دراسة دور الاوكسينات والسايتوكاينينات في اكثار نبات *Spilanthes acmella* (L.) Murr. خارج الجسم الحي

بشرى محمد جابر علوش* أنسام زهير جاسم*

استلام البحث 13، نيسان، 2014
قبول النشر 9، تموز، 2014

الخلاصة:

وظفت تقانة زراعة الانسجة لاكثار نبات *Spilanthes acmella*(L.) Murr. كونه نباتا غير مستزرع في العراق ولأهميته الطبية والزراعية كنبات زينة بالاضافة الى استعمالاته الأخرى. عقمت البذور وزرعت في الوسط الغذائيMurashige وSkoog ،1962(MS)، أستعمل منظما النمو α- Naphthalene acetic acid (NAA), 6- furfuryl aminopurine (Kin.) في مرحلة النشوء، أما في مرحلة التضاعف فقد أستعمل Indole-3-acetic acid (IAA) بالتداخل مع Kin.. جذّرت النبيتات بإضافة IAA وتمت أقلمتها. أظهرت النتائج ان مادة هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 1.5% لمدة 15 دقيقة كانت ذات كفاءة عالية في التعقيم. أعطت زراعة العقد أفضل النتائج مقارنة بزراعة القمم النامية والوريقات. إن أفضل تركيز لتحفيز نشوء الأفرع الجانبية هي 1.00 ملغم/ لتر.Kin اذ أعطت العقد متوسطا لعدد الأفرع بلغ 4.12 فرع بطول 2.70 سم. وأظهرت النتائج ان أفضل توليفة للتضاعف هي IAA بالتركيز 0.1 و Kin. بالتراكيز 0.5 ,1.0 ,1.5 ملغم/ لتر اذ أعطت متوسط عدد أفرع بلغ 13.60، 14.20، 12.00 فرعا على التوالي. أما في مرحلة التجذير فكانت أفضل النتائج على وسط MS نصف القوة خالي من منظمات النمو اذ اعطت 27.50 جذرا بطول 3.90 سم. أما نتائج الأقلمة فقد وجد بأن أفضل الأوساط هو وسط 1 بتموس:1 تربة مزيجية والذي أعطى نسبة نجاح بلغت 100% بعد أربعة أسابيع من الزراعة. أظهرت النتائج إمكانية اكثار نبات.*Spilanthes acmella* (L.) Murr خارج الجسم الحي.

الكلمات المفتاحية: الاكثار الدقيق، منظمات النمو، *Spilanthes acmella*

المقدمـــة:

يعد نبات *Spilanthes acmella* (L.) Murr. المعروف بأسم Toothache plant (نبات ألم الأسنان) أحد نباتات الزينة المهمة طبيا، ينتمي الى العائلة المركبة Asteraceae، تعد الأجزاء الجنوبية من البرازيل الموطن الاصلي للنبات ويكثر انتشاره في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية من العالم تشمل ماليزيا، جنوب أمريكا، شمال استراليا، أفريقيا، وفي الهند. للنبات تطبيقات هائلة في مجال تصنيع المواد الصيدلانية، الغذاء، ومستحضرات التجميل والعناية بالجسم وفي الطب الشعبي لعلاج الم الأسنان، كما أن أزهار وأوراق النبات تستعمل كتوابل تضاف للطعام. وثّق النبات لاستعماله كقاتل للحشرات، مضاد للأكسدة، محفّز للجهاز المناعي مضاد للالتهابات، مضاد للبكتريا، مضاد للفطريات وذلك بسبب احتوائه على المركب الفعال (spilanthol) ذو التأثير البيولوجي المهم [1]. بسبب هذه الاهمية الطبية للنبات واستعمالاته المتعددة، فقد ازداد الطلب العالمي على هذا النبات و استثمر بشكل كبير وواسع من قبل الناس المحليين والشركات الصيدلانية بالاضافة الى انخفاض نسبة انبات البذور وكفاءتها فقد أنحسر في السنوات الأخيرة بصورة سريعة في البلدان التي ينتشر فيها ونقصان كبير في اعدادها [3,2] وبناء على الأهمية الكبيرة للنبات وعدم وجود أي بحوث أو دراسات عليه في العراق ولا في الدول المجاورة كونه غير مستزرع في العراق لحد الآن، لذلك وظفّت تقانة الزراعة النسيجية في الإكثار الدقيق لهذا النبات.

المواد وطرائق العمل:

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

تعقيم الأجزاء النباتية:

استعملت بذور نبات *Spilanthes acmella* (L.) Murr. التي تم الحصول عليها باستيرادها من شركة Pan American Seed الأميركية. اختبرت مادة هايبوكلورات الصوديوم بتراكيز: 0.0, 1.5, 2, 2.5ملغم/لتر وبمدد زمنية 10, 15 ,0.0 5, دقيقة لكل تركيز وذلك لمعرفة الطريقة المناسبة للتعقيم وسجلت النتائج بعد مرور أسبوع .

مرحلة تحضير الأجزاء النباتية:

زرعت البذور في وسط Murashige and Skoog (MS) [4] كامل القوة خالي من منظمات النمو وبعد مرور 25 يوماً من بدء الزراعة

*كلية العلوم للبنات/ جامعة بغداد

أصبحت البادرات جاهزة لتقطيعها الى عقد وقمم نامية ووريقات استعملت كمصدر للأجزاء النباتية المعقمة في أغلب التجارب اللاحقة.

مرحلة النشوء :

زرعت الأجزاء النباتية كلا على انفراد في وسط MS مضافا اليه α- Naphthalene acetic acid (NAA) بالتراكيز 0.00 , 2, 4 , 6, 8 ملغم/ لتر 6-furfuryl aminopurine (Kin.) بالتراكيز 0.00, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.00 ملغم/لتر وبواقع 6 مكررات لكل جزء نباتي، سجلت النتائج بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة.

مرحلة التضاعف :

استعمل وسط MS ودرس تأثير التداخل بين Indole-3-acetic acid (IAA) بالتراكيز 0.0, 0.1, 1, 2, 4 ملغم/لتر و.Kin بالتراكيز 0.0, 0.5, 1.0, 1.5 ملغم/لتر وسجلت النتائج بعد 4 أسابيع من الزراعة وبواقع 6 مكررات لكل معاملة، سجلت النتائج بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة.

مرحلة التجذير:

استعمل وسط MS بنصف قوة المغذيات الكبرى وقوة كاملة مضافا اليه IAA بالتراكيز 0.0 , 0.1, 0.5 , 1.0 ملغم/ لتر وسجلت النتائج بعد اسبوعين من الزراعة.

مرحلة الأقلمة:

غسلت النبيتات الناتجة من بقايا الأكار وعقمت بالمبيد الفطري Benomate بتركيز 0.2%لمدة 1- 0.5 دقيقة ونقلت الى اصص بلاستيكية مملوءة بمزيج من الخث الطحلبي(Peatmoss) وتربة مزيجية بالنسب (بتموس:مزيجية) (حجم:حجم) (0:1), (1:1), (1:2), (1:3), (1:0) . غطيت الأصص بغطاء بلاستيكي لمدة اسبوعين بعدها تم تثقيب الأغطية بشكل متساو وزيادة عدد الثقوب تدريجيا ورفعها بشكل تدريجي ثم رفعت كليا وحسبت نسبة نجاح النبيتات المتأقلمة بعد 4 أسابيع.

التحليل الاحصائي:

أستعمل البرنامج SAS,2004 في التحليل الإحصائي لدراسة تأثير العوامل المختلفة في الصفات المدروسة، وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار أقل فرق معنوي (LSD) [5].

النتائج والمناقشة:

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

مرحلة نشوء الزروعات :

أشارت نتائج جدول(1) الى ان إضافة NAA الى الوسط الغذائي MS أدى الى تفوق العقد معنويا على القمم النامية والوريقات في متوسط عدد الافرع وأطوالها. حققت العقد أعلى متوسط لعدد الأفرع المتكونة بلغ 1.32 فرع، أما القمم النامية فقد استمرت بالنمو الطولي فقط في جميع التراكيز المدروسة، بينما لم تستجب الوريقات لنشوء الأفرع حتى في معاملة السيطرة.أما فيما يخص طول الأفرع، كان للـ NAA تأثيرا معنويا في متوسط طول الأفرع المتكونة من العقد والقمم النامية ، إذ حققت القمم النامية أعلى متوسط لطول الأفرع بلغ 4.95 سم تلتها العقد بمتوسط طول 1.43 سم. إنَّ استجابة العقد والقمم النامية لوجود الـ IAA لوحده كانت ضعيفة ونمو البراعم كان بطيئاً وقد يرجع السبب في ذلك لدور الأوكسينات التي تعمل على تثبيط نمو المرستميات الجانبية أو ما يُعرف بتحفيز السيادة القمية [6].

جدول (1): تأثير تراكيز NAA(ملغم/لتر) في متوسط عدد الأفرع المتكونة وأطوالها(سم)من قطع العقد والقمم النامية والوريقات المأخوذة من بادرات نبات *S. acmella* بعد أربعة أسابيع من الزراعة

تراكيز NAA ملغم/ لتر	العقد		القمم النامية		الوريقات	
	متوسط العدد	متوسط الطول	متوسط العدد	متوسط الطول	متوسط العدد	متوسط الطول
0.0	2.00	1.14	1.00	5.25	0.00	0.00
2.0	2.00	1.97	1.00	5.37	0.00	0.00
4.0	1.20	1.16	1.00	5. 50	0.00	0.00
6.0	0.75	1.66	1.00	5.25	0.00	0.00
8.0	0.67	1.22	1.00	3.42	0.00	0.00
المتوسط	1.32	1.43	1.00	4.95	0.00	0.00
LSD (P< 0.05)	0.713*	0.328*	NS	1.04*	NS	NS

(*) وجود فرق معنوي، (NS) عدم وجود فرق معنوي

أشارت نتائج إضافة.Kin الى الوسط الغذائي الى تشجيع تكوين الأفرع من العقد والقمم والنامية بنسب مختلفة إذ حققت قطع العقد أعلى متوسط لعدد الافرع المتكونة بلغ 3.57 فرع، تلتها القمم النامية مسجلة 3.33 فرع، بينما لم تنجح زراعة الوريقات بتكوين اي براعم بل لوحظ انطواؤها وإعطاؤها أستجابة ضعيفة لتكوين الكالس الذي لم يتمايز الى براعم خلال مرحلة النشوء ولجميع التراكيز المدروسة على الرغم من إزالة السويق منها لتجنب تكوين الكالس [7] (جدول2) وأشارت نتائج التحليل الإحصائي الى وجود فروق معنوية بين جميع التراكيز المدروسة للعقد والقمم النامية ومعاملة السيطرة، اذ أعطى التركيز 1.0 ملغم/لتر من .Kin أعلى عدد أفرع بلغ 4.12 فرع للعقد و4.0 فرع للقمم النامية في حين أعطى أقل

عدد أفرع في التركيز2.5 وصل الى 3.60 فرع للعقد و3.52 للقمم النامية مقارنة بمعاملة السيطرة التي أنتجت فرعين للعقد أما القمم النامية فقد استمرت بالنمو الطولي فقط ولم تحفز تكوين أفرع خضرية. أما فيما يخص طول الأفرع المتكونة فقد حققت القمم النامية أعلى متوسط لطول الأفرع بلغ 3.23 سم، تلتها العقد بمتوسط طول 2.14سم وحصل انخفاض في أطوال الأفرع عند زيادة تركيز .Kin المضاف خاصة في التركيز 3.0 ملغم/لتر وصل الى 1.87 سم للعقد و2.60 سم للقمم النامية عند التركيز2.5 ملغم /لتر مقارنة بمعاملة السيطرة التي سجلت 1.14سم للعقد و5.25 للقمم النامية.

جدول(2) تأثير تراكيز مختلفة من هرمون .Kin(ملغم/ لتر) في متوسط عدد الافرع المتكونة (فرع/ جزء نباتي) وأطوالها(سم) من الأجزاء النباتية للعقد والقمم النامية والوريقات لنبات *Spilanthes acmella* (L.) Murr. بعد أربعة أسابيع من الزراعة

تراكيز .Kin ملغم/ لتر	العقد		القمم النامية		الوريقات	
	متوسط العدد	متوسط الطول	متوسط العدد	متوسط الطول	متوسط العدد	متوسط الطول
0.0	2.00	1.14	1.00	5.25	0.00	0.00
0.5	3.80	2.80	3.72	3.16	0.00	0.00
1.0	4.12	2.70	4.00	3.20	0.00	0.00
1.5	4.00	2.32	3.80	2.96	0.00	0.00
2.0	3.70	2.20	3.61	2.80	0.00	0.00
2.5	3.60	1.96	3.52	2.60	0.00	0.00
3.0	3.80	1.87	3.66	2.70	0.00	0.00
المتوسط	3.57	2.14	3.33	3.23	0.00	0.00
LSD (P< 0.05)	0.734*	0.518*	1.947*	1.477*	NS	NS

(*) وجود فرق معنوي، (NS) عدم وجود فرق معنوي

لقد فسر البياتي[8] التأثير الايجابي للـ.Kin في زيادة عدد الأفرع الى دوره في إعاقة هدم البروتين والكلوروفيل فضلا عن تحفيزه لأنزيمات البناء الضوئي والذي تنعكس آثاره في زيادة حجم الخلية وتشجيع عملية الانقسام والتمايز الشكلي خاصة عندما تصل حالة التوازن المثالية بين ما اضيف منه الى الوسط الغذائي مع ما موجود في الجزء النباتي،كما قد يفسر سبب الاختلاف في طول الأفرع للعقد والقمم النامية الى اختلاف هذه الأجزاء النباتية في محتواها من الهرمونات الداخلية ودورها في عمليات النمو المختلفة تبعا لنوع منظم النمو وكذلك في نوع الخلايا ضمن النسيج النباتي الواحد[9]. وتتفق هذه النتائج مع Erdag و Emek [10] في أن إضافة البنزل أدنين أو الكاينتين الى الوسط الغذائي بالتراكيز(0.05 ، 0.1، 0.2) ملغم/لتر شجع على تفتح البراعم الجانبية والعرضية لنبات البابونج (*Camomille*) (وهو أحد الأجناس التابعة للعائلة المركبة) إذ حصل على أعلى متوسط لطول الأفرع في الوسط الخالي من منظمات النمو وكذلك الوسط المجهز بالكاينتين.

مرحلة التضاعف:

يتضح من بيانات الجدولين (4,3) وجود فروق معنوية بين كل من متوسط عدد الأفرع وأطوالها، إذ كان للـ IAA,Kin. تأثيرا معنويا في عدد الأفرع المتكونة عند إضافتهما كلا على حدة الى الوسط الغذائي، أما في حالة التداخل فقد تفوقت التوليفة 1.0 ملغم/ لتر.Kin و0.1 ملغم/ لترIAA على جميع التوليفات في عدد الأفرع المتكونة إذ بلغ متوسط عدد الأفرع 12.00 فرعا للجزء النباتي الواحد وبمتوسط طول 3.38 سم (شكل1). دلت نتائج مرحلة التضاعف أهمية وجود الـ IAA مع الـ .Kin لتحفيز نشوء البراعم من العقد وهذا يتفق مع نتائج العديد من الباحثين الذين أكدوا على أنَّ إضافة الأوكسين مع السايتوكاينين يزيد من نسبة تحفيز نشوء البراعم مع زيادة استطالتها في نبات *S.acmella* [7] ونبات زهرة الشمس(*Helianthus annuss. L.*) [11].

جدول(3): تأثير تراكيز .Kin و IAA (ملغم/ لتر) والتداخل بينهما في متوسط عدد الافرع الناتجة من مرحلة التضاعف لنبات *S. acmella* بعد أربعة أسابيع من الزراعة

Kin. ملغم/لتر	IAA (ملغم/لتر)					متوسط Kin.
	0.0	0.1	1.0	2.0	4.0	
0.0	3.33	3.60	3.00	2.03	1.02	2.59
0.5	6.00	12.00	8.80	5.20	3.70	7.14
1.0	8.00	14.20	10.60	6.60	3.80	8.64
1.5	6.66	13.60	9.20	5.20	3.40	7.61
متوسط IAA	5.99	10.85	7.90	4.75	2.98	---
قيم LSD(P< 0.05) : تركيز .Kin 3.219 *، تركيز IAA: 3.302* ، للتداخل: 5.548 *						

(*) وجود فرق معنوي.

جدول (4): تأثير تراكيز .Kin و IAA (ملغم/ لتر) والتداخل بينهما في متوسط طول الأفرع الناتجة(سم) من مرحلة التضاعف لنبات *S. acmella* بعد أربعة أسابيع من الزراعة

Kin.(ملغم/لتر)	IAA (ملغم/لتر)					متوسط Kin.(سم)
	0.0	0.1	1.0	2.0	4.0	
0.0	3.82	3.90	3.66	2.14	1.20	2.94
0.5	3.26	3.40	4.40	2.83	3.00	3.37
1.0	2.46	2.62	3.80	3.00	3.20	3.01
1.5	1.36	1.40	1.90	1.33	1.40	1.48
متوسط IAA (سم)	2.72	2.83	3.44	2.33	2.20	---
قيم LSD(P< 0.05) : تركيز .Kin 0.428 *، تركيز IAA: 0.672* ، للتداخل: 1.275 *						

(*) وجود فرق معنوي.

شكل(1): تضاعف زروعات نبات *S. acmella* بعد أربعة أسابيع من الزراعة في وسط MSحاوي على 1.0 ملغم/لتر من .Kin بالتداخل مع 0.1 ملغم/لتر من IAA

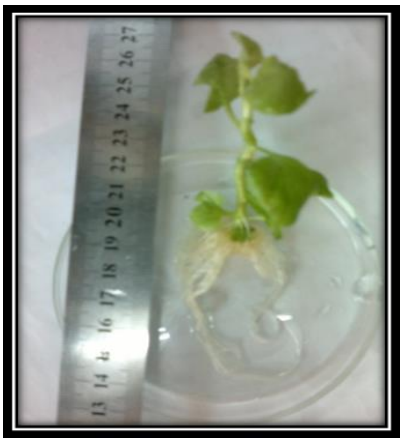
مرحلة التجذير:

أشارت بيانات الجدول5 الى وجود فروق معنوية في متوسط عدد الجذور وأطوالها النامية في وسط MS كامل القوة ووسط MS بنصف قوة المغذيات الكبرى(شكل 2). إتصفت قابلية الأفرع لإنتاج الجذور في وسط MS كامل القوة بأنها قليلة وقصيرة مقارنة بوسط MS بنصف قوة المغذيات الكبرى، ويلاحظ من الجدول حصول انخفاض في متوسط عدد الجذور وأطوالها بزيادة تراكيز IAA في كلا الوسطين، اذ وصل الى 18.00 جذرا بمتوسط طول 1.90 سم في وسط MS نصف القوة في حين بلغ 13.80 جذرا بمتوسط طول 1.71 سم في وسط MS كامل القوة في التركيز1.0 ملغم/لتر IAA، كما ان عدد وطول الجذور في وسط MS نصف القوة بصورة عامة كان أعلى مما عليه في وسط MS كامل القوة عند جميع التراكيز المتشابهة لكل منهما، اذ حققت معاملة المقارنة في وسط MS نصف القوة أقصى متوسط لعدد الجذور بلغ 27.50 جذرا بمتوسط طول 3.92 سم. يلاحظ بأن التراكيز العالية من الاوكسين تكون ذات تأثير تثبيطي لعملية التجذير وهذا يعزى الى حساسية استطالة الجذور للأوكسين[12]. إنَّ اختزال تركيز الأملاح في الوسط الغذائي قد يُحفز النمو والتمايز وعندما يختزل تركيز الأملاح الى النصف أو الربع قد يؤدي الى تحفيز تكوين الجذور للأفرع المزروعة لأن هذا يؤدي الى زيادة قوة تأثير المواد الكاربوهيدراتية (السكروز) ومن ثم تحفيز نمو الجذور[13].

جدول(5): تأثير تراكيز IAA (ملغم/ لتر) في متوسط عدد الجذور وطولها (سم) لأفرع نبات *S. acmella* بعد اسبوعين من الزراعة

الصفة	القوة	التركيز IAA (ملغم/لتر)				المتوسط
		0.00	0.1	0.5	1.0	
متوسط عدد الجذور	كاملة القوة	14.83	14.75	14.67	13.80	14.51
	نصف قوة	27.50	21.33	22.33	18.00	22.29
	المتوسط	21.16	18.04	18.50	15.90	---
	قيم LSD	للقوة: 3.762 * ، للتركيز 3.921 * ، للتداخل 8.277 *				
متوسط طول الجذور (سم)	كاملة القوة	3.60	2.94	1.80	1.71	2.51
	نصف قوة	3.92	3.52	2.00	1.90	2.83
	المتوسط	3.76	3.23	1.90	1.81	--
	قيم LSD(P< 0.05)	للقوة: 0.572 * ، للتركيز 0.682 * ، للتداخل 0.797 *				

(*) وجود فرق معنوي.



شكل (2): جذور نبات *S. acmella* بعد اسبوعين من الزراعة في وسط MS½ خالي من منظمات النمو.

مرحلة الاقلمة

من بيانات الجدول 6 لوحظ وجود فروق بين مكونات الوسط الزرعي، إذ كانت أقل نسبة للبقاء بعد 4 أسابيع للنبيتات المزروعة في الأصص الحاوية على تربة مزيجية فقط بلغت 65%، أما أعلى نسبة للبقاء بلغت 100% في الأصص الحاوية على الوسط الزرعي بتموس: تربة مزيجية بنسبة 1:1 (حجم:حجم) في حين كانت نسبة البقاء 83% في المزجة 0:1 و88.88% في وسط الاقلمة 1:2 (حجم:حجم). تتفق هذه النتائج مع ما توصلت اليه الحسيني وآخرون [14] عند أقلمتهم لنبات الكيوي *Kiwifruit (Actinidia deliciosa)* ومع بدر وآخرون[15] عند أقلمة نبيتات الليمون المخرفش في ان الوسط الزرعي المتكون من بتموس: تربة مزيجية بنسبة 1:1حقق أعلى نسبة نجاح في مرحلة الاقلمة في حين حصل Singh وChaturvedi [16] أعلى نسبة نجاح لنبيتات *S. acmella* بلغت 88.9% وذلك بعد

أقلمتها في الوسط الزرعي المتكون من فيرميكيولايت:بيرلايت: تربة الحقل بنسبة(4:1:4) (حجم:حجم). إن هذه الاختلافات قد تعود الى أن وسط البتموس يحتفظ بالرطوبة و ذو محتوى جيد من العناصر الغذائية، ونسجة خفيفة وتهوية جيدة للجذور، وقد يرجع سبب انخفاض نسب النجاح في وسط التربة المزيجية فقط الى عدم احتفاظ هذا الوسط بالرطوبة فضلا عن افتقاره للمواد الغذائية [17].

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

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

المصـــــادر:

1- Sahu, J., Jain, B. and Sahu, R. K. (2011). A review on phytopharmacology and micropropagation of *Spilanthes acmella*. Pharmacology online 2: 1105-1110.

2- Rao N. K., Reddy R. K. (1983). Threatened plants of Tirupati and its environs. In: Jain S.K., Rao P. R. (eds): An Assessment of Threatened Plants of India. Department of Environment, Howrah: 167–168.

3- Yadav, K. and Singh, N. (2012). Rapid plant regeneration from nodal explants of *Spilanthes acmella* (L.) Murr.- an endangered medicinal plant. Analele Universităţii din Oradea - Fascicula Biologie. Tom. XIX, Issue: 1, pp. 35-39.

4- Murashige, T. and F. Skoog (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15:473-497.

5- SAS. (2004). SAS. Statistical analysis system, User's Guide. Statistical. Version 7th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.

6- Raven, P. H., R. E. Evert and S. E. Echchom (2004). Biology of plants. 7th ed. Published by W. H. Freeman. University of Wisconsin-Madison. USA.

7- Saritha, K. V.; and Naidu, C.V.(2008). Direct shoot regrneration from leaf explants of *Spilanthes acmella*. Biological Plantarum, 52(2): 334-338.

8- البياتي، يحيى علي (2002). دراسة مقارنة لسلوكية نبات الداؤدي *Chrysanthemum morfolium* Var. Moon Light Spoon المكثرة خضريا بالزراعة النسيجية والتقليدية. أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل، جمهورية العراق.

9- العاني، طارق علي(1991). فسلجة نمو النبات وتكوينه. جامعة بغداد، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جمهورية العراق.

10- Erdag, B.; Emek,Y.(2005). *In vitro* micropropagation of *Anthemis xylopoda O.Schwarz* acritically endangered species from Turky. Pak. J. Biol. Sci., 8(5): 691-695.

11- Elavazhagan, T.; Jayakumar, S.; Chitravadivu, C., and Balakrishnan, V.(2009). *In vitro* culture and cytological studies on *Helianthus annus* L.. Bot. Res. Intl., 2(4): 258-262.

12- Hopkins, W.G. and Huner, N.P. (2004). Introduction to Plant Physiology.3rd ed. John Wiley and Sons, Inc. USA.

13- Khawar, K. M.; Ozel, C. A.; Balci, S. ; Ozcan, S.; and Arslan, O. (2005). Effecient shoot regeneration in Syrian Rue (*Peganam harmala* L.) under *in vitro* condition. Int. J. Agri. Biol. 7(5): 790-793.

14- الحسيني، زينب عبد الجبار حسين؛ عبد الجاسم محيسن الجبوري؛ علي عبد الأمير مهدي؛ فلاح ناصر حسين؛ وظاهر عباس(2007). الإكثار الخضري الدقيق لنبات الكيوي*Actinida chinensis* . مجلة أم سلمة للعلوم. 4(2):233-238.

15- بدر، صالح محسن؛ فادية هشام طه؛ ومحمد شهاب حمد (2009). إكثار الليمون المخرفش خارج الجسم الحي. مجلة الزراعة العراقية. 14(6): 47-59.

16- Singh, M. and Chaturvedi, R.(2010). Improved clonal

propagation of *Spilanthes acmella* Murr. for production of scopoletin. Plant Cell Tiss Organ Cult .103:243–253.

17- الحسني، مائدة حسين محمد (2006). إكثار بعض أصناف الكلاديولوس *Gladiolus spp*. خارج الجسم الحي. رسالة ماجستير، كلية العلوم للبنات، جامعة بغداد، جمهورية العراق.

Study the role of auxins and sytoknins on *in vitro* propagation of *Spilanthes acmella* (L.) Murr

Bushra M.Jaber alwash [*] ***Ansaam Z. jassim****

[*]College of Science for Women, Baghdad University

Abstract:

The technique of plant tissue culture has been used to *In vitro* micropropagation of *Spilanthes acmella* (L.) Murr. It is an ornamental and medicinal plant not cultivated in Iraq. Seeds were sterilized and cultuared on full strength Murashige and Skoog medium(1962)(MS). Naphthalene acetic acid (NAA), 6-furfuryl aminopurine (Kin.) growth regulators were used at the Initiation stage.The combination between IAA and Kin. was used in multiplication stage. IAA was used for rooting the shoots**.** Results showed that 1.5% sodium hypochlorite for 15 min was very effective for disinfecting and survival. Nodes exhibited relatively highest response as compared with apical meristems and leaflets culture. Supplying the culture medium with 1 mg/L. Kin. was effective for lateral shoot induction. The mean number of shoots obtained from nodes were 4.12 with a mean length 2.70 cm. Adding Kin. at 0.5, 1.0 or 1.5 and IAA at 0.1 mg/L. to the growth medium was effective for multiplication. Mean number of the developed shoots were 13.60, 14.20, 12.00 respectively. The best result of rooting stage was achieved by half- strength MS medium without growth regulators which produced 27.50 roots/ plantlet with mean length 3.90 cm. Results of acclimatization stage showed that addition of 1:1 peat moss and loamy soil gave the highest rate of survival(100)% after 4 weeks of acclimatization. This study showed the ability of *in vitro* propagation of *Spilanthes acmella* (L.) Murr.