الإكثار الدقيق لنبات الليليم *Lilium longiflorum* خارج الجسم الحي .

سامي كريم محمد أمين* فاديه هشام طه* حيدر عماد محمد*

*** قسم البستنة - كلية الزراعة - جامعة بغداد**

الخلاصة

أجريت دراسة تأثير عدد من العوامل في الإكثار الدقيق لنبات الليليم *Lilium longiflorum* في مختبر زراعة الأنسجة النباتية التابع لقسم البستنة / كلية الزراعة / جامعة بغداد للفترة من تشرين أول 2009 ولغاية حزيران 2010 . شملت الدراسة عددا من التجارب لتحسين التضاعف والتجذير . استؤصلت الأوراق العصارية من البصلة وبعد تعقيمها زرعت على الوسط Murashige &Skoog (MS). شملت تجارب التضاعف ، إضافة التراكيز 0 ,1.0 , 2.0 4.0 , 8.0 ملغم /لتر من البنزل أدنين (BA) أو التراكيز 0.8,0,4,0.2,0 ملغم/لتر من CPPU لدراسة تأثير كل منهما على حدة أو تأثير تداخلهما . التجربة الثانية إضافة التراكيز0.8, ,0.4,0.2,0 ملغم/لتر من NAA إلى الوسط المضاف إليه تراكيز BA 0 ,1.0, 2.0 , 4.0 , 8.0 ملغم /لتر . التجربة الثالثة : إضافة تراكيز NAA المذكورة في التجربة الثانية إلى الوسط الحاوي على تراكيزCPPU المذكورة في التجربة الأولى . أما تجارب التجذير فتضمنت زراعة الأفرع الناتجة من مرحلة التضاعف على الوسط MS المجهز بالتراكيز 20 ،30 ، 40 غم / لتر من السكروز . التجربة الثانية زرعت الأفرع على الوسط MS المجهز بنصف قوة الأملاح والمضاف إليه التراكيز 0.8,0.4,0.2,0 ملغم/لتر من NAA . التجربة الثالثة : زراعة الأفرع على الوسط MS بكامل قوة الأملاح مضافا إليه التراكيز 0.8,0,4,0.2,0 ملغم/لتر من NAA . ويمكن تلخيص النتائج بالاتي : إن إضافة BA إلى الوسط أدى إلى تقليل عدد الأفرع وأطوال الأفرع ، بينما أدى إلى زيادة عدد الأوراق . إن تراكيز CPPU أدى إلى زيادة عدد الأفرع عند التركيز 0.4 ملغم/لتر ، كما إن التراكيز العالية منه أدت إلى زيادة عدد الأوراق ، إلا أنها أدت إلى انخفاض طول الفرع .إن إضافة الاوكسين NAA مع السايتوكاينين سواء BA أو CPPU إلى الوسط لم يحسن من عدد الأفرع المتكونة على الجزء النباتي المزروع . أما بالنسبة إلى التجذير فان زيادة تركيز السكروز أدى إلى تحسين التجذير . وان التركيز 0.4 ملغم/لتر NAA كان الأفضل في زيادة النسبة المئوية للتجذير وأعداد الجذور وأطوالها . إن تقليل أملاح MS إلى النصف لم يكن ذا تأثير واضح على تجذير الأفرع .

تاريخ استلام البحث 23 / 12 / 2010 .

تاريخ قبول النشر 13 / 4 / 2011 .

المقدمة

نبات الليليم *Lilium longiflorum* ينتمي إلى العائلة Liliaceae وهو من الأبصال الحولية الشتوية . ويضم الجنس Lilium أكثر من 110 نوع .

وتعتبر اليابان وأمريكا وهولندا من الدول المهمة في إنتاجه ، وهو من أزهار القطف المهمة ، ويمكن إنتاجه على فترات زمنية طويلة . تختلف أنواع الليليم بأشكال وألوان أزهارها (الشايب ، 2005) . تعد طريقة إكثار النباتات باستخدام تقنية زراعة الأنسجة واحدة من التطبيقات العملية لهذه التقنية لما تمتاز به من خصائص تنفرد بها مقارنة بطرق الإكثار التقليدية . إن الإكثار الدقيق يسمح بإنتاج أعداد كبيرة من النباتات خلال فترة زمنية قصيرة ، ويمكن إكثار النباتات التي يصعب إكثارها بالطرق التقليدية فضلا عن إمكانية إكثار النباتات طيلة أيام السنة دون التقيد بموسم نمو ، تقسم عملية الإكثار خارج الجسم الحي إلى أربعة مراحل هي : مرحلة نشوء الزروعات ، مرحلة التضاعف ، مرحلة التجذير وأخيرا مرحلة الأقلمة (Purohit ، 2003) . إن نوع وتركيز منظمات النمو المضافة إلى وسط الزراعة في تقنية زراعة الأنسجة تعتبر من العوامل المحددة في نجاح الإكثار الدقيق للنباتات . وتعد الاوكسينات والسايتوكاينينات الأكثر استخداما لهذا الغرض . يحصل تضاعف الأجزاء المزروعة أما بسبب تحفيز نمو البراعم الجانبية من خلال القضاء على السيادة القمية بفعل إضافة السايتوكاينينات إلى الوسط ، أو تكون البراعم العرضية التي تتكشف إلى أفرع جديدة وأخيرا تحول الخلايا إلى أجنة جسمية (Embryogenesis) أو أنها تعطي فروعا من دون تحولها إلى أجنة (Organogenesis) (Ramawat ، 2004) . إن ارتفاع أسعار منظمات النمو النباتية دفعت الباحثين إلى التفتيش عن مركبات كيميائية بديلة رخيصة الثمن تمتلك نفس الفعالية. ومن هذه المركبات N - (2- Chloro – 4 - Pyridyl) - 3 - Phenylurea (CPPU). ويشبه هذه المركب تأثير السايتوكاينينات في تحفيز انقسام الخلايا وزيادة اتساعها وكسر السيادة القمية (Davies،1995) . تشير الدراسات إلى إمكانية إكثار أبصال الليليم خارج الجسم الحي باستئصال أجزاء نباتية مختلفة مثل القمة النامية أو العقد أو الأوراق أو الجذور أو الأوراق العصارية وزراعتها على الوسط الغذائي . فقد ذكر Kapoor وآخرون (2008) إن زراعة الجذور أو العقد أو الأوراق العصارية على الوسط MS المجهز ب 2ملغم / لتر NAA و 1.5ملغم / لتر BA أعطى أفضل النتائج . وأشار Bacchetta و آخرون (2003) إن إضافة Thidiazerone (TDZ) بجانب BA إلى الوسط MS أدى إلى زيادة عدد الأفرع عند زراعة الأوراق أو العقد لنبات الليليم . وأوضح Nhut وآخرون (2006) إن زراعة الأوراق العصارية لنبات الليليم على الوسط MS المجهز ب TDZ تركيز 0.5 ملغم / لتر و2ملغم / لتر NAA أدى إلى زيادة عدد الفروع المتكونة .وبهدف تجذير الأفرع المتكونة من عملية التضاعف تضاف عادة الاوكسينات إلى الوسط الغذائي لوحدها أو مع السايتوكاينينات . كما لوحظ إن تخفيض أملاح MS إلى النصف يساعد في التجذير سواء أضيفت الاوكسينات إلى الوسط أو لم تضف .فقد أشارNhut وآخرون (2001) إن أفرع نبات الليليم المزروعة على الوسط MS بنصف قوة الأملاح مضافا إليه 5.4مايكرومول من NAA و 4.9 مايكرومول من BA أدى إلى تحسين تجذير الأفرع وأضاف Nhut وآخرون (2006) إن زراعة أفرع نبات الليليم الناتجة عن زراعة الأوراق العصارية على الوسط MS الذي يحتوي نصف قوة الأملاح مضافا إليه 0.2 ملغم / لترNAA أدى إلى زيادة

عدد وطول الجذور والوزن الجاف للجذور إذ بلغت 32 ، 60.7 ملم ، 1340.5ملغم على التوالي مقارنة بالنباتات المزروعة على الوسط MS بكامل قوة الأملاح والخالي من الاوكسين NAA حيث بلغ عدد الجذور 5.4وطولها 42 ملم والوزن الجاف للجذور 579.6 ملغم . تهدف هذه الدراسة الى إمكانية إكثار نبات اليليم باستخدام الأوراق العصارية وزراعتها في الوسط MS المجهز بأنواع وتراكيز مختلفة من منظمات النمو .

المواد وطرائق البحث

أجريت الدراسة في مختبر زراعة الأنسجة النباتية التابع الى قسم البستنة / كلية الزراعة / جامعة بغداد للفترة من تشرين أول 2009 ولغاية حزيران 2010 . فصلت الأوراق العصارية من أبصال الليليم ، ثم عقمت بعد نقعها بتركيز 4% من القاصر التجاري الذي يحتوي على 6 % هايبوكلورات الصوديوم NaOCl لمدة 10 دقائق ، ثم غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات لإزالة أي اثر لمادة التعقيم .وشملت تجارب مرحلة التضاعف ، زراعة الأوراق العصارية على الوسط MS حيث تثبت قاعدة الأوراق في الوسط الغذائي وأضيف إلى الوسط منظمات النمو التالية : -

1) البنزل أدنين (BA) بالتراكيز 0 ,1.0 , 2.0 , 4.0 , 8.0 ملغم /لتر

2) CPPU بالتراكيز 0 ,0.2, 0.4 , 0.8 ملغم /لتر

3) تجهيز الوسط BA بالتراكيز 0 ,1.0 , 2.0, 4.0 , 8.0 ملغم /لتر و النفثالين استيك بالتراكيز 0 ,0.2, 0.4 , 0.8 ملغم /لتر

4) تجهيز الوسط الحاوي على CPPU بنفس تراكيز النفثالين اسيتك المشار إليها في الفقرة 4 تم تسجيل البيانات بعد مرور أربعة أسابيع من الزراعة .

أما بالنسبة إلى تجارب التجذير فقد تضمنت : -

1. زراعة الأفرع على الوسط MS بكامل قوة الأملاح المجهز بمستويات مختلفة من الاوكسين النفثالين اسيتك أسد (NAA) بالتراكيز 0 ,0.2 ,0.4 ,0.8 ملغم /لتر

2. زراعة الأفرع على الوسط MS بنصف قوة الأملاح المجهز بالتراكيز0 ,0.2 ,0.4 ,0.8 ملغم /لتر من NAA .

3. زراعة الأفرع على الوسط MS بكامل قوة الأملاح والمجهز بتراكيز من السكروز هي 20 ، 30 ، 40 غم /لتر

4. زراعة الأفرع على الوسط MS بنصف قوة الأملاح المجهز بالتراكيز 20 ، 30 ، 40 غم /لتر من السكروز . تم تسجيل البيانات الخاصة بالتجذير بعد مرور أسبوعين من الزراعة . حضنت الزروعات في غرفة النمو تحت شدة إضاءة 1000 لوكس ولمدة 16 ساعة ضوء وعلى درجة 24 م^{o} $\pm$ 1 . أخرجت النبيتات وتم غسل الجذور بواسطة الماء المقطر المعقم لإزالة أي اثر

متبق من الوسط الغذائي ، ثم زرعت في سنادين قطرها 5سم يحتوي على تربة مكونة من الرمل والبتموس بنسبة 1 :1 . تركت في غرفة النمو لمدة أسبوعين لغرض أقلمتها ثم نقلت الى البيت الزجاجي وأمكن تنميتها دون هلاك أي منها .

استخدم التصميم الكامل العشوائية (CRD) في حالة دراسة عامل واحد ، بينما استخدمت التجارب العاملية بتصميم (CRD) في التجارب التي درس بها أكثر من عامل . وبواقع عشر مكررات للمعاملة ، ويمثل كل مكرر أنبوبة اختبار واحدة . قورنت المتوسطات باستعمال اقل فرق معنوي LSD لبيان الفروقات الإحصائية بين المعاملات على مستوى احتمال 5 % (الساهوكي و وهيب ، 1990) .

النتائج والمناقشة

أولا : تجارب تضاعف الجزء النباتي المزروع

1 . تأثير BA و CPPU في عدد الأفرع المتكونة

يتضح من الجدول (A – 1) إن إضافة BA إلى الوسط أدى إلى انخفاض معنوي في عدد الأفرع للجزء النباتي المزروع ، وكان الانخفاض في عدد الأفرع يزداد بزيادة تركيز BA . بينما أدى إضافة CPPU عند التركيز 0.4 ملغم /لتر أدى إلى زيادة معنوية في عدد الأفرع مقارنة بالأجزاء النباتية المزروعة على الوسط الخالي من هذا المركب أو الأوساط المضاف إليها 0.2 و 0.8 ملغم /لتر (جدول 1 – B) . أما بالنسبة إلى تأثير التداخل بين العاملين (CPPU X BA) فان معظم المعاملات لم تختلف فيما بينها معنويا ، وأعطت المعاملة $0.4 X BA_0$ ملغم /لتر CPPU أعلى زيادة بلغت 5.75 فرع . (جدول 1 – C) إن الفروق بين المعاملات في طول الأفرع كانت غير معنوية ، عدا التركيز 8.0 ملغم /لتر BA ، فقد أدت إلى انخفاض معنوي في طول الأفرع (جدول 1 – A) . إن إضافة CPPU إلى الوسط أدى إلى انخفاض معنوي في طول الأفرع ، فبعد أن كان 5.64 سم في الوسط الخالي من CPPUانخفض إلى 3.53 في الوسط المضاف إليه 0.2 ملغم /لتر جدول (1 – B) . كما إن معظم معاملات التداخل أدت إلى انخفاض معنوي في طول الأفرع مقارنة بالأجزاء النباتية المزروعة على الوسط الخالي من BA وCPPU (جدول 1 – C) كانت الفروقات في عدد الأوراق معنوية عند تجهيز الوسط بالسايتوكاينين BA بكافة تراكيزه مقارنة بالوسط الخالي منه (جدول 1 – A) ، وسجل التركيز 2 ملغم /لتر أعلى زيادة بلغت 9.62 ورقة بعد أن كانت 5.63 ورقة في حالة الزراعة في الوسط الخالي من BA . أما إضافةCPPU إلى الوسط فقد أدى إلى زيادة في عدد الأوراق عند التركيز العالي 0.8 ملغم /لتر إذ أعطت 9.30 ورقة . إلا أن الفروق كانت غير معنوية بين هذا التركيز وتراكيز CPPU الأخرى ما عدا التركيز 0.2 ملغم /لتر الذي أدى إلى حصول انخفاض معنوي في هذه الصفة إذ بلغ 7.30 ورقة (جدول 1 - B) .

جدول 1. تأثير BA و CPPU وتداخلهما على تفريع نبات الليليم المزروع على الوسط MS

A : - تأثير BA

BAملغم /لتر	عدد الأفرع	طول الأفرع(سم)	عدد الأوراق
0	2 . 19	4 . 90	5 . 63
1	1 . 50	4 . 52	8 . 38
2	1 . 13	4 . 19	9 .62
4	1 ,19	4 .16	9 . 47
8	1 . 00	3 . 59	8 . 50
L.S.D.	0 . 26	0 . 87	1 . 81

B : - تأثيرCPPU

CPPUملغم / لتر	عدد الأفرع	طول الأفرع(سم)	عدد الأوراق
0	1 . 45	5 . 46	8 . 36
0.2	1 . 00	3 . 53	7 . 30
0.4	2 . 15	3 . 90	8 .33
0.8	1 . 00	4 . 20	9 . 30
L.S.D.	0 . 23	0 . 78	1 . 62

C : - تأثير CPPU X BA

BA ملغم/لتر	CPPU ملغم/لتر	عدد الأفرع	طول الأفرع(سم)	عدد الأوراق
0	0	1 . 00	6.62	4.75
	0.2	1 . 00	4.25	7.00
	0.4	5 . 75	4.86	5.04
	0.8	1 . 00	3.88	5.75
1	0	2 .50	6.56	8.17
	0.2	1 . 00	3.00	6.00
	0.4	1 . 50	3.75	8.62
	0.8	1 . 00	4.75	10.75
2	0	1 . 50	4.38	6.00
	0.2	1 . 00	3.75	10.50
	0.4	1 . 00	4.25	11.50
	0.8	1 . 00	4.38	10.50
4	0	1 . 25	4.25	11.88
	0.2	1 . 00	4.62	7.50
	0.4	1 . 50	3.75	9.50
	0.8	1 . 00	4.00	9.00
8	0	1 . 00	5.50	11.00
	0.2	1 . 00	2.00	5.50
	0.4	1 . 00	2.88	7.00
	0.8	1 . 00	4.00	10.50
L.S.D		0.51	1.73	6.33

وكان تأثير التداخل بين هذين المركبين معنوية في زيادة عدد الأوراق ، وسجلت المعاملـة BA (4 ملغم / لتر) X CPPU (0 ملغم/لتر) أعلى زيادة بلغت 11.88ورقة قياسا بعدد أوراق بلغ 4.75 ورقة عند الزراعة في الأوساط الخالية من BA و CPPU (جدول1 – C) .

2 – تأثير NAA وBA في التضاعف

يلاحظ من نتائج الجدول (2- A) إن إضافة اوكسين النفثالين استيك أسد إلى الوسط أدى إلى انخفاض معنوي في عدد الأفرع مقارنة بالوسط الخالي من الاوكسين ، وكان تأثير NAA بالتركيزين 0.2 و 0.8 ملغم /لتر الأكثر تأثيرا في انخفاض عدد الأفرع إذ أعطت كل منهما 1.00 فرع بينما كان عدد الأفرع في معاملة المقارنة 1.50 فرع .في حين أدى إضافة BA إلى الوسط إلى حصول زيادة معنوية في عدد الأفرع عند التركيز 1.0 ملغم / لتر فقط ، إذ بلغ 1.44 فرع (جدول 2- B) . معظم معاملات التداخل بين العاملين لم تختلف عن بعضها معنويا ، وسجلت المعاملة NAA (0 ملغم / لتر) BA X (1 ملغم /لتر) أعلى قيمة بلغت 2.75 فروع (جدول 2- C)

سببت إضافة NAA إلى الوسط انخفاضا في طول الأفرع مقارنة بالوسط الخالي من هذا الاوكسين إذ بلغ معدل طول الأفرع 5.62 سم في معاملة المقارنة . إن اقل قيمة لهذه الصفة سجلتها المعاملة 0.4 ملغم /لتر (جدول 2- A) . إلا إن زيادة واضحة في طول الأفرع سببتها كافة تراكيز BA المضافة الى الوسط . إن التركيز 1.0 ملغم /لتر من BA الأكثر تأثيرا على هذه الصفة إذ بلغ طول الأفرع 5.53 سم (جدول 2- B) . أظهرت معظم معاملات التداخل انخفاضا في طول الأفرع (جدول 2- C) . و يتضح من نتائج الجدول (2- A) إن الفروق كانت غير معنوية في عدد الأوراق بين معاملة المقارنة والمعاملتين 0.4 و 0.8 ملغم /لتر من NAA إلا إن انخفاضا معنويا في عدد الأوراق قد سببته المعاملة 0.2 ملغم /لتر (جدول 2- B) . تباين تأثير التداخل بين العاملين في هذه الصفة ، حيث إن بعض المعاملات أدت إلى انخفاض معنوي في عدد الأوراق والبعض الآخر أدى إلى زيادة معنوية في هذه الصفة . إن أفضل النتائج سجلتها المعاملتان (0.4 ملغم /لتر NAA X 4 ملغم /لترBA و 0.8 ملغم/لتر NAA X 8 ملغم /لترBA وبلغ 12 ورقة لكليتهما قياسا بـ 7.25 ورقة في معاملة المقارنة (جدول 2- C) .

جدول2. تأثير NAA وBA وتداخلهما على تفريع نبات الليليم المزروع على الوسط MS

A :- تأثير NAA

NAA ملغم /لتر	عدد الأفرع	طول الأفرع (سم)	عدد الأوراق
0	1 . 50	5 . 62	8.77
0.2	1 . 00	4 . 95	7 . 10
0.4	1 . 25	4 . 25	8 . 60
0.8	1 . 00	4 . 35	8 . 80
L . S . D .	0 . 15	0 . 90	1 . 71

B : - تأثير BA

BA ملغم /لتر	عدد الأفرع	طول الأفرع (سم)	عدد الأوراق
0	1 . 25	3 . 44	5 . 19
1	1 . 44	5 . 53	9 . 56
2	1 . 19	5 . 16	7 . 63
4	1 . 07	4 . 75	9 . 59
8	1 . 00	5 . 09	9 . 62
L . S . D .	0 . 17	1 . 01	1 . 91

C : - تأثير BA X NAA

NAA ملغم /لتر	BA ملغم /لتر	عدد الأفرع	طول الأفرع (سم)	عدد الأوراق
0	0	1 . 00	6 . 12	7 . 25
	1	2 . 75	7 . 88	7 . 75
	2	1 . 50	4 . 38	6 . 00
	4	1 . 25	4 . 25	11 . 88
	8	1 . 00	5 . 50	11 . 00
0 . 2	0	1 . 00	3 . 50	5 . 00
	1	1 . 00	4 . 00	11 . 50
	2	1 . 00	6 . 75	7 . 00
	4	1 . 00	5 . 75	6 . 50
	8	1 . 00	4 . 75	5 . 50
0 . 4	0	2 . 00	1 . 37	4 . 00
	1	1 . 00	5 . 75	10 . 00
	2	1 . 25	4 . 50	7 . 00
	4	1 . 00	4 . 88	12 . 00
	8	1 . 00	4 . 75	10 . 00
0 . 8	0	1 . 00	2 . 75	4 . 50
	1	1 . 00	4 . 50	9 . 00
	2	1 . 00	5 . 00	10 . 50
	4	1 . 00	4 . 13	8 . 00
	8	1 . 00	5 . 38	12 . 00
L . S . D .		0 . 34	2 . 01	3 . 82

3 - تأثير NAA و CPPU في التضاعف

يتبين من نتائج الجدول (3 - A) تفوق معاملة المقارنة على معاملات NAA . حيث أدى إضافة تراكيزNAA الى الوسط الى انخفاض معنوي في عدد الأفرع . فقد أعطى الجزء النباتي المزروع على الوسط الخالي من الاوكسين 2.19 فرع ، في حين أعطت المعاملتين 0.2 أو 0.8 ملغم/ لتر من NAA 1.0 فرع لكل منهما . إلا إن إضافة 0.4 ملغم /لترCPPU إلى الوسط أدت إلى زيادة معنوية في عدد الأفرع بلغت 2.09 فرع مقارنة بالنباتات المزروعة على الوسط الخالي أو المضاف إليه 0.2 أو 0.8 ملغم/ لتر من CPPU (جدول 3 - B) . معظم معاملات التداخل بين العاملين لم تختلف عن بعضها معنويا ، بينما أدت المعاملتان NAA (0 ملغم / لتر) X 0.4 ملغم /لتر CPPU و 0.4 ملغم /لتر NAA X 0 ملغم /لترCPPU إلى حصول زيادة معنوية في عدد الأفرع إذ بلغت 5.34 و3.80 فرع على التوالي (جدول 3 -C).

إن إضافة تراكيز NAA إلى الوسط أدى إلى انخفاض في أطوال الأفرع (جدول 3 - A) وكان الانخفاض معنويا عند إضافة التركيزين 0.4 أو 0.8 ملغم /لتر إذ بلغ 3.65 و3.37 سم على التوالي ، في حين كان أطوال الأفرع عند الزراعة في الوسط الخالي من الاوكسين 4.70 سم . إلا إن زيادة معنوية في هذه الصفة حصلت عند إضافة التركيزين 0.2 أو 0.4 ملغم /لتر من CPPU (جدول 3 - B) . أما تأثير التداخل بين العاملين فقد تفوقت المعاملة 0.2 ملغم / لتر NAA X 0.2 ملغم / لترCPPU إذ سجلت 6.60 سم (جدول 3 -C).

إن إضافة التراكيز العالية من NAA أدى إلى زيادة واضحة في عدد الأوراق ، وتفوقت معاملة التركيز0.4 ملغم /لتر على معاملة التركيز 0.8 ملغم/ لتر إذ بلغ عدد الأوراق 9.89 ورقة و 9.05 ورقة على التوالي . في حين إن عدد الأوراق في الأفرع المزروعة على الوسط الخالي من الاوكسين 5.68 ورقة (جدول3 - A)كما إن كافة تراكيز CPPU أدى إلى زيادة معنوية في هذه الصفة وكان التركيز 0.2 ملغم/ لتر الأكثر تأثيرا إذ بلغ عدد الأوراق 10.85ورقة ، في حين كان عدد الأوراق 4.25في الوسط الخالي من CPPU (جدول 3 - B) . إن معظم معاملات التداخل كان تأثيرها معنويا في زيادة عدد الأوراق و وسجلت المعاملة 0.4 ملغم /لتر NAA X 0.4 ملغم /لتر CPPU أعلى قيمة بلغت 15.60ورقة (جدول 3 -C).

جدول 3 . تأثيرNAA وCPPU وتداخلهما على تفريع نبات الليليم المزروع على الوسط MS

A : - تأثير NAA

NAA ملغم /لتر	عدد الأفرع	طول الأفرع (سم)	عدد الأوراق
0	2. 19	4 . 70	5 . 68
0.2	1 . 00	4 . 32	7 . 90
0.4	1 . 75	3 . 65	9 . 89
0.8	1 . 00	3 . 37	9 . 05
L . S . D .	0 . 24	0 . 79	2 . 02

B : - تأثير CPPU

CPPUملغم/لتر	عدد الأفرع	طول الأفرع (سم)	عدد الأوراق
0	1 . 80	3 .51	4 . 25
0.2	1 . 05	4 . 65	10 . 85
0.4	2 . 09	4 . 49	9 . 88
0.8	1 . 00	4 . 30	7 . 50
L . S . D .	0 . 24	0 . 79	2 . 02

C: - تأثير CPPU X NAA

NAA ملغم /لتر	CPPU ملغم /لتر	عدد الأفرع	طول الأفرع (سم)	عدد الأوراق
0	0	1 . 40	6 . 63	4 . 80
	0.2	1 . 00	4 . 20	7 . 60
	0.4	5 . 34	4 . 67	5 . 11
	0.8	1 . 00	3 .30	5 . 20
0 . 2	0	1 . 00	3 . 20	4 . 80
	0.2	1 . 00	6 . 60	12 . 40
	0.4	1 . 00	3 . 90	7 . 20
	0.8	1 . 00	3 . 60	7 . 20
0 . 4	0	3 . 80	1 . 60	3 . 40
	0.2	1 . 20	3 . 60	11 . 60
	0.4	1 . 00	5 . 00	15 . 60
	0.8	1 . 00	4 . 40	8 . 80
0.8	0	1 . 00	2 . 60	4 . 00
	0.2	1 . 00	4 . 20	11 . 80
	0.4	1 . 00	4 . 40	11 . 60
	0.8	1 . 00	2 . 30	8 . 80
L . S . D		0 . 48	1 .58	4 . 05

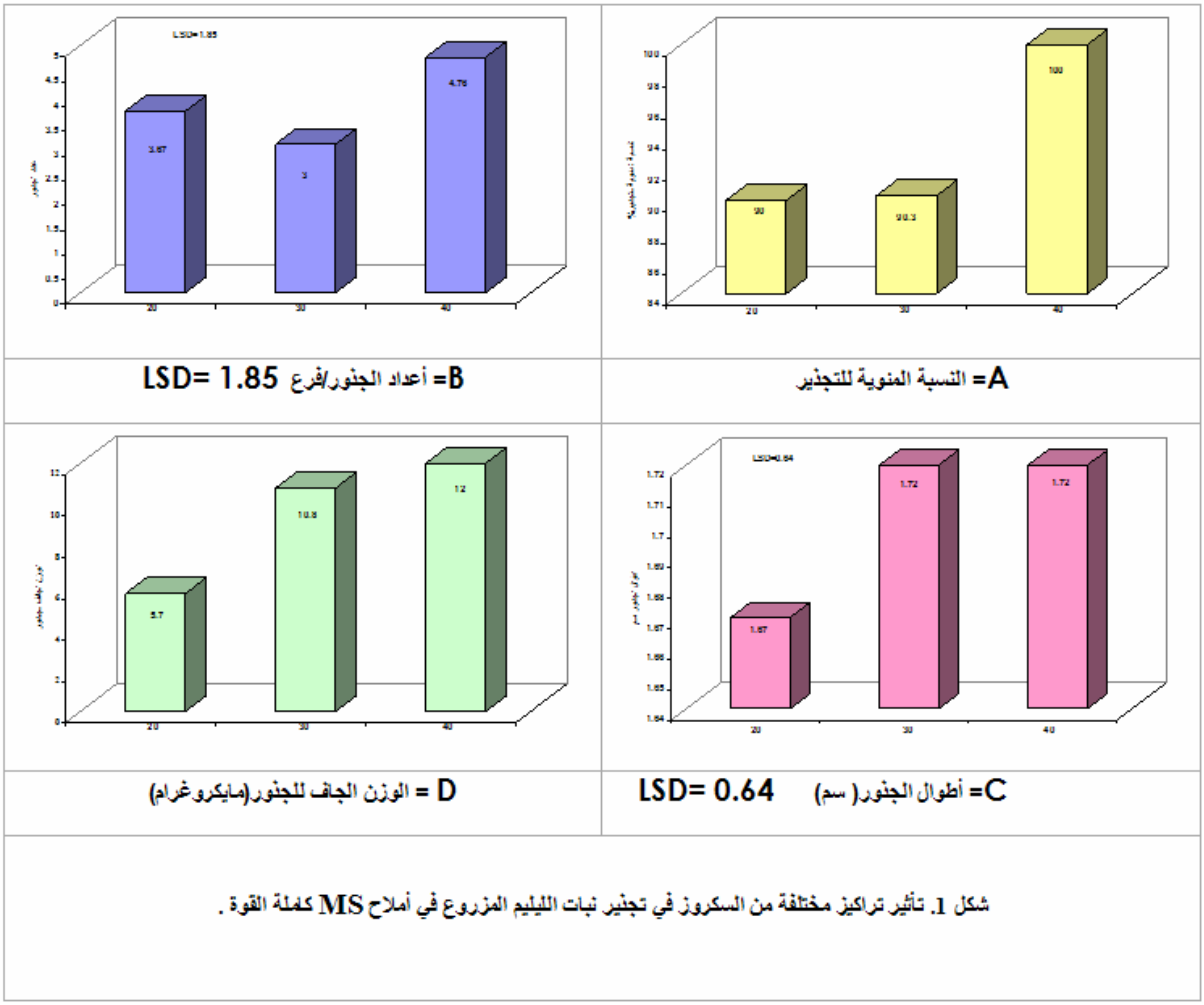
ثانيا : - تجارب التجذير

1 . تأثير السكروز

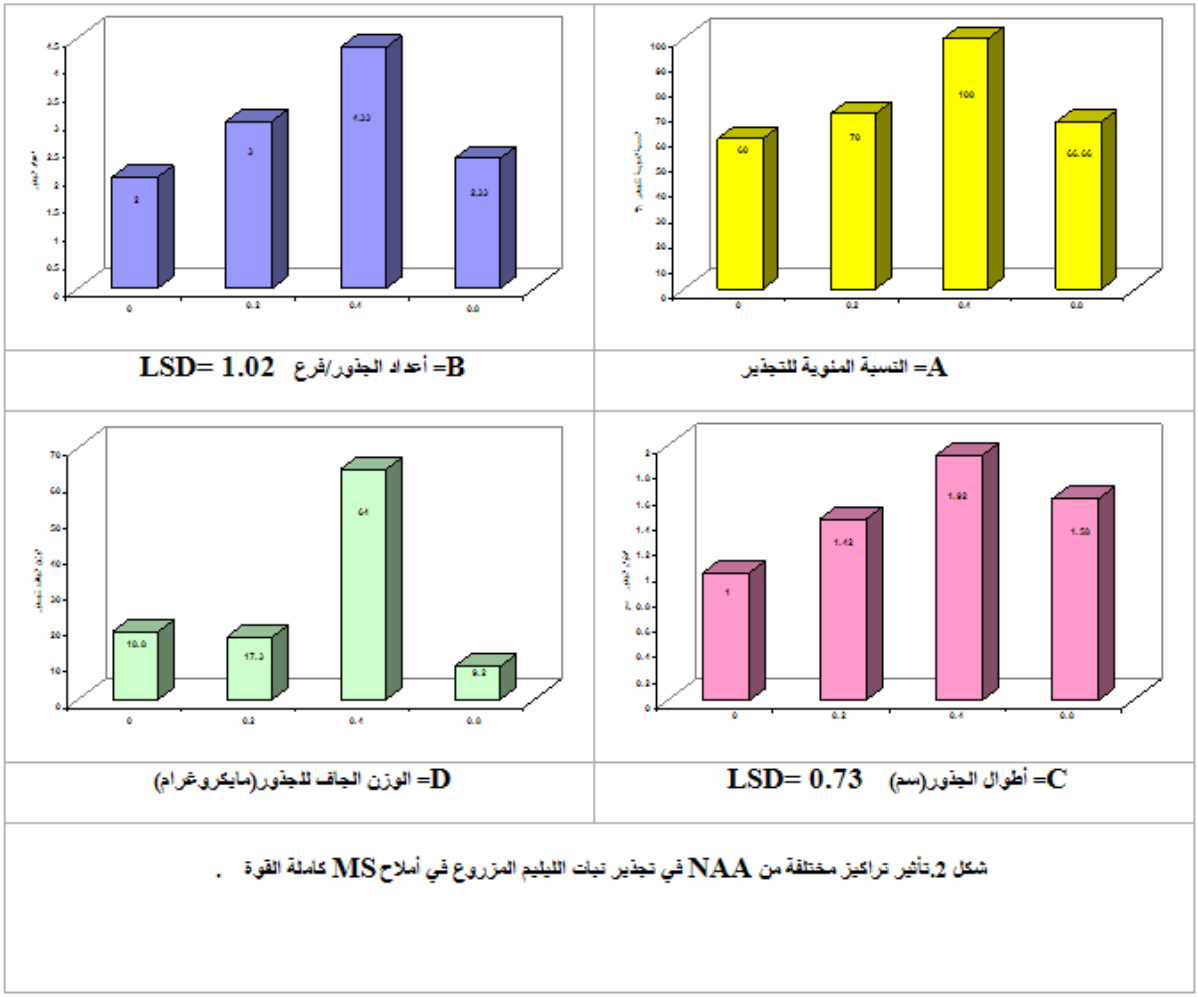
يلاحظ من الشكل (1 – A) إن النسبة المئوية لتجذير الأفرع أصبحت 100% عند إضافة 40 غم / لتر من السكروز، فيما كانت النسبة 90.3 % عند التركيز 30 غم / لتر و 90 % عند إضـافة 20 غم / لتر من السكروز . في حين إن الفروق بين تراكيز السكروز في التأثير على عدد الجذور / فرع ومعدل أطوال الجذور كان غير معنوي (الشكلين 1 – B و1 – C) ، أما بالنسبة إلـى الـوزن الجاف للجذور فان زيادة تركيز السكروز المضاف أدت إلى زيادة في الوزن الجـاف ، إذ بلـغ 12و 10.8 و 5.7 ملغم عند إضافة 20 و 30 و 40 غم / لتر على التوالي (شكل 1 –D) .

2 . تأثير NAA

يتبين من الشكل (2– A) إن التركيز 0.4 ملغم /لتر من اوكسين النفثالين اسيتك أسد أعطى أعلى نسبة لتجذير الأفرع بلغت 100 % ، بينما أدى إضافة التركيزين 0.2 أو 0.8 ملغم/ لتر إلى إعطاء نسبة 70 % و 66.7 % على التوالي . أما بالنسبة إلى تأثير تراكيز الاوكسين على أعداد الجذور ، فقد تفوق التركيز 0.4 ملغم /لتر معنويا على معاملة المقارنة إذ أعطى عددا للجذور بلغ 4.33في حين كان عدد الجذور في الأفرع المزروعة على الوسط الخالي من الاوكسين 2.00 جذر (2 - B) . ويشير الشكل (2– C) إلى إن أطوال الجذور في المعاملة 0.4 ملغم /لتر من NAA فقط أدت إلى زيادة معنوية إذ بلغ 1.92سم مقارنة بالأفرع المزروعة في الوسط الخالي من الاوكسين أو الأوساط التي أضيفت لها 0.2 أو 0.8 ملغم/ لتر من الاوكسين التي سجلت 1.42 و 1.58 على التوالي. أما الشكل (2–D) فيبين إن الوزن الجاف للجذور كان أقصاه عند إضافة التركيز 0.4 ملغم /لتر إذ بلغ 6.40 مايكرو غرام .



شكل 1. تأثير تراكيز مختلفة من السكروز في تجذير نبات الليليم المزروع في أملاح MS كاملة القوة .



شكل 2.تأثير تراكيز مختلفة من NAA في تجذير نبات الليليم المزروع في أملاح MS كاملة القوة .

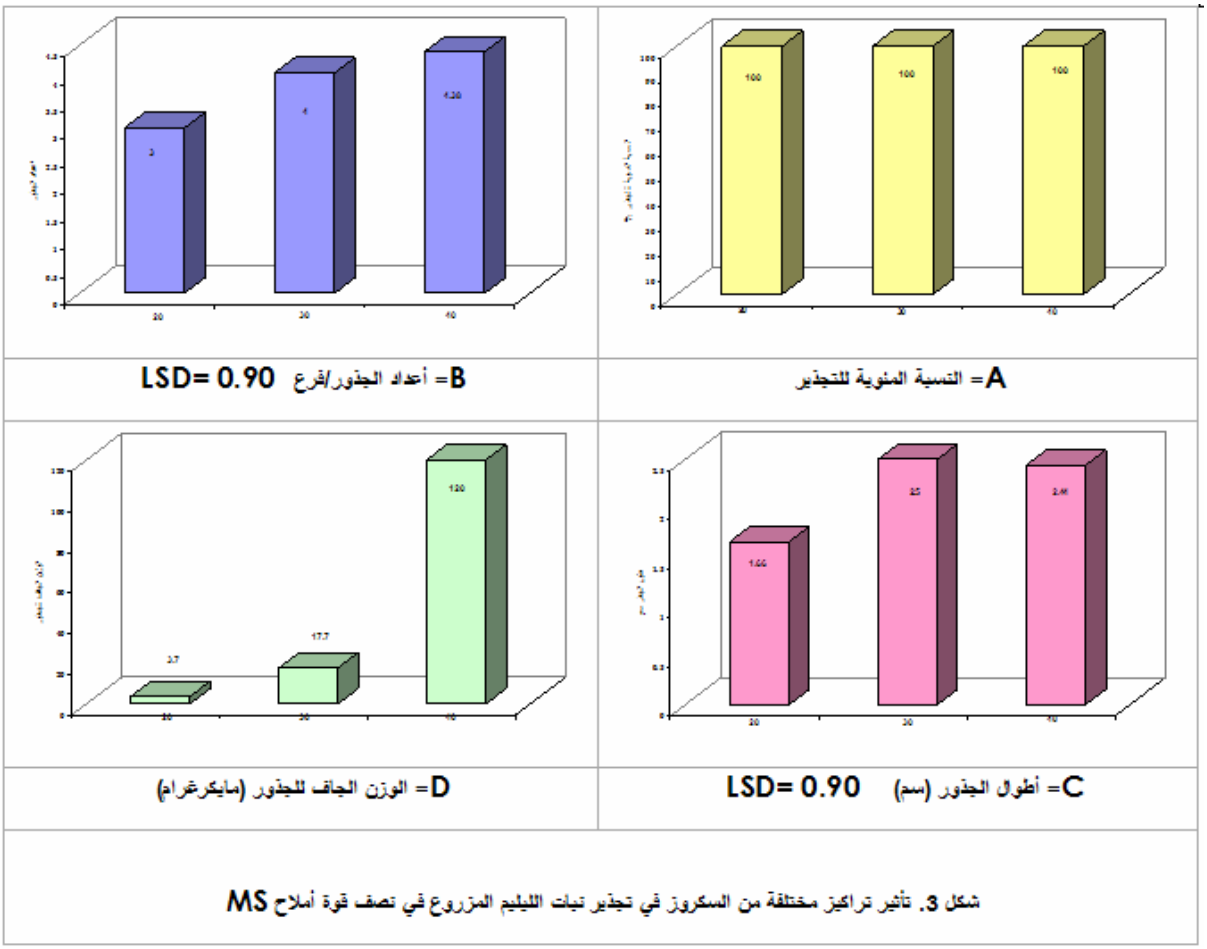
3 – تأثير السكروز المضاف الى نصف قوة أملاح MS

يلاحظ من الشكل (A – 3) إن الفروق في النسبة المئوية للتجذير كانت غير معنوية بين تراكيز السكروز المضافة الى الوسط الحاوي على نصف قوة أملاح MS إذ بلغت 100% في كافة التراكيز . أما بالنسبة إلى عدد الجذور فقد سجل التركيز 40 غم/لتر من السكروز أعلى قيمة بلغت 4.38 جذر . وقد اختلفت هذه المعاملة معنويا عن التركيز 20 غم/لتر الذي أعطى 3.0 جذور/فرع (شكل 3 – B). بينما لم تسجل أية فروق معنوية في أطوال الجذور المتكونة على الأفرع المزروعة في الوسط MS المجهز بنصف قوة الأملاح (شكل 3 – C) .

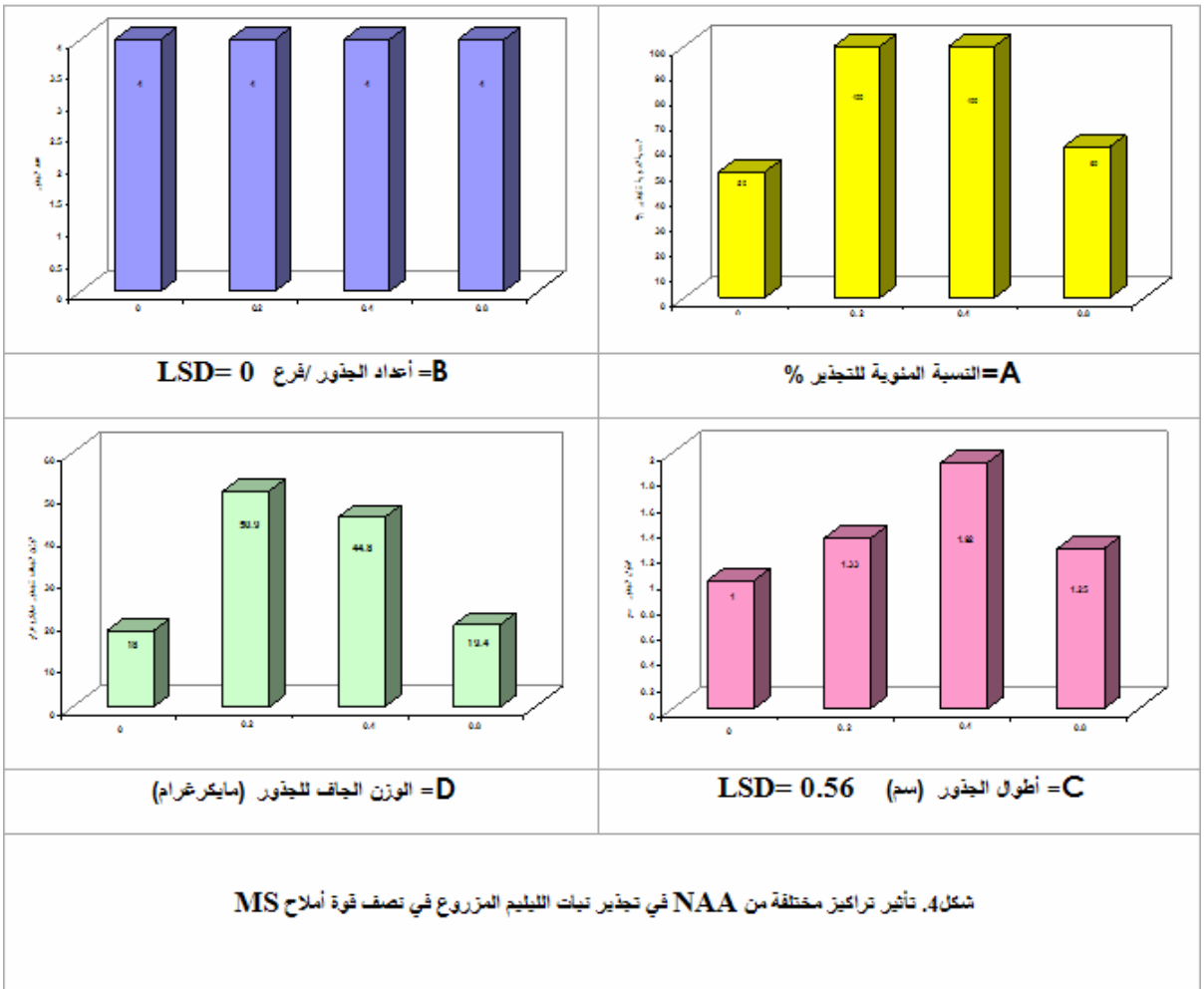
إن زيادة كبيرة واضحة في الوزن الجاف للجذور نتج عن إضافة التركيز 40 غم/لتر الى الوسط بلغ 120 مايكروغرام / جذر مقارنة بالتركيزين 20 و 30 غم/لتر (شكل 3 – D) .

4 – تأثير تراكيز NAA المضافة الى نصف قوة أملاح MS

يتبين من الشكل (4– A) إن إضافة التركيزين 0.2 أو 0.4 ملغم /لتر من NAA الى الوسط الحاوي على نصف قوة الأملاح أدى إلى إعطاء نسبة تجذير بلغت 100% لكل منهما بينما كانت النسبة المئوية للتجذير 60% عند إضافة التركيز 0.8 ملغم / لتر . إن تراكيز NAA لم تؤثر معنويا في أعداد الجذور إذ أعطى كل من التراكيز 0.2 أو 0.4 أو0.8 ملغم / لتر عدد من الجذور بلغ 4.0 جذور /فرع (شكل 4 – B) . ويشير الشكل (4 – C) إن زيادة معنوية في أطوال الجذور نتجت عن إضافة التركيز 0.4 ملغم /لتر مقارنة بالأفرع المزروعة في الوسط المجهز بتركيزين 0.2 أو 0.8 ملغم / لتر من الاوكسين وكذلك الأفرع المزروعة في الوسط الخالي من الاوكسين . أدى إضافة التركيز 0.2 ملغم /لتر من NAA الى زيادة في الوزن الجاف بلغ 60.9 مايكروغرام /جذر . فيما انخفض الوزن الجاف بزيادة التركيز (شكل 4 – D) .



شكل 3. تأثير تراكيز مختلفة من السكروز في تجذير نبات الليليم المزروع في نصف قوة أملاح MS



شكل4. تأثير تراكيز مختلفة من NAA في تجذير نبات الليليم المزروع في نصف قوة أملاح MS

أخرجت النبيتات من أنابيب الاختبار ، غسل المجموع الجذري جيدا بالماء المقطر المعقم . زرعت في سنادين بلاستيكية قطرها 5 سم تحوي على رمل وبيتموس بنسبة 1:1 . تركت في غرفة النمو لمدة أسبوعين تحت ظروف إضاءة 16 ساعة ضوء يوميا ودرجة حرارة 25 م^{0} بعدها نقلت إلى البيت الزجاجي . إن كافة النبيتات نمت بشكل جيد ولم يحصل فيها أي فقد .

جاءت نتائج هذه الدراسة متفقة مع ما ذكره Bacchetta وآخرون (2003) و Kimوآخرون (2005) و Kapoor(2008) الذين أكدوا إن عدم استجابة الأجزاء المزروعة إلى السايتوكاينينات BA المضاف إلى الوسط قد يعود الى الاختلاف في التركيب الوراثي للصنف المستخدم والتي تختلف في محتواها الداخلي من الهورمونات النباتية وخاصة السايتوكاينينات وهذا ما يفسر عدم الاستجابة الى تراكيز BA المضافة (Wei، 2009) فقد يكون سبب ذلك إن محتوى الأجزاء النباتية من السايتوكاينينات كان بالمستوى الذي يساعد في حصول التضاعف . وان إضافة تراكيز أخرى من BA أدى إلى زيادة تركيزها الداخلي مما أدى إلى فعل مضاد في التأثير على زيادة التضاعف وتكوين عدد أفرع أكثر مقارنة بالأجزاء النباتية المزروعة على الوسط الخالي من السايتوكاينين (Davies 1995، و Ramawat ، 2004) . إلا إن تأثيرCPPU خاصة عند التركيز 0.4 ملغم /لتر كان

فعالا في زيادة عدد الأفرع (جدول 1 – B) . وقد يعزى ذلك الى إن هذا التركيز هو المثالي لبلوغ مستوى السايتوكاينين الداخلي المؤثر في تحسين التضاعف (Bacchetta و آخرون ،2003 و Kapoor ،2008 و Lingfeil وآخرون ، 2005).

إن زيادة تركيز السكروز أدى إلى تحسين تجذير الأفرع ، وقد يعزى ذلك الى إن الكاربوهيدرات تعتبر مصدرا للطاقة والكاربون فضلا عن أنها تنظم الاوزموزية في الوسط ، وكان التركيز 40 غم /لتر الأمثل في زيادة تكون الجذور ونموها (Ramawat ، 2004) .

المصادر

الساهوكي ، مدحت وكريمة محمد وهيب . 1990 . تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب . جامعة بغداد. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . العراق.

الشايب ، فاتن . 2005 . نباتات الزينة وتنسيق الحدائق . مديرية الكتب والمطبوعات . جامعة البعث / كلية الزراعة . الجمهورية العربية السورية .

Bacchetta ,L . , P . Remotti , C . Bernardin and F .Saccardo .2003. Adventitious shoot regeneration from leaf explants and stem nodes of Lilium . Plant Cell, Tissue and Organ culture 74: 37-44 .

Davies , P . J . 1995 . Plant Hormones . Kluwer Academic Publishers P: 206 – 213.

Kapoor ,R . , S . Kumar, J . Kanwar and P. Mahajan . 2008 . *In vitro* Bulblet productivity in different explants of hybrid Lilies . Journal of Fruit and Ornamental plant Research Vol . 16 : 345 – 852 .

Kim , M . S . , J . Jeon , J . W . Youm , J . Kim , B .Lee and H . Joung 2005 . Efficient plaantlet regeneration via callus Induction from leaf explants in Lilium or iental hybrid . " Casa Blanco " . J . Plant Biotech . 7 : 129 – 134 .

Lingfeil , X . , P .Yong , Z . Lianial and W . Guizhang 2005 . Micropropagation of Lilium var . unicolor . Chinese Agricultural Science 5 : 30 : - 33 .

Murashige , T . and F . Skoog 1962 . A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures . Physiol . Plant 15 : 473 -479 .

Nhut, D . , N . Taw , V .Luan , N .Thiem and B . Le . 2006 . Standardization of *in vitro* Lily (Lilium sp .) plantlets for propagation and bulb formation . Proceeding of International workshop on Biotechnology in Agriculture 154 – 137 .

Nhut, D . , B . Le . and T .Van 2001 . Shoot induction and plant regeneration from receptacle tissue of *Lilium longiflorum* . Scientia Horticulture 87(5) : 131 – 138 .

Purohit ,S . S . 2003 . Laboratory manual of plant Bio technology. Publish by Agrobios P : 133 – 141 .

Ramawat ,K . G . 2004 . Plant Biotechnology . Printel in India P : 265 .

Wei ,Y . 2009 . Study on rgeneration system of wild Lilium concolor *in vitro* . J . of Anhui Agricultural Science 2 : 15 – 18 .

IN VITRO MICROPROPACATION OF *Lilium longiflorum*

Sami K.M. Ameen* **Fadia H. Taha*** **Haider I. Mohammed***

***Hort . Dept. - College of Agric. - Univ. of Baghdad.**

ABSTRACT

A study on effect of several factors on *in vitro* micropropagation of *Lilium longiflorum* was conducted in the plant tissue culture Lab./Hort. Dept./ College of Agric./ Uni. Of Baghdad from Oct.2009 to June 2010. The experiments were carried out to improve shoot multiplication and rooting . Seculent leaves were separated from the lilium bulbs , they were surface sterilized and cultured on MS medium . Multiplication experiments included ;using modified MS with 0 , 1.0, 2.0, 4.0 or 8.0 mg/l of BA or and 0,0.2, 0.4or 0.8 mg/l of CPPU .The second experiment was modifying MS medium with 0,0.2, 0.4 or 0.8 mg/l of NAA to the medium which contained the concentrations of BA or CPPU mentioned above .

Rooting experiments were ; shoots cultured on MS medium supplement with 0,0.2, 0.4 or 0.8 mg/l of NAA ; 1/2 MS salt strength modified with 20 , 30 or 40 g/l of sucrose ; the last rooting experiment was supplementing 1/2 MS salt strength with 0,0.2, 0.4 or 0.8 mg/l of NAA . The results can be summarized as follows : BA levels reduced No. of shoot/ explants and length of shoots , while CPPU at 0.4 mg/l enhanced shoot multiplication and No. of leaves/ shoot . High concentration of sucrose increased rooting % and no. and length of roots/shoot . Reducing MS salt strength to a half was not effective on rooting .