

الإكثار الخضري الدقيق لنبات المغد الأسود

Solanum nigrum L.

جادالله العطار⁽¹⁾ وراما عزيز⁽²⁾ و يوسف العموري⁽³⁾

الملخص

درّس تأثير بعض منظمات النمو النباتية في مرحلتي الإكثار والتجذير وتحديد التركيز الهرموني الأمثل للحصول على أعلى معدل للإكثار وأفضل تجذير لنبات المغد الاسود في مخبر بيوتكنولوجيا النباتات الطبية والعطرية (الهيئة العامة للتقانة الحيوية) خلال الفترة 2013-2014. تم تطهير البذور بهيبوكلوريت الصوديوم وزرعت على وسط MS الخالي من منظمات النمو لتأمين المادة النباتية الكافية للدراسة، وبعد نجاح الزراعات التأسيسية نقلت إلى أوساط الإكثار المدعمة بتركيز مختلفة من الأوكسينات (NAA أو IBA) بتركيز 1 مغ/ل والسيتوكينينات (BAP أو KIN) بتركيز 2, 10.5, 1.5 مغ/ل وحضنت بدرجة حرارة 24 ± 2 °س وتحت شدة ضوئية 3000 لوكس، ومن ثم نقلت إلى أوساط التجذير المضاف لها 0.5, 1, 1.5, 2 مغ/ل من هرمون التجذير IBA وحسب معدل التجذير بعد 40 يوماً من الزراعة على وسط التجذير. بينت النتائج انعدام التلوث عند استخدام هيبوكلوريت الصوديوم في عملية التطهير السطحي للبذور وأعطى متوسط نسبة إنبات 62.22%، أما بالنسبة لمعاملات الإكثار فقد تفوق الشاهد بصفة متوسطة طول النبات بمقدار 10سم بفروق معنوية على أغلب المعاملات، في حين أثرت أغلب التوليفات الهرمونية المستخدمة بالزيادة في معدل الإكثار، حيث تفوقت المعاملتين MS.11 (1.5 مغ/ل Kin + 1 مغ/ل IBA) و MS.12 (2 مغ/ل Kin + 1 مغ/ل IBA) بمعدل الإكثار (2.60 فرع)، وتم الحصول على أعلى معدل تجذير (89.66%) مع أكبر عدد للجذور (3.33) عند استخدام التركيز 0.5 مغ/ل من IBA. كما لوحظ إزهار النبات عند أغلب المعاملات وبشكل غزير في المعاملة MS.11.

الكلمات المفتاحية: المغد الأسود، *Solanum nigrum*، زراعة الأنسجة، الإكثار الخضري الدقيق، سيتوكينين، أوكسين، تجذير.

(1) طالب ماجستير، (2) مدرس، قسم البساتين، كلية الزراعة، قسم البساتين، جامعة دمشق، سورية.
(3) دكتور باحث، الهيئة العامة للتقانة الحيوية، دمشق، سورية.

Micropropagation of *Solanum nigrum* L. plants

Alattar, J.⁽¹⁾, Rama aziz⁽²⁾ and Y. Al-Ammouri⁽³⁾

Abstract

This research aimed to study the effect of some growth regulators on the propagation and the rooting ratio of *Solanum nigrum* L. Plants and to determine the suitable hormone concentration that give the highest multiplication rate and the best rooting. This study was carried out in laboratory of Biotechnology of Medicinal and Aromatic Plants in National Commission for Biotechnology during 2013-2014. Seeds were surface disinfected by sodium hypochlorite and planted on free of growth regulators MS medium, in order to secure sufficient plant materials. After the success of initial culture, plants were transferred to multiplication medium supported with different concentrations of Auxins (NAA or IBA) of 1 mg/l and Cytokinins (BAP or KIN) concentration of 0.5, 1, 1.5, 2 mg/l, and incubated at a temperature of 24±2° C using light intensity 3000 lux, and then transferred to the rooting media supported with 0.1, 0.5, 1.5, 2 mg/l of IBA rooting hormone. The rate of rooting was calculated after 40 days from the culture on the rooting medium. Results showed the absence of pollution when using sodium hypochlorite in the process of disinfection of the surface of the seeds and gave the average germination percentage of 62.22%. While in multiplication media, control exceeded in plant length parameter in average of 10cm and significant differences in comparison with all other treatments. While most of used hormonal combinations increased the multiplication rate, where MS.11 and MS.12 media exceeded the rate of multiplication (2.60 branch). The highest rate of rooting (89.66%) with the highest number of roots (3.33) was observed when using 0.5 mg/l of IBA. The plants were flowering in the most of treatments and it was copious at MS.11 treatment.

Keywords: *Solanum nigrum*, Tissue culture, Micropropagation, Cytokinin, Auxin, Rooting.

⁽¹⁾MCS., Student, ⁽²⁾ Assistant Prof. Dept. Hort. Fac. Agric., Damascus Univ., Syria.

⁽³⁾Dr. Researcher, National Commission for Biotechnology, Damascus.

المقدمة

ينتمي نبات المغد الأسود *S. nigrum* للفصيلة الباذنجانية *Solanaceae* والجنس *Solanum*، يوصف نبات المغد الأسود *S. nigrum* بأنه نبات عشبي صيفي حولي أو ثنائي الحول ونادراً ما يكون معمرًا، يتراوح ارتفاعه بين 10-50 سم، والأوراق بيضوية ذات تسنين عريض الثمار من نوع عنبة طرية كبيرة (Berry) ذات شكل كروي خضراء قبل النضج تتحول للون الأسود الباذنجاني بعد النضج ويتكاثر بالبذور (Mouterde، 1983). تعد قارة آسيا الموطن الأصلي لنبات المغد الأسود إلا أنه ينتشر في أوروبا والأمريكيتين وأستراليا وجنوب أفريقيا وفي أنحاء مختلفة من العالم (EPPO، 2006) أما بالنسبة لوجوده في الفلورة السورية ينتشر المغد الأسود حسب فلورة موتيرد *Flora Mouterde* في محافظة دمشق وحلب ومدينة بانياس (Mouterde، 1983). يعد نبات المغد الأسود من النباتات الطبية الهامة في العالم نظراً لأهميته الدوائية سواء في الطب الشعبي أو الدستوري لاحتوائه على عدد من القلويدات الفعالة (القلويدات الستيروئيدية) خاصة قلويدات *Solasodine* و *Solamargine* و *Solasonine* التي تستعمل طبيًا على نطاق واسع، كمضادات للتشنج وفي علاج التهاب الكبد الحاد *Acute hepatitis* وأمراض الروماتيزم والسعال (Panday، 2004). كما يستعمل القلويد الستيروئيدي *Solasodine* كمادة خام لإنتاج بعض المركبات الدوائية الهامة كمادة الكورتيزون والهرمونات الجنسية (Bhat وزملاؤه، 2008).

تم صناعة هذه المركبات الدوائية كيميائياً أو على المستوى الصناعي وبدرجة عالية من النقاوة، لكن الكلفة العالية في الإنتاج ترجح استخدام النباتات الطبية كمصدر للمركبات الدوائية (B.P.C، 1999)، ومن هنا كان لا بد من التفكير بطريقة تضمن الحصول على المركبات القلويدية الستيروئيدية لنبات المغد الأسود بكميات جيدة.

تمتاز طريقة الإكثار الخضري الدقيق، التي تعد أحد تقانات زراعة الأنسجة النباتية، بمحاسن كثيرة مقارنة بطرق الإكثار التقليدية، إذ يمكن بواسطتها الحصول على أعداد كبيرة من النباتات بوقت قصير وبمساحة أقل. كما أنها تسمح بإنتاج نباتات خالية من العوامل الممرضة، وتتيح إمكانية دراسة نمو الأجزاء النباتية وتطورها بعيداً عن النبات الكامل ودون أي تأثير للعوامل الخارجية (Rao و Ravishankar، 2002).

فقد أجريت عدة دراسات على نبات المغد الأسود حيث تمكن Padmapriya وزملاؤه عام 2011 من الحصول على أعلى معدل للإكثار لنبات المغد الأسود *S. nigrum* عند زراعة العقد الساقية على وسط MS المزود بتركيز 2-3 مغ/ل من الكينينين KIN وبنزيل أمينو بيورين BAP. كما تم الحصول على أكبر عدد من الجذور على وسط MS المضاف له 2 مغ/ل من اندول بيوتريك أسيد IBA.

كما توصل Kannan وزملاؤه (2006) إلى أن أفضل معدل إكثار لنبات المغد الأسود عند زراعة العقد الساقية على بيئة M.S-B5 المضاف لها BAP بتركيز 2مغ/ل. في دراسة Basha وزملاؤه (2008) تم الحصول على أعلى معدل لإكثار النموات لنبات المغد الأسود عند زراعة العقد الساقية على وسط MS المضاف له 6 مغ/ل من بنزول أمينو بيورين BAP و0.5 مغ/ل من اندول اسيتك اسيد IAA.

كما وضع Sundari وزملاؤه (2010) بروتوكول للإكثار الخضري الدقيق لنبات المغد الأسود من خلال زراعة العقد الساقية. وتم إكثار النموات على وسط MS المدعم بتركيز مختلفة وتوليفات من الأوكسين (اندول اسيتك اسيد IAA، نفتالين اسيتك اسيد NAA) والسيتوكينين (الكينيتين KIN والبنزول ادنين BA) حيث بينت هذه التجارب تشكل العدد الأكبر من النموات على وسط MS المضاف له (3 مغ/ل) من BA.

كما توصل Bhat وزملاؤه (2010) إلى رفع تركيز القلويدات الستيروئيدية (Solasodine) في نبات المغد الأسود وذلك بزراعة النبيتات المسترجعة من الأوراق على وسط MS المضاف له 2مغ/ل من BAP و1.5مغ/ل من KN، وتم قياس محتوى القلويدات الستيروئيدية في هذه النبيتات حيث بلغت 2.34مغ/غ مقارنة بالكالوس (0.76 ملغ/غ) والنبات المزروع بالحقل (0.51 ملغ/غ).

كما قام العالم Hanan وزملاؤه (2010) بمقارنة المحتوى من القلويدات الستيروئيدية بين النباتات المزروعة في الحقل والنباتات المزروعة في المخبر *in vitro*، حيث بينت التحاليل الكيميائية تفوق النباتات المزروعة في المخبر بمحتواها من القلويدات الستيروئيدية مقارنة مع النباتات المزروعة في الحقل.

بين العالمان Sharma و Sen (1999) أن زراعة القمم النامية والعقد الساقية لنبات المغد الأسود يمكن أن تكون تقنية قيمة لإنتاج القلويدات الستيروئيدية (Beta-2-solamargine, solamargine, solanoside, degalactotigonin) على نطاق واسع.

أهداف البحث

- وضع تقنية للإكثار الخضري الدقيق لنبات المغد الأسود بوساطة زراعة الأنسجة النباتية.
- دراسة بعض توافقات منظمات النمو وتأثيرها في معدل الإكثار.
- تأثير تركيز الأوكسين IBA في معدل التجذير ونوعية الجذور الناتجة.

مواد البحث وطرائقه

1- مكان تنفيذ البحث:

أنجز هذا البحث في مخبر تكنولوجيا النباتات الطبية والعطرية في الهيئة العامة للثقافة الحيوية (Laboratory of Biotechnology of Medicinal and Aromatic Plants) خلال الفترة 2013 - 2014.

2-المادة النباتية:

تم الحصول على ثمار نبات المغد الأسود *S.nigrum* في منطقة غوطة دمشق حيث جمعت الثمار وتم التأكد منه تصنيفاً من خلال مختصين بتصنيف النباتات في كلية الزراعة بجامعة دمشق.

3-بيئة الزراعة

تم تحضير الوسط المغذي MS (Murashige و Skooge، 1962) وتوزيعه في أنابيب اختبار زجاجية 25 x 150م بمعدل 15 مل/أنبوب، ثم سدت الأنابيب بسدادات قطنية، وعقمت بالأوتوكلاف (Autoclave) على درجة حرارة 121 درجة مئوية لمدة 20 دقيقة، وتركت لتبرد حتى تصبح جاهزة للزرع.

4-زراعة الخزع النباتية

مرحلة الإدخال والزراعة التأسيسية:

استخرجت البذور من الثمار ثم غمرت البذور بالكحول الإيثيلي 70% لمدة دقيقة واحدة بعدها غسلت بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم (5.25%) بعدة تراكيز 0%، 1.5%، 3%، 4.5%، 5.25% ولفترات زمنية مختلفة لكل تركيز 5، 10، 15 دقيقة (الجدول 1). غسلت بعدها بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات متتالية بمعدل خمس دقائق في كل مرة، ثم تركت مكشوفة لمدة 30 دقيقة حتى تجف هوائياً وتصبح جاهزة للزرع. أجريت عمليتا الغسل النهائي والزرع في شروط تعقيم صارمة تحت جهاز العزل الجرثومي (Laminar airflow hood). شملت هذه المرحلة خمس معاملات ولفترات زمنية مختلفة، كررت كل معاملة 3 مرات بحيث يحوي كل مكرر 5 بذور، وذلك بهدف تحديد أفضل معاملة لتعقيم البذور. حضنت بعدها الأنابيب في درجة حرارة 24 ± 2 درجة مئوية حتى إنبات البذور، ثم حسبت نسبة الإنبات والتلوث بعد أسبوعين من الزرع، ثم نقلت النبيتات النامية بعد شهر ونصف من بدء الإنبات إلى وسط جديد له نفس تركيب وسط الزراعة الأولية إلى حين توفير الكمية الكافية للدراسة.

الجدول (1) تركيز هيبوكلوريت الصوديوم المستخدم في مرحلة الزراعة التأسيسية

الفترة الزمنية (دقيقة)			تركيز هيبوكلوريت الصوديوم (%)
د15	د10	د5	0
د15	د10	د5	1.5
د15	د10	د5	3
د15	د10	د5	4.5
د15	د10	د5	5.25

مرحلة الإكثار والاستطالة:

تم أخذ العقل الساقية من النبيتات وزراعتها على وسط الإكثار، وهو وسط MS مضاف إليها منظمات النمو التالية وفق المعاملات الموضحة في الجدول (2).

الجدول (2) توافقات منظمات النمو المستخدمة في إكثار *S.nigrum* مخبرياً (التركيز مغ/ل)

منظمات النمو (التركيز مغ/ل)				رمز الوسط
NAA	IBA	KIN	BAP	
0	0	0	0	MS0
	1		0.5	MS1
	1		1	MS2
	1		1.5	MS3
	1		2	MS4
1			0.5	MS5
1			1	MS6
1			1.5	MS7
1			2	MS8
	1	0.5		MS9
	1	1		MS10
	1	1.5		MS11
	1	2		MS12
1		0.5		MS13
1		1		MS14
1		1.5		MS15
1		2		MS16

حُضِنَت النباتات على درجة حرارة $24 \pm 2^\circ\text{C}$ ورطوبة جوية $75\% \pm 10$ وشدة ضوئية 3000 لوكس لمدة 16 ساعة يوم. شملت هذه المرحلة 16 معاملة، كررت كل معاملة 3 مرات بحيث يحوي كل مكرر 10 خزعات، ثم تم دراسة تأثير التوافقات بين منظمات النمو والتركيز في عدد النموات الخضرية المتشكلة وطولها وعدد الأوراق وذلك بعد شهرين من الزراعة.

مرحلة التجذير:

تم أخذ العقل الساقية من النبيتات الناتجة من مرحلة الإكثار إلى وسط التجذير وهو وسط MS مضافاً إليه IBA بغرض تشكيل الجذور بالتراكيز التالية: 0-0.5-1-1.5-2 مغ/ل. وحُضنت النباتات ضمن الشروط ذاتها المستخدمة في مرحلة الإكثار، وقد شملت هذه المرحلة 5 معاملات وكررت كل معاملة 3 مرات حيث يحوي كل مكرر 5 نباتات في نهاية هذه المرحلة (بعد 4 أسابيع من الزراعة على وسط التجذير) تم حساب معدل التجذير، عدد الجذور، وطول الجذور.

5- تصميم التجربة والتحليل الإحصائي:

استخدم تصميم القطاعات العشوائية الكاملة لتحليل تجربة إدخال البذور وتصميم القطاعات العشوائية البسيطة لتحليل تجربة الإكثار الخصري الدقيق وتجربة التجذير وسجلت الفروق المعنوية على مستوى ثقة 1% باستخدام برنامج التحليل الإحصائي SPSS.

تم أخذ القراءات على التوالي:

1. نسبة الإنبات.
2. نسبة التلوث.
3. طول النبات (سم).
4. عدد فروع النبات.
5. عدد الأوراق في النبات.
6. معدل التجذير.
7. عدد الجذور.
8. طول الجذور.

النتائج والمناقشة

1- مرحلة الإدخال والزراعة التأسيسية:

نسبة الإنبات:

عند دراسة تأثير تراكيز هيبوكلوريت الصوديوم والفترات الزمنية المختلفة في نسبة إنبات بذور نبات المغد الأسود *S.nigrum* تبين الفروق بين المعاملات ظاهرية $p\text{-value} < 0.01$ كما هو مبين في الجدول (3).

أما بالنسبة لتأثير التداخل بين تركيز المعقم ومدة التعقيم في نسبة الإنبات وجد أيضاً أن الفروق ظاهرية.

الجدول (3) نسبة الإنبات والتلوث في نباتات المغد الأسود *S.nigrum* باستخدام تراكيز مختلفة من هيبوكلوريت الصوديوم وبفترات زمنية مختلفة .

تركيز المعقم %	الزمن (دقيقة)	متوسط نسبة الإنبات %	متوسط نسبة التلوث %
0 % شاهد	5	40.00	^a 73.33
	10	60.00	^b 26.67
	15	86.60	^c 13.33
1.5 %	5	46.67	^d 0
	10	66.67	^d 0
	15	53.33	^d 0
3 %	5	80.00	^d 0
	10	66.67	^d 0
	15	53.33	^d 0
4.5 %	5	60.00	^d 0
	10	60.00	^d 0
	15	80.00	^d 0
5.25%	5	40.00	^d 0
	10	80.00	^d 0
	15	60.00	^d 0
p-value		0.12	0.000
LSD%		لا يوجد الفروق ظاهرة	9.47

نلاحظ مما سبق أن نسبة الإنبات لم تتأثر بزيادة أو نقصان تركيز المادة المطهرة ولم تتأثر بإطالة أو تقليل فترة التطهير حيث كانت الفروق ظاهرة بين التركيز والفترات الزمنية المختلفة وبين تأثير الفعل المشترك بين تركيز المعقم ومدة التعقيم $p\text{-value} < 0.01$ وقد يرجع ذلك لحيوية البذور العالية ومقاومتها باعتبار نبات المغد الأسود من النباتات البرية (James و Jennefer، 1997، Salibury، 1961، Formanowiczowa و Kozlowski، 1980).

نسبة التلوث:

تبين النتائج الموضحة في الجدول (3) أن نسبة التلوث معدومة عند استخدام التراكيز المختلفة من هيبوكلوريت الصوديوم مقارنة مع الشاهد عند أي مدة زمنية وبالتالي الفروق معنوية بين معاملات التطهير كلها والشاهد، أما بالنسبة للشاهد والفترات الزمنية المختلفة تفوقت المدة الزمنية 15 دقيقة بانخفاض نسبة التلوث عن باقي الفترات الزمنية للشاهد.

ويعود تأثير هيبوكلوريت الصوديوم وعمله كمادة معقمة للأنسجة النباتية إلى حامض Hypoclorous الذي يعد مادة مؤكسدة قوية وتتوافق هذه النتائج مع ما توصل إليه (المرسومي، 2010)، حيث وجد أن تعقيم بذور نبات المريمية *Salvia officinalis*

بالتراكيز 2 و 4 و 6% من هيبوكلوريت الصوديوم لمدة 15 دقيقة أعطى بذوراً نظيفة تماماً من التلوث.

2- مرحلة الإكثار والاستطالة:

تمت دراسة تأثير توافقات هرمونية مختلفة من البنزويل أمينو بيورين BAP والكينيتين Kin وإندوليبيوترك أسيد IBA والنفتالين أسيتيك أسيد NAA في متوسط عدد النموات الجديدة المتشكلة وطولها وعدد الأوراق المتشكلة. ونتائج التحليل الإحصائي مبينة في الجدول (4).

الجدول (4) تأثير المعاملات في طول النبات وعدد الفروع وعدد الأوراق لنبات المغد الاسود.

المعاملة	متوسط عدد الاوراق	متوسط عدد الفروع	متوسط الطول
MS0 شاهد	9.30 ^b	1.86 ^{abc}	10.00 ^{a e}
MS1	9.39 ^b	2.11 ^{bcda}	8.80 ^{d e}
MS2	10.35 ^{bc}	2.06 ^{bcda}	4.88 ^b
MS3	6.00 ^y	2.20 ^{bcd a}	3.30 ^y
MS4	9.30 ^b	2.13 ^{bcda}	3.65 ^{b y}
MS5	10.40 ^{bc}	1.90 ^{abc}	7.51 ^{d c}
MS6	11.26 ^{bcd}	1.80 ^{byc}	7.43 ^{c d}
MS7	11.40 ^{bcd}	2.06 ^{bcda}	7.06 ^c
MS8	9.76 ^{bc}	1.96 ^{bcd}	4.90 ^b
MS9	15.00 ^{fa}	2.46 ^{da}	7.15 ^c
MS10	13.70 ^{def}	2.33 ^{cda}	6.76 ^c
MS11	15.33 ^{fa}	2.60 ^a	7.15 ^c
MS12	17.20 ^a	2.60 ^a	6.63 ^c
MS13	10.33 ^{bc}	1.43 ^y	9.50 ^{a d e}
MS14	11.20 ^{bcd}	1.73 ^{yb}	8.66 ^{d e}
MS15	11.70 ^{bcde}	1.66 ^{yb}	8.90 ^{a d e}
MS16	12.66 ^{cdef}	2.03 ^{bcd}	6.76 ^c
LSD 1%	3.3	0.61	1.65

الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى ثقة 99%

تأثير منظمات النمو في طول نبات المغد الأسود *S.nigrum*:

تبين النتائج في الجدول (4) وجود فروق معنوية واضحة بين المعاملات الهرمونية من حيث طول نبات المغد الأسود، حيث تفوق الشاهد (MS0) على أغلب المعاملات بصفة متوسط طول النبات، حيث بلغ 10سم في الشاهد في حين بلغ أقل متوسط لطول النبات في الوسط MS3 والوسط MS4 (3.30 سم و 3.65 سم على التوالي). وقد يعود تفوق الشاهد بصفة متوسط طول النبات إلى تشكل الكالوس عند قواعد الفروع الخضرية

في باقي المعاملات، مما سبب ضعفاً في نمو الفروع الخضرية، ويعود سبب ذلك إلى تأثير المركبات الفينولية التي تفرزها خلايا الكالوس والتي تتراكم عند قواعد الفروع والمعروفة بتأثيرها المثبط لعمليات النمو في النبات من خلال تنشيطها لأنزيمات هدم الأوكسين المعروف بتأثيره المنشط للسيادة القمية، إضافة إلى تنافس خلايا الكالوس مع الفروع الخضرية على المواد الغذائية في الوسط الغذائي (Gulsen و Gurel، 1998).

تأثير منظمات النمو في تشكل الفروع والأوراق لنبات المغد الأسود:

تبين النتائج في الجدول (4) وجود فروق معنوية واضحة بين المعاملات الهرمونية من حيث عدد الفروع والأوراق لنبات المغد الأسود، حيث لوحظ أن أغلب التوليفات الهرمونية المستعملة أدت إلى زيادة عدد فروع وأوراق النبات مقارنة بالشاهد، حيث سجل أكبر متوسط لعدد فروع النبات (2.60) عند المعاملات MS12MS11 دون وجود فروق معنوية بينهما. بينما سجلت المعاملة MS13 أقل متوسط لعدد الفروع حيث بلغ 1.43. وبالنسبة لعدد الأوراق تفوقت المعاملة MS12 (17.20) على بقية المعاملات وسجلت المعاملة MS3 أقل متوسط لعدد الأوراق (6). وقد يعزى ذلك إلى الدور الذي تقوم به السيتوكينينات في الحد من السيادة القمية وكسر سكون البراعم الجانبية وبالتالي زيادة التفراعات الجانبية والتبسيط الكلي أو الجزئي لتشكيل الجذور (Giacobbo وزملائه، 2003).

بالإضافة إلى أن وجود كل من الأوكسينات والسيتوكينينات ضروري لتعزيز دور أحدهما لدور الآخر في عملية التشكل العضوي وتحسين نوعية النوات المتشكلة، فقد أوضح Warnickand و Christison (1988) أن التشكل العضوي يتم تحت تحكم نسبة الأوكسين والسيتوكينين. وفي الدراسة الحالية نلاحظ في المعاملتين MS11، MS12 أن نسبة السيتوكينين أعلى من نسبة الأوكسين، مما يحفز تشكل النوات الخضرية في كثير من الأنواع النباتية، وتتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه Pierik (1987) والسويجي وكلحوت (2012).

تأثير منظمات النمو في إزهار نبات المغد الأسود:

أدت معظم المعاملات الهرمونية المختلفة إلى إزهار نبات المغد الأسود ولكن تفوقت المعاملة MS11 (15 زهرة) على جميع المعاملات بعدد الأزهار (الشكل 4). يعد إزهار النبات من العمليات المعقدة التي تنظمها وتتحكم بها عوامل داخلية وعوامل خارجية، وإزهار النبات ضمن الزجاج *in vitro* أمر نادر الحدوث على نطاق واسع (Stephan و Jayabalan، 1998). وقد يعزى السبب في ذلك إلى دور السيتوكينينات بتأثيرها التحفيزي لانقسام الخلايا وانتقال المغذيات خاصة عنصر الفوسفور الذي يعمل على تسريع الإزهار وكسر السيادة القمية وتكوين المرستيمات الطرفية النشطة والتطور الزهري (Taiz و Zeiger، 1998)، وهذا يتوافق مع النتائج التي توصل إليها Saravanan

وزملاؤه (2007) على نبات *Pedaliium murex* L و Sundari وزملاؤه (2010) على نبات المغد الأسود.



الشكل (4) تأثير المعاملات الهرمونية المختلفة في إزهار نبات المغد الاسود *S.nigrum*

تأثير التراكيز المختلفة من منظم النمو IBA في معدل التجذير:

توضح النتائج المبينة بالجدول (5) تأثير معاملات الأوكسين IBA المختلفة في معدل التجذير وعدد الجذور وطول الجذور وذلك بعد 4 أسابيع من الزراعة على وسط التجذير.

الجدول (5) تأثير التراكيز المختلفة من IBA في تجذير نبات المغد الأسود

تركيز الهرمون/مغ/ل	معدل التجذير (%)	عدد الجذور	طول الجذور (سم)
0	60.00 ^c	2.33 ^{abe}	1.69 ^b
0.5	89.66 ^a	3.33 ^a	3.03 ^b
1	63.00 ^c	2.73 ^{abe}	3.73 ^b
1.5	76.66 ^b	1.73 ^c	2.66 ^b
2	76.00 ^b	2.60 ^{abe}	6.83 ^a
LSD 1%	8.20	1.15	2.50

الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى ثقة 99%

أعطت المعاملة بأكسين IBA بتركيز 0.5 مغ/ل أعلى معدل للتجذير 89.66% وأعلى عدد من الجذور 3.33، في حين بلغ أقل معدل للتجذير 60.00% في معاملة الشاهد وأقل عدد للجذور 1.73 عند التركيز 1.5 مغ/ل. تؤدي التراكيز المنخفضة من الأوكسينات بشكل عام إلى تشجيع التجذير في حين تعمل التراكيز العالية جداً إلى إعاقة التجذير أو دفع النبات نحو تكوين نسيج الكالس (Vuyksteke، 1989). فالتركيز الأقل في التجربة (0.5 مغ/ل) أعطى أعلى معدل للتجذير وعدد الجذور مقارنة بباقي المعاملات وهذا يتوافق مع نتائج كثير من الدراسات مثل نتائج Jeyachandran (2004) على نبات

Anisochilus carnosus ونتائج Roxana (2005) على نبات *Annonasquamosa* ونتائج Basha وزملائه (2008) على نبات المغد الأسود *S.nigrum*.

كذلك توضح النتائج في الجدول (5) أن أعلى طول للجذور (6.83 سم) لوحظ عند استخدام التركيز المرتفع من منظم النمو IBA (2مغ/ل)، بينما بلغ أقل طول للجذور عند الشاهد (1.69). وقد يعود ذلك إلى قلة عدد الجذور المتكونة وبالتالي استفادتها من المواد الغذائية الموجودة في الوسط الغذائي ومن ثم زيادة معدل أطوالها، وهذا يتوافق مع النتائج التي توصل إليها حمد وزملاؤه (2012).

الاستنتاجات

1. إن استخدام هيبوكلوريت الصوديوم كمادة مطهرة أعطى فعالية عالية دون التأثير على حيوية البذور.
2. بينت النتائج أن أفضل وسط للإكثار هو الوسط MS12 والوسط MS11 حيث حققا أعلى معدل للإكثار.
3. أفضل وسط للتجذير هو وسط MS المضاف له 0.5 مغ/ل من منظم النمو IBA حيث حقق أعلى معدل تجذير وأعلى متوسط لعدد الجذور.

المراجع References

- المرسومي، حيدر، وعماد رشيد. 2010. تأثير مكونات الوسط الغذائي والجزء النباتي المزروع في تكوين الكالس وإنتاج بعض المركبات ذات الاستعمالات الطبية في نبات المريمية *Salvia officinalis* رسالة ماجستير كلية الزراعة –جامعة بغداد.
- حمد، محمد شهاب، وسامي كريم الجلبي، ومحمد أمين الجبوري، ومياده طارق. 2012. تأثير البارسينولايد والساييتوكابنين والأوكسينات في إكثار أصل الحمضيات السوينكل ستروميلو خارج الجسم الحي. مجلة الأنبار للعلوم الزراعية. 10(1): 114.
- السويبي، محسن، وعبد الرحمن كلحوت. 2012. تأثير توافقات من منظمات النمو (ساييتوكينين / أوكسين) على تكوين النموات الجديدة لإكثار نبات الجوز بزارعة الأنسجة. مجلة زراعة الرفادين. 40(4).
- B.P.C. 1999. British Pharmacopoeia Commission. Published on the recommendation of the medicines commission.
- Basha, A. K., L. Vivekanandan and G. M. Basha. 2008. In vitro Regeneration and Flower Induction on *Solanum nigrum* L. from Pachamalai hills of Eastern Ghats. Plant Tissue Cult. & Biotech. 18(1): 43-48.
- Bhat, M. A., S. Ahmad, J. Aslam, A. Mujibm, and M. Uzzfar. 2008. Salinity stress enhances production of solasodine in *Solanum nigrum* L. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 56:17-21.
- Bhat, M. A., A. Mujib, A. Junaid, and M. Mohamooduafar. 2010. In vitro regeneration of *Solanum nigrum* with enhanced solasodine production. BiologiaPlantarum. 54(4): 757-760.
- Christison, M. L. and D. A. Warnick. 1988. Organogenesis in vitro as a developmental process. Hort. Science 23 (3): 115-119.
- European and Mediterranean Plant Protection Organisation (EPPO). 2006. Reporting Service Call for information on *Solanum elaeagnifolium* geographical distribution.
- Formanowiczowa, H. and J. Kozlowski. 1980. Biology of germination of medicinal plant.
- Giacobbo, C. L., F. R. C. Gomes, L. Kroth, M. K. Conceicao, and G. R. O. L. Forts, 2003. In vitro multiplication of apple rootstocks `Marubakaido`, *Malus prunifolia* willd, borkh with diferrent levels of benzyl amino purine and naphthalene acetic acid. R. Bras. de Agrociência (9) : 31-33.
- Gurel, S. and A. Gulsen. 1998. The effects of IBA and BAP on In Vitro shoot production of almond (*Amygdalus communis*). Turk. J. Bot., 22:375-380.
- Hanan, A. A. and A. Al-Ashaal. 2010. Regeneration, in vitro glycoalkaloids production and evaluation of bioactivity of callus methanolic extract of *Solanum tuberosum* L. Fitoterapia. 81(6):600-606
- Jennifer, M. E. and A. C. James. 1997. Black nightshades. *Solanum nigrum* L. and related species. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 15. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

- Jeyachandran, R. 2004. In vitro culture root formation in *Anisochilus carnosus*. J. Swamy Bot. Club. 21: 27-30.
- Kannan, T. M. S., S. M. Nagarajan, S. Kulothungan. 2006. Micro - propagation of *Solanum nigrum* L. - a medicinal herb. Plant Archives. 6 (1): 97-99.
- Mourde, P. 1983. Nouvelle flore du Liban et de la Syrie. 3eme tome Atlas, Dar ElMashreq, Beyrouth, Liban. P:198-199.
- Murashige, T. and F. Skooge. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant., 15:473-479.
- Padmapriya, H., A. V. P. Karthikeyan, G. H. Jahir, C. Karthi and P. Velayutham. 2011. An efficient protocol for in vitro propagation of *Solanum nigrum* L. from nodal explants. Journal of Agricultural Technology. 7(4):1063-1073.
- Panday, B. P. 2004. A textbook of Botany: Angiosperms, S. Chand and Co. (Pvt.) Ltd. NewDehli, India.
- Patnaik, J. and P. K. Chand. 1996. Micropropagation of *Hemi-desmus indicus* (L.) R. Br. through axillary bud culture. Plant Cell Rep.15: 427-430.
- Rao, R. S. and G. A. Ravishankar. 2002. Plant cell cultures: chemical factories of secondary metabolites. Biotechnology advances, 20:101-153.
- Roxana, A. 2005. Best root formation in *Annonasquamosa*. Asian J. Microbial Biotech. Env. Sc. 7(2): 191-194.
- Salisbury, E. 1961. Black Nightshade. in Weeds and Aliens. Collins, London. P: 28 and 187-188
- Saravanan, R., M. G. Basha, K. A. Basha and L. Vivekanandan. 2007. Ex situ culture studies on a medicinal plant *Petalium murex* L. Indian J. Plant Physiol. 12(2):178-180.
- Sen, J. and A. K. Sharma. 1999. Micropropagation of *Withaniasomnifera* from germinating seeds and shoot tips. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 9: 96-698.
- Stephen, R. and N. Jayabalan. 1998. In vitro flowering and seed setting formation of Coriander (*Coriander sativum*L.) Current Sci. 74 (3) : 195-197.
- Sundari, M. S., A. Benniamin. and V. S. Manickam. 2010. Micropropagation and in vitro flowering in *Solanum nigrum* Linn. A medicinal plant. International Journal of Biological Technology. 1(1):29-32.
- Taiz, L. and E. Zeiger. 1998. Plant Physiology. Redwood City: The Benjamin/Cummings Publishing.
- Vuylsteke, D. R. 1989. Shoot tip culture for propagation, conservation and exchange of Musa germplasm, IB PGR, Rome.

Received	2014/11/02	إيداع البحث
Accepted for Publ.	2015/02/24	قبول البحث للنشر