مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية ـ (2011) ـ المجلد (27) ـ العدد 1 ـ الصفحات: 129-142

تأثير بعض هرمونات النمو في إكثار نبات الغارديניا *(Gardenia jasminoides)* صنف *ellis* وتجذيره في المخبر الزجاجي (*In vitro*)

علي جرار[1] و رولا بايرلي[2]

الملخص

أجري هذا البحث على نبات الغارديניا (*Gardenia jasminoides* L.) صنف *ellis* الذي تـم إكثـاره مخبرياً في الزجاج (*in vitro*) بهدف دراسة تأثير بعض منظمات النمو في مرحلة الإكثار والتجـذير بغيـة تطوير تقنية كاملة للإكثار الخضري الدقيق للصنف المدروس. أوضحت النتائج أن أفضل وسط زرع للإكثـار المخبري الدقيق للصنف المدروس هو وسـط MS والمحتـوي علـى:1 mg/L BA + 0.1 mg/L IBA وبمعدل اكثار بلغ 5.33 نمواً خضرياً جديداً، مع متوسط طول بلغ 4.73 سم، وعـدد أوراق بلـغ 4.36. نقلت بعدها هذه النموات إلى أوساط التجذير المحتوية على نصف تركيز العناصر الكبـرى مـن الوسـط الأساس المستخدم للإكثار مع الأكسين NAA بتركيز 1mg/L حيث تم الحصول على أعلى معدل تجـذير بفعالية بلغت 97%، مع أكبر عدد للجذور بلغ 9.67، ومتوسط طول جذري بلغ 5.35 سم، ومتوسط طول ساق بلغ 6.80 سم، ومتوسط عدد أوراق بلغ 5.07. وأدت زيادة تركيز الأوكسين في أوساط التجذير إلى 1.5 mg/L إلى ازدياد متوسط طول الجذور إلى 6.28 سم وبفرق معنوي مقارنة بالمعاملة السابقة. تـم تقسية النموات المجذرة تدريجياً في شروط غرفة النمو لشروط الوسط الخارجي وبنـسبة نجـاح بلغـت 85%.

الكلمات المفتاحية: الغارديניا، زراعة أنسجة، إكثار، تجذير، أكسين، سيتوكينين.

[1] الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دمشق، سورية.

[2] قسم علوم البستنة، كلية الزراعة، جامعة دمشق، ص. ب 9123، سورية.

Effect of Some Growth Hormones on Multiplication and Rooting *in vitro* Micro-Propagated of Gardenia Plant (G*ardenia jasminoides*.L.) cv. *ellis.*

A. Jarrar[(1)] and R. Bayerly[(2)]

ABSTRACT

This current study was conducted on gardenia plant (G*ardenia jasminoides*.L.) cv. *ellis.* which was micropropagated *in vitro* to study the effect of some plant growth regulators on multiplication and rooting, for the aim of developing a complete *in vitro* microprrpagation system of the studied cv. Results demonstrated that, the best medium for *in vitro* micropropagation of the studied cv. was MS medium supplemented with 1 mg/L BA + 0.1 mg/L IBA with a multiplication rate of 5.33 new shoots, with average shoot height of 4.73 cm, and average leaf number of 4.36. These shoots were then transferred to a rooting media containing a half-strength of the multiplication basal media with NAA at a concentration of 1mg/L which resulted in highest rooting efficiency of 97% with average root number of 9.67, and average root length of 5.35 cm, and average stem length of 9.80 cm, and average leaf number of 5.07. Increasing NAA concentration in rooting media to 1.5 mg/L resulted in increasing root length average to 6.28 cm with significant difference in comparison to the previous treatment. Rooted Plantlets were acclimatized gradually in a growth room conditions to *ex vitro* conditions with 85 % efficiency.

Key words: Gardenia, Tissue culture, Multiplication, Rooting, Auxin, Cytokinin.

[(1)] General Commission of Agricultural Scientific Researches, Damascus, Syria.
[(2)] Associate Prof. Department of Horticulture Science, Faculty of agriculture, University of Damascus, P.O.Box 9123, Syria.

المقدمة

يعد نبات الغاردينيا من أهم نباتات الزينة المنتشرة بوفرة في العالم (Rauch, 1996) وذلك لجمال أزهاره التي تعد من أهم أزهار القطف في أمريكا والعديد من الدول الأوروبية (Wilkins, 1986).

تتبع الغاردينيا الفصيلة Rubiaceae والجنس Gardenia الذي يضم أكثر من 200 نوع، ويعد أهمها وأوسعها انتشاراً النوع G.jasminoides (Dirr,1990) الذي تنتشر زراعته في المناطق المدارية وتحت المدارية (البطل، 2003).

الغاردينيا شجيرة دائمة الخضرة متفرعة وتعد من أهم النباتات المستخدمة في تنسيق الحدائق، إذ تتميز بأوراق خضراء داكنة لماعة بارزة العروق وأزهار بيضاء تشكل مصدراً مهماً للرائحة العطرية (Edward, 1990)، ويستخدم نبات سياج أو نبات شرفة أو غطاء أرضياً أو نبات تنسيق داخلي أو خارجي;Kidder *et al*., 1991) (Gowdy, 2002 and Bradshow, 2003 ينمو تحت أشعة الشمس المباشرة التي تعد ضرورية لتحقيق أفضل إنتاج زهري (Kent and Andrew, 2006)، ويتم إكثار الغاردينيا بالطرائق التقليدية (بالبذور والعقل الغضة) ولا ينصح بإكثار الغاردينيا بذرياً كونها متخالفة اللواقح (Heterozygous)، ويعطي إكثارها بوساطة البذور تبايناً وراثياً ومظهرياً بين أفراد النسل الناتج، وهذا غير مرغوب فيه من النواحي الزراعية، ويعد الهدف الأساسي للإكثار البذري هو إنتاج أصناف جديدة نتيجة التهجين أو إنتاج أصول يتم التطعيم عليها، ولا تستخدم الطريقة للأغراض الإنتاجية (الحسيني، 1993)، كما يؤدي إكثار الغاردينيا بالطرائق التقليدية إلى معدل إكثار منخفض، في حين يؤدي الإكثار باستخدام تقانة زراعة الأنسجة النباتية إلى معدل إكثار مرتفع عن طريق تشكل الأعضاء Organogenesis بدءاً من كل خزعة نباتية حين الزراعة على بيئة MS وإضافة أكسين NAA بتركيز 0.6–0.8% والذي حقق أعلى معدل تجذير 75% مخبرياً في الصنف ellis (Economou and Spanoudaki, 1985).

تمت زراعة الأوراق الفتية والبتلات والقمم النامية لنبات الغاردينيا على بيئة MS مضافاً إليها تراكيز مختلفة من الأكسين والسيتوكينين، ولوحظ أن أفضل نمو خضري للكالس الناتج كان حين استخدام تراكيز مرتفعة من سيتوكينين BA (0.8 – 1.6 – 3.2 ميكرومول)، في حين لوحظ أفضل تشكل للجذور حين انخفاض تركيز BA في وسط الزراعة إلى 0.4 ميكرومول (Michailidis,1995) حيث تم الحصول على نباتات ذات نوعية جيدة وغير مصابة بالشفافية، وذات قدرة على مواجهة ظروف الأقلمة؛ وذلك حين الزراعة في أنابيب غير محكمة الإغلاق واستخدام التركيز المناسب من السكروز 3% والتحضين في مدة ضوئية وشدة ضوئية مناسبتين (George and Ravishankar,1996 and Serret *et al*., 1996-1997).

تم إكثار عـدة أصـناف مـن نبـات الغارديني هـي أصـناف *'Jasminoides'* و*'Kimberl'* و*'Augusta'* بزراعة القمة النامية بطول 1-2 مم على بيئة MS مضافاً إليها 3% سكروز، وقد لوحظ أفضل معدل إكثار وتجذير حين الزراعة على البيئة ذاتهـا مضافاً إليها 4.5 مغ/ل سيتوكينين BAP + 0.009 مغ/ل أكسين IBA، وذلك بتحـضين النبات في الظلام في درجة حرارة 21 ± 2°م مدة أسبوعين ثم نقلها إلى ظروف الإضاءة (16 ساعة إضاءة 2000 لوكس شدة ضوئية) في درجة الحرارة نفسها وذلـك حـسب Minas, 1996.

درس تأثير هرمونات السيتوكينين في النمو الخضري وتشكل النموات العرضية بـدءاً من الكالس المتكون من زراعة الخزعات الورقية مخبرياً، ولوحظ أعلـى معـدل إكثـار (19.2 نمواً خضرياً جديداً) حين إضافة سيتوكينين الزياتين ثم TDZ (15.2ميكرومول) ثم BA (12.3 ميكرومول)، أما أعلى معدل لاستطالة النموات الخضرية مخبرياً (3.8 – 4.3 سم) فقد لوحظ حين إضافة 2.5 ميكرومول من سيتوكينين BA و2IP على التوالي، في حين لوحظ أقل معدل استطالة (1.8 – 2.0 – 2.5 سم) حين إضافة 2.5 ميكرومـول من سيتوكينينات الكينيتين والزياتين وTDZ على التوالي. من جهة أخرى لـوحظ أكبـر عدد للجذور وأعلى طول للجذور المتكونة وأكبر معدل تجذير حين اسـتخدام التراكيـز المرتفعة من أكسين IAA (5.10 مايكرومول) مقارنة بالتراكيز المنخفـضة (0–0.1–1 ميكرومول) وذلك حسب Aljuboory *et al*, 1998.

درس تأثير عدة تراكيـز مـن سـيتوكينين BA (0، 2.5، 5.0، 7.5، 10 مـغ/ل) و2IP (0، 2.5، 5.0، 7.5، 10 مغ/ل) في زيادة معدل إكثار نبات الغارديني انطلاقاً من القمم النامية، ولوحظ أعلى معدل إكثار عند استخدام 10 مغ/ل من BA أو 7.5 مغ/ل من 2IP مقارنة بالشاهد، ومن جهة أخرى أدى استخدام 2IP إلـى زيـادة معـدل ظهـور التغيرات الجسمية المظهرية وتشكل نباتات Somaclones غير مطابقة للنبات الأم مـع معدل خزعات حية بلغ 70% حسب Chuenboongarma *et al*., 2001. فضلاً عـن ذلك أدى استخدام 0.5 – 2 مغ/ل من سيتوكينين الزياتين إلى أعلى معدل إكثار وتكـشف للكالس المستحدث من زراعة العقل الساقية لنبات الغارديني المزروعـة فـي المخبـر الزجاجي على بيئة MS.

تم إكثار نبات الغارديني صنف 'Veitchii' وذلك بزراعة العقل الساقية على بيئة MS مدعمة بـ 30 غ/ل آغار مضافاً إليها عدة تراكيز من هرمونات الأكسين والـسيتوكينين. وقد أدى استخدام 1 مغ/ل من سيتوكينين BAP + 0.5 مغ/ل من أكسين IAA إلى أعلى معدل إكثار، في حين أن أعلى معدل تجذير 98% قد تم الحصول عليه حين زيادة تركيز الأكسين IAA إلى 1.00 مغ/ل وخفض تركيز السكروز إلى 20 غ/ل والزراعـة علـى بيئة ½ MS بوجود الفحم المنشط (2 غ/ل) وذلك حسب Abdallah *et al*., 2003.

مواد البحث وطرائقه

أُنجز هذا البحث في مخبر زراعة الأنسجة النباتية بقسم التقانات الحيوية في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية بدمشق في العام 2006 – 2007م.

المادة النباتية

أُخذت الخزعات النباتية من نبات الغاردينيا *Gardenia Jasmenoides*. L. صنف *'Ellis'* في الخريف؛ وذلك بتحضير عقل من النبات الأم بطول 20 – 30 سم ونقعها 24 ساعة في الماء، ثم إزالة الأوراق عنها وتقسيمها إلى أجزاء صغيرة (micro cutting) بحيث يحتوي كل جزء على برعم واحد (بمعدل 120 برعماً لكل معاملة من معاملات التعقيم والإدخال) ونقلت مباشرة إلى المخبر.

بيئة الزراعة

استخدمت بيئة موراشيج وسكوج (1962) في مراحل التجربة جميعها، وضبط الـ pH على 5.7 ± 0.1 وذلك في آخر مرحلة من مراحل تحضير البيئة المغذية وقبل إضافة الآغار بتركيز 0.7%.

وزعت البيئة المغذية في أنابيب اختبار سعة 20 × 25 بحيث يحوي كل أنبوب على 7 مل من البيئة وتمت تغطية الأنابيب باستخدام ورق القصدير، ثم عقمت البيئة المغذية باستخدام جهاز التعقيم الكهربائي الرطب (Autoclave) في درجة حرارة 121°م وضغط 1 بار مدة 20 دقيقة.

زراعة الخزع النباتية

1- مرحلة الإدخال والزراعة التأسيسية

غسلت الخزعات النباتية بالماء ثم نقعت بمبيد فطري (إيكوبسين 3%) مع الصابون السائل مدة 20 دقيقة، وغسلت بالماء الجاري مدة 20 دقيقة أخرى، ثم نقلت إلى جهاز العزل الجرثومي (Laminar flow) حيث أجريت عليها معاملات التعقيم الآتية:

- المعاملة بالكلوركس (المادة الفعالة هيبوكلوريد الصوديوم 5%) مدة 10 دقائق؛ وذلك باستخدام تركيزين 20% و15%.
- المعاملة بكلوريد الزئبق تركيز 0.1% و0.5% مدة 1 دقيقة.
- المعاملة بالكلوركس 15% مدة 10 دقائق + كلوريد الزئبق 0.1% مدة 1 دقيقة.

أُجريت معاملات التعقيم جميعها بإضافة مادة ناشرة (توين 20 بتركيز 0.1%)، ثم غسلت الخزعات النباتية ثلاث مرات متتالية بالماء المقطر المعقم مدة 5 دقائق في كل مرة بهدف إزالة آثار المواد المستخدمة بالتعقيم.

شملت هذه المرحلة خمس معاملات، كررت كل معاملة 3 مرات بحيث يحوي كل مكرر 10 خزعات نباتية؛ وذلك بهدف تحديد أفضل معاملة لتعقيم الخزعات النباتية من حيث تأثيرها في معدل الخزعات الحية% (Survival rate)، وذلك بعد 4 أسابيع من الزراعة على بيئة الإدخال والتحضين في درجة حرارة 27 ± 2°م وشدة ضوئية 1500 لوكس مزودة بلمبات فلورسنت مدة 16 ساعة/ اليوم.

2- مرحلة الإكثار

نُقلت الخزعات النباتية فردياً من بيئة الإدخال إلى بيئة الإكثار، وهي بيئة MS المدعمة بالسكروز بتركيز 3% والآغار بتركيز 0.7% مضافاً إليها هرمونات النمو النباتية وفق المعاملات الآتية:

- 0.0مغ/ل سيتوكينين BA + 0.0 مغ/ل أوكسين IBA (شاهد).
- 0.5 مغ/ل من BA + 0.1 مغ/ل من IBA.
- 0.5 مغ/ل من BA + 0.3 مغ/ل من IBA.
- 1 مغ/ل من BA + 0.1 مغ/ل من IBA.
- 1 مغ/ل من BA + 0.3 مغ/ل من IBA.
- 2 مغ/ل من BA + 0.1 مغ/ل من IBA.
- 2 مغ/ل من BA + 0.3 مغ/ل من IBA.
- 3 مغ/ل من BA + 0.1 مغ/ل من IBA.
- 3 مغ/ل من BA + 0.3 مغ/ل من IBA.

حضنت النباتات ضمن شروط التحضين: درجة حرارة 27 ± 2 ورطوبة 75 ± 10 وشدة ضوئية 1600 لوكس مزودة بلمبات فلورسنت مدة 16 ساعة/ اليوم.

شملت هذه المرحلة 9 معاملات، كررت كل معاملة ثلاث مرات بحيث يحوي كل مكرر 10 خزعات، ويتم في نهاية هذه المرحلة (بعد 4 نقلات من الزراعة على بيئة الإكثار وبفاصل 21 يوماً بين كل نقلة وأخرى) حساب معدل الإكثار وطول الأفرع وعدد الأوراق.

3- مرحلة التجذير

نُقلت النباتات الناتجة في مرحلة الإكثار مخبرياً إلى بيئة التجذير وهي بيئة ½ MS مدعمة بالسكروز بتركيز 3% والآغار بتركيز 0.7% ومضافاً إليها أكسين نفتالين أسيتيك أسيد بتركيز (0، 0.5، 1، 1.5، 2 مغ/ل)، وحضنت النباتات ضمن الشروط ذاتها الخاصة بمرحلة الإكثار، وقد شملت هذه المرحلة 5 معاملات وكررت كل معاملة 3 مرات حيث يحوي كل مكرر 3 نباتات.

تم في نهاية هذه المرحلة (بعد 4 أسابيع من الزراعة على بيئة التجذير) حساب نسبة التجذير%، وعدد الجذور، وطول الجذور، وعدد الأوراق، وطول الساق.

4- مرحلة الأقلمة

غسلت جذور النباتات المكاثرة مخبرياً 3 مرات لإزالة الآغار ثم غمست بالفيتافـاكس (0.1% مدة 3 دقائق) وزرعت فردياً في أصص بلاستيكية سوداء (8 سم) تحوي مزيجاً من الرمل : البيتموس 1:1 (حجم/ حجم) وغُطّيت النباتات بأكياس شفافة بيضاء (مثقبـة من الجانبين)، وتركت ضمن ظروف البيت اللادائني (شدة ضوئية 1500 لوكس مـدة 16 ساعة/ اليوم باستخدام لمبات الفلورسنت ودرجة حرارة 28 ± 2°م ورطوبة هواء نـسبية 85% ± 10 تم تزويدها ضبابياً وذلك تمهيداً لمرحلة التأسيس في الحقل 30 يومـاً بعـد الزراعة).

التحليل الإحصائي

اِستُخدم في هذه التجربـة تـصميم القطاعـات العـشوائية الكاملـة Completely Randomized Design وسجلت الفروق المعنوية على مـستوى ثقـة 5% باسـتخدام برنامج التحليل الإحصائي MSTAT.

النتائج والمناقشة

مرحلة التعقيم

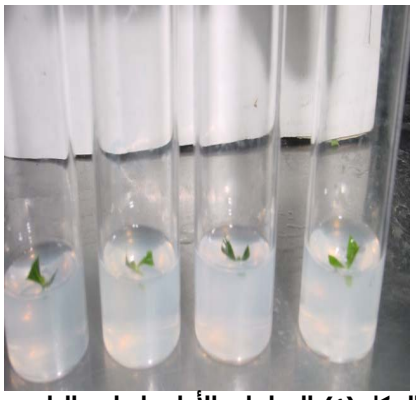
توضح النتائج في الجدول (1) تأثير معاملات التعقيم المختلفة في معـدل الخزعـات الحية (Survival rate) بعد 4 أسابيع من الزراعة على بيئة الإدخال.

الجدول (1) تأثير معاملات التعقيم في معدل الخزعات الحية بعد 4 أسابيع من الزراعة على بيئة الإدخال.

المادة	التركيز (%)	المدة (د)	معدل الخزعات الحية (%)	الخزعات الملوثة (%)
كلوركس	15	10	66.00	34.00
كلوركس	20	10	70.33	29.67
كلوريد الزئبق	0.1	1	77.66	22.34
كلوريد الزئبق	0.5	1	88.33	11.67
كلوركس + كلوريد الزئبق	0.1 + 15	1 + 10	94.33	5.67

أدت المعاملة بكلوريد الزئبق سواء بالتركيز المرتفع أو المنخفض إلى زيـادة معـدل الخزعات الحية مقارنة بالمعاملة بالكلوركس، أما أعلى معدل بقاء (94.33%) فقد لوحظ حين المعاملة بالكلوركس + كلوريد الزئبق وبالتركيز المنخفض لكلتا المادتين (شـكل 1) حيث تؤدي التراكيز المرتفعة من هيبو كلوريد الصوديوم NaOCl إلى تهتك الأنـسجة، وكذلك تؤدي التراكيز المرتفعة من كلوريد الزئبق إلى السمية، وهذا يتوافق مع ما توصل إليه Jona and Menini, 1987 في حين يؤدي استخدام التراكيز المنخفضة مـن مـادة هيبوكلوريد الصوديوم NaOCl إلى فعالية عالية في عمليات التطهير السطحي في معظم

النباتات المكاثرة مخبرياً مقارنة بمواد أخرى منخفضة التأثير نتيجة انخفاض معدل النفاذية عبر الأغشية الخلوية (مثل هيبو كلوريد الكالسيوم)، وهي النتيجة ذاتها التي توصلا إليها Pevalek and Jelaska, 1987، إلا أنه وبشكل عام هناك دور مهم وفاعل حين اختيار النبات الأم للحصول على الخزعة النباتية وتطهيرها سطحياً بحيث يتم تقليل معدل التلوث إلى أقل قدر ممكن تكون فيه هذه الخزع صالحة للزراعة مخبرياً.



الشكل (1) الزراعات الأولية لبراعم الغارديناا

مرحلة الإكثار

توضح النتائج في الجدول (2) تأثير المعاملات بتراكيز هرمونية مختلفة من السيتوكينين BA والأكسين IBA في معدل الإكثار، وطول الأفرع وعدد الأوراق، وذلك بعد أربع نقلات من الزراعة على بيئة الإكثار وبفاصل 21 يوماً بين كل نقلة وأخرى.

الجدول (2) تأثير المعاملات المختلفة بسيتوكينين بنزايل أدنين وأكسين إندول حمض البيوتريك في مرحلة الإكثار

تركيز السيتوكينين والأكسين (مغ/ل)	عدد الأفرع	طول الأفرع (سم)	عدد الأوراق
IBA 0 + BA 0	1.43 f	1.37 d	1.63 d
IBA 0.1 + BA 0.5	1.80 ef	2.67 c	2.70 d
IBA 0.3 + BA 0.5	1.33 f	2.63 c	2.70 d
IBA 0.1 + BA 1.0	5.33 a	4.73 a	4.36 a
IBA 0.3 + BA 1.0	3.83 bc	5.47 a	4.50 a
IBA 0.1 + BA 2.0	4.23 b	3.73 b	3.78 a
IBA 0.3 + BA 2.0	2.40 de	4.87 a	4.27 a
IBA 0.1 + BA 3.0	3.57 c	2.90 c	2.87 bc
IBA 0.3 + BA 3.0	2.67 d	3.90 b	3.60 ab
L.S.D	0.67	0.70	0.82

أدت المعاملات المدروسة جميعها إلى زيادة عدد الأفرع مقارنة بالشاهد 1.43، كذلك أدت المعاملة بالتركيز المخفض من الأكسين (0.1 مغ/ل) إلى زيادة معدل الإكثار مقارنة بالتركيز المرتفع 0.3، وذلك بغض النظر عن تراكيز السيتوكينين BA المختلفة المدروسة.

أما أعلى معدل إكثار 5.33 فقد لوحظ حين إضافة 1 مغ/ل من السيتوكينين BA + 0.1 مغ/ل من الأكسين IBA (شكل 2، 3) تتبعه وبفارق معنوي المعاملة بـ 2 مغ/ل من BA + 0.1 مغ/ل من IBA.

الشكل (2)

الشكل (3)

الإكثار المخبري للغاردينيا

من جهة أخرى أدت زيادة تركيز السيتوكينين (3 مغ/ل) إلى خفض معدل الإكثار معنوياً مقارنة بباقي المعاملات ومن دون فروق معنوية مقارنة بالشاهد، وذلك لأن السيتوكينين يحفز الانقسام الخلوي والنمو القطري الشعاعي فيزيد من معدل الإكثار في النبات، وهذا يتطابق مع ما توصلا إليه Pyott and Joverse, 1981، ويحدث ذلك حين استخدام السيتوكينين بتراكيز منخفضة، أوحينما يكون حجم الخزعة النباتية صغيراً مما يزيد في معدل الاستجابة لعمليات الانقسام الخلوي حسب Huang, 1984، وهذا يتطابق مع نتائج الدراسة الحالية.

لوحظ أن استخدام تركيز مرتفع من السيتوكينين مع تركيز منخفض من الأكسين يحفز النمو وتكوين نموات جديدة وزيادة معدل الإكثار، وهذا يتوافق مع ما توصل إليه Pierik, 1987، وقد أشار Conti *et al*., 1991 أن ذلك يكون بحسب الصنف المدروس والحالة الفيزيولوجية للنبات الأم ونوع الخزعة النباتية المستخدمة ومصدرها ونوع الهرمون وتركيزه، ولكن بشكل عام فإن التركيز المنخفض من الأكسين يعد مهماً في مرحلة الإكثار لما له من تأثير فيزيولوجي مباشر في زيادة معدل النفاذية الخلوية وزيادة الأسموزية، ومن ثم تعديل النظام الأسموزي وزيادة معدل نسخ المادة الوراثية وتكوين بروتينات جديدة، ويتوافق ذلك مع ما أشار إليه Rossignol *et al*., 1990.

لوحظ أن استخدام الأكسين بالتركيز المرتفع 0.3 مغ/ل قد زاد من معدل استطالة النموات مقارنة بالتركيز المنخفض 0.1 مغ/ل، وذلك بغض النظر عن معاملات السيتوكينين المختلفة، وبشكل عام فإن أعلى معدل استطالة خلوية 5.47 سم، قد لوحظ حين المعاملة بـ 0.3 مغ/ل من IBA + 1 مغ/ل من BA، كذلك أدت المعاملة بالسيتوكينين بالتركيز المنخفض 1 مغ/ل إلى زيادة معدل الاستطالة الخلوية مقارنة بالتراكيز المرتفعة وجميع المعاملات المدروسة زادت من معدل الاستطالة معنوياً مقارنة بالشاهد 1.37 سم، و يعزى ذلك إلى أن السيتوكينين هرمون الإنقسام الخلوي والإكثار حيث يحوي شق الأدنين المسؤول عن النمو الشعاعي القطري والإكثار في الأنسجة الحية، ومن ثم فإن إضافته في هذه المرحلة لها دور مهم وفاعل في مزارع الأنسجة النباتية، وذلك حسب Vuylsteke, 1989 ومن أهم السيتوكينينات هو البنزايل أدنين، وقد توصل إلى هذه النتيجة Hardy *et al*., 1994.

مرحلة التجذير

توضح النتائج في الجدول (3) تأثير معاملات الأكسين NAA المختلفة في معدل التجذير، وعدد الجذور، وطول الجذور، وعدد الأوراق، وطول الساق وذلك بعد 4 أسابيع من الزراعة على بيئة التجذير (شكل 4).

الجدول (3) تأثير التراكيز المختلفة من أكسين NAA في تجذير نبات الغارديني بعد 4 أسابيع من الزراعة على بيئة التجذير.

تركيز NAA (مغ/ل)	معدل التجذير (%)	عدد الجذور	طول الجذور (سم)	طول الساق (سم)	عدد الأوراق
0	69.37 c	4.83 c	2.30 d	4.80 b	3.67 c
0.5	70.30 c	6.23 c	3.65 c	6.95 a	5.44 a
1	97.40 a	9.67 a	5.35 b	6.80 a	5.07 ab
1.5	88.04 b	8.63 b	6.28 a	4.55 b	4.47 b
L.S.D	3.75	0.46	0.22	0.78	0.66

أدت المعاملة بأكسين NAA تركيز 1 مغ/ل إلى زيادة معدل التجذير بنحو 97.40% وعدد الجذور بنحو 9.67 معنوياً مقارنة بباقي التراكيز المدروسة، أو بالشاهد (69.37 و4.83 بالنسبة إلى معدل التجذير وعدد الجذور على التوالي). كذلك توضح النتائج في الجدول (3) أن أعلى طول للجذر 6.28 سم قد لوحظ حين استخدام التركيز المرتفع من NAA (1.5 مغ/ل) في حين أن أعلى طول للساق بنحو 6.95 سم لوحظ حين استخدام التركيز المنخفض من NAA (0.5 مغ/ل)، وربما يعزى ذلك إلى اختلاف آلية عمل الأكسين إذ إن فعل الأكسين على مستوى الجذر مشابه لما هو عليه على مستوى الساق، ولكن الجذر أكثر حساسية للأكسين، إذ تؤدي التراكيز المنخفضة إلى زيادة معدل التجذير في حين تعيق التراكيز المرتفعة التجذير أو تعيق استطالة خلايا الجذر، فمن المعروف فيزيولوجياً أن التركيز المنشط لنمو خلايا الساق واستطالتها هو تركيز مثبط لنمو خلايا الجذر واستطالتها.

أما عدد الأوراق فقد لوحظت فروق معنوية بين المعاملة بالتركيز المنخفض والتركيز المرتفع من الأكسين ولكن التراكيز جميعها زادت عدد الأوراق مقارنة بالشاهد 3.67، أما أعلى عدد للأوراق 5.44 فقد لوحظ حين المعاملة بالتركيز المـنخفض 0.5 مـغ/ل مـن الأكسين.

وجاءت نتائج التجذير في هذا البحث متوافقة مع نتائج العديد من الباحثين، وقـد أشـار Gupta, 1986; Fitch, 1987 and Vuylsteke, 1989 إلى أنه من المفضل في مرحلة التجذير زراعة النباتات على بيئة لا تحوي سيتوكينين فهـو هرمـون الإكثـار والانقـسام الخلوي، ومن ثم يتم تثبيط تكوين أفرع جديدة والحد من نمو براعم جانبية وتشجيع تكـوين مبادئ الجذور، كما أن تأثير الأكسين في عملية التجذير يختلف بحـسب تركيـزه ونوعـه ووجود أكسين واحد أو عدة أكسينات في الوسط، ولكن بشكل عام يعمل الأكسين على زيادة معدل التباين الأيوني والنفاذية الخلوية والنشاط الأنزيمي ومعدل نقل الشوارد حسب ما أشار إليه Rossignol *et al*., 1990 مما يزيد من معدل تكوين الجذور على الأفرع المزروعـة نتيجة دوره المهم والمباشر في أهم مرحلة من مراحل التجذير وهي مرحلة الدفع الجـذري، ويتطابق هذا التفسير مع ما توصل إليه Haissing, 1986.

مرحلـة الأقلمـة

نُقلت النباتات المجذرة وزرعت فردياً في أصص بلاستيكية سوداء (8 سـم) تحـوي مزيجاً من الرمل : البيتموس 1:1 (حجم/ حجم) وتمت تغطية النباتـات بأكيـاس شـفافة بيضاء (مثقبة من الجانبين) وتركت ضمن ظروف البيت اللادائني حيث تم تقسيتها تدريجياً دون أي عقبات تذكر وبنسبة نجاح بلغت 85% (شكل 5) مع ملاحظة حـساسية النبـات العالية لانخفاض الرطوبة وخاصة في مراحله الأولى، وبعد أن بلغ متوسط طول النبـات نحو 30 سم نقلت إلى أصص أكبر ثم إلى الوسط الخارجي بشكل تـدريجي لاختبارهـا ضمن ظروف الوسط الطبيعي، وكانت متأقلمة بشكل جيد، وحفظت في البيت الزجـاجي عدة أشهر حيث تابعت نموها (شكل 6).

الشكل (4) التجذير المخبري لنبات الغاردينيا

الشكل (5) التقسية التدريجية للغاردينيا

الاستنتاجات

أكدت هذه الدراسة إمكانية إكثـار نبـات الغارديني*ـا* *Gardenia jasminoides*.L صنف *'Ellis'* في المخبر الزجاجي بنجاح، فقد تم الحصول على عدد كبير من النباتـات الكاملة والخالية من الأمراض ابتداء من عقلة واحدة وبكلفة منخفضة، وقد تبين أن أفضل وسط زرع للإكثار المخبري الدقيق للصنف المدروس هو وسط MS والمحتـوي علـى: 1 mg/L BA + 0.1 mg/L IBA، وأن أفضل أوساط التجذير هي الأوساط المحتويـة على نصف تركيز العناصر الكبرى من الوسط الأساس المستخدم للإكثار مـع الأكـسين NAA بتركيز 1 mg/L، مع ملاحظة نجاح مرحلة التقسية بنـسبة تزيـد علـى 85 % ضمن شروط البيت الزجاجي حين نقل النباتات المجذرة إلى أصص بلاسـتيكية تحـوي مزيجاً من الرمل : البيتموس 1:1 (حجم/ حجم)، وهذه نسبة مقبولة -إلى حد كبير- فـي مزارع الأنسجة النباتية، ومن ثم تمكن هذه الطريقة من الإكثار السريع للغارديني*ـا* ودون أي صعوبة تذكر، ويجب مراعاة الحفاظ على رطوبة جوية عالية في المراحل الأولى من الأقلمة، وذلك بسبب حساسية نباتات الغارديني*ا* لانخفاض الرطوبة. وتوضح الصورة رقم (7) مراحل الزراعة الأولية والتكاثر والتجذير والأقلمة مجتمعة.

الشكل (6)

نبات الغارديني*ا* بعد عملية التقسية

الشكل (7)

جميع مراحل الإكثار المخبري للغارديني*ا*

REFERENCES المراجع

Abdallah, G.; Alkateeb, A.and Seragali, M. (2003). Effect of some plant growth regulatores on in vitro micro propagation of gardenia plant .Soltan Kaboos Univ. J.of Agric.and Sealife Scie.18 (1) : 35-40.

AL-Juboory, K. H.; Skirvin, R. M. and Williaams, D. J. (1998). Callus induction and adventitious shoot regeneration of gardenia (Gardenia jasminoides Ellis) leaf explants. Scienta horticulturae,72(4):171-178.

Bradshow, J. (2003). Gardenias. Florida Cooperative Extension Service, University of Florida . CIR, 1098 .

Chuenboongarma, N.; haroonsotea, S. and Bhamarapravatia, S. (2001). Effect of BA and 2iP on Shoot Proliferation and Somaclonal Variation of Gardenia jasminoides Ellis *in vitro* Culture. Science Asia, 27: 137-141.

Conti, I.; Frangi, P.; Tosca, A. and Verga, P. (1991). Breeding clones of gerbera hybrids suitable to micropropagation and pot cultivation. Acta Hort., 300: 103-106.

Dirr, M. A. (1990). Mannual of wody landscape plants and their identification , ornamental characteristics, culture, propagation and uses. 4th edition. Stipes: Shampaign, Illinois.

Economou, A. S. and Spanoudaki, M. J. (1985). *In vitro* propagation of Gardenia. Horticultural Science, April, vol. 20(2): p.213.

Edward, F. G. (1990). Gardenia Jasminoides. Florida Cooperative Extension Service, University of Florida .Fact sheet FPS-223 .

Fitsh, M. (1987). Propagation by means of tissue culture technique, organ culture. Subtropica, 8:10-16.

George, J. and Ravishankar, G. A. (1996). Development of modified plant tissue culture media using alternate sources of nitrogen and vitamins for micro propagation. Indian Journal of Experimental Biology, 34(2):163-170.

Gowdy, M. A. (2002). Home propagation of houseplants. University of Missour Extension , University of Missour – Columbia. G 6560 .

Gupta, P. O. (1986). Eradication of mosaic disease and rapid clonal multiplication of banana through meristem tip culture. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 6, 33-39 .

Haissing, B. E. (1986). Metabolic prasses in adventitious rooting of culturings. PP 141-189 in Jackson M. B. (ed) 1986(q.v.).

Hardy, D. E.; Gomes, I.; Garcia, F. E. and Garcia, E. (1994). Micropropagation in banana . Phyton, Buenos. Aires, 55 (1) : 31-41.

Huang, L. C. (1984). Alternative media and method cattleye propagation by tissue culture. Am. Dichid. Soc. Bull.53:167-170.

Jona, R, and Menini, V. G. (1987). Tissue culture of selected tropical fruit plants. FAO and Agricultural organization of the United Nation, 29.124pp.

Kent, D. K. and Andrew, J. K. (2006). Common gardenia. Cooperative Extention Service, Collage of Tropical Agriculture and Human Resoueces. University of Hawaii and Manoa. Ornamental and Flowers Fact Sheet. O F – 32.

Kidder, G.; Black, R. J. and Ruppert, K. C. (1991). Soil PH and landscape plants. Fact sheet S L -113 . Florida Cooperative Extention Service .

Michailidis, I. (1995). Callus culture from various explants of Gardenia jasminoides Ellis with intent to induce somatic embryogenesis *in vitro*. Institute Agronomique Mediterraneen.Chania,10(9):97-108.

Minas, G. J. (1996). A rapid protocol for *in vitro* micropropagation of three types of Gardenia for quality produce flowering pot-plant. International Society for Horticultural Science.

Murashige, T. and Skooge, F. (1962). Arevised medium for rapid growth and bioassays with tabacco tissue culture. Physiol. Plant., 15:273-497.

Pevalek, K. B. and Jelaska, S. (1987). Microclonal propagation of prunus avium. Acta Hort., 212:599-601.

Pierik, R. L. M. (1987). *In vitro* culture of higher plant. Martinus Nijhoff publishers, Dordrecht The Netherlands, 344pp.

Pyott, J. I. and Joverse, R. H. (1981). *In vitro* propagation of heat treated red raspberry clones. Hort Science, 16:308-309.

Rauch, F. D. (1996). Tropical landscape plants. 3rd edition. Hawaii, Floriculture, Bottle Ground , Wash.

Rossignol, M.; Santoni, V.; Szponanski, W. and Vansuty, G. (1990). Differential sensitivity to auxin at the plasma membrane level. PP 498-503 in Nij Kamp *et al*., (eds) 1990(q.v.).

Serret, M. D.; Trillas, M. I.; Matas, J. and Araus, J. L. (1996). Development of photo autotrophy and photo inhibition of Gardenia jasminoides plantlets during micropropagation.Plant-Cell, Tissue and Organ Culture, 45(1):1-16.

Serret, M. D.; Trillas, M. I.; Matas, J. and Araus, J. L. (1997). The effect of different closure types, light, and sucrose concentrations on carbon isotope composition and growth of Gardenia jasminoides plantlets during micro propagation and subsequent acclimation ex vitro. Plant-Cell, Tissue and Organ Culture, 47(3):217-230.

Vuylsteke, D. R. (1989). Shoot tip culture for propagation, coservation and exchange of *musa* germplasm, IB. PGR, Rom.

Wilkins, H. F. (1986). Gardenia jasminoides in: Handbook of flowering. Vol V (edited by Halvey AH). Pp 127-131, CRC Press, Inc, Boca Raton , Florida.

البطل، نبيل. (2003). "نباتات الزينة الخارجية"، منشورات جامعة دمشق، 362 ص.

الحسيني، محمد. (1993). "إنتاج زهور القطف والورد محلياً وللتصدير (الجلاديواس، الـورد، الفرنفـل والزنبق)" مكتبة ابن سينا-القاهرة، 159 ص.

Received	**2009/07/05**	**إيداع البحث**
Accepted for Publ.	**2010/01/25**	**قبول البحث للنشر**