الزراعة النسيجية لنبات الزعتر *Thymus vulgaris L.*

أ.م.د. عبدالله نجم النعيمي
قسم علوم الحياة
كلية التربية / جامعة الموصل

م.م. تغريد نواف احمد
قسم علوم الحياة
كلية التربية / جامعة الموصل

م.م. زينة يحيى قاسم
قسم التمريض
المعهد التقني / الموصل

تاريخ تسليم البحث: ٢٠١١/١٢/١٤؛ تاريخ قبول النشر: ٢٠١٢/٣/١٥

ملخص البحث:

تمكنت الدراسة الحالية من استحداث كالس الأجزاء النباتية (الأوراق، السيقان والجذور) الناتجة من البادرات المعقمة السليمة لنبات الزعتر *Thymus vulgaris* L. في وسط MS الصلب المجهز بتراكيز مختلفة من منظمات النمو (BA و NAA) و(Kin و 2,4-D)، وبلغت نسبة الاستحداث ١٠٠% في الأوساط المختبرة الحاوية على BA و NAA لجميع قطع الأوراق، السيقان والجذور ولكن بفترات زمنية مختلفة، وكان أفضل وسط هو MS الحاوي على BA بتركيز ١,٠ ملغم/ لتر و NAA بتركيز ٠,٥ ملغم/ لتر وكان أفضل جزء لاستحداث الكالس بفترة زمنية قصيرة (٧-١٠) أيام قطع الأوراق، تليها قطع السيقان (٧-١٤) يوم ثم الجذور وبفترة زمنية اكثر (٥-٣٠) يوما، وأظهر كالس كل من (الأوراق، السيقان والجذور) لنبات الزعتر قابلية عالية على تكوين الأفرع الخضرية في الوسط الزرعي المستخدم الحاوي على نفس التراكيز وهي BA بتركيز ١,٠ ملغم/ لتر و NAA بتركيز ٠,٥ ملغم/ لتر وهو ما يسمى بانتاج النباتات بمرحلة واحدة، وتمت اقلمة نباتات الزعتر الناتجة من الزراعة النسيجية في ظروف البيت الزجاجي بعد تجذيرها في وسط MS الخالي من منظمات النمو.

The Plant Callus of Thyme *Thymus vulgaris L.*

Asst. Proof. Dr. Abdullah N. AL- Nuaimi
Department of Biology
College of Education
Mosul University

Asst. Lect. Taghrid N. Ahmed

Asst. Lect. Zena Y. Kasem
Department of Nursing
Technical Institute
Mosul

Abstract:

The present study managed to initiate the callus of the plant parts (leaves, stems and roots) from the sterilized complete plants of the *Thymus vulgaris* L. in MS medium which was supplied with various of

growth regulator (BA and NAA) and (Kin and 2,4-D) which reached production on percentage 100% in the medium which included BA and NAA in all parts (leaves, stems and roots) but in various periods, the best medium is MS included 1.0 mg/L of BA and NAA 0.5 mg/L. The best part to initiate callus in short periode (7-10) days were leaves explant, next the stems part (7-14) day, and root in long periode (5-30) days.

The callus of the leaves, stems and roots of *Thymus vulgaris* L. had a high ability of forming green branches in the used planting medium which consisted in the same concentration 1.0 mg/L of BA and 0.5 mg/L of NAA. This is called one step regeneration, the produced plants of *Thymus vulgaris* L. from the plant callus were acclimatized in the conditions of the glass house after the success of the enrooting process in free MS medium.

المقدمة:

الزعتر Thyme **واسمه العلمي** (*Thymus vulgaris L.*)

من النباتات الطبية الواسعة الانتشار في العالم ويعد من أفضل الأنواع وأكثرها استخداماً من باقي الأنواع الأخرى (Gideon, 2001)، وهو من العائلة الشفوية Lamiaceae التي تعود إلى رتبة Lamiales. تتواجد نباتات هذه العائلة على شكل اعشاب او شجيرات تتميز بكون الساق مضلع الشكل والأوراق بسيطة متقابلة، يوجد على الأوراق شعيرات غدية تفرز زيوت طيارة، من أهم نباتات هذه العائلة الزعتر والريحان والميرمية (Lawrence, 1951).

الوصف العام لنبات الزعتر:

الزعتر نبات شبه شجيري معمر له فروع كثيرة ذو أوراق صغيرة رفيعة متطاولة ملساء الحافة كثيفة محمولة بسيقان مضلعة تتحول بالتدريج إلى سيقان خشبية كلما تقدمت في العمر، الازهار صغيرة ذات لون ازرق أو ارجواني تزهر منتصف الصيف (Kirby, 2000) له رائحة عطرية قوية ولانه يعطر الجبال برائحته الزكية يطلق عليه صفة (مفرح الجبال) وهو على نوعين النوع البري والنوع المزروع (حسين، ١٩٨١).

المكونات الفعالة:

تحتوي الأوراق والسيقان والنورات لنبات الزعتر على زيوت طيارة Volatile oils ذات رائحة عطرية وطعم حار بنسبة (٢٥)% (Roberts *et al*., 1998) وفينولات اهمها Thymol بنسبة (٤٤,٤)% و P-cymene بنسبة (٩,١)% و Terpinene (٦,٩)% و

Carvacrol (٢,٤)% ومركبات أخرى مثل Tannins ومواد صمغية ودباغية وغيرها (جامعة الدول العربية، ١٩٨٨).

الأهمية الطبية:

١- يعد الثايمول وزيت الزعتر مادتين لهما خواص حافظة من التلف ويستخدم في حفظ المستحضرات الطبية والتجميلية التي تعنى بامراض الجلد وتشققه حيث تزيد صفة مقاومة الجلد للاحياء المجهرية واضفاء رائحة عطرية للمستحضر الطبي (Manou et al., 1998). كذلك يحتوي الزعتر على مواد مضادة للاكسدة ويضاف زيته إلى المواد الغذائية المعلبة ليمنع الاكسدة بدل من اضافة مواد صناعية تضر بصحة الانسان (Woodruff, 1995) وكذلك يعد الزعتر مضادا فطرياً وفيروسياً وبكتيرياً اذ ان له فعالية تثبيطية عالية لثلاث عزلات مختلفة من المكورات العنقودية الذهبية (Banjar, 2004). كما ان له كفاءة تثبيطية عالية لعدة انواع من سلالات البكتريا المعوية لاحتوائه على المركبات الفينولية ومنها الثايمول والكارفاكرول (الرماحي، ٢٠٠٦).

٢- يستخدم بخار الزعتر أو نقيعه شراباً لعلاج السعال والسعال الديكي لدى الاطفال وحالات البرد الاعتيادية وحالات ارتشاح واحتقان الأنف والتهاب البلعوم وتشنجات القصبة الهوائية (Gideon, 2001) وامراض الجهاز التنفسي العلوي ويستخدم في تبخير مرضى ضيق التنفس في المستشفيات (Al-sheibany *et al* , 2005).

٣- استعمل الزعتر مضادا للحساسية والثايمول داخليا طارداً للديدان Antihelmintic وخصوصا الديدان الشصية (Barnes *et al*., 2002) ويستخدم في تقوية الاعصاب بعد الاصابة بالشلل الدماغي ولتفادي الجلطة القلبية وتنشيط القلب وتوسيع الشرايين وازالة الكوليسترول وفي علاج الاسهال وعرق النسا (البيطار، ١٩٩٨) (العباجي وذنون، ١٩٩٣).

يهدف البحث إلى التعرف على مدى استجابة نبات الزعتر للزراعة النسيجية وامكانية تكوينه للكالس من الاجزاء النباتية المختلفة وباستخدام منظمات النمو.

مواد وطرائق العمل:

الزراعة النسيجية لنباتات الزعتر *Thymus vulgaris L.*

مصدر بذور الزعتر:

تم الحصول على بذور نبات الزعتر *Thymus vulgaris* L. من الاسواق المحلية.

تحضير الوسط الغذائي وتعقيمه:

استخدم وسط MS (Murashige and Skoog, 1962) في هذا البحث بعد تحضيره مختبريا وذلك باذابة جميع المواد الداخلة في تركيبه بالماء المقطر مع اضافة مادة الاكار لتصليب الوسط بمعدل ٨ غم / لتر والسكروز ٣٠ غم / لتر وضع الوسط بمحتوياته كافة على مصدر حراري دوار Magnetic stirrer hot plate لتحريك الوسط وغليانه، وقد برد الوسط قليلا وضبطت الدالة الهيدروجينية PH باستخدام PH-meter بحدود (٥,٨ -٦,٠) ووزع الوسط في أنابيب اختبار حجم (٧٠) مل ودوارق زجاجية حجم (١٢٥ -١٥٠) مل غطيت فوهاتها برقائق الالمنيوم، ثم عقم الوسط الغذائي باستخدام جهاز المؤصدة بدرجة حرارة (١٢١)م° وضغط (١) جو لمدة ٢٠ دقيقة.

التعقيم السطحي للبذور:

عقمت بذور الزعتر سطحيا باستخدام محلول هايبوكلورات الصوديوم NaOCL (القاصر التجاري) مع الماء وكالآتي:

المحلول المعقم حجم معقم : حجم ماء	مدة التعقيم (دقيقة)
١ : ١	٥
١ : ١	١٠
١ : ٢	٥
١ : ٢	١٠

بعد التعقيم بالقاصر غسلت البذور باستخدام الماء المقطر ثلاث مرات ولمدة ثلاث دقائق لإزالة أثار المعقم لكل مرة، ثم جففت البذور من الماء بوساطة ورق ترشيح معقم. وقد تمت العملية ابتداء من تعقيم البذور في جو تام التعقيم (الجهاز ذي الجو المعقم Hepaire).

زراعة البذور وانتاج النباتات السليمة:

زرعت بذور الزعتر المعقمة على وسط MS الصلب المعقم الخالي من منظمات النمو (MSO) في أنابيب اختبار حجم (٧٠) مل حاوية على (٢٠) مل من الوسط بمعدل (٢ - ٣ بذرات / انبوبة)، تمت الزراعة داخل الهيبايز، بعد الزراعة نقلت العينات إلى الحاضنة أو غرفة النمو Growth Room وحفظت بدرجة حرارة (٢٥ ∓ ٢)م° في الظلام لمدة (٣ -٤) أيام الاولى، وبعد الانبات نقلت إلى ظروف الحاضنة الاعتيادية (١٦ ساعة ضوء / ٨ ساعات ظلام) وشدة إضاءة ٢٠٠٠ لوكس.

زراعة الاجزاء النباتية واستحداث الكالس منها:

أخذت النباتات السليمة بعمر (٣٠) يوما وقطعت إلى أجزائها (الأوراق، السيقان، الجذور) باستخدام المشرط المعقم، أخذت السيقان والجذور بطول (١) سم لكل منها أما الأوراق كانت (٠,٥) سم^{2}، زرعت هذه الأجزاء في دوارق زجاجية حجم (١٢٥ -١٥٠) مل الحاوية على (٣٠) مل / دورق وسط MS والمدعم بتراكيز مختلفة من الاوكسينات والسايتوكانينات وعلى النحو الآتي:

NAA	BA
ملغم / لتر	
0.25	1.0
0.5	1.0
1.0	1.0
0.25	2.0
0.5	2.0
1.0	2.0

2,4-D	Kin
ملغم / لتر	
0.25	1.0
0.5	1.0
1.0	1.0
0.25	2.0
0.5	2.0
1.0	2.0

وحفظت العينات حسب الظروف المذكورة في الفقرة السابقة.

ادامة مزارع الكالس:

جرت عملية ادامة مزارع الكالس وذلك بنقل الكالس بعمر (٣٠) يوما إلى أفضل وسط غذائي منتخب من الاوساط المستخدمة التي كونت الكالس وتم في هذه العملية ازالة الخلايا الميتة من الكالس التي كانت بلون اسود أو بني وبمعدل (١) غم كالس / جزء نباتي / معاملة.

تقدير الوزن الطري للكالس:

قدر الوزن الطري للكالس وذلك بحساب الفرق بين وزنه عند الزراعة وبمعدل (١ غم / قطعة كالس / جزء نباتي) في وسط MS الحاوي على (١,٠) ملغم/ لتر BA و (٠,٥) ملغم/لتر NAA وبعد مرور ٣٠ يوما من بدء زراعته على وسط الادامة.

تكوين النباتات الكاملة:

زرعت قطع الكالس ولجميع الاجزاء النباتية (الأوراق، السيقان، الجذور) في وسط MS الحاوي على (BA و NAA) بتركيز (١,٠ و ٠,٥) ملغم / لتر على التوالي للحصول على افرع خضرية والتجذير في وسط MSO الخالي من منظمات النمو، وبعد اكتمال نمو النباتات رفعت من وسط التجذير وغسلت بالماء لازالة بقايا الوسط وزرعت في سنادين حاوية على تربة معقمة وغطيت بأكياس نايلون مثقبة وتركت لفترة (٣-٤) أيام في ظروف المختبر ثم ازيلت الاغطية لنقلها إلى ظروف البيت الزجاجي.

النتائج والمناقشة:

الزراعة النسيجية لنباتات الزعتر *Thymus vulgaris L.*

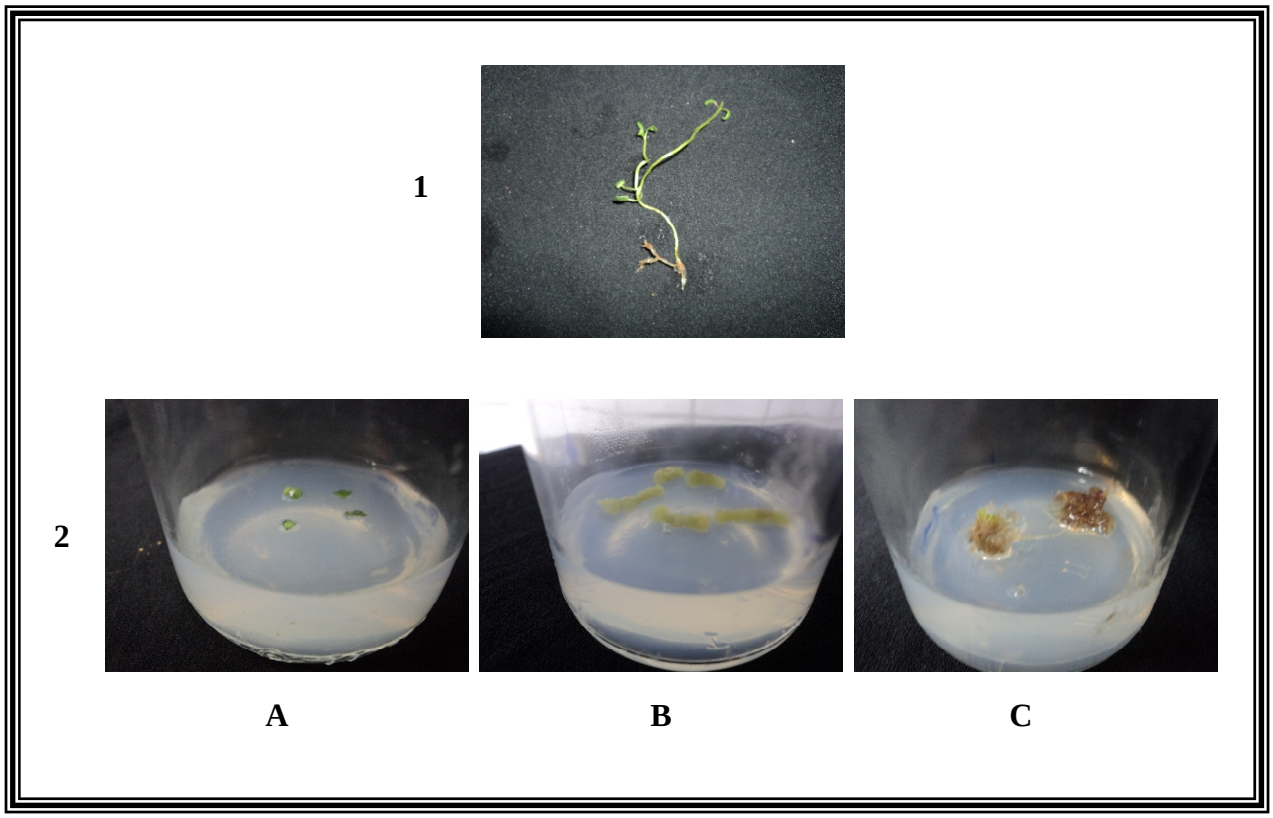
كفاءة التعقيم السطحي للبذور:

اظهرت نتائج اختبارات التعقيم السطحي لبذور الزعتر *Thymus vulgaris* L. بمحلول هايبوكلورات الصوديوم NaOCL كفاءة عالية بلغت ١٠٠% عند استخدام هذا التركيز بنسبة (١) حجم منه: (٢) حجم ماء لمدة (١٠) دقائق، اذ أعطت نسبة أفضل في تكوين البادرات السليمة (الجدول ١) (شكل ١)، ولذلك اعتمدت هذه المعاملة في تعقيم بذور نبات الزعتر في هذا البحث.

الجدول (١): كفاءة تعقيم بذور نباتات الزعتر *Thymus vulgaris* L. في محلول هايبوكلورات الصوديوم NaOCL.

المحلول المعقم حجم معقم : حجم ماء	مدة تعقيم (دقيقة)	عدد البذور المستخدمة	كفاءة التعقيم (%)
١ : ١	٥	٥٠	٧٥
١ : ١	١٠	٥٠	٨٠
٢ : ١	٥	٥٠	٩٢
٢ : ١	١٠	٥٠	١٠٠

وتكونت البادرات السليمة من بذور الزعتر المعقمة سطحيا بعد مرور (٣٠) يوما من زراعتها على وسط MS الصلب الخالي من منظمات النمو، وهذا دليل على أهمية عملية التعقيم التي تمت باستخدام تركيز قليل من المادة الفعالة مصحوبا بمدة زمنية أطول (محمد وعمر، ١٩٩٠). وقد أشارت بعض الدراسات إلى استخدام مادة هايبوكلورات الصوديوم في تعقيم بذور نباتات أخرى مثل بذور نبات الكتان (Lane, 1979).



الشكل (١): البادرة والأجزاء النباتية لنبات الزعتر *Thymus vulgaris* L.

١: بادرة نبات الزعتر ناتجة من البذور المعقمة.

٢: الأجزاء النباتية (A: الورقة، B: الساق، C: الجذر) في وسط MS الحاوي على (١,٠ ملغم/لتر BA و ٠,٥ ملغم/لتر NAA).

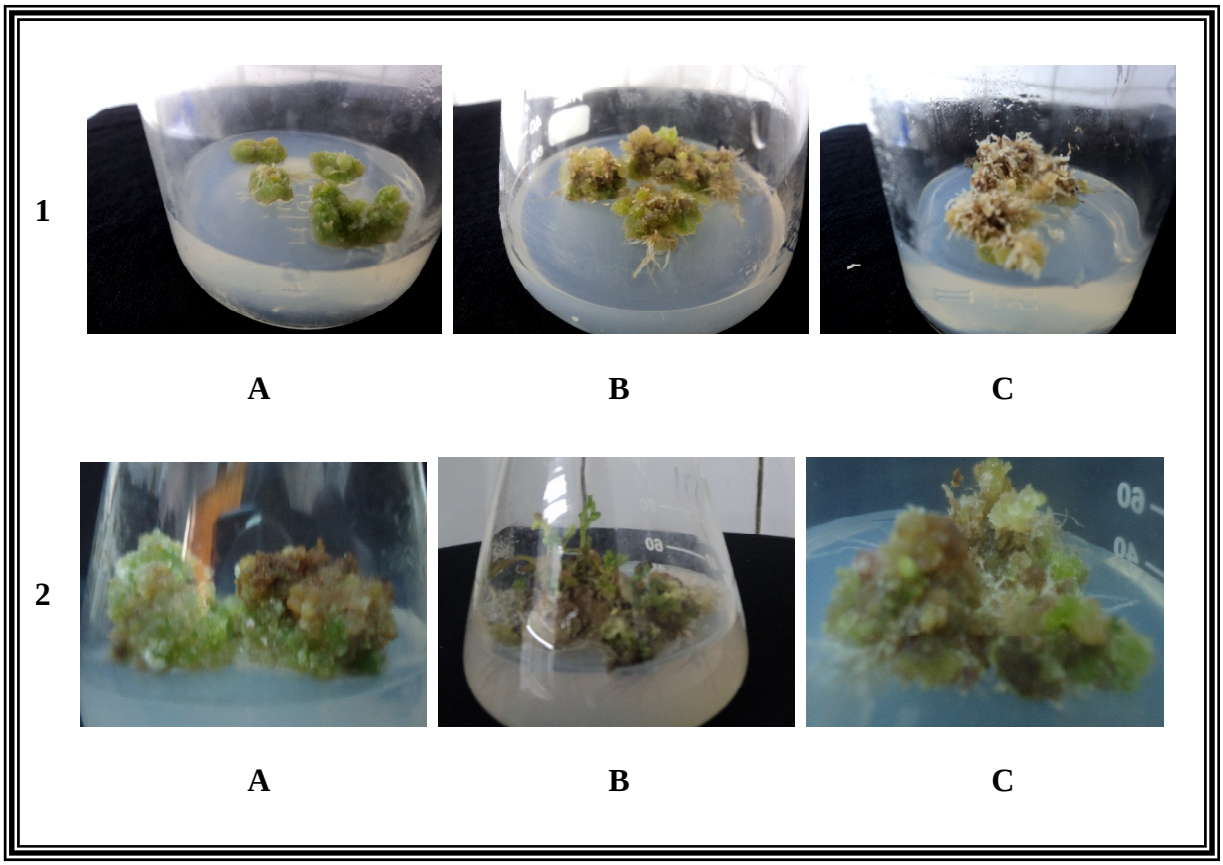
الجدول (٢): استجابة قطع نباتات الزعتر *Thymus vulgaris* L. لاستحداث الكالس في وسط MS الحاوي على منظمات النمو

الأجزاء النباتية	الوسط الغذائي MS (ملغم / لتر)			
	NAA + BA		2,4-D + Kin	
	استحداث الكالس %	المدة الزمنية (يوم)	استحداث الكالس %	المدة الزمنية (يوم)
الأوراق	٨٠	١٠-٧	٧٥	١٤
السيقان	٨٨	١٤-٧	٧٧	١٠
الجذور	٩٨	٣٠-٥	٩٠	٧

* معدل ١٠ قطعة / جزء نباتي / معاملة

أوضحت نتائج الجدول (٢) الاستجابة العالية لاستحداث الكالس في جميع قطع الاجزاء النباتية لنباتات الزعتر (الأوراق، السيقان، الجذور) في هذا البحث عند استخدام وسط MS الحاوي على منظمات النمو (BA و NAA) (شكل ٢).

إذ بلغت أعلى نسبة استحداث في قطع الجذور (٩٨%) خلال فترة زمنية (٥-٣٠) يوما تليها قطع السيقان بنسبة (٨٨%) وخلال فترة زمنية (٧-١٤) يوما، في حين أظهرت الأوراق أقل استجابة وبفترة زمنية اقل (٧-١٠) يوما وربما يعزى السبب في تفوق قطع الجذور إلى الاتحاد بين الاوكسين و BA (Tejavathi et al., 2000) أو نوع القطعة النباتية ومصدرها أو ربما تعزى إلى الطاقة الكامنة Toti potency للخلايا وظروف خاصة من ضوء ودرجة حرارة ومواد غذائية ومنظمات نمو (محمد وعمر، ١٩٩٠) وعند استخدام منظمات النمو (Kin و 2,4-D) لوحظت استجابة اقل وبمدة زمنية مقاربة إلى حد ما مقارنة باستخدام (BA و NAA).



الشكل (٢): كالس الأجزاء النباتية لنباتات الزعتر *Thymus vulgaris* L. على وسط MS الحاوي على (١,٠ ملغم/لتر BA و ٠,٥ ملغم/لتر NAA)

١: كالس الأجزاء النباتية لنباتات الزعتر *Thymus vulgaris* L. بعمر (٣٠) يوماً.

٢: كالس الأجزاء النباتية لنباتات الزعتر *Thymus vulgaris* L. بعمر (٦٠) يوماً.

A: كالس الأوراق.

B: كالس السيقان.

C: كالس الجذور.

الجدول (٣): الوزن الطري لكالس نبات الزعتر *Thymus vulgaris* L. بعمر (٦٠) يوما في وسط MS الحاوي على (١,٠) ملغم/لتر BA و (٠,٥) ملغم/لتر NAA.

معدل الكالس	معدل الوزن الطري (غم)*
الأوراق	١,٢
السيقان	١,٥
الجذور	١,٨

* معدل ٥ مكررات (١ غم) كالس عند الزراعة / جزء نباتي / معاملة.

أوضحت نتائج الجدول (٣) ان وسط MS الحاوي على (١,٠) ملغم/لتر BA و (٠,٥) ملغم/لتر NAA كان أفضل وسط لاستحداث الكالس ونموه من الأجزاء النباتية المستخدمة وبناء عليه استخدمت هذه المعاملة أساساً لاستحداث الكالس وادامته وأظهرت نتائج الجدول (٣) تفوق قطع الجذور في انتاج الكالس (١,٨) غم بنسبة زيادة (٠,٨) غم يليها كالس قطع السيقان بنسبة زيادة (٠,٥) بينما أظهرت قطع الاوراق أدنى معدل زيادة في الوزن الطري (٠,٢) غم وربما يعزى السبب إلى تأثير مكونات الوسط الغذائي من حيث تركيز المواد الغذائية وكذلك الظروف المستخدمة في زراعته (Murashige, 1974) أو يكون السبب هو زيادة المكونات الأساسية للخلية مثل الحوامض الدهنية والنووية والمركبات البروتينية (Mohammad *et al*., 1989).

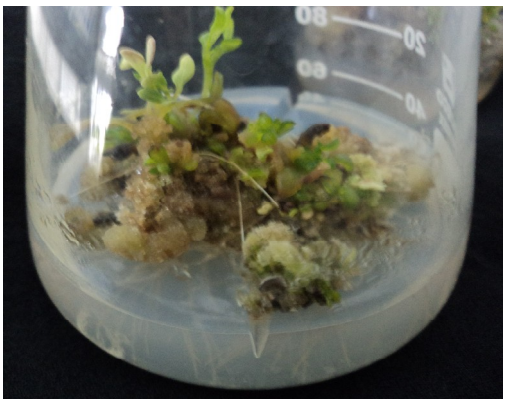
الجدول (٤): المدة الزمنية لنشوء الافرع الخضرية من كالس نباتات الزعتر *Thymus vulgaris* L. النامي في وسط MS الحاوي على (١,٠) ملغم/لتر BA و (٠,٥) ملغم/لتر NAA.

نوع المعاملة		كالس الأجزاء النباتية*					
NAA	BA	الأوراق المدة الزمنية (يوم)	عدد الأفرع	السيقان المدة الزمنية (يوم)	عدد الأفرع	الجذور المدة الزمنية (يوم)	عدد الأفرع
٠,٠	٠,٠	-	-	-	-	-	-
٠,٥	١,٠	١٤	٧	١٤	١٠	٣٠	٥

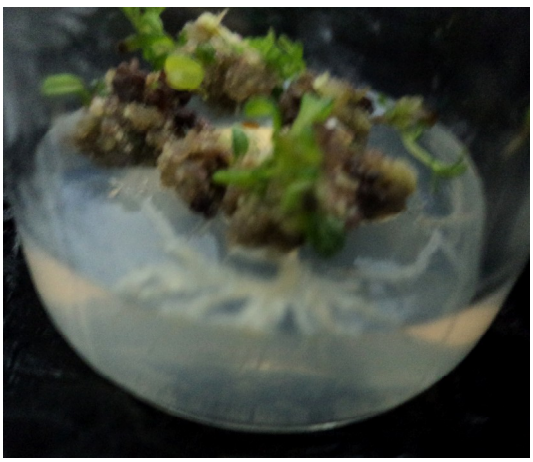
* معدل ٥ مكررات / جزء نباتي / معاملة

(-) لم يحصل تمايز

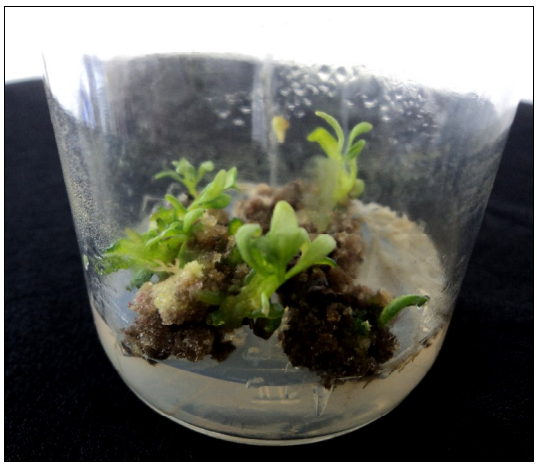
أظهرت نتائج الجدول (٤) ان عملية تمايز الكالس كانت جيدة وللأجزاء النباتية كافة وخلال مدة زمنية تراوحت (١٤-٣٠) يوما، وقد لوحظ ان أفضل وسط لتمايز الكالس هو وسط MS الحاوي على (BA و NAA) بتركيز (١,٠ و ٠,٥) ملغم / لتر على التوالي إذ شجع كالس جميع الأجزاء النباتية على نشوء الأفرع الخضرية وأظهرت النتائج الاستجابة العالية لكالس السيقان لتكوين أكبر عدد من الأفرع الخضرية مقارنة بكالس الأوراق والجذور (الشكل ٣) ولم يشجع الوسط الخالي من منظمات النمو على نشوء الأفرع الخضرية لجميع عينات الكالس المستخدمة وربما يعزى السبب في التمايز وتكوين الأفرع الخضرية إلى الاختلاف في مستوى الهرمونات الداخلية في الأنسجة المزروعة وربما تناسق ذلك مع المضاف من منظمات النمو (سلمان، ١٩٨٨). وكذلك طبيعة الخلايا الأولى المنقسمة التي تكون ضرورية لتكوين الأفرع الخضرية (Samaj et al., 1997)، كما تم الحصول على نباتات وبمرحلة واحدة one step regeneration لكالس السيقان (شكل ٤) وهذا يتفق مع بعض الدراسات حول امكانية انتاج نباتات بمرحلة واحدة كما في نبات التبغ (حياوي، ٢٠٠١).



A



B



C

الشكل (٣): نشوء الأفرع الخضرية من كالس الأجزاء النباتية المختلفة لنباتات الزعتر *Thymus vulgaris* L. في وسط MS الحاوي على (١,٠ ملغم/لتر BA و ٠,٥ ملغم/لتر NAA)

A: الأوراق.

B: السيقان.

C: الجذور.

الشكل (٤): تكوين نباتات في مرحلة واحدة من كالس السيقان لنباتات الزعتر *Thymus vulgaris* L. في وسط MS الحاوي على (١,٠ ملغم/لتر BA و ٠,٥ ملغم/لتر NAA)

المصادر

١- البيطار، خميس علي حسين (1998). العودة إلى الطبيعة. ملحق مجلة عالم الزراعة. الجزء الثالث. المؤسسة النظامية للبحوث العلمية والتطوير التكنلوجي والزراعي والصناعي. الأردن. ١٣ – ٩.

٢- جامعة الدول العربية، المنظمة العربية للتنمية الزراعية (1988). النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي. دار مصر للطباعة. الخرطوم – السودان.

٣- حسين، فوزي طه قطبي (1981). النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها. دار المريخ للنشر. الرياض. السعودية.

٤- حياوي، سهام أحمد محمود (2001). الفعالية المضادة للجراثيم في النيكوتين المستخلص من نباتات التبغ *Nicotiana tabacum L.* البذرية والكالس والنباتات المتكونة منه والكشف عن الروتين في الكالس. رسالة ماجستير. كلية التربية. جامعة الموصل.

٥- الرماحي، سهير عبد الكريم حبيب (٢٠٠٦). دراسة الفعالية التضادية لمستخلصات أوراق نباتي اليوكالبتوس Eucalyptus canaldulensis D. والزعتر Thymus vulgaris L. في جرثومة Staphylococcus aureas خارج جسم ذكور الفئران البيض وداخله، رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الكوفة.

٦- سلمان، محمد عباس (١٩٨٨). أساسيات زراعة الخلايا والأنسجة النباتية. دار الكتب للطباعة والنشر. الموصل.

٧- العباجي، فارس ذنون وعمار عبد الجبار ذنون (1993). نبات الزعتر. مجلة الدواء العربي. العدد 1. 135-132.

٨- محمد عبد المطلب سيد وعمر، مبشر صالح (1990). المفاهيم الرئيسة في زراعة الخلايا والأنسجة والأعضاء للنبات. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل.

9- AL-sheibany, Ikbal, S.; Kadeem, K., H. and Abdullah, Amal,S. S.(2005). Isolation and Identification of Volatile oiles from Iraqi Thyme (Thymbra spicata) and study the antimicrobial activity. J. Quntry of chemistry Vol 18 (19) 289-298.

10- Banjar, S. G. H. (2004). Inhibition of three Isolates of staphylococcas arueus Mediated by plant used by Iranian native people. Journal of plant sciences, 4(2): 136-141.

11- Barnes, J.; Anderson, L. A. and Phillipson, J. D. (2002). Medicines: A Guide for Health care professionales. 2nd. London.

12- Gideon, S. T. (2001). Thyme (Thymus vulgaris) clinically relevant conditions. Healthnotes, Inc.www.medical.healthnotes. com.
13- Kirby, S. (2000). Agriculture, Forestry and Soils, Thyme. McGraw Hill. www.Accessscience.com.
14- Lane, D. (1979). Influence of growth regulators on root and shoot initiation from flax meristem – tips and hypocotyls in vitro. Physiol. Plant. 45: 260 – 264.
15- Lawrence, G. H. M. (1951). Taxanomy of vascular plant original U.S. Edition, Fourth. Indian Reprint.
16- Manou, I.; Bouillard, L.; Devleschouwer, M. J. and Barel, A. G. (1998). Evaluation of the preservative properties of Thymus vulgaris essential oil in topically applied formulations under a challenge test. Applied Microbiology, 84: 368 – 376.
17- Mohammad, A. M. S.; Abood, S. A. and Al-Chalabi, K. (1989). Effect of folate analogues on the activity of dihydrofolate. reductase and on callus growth of Sun flower. J. Exp. Bot. 40: 701 – 706.
18- Murashige, T. (1974). Plant cell and organ culture methods in the establishment of pathogen – free stock. 2nd Annual. A. W. Dimock. Memorial lecture. Cornell University, Ithaca New York.
19- Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay with tobaco tissue culture. Physiol. Plant. 15: 473 – 497.
20- Roberts, T. A.; Pitt, J. I.; Farkas, J. and Gran, F. H. (1998). Micro organism in foods. International commission on microbiological specification for food (ICMS) firted. London, 15 PP.
21- Samaj, J.; Boback, M.; Ovecka, M.; Blehova, A. and Pretova, A. (1997). Structural features of plant morphogenesis in vitro. Veda Press. Bratislava, P. 122.
22- Tejavathi, DH.; Sita, GL. and Sunita, At. (2000). Somatic embryogenesis in flax. Plant cell tissue and organ culture. 63: 2, 155 – 159.
23- Woodruff, J. (1995). Preservatives to fight the growth of mould. Manufacturing chemist, (9) 34 – 35.

This document was created with Win2PDF available at http://www.daneprairie.com.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.