lychnophora ericoides Mart: a medicinal species from the Brazilian cerrado. Rev. Fitos, 1, 69-73.

12 -Pevalek, K. B. and Jelaska, S. (1987). Microclonal propagation of prunus avium. Acta Hort., 212:599-601.

13 - Pierik, R. L. M. (1987). In vitro culture of higher plant. Martinus Nijhoff publishers, Dordrecht The Netherlands, 344pp. Hartmann, H.T. ; Kester, D.E. ; Davies, I.T. and Geveve, R.L. "Plant Propagation Principle and Practices". 7th ed., by Pearson Education, Inc., New York (2002).

14 - Rossignol, M.; Santoni, V.; Szponanski, W. and Vansuty, G. (1990). Differential sensitivity to auxin at the plasma membrane level. PP 498-503 in Nij Kamp et al., (eds) 1990(q.v.).

15 Warnik , D. A - Christison ,M.L. and. (1988) . Organogenesis in vitro as developmental process . Hort . Scien vol 23(3) ;115-119

16 -Saher, S., A. Piqueras, E. Hellin and E. Olmos. 2004 Hyperhydricity in micropropagted carnation shoots: the role of oxidative stress Physiologia Plantarum., 120(1): 152.

17-Short, K.C. and A.V. Robert. 1991. In vitro culture, micropropagation, and the production of secondary products. Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 15. Medicinal and

Verlag Berlin Heidelberg (1991). aromatic plants III (Ed.): Y.P.S. Bajaj. Springer-

18-Siddiqui F.A. 1993. A study of the elimination of sugarcane mosaic virus from ``Saccharum officinarum by means of In vitro

19- Vuylsteke, D. R. (1989). Shoot tip culture for propagation, coservation and exchange of musa germplasm, IB. PGR, Rom.

20- Villabobs, A.V.M. 1986. Obtaining virus-free carnation by In vitro culture of meristems and apices. Proceedings of the tropical region. Amer. Soci. Hort., 616: 227-230.

21- Yantcheva , A., M.A. Saher, S., A. Piqueras, E. Hellin and E. Olmos. 2004 Hyperhydricity in micropropagted carnation shoots: the role of oxidative stress Physiologia Plantarum., 120(1): 152.