إكثار أبصال النرجس *Narcissus tazetta* L. خارج الجسم الحي
In vitro propagation of *Narcissus tazetta* L. bulbs

سهام عبدالرزاق سالم كوثر هادي عبود مي عبدالله رزوقي
الكلية التقنية/ المسيب
Siham Abdal Razzaq Salim Kawther Hadi Abood May Abdullah Razzooqee
Al Musaib Technical College

المستخلص

استخدمت تقنية زراعة الانسجة لاكثار النرجس *Narcissus tazetta* L. خارج الجسم الحي حيث تضمنت الدراسة تجربتين: الأولى زراعة الأجزاء النباتية المأخوذة من القرص القاعدي والأوراق الحرشفية للأبصال على وسط MS مجهز بتوليفات مختلفة من BA و NAA، وحضنت الزروعات في الضوء والظلام. بينت النتائج تفوق معاملة الضوء معنويا على الظلام بإعطائها أعلى معدل لعدد الأفرع المتفتحة واطوالها في كلا النوعين من الأجزاء النباتية. وكان التداخل : ضوء + 7.0 ملغم / لتر BA + 0.0 ملغم / لتر NAA (15.8) والتداخل: ضوء + 3.0 ملغم / لتر BA + 1.0 ملغم / لتر NAA (9.04) سم الافضل معنويا في معدل عدد الأفرع و اطوالها على التوالي للقرص القاعدي. في حين بلغ معدل عدد الأفرع واطوالها 12.0 فرعا و 5.02 سم على التوالي في الأوراق الحرشفية عند التداخلين: ضوء + 3.0 ملغم / لتر BA + 0.0 ملغم / لتر NAA وضوء + 1.0 ملغم / لتر BA + 0.0 ملغم / لتر NAA. وازداد تكوين الكالس في الأجزاء المزروعة في الظلام والتراكيز العالية من NAA. وتضمنت التجربة الثانية تكوين بصيلات النرجس خارج الجسم الحي بزراعة الأفرع الناتجة من التجربة الاولى على وسط MS متضمناً تركيزين للسكروز 3 ، 6 % ومجهزاً بالاوكسين IBA بتركيز 0.5،1.0، 1.5 ملغم/ لتر. اظهرت النتائج تفوق التوليفتين 3% سكروز + 1.5 ملغم / لتر IBA و 6% سكروز + 1.0 ملغم / لتر IBA في معدل عدد البصيلات المتكونة (3.2 و 3.4 على التوالي). وبلغ أعلى معدل لقطر البصيلة (7.42 ملم) في التوليفة 3% سكروز + 1.5 ملغم / لتر IBA وكان أعلى معدل لوزن البصيلات هو 320.4 ملغم في التوليفة 3% سكروز + 0.5 ملغم / لتر IBA. زرعت البصيلات المتكونة بعد كسر سكونها في اوساط زرعية متكونة من البتموس والتربة النهرية، إذ نبتت البصيلات واعطت نموات خضرية بنسبة 98 % في الوسط الزرعي المكون من البيتموس والتربة النهرية بنسبة 1:1.

الكلمات المفتاحية: نبات النرجس، بنزيل ادنين، حامض نفثالين اسيتك ، حامض اندول بيتيرك

Abstract

***In vitro* technique was used to propagate *Narcissus tazetta* L. Two approaches were used. The first explants of basal discs and scale leaves from bulbs were cultured in MS medium containing different concentrations of BA and NAA. Cultures were incubated in light and dark. Results showed that a significant increasing in shoot numbers and lengths in both types lf explants. Treatments including; light + 7.0 mg / L BA + 0.0 mg / L NAA (15.8 shoots) and light + 3.0 mg / L BA + 1.0 mg/L NAA (9.04 cm) were significant for the basal disc. while the treatments: light + 3.0 mg / L BA + 0.0 mg /L NAA (12.5 shoots) and light + 1.0 mg / L BA + 0.0 mg / L NAA (5.02 cm) were the best for scale leaves. Callus was induced largely in explants cultured in dark and high concentrations of NAA. The second experiment: shoots from above were cultured in MS medium containing sucrose 3 or 6% with IBA 0.5, 1.0 , 1.5 mg / L for bulb lets formation. The highest numbers of bulb lets 3.2, 3.4 were observed in: 3% sucrose + 1.5 mg / L IBA and 6% sucrose + 1.0 mg / L IBA respective. On the other hand, the bulb let diameter 7.42 mm and weight 320.4 mg were observed in: 3% sucrose + 1.5 mg/ L IBA and 3% sucrose + 0.5 mg / L IBA respectively. The formed bulb lets were transferred to peat moss plus river soil media, which then successfully grown and gave vegetative shoots in the percent 98%. Abbreviations: BA(6-benzyl adenine) ; NAA(α-naphthalene acetic acid); IBA (Indole – butyric acid); MS (Murashige and Skoog medium).**

Key words: *Narcissus tazetta*, benzyl adenine, naphthalene acetic acid, Indol butyric acid

المقدمة

يعود نبات النرجس *Narcissus tazetta* إلى العائلة النرجسية Amaryllidaceae وهو من الابصال المزهرة. ويطلق اسم النرجس على مجموعة كبيرة من الابصال المختلفة التي تنتج ازهاراً باحجام والوان مختلفة زكية الرائحة، ولكن ابصال النرجس الحقيقية هي التي تتبع الجنس *Narcissus* وهي ابصال نشات بالتهجين والانتخاب بين انواع برية في وسط اوربا ووسط اسيا والصين واليابان ومنطقة حوض البحر المتوسط، ولهذا تعددت الانواع والسلالات التي تباع باسماء تجارية [1،2]. ويعد النرجس احد اهم الابصال الموجودة طبيعياً في شمال العراق [3].

تعد نباتات النرجس ابصال زينة تزرع لجمال ازهارها ورائحتها والوانها ، فضلاً عن احتوائها المركبات القلويدية التي تعد معظمها ذات خصائص طبية كمضادات فيروسية ومضادات اورام [4،5]. أن اكثار النرجس بالطرائق التقليدية سواءً كان بالبذور او الابصال تكون بطيئة وتحتاج إلى فترات زمنية قد تطول لكي تصل الابصال إلى العدد والحجم المطلوب لانتاج الازهار، فضلاً عن تعرض الابصال للعديد من

الامراض البكتيرية والفطرية والفايروسية وكون الحصول على اصناف جديدة بالتهجين يحتاج سنوات عديدة الامر الذي قد يؤدي إلى الحد من اكثاره بالطرائق التقليدية [6].

أن الاتجاه نحو تقنية زراعة الانسجة النباتية كان له الاثر الكبير في انتاج إعداد كبيرة من النباتات المتجانسة وراثياً وبفترة زمنية قصيرة مما ادى إلى زيادة الطلب على الازهار وامكانية تصدير كميات كبيرة من النباتات حيث لاقت النباتات المكثرة نسيجياً طلباً متزايداً في الاسواق العالمية ومنها النرجس لما تمتاز به من التجانس Uniformity [7،8].

اجريت دراسات عديدة لاكثار الاصناف المرغوبة والناتجة من النرجس بتقنية زراعة الانسجة النباتية واجراء محاولات للحصول على نباتات مقاومة للاصابات المرضية المتعددة عن طريق استخدام اوساط زرعية وانواع وتوليفات مختلفة من منظمات النمو النباتية، فقد حصل [9]على اجنة جسمية لنبات *Narcissus bulbocodium* عند استخدامها لوسط MS مجهز بـ BAp و 2,4- D. واشار [10] إلى امكانية مضاعفة انتاج نباتات النرجس المهمة تجاريا وطبياً باستخدام المفاعلات الحيوية Bioreactors . واستطاع [11] من الحصول على ابصال نبات *N. asturiensis* خارج الجسم الحي وذلك بزراعة الأوراق الحرشفية على وسط MS المحور والمجهز بتراكيز مناسبة من منظمات النمو IBA ،NAA،BA. وحصل [12] على اجنة جسمية وافرع خضرية عند زراعة الأوراق الحرشفية والحوامل الزهرية لنبات *N. pseudonarcissus* على وسط MS مجهزاً بتراكيز مختلفة من BA ، NAA ، 2,4-D واوضح [13] انه يمكن الحصول على الكالس واخلاف النباتات منه عند زراعة المتك للنرجس الصيني.

كما اشار [14] إلى امكانية استحثاث الكالس من الحوامل الزهرية لصنفين من النرجس ومن ثم انتاج البصيلات بزراعة الكالس على وسط البصيلات المتكون من MS مجهز بالسكروز فقط وبتراكيز 262.8 ملي مولار. وتمكن [15] من استحثاث الاجنة الجسمية عند زراعة الأوراق الحرشفية لنبات *N. papyraceus* على وسط MS حاوي على 0.5 ملغم/لتر GA3 + 1.6 ملغم /لتر BAP + 1.6 ملغم /لتر 2,4-D، ونمت هذه الاجنة عند نقلها إلى وسط MS خالي من الاضافات الهرمونية، في حين اشاروا إلى أن افضل وسط لانتاج الابصال لهذا النوع هو وسط Nitsch الحاوي على 2.2 ملغم / لتر BAP + 1.1 ملغم / لتر 2,4-D. ووجد أن بعض اصناف النرجس تحمل جينات مقاومة العفن الذي يسببه احد انواع الفطر *Botrytis* [16] .

فمن خلال نقل هذه الجينات المقاومة بين اصناف النرجس باستخدام تقنيات النقل الجيني وبتوظيف زراعة الانسجة النباتية امكن الحصول على نباتات جديدة حاملة لهذه الجينات [17].

تهدف الدراسة الحالية إلى ايجاد طريقة مناسبة لاستحثاث توالد الأفرع الخضرية من الأجزاء المختلفة لنبات *Naraissus tazetta* L. ومن ثم انتاج البصيلات باستخدام تقنية زراعة الانسجة النباتية .

المواد وطرائق العمل

اجري البحث في مختبر زراعة الانسجة النباتية التابع لقسم تقنيات الانتاج النباتي – الكلية التقنية – المسيب، إذ تضمن ما ياتي

اختيار النوع النباتي المدروس

جمعت ابصال النرجس *Narcissus tazetta L.* من مدينة سنجار – محافظة نينوى، إذ يمتاز هذا النوع بازهاره البيضاء يتوسطها اللون الاصفر ذات رائحة زكية وقوية، تحمل الازهار بشكل نورة زهرية مكونة من 3-5 ازهار على قمة حامل زهري واحد يتراوح طوله بين 40-20 سم يخرج من البصلة من اسفل التربة. وتتفتح الازهار متتالية لتكون ما يشبه التاج على قمة الحامل الزهري، إذ تستمر فترة الازهار لكل زهرة إلى اسبوع، ويزهر النرجس في شهر كانون الثاني صورة (1) . ويكون قطر الابصال حوالي 6 سم تحيط بها اوراق حرشفية غشائية جافة بنية اللون تحميها من الجفاف [3].

صورة (1): ازهار نبات النرجس

اختيار الأجزاء النباتية وتعقيمها

اختيرت الابصال النامية بصورة جيدة الخالية من الجروح والاصابات الأخرى ووضعت في الثلاجة بدرجة حرارة 4 م لمدة ثلاثة اشهر. وفي المختبر ازيلت عنها الأوراق الحرشفية البنية اللون وغسلت بماء الحنفية والصابون السائل جيداً ثم وضعت تحت الماء الجاري لمدة 24 ساعة لضمان التخلص من الاتربة والاوساخ العالقة بين الأوراق الحرشفية.

نقلت الابصال بعد ذلك إلى كابينة انسياب الهواء الطبقي حيث اجريت لها عملية التعقيم السطحي بكلوريد الزئبق بتركيز 0.1 % لمدة 30 دقيقة، ثم غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات لمدة 5 دقائق لكل مرة، وازيلت الأجزاء المتضررة نتيجة التعقيم ثم قطعت الابصال في طبق بتري معقم إلى اجزاء نباتية شملت الجزء السفلي والمكون من القرص القاعدي والجزء العلوي مكون من الأوراق الحرشفية والذي بدوره قطع إلى اربعة اجزاء طولية بعد ازالة البرعم القمي صورة (2).

صورة (2) : الأجزاء النباتية المعدة للزراعة

زراعة الأجزاء النباتية

التجربة الاولى

استحثاث تفتح الأفرع الخضرية من الأجزاء النباتية

زرعت الأجزاء النباتية (القرص القاعدي والاوراق الحرشفية) على الوسط الغذائي MS [18] المعقم والمجهز بتراكيز مختلفة من منظمي النمو البنزيل ادنين BA 7.0,5.0,3.0,1.0,0.0 ملغم / لتر والنفثالين حامض الخليك NAA 10.0,5.0,3.0,1.0,0.0 ملغم/لتر وبواقع خمسة مكررات لكل من الجزء النباتي والتركيز.

جرى تحضين الزروعات في مجموعتين : الاولى حضنت في الضوء بدرجة حرارة 25 ± 2م وشدة اضاءة 1000 لوكس ولمدة 16 ساعة/ يوم، اما المجموعة الثانية فقد حضنت في الظلام وبنفس درجة الحرارة أعلاه وبواقع خمسة مكررات لكلٍ من الجزء النباتي والتركيز لدراسة تاثير الضوء والظلام في استحثاث تكوين الأفرع الخضرية من الأجزاء النباتية. اخذت النتائج بعد 60 يوماً من تاريخ الزراعة .

التجربة الثانية : استحثاث تكوين البصيلات خارج الجسم الحي

نقلت الأفرع المتفتحة من التجربة الاولى بطول 2 سم فاكثر إلى وسط MS المعقم والمجهز بالاوكسين اندول بيوتريك اسد IBA بتراكيز 1.5,1.0,0.5ملغم / لتر والسكروز بتراكيز 3% ، 6% لاستحثاث تكوين البصيلات خارج الجسم الحي وبواقع 10 مكررات لكل تركيز. اخذت النتائج من حيث عدد البصيلات المتكونة وقطرها ووزنها بعد 60 يوماً من نقل الأفرع إلى وسط تكوين البصيلات.

زراعة البصيلات المتكونة في اوساط زرعية :

حضنت البصيلات المتكونة خارج الجسم الحي بعد تعقيمها بالمبيد الفطري البنليت بتركيز 0.1% بدرجة حرارة 4 م لمدة شهرين لكسر طور السكون، ثم زرعت في اصص بلاستيكية حاوية على اوساط زرعية معقمة وكالاتي : بيتموس فقط ، (بيتموس + تربة نهرية بنسبة 1:1)، (بيتموس + تربة نهرية بنسبة 1:2) .

وضعت الاصص في غرفة النمو بدرجة حرارة 20 ± 2 م لمدة 16 ساعة ضوء و 8 ساعات ظلام. اخذت النتائج بعد مرور ثلاثة اسابيع من تاريخ الزراعة.

النتائج والمناقشة

جدول (1): تاثير الضوء والظلام ومنظمات النمو في معدل عدد الأفرع المتفتحة من القرص القاعدي لنبات النرجس خارج الجسم الحي بعد 60 يوماً من الزراعة على وسط MS .

نوع المعاملة	تركيز NAA (ملغم/ لتر) / تركيز BA (ملغم / لتر)	0.0	1.0	3.0	5.0	10.0	المعدل	المعدل العام لـ BA
الضوء	0.0	0.0	1.6	0.6	1.0	0.6	0.76	0.52
	1.0	8.2	3.8	1.6	1.4	0.8	3.16	1.96
	3.0	11.0	5.4	6.4	2.0	1.2	5.20	3.16
	5.0	13.8	8.0	5.6	2.6	1.6	6.32	3.78
	7.0	15.8	9.0	8.4	2.6	1.2	7.40	4.22
	المعدل	9.76	5.56	4.52	1.92	1.08	4.57	
الظلام	0.0	0.0	0.6	0.4	0.2	0.2	0.28	
	1.0	0.4	0.4	1.6	0.8	0.6	0.76	
	3.0	0.8	1.0	1.6	0.8	1.4	1.12	
	5.0	3.0	1.4	0.6	0.6	0.6	1.24	
	7.0	1.4	1.6	1.0	0.8	0.4	1.04	
	المعدل	1.12	1.6	1.04	0.64	0.64	0.89	
	المعدل العام لـ NAA	5.44	3.28	2.78	1.28	0.86		

LSD. (0.05)	نوع المعاملة =	0.302
	لـ BA =	0.478
	لـ NAA =	0.478
	للتداخل الثلاثي =	1.512

تشير النتائج المبينة في جدول (1) إلى أن معدل عدد الأفرع الخضرية المتفتحة من القرص القاعدي قد تاثر معنوياً بنوع المعاملة والتراكيز المختلفة لمنظمي النمو BA و NAA ، فقد تغلبت معاملة الضوء معنوياً على معاملة الظلام واعطت معدلاً بلغ 4.57 فرعاً.

كما بينت النتائج وجود فروقات معنوية بين مستويات BA ولكلا المعاملتين ،فقد اظهر التركيزان 5.0 ملغم / لتر و 7.0 ملغم / لتر تفوقاً معنوياً بإعطائهما أعلى معدل لعدد الأفرع بلغ 3.78 و 4.22 فرعاً على التوالي مقارنة بالسيطرة 0.52 والمعاملات الأخرى. تتفق هذه النتيجة مع ما وجده [20] بوجود علاقة طردية بين معدل عدد الأفرع وتراكيز BA في الوسط الغذائي، إذ أن معدل عدد النموات الخضرية ازداد مع زيادة تركيز BA وقل مع انخفاض تركيزه في الوسط الغذائي.

واظهرت نتائج الجدول نفسه انخفاضاً معنوياً في معدل عدد الأفرع ولكلا المعاملتين عند تجهيز الوسط الغذائي بالاوكسين NAA، إذ تغلبت معاملة السيطرة معنوياً على المعاملات الأخرى واعطت معدلاً بلغ 5.44 فرعاً، في حين كانت اقل المعدلات عند تراكيز العالية من NAA وخاصة التركيز 10.0 ملغم/ لتر 0.86 فرع، وكان هذا الانخفاض متزامناً مع تكوين الكالس في الأجزاء النباتية المزروعة على هذه التراكيز.

وتتفق هذه النتيجة مع [12] إذ حصلا على كالس بدلاً من الأفرع الخضرية عند زراعة اجزاء نبات *Narcissus pseudonarcissus* على وسط مجهز بتراكيز عالية من الاوكسين .

كان للتداخل الثلاثي بين نوع المعاملة وتراكيز BA و NAA ذو فروق معنوية في معدل عدد الأفرع المتفتحة، إذ تفوقت معاملة التداخل : ضوء + 7.0 ملغم / لتر BA + 0.0 ملغم / لتر NAA (15.8 فرع) معنوياً على جميع التداخلات صورة (3). ولوحظ تكوين ابصال عند قواعد الأفرع المتفتحة في معاملة التداخل: ضوء + 3.0 ملغم / لتر BA + 3.0 ملغم / لتر NAA . تتفق هذه النتيجة مع [11] عندما حصلوا على افرع خضرية لنبات *Narcissus asturiensis* وبعد شهرين تكونت بصيلات صغيرة عند قواعد الأفرع على وسط MS المحور والمجهز بـ BA و NAA. في حين اشار [21] إلى زيادة عدد الأفرع في وسط مجهز بتراكيز واطئة من NAA وتراكيز عالية من BA وزيادة تركيز السكروز إلى 11% مع تحضين الزروعات في الظلام عند اكثارهم لابصال *Allium sativum*.

وانخفض معدل الأفرع الذي كان مقترناً بتكوين الكالس في تداخلات الظلام مع تراكيز BA و NAA ، ولم تعطِ الأجزاء المزروعة على الوسط الخالي من منظمات النمو اي استجابة لتكوين الأفرع سواء في الضوء او في الظلام.

صورة (3) : الأفرع الخضرية المتفتحة من القرص القاعدي : اليمين : الأفرع المتفتحة في الظلام ، اليسار :الأفرع المتفتحة في الضوء

وتشير نتائج جدول (2) إلى تغلب معاملة الضوء معنوياً على معاملة الظلام في معدل طول الأفرع الخضرية والبالغ 3.16 سم مقارنة بمعاملة الظلام التي أعطت معدلاً بلغ 0.70 سم. واثرت تراكيز BA معنوياً في زيادة معدل طول الأفرع في كلا المعاملتين إذ بلغ أعلى معدل 3.51 سم عند التركيز 3.0 ملغم / لتر مقارنة بالسيطرة 0.27 سم والتراكيز الأخرى. ولم يكن لاضافة NAA تاثير معنوي في زيادة معدلات الاطوال في كلا المعاملتين, إذ تغلبت معاملة السيطرة والتركيز 1.0 ملغم / لتر معنوياً على بقية التراكيز واللذان بلغ معدلهما 2.68 ، 2.98 سم على التوالي, في حين انخفض هذا المعدل معنوياً بزيادة تركيز NAA وصولاً إلى التركيز 10.0 ملغم / لتر والذي اعطى معدلاً 0.71 سم. واثرت التداخلات الثلاثية معنوياً في زيادة معدلات اطوال الأفرع، إذ كان أعلى معدل طول عند التداخل: ضوء + 3.0 ملغم / لتر BA + 0.0 ملغم / لتر NAA والتداخل ضوء + 3.0 ملغم / لتر BA + 1.0 ملغم / لتر NAA والذي بلغ 8.66 و 9.04 سم على التوالي صورة (4) مقارنة بالسيطرة التي بلغ معدل الطول فيها صفراً.

جدول (2) : تأثير الضوء والظلام ومنظمات النمو في معدل طول (سم) الأفرع المتفتحة من القرص القاعدي لنبات النرجس خارج الجسم الحي بعد 60 يوماً من الزراعة على وسطMS .

نوع المعاملة	تركيز NAA (ملغم/ لتر) / تركيز BA (ملغم / لتر)	0.0	1.0	3.0	5.0	10.0	المعدل	المعدل لـ BA	العام
الضوء	0.0	0.0	0.38	0.22	0.26	0.20	0.21	0.27	
	1.0	6.68	4.02	2.08	1.24	1.20	3.04	2.03	
	3.0	8.66	9.04	4.90	4.78	0.78	5.63	3.51	
	5.0	4.36	7.04	4.24	3.32	1.92	4.18	2.33	
	7.0	3.88	3.36	2.60	2.40	1.44	2.74	1.54	
	المعدل	4.72	4.77	2.81	2.40	1.11	3.16		
الظلام	0.0	0.0	0.56	0.62	0.32	0.16	0.33		
	1.0	0.90	1.18	1.70	0.92	0.36	1.01		
	3.0	0.88	2.50	2.34	0.46	0.70	1.38		
	5.0	0.70	1.10	0.22	0.18	0.16	0.47		
	7.0	0.70	0.54	0.14	0.14	0.14	0.33		
	المعدل	0.64	1.18	1.00	0.40	0.30	0.70		
	المعدل العام لـ NAA	2.68	2.98	1.91	1.40	0.71			
LSD. (0.05)	لنوع المعاملة = 0.245								
	BA لـ = 0.388								
	NAA لـ = 0.388								
	للتداخل الثلاثي = 1.227								

ب أ

صورة (4) : أ : الأفرع المتفتحة من القرص القاعدي عند التداخل : ضوء + 3.0 ملغم / لتر + 0.0 ملغم / لتر NAA
ب : الأفرع المتفتحة من القرص القاعدي عند التداخل : ضوء + 3.0 ملغم / لتر + 1.0 ملغم / لتر NAA

وأظهرت نتائج جدول (3) تفوق معاملة الضوء معنوياً في معدل عدد الأفرع المتفتحة من الأوراق الحرشفية صورة (5), إذ أعطت معدلاً بلغ 3.14 فرعاً مقارنة بمعاملة الظلام 1.06 فرع. وكان لمستويات BA تأثير معنوي في زيادة معدل عدد الأفرع لكلا المعاملتين مقارنة بالسيطرة, وإذ أعطت الأجزاء المزروعة على الوسط المجهز بـ 3.0 ملغم / لتر أعلى معدل بلغ 3.42 فرعاً متفوقاً بذلك معنوياً على جميع التراكيز الأخرى. وتفوقت الأجزاء المزروعة على الوسط الخالي من NAA معنوياً على بقية تراكيز NAA, إذ أعطت أعلى معدل بلغ 4.08 فرعاً وسببت التراكيز العالية من NAA ظهور كالس على الأجزاء النباتية.

كان للتداخل الثلاثي تأثير معنوي في معدلات إعداد الأفرع إذ تفوق التداخل : ضوء + 3.0 ملغم / لتر BA + 0.0 ملغم / لتر NAA معنوياً على جميع التداخلات بإعطائه أعلى معدل بلغ 12.0 فرعاً.

جدول (3) : تأثير الضوء والظلام ومنظمات النمو في معدل عدد الأفرع المتفتحة من الأوراق الحرشفية لنبات النرجس خارج الجسم الحي بعد 60 يوماً من الزراعة على وسط MS.

نوع المعاملة	تركيز NAA (ملغم/لتر) / تركيز BA (ملغم / لتر)	0.0	1.0	3.0	5.0	10.0	المعدل	المعدل العام لـ BA
الضوء	0.0	0.0	2.0	1.2	0.8	0.0	0.80	0.48
	1.0	6.0	3.2	2.0	2.0	0.4	2.72	1.88
	3.0	12.0	6.8	2.6	3.6	1.2	5.24	3.42
	5.0	6.4	5.0	2.0	3.0	0.8	3.44	2.48
	7.0	9.4	4.6	1.6	1.4	0.4	3.48	2.22
	المعدل	6.76	4.32	1.88	2.16	0.56	3.14	
الظلام	0.0	0.0	0.4	0.2	0.2	0.0	0.16	
	1.0	1.0	0.8	1.4	1.2	0.8	1.04	
	3.0	2.0	1.4	1.6	1.6	1.4	1.60	
	5.0	2.4	2.0	1.4	1.2	0.6	1.52	
	7.0	1.6	1.2	1.0	0.8	0.2	0.96	
	المعدل	1.40	1.16	1.12	1.00	0.60	1.06	
	المعدل العام لـ NAA	4.08	2.74	1.50	1.58	0.58		

LSD. (0.05)	لنوع المعاملة =	0.255
	لـ BA =	0.404
	لـ NAA =	0.404
	للتداخل الثلاثي =	1.278

صورة (5) : الأفرع الخضرية المتفتحة من الأوراق الحرشفية لأبصال النرجس

وتشير نتائج جدول (4) إلى تفوق معاملة الضوء معنوياً بإعطائها أعلى معدل لطول الأفرع والبالغ 1.98 سم مقارنة بمعاملة الظلام 0.82 سم . أثرت تراكيز BA معنوياً في معدل طول الأفرع, إذ تغلب التركيزان 1.0،3.0 ملغم / لتر معنوياً على بقية التراكيز وأعطيا معدلاً بلغ 1.96، 1.95 سم على التوالي. تفوقت معاملة السيطرة والتركيز 1.0 ملغم / لتر من NAA معنوياً على المعاملات الأخرى بإعطائهما أعلى معدل طول بلغ 1.87 ، 2.06 سم على التوالي.

جدول (4) : تأثير الضوء والظلام ومنظمات النمو في معدل طول (سم) الأفرع المتفتحة من الأوراق الحرشفية لنبات النرجس خارج الجسم الحي بعد 60 يوماً من الزراعة على وسط MS

نوع المعاملة	تركيز NAA (ملغم/ لتر) / تركيز BA (ملغم / لتر)	0.0	1.0	3.0	5.0	10.0	المعدل	المعدل العام لـ BA
الضوء	0.0	0.0	1.3	0.62	0.66	0.0	0.52	0.30
	1.0	5.02	3.76	2.26	1.76	0.42	2.64	1.96
	3.0	3.14	3.66	3.24	1.88	0.60	2.50	1.95
	5.0	4.58	3.74	1.56	1.48	0.38	2.35	1.66
	7.0	2.98	3.36	1.38	1.48	0.16	1.87	1.14
	المعدل	3.14	3.16	1.81	1.45	0.31	1.98	
الظلام	0.0	0.0	0.14	0.12	0.08	0.0	0.07	
	1.0	0.56	0.90	3.54	1.24	0.14	1.28	
	3.0	1.44	1.48	1.54	1.42	1.12	1.40	
	5.0	0.50	1.64	0.90	0.72	1.06	0.96	
	7.0	0.44	0.62	0.62	0.24	0.14	0.41	
	المعدل	0.59	0.96	1.34	0.74	0.49	0.82	
	المعدل العام لـ NAA	1.87	2.06	1.58	1.10	0.40		

LSD. (0.05)	لنوع المعاملة	0.156 =
	لـ BA	0.248 =
	لـNAA	0.248 =
	للتداخل الثلاثي	0.784 =

تفوق التداخل: ضوء + 1.0 ملغم / لتر BA + 0.0 ملغم / لتر NAA والتداخل: ضوء + 5.0 ملغم / لتر BA + 0.0 ملغم / لتر NAA معنوياً على بقية التداخلات اذا أعطيا معدلاً بلغ 5.02 و 4.58 سم على التوالي، يتبين من النتائج أعلاه أن معدلات إعداد وأطوال الأفرع المتفتحة من الأجزاء النباتية المختلفة قد تأثرت معنوياً بنوع المعاملة والتراكيز المختلفة لمنظمي النمو BA و NAA إذ لوحظ أهمية الضوء في استحثاث التمايز للأفرع والاعضاء فهو ينظم عمليات التكوين المظهري للأنسجة مما يساعد على تمايز ونمو البراعم الخضرية المستحثة على عكس الظلام الذي ربما يسبب صعوبة تكشف الاعضاء في بعض الزروعات غير الناجحة نظرا لعدم حصول العمليات الفسيولوجية المهمة التي تحتاج إلى الضوء [22] كما أن اضافة BA إلى الوسط الغذائي ساهم معنوياً في زيادة معدلات عدد الأفرع مما يدل على أهمية دور السايتوكاينين في كسر السيادة القمية حيث ينشيء مناطق جذب تحفز من سرعة انتقال المغذيات اليها مؤدية بذلك إلى تحفيز انقسام وتمايز الخلايا المؤدي إلى زيادة عدد الأفرع الناتجة من نمو البراعم الجانبية والعرضية [23] .

وان انخفاض معدل طول الأفرع بزيادة تركيز BA في الوسط الغذائي ربما يرجع إلى زيادة عدد الأفرع المتكونة من الجزء النباتي المزروع جدول (3،1) نتيجة لكسر السيادة القمية وتحرر البراعم الساكنة مما ادى إلى حصول منافسة بين الأفرع على المواد الغذائية فنتج عنه قلة معدلات اطوال الأفرع النامية [24] .

كما اشارت النتائج إلى أن استخدام الاوكسين NAA لوحده او بالتداخل مع BA ادى إلى تقليل او تثبيط نمو الأفرع اي أن افضل المعدلات كانت بدون استخدام الاوكسين وخاصة في التراكيز العالية قد يظهر فعالية مضادة لتأثير السايتوكاينين في زيادة معدلات التفرعات من خلال منع حدوث الاتصال الوعائي للبراعم الجديدة مما يؤدي إلى عدم او قلة مرور المواد الغذائية للبراعم وبالتالي قلة نموها [25] .

وان تداخل العوامل مع بعضها البعض في تفتح الأفرع واستطالتها يشير إلى أهمية الضوء متوافقا مع التركيز الملائم من منظمات النمو في استحثاث الأفرع خارج الجسم الحي ومن جهة اخرى فان تكون الكالس بنسبة اكثر في الظلام ربما يعود سببه إلى حصول تجمع الاوكسين وعدم تحطم الاوكسين الداخلي مقارنة بالضوء وبالتوافق مع التراكيز المجهزة خارجيا من BA و NAA التي ربما ادت إلى حصول حالة الموازنة بين المستويات الداخلية للهرمونات داخل الجزء النباتي مما حفز نشوء الكالس على معظم الأجزاء النباتية [26] .

تكوين بصيلات النرجس خارج الجسم الحي

اظهرت النتائج جدول (5) أن تركيز السكروز والاوكسين IBA قد أثر معنوياً في معدلات إعداد واقطار واوزان البصيلات المتكونة خارج الجسم الحي، فقد ازداد معدل عدد البصيلات المتكونة معنوياً في توليفات التداخل : 3% سكروز + 1.5 ملغم / لتر IBA و 6% سكروز + 1.0 ملغم / لتر IBA وأعطيا معدلاً بلغ 3.2 و 3.4 على التوالي مقارنة بالتوليفات الأخرى.

جدول (5): تأثير تركيز السكر (%) وتركيز IBA (ملغم /لتر) في معدل عدد و قطر (ملم) ووزن (ملغم) بصيلات النرجس المتكونة خارج الجسم الحي بعد 60 يوماً من نقل الأفرع إلى وسط تكوين البصيلات .

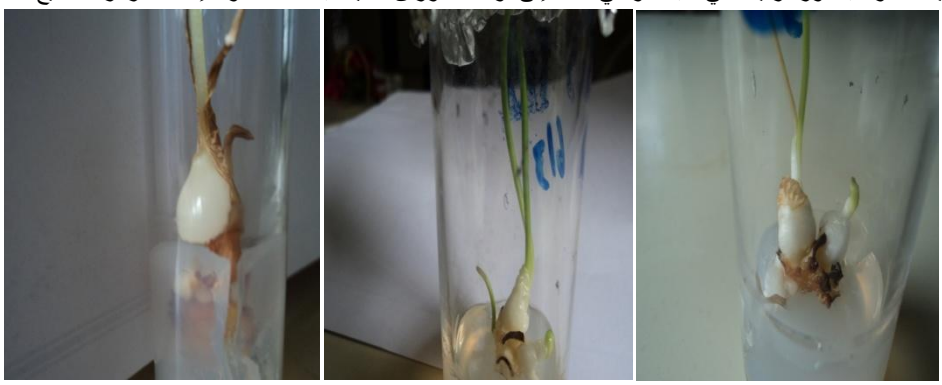
تركيز السكر (%)	تركيز IBA (ملغم / لتر)	معدل عدد البصيلات	معدل قطر البصيلات (ملم)	معدل وزن البصيلات (ملغم)
	0.5	2.3	6.66	320.4
3	1.0	1.7	4.67	117.2
	1.5	3.2	7.42	219.3
	0.5	0.5	2.70	123.2
6	1.0	3.4	5.60	227.8
	1.5	2.2	6.12	213.0
	LSD. (0.05) للتداخل	2.373	2.381	187.266

في حين تمكن [9] من الحصول على بصيلات النرجس *N. bulbocodium* عند تقليل تركيز السكروز إلى 2% مع استخدام الـ Kin و IBA وJasmonic acid وحصل [15] على بصيلات النرجس *N . papyraceus* باستخدام وسط MS مجهزاً بتراكيز من IBA و 2,4-D و BA و GA3 مع بقاء تركيز السكروز 3%.

فيما يخص قطر البصيلة فقد ازداد المعدل في معاملة التداخل : 3% سكروز + 1.5 ملغم / لتر IBA إذ بلغ 7.42 ملم الا انها زيادة غير معنوية مقارنة بالتوليفتين 3% سكروز + 0.5 ملغم / لتر IBA و 6% سكروز + 1.5 ملغم / لتر IBA واللتين اعطتا 6.66 و 6.12 ملم على التوالي.

تشير نتائج الجدول نفسه إلى تباين معدلات اوزان البصيلات المتكونة حيث تراوح بين 117.2 – 320.4 ملغم وتوضح صورة (6) البصيلات المتكونة خارج الجسم الحي .

اشارت الدراسات السابقة إلى أن الاوكسينات تلعب دوراً مهما في العديد من العمليات الحيوية في جسم النبات حيث تعمل على توزيع المواد الغذائية إلى الأجزاء النامية او المتكشفة حديثاً [27], إذ تؤثر في انتقال الكاربوهيدرات إلى تلك المناطق فضلاً عن تحفيز فعالية الانزيمات المسؤولة عن بناء السكريات المتعددة وبالتالي تتجمع النواتج الكاربوهيدراتية مما يؤدي إلى انتاج بصيلات صغيرة الحجم والتي تصبح اكبر مصب للخزن واثناء المراحل النهائية تقوم البصيلات بتقليل نشاطها الحيوي وتبقى كونها موقع خزن لذلك يزداد وزنها إذ يعد السكروز المادة الكاربوهيدراتية المنقولة بصورة رئيسة في النبات والتي تنتقل إلى قواعد الأوراق الفتية للبصلة المتكونة إذ تعد مركزاً لتجميع المغذيات [28].



أ ب ج

د هـ و

صورة (6): تكوين بصيلات النرجس خارج الجسم الحي : أ ، ب ، ج ، د ، هـ : مراحل تكوين البصيلة . و : أحجام البصيلات بعد حصادها إنبات البصيلات

بعد كسر طور السكون للبصيلات المتكونة بزراعة الانسجة بعد تخزينها لمدة شهرين في درجة حرارة 4 درجة مئوية وزراعتها في أوساط زراعية متكونة من البيتموس فقط والبيتموس مع التربة النهرية بنسبة 1:1 ، 1:2 حجم / حجم وكانت نسبة الإنبات 98% في الوسط الزرعي

المكون من البيتموس مع التربة النهرية بنسبة 1:1 تلتها البصيلات النامية في الوسط المكون من البيتموس فقط ، إذ أعطت البصيلات النباتية نموات خضرية جيدة صورة (7) إلا أنها لم تزهر في الموسم نفسه. ولذلك فقد أوصى الباحثون بضرورة معاملة البصيلات الناتجة خارج الجسم الحي بدرجة حرارة 4 درجة مئوية لمدة شهرين لكسر طور سكونها قبل إنباتها [14].

صورة (7): إنبات البصيلات بعد زراعتها على أوساط زرعية مختلفة

المصادر

1. Dobson , H., Arroyo , J. and Bergstrom, G. (1997). Interspecific variation in floral fragrances with the genus *Narcissus*. Biochem. Syst. Eco. 25: 685 – 706 .
2. عبيد، هبة. (2007). من الحديقة المنزلية. دار اليازوري العلمية للنشر والتوزيع، عمان، الأردن.
3. رسول، طاهر نجم. (1984). أبصال الزينة. مديرية مطابع جامعة الموصل، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، الجمهورية العراقية .
4. Weniger, B., Italiano, L. and Bergonon, S. (1995). Cytotoxic activity of Amaryllidaceae alkaloids . Planta Med. 61: 73 – 79.
5. Moraes, R.M., Burandt, C. and Nanayak , D . (1997) . Evaluation of four *Narcissus* cultivars as potential sources for galanthamine production. Plant Med. 63 : 472 – 474.
6. Squires,W. and Langton, F. (1998). Potential and limitation of *Narcissus* micropropagation: an experimental evaluation. Acta Hort. 260: 67 – 76.
7. Merel , M . and Langens, G . (1999). Micropropagation of flower bulbs: Lily and Narcissus. Plant Cell, Tissue and Organ Cult. 11: 141 – 148.
8. Staikidou, I., Watson, S. and Harvey, B. (2005). *Narcissus* bulbet formation *in vitro*: effects of carbohydrate type and osmolarity of the culture medium. Plant Cell, Tissue and Organ Cult. 80: 313-320.
9. Salema, K. and Salemak , M. (2000). Promotion by jasmonic acid of bulb formation in shoot culture of *Narcissus triandrus*. Plant Growth Regul. 30: 133 – 138.
10. Paek, K.Y., Hahn, E.J. and Son, S.H. (2001). Application of bioreactors for large- scale micropropagation systems of plant. 37 (2): 149 – 157.
11. Santos, A., Fidalgo, F. and Santos, F. (2002). *In vitro* bulb formation of *Narcissus asturiensis*, a threatened species of the Amaryllidaceae. J. Hort. Sci. Biotech. 77: 149 –152.
12. Sage, D. and Hammatt , A. (2005). Somatic embryogenesis and transformation in *Narcissus* cultivars. Acta Hort. 570: 112 – 118.
13. Jiao , C., Yizhu , X. and Jian, W. (2005). Efficient callus induction and plant regeneration from anthers of Chinese *Narcissus*. Plant Cell Rep. 24: 401- 407.
14. Sage, D. (2005). Propagation and protection of flower bulbs: current approaches and future prospects with special reference to *Narcissus*. Acta Hort. 673: 107 – 115.
15. Anbari, S., Tohidfar, M., Hosseini, R. and Haddad, R. (2007). Somatic embryogenesis induction in *Narcissus papyraceus* cv. shirazi. Plant Tissue Cult. Biotech. 17 (1) : 37 – 46 .
16. Hanks, R., Moneili, T. and Wilson,W. (2004). Control of smolder (*Botrytis narciscold*) in *Narcissus* with fungicides. Annals of Applied Biol. 145: 129-137.
17. Qayyum , R ., Safaraz , H. and Shahzed , M. (2005). Somatic embryogenesis in wild relatives of cotton. J. Zhejiang Univ. Sci. 4: 291 – 298.
18. Murashige , T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15: 473 – 497 .
19. الراوي، خاشع محمود وخلف الله، عبد العزيز. (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. جامعة الموصل مطابع دار الكتب للطباعة والنشر.
20. Jaine , A. (2003). Thin cell layer technology in ornamental plant micropropagation and biotechnology. African J. Biotech. 2: 683 – 691.
21. Kim , E. K, Hahn, E. J., Murth , H.N. and Paek,Y. (2003). High frequency of shoot multiplication and bulblet formation of garlic in liquid culture. Plant Cell, Tissue and Organ Cult. 73: 231 – 236.
22. الرفاعي، عبد الرحيم توفيق والشوبكي، سمير عبد الرازق. (2007). زراعة الأنسجة والإكثار الدقيق للنبات. الطبعة الأولى، المكتبة المصرية للطباعة والنشر والتوزيع ، الإسكندرية ، جمهورية مصر العربية .
23. Wright, N.A. and Alderson, P.G. (1980). The growth of tulip tissue *in vitro*. Acta Hort. 109: 263 – 270.
24. عواد، زينب جليل. (1995). إكثار نبات الكاردينيا *Gardenia jasminoides* Ellis. باستخدام تقنية زراعة الأنسجة. رسالة ماجستير, كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق .
25. Dunston , D. I., Turner, k .E. and Lazaroff , W. R. (1985). Propagation *in vitro* of apple rootstock M4: Effect of phytohormones on shoot quality. Plant Cell, Tissue and Organ Cult. 4: 511-514.

26. Remotti, P. C. and Loffer, H. J. (1995). Callus induction and plant regeneration from Gladiolus. Plant Cell, Tissue and Organ Cult. 42: 171-178.

27. Ali, H., Attiya, H. and Hassoun , Q . (1998). Response of different genotypes of corn (*Zea mays* L.) to some plant growth regulators. Dirasat. 25, (2): 296-310.

28. علي، وردة عبد السميع عيد. (2005). دراسات على الإكثار الدقيق لأبصال الليليم. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة عين الشمس، مصر.