تأثير بعض منظمات النمو في إكثار وتجذير الأصل GF-677 (*Prunus persica* ×*P.amygdalus*) في الزجاج

عبد الكريم دقه[1] و سليم زيد[1] و وسيم محسن[2]

[1] قسم علم الحياة النباتية ــ كلية العلوم ــ جامعة دمشق ــ سورية

[2] قسم التقانات الحيوية ــ الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية ــ دوما ــ سورية

تاريخ الإيداع 2011/07/12

قبل للنشر في 2011/10/17

الملخّص

أُكثر بنجاح نبات (*Prunus persica* ×*P.amygdalus*) GF-677 في الزجاج، حيث أخذت عقل مفردة بطول 0.5 - 1 سم تحتوي على برعم واحد من الأشجار المزروعة في الحقل والناميـة ضمن الشروط الطبيعية بعمر 6 سنوات في محطة جلين في درعا التابعة للمركز العربي لدراسة المناطق الجافة والأراضي القاحلة (أكساد). جرت عملية التطهير السطحي للبراعم وزرعت على وسط WPM الحاوي توافقات هرمونية مؤلف من 1 ميكرو مول إندول بيوترك أسيد مع تراكيز مختلفة من البنزيل أدنين (2.2 و4.4 و6.6 و8.8 ميكرو مول) من أجل التكاثر الخضري. وجذرت البراعم المكاثرة على وسط WPM يحتوي تراكيز مختلفة من الإندول بيوترك أسيد (2.46 و4.92 و9.84 و14.76 ميكرو مول). أظهرت البراعم المزروعة أفضل نتيجة للإكثار الخضري (4.52) على وسط WPM بوجود 8.8 ميكرو مول من البنزيل أدنين و1 ميكرو مول من الإندول بيوترك أسيد، في حين كانت أفضل نسبة للتجذير(90%) على وسط WPM بوجود 9.84 ميكرو مول من الإندول بيوترك أسيد وتحضين مدة سبعة أيام بشروط الظلام. نقلت النباتات إلى أصص تحتوي مزيجاً من التورب والبيرليت بنسبة 1:2 حجم/حجم من أجل الأقلمة، ونقلت بعد شهر واحد إلى البيت الزجاجي ثم إلى الحقل. كانت نسبة نجاح الأقلمة 95%.

الكلمات المفتاحية: في الزجاج، الإكثار الدقيق، منظمات النمو الأصل GF-677 (*Prunus persica* ×*P.amygdalus*).

الاختصارات: IBA = إندول بيوترك أسيد، BA = بنزيل أدنين، WPM = وسط النباتات الخشبية.

The Effect of some growth regulators on *In Vitro* propagation and rooting of GF-677 (*Prunus persica*× *P.amygdalus*) Rootstock

A. Dakah[(1)]; S. Zaid[(1)] and W. Mohsen[(2)]

[(1)] **Department of Plant Biology, Faculty of Sciences, Damascus University, Syria**

[(2)] **Department of Biotechnology, GCSAR, Douma, Syria**

Received 12/07/2011

Accepted 17/10/2011

ABSTRACT

Micropropagation of GF- 677 rootstock was accomplished. Single cuttings 0.5–1 cm in length with one bud were excised from adult trees of GF-677 (*Prunus persica* × *P.amygdalus*), grown in the field under natural conditions at 6 years in Jellen Station/ ACSAD in Daraa. The cuttings were surface disinfected and cultured on WPM medium, containing a combination of growth regulators with different concentrations (BA at 2.2, 4.4, 6.6, 8.8 mM/ l) each with IBA 1 mM/ l. For rooting, shoots were transformed to WPM medium containing different concentrations (IBA at 2.46, 4.92, 9.84, 14.76 mM/ l). WPM medium supplemented with BA (8.8 mM/ l) and IBA (1 mM/ l) showed the best result for proliferation (4.58). The highest rooting rate was obtained when explants were incubated to WPM medium with 9.84 mM/ l IBA under a 7 day darkness period. The propagated plants were transferred to pots with a mixture of 2:1 (v/v) peat/perlite for acclimatization and transferred to green house after one month then to field. Acclimatization percentage was 95%.

Key word: *In vitro*, micropropagation, growth regulators, GF-677 (Prunus persica × P.amygdalus) rootstock

Abbreviations: IBA: indole-3-butyric acid, **BA**: benzyladenine, **WPM**: woody plant medium.

المقدمة

تعدُّ اللوزيات من الأشجار المهمة اقتصادياً إذ تتميز ثمارها بأهمية غذائية ودوائية، تستخدم ثمار اللوزيات طازجة للأكل كما يستخرج منها الزيت الذي يدخل في صناعة بعض المستحضرات والكريمات الطبية أو العطور. وقد شهدت زراعة اللوزيات (لوز – دراق – كرز – خوخ – مشمش) في السنوات الأخيرة ميلاً نحو الزيادة والتوسع في سورية إذ وصل متوسط عدد أشجار اللوزيات عام 2008 إلى 7700000 شجرة حسب إحصائية وزارة الزراعة في سورية.

ونتيجة لازدياد الطلب على غراس اللوزيات كان من الضروري التفكير في إيجاد وسيلة يمكن من خلالها تأمين الطلب المتزايد على هذه الغراس من جهة والحفاظ على مواصفاتها المهمة التي تتمتع بها من جهة أخرى، ورغم إمكانية إكثار هذه الأصول بالطرائق التقليدية إلا أن عدد الغراس المنتجة يكون محدوداً، كما أن طرائق الإكثارالخضري التقليدية تتطلب كميات كبيرة من المادة النباتية، فضلاً عن ذلك فإن معظم الأصول التي تنتمي إلى الجنس *Prunus* صعبة التجذير أو أن نسبة تجذيرها منخفضة بالطرائق التقليدية. ونظراً إلى عدم إمكانية الحصول على غراس متماثلة ومتجانسة النمو من الأصول البذرية برزت أهمية الإكثار الخضري الدقيق لهذه الأصول لاستخدامها في التطعيم؛ مما يجعل الحاجة للأصول البذرية تقل أو تنعدم. من هنا تبرز أهمية استخدام زراعة النسج النباتية كتقنية مهمة يمكن من خلالها إكثار الأنواع النباتية بمعدلات إكثار مرتفعة.

تتميز هذه التقنية بالخصائص الآتية:

1- إكثار المادة النباتية التي يصعب إكثارها بالطرائق التقليدية.

2- الإكثار السريع للأصناف والنباتات المرغوب فيها خلال مدة زمنية قصيرة بغض النظر عن الفصل.

3- إكثار نباتات خالية من الأمراض والمسببات المرضية.

4- إمكان إنشاء بنك وراثي.

5- تعدُّ إحدى المراحل المهمة في الهندسة الوراثية.

تعدُّ تقنية زراعة النسج النباتية من أهم الوسائل الحديثة التي تستعمل من أجل إكثار هذه الأصول المهمة بأعداد كبيرة، كما يمكن من خلالها المحافظة على المواصفات المرغوب فيها التي تملكها هذه الأصول ومن ثم تؤمن للمزارعين أصولاً مهمة تمكنهم من تحسين الإنتاج وزيادته.

يعدُّ الأصل GF-677 من أفضل الأصول المستعملة لتطعيم الدراق واللوز ويستعمل في الترب القلوية للتغلب على نسبة الكلس المرتفعة (Hartmann *et al*., 1990)، وهو مقاوم لصدأ الدراق peach rust والتدرن التاجي crown gall وعقد الجذور root knot (Layne, 1987)، وهو مقاوم للسموم النباتية phytotoxins (Minguzzi, 1989) وينتج هذا الأصل الهجين جذوراً قويةً، ويملك مقاومة جيدة للحشرات والأمراض (Rathore *et al*., 1991) كما أنه أصل جيد لأشجار الدراق المزروعة في ترب معتدلة أو قليلة الخصوبة (Carrera *et al*., 1992)، ويعدُّ من الأصول المناسبة للمناطق الجافة (Touqeer *et al*., 2007) ولكن من الصعب إكثاره عن طريق العقل بسبب صعوبة التجذير (Ammer, 1999)؛ لذلك برزت أهمية إكثار هذا الأصل بتقنية زراعة الأنسجة النباتية.

وصف (Kamali *et al*., 2001) طريقة لإكثار الأصل GF-677 بتقنية زراعة النسج حيث استعمل البراعم القمية كأجزاء نباتية من أجل الزراعة، وتبيّن لديه أن أفضل تركيز هرموني للإكثار هو 1ملغ/ل من البنزيل أدنين، وأفضل تركيز هرموني للتجذير هو 0.3 ملغ/ل من NAA و 1.6 ملغ/ل من الثيامين.

أمّا (Ahmad *et al*, 2003) فدرس تأثير منظمات النمو في إكثار الأصل GF 677، وتوصل إلى متوسط عدد نموات 3.75 نمو باستعمال توافقات هرمونية مختلفة من BAP + GA3 + NAA.

ودَرَسَ (Tsipouridis and Thomidis, 2003) طرائق لتحسين زراعة الأصل GF-677 في الزجاج *In vitro* واستنتجوا أن إضافة كمية مضاعفة من Mg + Zn + B إلى الوسط MS(Murashinge and Skoog 1962) يحسّن من النمو ويقلل من ظاهرة التزجج (Vitrification).

وقارن (Touqeer *et al*., 2007) تأثير نوع السكر المستخدم في وسط الإكثار، وتبيّن لديهم أن استعمال السوربيتول بتركيز 30 غ/ل أفضل من السكروز عند التركيز نفسه، إذ أعطى السوربيتول أفضل عدد من النموات المتشكلة وأفضل عدد من الجذور، وكان طول الجذور المتشكلة أكبر من 1.5 سم.

ودَرَسَ (Younas *et al*., 2008) تأثير مصادر مختلفة للكربون في استطالة البراعم وتجذيرها وقد استعمل السكروز والغلوكوز وبتراكيز مختلفة، وتبيّن لهم أن استخدام السكروز والغلوكوز مع بعضهم وبتركيز 15 غ/ل لكل منهم أعطى أفضل نتيجة لنمو واستطالة البراعم، أمّا بالنسبة إلى التجذير فأفضل نتيجة تم الحصول عليها عند استخدام الغلوكوز بتركيز 20 ملغ/ل.

أمّا (Hasan *et al*, 2010) فدَرس العديد من التوافقات الهرمونية وحصل على 4.28 نمواً باستعمال BAP بتركيز 2 ملغ/ لتر وNAA بتركيز 0.75 ملغ/ لتر.

أهمية البحث وأهدافه:

يعدُّ أصل اللوزيات (*Prunus persica*×*Prunus amygdalus*)GF-677 من الأصول المستعملة في التطعيم، وبشكل خاص للدراق واللوز وهناك محاولات ناجحة لاستخدامه كأصل لتطعيم المشمش. وهو يستخدم بشكل واسع في اسبانيا وجنوب أوربة بسبب نشاطه العالي وتوافقه الجيد مع أنواع الدراق وتحمله للظروف المناخية الجافة (Carrera, 1992). ويستخدم بشكل خاص في الترب القلوية وهو مقاوم للكلس (EL Gharbi and Jraidi, 1994).

ولمّا كان هذا الأصل مهماً ومدخلاً إلى القطر وملائماً للبيئة السورية، وصعب الإكثار بالطرائق التقليدية والإكثار الدقيق يعطي كمية كبيرة من البراعم بشكل أسرع بكثير من الإكثار بالطرائق التقليدية (Kyriakidou and pontikis, 1983; Ahmad *et al*., 2003) كان من أهداف البحث ما يأتي:

1- استعمال تقانة زراعة النسج النباتية في الإكثار الخضري الدقيق لأصل اللوزيات GF-677 المدخل إلى سورية بهدف إنتاج أصل مهم لمطاعيم أصناف اللوزيات.

2- دراسة تأثير بعض منظمات النمو النباتية في إكثار أصل اللوزيات GF-677 وتجذيره.

مواد البحث وطرائقه

- مكان تنفيذ البحث: نفذ البحث في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية – قسم التقانات الحيوية ــ وذلك خلال الأعوام 2010 – 2011.

- **المادة النباتية**:

ينتمي أصل اللوزيات (*Prunus persica*×*Prunus amygdalus*) GF-677 إلى الفصيلة الوردية Rosaceae، وهو هجين طبيعي بين اللوز والدراق. يصل ارتفاع شجرة الأصل GF-677 إلى 4.5 متر، الساق اسطوانية الشكل ذات سطح أملس، يتفرع إلى عدة فروع رئيسية تصل بشكل وسطي إلى 3.67 فرعاً، الأوراق متناوبة غير نظامية الترتيب لها شكل متطاول منفرجة النهاية، مساحة الورقة 40–44 سم^2، توجد البراعم بشكل مجموعات ثلاثية، وكل برعم من ثلاثة البراعم هو برعم زهري، تحتوي الزهرة على خمس سبلات وخمس بتلات، (Nevine *et al*., 2011).

استخدمت لهذه التجربة أجزاء نباتية مختلفة أخذت من نبات GF-677 المزروع في محطة جلين التابعة للمركز العربي لدراسة المناطق الجافة والأراضي القاحلة – أكساد - ACSAD وقد جرى استيراد هذا الأصل من فرنسا، وهذه الأجزاء هي:

- البراعم القمية.
- البراعم النباتية الجانبية.

مراحل تنفيذ البحث:

1- تحضير الأجزاء النباتية وتعقيمها:

جمعت الأجزاء النباتية ووضعت في أوعية زجاجية ثم غسلت تحت الماء الجاري مدة ساعة ثم عُقّمت بالمبيد الفطري بيليكوت (يحتوي 40 % من المادة الفعالة Iminoctadine Tris) بتركيز 0.5 % مدة 15 دقيقة، وغسلت بالماء المقطر ثلاث مرات، وذلك قبل إخضاعها للتعقيم السطحي تحت الخيمة العقيمة Laminr Flow Hood حيث عقمت بالكحول 70% مدة دقيقة واحدة، تلا ذلك التعقيم بالمعاملات الآتية:

- الكلوركس التجاري الذي يحوي هيبوكلوريت الصوديوم NaOCl (نسبة المادة الفعالة فيه 5.25 %)؛ وذلك بتركيز 10 و20 % مدة 10 ,15 ,20 دقيقة.
- كلوريد الزئبق 0.1 % مدة 1 و2 دقيقة.

وأضيف محلول Tween 20 وبمعدل قطرة واحدة إلى كل 100 مل من محلول التعقيم من أجل خفض التوتر السطحي وزيادة تماس الأجزاء النباتية مع مادة التعقيم، وجرت عمليات التعقيم ضمن جهاز العزل، وبعد التعقيم غسلت ثلاث مرات بالماء المقطر المعقم.

زرعت الأجزاء النباتية المعقمة بطول 0.5 - 1 سم في أنابيب اختبار تحوي 10 مل من وسط الزراعة التأسيسية WPM والخالي من منظمات النمو، وذلك مدة أربعة أسابيع حيث استبعدت خلالهما الأنابيب الملوثة، وعُدَّت الأجزاء النباتية الحية والسليمة الأساس للتجارب اللاحقة.

2- إكثار الأجزاء النباتية:

بعد 4 أسابيع من الزراعة الأولية زرعت النموات الخضرية الخالية من الملوثات على عدة معاملات (أوساط غذائية) موضحة بالجدول (1). جرت الزراعة بأوعية زجاجية (11.5× 4.5) سم وبمعدل 40 عينة/معاملة حيث أضيف إلى الوعاء 30 مل من الوسط المغذي. حضنت الزراعات في غرفة نمو growth room بدرجة حرارة 23 ± 1 مْ ومدة إضاءة 16 ساعة و8 ساعات ظلام في أثناء النمو، وكانت شدة إضاءة قرابة 2000- 3000 لوكس.

الجدول (1) التوافقات الهرمونية المستعملة في إكثار نبات GF-677 مخبرياً *in vitro*

الهرمون / رمز المعاملة	بنزيل أدينين BA (mM)	حمض إندول بيوتريك IBA(mM)
WPM1	2.2	1
WPM2	4.4	1
WPM3	6.6	1
WPM4	8.8	1
WPM5	0.0	0.0

3- تجذير النموات الخضرية:

زرعت النموات الخضرية المتشكلة في مرحلة الإكثار السابقة وبطول 1-2 سم على عدة معاملات (أوساط غذائية) موضحة بالجدول (2). جرت عملية الزراعة بأوعية زجاجية (11.5× 4.5) سم وبمعدل 20 عينة/معاملة حيث أضيف إلى الوعاء 30 مل من الوسط المغذي. حضنت الزراعات في غرف النمو في الظلام مدة سبعة أيام، وبعد انقضاء هذه المدة الزمنية نقلت إلى وسط WPM خال من الهرمونات وحضنت الزراعات مع وجود الإضاءة بمعدل 16 ساعة والظلام 8 ساعات. أخذت النتائج بعد أربعة أسابيع من الزراعة بالنسبة إلى عدد الجذور وطولها.

الجدول (2) تركيز IBA المستعمل في تجذير نبات GF-677 مخبرياً *in vitro*

الهرمون / رمز المعاملة	حمض إندول بيوتريك IBA (mM)
R1	2.46
R2	4.92
R3	9.84
R4	14.76
R5	0.0

4- أقلمة النباتات

نقلت النباتات التي اجتازت مرحلة التجذير بنجاح إلى أوعية تحتوي خليطاً مؤلفاً من 1/2 حجم/حجم من تورب/ برليت من أجل عملية الأقلمة حيث حضنت في ظروف غرف النمو، وذلك مدة أربعة أسابيع مع فتح تدريجي للأكياس حتى إزالتها تماماً. حسبت في نهاية عملية الأقلمة نسبة النباتات المتبقية بحالة جيدة، ثم نقلت هذه النباتات لمتابعة النمو في ظروف البيت الزجاجي.

شروط الزراعة:

حضنت الزراعات في غرفة النمو Growth Room في الشروط الآتية:

- درجة الحرارة 23 ± 1 ْم نهاراً و 16 ± 1 ْم ليلاً.

- مدة الإضاءة: 16 ساعة إضاءة و8 ساعات ظلام في أثناء النمو.
- شدة الإضاءة: 2000 – 3000 لوكس عند مستوى الزراعات.
- الرطوبة النسبية 70 %.

التحليل الإحصائي:

حُلّلت النتائج باستخدام البرنامج الإحصائي SPSS . حيث قورنت متوسطات 40 عينة نباتية لكل معاملة إكثار وبثلاثة مكررات و20 عينة نباتية لكل معاملة تجذير. عند مستوى المعنوية 0.05.

القراءات التي أُخذت خلال الدراسة هي:

1- عدد النموات المتشكلة وطولها بعد 4 أسابيع من الدراسة.

2- عدد الجذور المتشكلة وطولها بعد 4 أسابيع من الدراسة.

النتـــائـــج

التطهير السطحي للأجزاء النباتية:

بمقارنة النتائج تبين أن أفضل نتيجة تم الحصول عليها عند استخدام كلوريـــد الزئبـــق 0.1 % مدة دقيقة إذ وصلت النسبة المئوية للبراعم الحية 82.66 % جدول (3)، وتظهـــر النتائج أن كلوريد الزئبق أظهر كفاءة تعقيم أفضل من الكلوركس بفروق معنوية واضحة، إذ كانت أفضل معاملة تعقيم باستعمال الكلوركس هي كلوركس 20 % مدة 15 دقيقة، وقد وصلت نسبة البراعم الحية وغير الملوثة إلى 50.66 %. أمّـــا أفـــضل معاملـــة تعقـــيم باستعمال كلوريد الزئبق فكانت 0.1 % مدة دقيقة واحدة وقد وصـــلت إلـــى 82.66 %، وانخفضت هذه النسبة إلى 57.33 % عند زيادة الزمن إلى 2 دقيقة، بسبب ازديـــاد عـــدد البراعم الميتة، أمّا البراعم الحية وغير الملوثة فبدأت بالنمو بعد 10 أيام مـــن زراعتهـــا. (صورة 1).

الجدول (3) كفاءة معاملات التعقيم المستخدمة في مرحلة الزراعات الأولية

رقم المعاملة	معاملات التعقيم	عدد البراعم المزروعة	عدد البراعم الملوثة	عدد البراعم الميتة	عدد البراعم الحية	النسبة المئوية للبراعم الحية%
1	كلوركس 10% مدة 10دقائق	75	50	6	19	25.33
2	كلوركس 10% مدة 15 دقيقة	75	33	11	31	41.33
3	كلوركس 10% مدة 20 دقائق	75	27	17	31	41.33
4	كلوركس 20% مدة 10 دقائق	75	25	18	32	42.66
5	كلوركس 20% مدة 15 دقيقة	75	17	20	38	50.66
6	كلوركس 20% مدة 20 دقيقة	75	15	29	31	41.33
7	كلوريد الزئبق 0.1% مدة 1 دقيقة	75	11	2	62	**82.66**
8	كلوريد الزئبق 0.1% مدة 2 دقيقة	75	2	30	43	57.33

تكاثر النموات الخضرية مخبرياً:

يوضح الجدول (4) النتائج التي حصلنا عليها من خلال استخدام تراكيز متفاوتة من منظمات النمو على العينات المزروعة.

الجدول (4) تأثير التوافقات الهرمونية المختلفة في متوسط عدد النموات الجديدة وطولها لنبات GF-677 بعد 4 أسابيع من الزراعة (متوسط 40 جزءاً نباتياً ± الخطأ المعياري SE)

رمز الوسط	تركيب الوسط	متوسط طول النموات (سم)	متوسط عدد النموات/خزعة
WPM1	WPM + 2.2 BA + 1 IBA	**1.5917 a± 0.04529**	1.81 c± 0.086
WPM2	WPM + 4.4 BA + 1 IBA	1.0950 b ± 0.04265	3.72 b ± 0.170
WPM3	WPM + 6.6 BA + 1 IBA	0.9583 c ± 0.02871	4.28 a ± 0.179
WPM4	WPM + 8.8 BA + 1 IBA	0.8400 c ± 0.02945	**4.52 a ± 0.181**
WPM5	WPM0	0.6983 d ± 0.00748	1.02 d ± 0.012

- تشير الأحرف المختلفة التي تلي المتوسطات إلى وجود فروق معنوية عند مستوى المعنوية 0.05.
- الخزعة هي الجزء النباتي المزروع explant.

يتبيّن من خلال النتائج المتحصل عليها أن المعاملة WPM4 (8.8 µM BA +1 µM IBA) أعطت أفضل النتائج من حيث تأثيرها في متوسط عدد النموات الجديدة المتشكلة /خزعة، وقد بلغ متوسط عدد النموات 4.524 كل أربعة أسابيع بدءاً من برعم واحد. وكانت الفروق معنوية مع المعاملات WPM1 وWPM2، ولم تكن الفروق معنوية مع المعاملة WPM3.

كانت المعاملة WPM1 (2.2 µM BA + 1 µM IBA) الأفضل من حيث تأثيرها في متوسط طول النموات المتشكلة إذ بلغ متوسط طول النموات على هذا الوسط 1.5917 سم لكل نمو بعد أربعة أسابيع بدءاً من نمو واحد، وكانت الفروق معنوية مع باقي المعاملات، وأظهرت النتائج تفوق جميع المعاملات المضاف إليها هرمونات وبفروق معنوية واضحة على معاملة الشاهد WPM5 الخالي من الهرمونات. (الصور2، 3، 4، 5، 6).

تجذير النموات المكاثرة مخبرياً:

توضح النتائج التي حصلنا عليها في الجدول (5) تأثير منظمات النمو في عملية تجذير النموات الخضرية المزروعة في أوساط مغذية.

الجدول(5) تأثير أوساط الزراعة المختلفة في متوسط عدد الجذور وطولها لنبات GF-677 بعد 4 أسابيع من الزراعة (متوسط 20 جذراً نباتياً ± الخطأ المعياري SE)

رمز الوسط	تركيب الوسط	النسبة المئوية للتجذير	متوسط طول الجذور(سم)	متوسط عدد الجذور
R1	WPM + 2.46 IBA	%70	3.4857 b ± 0.23059	1.64 d± 0.133
R2	WPM + 4.92 IBA	%85	**4.5765 a ± 0.18992**	2.65 c ± 0.119
R3	WPM + 9.84 IBA	%**90**	3.0722 b ± 0.09421	**3.94 a ± 0.171**
R4	WPM + 14.76 IBA	%75	2.3600 c ± 0.10726	3.27 b ± 0.118
R5	WPM0	%0	0.0	0.0

- تشير الأحرف المختلفة التي تلي المتوسطات إلى وجود فروق معنوية عند مستوى المعنوية 0.05.

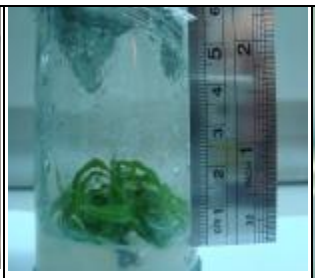
يتبيّن من خلال النتائج المتحصل عليها أن نسبة التجذير 90% قد تم الحصول عليها على وسط يحوي IBA بينما كانت نسبة التجذير 0 % في الوسط الشاهد الخالي من IBA، حيث كان لإضافة IBA بتركيز 9.84 µM دور في زيادة نسبة التجذير من جهة وعدد الجذور من جهة أخرى، وقد بلغت نسبة التجذير 90 % وبلغ متوسط عدد الجذور 3.94 إذ أظهرت المعاملة R3 فروقاً معنويةً مقارنة بباقي المعاملات.

أمّا بالنسبة إلى متوسط طول الجذر الرئيسي فقد أعطت المعاملة R2 أفضل النتائج (4.75 سم) وبفروق معنوية مقارنة بباقي المعاملات. وإن عدم إضافة هرمون IBA إلى وسط الزراعة أدى إلى عدم حدوث تجذير في النموات المزروعة نهائياً؛ وهذا يعني ضرورة إضافة هرمون IBA إلى وسط التجذير. فضلاً عن ذلك كانت عملية تحضين الزراعات في الظلام خطوةً مهمة ولابدَّ منها لنجاح عملية التجذير. وأدت زيادة تركيز IBA عن 9.84 ميكرومولاً إلى تشكيل الكالوس. (الصور7، 8، 9).

أقلمة النباتات الناتجة عن عملية التجذير:

بعد التخلص من الآغار لتجنب نمو الفطريات والبكتريا التي تؤثر في نمو الجذور، ومن ثم في نمو النبات، زُرعت العينات في أصص بلاستيكية نظيفة تحوي خليطاً معقماً من التورب والبرليت بنسبة 1/2 (حجم/حجم) وحضنت بغرف النمو وغطيت بأكياس بلاستيكية شفافة للمحافظة على الرطوبة العالية، وأجريت عملية الأقلمة بالفتح التدريجي للأكياس حتى إزالتها تماماً خلال 4 أسابيع. نقلت بعدها النباتات إلى البيت الزجاجي حيث أمضت قرابة 1 شهر قبل نقلها إلى الأرض بشكل دائم وسمدت أسبوعياً بمحلول $MS^{1/10}$. وكانت نسبة نجاح الأقلمة مرتفعة وصلت إلى 95 %. (الصور 10، 11، 12).

صورة (1) مرحلة الزراعات الأولية	صورة (2) تأثير منظمات النمو وسط WPM2	صورة (3) تأثير منظمات النمو وسط WPM3

		
صورة (6) تأثير منظمات النمو وسط WPM1	صورة (5) تأثير منظمات النمو وسط WPM1	صورة (4) تأثير منظمات النمو وسطWPM4
صورة (9) طول الجذور على الوسط R2	صورة (8) تشكل الكالوس على الوسط R4	صورة (7) التجذير على وسط R3
صورة (12) نمو النبات في الحقل	صورة (11) نمو النبات في البيت الزجاجي	صورة (10) أقلمة النبات في غرفة النمو

المناقشة

التطهير السطحي للعينات النباتية:

إن الحصول على زراعات معقمة من أهم مراحل الإكثار بالنسج وأكثرها صعوبة؛ وذلك بسبب مشكلتي التلوث وتماوت البراعم. ولذلك كان من الضروري البحث لإيجاد أفضل وسيلة تعقيم آمنة نستطيع من خلالها التخلص من الجراثيم والفطريات من النسيج النباتي (Fiorino and Loreti, 1987). هناك العديد من المواد التي تستعمل في عملية التعقيم ولعل أكثرها استعمالاً هيبوكلوريت الصوديوم NaOCl وكلوريد الزئبق HgCl2، تشير العديد من البحوث إلى أهمية استعمال هيبو كلوريت الصوديوم في تعقيم العينات النباتية (Jones and Hoopgood, 1979)، في حين ينصح بعضهم بعدم استعمال كلوريد الزئبق بسبب سميته للنبات (Lizarraga *et al*., 1991)، تميّز هيبوكلوريت الصوديوم بفعالية جيدة إذ وصلت نسبة البراعم الحية حتى 50.66 % عند استعماله بتركيز 20% مدة 15 دقيقة، وهذا يتوافق تقريباً مع نتيجة (Ahmad *et al*, 2003) عندما استعمل هيبوكلوريت الصوديوم في عملية التعقيم، وكانت أفضل نسبة لديه للبراعم الحية وغير الملوثة 55 % وذلك باستعمال هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز 25% مدة 10 دقائق. ولكن استعمال كلوريد الزئبق 0.1% مدة دقيقة واحدة في تجاربنا أثبت فعالية أكبر من هيبوكلوريت الصوديوم بالحصول على نباتات حية وخالية من الملوثات، وبدأت بالنمو بعد 10 أيام من زراعتها، مع أن (Kamali *et al*,. 2001) استعمل كلوريد الزئبق 0.1 % مدة 6 دقائق، ويعود هذا الاختلاف بزمن معاملة التعقيم إلى كمية الملوثات الموجودة في العينة النباتية التي جُمعت من الأشجار في الحقل ضمن الشروط الطبيعية، مع العلم أنه في تجاربنا عند استعمال كلوريد الزئبق 0.1 % مدة دقيقتين قلل من التلوث ولكن زاد من نسبة تماوت البراعم، ويعود السبب في ذلك إلى أن البراعم النباتية التي استعملت في الزراعات الأولية كانت متفتحة قبل التعقيم والزراعة لذلك تأثرت البراعم بزمن معاملة التعقيم حيث ازدادت نسبة التماوت بزيادة زمن التعقيم عند استعمال كلوريد الزئبق وهيبوكلوريت الصوديوم. أمّا (Hosseini *et al*., 2011) فبيّن أن أفضل معاملة تعقيم لبراعم نبات المحلب هي كلوريد الزئبق بتركيز 0.1 % مدة دقيقتين إذ أعطت نسبة 68% من البراعم الحية وغير الملوثة، وإن زيادة تركيز كلوريد الزئبق وزمن التعقيم أدى إلى زيادة عدد البراعم الميتة.

تكاثر النموات الخضرية وتأثير التوافقات الهرمونية بين BA و IBA:

يعتمد تشكل النموات الخضرية الجديدة اعتماداً كبيراً على وجود السيتوكينينات في الوسط الغذائي (Nordstorm and Eliasson, 1986)، إذ تؤدي الستوكينينات دوراً مهماً

ورئيسياً في زيادة تشكل النموات الخضرية الجديدة كما تؤدي دوراً في التثبيط الكلي أو الجزئي لتشكل الجذور.

استُعمل البنزيل أدنين في أوساط الإكثار، إذ يعدُّ من أكثر السيتوكينينات المستعملة وأكثرها فعالية، وهذا ما أكده (Nordstorm and Eliasson, 1986)، كما أن وجود هذا الهرمون بتراكيز محددة في أوساط الإكثار يحرض على تشكيل عدد أكبر من النموات الخضرية بالمقارنة مع Kinithin (Hutchinson, 1984).

وقد بيّنت تجاربنا أن التركيز المنخفض من البنزيل أدنين يحرض على تشكل عدد قليل من النموات الخضرية ذات طول واضح ومساحة ورقية كبيرة مقارنة بالتراكيز المرتفعة التي تعطي عدداً أكبر من النموات الخضرية وبطول أقصر ومساحة ورقية أقل؛ وهذا ما أوضحه (Dunstan *et al*, 1985) عند إكثار أصل التفاح M4.

إن وجود الأوكسينات في أوساط الإكثار ضروري لتعزيز دور السيتوكينينات في زيادة عدد النموات الخضرية الجديدة، لأن وجود الأوكسينات والسيتوكينينات مع بعضهم يعدُّ مهماً جداً من أجل تنظيم النمو والتشكل المورفولوجي في زراعة الأنسجة النباتية. وقد بيّنت تجاربنا أن التشكل المثالي يتم بتراكيز محددة من الأوكسين والسيتوكينين، وقد أوضح (Christison and Warnick, 1988) أن التشكل يتم تحت سيطرة العلاقة بين الأوكسين والسيوكينين.

أدى استعمال البنزيل أدنين (BA) بتركيز 8.8 ميكرومولاً مع حمض الإندول بيوترك (IBA) بتركيز1 ميكرومول إلى الحصول على أفضل معدل نمو، وقد وصل متوسط عدد النموات الجديدة المتشكلة بدءاً من برعم واحد إلى 4.52 نمواً خلال 4 أسابيع، ولكن لم تكن هناك فروق معنوية بالنسبة إلى عدد النموات عند استعمال (BA) بتركيز 6.6 ميكرومولاً مع (IBA) بتركيز 1 ميكرومول، وقد وصل متوسط عدد النموات إلى 4.28 نمو، وهذا يعني أنه يمكن استعمال (BA) بتركيز 6.6 ميكرومولاً وذلك بهدف خفض التكلفة من الناحية الاقتصادية ولا جدوى من زيادة التركيز أكثر من ذلك بعملية الإكثار. وقد توصل (Kamali *et al*, 2001) إلى 4.7 نمواً عند استعمال BA بتركيز 4.4 ميكرومولاً، وNAA بتركيز 1.61 ميكرومولاً. أمّا (Hasan *et al*, 2010) فحصل على 4.28 نمواً باستعمال BAP بتركيز 2 ملغ/ لتر و NAA بتركيز 0.75 ملغ/ لتر.

تأثير تركيز IBA في تجذير النباتات في الزجاج.

يتبيّن من خلال النتائج أن وجود الإندول بيوترك أسيد ضروري لتشكل الجذور وأن التجذير لم يحدث بغياب IBA. فالأوكسينات أدّت الدور الأساسي في التحكم بتشكيل الجذور (Hu and Wang, 1983). وقد تبيّن في تجاربنا أن استعمال IBA بتركيز 9.84 ميكرومولاً أعطى أفضل نسبة تجذير وصلت حتى 90 %، أمّا (Ahmad *et al*, 2003)

فحصل على أفضل نسبة تجذير 73.33 % عند استعماله IBA بتركيز 14.76 ميكرومولاً، وتعود زيادة نسبة التجذير في تجاربنا إلى الاختلاف في نوع الوسط المستعمل، حيث استعمل (Ahmad *et al*, 2003) الوسط MS أمّا في تجاربنا فاستُعمل الوسط WPM. أمّا (Kamali *et al*, 2001) فحصل على نسبة تجذير 80% عند استعماله NAA بتركيز 1.61 ميكرومولاً. وإن زيادة تركيز IBA عن 9.84 ميكرومولاً أدى إلى تشكيل الكالوس وهذا يتوافق مع (Ahmad *et al*, 2003).

الأقلمة:

تأثرت تقسية النباتات تأثراً كبيراً بعدد الجذور، فكان واضحاً سرعة نمو النباتات ذات عدد الجذور الأكبر، في حين لم تتأثر عملية التقسية بطول الجذور. ويعدُّ النمو القوي للنباتات في الأصص مؤشراً جيداً على إمكانية تأقلمها مع شروط البيت الزجاجي. وقد كان متوسط طول النباتات 14 سم داخل غرف النمو أمّا في البيت الزجاجي فازداد نمو النباتات ليصل متوسط الطول إلى 27 سم قبل زراعتها في الحقل، وكانت نسبة الأقلمة مرتفعة وصلت حتى 95%؛ وهذا يشير إلى إمكانية وضع بروتوكول إكثار متكامل للأصل GF-677 باستعمال طرائق زراعة الأنسجة النباتية، يبدأ من الزراعة التأسيسية وحتى الأقلمة والزراعة بالحقل.

الاستنتاجات

جرى الإكثار الخضري الدقيق لنبات GF-677 بطرائق زراعة النسج النباتية *in vitro* بهدف الحصول على أعداد كبيرة من هذا النبات ذات مواصفات جيدة وخالية من الأمراض وفي وقت قصير. ولهذا يمكن تحديد التوصيات الآتية:

1- اعتماد طريقة الإكثار بواسطة زراعة الأنسجة النباتية *in vitro* كتقنية أساسية في إكثار GF-677.

2- إنشاء حقول أمهات كمصدر موثوق به للأصل.

3- نشر هذا الأصل في سورية لأنه من الأصول الملائمة لنباتات الدراق واللوز فضلاً عن أنه أصل مقاوم للجفاف والأمراض الفطرية.

REFERENCES المراجع

المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية لعام 2008. مديرية الإحصاء والتخطيط، قسم الإحـــصاء، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، دمشق، سورية.

Ahmad, T., Rahman, U. H., Ahmad, S. M. CH. and M. H. Laghari. (2003). Effect of culture media and growth regulators on micropropagation of peach rootstock GF 677. Pak. J. Bot., 35(3): 331-338.

Ammer, M. (1999). Performance of Hansen, GF 655 and GF 677 peach rootstocks for rooting with the use of IBA under greenhouse conditions. M. Sc. Thesis, Univ. Arid Agri. Rawalpindi, Pakistan. 65 pp.

Carreras, M. (1992). Patrones para el melocotonero. Fruticultura Profesional 46:6-11.

Christison, M. L. and Warnick, D. A. (1988). Organogenesis in vitro as a developmental process Hort. Science vol 23 (3): 115-119.

Dorion, N., Regnard, L. J., Serpette, I. and Bigot. C. (1994). Effects of temperature and hypoxic atmosphere on preservation and further development of *in vitro* shoots of peach (ʾArmkingʿ) and peach × almond hyprid (ʾGF 677ʿ). Scientia horticulturae 57 (1994) 201-213.

Dunstan, D., Turner, I. and Lazaroff, W. (1985). Propagation *in vitro* of apple rootstock M4: Effect of phytohormones on shoot quality. Plant cell, Tissue and organ culture 4: 55-60.

El Gharbi, A. and Jraidi, B. (1994). Performance of rootstocks of almond, peach and peach × almond hybrid with regard to iron chlorosis. Acta Horticulturae, 373:91-97.

Fiorino, P. and Loreti, F. (1987). Propagation of fruit tree by tissue culture in Italy. HortScience, 22:353-358.

Hartmann, H. T., Kester, D. E. and Davies, F. T. (1990). Plant propagation. Principles and practices. Prentice-Hall International, Inc., Ennglewood Cliffs, (NJ).

Hasan, U. S., Ahmad, T., Hafiz, A.I., Hussain, A. (2010). Direct plant regeneration from leaves of prunus rootstock GF-677 (*Prunus amygdalus* × *p.persica*). Pak. J. Bot., 42(6): 3817-3830.

Hosseini, D. R. A., Moghadam, G. E., Khorasani, K. S. and Bihamta, R. M. (2011). Effect of Growth Regulators on Micro Propagation of some Mahaleb Dwarf Genotypes (*prunus Mahaleb L.*). Arch. Appl. Sci. Res., 3 (1): 118-125.

Hu, Y. C. and Wang, J. P. (1983). Meristem, shoot tip and bud cultures. In: Hand book of plant cell culture, (Eds): D. A. Evans, W.R.Sharp, P.V. Ammirato and Y. Yamado, vol. I.Macmillan Publishing company, NY.PP.177-227.

Hutchinson, J. F. (1984). Factors affecting shoot in organ culture of the apple northen spy. Sci. hort. 22:347-358.

Jones, O. P. and Hoopgood, M. E. (1979). The successful propagation *in vitro* of two rootstocks of prunus. J. Hort Sci. 54(1) : 63-66.

Kamali, K.; Majidi, E. and Zarghami, R. (2001). Miropropagation of GF677 rootstocks (*Prunus amygdalus* X *P.persica*). Options Mediteerraneennes, 56: 175-177. List 35. Hort . Science. 26 ; 951-986.

Kyriakidou, R. and C. A. Pontikis. (1983). Propagation of peach almond hyprid GF 677 *in vitro*. Plant propagation, 29(4): 13-14.

Layne, R. E. C. (1987). Peach rootstock. In: rootstock for fruit crops. (Eds): R.C Rom and R.F. Carlson John Willey and Sons NY.p. 185-216.

Lizarraga, R., Pant, X. A., Jyasinghe, U., and Dodds, J. H. (1991). Tissue culture for elimination of pathogens. International Potato Center (CIP). Research Guide 3:21p

Minguzzi, A. (1989). Rootstock effects on peach replanting; A ten years trial. Acta Horiculturae, 254: 357-361.

Nevine, M. Taha, Azza, and Mohamed, I. (2011). Morphological and Anatomical Evaluation of a new Five Stone Fruit Rootstocks. Journal of American Science, 2011;7(3).

Nordstrom, A. C. and Eliasson, L. (1986). Uptake and translocation of C14-labeled benzylaminopurine in apple shoots grown *in vitro* in realation to shoot development. Physiolplantarium 68(3) : 431-435.

Rathore, D. S. *et al*. (1991). Temperate Fruits. Allied publishers, India.

Touqeer, A., Nadeem, A. A., Ishfaq, A. H. and Ansar, A. (2007). Comparison of sucrose and sorbitol as main carbon energy sources in micropropagation of peach rootstock GF-677. *Pak. J. Bot*., 39(4): 1269-1275.

Tsipouridis, C. and Thomidis, T. (2003). Methods to improve the *In Vitro* culture of GF677 (*peach × almond*) peach rootstock. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 2003, Vol. 31: 361-364.

Younas, M., Rahman, U. H., Siddiqui, U. S, and Chaudhary, F.M. (2008). Effect of different carbon sources on *In Vitro* shoot proliferation and rooting of peach rootstock GF 677. *Pak. J. Bot*., 40(3): 1129-1134.