مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية ــ (2009) ــ المجلد (25) ــ العدد 1 ــ الصفحات: 29-46

تأثير السيتوكينينات والأوكسينات في معدل الإكثار ونوعية الشتول المخبرية لبعض سلالات الجربيرا *Gerbera jamesonii* Hybr. المزروعة مخبرياً

سـهيل حـداد[1]

الملخص

حددت في هذا البحث أفضل طريقة لإكثار عدد كبير من سلالات نبات الجربيرا وتجذيرها (5 أصناف مزروعة). كما تم تحديد الأوساط المغذية المناسبة لمراحل الإكثار كلها (*in vitro*) (الزراعة الأولية، والإكثار، والتجذير داخل الأنابيب)، ودراسة تأثير عدة تراكيز من السيتوكينين والأوكسينات للحصول على أعلى معدلات من النموات، وأفضل نوعية من الشتول المخبرية. أوضحت نتائج هذه الدراسة إمكانية الحصول على معدلات مرتفعة من الإكثار (3.6-5.1) على الأوساط التي تحتوي على 5.0 و10 ملغ/ل من الكنيتين وعلى 1.0 – 5.0 ملغ / ل BAP، وانخفاض معدلات الإكثار بعد الإكثار العاشر على جميع الأوساط. وكانت نوعية النموات والشتول المخبرية أفضل على أوساط الإكثار التي تحتوي الكنيتين (Kin) بالمقارنة مع البنزيل أمينو بورين (BAP). كما بينت النتائج، أن وجود الأدنين سلفات في أوساط الإكثار كان عاملاً إيجابياً في الحصول على نوعية أفضل من الشتول. والحصول على معدل تجذير مرتفع 89.12%، و87.91%، ونوعية جيدة للجذور المتكونة على أوساط التجذير التي تحتوي على 1.0 ملغ/ ل من الأوكسين (IBA) وعلى 10 ملغ/ ل من الأوكسين (IAA) على التوالي، مع وجود اختلاف في طول الجذور ونوعيتها بين الهرمونين. كما بلغت نسبة نجاح عملية نقل النباتات المخبرية إلى الشروط الخارجية معدلاً مرتفعاً جداً. حيث لم تتجاوز نسبة الفقد في أضعف السلالات أكثر من 15.86 %. وأعطت النباتات المنقولة نموات طبيعية وقوية في هذه الشروط. وبينت هذه الدراسة أيضاً أن وجود اختلاف بين السلالات من حيث سلوك النموات والشتول المخبرية لعمليات الإكثار حيث يؤثر عدد مرات الإكثار في معدل إكثارها ونوعيتها. في النهاية، يمكن لهذه التقنية أن تستثمر تجارياً بشكل جيد بعد تحديد صفات كل سلالة وسلوكها، والحصول على أعداد كبيرة جداً وذات نوعية جيدة من شتول نباتات الجربيرا خلال مدة قصيرة.

الكلمات المفتاحية: خزع القرص الزهري، جربيرا، معدل الإكثار، التجذير مخبرياً، السيتوكينينات، الأوكسينات، نوعية الشتول المخبرية، التقسية.

[1] أستاذ، قسم علوم البستنة، كلية الزراعة، جامعة دمشق، ص. ب 30621، سورية.

Effect of cytokinins and auxins on rate multiplication and vitropant's quality of some clones of Gerbera (*Gerbera jamesonii* Hybr.) cultivated *in vitro*.

S. Haddad[1]

ABSTRACT

Through this research, the best method for multiplication and rooting of 5 cultivars of Gerbera was determined. In addition suitable nutritive media for various multiplication stages was determined. Effect of different concentrations of cytokinins and auxins on maximum growth and quality of vitroplants was studied. Results indicated that maximum rate multiplication (3.6-5.1) on media that contains 5.0 and 10 mg/l of kinetin (Kin) and 0.5 – 1.0 mg/l BAP. The rate of multiplication is reduced after the 10th multiplication on all media. The quality of vitroplants was better on media containing kinetin compared to media with BAP. Results indicated that the presence of adenine sulphate in multiplication media is considered a positive factor for obtaining good quality of vitroplants, high percentage of rooting 89.12%, 87.91% and better root quality on media containing 1 mg/l of auxin (IBA) and 10 mg/l of IAA with some noticeable differences on length and quality of roots between the two hormones. The percentage of loss in plants due to translocation them to outside conditions were minimal and did not exceed 15.86 %. Growth of translocated plants was normal and vigorous. There were differences among cultivars in growth behavior and in plantlets where rate of multiplication and plantlets quality were affected. This technique can be used commercially after characters and behaviors of cultivars are determined for obtaining quite number of plantlets within a short period of time.

Key words: Capitulum Explants, *Gerbera jamesonii*, Rate multiplication, *In vitro* Rooting, Cytokinins, Auxins, Quality of vitroplants, Acclimatization.

[1] Prof. Department of Horticulture Science, Faculty of agriculture, University of Damascus, P.O.Box 30621, Syria.

المقـــدمـــة

يعدُّ الإكثار الخضري التقليدي بهدف إنتاج نباتات لها الصفات الوراثية نفسها من الجربيرا عملية غير مربحة اقتصادياً. إذ لا يمكننا الحصول سوى على 3-5 شتول سنوياً من النبات الواحد بواسطة التفسيخ، و30 – 50 شتلة سنوياً بواسطة الريزومات. في حين يمكننا الحصول على أعداد ضخمة جداً من النباتات بدءاً من نبات واحد بواسطة الإكثار الخضري الدقيق (Micropropagation) (Huang and Chu, 1985; Pierik, 1991; Aswath and Coudhury, 2002).

بينت نتائج معظم البحوث (Pierik *et al.,* 1975a , 1982; Laliberté *et al.,* 1985; Jerzy and Lubomski, 1992; Reynoird *et al.,* 1993) التي جرت لزيادة معدلات الإكثار مخبرياً أن استخدام الأقراص الزهرية الفتية غير المتفتحة بقطر 0.5 – 1 سم هو أفضل الخزع للحصول على أكبر عدد من النموات الخضرية بالمقارنة مع القمم النامية (Pierik *et al.*, 1973). ولذلك اقترح Pierik وزملائه عام (1973 و1979) بأن الإكثار الخضري الدقيق يمكن أن يبدأ بشكلٍ مناسب باستخدام الأقراص الزهرية والنموات اللاحقة.

كما بينت عدة دراسات أن تطور البراعم القاعدية وتكشف النموات من الأقراص الزهرية هو عملية معقدة. حيث يتدخل بها عدد كبير من العوامل الداخلية والخارجية. فقد وجد أن تشكل النموات يتعلق بشكل كبير بطبيعة الصنف ولون الزهرة وتركيب الوسط المغذي والظروف البيئة في غرف النمو (Murashige *et al.,* 1974 ; Maia *et al.,* 1983; Meynet,. 1983; Kumar *et al.,* 2004) ومحتوى النبات من السيتوكينين الداخلي (Van Meeteren and Van Gelder. 1980; Kurepin *et al.,* 2007).

إن استخدام أملاح MS بدلاً من الأملاح المستخدمة من قبل Murashige *et al.,* (1974) لم يكن لها أي تأثير في معدل الإكثار خلال عملية نقل واحدة (Wozniak *et al.,* 1982)، ولكن تخفيض تركيز العناصر المغذية الصغرى إلى 10/1 من التركيز الطبيعي كان له تأثير متوسط في تخفيض عدد النموات الجانبية المتشكلة (Dencso, 1987). وقد درس عام Soczek and Hempel (1988) تأثير المكونات العضوية لبيئة Murashige *et al.,* 1974، في ثلاثة أصناف من الجربيرا، فلم تظهر المركبات الآتية: الثيامين، ميو إينوزيتول، بيريدوكسن، الأدنين سلفات، تيروزين أية نتائج إيجابية. في حين أن غياب حمض النيكوتين من الوسط أدى إلى انخفاض معنوي في معدل الإكثار.

ووجد أيضاً أن معدل الإكثار ونوعية الشتول المخبرية الناتجة يتأثران بشدة بتركيز ونوعية السيتوكينينات المضافة إلى الوسط المغذي (Pierik *et al.,* 1973,1975a, 1982; Maia *et al.,* 1983; Meynet,. 1983; Hampel *et al.,* 1985, Laliberte

et al., 1985; Kataeva *et al.,* 1991; Huang et Shenghui, 2001; Sharma and Srivastava, 2005).

من أجل تجذير الجيربيرا بزراعة الأنسجة، استخدم Pierik *et al.,* 1975b وسط زراعة يحتوي العناصر المغذية الكبرى من محلول MS، و45g من السكروز، و10 ملغ/ل من IAA أو من IBA.

وتبين أن النموات الخضرية المنفصلة والناتجة من الإكثار على وسط (Murashige *et al.,* 1974) ذات تجذير ضعيف إذا نقلت مباشرة من وسط الإكثار إلى التربة، حتى ولو غمست في البداية بمحلول يحتوي على أوكسين. وجزء كبير منها تعرض للتماوت، وكانت النتائج أفضل عند نقل النباتات مدة 10 أيام على البيئة المستخدمة للإكثار ولكنها لا تحتوي على سيتوكينين وتحتوي على 10 ملغ/ل من IAA.

إن زيادة شدة الإضاءة إلى 3000 لوكس على الأقل كان مفيداً أيضاً. عند المعاملة بهذه الطريقة، فإن معظم النموات قد جذرت عندما نقلت خارج الأنابيب. ووجد أيضاً أن النموات الخضرية المنفصلة تجذر بسهولة أكبر من النموات التي تكون على شكل مجموعات. وبين (Wozniak *et al.,* 1982) أن إضافة 2.6 ملغ/ل من IBA إلى وسط تشكيل الجذور يمكن أن يحسن تشكل الجذور ونموها.

يهدف هذا البحث إلى دراسة العلاقة بين لون الأزهار ومعدل الإكثار ونوعية الشتول الناتجة عن الإكثار الخضري الدقيق. ودراسة تأثير نوعية وتركيز السيتوكينين في معدل الإكثار ونوعية النموات المتطورة. ودراسة تأثير نوعية وتركيز الأوكسين في عملية التجذير ونوعية الجذور الناتجة.

مــواد البحــث وطرائقه

1- المادة النباتية:

استخدمت في هذا البحث 5 أصناف من نبات الجربيرا التجارية والمزروعة في ظروف محمية كعينة ممثلة لمجموعة 45 صنفاً تمت دراستها كمجموعات صنفت حسب لون أزهارها (الجدول1).

الجدول (1) الأصناف المستخدمة وألوان بتلات أزهارها.

الصنف	بيلزا	سوسيت	داندي	وايت سان سيشين	تنيكا
لون البتلات	أحمر	برتقالي	زهر	أبيض	أصفر

2- تحضير الأوساط المغذية وتعقيمها:

بعد تحضير الأوساط المغذية المناسبة، تمت تعبئتها إما في أنابيب اختبار زجاجية من نوع بيركس قياس 150×25 مم، بمعدل 15 مل، ثم سدت الأنابيب بسدادات بلاستيكية خاصة مناسبة (من أجل طور الزراعة الأولية)، أو في مطربانات زجاجية سعة 500 مل

بمعدل 150 مل (من أجل طوري الإكثار والتجذير). وعقمت داخل جهاز التعقيم الرطب (أتوكلاف:Autoclave) في درجة حرارة 121م مدة 20 دقيقة، وتركت لتبرد حتى تصبح جاهزة لعملية الزراعة.

3- تحضير الأجزاء النباتية وتعقيمها:

أخذت الأقراص الزهرية المغلقة بقطر يتراوح بين 0.9 – 1.2 سم بمعدل 100 قرص زهري لكل سلالة مدروسة. حيث غُسلت جيداً بالماء الجاري مدة 15 دقيقة. ثم عقمت بالكحول الإتيلي تركيز 70 % عدة ثوان. ثم غمرت بمحلول فوق كلوريد الصوديوم تركيز 1.95%، الذي أضيف إليه بضع نقاط من مادة التوين – 20 (Tween- 20)، مدة 30 دقيقة، ثم غسلت الأجزاء النباتية المعقمة بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات بمعدل 15 دقيقة لكل مرة، حتى تصبح جاهزة للزراعة. وأجريت عمليتا الغسل النهائية والزراعة في شروط تعقيم صارمة تحت جهاز العزل الجرثومي (Laminar airflow hood).

4- زراعة الأجزاء النباتية:

تشتمل عملية إكثار الجيربيرا بالأنسجة على المراحل الآتية: الزراعة الأولية، والإكثار، والاستطالة، والتجذير داخل الأنابيب وأخيراً التقسية، أي نقل النباتات النسيجية من الأنابيب إلى الظروف الطبيعية.

آ- طور الزراعة الأولية:

قسمت الأقراص الزهرية المعقمة إلى أربعة أجزاء بمساعدة أدوات الزراعة المعقمة مثل المشارط والملاقط الرفيعة المناسبة. ثم زرع كل جزء في أنابيب الاختبار الحاوية على الوسط المغذي الخاص بالزراعة الأولية حسب الطريقة الأساسية لزراعة النموات الخضرية كانت قد وضعت من قبل Murashige *et al.,* 1974 والتي تتكون من العناصر الكبرى الخاصة ببيئة Jones and Murashige (1974) بمعدل 2/1 تركيزها في وسط (MS) Murashige and Skoog, 1962، والعناصر الصغرى الخاصة ببيئة (MS)، كما أُضيفت الأحماض الأمينية الخاصة ببيئة 1970، Thorpe. T. A. 1968 and Murashige.، كما أضيف إلى الوسط 4.5% سكروز و7غ آغار- آغار و80 ملغ/ل أدنين سلفات (AS)، وأضيف إلى الوسط 10 ملغ BAP و0.5 ملغ IAA ثم عدلت درجة الحموضة pH قبل التعقيم إلى 5.8. ويستمر طور الزراعة الأولية 8 أسابيع. حيث وضعت الأنابيب المزروعة في غرفة نمو محكمة في درجة حرارة ثابتة نسبياً 24 ± 1°م. يومياً مدة أربعة أسابيع في الظلمة (Pierik *et al.,* 1975a). ثم نقلت إلى ظروف إضاءة مستمرة بشدة ضوئية تعادل 800 لوكس مدة أربعة أسابيع أخرى. وفي نهاية هذه المدة حُسب عدد النموات المتشكلة من كل خزعة في كل مجموعة من الأصناف. حيث تم فصلها ونقلها على أوساط الإكثار المختلفة.

ب- طور الإكثار:

زرعت خلال هذا الطور النموات الناتجة عن طور الزراعة الأولية على الأساس المعدني لوسط موراشيج ورفاقه (1974) بمعدل 40 نمواً لكل تركيز في المعاملة، وكررت التجربة ثلاث مرات وذلك لدراسة:

1- تأثير نوعين من السيتوكينينات في معدلات الإكثار ونوعية النموات الخضرية الناتجة:

آ- بنزيل أمينو بورين (BAP): (0.0، 0.5، 1.0، 2.5، 5 ملغ/ل).

ب- الكنيتين (Kin): (0.0، 2.5، 5، 7.5، 10 ملغ/ل).

2- تأثير إضافة الآدنين سلفات (AS 80 ملغ/ل) إلى وسط يحتوي على 5 ملغ/ل كنيتين أو من دونها في معدلات الإكثار ونوعية النموات الخضرية الناتجة. وتم وضع جميع العينات النباتية المزروعة على هذه الأوساط في غرفة نمو في شروط محكمة من درجة حرارة ثابتة نسبياً 24 ºم ± 1ºم. وإضاءة 16 ساعة يومياً، بشدة 2000 لوكس.

ج- طور التجذير:

في هذا الطور قسمت النموات الطرفية (2-3 سم) الناتجة من وسط الإكثار الذي يحتوي على 5 ملغ/ل كنيتين وزرعت بمعدل 40 نمواً على كل تركيز من الأوساط التالية والتي تحتوي على التركيب المعدني والعضوي نفسه لأوساط الإكثار - دون الأدنين سلفات - ومضافاً إليها الأوكسينات الآتية بمعدل:

آ- 0.0، 0.5، 1، 1.5، 2 ملغ/ل من إندول حمض الزبدة (IBA).

ب- 0.0، 2.5، 5، 7.5، 10 ملغ/ل من إندول حمض الخل (IAA).

وذلك لدراسة تأثيرها في التجذير ونوعية الجذور الناتجة. وكررت التجربة ثلاث مرات. ووضعت العينات النباتية المزروعة على هذه الأوساط جميعها في غرفة نمو في شروط محكمة من درجة حرارة ثابتة نسبياً 24 ºم ± 1°ºم. وإضاءة 16 ساعة يومياً، بشدة 8000 لوكس.

د- طور التقسية:

نقلت جميع النباتات المجذرة على وسط يحتوي على تورب - بتموس - بيرليت بنسبة 1:1:4. ووضعت في الأسابيع الثلاثة الأولى ضمن شروط من رطوبة نسبية مرتفعة وحرارة مناسبة وإضاءة ضعيفة. ثم خفضت الرطوبة تدريجياً وتركت تنمو في هذه الظروف المحمية مدة 8 أسابيع. ثم أخرجت إلى ظروف الزراعة الدائمة. تم أيضاً خلال هذا الطور متابعة مدى تطور الشتول المجذرة مخبرياً وحساب معدلات الفقد.

هـ- التحليل الأحصائي:

كررت جميع التجارب ثلاث مرات/ سنوياً وعلى مدى 6 سنوات من عام 2000 وحتى 2005 بمعدل 100 خزعة لكل تركيز في كل معاملة في مخابر كلية الزراعة -

جامعة دمشق. وحُسبت الفروقات جميعها إحصائياً حسب اختبار دونكان على مستوى ثقة 95 %، إما بالنسبة لكل صنف أو معيار على حدة أو لكل معاملة وتجربة.

النتائـــج والمناقشـــة

1- الزراعة الأولية:

يهدف طور الزراعة الأولية إلى الحصول على أكبر عدد من النموات السليمة، خالية من التلوث المرضي ولها القدرة على النمو. في ظروف تجربتنا، تراوحت نسبة التلـــوث من 6.1 – 15.7 % بغض النظر عن الصنف المزروع. وهي نسبة منطقية لمثـــل هـــذا النوع من الزراعـــة(Pierik *et al.,* 1973,1975, 1982, Elooma *et al.,* 1993). حيث استبعدت جميع الأنابيب الملوثة والتي لم يحدث فيها تطور.

لم يلاحظ خلال الأسابيع الأربعة الأولى من الزراعة سوى تطور بسيط على بعـــض الخزعات المزروعة، وتراوحت نسبة الخزعات التي أعطت من 2 – 4 نموات بعد ثمانية أسابيع من الزراعة بين 50 إلى 80 % مع تباين واضح بين الأصناف بالنـــسبة لمعـــدل التطور فقد تفوق الصنف بيلزا (معدل التطور 80.02%) ذو الأزهار الحمراء اللون على باقي الأصناف، في حين لم يظهر الصنفان تنيكا (الأصفر) وسوســـيت (البرتقـــالي) أيـــة فروق معنوية بينهما وتفوقا على الصنفين داندي (الزهر) ووايت سان سيشين (الأبـــيض) الذي أعطى أقل معدل للتطور (50.11%) كما هو موضح في الجدول(2).

الجدول (2) معدل تطور النموات الخضرية المتكونة من البراعم القاعدية للخزعات المزروعة بدءاً من الأقراص الزهرية معبراً عنها بالنسبة المئوية(%).

الصنف	بليزا	سوسيت	داندي	وايت سنسيشين	تنيكا
لون البتلات	أحمر	برتقالي	زهر	أبيض	أصفر
معدل التطور	80.02 a	68.14 b	60.97 c	50.11 d	72.86 b

تدل الأحرف المتشابهة على عدم وجود فروق معنوية على مستوى (5%) حسب اختبار دونكان (Duncan's test).

وتتطابق هذه النتائج مع ما توصل إليه عدد من الباحثين على أصـــناف أخـــرى مـــن الجربيرا (Tosca *et al.,*1990; Henrique *et al.*, 1994; Nowak *et al.,* 1997). ويمكن تفسير ذلك بالاختلاف في طبيعة النمو بين الأصناف المهجنة والسلالات الخاصـــة بهذا النوع النباتي. قام (Conti *et al.,* 1992) باختبار قدرة أنماط وراثية جديـــدة علـــى الاستجابة لطرائق الإكثار الخضري الدقيق حسب طريقـــة (Laliberté *et al.*, 1985)، لكن فقط من أصل 30 نمطاً، 5 أنماط أعطت استجابة مرضية.

2- طور الإكثار والاستطالة:

أ- تأثير نوع السيتوكينين وتركيزه في معدلات الإكثار واستطالة النموات الناتجة:

نقلت النموات المتكونة في طور الزراعة الأولية إلى أوساط الإكثار المختلفـــة التـــي تحتوي أو لا تحتوي على سيتوكينين. وكررت عملية النقل مرة كل أربعة أسابيع. وتبـــين

النموات أن نبات الجربيرا يتمتع بقدرة كبيرة على تكوين النموات الجانبية خلال الإكثارات العشرة التي تلي نقل النمو الناتجة عن الزراعات الأولية دون وجود فروقات معنوية بين هذه الإكثارات (نتائج غير منشورة). وأن معدلات الإكثار تنخفض بعد الإكثار العاشر على جميع الأوساط، لذلك يفضل بعد هذا الإكثار إعادة الزراعة الأولية من جديد. واستناداً إلى ذلك أُخذت القراءات على نموات تطورت خلال شهر من النقل بعد الإكثار الخامس. يبين الجدولان (3، 4) أن معدلات الإكثار تزداد طرداً مع ازدياد تركيز السيتوكينين في الوسط. يلاحظ فرق واضح بين الشاهد الخالي من السيتوكينين والأوساط الأخرى التي تحتويه. حيث تراوح عدد النموات الممكن الحصول عليها خلال هذا الإكثار على الأوساط التي تحتوي على تراكيز مختلفة من البنزيل أمينو بورين (BAP) بين 1.38 بالنسبة للتركيز 0.5 ملغ/ل BAP، و5.16 نمواً جانبياً بالنسبة للتركيز 5.0 ملغ/ل BAP كما هو موضح في الجدول (3). في حين تراوحت هذه المعدلات بين 1.67 نمواً جانبياً بالنسبة للتركيز 2.5 ملغ/ل Kin، و5.31 نمواً جانبياً بالنسبة للتركيز 7.5 ملغ/ل Kin (الجدول 4). لأن السيتوكينين يتحكم بمعدل تمايز الخلايا الجنينية وهذه تحدد أبعاد الخلية الجنينية عبر مستقبلين هما Kinoase، Histidine المتحكم بهذه الآلية (Ioio *et al.*, 2007).

الجدول (3) تأثير البنزيل أمينو بورين (BAP) في معدل الإكثار ومتوسط استطالة النموات المتكونة (سم) خلال شهر من النقل بعد الإكثار الخامس. تعبر (م..إ) عن معدلات الإكثار، و(إ.ط) عن استطالة النموات(سم).

الصنف		بيلزا		سوسيت		داندي		وايت سان سيشين		تنيكا	
لون البتلات		أحمر		برتقالي		زهر		أبيض		أصفر	
المعايير		م.إ	إ.ط	م.إ	إ.ط	م.إ	إ.ط	م.إ	إ.ط	م.إ	إ.ط
تركيز البنزيل أمينو بورين (BAP) ملغ/ل	0.0	0.82a	2.70a	0.64a	3.81a	0.73a	4.61a	0.58a	3.98a	0.91a	4.28a
	0.5	2.61b	2.46b	2.31b	3.64b	2.45b	4.76b	1.38b	3.88b	3.23b	4.22ab
	1.0	4.33c	2.35c	3.76c	3.47c	3.82c	4.55c	3.66c	3.76c	5.14c**	4.03c
	2.5	4.69d	2.31c	4.02d	3.42c	3.88cd	4.37d	3.62c	3.64d	4.97c	4.07c
	5.0	4.64d	2.25d	3.96d	3.28d	3.94d	4.29d	3.58c	3.68d	5.16c	3.96c

تدل الأحرف المتشابهة على عدم وجود فروق معنوية على مستوى (95%) حسب اختبار دونكان (Duncan's test) بالنسبة لكل معيار وكل صنف على حدة. (**) تدل على المعاملة والصنف الأكثر تفوقاً بالمقارنة مع المعاملات والأصناف الأخرى.

أما فيما يتعلق باستطالة النموات الخضرية المتكونة. تبين النتائج أن متوسط استطالة النموات يتناسب عكساً مع زيادة تركيز السيتوكينين BAP في الوسط المغذي. وقد أعطى الوسط الخالي من السيتوكينين أفضل استطالة للنموات المتكونة (الجدولان 3، 4). وأوضحت النتائج إمكانية الحصول على معدلات إكثار مرتفعة على الأوساط التي تحتوي على 1–5 ملغ/ل من البنزيل أمينو بورين (BAP) و5–10 ملغ/ل من الكينيتين (Kin)، مع وجود فروق معنوية واضحة بين السيتوكنينين وبين الأصناف من حيث معدلات الإكثار ونوعية النموات المتشكلة واستطالتها.

الجدول (4) تأثير الكينتين(Kin) في معدل الإكثار ومتوسط استطالة النموات المتكونة (سم) خلال شهر من النقل بعد الإكثار الخامس. تعبر (م.إ) عن معدلات الإكثار، و(إ.ط) عن استطالة النموات (سم).

الصنف		بيلزا		سوسيت		داندي		وايت سان سيشين		تنيكا	
لون البتلات		أحمر		برتقالي		زهر		أبيض		أصفر	
المعايير		م.إ	إ.ط	م.إ	إ.ط	م.إ	إ.ط	م.إ	إ.ط	م.إ	إ.ط
تركيز الكينتين (Kin) ملغ//ل	0.0	0.92a	2.71a	0.74a	4.03a	0.78a	4.94a	0.62a	4.82a	1.04a	4.23a
	2.5	2.36b	2.61b	1.93b	3.98ab	1.67b	4.77b	1.93b	4.41b	2.98b	4.06b
	5.0	4.37c	2.55c	3.97c	3.88c	3.69c	4.62c	3.67c	4.34c	5.27c	3.96b
	7.5	4.62d	2.50c	4.18d	3.82c	3.80c	4.68c	3.69c	4.26c	5.31c**	4.00b
	10	4.60d	2.49c	4.21d	3.73c	3.62c	4.65c	3.72c	4.29c	5.11 c	3.92b

تدل الأحرف المتشابهة على عدم وجود فروق معنوية على مستوى (95%) حسب اختبار دونكان (Duncan's test) بالنسبة لكل معيار وكل صنف على حدة. (**) تدل على المعاملة والصنف الأكثر تفوقاً بالمقارنة مع المعاملات والأصناف الأخرى.

وتظهر نتائج تأثير البنزيل أمينو بيورين (BAP) في معدل الإكثار وفي متوسط استطالة النموات المتكونة فروقاً معنوية ما بين المعاملات، حيث لوحظ ازدياد معدل الإكثار في كل الأصناف عند تركيز 1.0 و5.0 ملغ/ل من بنزيل أمينو بيورين، وقد كان التركيز 2.5 ملغ/ل متفوقاً على باقي المعاملات، إلا في الصنف تنيكا الذي تفوق على جميع الأصناف، حيث بلغ معدل الإكثار عند تركيز 1.0 ملغ/ل 5.14 نمواً متطوراً بالمقارنة مع الأصناف الأخرى. وتباينت نتائج معدل الإكثار واستطالة النموات المتكونة بين الأصناف المدروسة، وأعطى التركيز 1.0 ملغ/ ل أفضل نوعية للشتول من أجل إعادة الإكثار أو نقلها على وسط تجذير بالمقارنة مع معدلات الإكثار (جدول 3).

تظهر نتائج تأثير الكينيتين (Kin) في معدل الإكثار وفي متوسط استطالة النموات المتكونة فروقاً معنوية ما بين المعاملات، حيث لوحظ ازدياد معدل الإكثار في كل الأصناف عند تركيز 5.0 ملغ/ل من الكينيتين، كانت أعلاها في الصنف تنيكا، حيث بلغ معدل الإكثار عند تركيز 5.0 ملغ/ل 5.27 نمواً متطوراً، وتباينت نتائج معدل الإكثار واستطالة النموات المتكونة بين الأصناف المدروسة، وأعطى التركيز 5.0 ملغ/ ل أفضل نوعية للشتول من أجل إعادة الإكثار أو نقلها على وسط تجذير بالمقارنة مع معدلات الإكثار (جدول 4)، وتشابهت نتائج تأثير كل من البنزيل أمينو بيورين (BAP) والكينيتين (Kin) في معدل الإكثار واستطالة النموات بالنسبة للتراكيز 1.0 ملغ/ل من BAP و5.0 ملغ/ل من Kin (جدولان 3 و4). ولم نلاحظ أي ارتباط بين معدلات التطور في مرحلة الزراعة الأولية ومعدلات الإكثار (جدول 2).

من المعروف فيزيولوجياً أن السيتوكينين يزيد من معدل نمو البراعم الجانبية والعرضية (Chikhale *et al.,* 2004)، ويثبط استطالة النموات المتكونة (Severin *et al.,* 2000; Vardja and Vardja, 2001). حيث وجد

(Wozniak *et al.,* 1982) أن التركيز الأولي للكينيين (10 ملغ/ل) أصبح ساماً بعد عدة نقلات، وأن تركيز 3–5 ملغ/ل، تبعاً للصنف، قد أعطى معدل إكثار أسرع ونموات ذات نوعية أفضل وهذا يتطابق مع النتائج التي توصلنا لها في هذا البحث بالنسبة لهذا السيتوكينين (Orlikowska *et al.,* 1999; Sharma and Srivastava, 2005). كما أن التطبيق المعتاد هو أن إضافة الكينيتين إلى وسط النمو، والتركيز الأكثر فعالية منه يختلف تبعاً للصنف المراد إكثاره. وقد وجد (Hempel *et al.,* 1985; Blakesley and Lenton, 1987) أنه على الرغم من أن معدل إكثار النموات الخضرية كان مرتفعاً عند إضافة 0.5 – 1.25 ملغ/ل من BAP إلى بيئة (Murashige *et al.,* 1974)، فإن النموات يمكن أن تصاب بالشفافية بوجود هذا السيتوكينين (Hempel *et al.,* 1985; Dencso, 1987; Kataeva *et al.,* 1991)، ولابد من الإشارة هنا إلى أنه لم تلاحظ أية أعراض لظاهرة الشفافية (Vitrification) على النموات المتكونة في شروط تجربتنا كلها وعلى الأوساط المدروسة كلها من كلا الهرمونيين، وهذا يعني أن هذه الظاهرة متعلقة بالصنف وطبيعة استجابته لهذا السيتوكينين وحساسية الصنف (Blakesley and Lenton. 1987)، وبظروف تنفيذ التجربة (Matysiak and Nowak. 2001; Chikhale et al. 2004). ويعزى هذا التباين في تأثير السيتوكينين على معدل إكثار واستطالة النموات إلى نوعية السيتوكينين وقدرة الصنف على امتصاصه واستقلابه (Reynoird et al. 1997).

أوضح Blakesley and Constantine, 1992 بمقارنة أشكال من استقلاب بنزيل أمينو بورين في نموات مجموعة من الأنواع المزروعة مخبرياً، أن الجبريرا تتأثر بشكل خاص، فهي تدخر كمية أكبر من الغلكوزيدات بالمقارنة مع أنواع أخرى، وقد بين Blakesley, 1991 أن محتوى البنزيل الأدنين الحر لا يظهر إلا آثارا قليلة في النموات المتشكلة. ورغم المعلومات القليلة عن تنظيم السيتوكينين المرتبط، يمكن قبول أن استجابة الأشكال المختلفة من التعضي الوراثي لنموات عدة أنواع مختلفة من الجربيرا وبين تطور واستطالة الأوراق النامية مخبرياً، تتعلق باختلاف امتصاص السيتوكينين الخارجي واستقلابه.

وعند التحديد الكمي محتوى السيتوكينينات واندول استيك اسيد (IAA) الداخلية في خزع ورقية لسلالات الجربيرا الهجينة النامية على وسط الإكثار، وجد Reynoird, 1996 أن السيتوكينينات الموجودة في زمن المعايرة لم يكن لها أية فعالية. وقد أظهر Reynoird *et al.,* 1997 أن الزياتين الحر المتراكم في البراعم والأوراق الفتية يزداد في السلالات المستجيبة، في حين يزداد السيتوكينين المرتبط بالغلكوزيدات في السلالات غير المستجيبة. هذه النتائج سلطت الضوء على أهمية محتوى الأوراق من السيتوكينيات الداخلية في الأوراق النامية على وسط الإكثار، في حين كانت الاختلافات قليلة في استقلاب السيتوكينيات الخارجية بين السلالات المدروسة.

ب- تأثير إضافة الآدنينن سلفات في معدلات الإكثار ونوعية النموات:

يبين الجدول (5) تأثير إضافة الأدنين سلفات إلى أوساط دون كينيتين أو بوجود 5 ملغ/ل كينيتين، ويبدو ازدياد في معدل الإكثار واستطالة النموات عند إضافة الأدنين وبوجود 5 ملغ/ل كينيتين، حيث كان أعلى معدل إكثار لدى الصنف تنيكا الذي بلغ 5.34 نمواً بالمقارنة مع باقي الأصناف والمعاملات، وأعطى الصنف داندي أعلى معدل استطالة للنموات في كل المعاملات.

الجدول (5) تأثير إضافة الآدنين سلفات (AdS) على أوساط بدون كنيتن أو بوجود 5 مع /ل من الكنيتين(Kin) في معدل الإكثار ومتوسط استطالة النموات المتكونة(سم) خلال شهر من النقل بعد الإكثار الخامس.تعبر (م.أ) عن معدلات الإكثار، و(إ.ط) عن استطالة النموات(سم).

الصنف	بيلزا		سوسيت		داندى		وايت سان سيشين		تنيكا	
لون البتلات	أحمر		برتقالي		زهر		أبيض		أصفر	
المعاملات ملغ/ل_ المعايير	م.إ	إ.ط	م.إ	إ.ط	م.إ	إ.ط	م.إ	إ.ط	م.إ	إ.ط
AdS 80 + Kin 0	2.46a	2.62a	2.63a	4.26a	2.35a	4.78a	2.18a	4.36a	3.37a	4.06a
AdS 0 + Kin 5	4.16b	2.64a	3.67b	3.85b	3.14b	4.61b	3.71b	4.41a	4.62b	3.98b
AdS 80 + Kin 5	4.56c	2.48b	4.29c	3.79b	3.84c	4.68b	4.00c	4.28a	5.34c**	3.84b

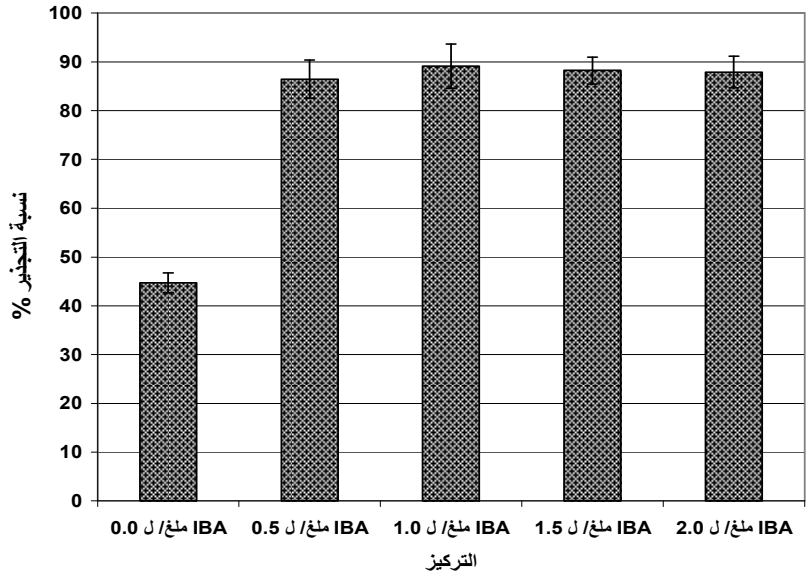
تدل الأحرف المتشابهة على عدم وجود فروق معنوية على مستوى (95%) حسب اختبار دونكان (Duncan's test) بالنسبة لكل معيار وكل صنف على حدة. (**) تدل على المعاملة والصنف الأكثر تفوقاً بالمقارنة مع المعاملات والأصناف الأخرى.

وقد بينت نتائج التجارب أن وجود الأدنين سلفات في أوساط الإكثار يعدُّ عاملاً إيجابياً في تحسين معدلات الإكثار ونوعية النموات المتشكلة على عكس النتائج التي توصل إليها باحثون آخرون (Soczek and Hempel. 1988; Barbosa *et al.,* 1993).

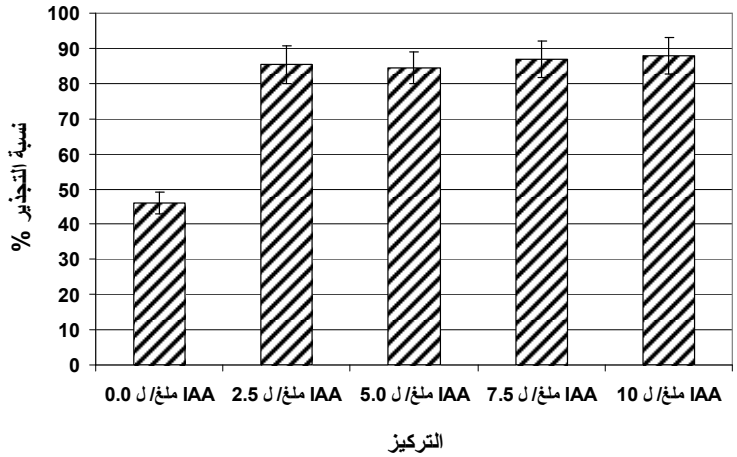
3- التجذير:

أ- تأثير نوع الأوكسين وتركيزه في معدلات التجذير:

لوحظ بعد شهر من الزراعة ازدياد نسبة التجذير طرداً مع ازدياد تركيز الأوكسين في الوسط. ولم تظهر التراكيز المختلفة من الأوكسين أية فروق معنوية في نسبة التجذير بين المعاملات أو الأصناف. بينما لوحظ وجود فرق واضح بين الشاهد الخالي من الأوكسين (نسبة التجذير: 44.71±2.03% بالنسبة لتجربة IBA و46.12±3.10% بالنسبة لتجربة IAA) والأوساط الأخرى التي تحتوي على الأوكسين (IBA أو IAA)، وتراوحت هذه النسبة بين الحد الأدنى 86.47 ± 3.92 % بالنسبة للوسط 0.5 ملغ/ل من IBA، والأعلى 89.12±4.55% بالنسبة للتركيز 1.0 ملغ/ل من BAP (الشكل1)، و85.32 ±5.34% بالنسبة للتركيز 2.5 من IAA و87.91±5.01% بالنسبة للتركيز 10 ملغ/ل من IAA (الشكل2). مما يدل على أن الأوكسين ينشط بشكل واضح تكوين الجذور، ويؤديان دوراً كبيراً في تنشيط الانقسام الخلوي للطبقة المولدة للكامبيوم مما يزيد من تكوين البداءات الجذرية وزيادة تكوين الجذور (Hartmann *et al.,* 1990). في حين كان هناك تفاوت في عدد الجذور المتكونة وأطوالها.



الشكل (1) تاثير إندول حمض الزبدة (IBA) في نسبة تجذير نموات الجربيرا الناتجة عن الإكثار بعد شهر من زراعتها. (المتوسط ± SE)



الشكل (2) تأثير إندول حمض الخل (IAA) في نسبة تجذير نموات الجربيرا الناتجة عن الإكثار بعد شهر من زراعتها (المتوسط ± SE).

ب- تأثير نوع الأوكسين وتركيزه في نوعية الجذور المتشكلة

تظهر نتائج تأثير استخدام إندول حمض الزبدة (IBA) في طول وعدد الجذور المتشكلة، ارتفاع عدد الجذور المتشكلة على النموات وعدد هذه الجذور، حيث أعطت المعاملة 1.0 ملغ/ أندول حمض الزبدة أعلى معدل لطول الجذور في الصنف تنيكا وذلك بالمقارنة مع باقي المعاملات والأصناف (جدول 6). بينما أظهر التركيز 2 ملغ/ من أندول حمض الزبدة أعلى معدل لعدد الجذور وذلك في الأصناف المدروسة كلها، وكان أعلاها في الصنف وايت سان سيشين (5.27) جذراً (جدول 6).

الجدول (6) تأثير إندول حمض الزبدة(IBA) في متوسط طول الجذور المتشكلة(ط.ج) مقدرة بالسم وعددها(ع.ج) بعد 21 يوماً من النقل على وسط التجذير.

الصنف		بليزا		سوسيت		داندي		وايت سان سيشين		تنيكا	
لون البتلات		أحمر		برتقالي		زهر		أبيض		أصفر	
المعايير		ط.ج	ع.ج	ط.ج	ع.ج	ط.ج	ع.ج	ط.ج	ع.ج	ط.ج	ع.ج
تركيز إندول حمض الزبدة (IBA)	0.0	3.63a	1.58a	3.77a	1.32a	4.01a	1.13a	3.83a	1.30a	4.11a	1.28a
	0.5	2.68b	3.42b	2.42b	3.61b	3.13b	2.94b	2.91b	3.14b	3.22b	4.06b
	1.0	2.41c	3.64c	2.34c	3.81c	2.44c	3.21c	2.54c	3.49c	2.98c	3.98b
	1.5	2.18d	4.48d	1.59d	4.68d	1.79d	3.87d	1.83d	4.58d	2.24d	4.01b
	2.0	1.72e	4.91e	1.60d	5.14c	1.43e	4.33e	1.61e	5.27e	1.84e	3.96b

تدل الأحرف المتشابهة على عدم وجود فروق معنوية على مستوى (95%) حسب اختبار دونكان (Duncan's test) بالنسبة لكل معيار وكل صنف على حدة.

أما تأثير استخدام إندول حمض الخل (IAA) في طول وعدد الجذور المتشكلة، فقد ازداد معدل طول الجذور مع ازدياد التركيز وذلك في الأصناف المدروسة كافة، وكانت أعلاها في الصنف وايت سان سيشين، حيث بلغ متوسط طول الجذور عند تركيز 10 ملغ/ل، 5.46 سم (جدول 7). بينما أظهر تركيز 5 ملغ/ل من أندول حمض الخل أعلى عدد من الجذور المتشكلة كان في الصنف تنيكا حيث بلغ 3.11 (جدول 7).

إن معيار نسبة التجذير وحده غير كاف للحكم على تجذير العينات داخل الأنابيب، ويجب أن تكون الجذور المتكونة ذات نوعية جيدة. حيث تتعلق نوعية الجذور المتكونة بعدة معايير، أهمها: عدد الجذور المتكونة، واستطالة الجذور، وتكوين التفرعات الجذرية الجانبية، ونسبة الكنب (الكالوس) المتشكل على قواعد الأجزاء النباتية، وثخانة الجذور، ومن خلال التجربة، لوحظ أن نسبة الكنب (الكالوس) المتشكلة على قاعدة العينات وعدد الجذور وثخانتها تزداد كلما ارتفع تركيز الأوكسين في الوسط، في حين يقل معدل استطالة الجذور وتكوين التفرعات الجذرية الجانبية كلما ارتفع تركيز الأوكسين (IBA) في وسط الزراعة (الجدولان 6 و7).

الجدول (7) تأثير إندول حمض الخل(IAA) في متوسط طول الجذور المتــشكلة(ط.ج) مقــدرة بالسم وعددها(ع.ج) بعد 21 يوماً من النقل على وسط التجذير.

الصنف		بليزا		سوسيت		داندي		وايت سان سيشين		تنيكا	
لون البتلات		أحمر		برتقالي		زهر		أبيض		أصفر	
المعايير		ط.ج	ع.ج	ط.ج	ع.ج	ط.ج	ع.ج	ط.ج	ع.ج	ط.ج	ع.ج
تركيز إندول حمض الخل IAA	0.0	3.95a	1.34a	4.00a	1.02a	3.84a	1.20a	4.03a	1.24a	3.64a	1.36a
	2.5	4.18b	2.11b	4.60c	1.87b	4.31b	1.86b	4.41b	1.79b	3.88b	2.27b
	5.0	4.77c	2.59e	4.48b	2.32c	4.74d	2.63d	4.66c	2.57c	4.24c	3.11e
	7.5	5.12d	2.41d	4.87d	2.29c	4.48c	2.23c	5.07d	2.54c	4.62d	2.68d
	10	5.36e	2.33c	5.04e	2.24c	4.77d	1.98b	5.46e	2.51c	5.10c	2.36c

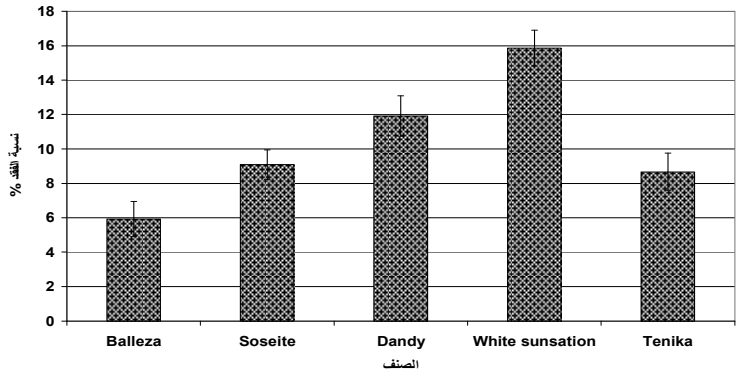
تدل الأحرف المتشابهة على عدم وجود فروق معنوية على مستوى (5%) حسب اختبار دونكــان (Duncan's test) بالنسبة لكل معيار وكل صنف على حدة.

أعطت التراكيز 0.5 – 2.0 ملغ/ل(IBA) و5.0 – 10ملغ/ل(IAA) نوعية جيدة من الجذور. ولوحظ وجود اختلافات في طول ونوعية الجذور وعددها تبعاً لتركيز الأوكسين ونوعه، والأصناف، حيث تفوقت الأصناف تنيكا (Tenika) وبيلزا (Belleza) ووســيت (Soseite) على داندي (Dandy) ووايت سان سيشين (White sunsation)، كما لوحظ أن النموات التي جذرت على الأوساط التي تحتوي IBA تميــزت بجــذور ذات نوعية أفضل من النموات التي جذرت على أوساط تحتوي علــى IAA. وتتوافــق هــذه النتائج مع نتائج بحوث عديدة أجريت علــى أصــناف أخــرى (Maia *et al.,* 1983; Orlikowska *et al.,* 1999; Aswath and Coudhury, 2002; Sharma. and Srivastava, 2005)

4- نقل النباتات إلى الظروف الطبيعية(التقسية):

كانت نسبة الفقد خلال مرحلة التقسية منخفضة عموماً في الأصناف كلها مع وجــود فوارق معنوية بينها حيث تفوق الصنف بيلزا معنوياً على بــاقي الأصــناف (الــشكل 3) وبلغت المعدلات الآتية:

- 5.93 ± 1.03% في الصنف بيلزا (Belleza).
- 8.67 ± 1.08% في الصنف تنيكا (Tenika) و9.08 ±0.87% فــي الــصنف سوسيت (Soseite)
- 11.92 ± 1.17% في الصنف داندي (Dandy). .
- 15.86 ± 1.05% في الصنف وايت سانسيشين (White sunsation).



الشكل (3) نسبة الفقد في شتول نبات الجربيرا المجذرة مخبرياً بعد شهرين من عملية التقسية (المتوسط ± SE).

وتعّد نسب نجاح نمو الشتول في مرحلة التقسية مرتفعة بالمقارنة مع النتائج التي توصل إليها (Sato *et al.,* 1999; Aswath and Coudhury, 2002; Hazarika, 2003). وتعزى التباينات في نسبة الفقد بين الأصناف إلى إختلاف في قدرتها على بناء الطبقة الشمعية خلال مرحلة التجذير (Hempel *et al.,* 1985; Matysiak and Nowak, 2001; Podwyszynska and Gabryszewska, 2003).

بينت النتائج في ظروف هذا البحث أن سلوك الصنف وصفاته تؤديان دوراً كبيراً في تحديد مدى تطور النموات من الأقراص الزهرية حيث وجد أن الأصناف التي تعطي أزهاراً صفراء أو حمراء اللون أسرع تطوراً من الأصناف التي تعطي أزهاراً برتقالية أو زهرية أو بيضاء بالترتيب.

كما أن لنوعية وتركيز السيتوكينين والأوكسين دوراً مهماً في تحديد نوعية النموات المتشكلة والشتول المخبرية بغض النظر عن الصنف ولون أزهاره. حيث أعطت أوساط الإكثار التي تحتوي على الكنيتين (Kin) نوعية أفضل من النموات المتشكلة بالمقارنة مع الأوساط التي تحتوي على بنزيل أمينو بورين (BAP)، بينما لم تكن هناك فروق معنوية في معدلات الإكثار بين الهرمونين بغض النظر عن التركيز، في حين أن النموات التي جذرت على الأوساط التي تحتوي IBA تميزت بجذور ذات نوعية أفضل من النموات التي جذرت على أوساط تحتوي على IAA.

في النهاية لنجاح عملية إكثار نبات الجربيرا مخبرياً يفضل تحديد صفات وسلوك الأصناف من حيث طبيعة النمو ومورفولوجيته.

REFERENCES المراجع

Aswath, C. and Choudhury, M. L., (2002). Mass propagation of gerbera (*Gerbera jamesonii*) through shoot culture. *Indian J. Hortic*, 59, 95–99.

Barbosa, M. H. P., PasqualL, M., Pinto, J. E. B. P., and Pinto, C. A. B. P. (1993). *In vitro* propagation of *Gerbera jamesonii* Bolus ex Hock cv. Applebloesem: Effect of adenine, tyrosine and salts concentrations of MS medium. Cienc. Prat. 17, 151–154.

Blakesley, D. and Lenton, J. R., (1987). Cytokinin uptake and metabolism in relation to *Gerbera* shoot multiplication *in vitro*. Plant Growth Regulator Group 28, 87–99.

Blakesley, D. and Constantine, D., (1992). Uptake and metabolism of 6-benzyladenine in shoot cultures of a range of species. Plant Cell Tissue Organ. 28: 183-186.

Blakesley, D., Lenton, J. R., and Horgan, R., (1991). Uptake and metabolism of 6-benzyladenine in shoot cultures of *Gerbera jamesonii*. Physiol Plant. 81: 343-348.

Dencso, I. (1987). Factors influencing vitrification of carnation and conifers. Acta Hortic. 212:167-176.

Chikhale, N. J., Bokey, A. H., and Rai, M. K. (2004). Micropropagation studies in gerbera (*Gerbera jamesonii*). Recent trends in biotechnology, Jodhpur, Scientific, 2004: 171-176.

Conti, L., Frangi, P., Tosca, A. and Verga, P. (1992). Breeding clones of *Gerbera jamesonii* HYBR. Suitable to micropropagation and pot cultivation. Acta Hort. (ISHS) 300:103-106.

Elooma, P., Honkanen, J., Puska, R., Seppanen, P., Helariutta, Y., Mehto, M., Kotilainen, M., Nevalainen, L., and Teeri, T. H., (1993). Agrobacterium mediated transfer of antisense chalcone synthase cDNA to *Gerbera hybrida* inhibits flower pigmentation. Bio/Technology 11, 508–511.

Hartmann H., Kester, D.E., and Davies, F.T. (1990). Plant propagation, principles and practices. Ed., Englewood Cliffs, New Jersey 07632, U.S.A, 647pp.

Hazarika, B. N. (2003). Acclimatization of tissue-cultured plants. CURRENT SCIENCE, VOL. 85, NO. 12.

Hempel, M. (1985). The influence of micropropagation on progeny plants. Acta. Hort. 167, 263 – 272.

Hempel, M., Petos-Witkowska, B., and Tymoszuk, J., (1985). The influence of cytokinins on multiplication and subsequent rooting of *gerbera in vitro.* Acta Horticulturae 167: 301-305

Henrique, M., Barbosa, P., Pinto, J. E. B. P., Pinto, C. A. B. P., and Innecco, R. (1994). *In vitro* propagation of *Gerbera jamesonii* Bolus ex Hook Appelbloesum using young capitilum. Rev. Ceres. 41, 386–395.

Huang, M.C. and C.Y. Chu. (1985): A scheme for commercial multiplication of *Gerbera* (*Gerbera hybrida* Hort.) through shoot tip culture. Journal Japan Society of Horticultural Science 54: 94-100.

Huang, H. and Shenghui., L. (2001). Tissue culture of *Gerbera jamesonii* Bolus. Jishou Daxue Xuebao Ziran Kexueban. 22, 35–41.

Ioio, R.D., Linhares, F.S., Scacchi, E., Casamitjana-Martinez, E., Heidstra, R., Costantino, P., and Sabatini S. (2007). Cytokinins determine Arabidopsis root-meristem size by controlling cell differentiation. Curr Biol. 17(8), 678 - 682

Jerzy, M. and Lubomski, M. (1992). *In vitro* adventitious bud techniques for mutation breeding of *Gerbera jamesonii* . Acta Hort. 314, 269 – 274.

Jones, J.B. and Murashige, T. (1974). Tissue culture propagation of *Aechmea fasciata* Baker and other bromeliads. Proc. Inter. Plant Prop. Soc. 24: 117-126.

Kataeva N. V., Alexandrova I. G., Butenko R. G., and Dragavtceva E.V. (1991). Effect of applied and internal hormones on vitrification and apical necrosis of different plants cultured *in vitro*. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 27: 149-154.

Kumar, S., Kanwar, J. K., and Sharma, D. R. (2004). *In vitro* regeneration of *Gerbera jamesonii* Bolus from leaf and petiole explants. Journal of Plant Boichemistry ant Biotechnology. Vol. 13; Part. 1, 73-76.

Kurepin, L.V., Emery, R.J., Pharis, R.P., and Reid, D.M. (2007). The interaction of light quality and irradiance with gibberellins, cytokinins and auxin in regulating growth of *Helianthus annuus* hypocotyls. *Plant, Cell and Environ*. 30(2). 147 - 155.

Laliberté, S., Chretien, L., and Vieth, J. (1985). *In vitro* plantlet production from young capitulum explants of *Gerbera jamesonii*. HortScience, 20, 137 – 139.

Maia, E., D. Poupet, B. A., and Bettachini, B. (1983). *In vitro* vegetative propagation of *Gerbera jamesonii* Bolus. Compte Rendue Academie Science Paris III 296: 885-887.

Matysiak, B. and Nowak, J. (2001). Carbon dioxide enrichment light leavel and minerial nutrition for stimulation of growth of *in vitro* propagated *Gerbera*. Propagation of Ornamental Plants. 1(1): 20-24.

Meynet, J. (1983). Effects of *in vitro* propagation on the. further growth behaviour of some *Gerbera* varieties. Ag-. ronomie 3:839-846

Murashige, T. and Skoog, F. (1962): Arevised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15, 473–497.

Murashige, T., Serpa, M., and Jones, J.B. (1974). Clonal multiplication of *Gerbera* through tissue culture. HortScience, 9 3: 175-180.

Nowak, E.,Makoweka, Z., Kucharska, D., and Orlikowska, T. (1997). The influence of initial explant on transformation effectiveness of *Gerbera hybrida*. Biotechnologia 4, 27–38.

Orlikowska, T., Nowak, E.,Marasek, A., and Kucharska, D. (1999). Effects of growth regulators and incubation period on *in vitro* regeneration of adventitious shoots from *gerbera* petioles. Plant Cell Tissue Organ Cult. 59, 95–102.

Pierik, R. L. M. (1991). micropropagation of ornamental plants. Acta Hort., 289. 45 – 53 .

Pierik, R. L. M., Steegmans, H. H. M., and Marelis, J. J. (1973). *Gerbera* plantlets. from *in vitro* cultivated capitulum explants. Scientia Hortic. 1. 117–119.

Pierik, R. L. M., Jansen, J. L. M., Maasdam Y. A., and Binnendijk, C. M. (1975a). *Gerbera jamesonii in vitro*. Neth. J. Agric. Sci. 30: 341-346. 11.

Pierik, R.L.M., Jansen, J.L.M., Maasdam, Y. A., and Binnendijk, C.M. (1975b). Optimalization of *Gerbera* plantlet production from excised capitulum explants. Scientia Horticulturae 3: 351-357.

Pierik, R. L. M., Steegmans, H. H. M., Wouter, A. N., and Verhaegh, J. (1979). Nieuwe ontwikkelingen vegetatieve vermeerdering *gerbera* in kweekbuizen. Vakblad voor de Bloemisterij 34 (25), 36-37.

Pierik, R. L. M., Steegman, H. H. M., Verhaegh, J. A. M., and Wouters, A. N. (1982). Effect of cytokinin and cultivar on shoot formation of *Gerbera jamesonii in vitro*. Netherland Journal Agricultural Science 30: 341-346.

Podwyszynska, M. and Gabryszewska, E. (2003). Effect of red light on ex vitro rooting of rose and gerbera microcuttings in rock wool. Acta Hort. (ISHS) 616:237-243.

Reynoird, J. P. (1996). Controle de la regeneration a partir d`explants foliaires de *Gerbera*. These de doctorat de l´Univerite de Paris

Reynoird, J. P., D., Chriqui, M., Noin, S. B., and Marie, D. (1993). Plant regeneration from *in vitro* leaf culture of several *Gerbera* species. Plant Cell Tissue Organ Culture 33: 203-210.

Reynoird, J. P., Meynet, J., and Caissard, J.C. (1997). Micropropagation of gerbera. Biotechnology in Agiculture and Forestry. High-Tech and Micropropagation. VI. V. 4: 147-162.

Sato, A. Y., Carvalho Nannetti, D., dePinto J.E.B.P., Siqueira, J. O., de FA Blank, M., and de Carvalho Nannetti, D. (1999). Application of arbuscular mycorrhiza to micropropagated *heliconia* and *gerbera* plants during acclimatization period. Horticultura Brasileira. 17(1) : 25-28.

Severin, C., Gonzalez, M., and Murray, R. (2000). Micropropagation de *Gerbera* spp. A partir de differentes explanation. Revista. FAVE. 14 (1): 67-71.

Sharma. G. and Srivastava, R. (2005). Combination and concentration of growth regulators and explants for somatic embryogenesis in *Gerbera jamesonii*. J. agric. Issues 2005, 10(1), 7-11.

Soczek, U. and Hempel, M., (1986). Some aspects influencing efficiency of *gerbera* micropropagation. Prace Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarstwa w Skierniewicach, ser. B, 11, 117-124.

Thorpe. T. A. and Murashige, T. (1968). Starch Accumulation in Shoot-Forming Tobacco Callus Cultures *Science* . Vol. 160. no. 3826, pp. 421 - 422

Thorpe, T. A. and Murashige, T. (1970). Some histochemical changes underlying shoot initiation in tobacco callus cultures. Can. J. Bot. 48(2): 277–285.

Tosca, A., Lombardi, M., Marinoni, L., Conti, L. and Frangi, P. (1990). Genotype response to *in vitro* gynogenesis technique in *Gerbera jamesonii*. Acta Hort. 280:337-340.

Van Meeteren, U. and Van Gelder, H. (1980). Water relations and keeping quality of. cut gerbera flowers. V. Role of endogenous cytokinins. Societia Horticulturrae. 12(3): 273 – 281.

Vardja, R. and Vardja, T. (2001). The effect of cytokinin type and concentration and the number of subcultures on the multiplication rate of some decorative plants. Proc. Est. Acad. Sci. Biol. Ecol. 50, 22–32.

Wozniak, J., Hyndman, S. E., Strode, R. E., and Oglesby, R. P. (1982). Recent developments in *Gerbera* micropropagation. *In Vitro*. 18. 293.

Received	**2007/05/07**	**إيداع البحث**
Accepted for Publ.	**2007/07/15**	**قبول البحث للنشر**