استخدام تقنية زراعة الأنسجة في إكثار نبات الثوم (*Allium sativum* L.) الصنـــف المحلي[+]

PROPAGATION OF GARLIC (*Allium sativum* L.) CV. LOC. PLANT BY TISSUE CULTURE TECHNIQUES

محمد عبد النبي غزال[*] حمزه موسى كاظم[*] نشأت علي يعقوب[**]

المستخلص :

اجريت هذه الدراسة في مختبر زراعة الانسجة النباتية في قسم تقنيات الانتـــاج النباتـــي / الكليـــة التقنيـــة / المسيـــب للفتـــرة مـــن ٢٠٠٦ – ٢٠٠٧ . اســتخدمت تقنية الزراعة النسيجية في اكثار الثوم (*Allium sativum* L.) الصنف المحلي من خلال استحثاث نشـوء الكالـس مـن قمـم الجـذور ومن ثم إخلاف النبيتات من الكالس .عقمت فصوص الثوم باستخدام هايبوكلورات الصوديوم NaOCl بتركيز(٠,٢ ، ٠,٤ ، ٠,٦ ، ٠,٨ و ١,٠ %) ومدة تعقيم (٥ ، ١٠ ، ١٥ ، ٢٠ و ٢٥) دقيقة . اظهرت النتائج بعد اسبوعين من الزراعة ان استخدام هايبوكلورات الصوديوم بتركيز ٠,٨ % ولمدة ٢٠ دقيقة كانت فعالةً في التخلص من مسببات التلوث . اما تأثير منظمي النمو الـ 2,4-D بالتراكيز(٠ ، ٠,٥ ، ١,٠ ، ١,٥ و ٢,٠) ملغم / لتر و Kinetin بالتراكيز(٠ ، ٥ ، ١٠ و ١٥) ملغم / لتر في استحثاث الكالس من قمم الجذور فقد بينت النتائج تفوق التركيز ١,٥ ملغم / لتر 2,4-D مع ٥ ملغم / لتر Kinetin في النسبة المئوية لاستحثاث الكالس ومعدل الوزن الطري للكالس . كما أظهر اضافة الـ BA بالتراكيز(٠ ، ٢,٥ ، ٥,٠ ، ٧,٥ و ١٠) ملغم / لتر الـى الوسط MS لاخلاف النبيتات الى تفوق التركيز ٥,٠ ملغم / لتر BA ولم يختلف احصائياً عن التركيز ٢,٥ ملغم / لتر BA في النسبة المئوية لتكشف الكالس الى افرع خضرية ومعدل عدد الافرع الخضرية وطولها / قطعة كالس . جذرت الافرع الخضريةالناتجـة مـن الكالس على الوسـط الغذائي MS (قوة كاملة و نصف قوة) والمزود بالـ NAA بالتراكيز (٠ ، ٠,٥ و ١,٠)ملغم /لتر، اذ تفوق الوسط MS قوة كاملة والخالي من منظمات النمو واعطى اعلى متوسط لعدد الجذورللافرع الخضرية واطوالها ثم اقلمت النباتات الناتجة وحققت نسبة بقاء بلغت ٧٥ % .

Abstract:

The present study was conducted in the experimental tissue culture lab. , Plant Production Technology Dept. , Technical College / Musaib , during 2006 – 2007. The study included several experiments using tissue culture technique for the micropropagation of native garlic cultivar (*Allium sativum* L.) , through induction of callus from root tip and the subsequent regeneration of whole plants as well The outstanding results emerging from this study are summarized as follow : -

1- Sterilization treatments using sodium hypoclorite solution (NaOCl) at (0.2 , 0.4 , 0.6 0.8 and 1.0 %) for (5 , 10 , 15 , 20 and 25 minutes) , showed that this aseptic in the

[+] تاريخ استلام البحث :٢٠٠٨/٧/٩ تاريخ قبول ٢٠٠٩/٧/٨

[*] استاذ مساعد / الكلية التقنية / المسيب

[**]مدرس مساعد /المعهد التقني / المسيب

بحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثالث

concentration of 0.8 % for 20 minutes gave highest percentages of clean and free of contaminants cloves .

2- Callus induction trial using (0 , 0.5 , 1.0 , 1.5 and 2.0) mg / *l* 2,4-D and (0 , 5 , 10 and 15) mg / *l* kinetin showed that 1.5 mg / *l* 2,4-D with 5 mg / *l* kinetin significantly boosted Callus induction percent and callus fresh weight .

3- Treatment with (0 , 2.5 , 5.0 , 7.5 and 10.0) mg / *l* BA refered that the favourable conc. of BA for shoot regeneration was 5.0 mg / *l* which did not vary with the treatment where BA conc. was 2.5 mg / *l* for shoot proliferation from callus percentage, number and length of shoot per callus piece

4- Shoots that produced from callus were rooted on MS medium (full and half strength) supplimented with (0, 0.5 and 1.0) mg / *l* NAA . Auxin- free in full strength MS medium resulted in highest mean of root number and root length . plantlets on the other hand were acclimatized , and the Survival percentage resulted was75%

المقــدمــة :

يُعد الثوم (*Allium sativum* L.) ثاني اهم محاصيل خضر العائلة البصلية Alliaceae بعد البصل [١]. ويعتقد ان موطنه الاصلي اسيا الوسطى وهو نبات عشبي معمر لكنه يزرع موسميا" في معظم البلدان ويعد من نباتات الموسم البارد ويزرع في العراق كمحصول شتوي ، وتتركز زراعته في محافظة البصرة ونينوى وبابل ، وهــو من الخضر الغنية بالقيمة الغذائية والطبية . إذ تحتوي فصوص الثوم على ٣١% كاربوهيدرات و ٦,٢ % بروتين على اساس الوزن الرطب وتعــد غنية بعناصر الفسفور والحديد والبوتاسيوم والمغنسيوم وفيتامينات كالثايمين والرايبوفلانين والنياسين وحامض الاسكوربك [٢]. يتميز الثوم بوجود مركب الاليسين (Allicin) الذي يقوم بالقضاء عــلى عدد كبير من الفيروسات والبكتريا والفطريات [٣] . .لا تزال المساحة المزروعة سنوياً بالثوم ومعدل الحاصل في وحدة المساحة في العراق منخفضة إذ بلغت ٢٠٠٠ هكتار في كل من عامي ١٩٩٩ و ٢٠٠٠ وحاصل الهكتار ٢٠٠٠ ، ١٥٠٠ كغم علــى التوالــي [٤] يعزى سبب انخفاض الحاصل الى قلة انتاجية الاصناف المزروعة وعــدم الالتزام بتطبيــق العمليات الزراعية وفــق الاسلوب العلمي وكثرة الاصابات الحشريــة والمرضيــة [٥]. يكثر الثــوم بالطريقة الخضريــة بأستعمال الفصــوص أو بواسطــة البلابل (الفصوص الهوائية) بسبب عدم تكون الازهار أو انها تكون ازهاراً غير خصبة (عقيمة جنسياً) وبذلك لايكون بذوراً في ظروف غير ظروف موطنه الاصلي [٢ و٦و٧]. ولأهمية هذا المحصول الغذائيه والطبيه ولأن اكثاره خضرياً غالباً ما يؤدي الى تعرض النباتات الناتجة للاصابة المرضية وخاصة الفايروسية مما يؤدي الى انخفاض في الحاصل كماً ونوعاً ، ونتيجة للنجاحات المتحققة في مجال استخدام تقنية زراعة الانسجة في اكثار بعض نباتات الخضر خارج الجسم الحي . لذلك فأن هدف البحث توظيف تقنية زراعة الانسجة في اكثار نبات الثوم (الصنف المحلي) لأنتاج نباتات خالية مــن الامراض ولا سيما الفايروسية وذي نوعية جيدة [٨ و ٩] .

المواد وطرائق العمل :

اجريــت الدراســة فــي مختبــر زراعــة الانسجــة / قســم تقنيــات الانتــاج النباتــي التابــع الــى الكليــة التقنيــة / المسيــب للعام ٢٠٠٦ – ٢٠٠٧ . عقمت جميع الادوات المستخدمة في زراعة الانسجة النباتية قبل استخدامها لكي تكون خالية من الملوثات وصالحة للاستعمال ،عقمت الاوساط الغذائية االموزعة في انابيب الزراعة أو القنانــي [١٠ و ١١] (استخدم في جميع التجارب الوسط الغذائي MS [١٢] المحضر مختبرياً) .نبتت فــصــوص

الثـوم الصنف المحلي وبحجوم متجانسة وذلك بزراعتها ، داخل اوعية الزراعة وعلـى وسـط Water Agar تحت ظـروف معقمـة وحضـنت فـي غرفـة النمـو على درجـة حـرارة ٢٥ مْ ± ٢ مْ وفتـرة ضوئية ١٦ سـاعة وشـدة اضـاءة ١٠٠٠ لوكـس صورة (١) .تضمنت الدراسة التجارب التالية :-

تجـربـة التعقيم: درس تأثير تركيز هايبوكلورات الصوديوم (NaOCl) % ومدد التعقيـم (دقيقـة) والتداخـل بينهمـا فـي النسبـة المئويـة لفصـوص الثـوم غير الملوثة بعـد اسبوعيـن مـن الزراعة غسلت الفـصوص بالماء الجاري لمدة ٣٠ دقيقة ثم ازيلت الورقة الحامية للفصوص وعقمت بالكحول الاثيلي (C_2H5oH) تركيـز ٧٠ % لمدة ٣٠ ثانية داخل جهاز تعقيم الهواء الطبقي (Laminar air - Flow Cabinet) استعملت خمسة تراكيز مـن هايبوكلورات الصوديوم(٠,٢ ، ٠,٤ ، ٠,٦ ، ٠,٨ و ١,٠%) وبمدد (٥ ، ١٠ ، ١٥ ، ٢٠ و ٢٥) دقيقة . حـضر ٢٠٠ سم^3 لكل تركيز واضيف له قطرتان من المادة الناشرة ٢٠ – Tween التي تساعد في تقليـل الـشد الـسطحي لمحلول التعقيم وبعد الانتهاء من التعقيم غسلت الفصوص بالماء المقطر المعقم أربع مرات لضمان ازالة التأثير الضار للمادة المعقمة . زرعت خمسة فصوص لكل تركيز وبواقع خمسة مكررات وحضنت الزروعات تحت درجـة حـرارة ٢٥ ± ٢ مْ وشدة اضاءة ١٠٠٠ لوكس لمدة ١٦ ساعة / يوم . تم حساب النسبة المئوية للفصوص السليمة بعد اسبوعين مـن الزراعة .

تجربـة استحثاث الكالس :

درس تأثير تراكيز 2,4-D و Kinetin والتداخل بينهما في استحثاث الكالس . واستئصلـت قمة الجـذور مـن فصوص الثوم النابتة بطول ٢ – ٣ ملم تحت ظروف معقمة [٩] . وزرعت علـى الوسط الغذائـي MS مـضافـاً اليـه 2,4-D تركيز (٠ ، ٠,٥ ، ١,٠ ، ١,٥ و ٢,٠) ملغم / لتـر و Kinetin بتركيـز (٠ ، ٥,٠ ، ١٠,٠ و ١٥,٠) ملغم / لتر . زرعت أربعة اجزاء نباتية لكل قنينة وبخمسة مكررات لكل تركيـز ولكـل معاملـة وحـضنت الزروعات في غرفة النمو على درجة حرارة ٢٥ ± ٢ مْ وشدة اضاءة ١٠٠٠ لوكس ولمدة ١٦ ساعة / يوم. حسـبت النسبة المئوية لأستحثاث الكالس والوزن الطري للكالس بعـد مـرور ٤٥ يـوماً مـن الزراعـة .

<u>تجربـة الاخلاف :-</u>

درس تأثير تركيـز BA فـي اخلاف الافـرع الخضريـة مـن الكالس فقد اخـذ (٤٠٠) ملغم من الكالس وزرع في انابيب الزراعة الحاوية علـى الوسط الغذائي MS المزود بالـ BA بالتراكيـز (٠ ، ٢,٥ ، ٥,٠ ، ٧,٥ و ١٠) ملغم / لتر وبواقـع عشـرة مكـررات لكـل تركيـز .حضنـت الزروعات كما في التجربه السابقه. تمـت اعادة الزراعة ثلاث مرات كل ٣٠ يوماً على نفس الوسط الغذائي وحسبت النسبة الئوية للتكشف ومعدل عدد الافـرع /قطعة كالس وأطوالها.

تجربة التجذير :-

نقلت الافرع الخضرية بصورة مفردة الى قناني الزراعة الحاوية على الوسط الغذائي MS (قوة كاملة ونصف قـوة) المزود بمنظم النمو NAA بالتراكيز (٠ ،٠,٥ و١,٠) ملغم /لتر بهدف تشجيعها على التجذير زرعت ثلاثة أفـرع لكل قنينة وبخمسـة مكررات لكل تركيز ولكل معاملة وحضنت تحت نفس الظروف السابقة أخذت القـراءة لمتوسـط عـدد الجذور واطوالها بعد ٣٠ يوماً من الزراعة.

الأقلمة

انتخـب عدد من النباتات المتجانسة والنامية فـي انابيب الزراعة والناتجة من زراعة الكالس والتي تميزت بنمو خضري ومجموع جذري جيد وغسلت بالماء المقطر المعقم لازالة بقايا الوسط الغذائي لتجنب نمو الكائنـات الدقيقـة

ثــم غمرت بالمبيــد الفطــري Benlate بتركيز ٠,٢ % لبضع ثــوان لوقايتهــا مــن الاصابــة الفطريـــة . زرع ٢٠ نبات بصورة منفردة في سنادين بلاستيكية قطر ١٠ سم تحتوي على وسط زراعي مكون من الرمــل والبتمــوس بنسبة حجميــة ١ : ١ ، عقــم الوسط الزراعي بجهــاز المعقام البخاري Autoclave عند درجــة حــرارة ١٢١ مْ وضغط ١,٠٤ كغم / سم^{٢} لمدة ساعة واحدة لضمان التخلص من المسببات المرضية قبل زراعــة النباتــات [١٣ و١٤ و١٥] ، وغطيــت النباتات باغطية بلاستيكية شفافة ومثقبة تسمح بنفاذ الضوء للحفاظ على رطوبة الوســط ووضــعت السنادين في غرفة مكيفة ورفعــت الاغطية البلاستيكية بعــد مرور عشــرة أيام بصــورة تدريجيــة ثـــم تركــت النباتات تنمــو فــي البيــت البلاستيكـــي .

التحليـــل الإحصائـــــــي

تــم تحليــل البيانات الخاصة بالتجارب المختلفة وفقاً للتــصميم التـــام التعــشية (CRD) Completely Randomized Design. وكذلك استخدام التجارب العاملية وفق التصميم التام التعشية وحسب التجربة .ثــم قورنــت المتوسطــات حســب اختبــار اقــل فرق معنــوي L.S.D عنــد مستــوى احتمــال ٠,٠٥ . [١٦] .

صورة (١) استنبات فصوص الثوم على وسط *Water – agar* بنسبة ٠,٧ %

النتائج والمناقشة :

١_ تأثير تركيز هايبوكلورات الصوديوم NaOCl (%) ومدة التعقيم (دقيقة) والتداخل بينهما في تعقيم فصوص الثوم يلاحظ من بيانات الجدول (١) وجود تأثير معنوي لتركيز NaOCl في النسبة المئوية لعدد الفصوص يرالملوثة وخلوها من التلوث وقد تفوق التركيز ٠,٨ % هايبوكلورات الصوديوم على بقية التراكيز إذ اعطى اعلى نسبة مئوية للفصــوص غير الملوثة بلغت ٦٤ % في حين اعطت المعاملة ٠,٢ % اقل نسبة مئوية للفصوص غيرالملوثة . كما يلاحظ تفوق التركيز ٠,٦ % على التركيزين٠,٢ % و ٠,٤ % في النسبة المئوية لعدد الفصوص غيرالملوثة بعد اسبوعين من الزراعة . وتشير البيانات في نفس الجدول الى ان النسبة المئوية لعدد الفصوص غير الملوثة يزداد تدريجيا مع زيادة فترة التعقيم لحد ٢٠ دقيقة والتي تفوقت على بقية المعاملات واعطت اعلى نسبة للفصوص غير الملوثة بلغت ٥٩,٢ % ولم تختلف احصائياً عن الفترة ١٥ دقيقة . في حين اعطت اطول مدة زمنية ٢٥ دقيقة اقل نسبة مئوية لعدد الفصوص غير الملوثة بلغت ٣٤,٤ % كما يلاحظ من البيانات وجود تأثير معنوي للتداخل بين التركيز واالمدة الزمنية . ووجد ان تداخل التركيز ٠,٨ % هايبوكلورات الصوديوم مع فترة ٢٠ دقيقة اعطى اعلى نسبة مئوية للفصوص غير الملوثة إذ بلغت النسبة المئوية للفصوص غيرالملوثة ٨٨ % . في حين اعطى التركيز ٠,٢ % هايبوكلورات الصوديوم مــع المدة الزمنيــة ٥ و ١٠ دقائق اقــل نسبــة مئويــة للفصــوص غير الملوثة بلغــت ٢٤ % لكــل منهمـــا . وقد يعود السبب في استخدام هايبوكلورات الصوديوم في التعقيم السطحي للاجزاء النباتية لكفائتها وعدم اضرارها بالجزء النباتي عند التركيز المناسب وان التركيز والمدة الزمنية تكون فعاله في الحد من التلوث

السطحي للاجزاء النباتية المزروعة خارج الجسم الحي ، وان التركيز الاعلى من التركيز المناسب وطول المدة الزمنية قد يؤدي الى موت الاجزاء النباتية وهذا يتفق مع ما توصل اليه الباحثـــون [٨ و١٧] اذ ذكروا ان التراكيز العالية تؤدي الى موت القمم النامية لجذور نبات الثوم وان افضل مدة تعقيم كانت عند ٢٠ دقيقة .

الجدول (١) تأثير تركيز هايبوكلورات الصوديوم NaOCl (%) ومدة التعقيم (دقيقة) والتداخل بينهما في النسبة المئوية لفصوص الثوم غيرالملوثة بعد اسبوعين من الزراعة

مدة التعقيم / NaOCl	٥	١٠	١٥	٢٠	٢٥	متوسط NaOCl
0.2	24.0	24.0	44.0	44.0	32.0	33.6
0.4	28.0	40.0	48.0	56.0	36.0	41.6
0.6	40.0	48.0	56.o	64.0	40.0	49.6
0.8	60.0	64.0	72.o	88.0	36.0	64.0
1.0	52.0	52.0	48.o	44.0	28.0	44.8
متوسط مدة التعقيم	40.8	45.6	53.6	59.2	34.4	ـــــ
L.S.D 0.05	NaOCl = ٦,٠١		مدة التعقيم = ٦,٠١		التداخل = ١٣,٤٤	

٢ــ تأثير تركيز 2,4-D و Kinetin (ملغم/لتر) والتداخل بينهما في النسبة المئويـــــة لاستحثاث الكالس والوزن الطري بعد ٤٥ يوماً من زراعة قمم جذور نبات الثوم في الوسط الغذائي

تشير نتائج الجدولين (٢ و٣) ان تركيز 2,4-D قد اثر معنوياً في النسبـــة المئوية لاستحثاث الكـــالس والـــوزن الطري للكالس فقد حصلت زيادة تدريجية معنوية عند زيادة التركيز من صفر لغاية ١,٥ ملغم / لتـــر . وقـــد تفـــوق التركيز ١,٥ ملغم / لتر 2,4-D على بقيـــة التراكيز واعطى اعلى نسبة مئوية لأستحثاث الكالس ووزن طري بلغـــت ٧٠ % و٥٣٣,١١. ملغم على التوالي . اما التركيزين ٠,٥ و ٢,٠ ملغم / لتر 2,4-D قـــد اعطيـــا اقـــل نـــسبـــة مئويـــة لاستحثاث الكالس ووزن طري لكنهما تفوقـــتا معنويا على معاملة المقارنة . كما يلاحظ ان الوسط الخالي من 2,4-D لم يُحدث استحثاث للجزء النباتي المزروع لتكوين الكالس مما يدل ل على اهمية الاوكـــسين المـــضاف الـــى الوسط في استحثاث الكالـــس وتحفيزه على النمو والذي يؤدي بدوره الى زيادة وزن الكالس . وقـــد يعود الـــسبب فـــي انخفاض النسبـــة المئوية لاستحثاث الكالس ووزنة الطري عند اعلى التراكيز الى ان الاوكسين يثبط نمو الخلايا فـــي التراكيز العاليـــة . [١٨ و١٩] .

ومن الجدولين يلاحظ وجود تأثير معنوي لتركيـــز Kinetin في النسبة المئوية لاستحثاث الكالس . والـــوزن الطري للكالس وقد تفوق التركيز ٥ ملغم / لتر Kinetin على بقية التراكيز ويلاحظ من الجدول ان الوسط الخـــالي من Kinetin والوسط الحاوي على اعلى اضافة من Kinetin ١٥,٠ ملغم / لتر قـــد اعطيـــا اقـــل نـــسبة مئويـــة لاستحثاث الكالس والوزن الطري للكالس . وتشير بيانات الجدولين الى وجود تأثير معنوي للتـــداخل بـــين 2,4-D و Kinetin في النسبة المئوية لاستحثاث الكالس والوزن الطري وقد تفوقت المعاملة ١,٥ ملغم / لتر 2,4-D مـــع ٥ ملغم / لتر Kinetin علـــى بقية المعاملات . كما يلاحظ ان الوسط الخالي من 2,4-D لم يحدث أي استحثاث مع أي تركيز لـــKinetin مما يدل على ان التأثير الاساسي يعود الى 2,4-D . وتتفـــق هذه النتائج مع مـــا وجـــده[٨ و٢٠ و٢١] أذ وجدوا أن أستخدام توليفه من آسايتوكاينين والاوكسين هي اكثر فاعلية مـــن استخدام أي منهما على انفراد في استحثاث الكالس وان افضل استحثاث للكالس كان عند زراعة القمـــة النامية لجذر نبات الثوم علـــى وســـط MS مجهز بـــ 2,4-D و Kinetin ، وان التراكيز العالية ادت الى تثبيط نمو لكالـــس. وقد يعود السبب في استحثاث الكالس

وزيادة وزنه الطري عند تركيز ١,٥ ملغم / لتر 2,4-D مع ٥ ملغم / لتر Kinetin الى حدوث توازن بين الاوكسينات والسايتوكاينينات مع التوازن الداخلي للخلايا التي تعمل معاعلى تشجيع الانقسام الخلوي واستطالة الخلايا ،في حين قد يعود سبب الانخفاض في الاستحثاث والوزن الطري للكالس في التراكيز العاليه اختلال التوازن بين الاوكسينات والسايتو كاينينات [٢٢] .

٣-تأثير تركيز BA (ملغم / لتر) في النسبة المئوية للتكشف ومعدل عدد الافرع الخضرية وطولها(سم) لنبات الثوم بعد ٩٠ يوماً من زراعة الكالس :تشير بيانات الجدول (٤) الى ان اضافة BA الى الوسط الغذائي قد أظهر تأثيرا معنويا في النسبة المئوية لتكشف الكالس الى افرع خضرية ومعدل عدد الافرع وطولها فقد تفوق التركيز ٥,٠ ملغم / لتر BA في النسبة الئويه لتكشف الكالس وفي متوسط عدد الافرع . أذ أعطى اعلى نسبة تكشف للكالس بلغت ٨٠% ومتوسط عدد أفرع بلغ ٦,٦ فرع . في حين تفوق التركيز ٢,٥ ملغم /لتر BA في متوسط طول الافرع وأعطى متوسط طول ١,٨٠ سم في حين اعطيتا معاملة المقارنة واعلى تركيز ١٠,٠ ملغم / لتر BA اقل نسبة مئوية للتكشف ، متوسط عدد الافرع / قطعة كالس ومتوسط طول للأفرع .وقد يعزى السبب في هذه التأثيرات الى ان اضافة BA له تأثير في تحفيز البراعم العرضية على النمو ، وان التراكيز العالية تؤدي الى تقليل نسبة التحفيز ومتوسط عدد الافرع ويعزى ذلك الى تأثيرها التثبيطي عند زيادتها عن الحد المناسب لان الزيادة في التركيز تسبب تراكمها مما يؤدي الى زيادة عمليات الهدم [٢٣] . ولم تتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه[٩] والذي حصل على افضل النتائج مع التركيز ١٠ ملغم / لتر BA عند دراسته لنبات الثوم ، وربما يعود ذلك الى التغايرات الوراثية في الاصناف المستخدمة في التجربة صورة (٣) .

الجدول(٢)تأثير تركيز2,4-D وKinetin (ملغم / لتر) والتداخل بينهما في النسبة المئوية لاستحثاث الكالس

Kinetin / 2,4-D	٠,٠	٥,٠	١٠,٠	١٥,٠	متوسط 2,4-D
٠,٠	٠,٠٠	٠,٠٠	٠,٠٠	٠,٠٠	٠,٠٠
٠,٥	٤٠,٠٠	٤٥,٠٠	٥٥,٠٠	٤٠,٠٠	٤٥,٠٠
١,٠	٥٥,٠٠	٦٥,٠٠	٦٠,٠٠	٥٠,٠٠	٥٧,٥٠
١,٥	٦٠,٠٠	٩٠,٠٠	٧٠,٠٠	٦٠,٠٠	٧٠,٠٠
٢,٠	٢٥,٠٠	٣٠,٠٠	٣٥,٠٠	٢٥,٠٠	٢٨,٧٥
متوسط Kinetin	٣٦,٠٠	٤٦,٠٠	٤٤,٠٠	٣٥,٠٠	ـــــ
L.S.D 0.05	2,4-D = ١٠,٤٩	Kin = ٩,٣٨	تداخل = ٢٠,٩٨		

الجدول (٣) تأثير تركيز2,4-D وKinetin (ملغم / لتر)والتداخل بينهما في معدل الوزن الطري للكالس (ملغم)

Kinetin / 2,4-D	٠,٠	٥,٠	١٠,٠	١٥,٠	متوسط 2,4-D
٠,٠	٠,٠٠	٠,٠٠	٠,٠٠	٠,٠٠	٠,٠٠
٠,٥	١٠٥,٤٠	١٨٨,١٠	١٧٥,٧٠	١٠٠,٤٠	١٤٢,٤٠
١,٠	٣٤٧,٣٦	٥٠٠,٨٠	٢٨٧,٥٠	١٦٧,٨٠	٣٢٥,٨٧
١,٥	٢٣٩,٤٠	١٢١٠,٩٠	٤٨٢,٠٠	٢٠٠,١٢	٥٣٣,١١
٢,٠	٩٦,٨٠	٢٥٧,٨	٢٠٠,٢٠	١٠٩,٤٠	١٦٦,٠٥

متوسط Kinetin	١٥٧,٨٠	٤٣١,٥٢	٢٢٩,٠٨	١١٥,٥٤	—
L.S.D 0.05	2,4-D = ٤٨,٣٩	Kin = ٤٣,٢٨	تداخل = ٩٦,٧٨		

الجدول (٤) تأثير تركيز BA (ملغم / لتر) في النسبة المئوية للتكشف ومتوسط عدد الافرع الخضرية وطولها (سم) لنبات الثوم

تركيز BA	النسبة المئوية للتكشف	متوسط عدد الافرع/قطعة كالس	متوسط طول الفرع
٠,٠	٢٠,٠	٠,٤	٠,٦
٢,٥	٧٠,٠	٤,٠	١,٨
٥,٠	٨٠,٠	٦,٦	١,٢
٧,٥	٥٠,٠	٢,٩	١,١
١٠,٠	٤٠,٠	١,٤	٠,٧
L.S.D ٠,٠٥	٤٣,٠١	٢,٧٨	١,٠٨

صورة (٢) استحثاث الكالس بعد ٤٥ يوم من زراعة قمم جذور نبات الثوم في الوسط الغذائي MS مضافاً اليه ١,٥ ملغم / لتر 2,4-D مع ٥ ملغم / لتر Kinetin

صورة (٣) تكوين الافرع الخضرية من الكالس بعد ٩٠ يوماً من زراعة الكالس في الوسط الغذائي MS المجهز بـ ٥ ملغم / لتر BA

٤ــتأثيرقوة املاح الوسط MS وتركيزNAA (ملغم/لتر) في متوسط عدد الجذور للافرع الخضرية وأطوالها تبين نتائج الجدول (٥)أن قوة املاح الوسطMSقد أثرت معنوياًفي متوسط عدد الجذور للافرع الخضرية واطوالها أذ تفوق السط MS قوة كاملة على السط MSنصف قوة وأعطى متوسط عدد جذور ٤,٠٨ وطول جذر ١,٤٦سم وان لتراكيز NAA المضافة تأثيراً معنوياً سلبياً في متوسط عدد الجذور للافرع الخضرية واطوالها . وتفوقت معاملة المقارنة على بقية المعاملات وأعطت أعلى متوسط لعدد الجذور بلغ ٤,٨٠ جذر وأعلى متوسط طول وقدره ١,٩٣ ســم . ومن البيانات يلاحظ وجود تداخل معنوي بين العاملين وأن أعلى متوسط لعدد الجذور وأطوالها كان عند معاملة(الوسط الغذائي قوة MS قوة كاملة والخالي من منظم النمو)وبلغ ٥,٣٥جذر ،٢,٢٤سم على التوالي .ويلاحظ انخفاض متوسط عدد الجذور وأطوالها بزيادة تركيز NAA .وقد يعزى السبب في ذلك الى أن التركيز العالي للأوكسين يكون مثبطاً لنمو الجذور [١٨] .وتتفق هذه النتائج مع ماوجده [٩] أذ ذكروا أن الوسط الغذائي MS الخالي من الــ NAA أعطى أفضل نمو للجذور في نبات البصل .

جدول (٥) تأثي تراكيز NAA (ملغم/لتر)في متوسط عدد الجذور للافرع الخضرية وأطوالها (سم) لنبات الثوم

NAA / قوة الوسط	عدد الجذور				طول الجذر (سم)			
	0.0	0.5	1.0	متوسط قوة الوسط	0.0	0.5	1.0	متوسط قوة الوسط
نصف قوة	4.27	3.42	2.24	3.31	1.62	1.12	0.60	1.11
قوة كاملة	5.33	4.06	2.86	4.08	2.24	1.24	0.90	1.46
متوسط NAA	4.80	3.74	2.55	-	1.93	1.18	0.75	-
L.S.D	قوة الوسط = 0.56 NAA = 0.69 تداخل = 0.98				قوة الوسط = 0.22 NAA = 0.27 تداخل = 0.38			

اقلمة النباتات

زرعت النبيتات المنتجة من الكالس المستحث والنامي في الوسط الغذائي MS المجهز بـــ٠.٥ ملغم/لترBA الـــى وســـط MS خالي من منظمات النمو لغرض تجذيرها والحصول على نبيتات كاملة .

نقلت النبيتات الى الوسط الزراعي المكون من الرمل والبتموس بنسبة حجمية ١ : ١ تحت ظروف البيت البلاستيكي وكانت النسبـــة المئوية لنجاح النباتات المتأقلمه ٧٥ % بعد مرور (٢١) يومـــاً مـــن النقـــل الـــى الوســـط الزرعـــي

صورة (٤) .

A : بعد نقله الى السندانة وتغطيته بغطـــاء بلاستيكـــي شفـــاف

B : بعـد مـــرور ٢١ يوم مـــن الاقـــلمـــــة

صورة (٤) اقلمة نبات الثوم في الوسط الزراعي (رمل + بتموس) بنسبة حجم ١ : ١ والناتج مـــن زراعـــة الكالـــــس

المـــصادر :

١- حمايل ، علي . ١٩٩٢ . العائلة البصلية ، البصل ، الثوم ، الكراث المصري . مكتبة ابـــن سينـــا . القاهـــرة . مصـــــر .

٢- حسن ، احمد عبد المنعم . ١٩٩٤ . انتاج خضر المواسم المعتدلة والباردة في الاراضي الـــصحراوية . سلـــسلة العلوم والممارسة لانتاج الخضر في الاراضي الصحراوية . الطبعة الأولـــى . الدار العربية للنشر والتوزيع . القاهرة . مصر .

٣- Ankri , S. and D. Mirelman . 1999 . Anti microbial properties of Allicin from garlic . Microbes Infect , 2 : 125 – 129 .

٤- FAO , 2001 . Production year book . Food and Agriculture organization of the United Nation . Rome . Italy .

٥- المحمداوي ، سعاد محمد خلف منشد . ٢٠٠٤ . تأثير أضافة الكبريـــت الرغـــوي والـــرش بـــالمحلول المغـــذي (النهرين) في نمو وحاصل صنفين من الثوم.رسالة ماجستير- كلية الزراعـــة – جامعـــة بغـــداد .

٦- حسن ، احمد عبد المنعم . ١٩٨٨ . البصل والثوم . سلسلة العلوم والممارسة في المحاصيل الزراعية . الطبعـــة الاولى . الدار العربية للنشر والتوزيع . القاهرة – مصر .

٧- مطلوب ، عدنان ناصر وعز الدين سلطان محمد وكريم صالح عبدول . ١٩٨٩ . انتاج الخـــضروات . الجـــزء الاول . الطبعة الثانية المنقحة . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – جامعة الموصل .

٨- Haque , M. S. ; T. Wada and K. Hattori . 2003 . Effect of sucrose , mannitol and KH_2PO_4 on proliferation of root tip derived shoots and subsequent bulblet formation in garlic . Asian Journal of Plant Sciences . 2 (12) : 903 – 908 .

9- Khan , N. ; M. S. Alam and U. K. Nath . 2004 . In vitro regeneration of garlic through callus culture . Journal of Biological Sciences . 4 (2) : 189 – 191 .

١٠- سلمان ، محمد عباس . ١٩٨٨ . اساسيات زراعة الخلايا والانسجة النباتية . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ـــ جامعـــة بغـــداد .

١١- Collin , H . A . and S . Edwards . 1998 . Plant Cell Culture . Bios S cientific Publishers , Oxford , U. K ., : 123 _ 128 .

١٢-Murashige , T. And F. Skoog . 1962 . Arevised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culure . Physiol . Plant . 15 : 473 – 797 .

13 - الصالحي ، علي عبد الامير مهدي . ١٩٩٤ . استجابة سبعة اصناف من البطاطا *Solanum tuberosum L* *للزراعة النسيجية.رسالة ماجستير – كلية الزراعة – جامعة بغداد*

١٤– الكعبي ،اخلاص عبدالكريم جاسم خزعل .٢٠٠٠. اكثار اربع هجن من الطماطة بأستخدام تقنية الزراعة النسيجية .رسالة ماجستير ــ كلية الزراعة ــ جامعة بغداد .

١٥ – علي ، ورده عبدالسميع عبد . ٢٠٠٥ .دراسات على الاكثار الدقيق لابصال الليليم . رسالة ماجستير ــ كلية الزراعة ــ جامعة عين شمس ــ مصر .

١٦– الراوي، خاشع محمود وعبدالعزيز خلف الله . ١٩٨٠ .تصميم وتحليل التجارب .وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – جامعة الموصل .

17 - Elminadi , N. A. 2001 . Studies on garlic production through tissue culture technique . M. Sc. Thesis . Agric , Cairo Univ .

١٨– عيسى ، طالب احمد . ١٩٩٠ . فسيولوجيا نباتات المحاصيل (مترجم) . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – جامعة بغداد .

١٩– عطيه ، حاتم جبار وخضير عباس جدوع .١٩٩٩ .منظمات النمو النباتيه النظرية والتطبيقية .كلية الزراعة ــ جامعة بغداد .

20- Reinert , J. and T. A. S. Bajaj . 1977 . Applied and fundamental aspectas of plant cell . Tissue and organ culture - Bertin : Springer . Verlag . pp : 757 – 776

21 – Robledo – Paz , A. , V. M . Villalobos – Arambula and A . E . Jofre – Garfias . 2000 . Efficient plant regeneration of garlic *Allium sativum* L . by root tip culture . In vitro cellular Devel . Biol . Plant . 36 : 416 – 419 .24- Skoog . F. and C. O. Miller . 1957 . Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured in vitro . Symp . Soc. Exp. Biol. 11 : 118 – 148 .

٢٢ – Dodds , J . H . and L . W . Roberts . 1995 . Experiments in Plant Tissue Culture . Cambridge University . P . 54 _69 .

٢٣– محمد ، عبد العظيم كاظم ومؤيد احمد يونس . ١٩٩١ . اساسيات فسيولوجيا النبات . الجزء الثاني والثالث . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – جامعة بغداد – كلية الزراعة .