الإكثار الخضري الدقيق لنبات *Spilanthes acmella* (L.) Murr. خارج الجسم الحي
In vitro micro propagation of *Spilanthes acmella* (L.) Murr.

بشرى محمد جابر علوش أنسام زهير جاسم
كلية العلوم للبنات/ جامعة بغداد
Bushra M. Jaber alwash Ansaam Z. jassim
College of Science for Women/ Baghdad University

المستخلص

أجريت هذه الدراسة بهدف إكثار نبات *Spilanthes acmella* L. Murr. لكونه نبات غير داخل في العراق ولأهميته الطبية والزراعية كنبات زينة فضلا عن استعمالاته الأخرى . عقمت البذور وزرعت على الوسط الغذائي MS ، أستعمل منظمي النمو Benzyladenin BA, Indole acetic acid IAA في مرحلة النشوء ، أما في مرحلة التضاعف فقد أستعمل IAA بالتداخل مع BA. جذّرت النبيتات باضافة Indole butyric acid IBA وتم أقلمتها . أظهرت النتائج ان مادة هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 1.5% لمدة 15 دقيقة كانت ذات كفاءة عالية في التعقيم . أعطت زراعة العقد أفضل النتائج مقارنة بزراعة القمم النامية والوريقات . ان أفضل تركيز لتحفيز نشوء الأفرع الجانبية هي 1.00 ملغم/لترBA اذ أعطت العقد متوسطا لعدد الأفرع بلغ 7.43فرع بطول 0.90 سم . وأظهرت النتائج ان أفضل توليفة للتضاعف هي IAA بالتركيز 0.1 و BA بالتراكيز 0.5 ,1.0 ,1.5 ملغم/لتر اذ أعطت متوسط عدد أفرع 12.00 ,10,84 ,10.00 فرع على التوالي . أما في مرحلة التجذير فكانت أفضل النتا نج على وسط MS نصف القوة بوجود IBA بالتراكيز0.1 ,0.5 ,1.0ملغم/لتر إذ أعطت 40.0 ,42.5 ,45.0 جذر وبأطوال 3.25 ، 3.80 ، 3.80 سم على التوالي . أما نتائج الأقلمة فقد وجد بأن أفضل الأوساط هو وسط 1 بتموس:1 تربة مزيجية والذي أعطى نسبة نجاح بلغت 100% بعد أربعة أسابيع من الزراعة . أظهرت النتائج إمكانية اكثار نبات *Spilanthes acmella* L. Murr. خارج الجسم الحي .

الكلمات المفتاحية: الإكثار الخضري، منظمات النمو ، *Spilanthes acmella*

Abstract

This study was aimed to *In vitro* propagation of *Spilanthes acmella* L. Murr. It is a medicinal plant not cultivated in Iraq. Seeds were sterilized and cultured on MS medium. Indole acetic acid IAA, Benzyladenin BA growth regulators' were used at the initiation stage. The combination between IAA and BA was used in multiplication stage. Indole butyric acid IBA was used for rooting the shoots. Results showed that 1.5% sodium hypochlorite for 15 min was very effective for disinfecting and survival. A node exhibited relatively highest response as compared with apical meristems and leaflets culture. Supplying the culture medium with 1mg/l. BA was effective for lateral shoot induction. The mean number of shoots obtained from nodes were 7.43 with a mean length 0.9 cm. Adding BA at 0.5, 1.0 or 1.5 and IAA at 0.1 mg/l. to the growth medium was effective for multiplication. Mean number of the developed shoots were 12.00, 10, 84, 10.00 respectively. Adding 0.1, 0.5, 1.0 mg/l IBA to the half strength MS medium was very effective in root formation which produced 45.0, 42.5, 40.0 roots respectively with mean length of 3.25, 3.80, 3.80 cm respectively. Results of acclimatization stage showed that addition of 1:1 Patmos and loamy soil gave the highest rate of survival 100% after 4 weeks of acclimatization. This study showed the ability of *in vitro* propagation of *Spilanthes acmella* (L.) Murr.

Key words: micro propagation, growth regulators, *Spilanthes acmella*

المقدمة

يعني الإكثار الخضري الدقيق للنباتات زراعة أجزاء صغيرة من النباتات مثل البراعم والعقد وقطع الاوراق وقطع الجذور ، الخ، في أوساط غذائية معقمة وتحضن تحت ظروف مسيطر عليها ، وتتميز النباتات الناتجة منها بالتماثل الوراثي مع النبات الام فضلا عن قصر المدة الزمنية التي تتطلبها مما يجعل الاكثار الدقيق مكملا مهما للطرائق التقليدية في الزراعة [2,1]، وظفت هذه التقنية بنجاح على المستوى التجاري بانتاج أعداد كبيرة من النباتات المتجانسة والمتشابهة وانتاج نباتات خالية من المسببات المرضية وخاصة الفيروسية وتستعمل بصورة واسعة النباتات المهمة اقتصاديا واكثار نباتات الزينة وحماية النباتات النادرة أو المعرضة للانقراض[3].

يعد نبات *Spilanthes acmella* L. Murr. من نباتات الزينة فضلا عن كونه نبات طبي عشبي حولي أو ثنائي الحول ينتمي الى العائلة *Asteraceae*. يعرف هذا النبات بأسم Paracress اوToothache plant، تعد الأجزاء الجنوبية من البرازيل الموطن الاصلي للنبات ويكثر انتشاره في المناطق المدارية وشبه المدارية من العالم تشمل ماليزيا ، جنوب امريكا، شمال استراليا، افريقيا، وفي الهند . للنبات تطبيقات هائلة في مجال تصنيع المواد الصيدلانية ، الغذاء، ومستحضرات التجميل والعناية بالجسم وفي الطب الشعبي لعلاج الم الأسنان ، التهاب الفم ومشاكل الحنجرة . إن أزهار وأوراق النبات استعملت كتوابل تضاف للطعام . وثّق النبات لاستعماله كقاتل للحشرات، مضاد للأكسدة، محفّز للجهاز المناعي مضاد للالتهابات ، مضاد للبكتريا، مضاد للفطريات وذلك بسبب احتوائه على المركب الفعال spilanthol ذو التأثير البيولوجي المهم [4]. ولأهمية النبات الطبية واستعمالاته المتعددة ، فقد ازداد

البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثاني

الطلب العالمي على هذا النبات و استثمر بشكل كبير وواسع من قبل الناس المحليين والشركات الصيدلانية بالاضافة الى انخفاض نسبة انبات البذور وكفاءتها ، فقد أنحسر هذا النبات في السنوات الأخيرة بصورة سريعة في البلدان التي ينتشر فيها ونقصان كبير في اعدادها [6,5]. لذلك وظفّت تقانة الزراعة النسيجية في الإكثار الدقيق لهذا النبات. وبناءا على ما سبق من اهمية كبيرة للنبات بوصفه نباتا طبيا مهما[6] ولكونه غير داخل في العراق لحد الان ولا توجد اي بحوث او دراسات عليه في العراق لذلك فقد هدفت الدراسة الحالية الاكثار الدقيق للنبات بأعتباره نبات زينة وفي الصناعات الدوائية ومستحضرات التجميل بالإضافة الى حفظ المصادر النباتية.

المواد وطرائق العمل

نفذت التجارب بين عامي 2011-2012 في مختبر زراعة الأنسجة النباتية التابع لقسم علوم الحياة ، كلية العلوم للبنات، جامعة بغداد. واشتملت الدراسة على ما يلي:-

تعقيم الأجزاء النباتية

استعملت بذور نبات *Spilanthes acmella* L. Murr. التي تم الحصول عليها باستيرادها من شركة Pan American Seed الأميركية، غسلت لمدة 5-10 دقائق بماء الحنفية الجاري قبل البدء بعملية التعقيم ثم نقلت الى داخل كابينة انسياب الهواء الطبقي في غرفة الزرع. اختبرت مادة هايبوكلورات الصوديوم بتراكيز : 0.0, 1.5, 2, 2.5 ملغم/لتر وبمدد زمنية 0.0, 5, 10, 15 دقيقة لكل تركيز وذلك لمعرفة الطريقة المناسبة للتعقيم وسجلت النتائج بعد مرور أسبوع.

مرحلة تحضير الأجزاء النباتية

زرعت البذور في قناني زجاجية حاوية على وسط Murashige and Skoog MS [7] كامل القوة خالي من منظمات النمو وذلك بهدف الحصول على نبيتات معقمة وبعد مرور 25 يوماً من بدء الزراعة أصبحت البادرات جاهزة لت قطيعها الى عقد وقمم نامية وأجزاء الأوراق اذ استعملت كمصدر للأجزاء النباتية المعقمة في أغلب التجارب اللاحقة.

مرحلة النشوء

زرعت الأجزاء النباتية كلا على انفراد على وسط MS مضافا اليه Indole acetic acid IAA بالتراكيز 0 ,2 4 ,6 ,8ملغم/لتر و Benzyladenin BAبالتراكيز 0.00, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3 ملغم/لتر وبواقع 6 مكررات لكل جزء نباتي، وسجلت النتائج بعد مرور4 أسابيع من الزراعة.

مرحلة التضاعف

استعمل الوسط MS ودرس تأثير التداخل بين IAA بالتراكيز 0.0, 0.1, 1, 2, 4 ملغم/لتر و BA بالتراكيز 0.0, 0.5, 1.0, 1.5 ملغم/لتر وسجلت النتائج بعد 4 أسابيع من الزراعة وبواقع 6 مكررات لكل معاملة.

مرحلة التجذير

تم تحضير وسط MS بنصف قوة المغذيات الكبرى وقوة كاملة مضافا اليه Indole butyric acid IBA بالتراكيز 0.0, 0.1, 0.5, 1 ملغم /لتر وسجلت النتائج بعد اسبوعين من الزراعة.

مرحلة الأقلمة

غسلت النبيتات الناتجة من بقايا الأكار وعقمت بالمبيد الفطري Benomate بتركيز0.2% لمدة 0.5-1 دقيقة ونقلت الى اصص بلاستيكية مملوءة بمزيج من الخث الطحلبي Peatmoss وتربة مزيجية بالنسب بتموس :مزيجية (حجم:حجم) (0:1), (1:1), (1:0), (1:3), (1:2). غطيت الأصص بغطاء بلاستيكي لمدة أسبوعين بعدها تم تثقيب الأغطية بشكل متساو وزيادة عدد الثقوب تدريجيا ورفعها بشكل تدريجي ثم رفعت كليا وحسبت نسبة نجاح النبيتات المتأقلمة بعد 4 أسابيع.

التحليل الاحصائي

أستعمل البرنامج SAS,2004 في التحليل الإحصائي لدراسة تأثير العوامل المختلفة في الصفات المدروسة، وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار أقل فرق معنوي LSD [8].

النتائج والمناقشة

بينت النتائج ان التركيز 1.5%من هايبوكلورات الصوديوم ولمدة 15 دقيقة كان الأفضل في تحقيق نسبة بقاء بلغت 100% كما كانت خالية من التلوث، أما التراكيز والمدد الأقل فنسب التلوث فيها متوسطة، وأعطت التراكيز والمدد الأعلى نباتات ضعيفة النمو نسبيا ولم تظهر أي نسبة تلوث بسبب زيادة تركيز NaOCl وتأثيراتها السلبية على الزروعات.

مرحلة نشوء الزروعات

أشارت نتائج جدول (1) ان إضافة IAA الى الوسط الغذائي MS لم يكن له تأثيرا معنويا في متوسط عدد الأفرع لجميع الأجزاء النباتية. حققت العقد أعلى متوسط لعدد الأفرع المتكونة بلغت 2 فرع، أما القمم النامية فقد أعطت فرعا نباتيا واحدا ولجميع التراكيز المستعملة، بينما لم تستجب الوريقات لنشوء الأفرع حتى في معاملة السيطرة.

أما بالنسبة لطول الأفرع، كان للـ IAA تأثيرا معنويا في متوسط طول الأفرع المتكونة من العقد والقمم النامية ، إذ حققت القمم النامية أعلى متوسط لطول الأفرع بلغ 4.99 سم تلتها العقد بمتوسط طول 1.63 سم. إنَّ استجابة العقد والقمم النامية لوجود الـ IAA لوحده كانت ضعيفة ونمو البراعم كان بطيئاً وقد يرجع السبب في ذلك لدور الأوكسينات التي تعمل على تثبيط نمو المرستميات الجانبية أو ما يُعرف بتحفيز السيادة القمية [9].

جدول(1): تأثير تركيز الـ IAA (ملغم/لتر) في متوسط عدد الافرع المتكونة (فرع/ جزء نباتي) وأطوالها(سم) من الأجزاء النباتية للعقد والقمم النامية والوريقات لنبات *Spilanthes acmella* (L.) Murr. بعد أربعة أسابيع من الزراعة

تراكيز IAA	العقد		القمم النامية		الوريقات	
ملغم/ لتر	متوسط العدد	متوسط الطول	متوسط العدد	متوسط الطول	متوسط العدد	متوسط الطول
0.0	2.00	1.14	1.00	5.25	0.00	0.00
2.0	2.00	2.55	1.00	5.66	0.00	0.00
4.0	2.00	1.82	1.00	5.75	0.00	0.00
6.0	2.00	1.47	1.00	4.33	0.00	0.00
8.0	1.00	1.20	1.00	4.00	0.00	0.00
المتوسط	1.80	1.63	1.00	4.99	0.00	0.00

تشير نتائج جدول (2) الى ان إضافة BA الى الوسط الغذائي قد شجع على تكوين الأفرع بنسب مختلفة ، فقد حققت العقد أعلى متوسط لعدد الأفرع تلتها القمم النامية ثم أجزاء الأوراق مسجلة 5.72, 5.32 , 3.25 فرع/جزء نباتي على التوالي, ويلاحظ من الجدول نفسه بأن إضافة الـ BA وبالتراكيز كافة قد حقق زيادات معنوية في متوسط عدد الأفرع المتكونة وللأجزاء النباتية الثلاثة وصلت أقصاها 7.43 فرعا في العقدة عند إضافة 1.00 ملغم/لتر في الوقت الذي وصلت أقصاها 7.40 فرعا في ا لقمم النامية عند المعاملة 0.5 ملغم/لتر, أما الوريقات فقد سجلت أعلى متوسط لعدد الأفرع عند المعاملة 1.00 ملغم/لتر وصلت الى 6.20 فرع.

جدول(2): تأثير تراكيز مختلفة من هرمون BA (ملغم/لتر) في متوسط عدد الافرع المتكونة (فرع/ جزء نباتي) من الأجزاء النباتية للعقد والقمم النامية والوريقات لنبات *Spilanthes acmella* (L.) Murr. بعد أربعة أسابيع من زراعتها على وسط MS.

BA	العقد		القمم النامية		الوريقات	
ملغم/لتر	متوسط العدد	متوسط الطول	متوسط العدد	متوسط الطول	متوسط العدد	متوسط الطول
0.0	2.00	1.14	1.00	5.25	0.00	0.00
0.5	6.44	1.30	5.66	1.03	7.20	1.12
1.0	7.43	0.90	7.20	0.80	5.00	1.04
1.5	5.80	0.80	5.64	0.72	4.87	0.90
2.0	5.70	1.02	5.40	0.64	2.60	1.40
2.5	6.30	0.93	6.00	1.20	3.00	1.08
3.0	6.40	0.67	6.34	0.95	3.14	0.98
المتوسط	5.72	0.96	5.32	1.51	3.68	0.93
L.S.D 0.05	0.636*	0.218*	2.583*	2.055*	2.188*	0.376*

تتفق هذه النتائج مع [10] الذي حصل على أعلى نسبة تضاعف لأفرع نبات عين البزون وذلك عند تضمين الوسط 0.3 ملغم/لتر BA، وكذلك مع Haw [11] اللذان أشارا الى إن BA هو الأكثر تأثيرا في تحفيز تكوين الأفرع عندما لا يزيد التركيز عن 1.00 ملغم/لتر. ويعتمد ذلك على مدى استجابة النبات المستعمل [12] . وقد يعود السبب في تفوق المعاملة بـ BA في تفتح البراعم الى الفعل التحفيزي للـ BA في حث الخلايا على الانقسام والتمايز وينتج عن ذ لك تمايز الأنسجة المزروعة خارج الجسم الحي الى فروع خضرية. فقد أشار الكثير من الباحثين للدور الذي تؤديه السايتوكاينينات في التراكيز الملائمة في الزراعة النسيجية إذ تعمل على كسر السيادة القمية وتنشئ مناطق جذب في البراعم الجانبية تحفز من سرعة انتقال المغذيات اليها التي ينتج عنها تحفيز نشوء ونمو البراعم [13]. أما فيما يخص طول الأفرع المتكونة ، فقد أعطت القمم النامية أعلى متوسط لطول الأفرع تلتها العقد ثم الوريقات، إذ بلغت 1.51, 0.96, 0.93 سم /جزء نباتي على التوالي . ولوحظ حصول إنخفاض في متوسط طول الأفرع بزيادة ترا كيز الـ BA المضافة ربما يرجع السبب الى ان التراكيز العالية من الـ BA في الوسط الغذائي تؤدي الى إنخفاض في متوسط أطوال التفرعات لأن وجود تركيز عالي من BA أدى الى تقليل دور الاوكسين داخل التفرعات والأخير مسؤول عن عن إستطالة الخلايا ومن ثم تقليل أطوالها وهذا م ا أكده [14] عندما أضاف تراكيز مختلفة من الـ BA للأجزاء النباتية المستأصلة من بعض أصناف الكلاديولوس وكذلك [15]عند إكثاره لنبات *Lisianthus* ، إذ أعطت التراكيز العالية أقل متوسط لأطوال الأفرع . كما تبين نتائج الدراسة الحالية إختلاف الإستجابة بين العقد والقمم النامية والوريقات الذي قد يعزى الى عوامل فسلجية تتعلق في المحتوى الغذائي والهرموني للجزء النباتي [16] أو الى درجة نضج وتمايز الخلايا المكونة للحزم الوعائية التي تعتمد عليها عملية نقل المغذيات من الوسط الغذائي, وأشار [17] الى ان الأجزاء النباتية الكبيرة الحاوية على نسيج البرنكيما والأوعية الناقلة والكامبيوم ، تظهر إستجابة أفضل بغض النظر عن تراكيز كل من الأوكسين والسايتوكاينين في الوسط الغذائي أو الى كلا السببين السابقين وهذا ما أكد ه [15] عند إكثاره لنبات *Lisianthus* من أجزاء الأوراق والعقد والقمم النامية ، إذ لاحظ وجود إختلافات في الإستجابة بين تلك الأجزاء النباتية.

مرحلة التضاعف

يتضح من بيانات جدول (4,3) وجود فروقات معنوية بين كل من متوسط عدد الأفرع وأطوالها ، إذ كان للـ IAA,BA تأثيرا معنويا في عدد الأفرع المتكونة عند إضافتهما كلا على حدة الى الوسط الغذائي، أما في حالة التداخل فقد تفوقت التوليفة 0.5 ملغم/لترBA و0.1 ملغم/لترIAA على جميع التوليفات في عدد الأ فرع المتكونة إذ بلغ متوسط عدد الأفرع 12.00 فرعا للجزء النباتي الواحد وبمتوسط طول 3.38 سم شكل (1). إن معدل عدد الأفرع 12.00 فرع/ جزء نباتي يكون أعلى مما تم الحصول عليه من قبل [18] عند إكثارهم لنبات *Spilanthes acmella* (L.)Murr. إذ حصلوا على معدل عدد أفرع قدره 10 فرع / جزء نباتي.

جدول(3): تأثير تركيز BA و IAA (ملغم/ لتر) والتداخل بينهما في متوسط عدد الأفرع الناتجة من مرحلة التضاعف لنبات *Spilanthes acmella* (L.) Murr. بعد أربعة أسابيع من الزراعة

تركيز BA	تركيز IAA					المتوسط
	0.0	0.1	1.0	2.0	4.0	
0.0	3.33	3.60	3.00	2.03	1.02	2.60
0.5	8.20	12.00	6.80	6.40	3.60	7.40
1.0	7.00	10.84	6.20	5.60	3.50	6.63
1.5	6.30	10.00	5.40	5.00	2.90	5.92
المتوسط	2.60	9.11	5.35	4.76	11.02	---
L.S.D : لتركيز BA: *2.509 ، لتركيز IAA: *3.153 ، للتداخل: *6.374						

جدول(4): تأثير تركيز BA و IAA (ملغم/ لتر) والتداخل بينهما في متوسط طول الأفرع (سم)الناتجة من مرحلة التضاعف لنبات *Spilanthes acmella* (L.) Murr. بعد أربعة أسابيع من الزراعة

تركيز BA	تركيز IAA					المتوسط
	0.0	0.1	1.0	2.0	4.0	
0.0	3.82	3.90	3.66	2.14	1.20	2.94
0.5	3.20	3.38	4.20	2.72	2.80	3.26
1.0	2.25	2.44	3.60	2.96	3.00	2.85
1.5	1.12	1.30	2.00	1.00	1.32	1.35
المتوسط	2.59	2.75	3.36	2.20	2.08	---
قيم LSD : تركيز BA *1.256 ، تركيز IAA: *1.553 ، للتداخل: *1.874						

شكل(1): تضاعف الأفرع النامية على وسط MS مجهز ب 0.1 ملغم/لتر IAA و 0.5 ملغم/لترBA

مرحلة التجذير:

تشير بيانات جدول (5) الى وجود فروقات معنوية في متوسط عدد الجذور وأطوالها النامية على وسط MS كامل القوة ووسط MS بنصف قوة المغذيات الكبرى . إتصفت قابلية الأفرع لإنتاج الجذور في وسط MS كامل القوة بأنها قليلة وقصيرة مقارنة بوسط MS بنصف قوة المغذيات الكبرى، ويلاحظ من الجدول وجود علاقة طردية بين معدل عدد الجذور المتكونة وتراكيز IBA في وسطي MS كامل القوة و MS بنصف قوة الم غذيات الكبرى، وعلاقة عكسية بين معدل طول الجذور وتراكيز IBA في كلا الوسطين، كما أن عدد وطول الجذور في وسط MS نصف القوة بصورة عامة كانت أعلى مما هي في وسط MS كامل القوة وذلك اذ بلغ متوسط عدد الجذور في وسط MS نصف القوه 38.7 جذر/فرع نباتي بمتوسط طول 3.69 سم، بينما سجل وسط MS كامل القوه متوسط عدد جذور بلغ 30.27 جذر/فرع نباتي وبمتوسط طول 2.74 سم وذلك بعد مرور أسبوعين من الزراعة ، لوحظ ايضا زيادة عدد الجذور وإنخفاض أطوالها بزيادة تراكيز IBA بلغت أقصاها عند التركيز 1.0 ملغم/لترIBA سجلت أعلى متوسط لعدد الجذور بلغ 45.00 جذرا بمتوسط طول 3.25 سم ، في حين سجل وسط MS كامل القوة والخالي من منظمات النمو أقل متوسط لعدد الجذور المتكونة بلغ 14.83 جذر بمتوسط طول 3.60 سم .

جدول(5): تأثير تركيز IBA (ملغم/ لتر) في متوسط عدد الجذور وطولها (سم) لأفرع نبات *Spilanthes acmella* (L.) Murr. خارج الجسم الحي بعد اسبوعين من نقلها الى وسط MS بقوه كاملة ونصف قوه

الصفة	القوة	التركيز (ملغم/لتر)				المتوسط
		0.00	0.1	0.5	1.0	
متوسط عدد الجذور	كاملة	14.83	32.00	37.00	37.27	30.27
	نصف قوة	27.50	40.00	42.00	45.00	38.75
	المعدل	21.16	36.00	39.75	41.13	---
	قيم L.S.D		للقوة: *4.164 ،	للتركيز *5.563 ،		للتداخل *8.490
متوسط طول الجذور (سم)	كاملة	3.60	3.63	1.93	1.80	2.74
	نصف قوة	3.92	3.80	3.80	3.25	3.69
	المعدل	3.76	3.71	2.86	2.52	---
	قيم L.S.D		للقوة: *0.218 ،	للتركيز *0.266،		للتداخل *0.571

يؤدي الاوكسين المضاف الى وسط MS نصف القوة دوراً مهماً في تجذير أفرع نبات *Spilanthes acmella* L. Murr. وقد توصل [19] الى نتائج مماثلة عند تجذيرهم لأفرع نبات *Acmella calva* في وسط MS بنصف القوة إذ كان الـ IBA هو الأكثر تأثيرا في عدد الجذور المتكونة مقارنة بـ IAA وNAA، في حين حصل [6] على أفضل تجذير لأفرع نبات *Spilanthes acmella* في وسط MS كامل القوة والمجهز بـ 1.0 ملغم/لتر IBA تحت فترة إضاءة 18 ساعة. إنَّ اختزال تركيز الأملاح في الوسط الغذائي قد يُحفز النمو والتمايز وعندما يختزل تركيز الأملاح الى النصف أو الربع قد يؤدي الى تحفيز تكوين الجذور للأفرع المزروعة لأن هذا يؤدي الى زيادة قوة تأثير المواد الكاربوهيدراتية (السكروز) وبالتالي تحفيز نمو الجذور [20،21].

مرحلة الأقلمة

من خلال بيانات جدول(6) لوحظ وجود فروقات بين مكونات الترب المستعملة, كانت أقل نسبة للبقاء بعد 4 أسابيع للنبيتات المزروعة في الأصص الحاوية على تربة مزيجية فقط بلغت 65%، أما أعلى نسبة للقاء فهي في الأصص الحاوية على بتموس : تربة مزيجية بنسبة 1:1 في حين كانت قيمتها 83% في المزجة 0:1 و88.88 في المزجة 1:3 شكل (2).

إن هذه الاختلافات قد تعود الى أن وسط البتموس يحتفظ بالرطوبة ذات المحتوى الجيد من العناصر الغذائية، وذات نسجة خفيفة وتهوية جيدة على الجذور الجديدة المتكونة النمو فيها، وقد يرجع سبب انخفاض نسب النجاح في وسط الرمل الى عدم إحتفا ظ هذا الوسط بالرطوبة إضافة الى افتقاره للمواد الغذائية [14].

جدول (6): النسبة المئوية لبقاء النبيتات المؤقلمة *Spilanthes acmella* (L.) Murr. الناتجة عن الزراعة النسيجية

نسبة البقاء المزجة(بتموس:مزيجية)	الأسبوع الأول	الأسبوع الثاني	الأسبوع الثالث	الأسبوع الرابع
0:1	100	100	83.33	83.33
1:1	100	100	100	100
1:2	100	100	88.88	88.88
1:3	100	100	91.66	66.66
1:0	100	87.5	75	62.5

شكل(2): أقلمة نبيتات *Spilanthes acmella* اثناء مرحلة الاقلمة في الاصص بعد اسبوعين من الزراعة وتغطيتها بأغطية بلاستيكية

الاستنتاجات:

نستنتج من البحث إن العقد قد تفوقت على القمم النامية والوريقات في مرحلة النشوء وبتركيز 1.0 ملغم /لتر BA، وتفوقت التوليفة 0.5 ملغم /لتر BA و 0.1 ملغم/لتر IAA في مرحلة التضاعف، وأثبت وسط MS بنصف قوة المغذيات الكبرى والمجهز بـ 1.0 ملغم/لتر IBA فعالية عالية نسبيا في مرحلة التجذير، بينما سجل وسط الاقلمة المتكون من بتموس: تربة مزيجية بنسبة 1:1 حجم:حجم تفوقاً ملموساً أثناء أقلمة نبات *Spilanthes acmella*، فضلا عن ضرورة تغطيتها بأغطية بلاستيكية شفافة للمحافظة على الرطوبة خلال الأسبوع الأول.

المصادر:

1. سلمان، محمد عباس. (1988). أساسيات زراعة الخلايا والأنسجة النباتية . جامعة بغداد، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.
2. Smith, RH. (2000). Plant tissue culture techniques and experiments. Academic Press, Inc, San Diago, USA.
3. Ahmed, A. (2010). Tissue culture studies of *Acorus calamus Linn*.and evaluation of secondary metabolites. Rajiv Gandhi University of Health Sciences, Karnataka, Bangalore. P. 11-12.
4. Sahu, J., Jain, B. and Sahu, RK. (2011). A review on phytopharmacology and micropropagation of Spilanthes *acmella*. Pharmacologyonline 2: 1105-1110.
5. Rao, N K., Reddy, R K. (1983). Threatened plants of Tirupati and its environs. In: Jain S.K., Rao P. R. (eds): An Assessment of Threatened Plants of India. Department of Environment, Howrah. 167–168.
6. Yadav, K. and Singh, N. (2012). Rapid plant regeneration from nodal explants of *Spilanthes acmella* (L.) Murr.- an endangered medicinal plant. Analele Universităţii din Oradea - Fascicula Biologie. Tom. XIX, Issue: 1, pp. 35-39.
7. Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15:473-497.
8. SAS. (2004). SAS. Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical. Version 7th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.
9. Raven, P H., Evert and, R E., Echchom, S E. (2004). Biology of plants. 7th. Edition. Published by W. H. Freeman. University of Wisconsin-Madison. USA.
10. الحجيمي، إحسان جالي اذبيب. (2010). استعمال تقنية زراعة الانسجة في انتاج الفنكرستين و الفنبلاستين في كالس نبات عين البزون *Catharanthus roseus (L.) G. Don* المتحمل للاجهاد الملحي. رسالة ماجستير، كلية الزراعة ، جامعة الكوفة، جمهورية العراق.
11. Haw, A B. and Keng, C L. (2003). Micropropagation of *Spilanthes acmella* L., a bio-insecticide plant, through proliferation of multiple shoots. J. Appl. Hort. 5(2):65-68.
12. Usaman, M., Muhammed, S. and Fitima, B. (2005). *In vitro* multiple shoot induction from nodal explants of *citrus cultivars*. Journal of Central European Agriculture. 6(4): 435-442.
13. Devlin, R M. and Witham, F H. (1983). Plant Physiology. 4 th ed. Wadsworth publishing Company, Belmont Californi, U.S.A.
14. الحسني، مائدة حسين محمد . (2006). إكثار بعض أصناف الكلاديولوس *Gladiolus spp*. خارج الجسم الحي. رسالة ماجستير، كلية العلوم للبنات، جامعة بغداد، جمهورية العراق.
15. الطائي، التفات فاضل شحاذه . (2012). تأثير الوسط الزرعي ومكوناته في الاكثار الدقيق لنبات Lisianthus (*Eustoma grandiflorum*). رسالة ماجستير، كلية العلوم للبنات، جامعة بغداد، جمهورية العراق.
16. Trigiano, R N. and Gray, D J. (2000). Plant Tissue Culture, Concepts and Laboratory Exercises. Boca Raton, FL: CRC Press Inc. PP: 11-1
17. Omura, M. and Hidaka, T. (1992). Shoot tip culture of *citrus*, longevity of culture shoots. Bull. Fruit Tree Research Station, Japan. 22:37-48.
18. Saritha, KV., Prakash, E., Ramamurthy, N. and Naidu, CV. (2002). Micropropagation of *Spilanthes acmella Murr.* Biological plantarum. 45(4):581-584.
19. Amudha, P. and Shanthi, P. (2011). Indirect organogenesis and *in vitro* layering of *Acmella calva* (DC.) R.K. Jansen. from various explants. Journal of Agricultural Technology. 7(3): 636- 648.
20. Khawar, K M., Ozel, C A., Balci, S., Ozcan, S. and Arslan, O. (2005). Effecient shoot regeneration in *Syrian Rue* (*Peganam harmala* L.) under *in vitro* condition. Int. J. Agri. Biol. 7(5): 790-793.
21. المفرجي، خليل ابراهيم رشيد . (2005). اكثار بعض أصناف العنب *Vitis vinifera* L. بالزراعة النسيجية مع ايجاد بدائل للاكار. مجلس الكلية التقنية – المسيب. هيئة التعليم التقني.