تأثير الوسط المغذي في الإكثارالدقيق للأصل GF-677

عبد الكريم دقة [1]، وسيم إسماعيل محسن [2] ✉، سليم زيد [1]

ملخـــص

درس في هذا البحث تأثير الوسط المغذي المستخدم في إكثارنبات GF-677في الأنابيب ، حيث أخذت عقل مفردة بطول 0.5 – 1 سم تحتوي على برعم واحد من الأشجارالمزروعة في الحقل، زرعت الأجزاء النباتية المعقمة في الأوساطWPM وQLوMS وفق معاملات الإكثار المكونة من البنزيل أدنين بتركيز (2.2 – 4.4 – 6.6 – 8.8 ميكرو مول) و الإندول بيوترك أسيد بتركيز 1 ميكرو مول لكل منها،حيث أظهر الوسط WPM الحاوي على 8.8 ميكرو مول من البنزيل أدنين و 1 ميكرو مول من الإندول بيوترك أسيد أفضل نتيجة للإكثار و لكافة المؤشرات المدروسة (4.58 نمو). نقلتالنموات المتشكلة الى الأوساطWPM وQLوMSالمحتوية (2.46 –4.92 – 9.84 – 14.76 ميكرو مول)من الإندولبيوتر كأسيد، وتم الحصول على أفضل نسبة للتجذير (90%) بالوسط WPM الحاوي على 9.84 ميكرو مول من الإندول بيوترك أسيد. نقلت النباتات المكاثرة إلى أصص تحتوي مزيج من التورب والبيرليت بنسبة 1:2 (حجم/حجم) من أجل الأقلمة، وبعد شهر واحد نقلت إلى البيت الزجاجي ثم إلى الحقل. كانت نسبة الأقلمة 95%.

الكلمات الدالة: الوسط المغذي – الإكثار الدقيق– الأصل GF-677.

المقدمـــة

ينتمي أصل اللوزيات (*Prunusamygdalus*×GF-677 (*Prunuspersica*إلى الفصيلة الوردية Rosaceae وهو هجين طبيعي بين اللوز والدراق، يصل ارتفاع شجرة الأصل GF 677 إلى4.5 متر، ونتيجة لازدياد الطلب على غراس اللوزيات، فإنه من الضروري التفكير في طريقه سهلة يمكن من خلالها تأمين الطلب المتزايد على هذه الغراس من جهة، والحفاظ على مواصفاتها المهمة التي تتمتع بها من جهة أخرى.إن معظم الأصول التي تنتمي إلى الجنس *Prunus* صعبة التجذير، أو أن نسبة تجذيرها منخفضة بالطرق التقليدية، ونظراً لعدم إمكانية الحصول على غراس متماثلة ومتجانسة النمو من الأصول البذرية فقد 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.

وصف (Kamali *et al*., 2001) طريقة لإكثار الأصل GF-677 بتقنية زراعة النسج حيث استعمل البراعم القميه المرستيميه كأجزاء نباتية من أجل الزراعة، وتبين لديه أن أفضل وسط للإكثار هو Knop معدل مضافاً إليه 1 ملغ/ل من BAو 0.2 ملغ/ل من NAA، وأفضل وسط للتجذير هو الوسطLinsmaier and Skoog(LS) الذي يحتوي 0.3ملغ/ل من NAAو 1.6ملغ/ل من الثيامينحيث وصلت نسبة التجذير إلى80%، أما النباتات المزروعة على الوسط MS تساقطت أوراقها وماتت بعد فترة من الزراعة.وبين (Silveira*et al*., 2001) أن الأوساط MS و MS¾لم تبدي أي نتائج جيدة عند استخدامها في إكثار الأصل GF 677.

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

[2] قسم التقانات الحيوية، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دوما – ص. ب (113)، دمشق، سورية

Wasimm06@yahoo.com

تاريخ استلام البحث 2013/2/28 وتاريخ قبوله 2013/9/26.

 ©2014 عمادة البحث العلمي/ الجامعة الأردنية. جميع الحقوق محفوظة.

أما (Touqeer*et al*., 2003) درس تأثير وسط الزراعة ومنظمات النمو في إكثار الأصل677 GFحيث أظهرت النتائج أن الوسط MS والمزود بـــ0.9 ملغ/ل منBAP سببت تشكل الكالوسوظهور necrosis على البراعم القمية، وأفضل نتيجة للتجذير كانت باستعمال الوسط MS 1/2 بتركيز هرموني 3 ملغ/ل من IBA. ودرس (Tsipouridis and Thomidis, 2003) طرائق لتحسين زراعة الأصل GF-677 في الأنابيب *In vitro* واستنتجوا أن إضافة كمية مضاعفة من Mg + Zn + B إلى الوسط MS يحسن من النمو.

ودرس (Francini*et al*., 2004) تأثير زيادة تركيز النحاس في وسط الزراعة على معدل نمو الأصل GF 677حيث تبين أن نباتات الأصل GF 677 لم تظهر فروقات معنوية في قيم معدل النمو النسبي خلال التعرض لتراكيز متزايدة من النحاس في وسط الزرع.

قارن (Ning*et al*., 2007) بين الوسط WPM والوسط MSحيث درس معدل إكثار وتجذير ستة أصناف من النوع *Prunusmumue*، وقد أعطى الوسط WPM أفضل النتائج حيث بلغ عدد النموات المتشكلة (5.43) نمو وعدد الجذور(5.29) جذر وبلغت نسبة التجذير (94%).

أما (Hasan*et al*., 2010) وصف طريقة متكاملة لتجديد الأصل GF-677 من الأوراق، حيث درستأثير الوسط MS والوسط LP،وقدأظهرت النتائج أن الوسط LP تفوق على الوسط MS، وبلغت نسبة التجديد على الوسط LP29.85 % بينما كانت نسبة التجديد 20.88 %على الوسطMS.

أن هذا الأصل مدخل إلى القطر بأعداد قليلة وهو أصل متحمل للجفاف(Carrera, 1992)، ومقاوم للأمراض والحشرات والكلس (Gharbi and Jraidi, 1994)، وبما أن الإكثار الخضري لهذا الأصل صعب جداً (Stylianides*et al*., 1988)، وأنه من الصعب إكثاره عن طريق العقل بسبب صعوبة تجذيره (Ammer, 1999)، ولأن الإكثار الخضري الدقيق يعطي كمية كبيرة من النموات وبشكل أسرع بكثير من الإكثار بالطرق التقليدية (Kyriakidou and pontikis, 1983)،فلهذا هدف هذاالبحث إلى تطبيق تقنية زراعة الأنسجة النباتية في الإكثار الخضري الدقيق للأصل GF677 و دراسة تأثير نوع الوسط الغذائي المستخدم في إكثاره وتجذيره داخلالأنابيب.

مواد البحث وطرائقه:

نفذ هذا البحث في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية – قسم التقانات الحيوية ــوذلك خلال الأعوام 2010 – 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 حيث تم استيراد هذا الأصل من فرنسا، وهذه الأجزاء هي عبارة عن عقل صغيرة قمية و جانبية بطول 1 سم تحتوي على برعم مفرد.

مراحل تنفيذ البحث:

1- تحضير الأجزاء النباتية وتعقيمها:

جمعت الأجزاء النباتية ووضعت في أوعية زجاجية، ثم غسلت تحت الماء الجاري لمدة ساعة، ثم تم تعقيمها بالمبيد الفطري بيليكوت بتركيز 0.5% لمدة 15 دقيقة، وغسلت بالماء المقطر ثلاث مرات وذلك قبل إخضاعها للتعقيم السطحي تحت جهاز العزل الجرثومي، حيث عقمت بالكحول 70% لمدة دقيقة واحدة تلا ذلك التطهير السطحي باستخدام كلوريد الزئبق بتركيز 0.1% ولمدة 1 و 2 دقيقة، وقد أضيف محلول Tween 20 وبمعدل قطرة واحدة لكل 100 مل من محلول التعقيم من أجل خفض التوتر السطحي وزيادة تماس الأجزاء النباتية مع مادة التعقيم، وجرت عمليات التعقيم داخل جهاز العزل، وبعــد التعقيم غسلت ثلاث مرات بالماء المقطر المعقم. زرعت الأجزاء النباتية المعقمة بطول 0.5–1 سم فــي أنابيب الاختبارعلى وسط الزراعة التأسيسية WPM (Lloyd and McCown 1981) والخالي من منظمات النمو وذلك بمعدل 40 جزء نباتي (العقل القمية و الجانبيةبطول 0.5 – 1 سم) لمدة أربعة أسابيع، حيث استبعدت خلالها الأنابيب الملوثة، واعتبرت الأجزاء النباتية الحية والسليمة الأساس للتجارب اللاحقة.

2- إكثار الأجزاء النباتية الخالية من الملوثات:

بعد 4 أسابيع من الزراعة الأولية أخذت النموات الخضرية المتشكلة والخالية من الملوثات وزرعت فيالوسط المغذي WPM والوسط QLQuoirin and Lepoivre (1977) والوسط MS(Murashinge and Skoog 1962) وفق المعاملات الموضحة بالجدول رقم 1، حيث تمت الزراعة بأوعية زجاجية (11.5× 4.5) سم و وبمعدل 40 مكرر/معاملة وأضيف للوعاء 30 مل من الوسط المغذي. حضنت الزراعات في غرفة النمو (Growth room) بدرجة حرارة 23 ± 1 مْ وفترة إضاءة 16 ساعة و8 ساعات ظلام أثناء النمو، وكانت شدة إضاءة حوالي 2000- 3000 لوكس. حسبت النتائج في نهاية الأسبوع الرابع من الزراعة وأخذت القراءات التالية: عدد النموات المتشكلة /الجزء النباتي (نمو) وطول النمو الخضري المتشكل (سم).

جدول (1): تأثير الأوساط المغذية في إكثار الأصل GF-677

رمز المعاملة	مكونات المعاملة في الوسط WPM	مكونات المعاملة في الوسطQL	مكونات المعاملة في الوسطMS
1	2.2 µM BA+1 µM IBA	2.2 µM BA+1 µM IBA	2.2 µM BA+1 µM IBA
2	4.4 µM BA+1 µM IBA	4.4 µM BA+1 µM IBA	4.4 µM BA+1 µM IBA
3	6.6µM BA+1 µM IBA	6.6µM BA+1 µM IBA	6.6µM BA+1 µM IBA
4	8.8µM BA+1 µM IBA	8.8µM BA+1 µM IBA	8.8µM BA+1 µM IBA

3- تجذير النموات الخضرية:

نقلت النموات الخضرية المتشكلة في مرحلة الإكثار السابقة وبطول 1-2 سم إلى الأوساط WPM, QL, MS وفق المعاملات الموضحة بالجدول رقم 2،حيث تمت عملية الزراعة بأوعية زجاجية (11.5× 4.5) سم وبمعدل 20 مكرر/معاملة حيث أضيف للوعاء 30 مل من الوسط المغذي. حضنت الزراعات في غرف النمو. أخذت النتائج بعد أربعة أسابيع من الزراعة حيث حسبت النتائج وأخذت القراءات التالية:نسبة التجذير(%) و عدد الجذور(جذر) وطول الجذور(سم).

جدول (2): تأثير نوع الوسط المستخدم في تجذير الأصل GF-677

رمز المعاملة	مكونات المعاملة في الوسط WPM	مكونات المعاملة في الوسطQL	مكونات المعاملة في الوسطMS
0	0 µM IBA	0 µM IBA	0 µM IBA
1	0.98µM IBA	0.98µM IBA	0.98µM IBA
2	2.46 µM IBA	2.46 µM IBA	2.46 µM IBA
3	4.92 µM IBA	4.92 µM IBA	4.92 µM IBA
4	9.84 µM IBA	9.84 µM IBA	9.84 µM IBA
5	14.76 µM IBA	14.76 µM IBA	14.76 µM IBA

4- تقسية النباتات:

نقلت النباتات التي اجتازت مرحلة التجذير بنجاح إلى أوعية تحتوي خليطا مؤلفا من 1/2(حجم/حجم) من تورب/برليت من أجل عملية الأقلمة، حيث حضنت في ظروف غرف النمو وذلك لمدة أربع أسابيع مع فتح تدريجي للأكياس حتى إزالتها تماماً. حسبت بنهاية 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 التالية: درجة الحرارة 23 ± 1 ْم نهاراً و 16 ± 1 ْم ليلاً. فترة الإضاءة: 16 ساعة إضاءة و8 ساعات ظلام أثناء النمو و شدة الإضاءة: 2000 – 3000 لوكس عند مستوى الزراعات.

التحليل الإحصائي:

تم تحليل النتائج باستخدام البرنامج الإحصائي SPSS. حيث قورنت متوسطات 40 عينة نباتية لكل معاملة إكثار وبثلاث مكررات و 20 عينة نباتية لكل معاملة تجذير عند مستوى المعنوية % 0.05.

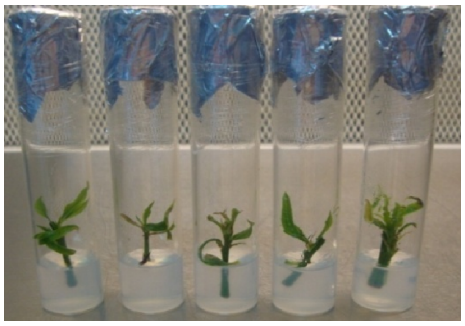
النتائجو المناقشة:

– الزراعة الأولية:

تم بنهاية مرحلة الزراعة الأولية تحديد النسبة المئوية للأجزاء النباتية الحية والسليمة،والتي وصلت إلى 82.66 % عند استخدام كلوريد الزئبق بتركيز 0.1 % لمدة دقيقة واحدة، وانخفضت إلى 57.33 % عند استعماله لمدة 2 دقيقة، وذلك بسبب ازدياد عدد البراعم الميتة(الجدول3).وبشكل عام فإن البراعم الحية والغير ملوثة قد بدأت بالنمو بعد 10 أيام من زراعتها على وسط الزراعة التأسيسية.الشكل (1).

جدول (3): كفاءة التعقيم 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	كلوريد الزئبق 0.1% لمدة 1 دقيقة	75	11	2	62	82.66
2	كلوريد الزئبق 0.1% لمدة 2 دقيقة	75	2	30	43	57.33



شكل رقم (1): الزراعة الأولية للأجزاء النباتية في الأوساط التأسيسية

وتتفق نتائجنا مع (Hosseini*et al*., 2011) حيث بين أن أفضل معاملة تعقيم لبراعم نبات المحلب هي كلوريد الزئبق بتركيز 0.1 % لمدة دقيقتين، وتختلف النتيجة التي حصلنا عليها مع ما توصل إليه (Lamriou*et al*., 2011)، حيث بين أن استعمال كلوريد الزئبق بتركيز 0.1 و 0.25 % لمدة 10 دقائق أثبت فعالية جيدةبالتخلص من البكتريا والفطريات،ومع (Kamali*et al*,. 2001) الذي حصل على أفضل معاملة تعقيم عند استعمال كلوريد الزئبق

بتركيز0.1 % لمدة 6 دقائق، ويعود هذا الاختلاف بزمن معاملة التعقيم إلى الاختلاف في كمية الملوثات الموجودة في العينة النباتية التي تم جمعها من الأشجار المزروعة تحت الشروط الطبيعية.

- تأثير نوع الوسط المستخدم في إكثار الأصل GF-677

بينت النتائج أن إكثار النموات الخضرية تتأثر بالعديد من العوامل، منها نوع السيتوكينين والأوكسين أو تركيزهما، وكذلك بنوع الوسط الغذائي المستعمل في الزراعة وغيرها من العوامل.

وأظهرت النتائج أنه لا يمكن إكثار الأصل GF-677 في الأوساط الغذائية المستخدمة دون تزويدها بالهرمونات النباتية، حيث لم تعط الأجزاء النباتية المزروعة في الأوساط الخالية من منظمات النمو (الشاهد) نموات جديدة، حيث بلغ متوسط عدد النموات 1.02 نمو، أما متوسط طولها 0.71 سم.

وتبين من خلال النتائج الموضحة بالجدول رقم (4) تفوق الوسط WPM على الأوساط الأخرى الـــوسط QL، والوسط MS من حيث عدد النموات الخضرية المتشكلة، ولم تكن الفروق معنوية في متوسط عدد النموات بين الوسط WPM والوسط QL وبكافة المعاملات المدروسة، ولكن كانت الفروق معنوية بين الوسط WPM والوسط MS وبين الوسط QL والوسط MS وخاصة في المعاملتين المزودتين بـــ 6.6 ميكرومول BA مع 1 ميكرمول IBA و 8.8 ميكرومول BA مع 1 ميكرمول IBA والتي أعطيتا أفضل النتائج بالنسبة لعدد النموات الخضرية المتشكلة. أما في المعاملتين المزودتين بـــ 2.2 ميكرومول BA مع 1 ميكرمول IBA و4.4 ميكرومول BA مع1 ميكرمول IBA فالفروق لم تكن معنوية بين كافة الأوساط المستخدمة بالتجربة (جدول 4).كما تظهر النتائج أن أفضل عدد للنموات تم الحصول عليه على الوسط WPM كان باستعمال BA بتركيز 8.8 ميكرومول حيث بلغ عددها 4.52 نمو، أما على الوسط QL فكان أفضل عدد للنموات (4.07 نمو) عند استعمال هرمون BAبتركيز6.6 ميكرومول، أماعلى الوسط MS فكان أفضل عدد للنموات (3.28 نمو) عند استعمال BAبتركيز4.4 ميكرومول.

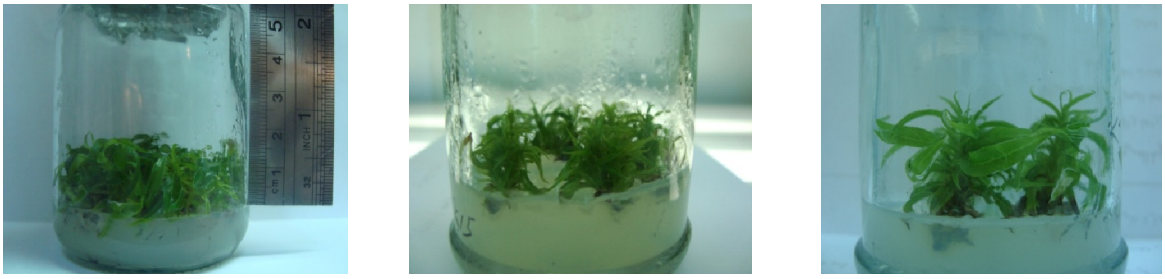
أما بالنسبة لطول النموات الخضرية فلم تظهر أي فروق معنوية بين الأوساط المستخدمة ويظهر ذلك في جميع المعاملات. ومن خلال الجدول (4) يتبين أن أفضل النتائج بالنسبة لمتوسط طول النموات سجلت بالوسط QL حيث كان متوسط طول النموات 1.62 سم، و في الوسط WPM بلغ متوسط طول النموات 1.591 سم،أما بالنسبة للوسط MSفوصل متوسط طول النموات إلى 1.590 سم. و نستنتج كذلك أن التراكيز المنخفضة من الـــ BA قد أدت إلى إعطاء أفضل طول للنموات بالمقارنة مع باقي المعاملات، وتبين النتائج أيضاً انخفاض طول النموات تدريجياً بارتفاع تركيز الـــ BA بالوسط، وذلك بالنسبة لمختلف الأوساط المستخدمة في هذه الدراسة (جدول4) و الشكل (2).

تـــستخدم طرق الإكثار الخضري الدقيق للإكثار السريع لأنواع النباتات المستخدمة في زراعة النسج، وبالتالي فإن معظم الدراسات التجريبية ركزت على تأثير منظمات النمو النباتية، بينما كانت دراسة تأثير الوسط المغذي أقل اهتماماً مع العلم أن مكونات الوسط تلعب دوراً أساسياً في النمو، فالنتروجين مثلاً يؤثر على استطالة الساق وشكل الأوراق، وبالتالي فإن كمية النتروجين في الوسط المغذي لها تأثير هام على نمو وتمايز الخلايا (Shanjani, 2003) . إن الوسط MS هو الأكثر استخداماً وشيوعاً لإكثار البراعم حيث استخدمت معظم الدراسات الوسط MS بدون أي تعديل، لكن البعض الآخر خفض تركيز كل الشوارد في الوسط أو أنه عدل تركيز أو مصدر النتروجين (Chevreau*et al*., 1992: Bell and Reed, 2002). وهناك القليل من الدراسات التي قارنت بين عدة أوساط مغذية مختلفة.

جدول(4): تأثير الأوساط الغذائية المختلفة في متوسط عدد وطول النموات الجديدة لنبات GF-677 (متوسط 40 جزء نباتي ±الخطأ المعياري SE)

رمز المعاملة	الوسط WPM		الوسط QL		الوسطMS	
	متوسط عدد النموات / الجزء النباتي	متوسط طول النموات (سم)	متوسط عدد النموات / الجزء النباتي	متوسط طول النموات (سم)	متوسط عدد النموات / الجزء النباتي	متوسط طول النموات (سم)
1	1.81 ± 0.086 e	1.56 ± 0.045 a	1.84 ± 0.092 e	1.63 ± 0.044 a	2.01 ± 0.124 e	1.59 ± 0.045 a
2	3.72 ± 0.170 bc	± 0.04 bc61.09	3.82 ± 0.176 bc	1.15 ± 0.047 b	3.28 ± 0.136 cd	1.12 ± 0.04 bc
3	4.28 ± 0.179 ab	± 0.029 cd60.9	4.07 ± 0.158 ab	0.98 ± 0.03 bcd	2.98 ± 0.128 d	cd30.97 ± 0.0
4	4.52 ± 0.181 a	0.84 ± 0.029 d	3.99 ± 0.137 ab	0.91 ± 0.039 d	2.16 ± 0.092 e	0.89 ± 0.037 d

ملاحظة: وجود تشابه بحرف واحد على الأقل في نفس الصف يشير إلى أن الفروق غير معنوية عند مستوى المعنوية 0.05.



c **b** **a**

شكل رقم (2): تأثير الوسط على عدد وطول النموات:(a)–الوسط (WPMb)– الوسط (QLc)– الوسطMS

تم في هذه الدراسة استخدام ثلاثة أوساط مغذية والمقارنة بينها لتحديد الوسط الأفضل لإكثار الأصل GF-677 (جدول 3)، وأوضحت النتائج تفوق الوسط WPM و QL على الوسط MS بعدد البراعم المتشكلة وبفروق معنوية، وهذا يتوافق مع (Wang, 1991) حيث لاحظ تشكل براعم جديدة وعديدة من الأصل *Pyruscommunis* L. على الوسط WPM و QL بالمقارنة مع الوسط MS. كما أن Thakur (and Kanwar, 2008)بينوا في تجاربهم أن الوسط WPM حسّن من إكثار البراعم بالمقارنة مع الوسط MS.(Nedelcheva, 1986)وجد أن إكثار براعم صنف الإجاص (Bartlett) كان أفضل على الوسط QL بالمقارنة مع الوسط MS، وحصل (Bell *et al*., 2009) على نتيجة مشابهة حيث كان متوسط عدد البراعم 3.14 على الوسط QL بينما انخفض إلى 1.61 على الوسط MS. نلاحظ في جميع الحالات أن أقل عدد للبراعم يكون على الوسط MS، وربما يعود ذلك لاحتواء الوسط MS على تركيز عالٍ من شوارد النتروجين والكلور، بينما تركيز شوارد النتروجين أقل في الوسط QL ولا يوجد شوارد الكلور، أما في الوسط WPM يكون تركيز شوارد النتروجين والكلور قليلا. يمكننا القول إن الاختلاف الرئيسي بين هذه الأوساط هو في العناصر الكبرى، حيث يوجد اختلافي تركيز شوارد النترات والأمونيوم والتركيز الكلي لهذه الشوارد. حيث يوجد في الوسط MS على تركيز لشوارد الأمونيوم (20.6 mM) وشوارد النترات (39.4 mM)، بينما تركيز الأمونيوم منخفض في الوسط QL (5 mM)، أما تركيز النترات (33 mM) فهو قريب من MS، يحتوي الوسط WPM على تراكيز منخفضة لكل من الأمونيوم (5 mM) والنترات (9.7 mM). كما يستخدم الوسط QL و WPM

نترات الكالسيوم ونترات الأمونيوم كمصدر للنتروجين، بينما يستخدم الوسط MS نترات البوتاسيوم ونترات الأمونيوم.

- تأثير نوع الوسط المستخدم في تجذير الأصل GF-677

بينت النتائج الموضحة بالجدول (5) أن نسبة التجذير تتأثر بنوع الوسط المستخدم وتفوق الوسط WPM و QL بفروق معنوية على الوسط MS، حيث وصلت نسبة التجذير إلى 90% في كل من الوسط WPM المزود بـــ9.84 ميكرومول IBA والوسط QL المزود بـــ 14.76 ميكرومول IBA،أما عند استعمال الوسط MS كانت أعلى نسبة تجذير 75% عند استعمال IBA بتركيز 9.84 ميكرومول، ولم تزدد هذه النسبة عند استعمال تركيز أعلى. وأظهرت النتائج أنه لم يتم الحصول على أية جذور في جميع الأوساط المستخدمة والخالية من الهرمونات، ومن هنا نستنتج أهمية إضافة الهرمونات النباتيةفي أوساط التجذير. وبشكل عام أظهر الوسط WPM استجابة جيدة وسريعة لتشكيل الجذور وعلى تراكيز منخفضة من الهرمونات مقارنة بـــ QL و MS.

وبينت النتائج كذلك أنه لم يلاحظ أي فروق معنوية بعدد الجذور بين الأوساط المستخدمة، حيث كان أكبر عدد في الوسط WPM هو 3.94 جذر و3.71 جذر على الوسط QL، بينما كان3.27 جذر على الوسط MS. ويمكن أن نلاحظ أنه على الأوساط WPM وMS حصلنا على أكبر عدد للجذور عندما كانت نسبة التجذير أعلى ما يمكن 90%، بينما عند استعمال الوسط QL حصلنا على أكبر عدد للجذور عندما كانت نسبة التجذير 85% وليس 90%. أما بالنسبة لطول الجذور كانت القيم قريبة من بعضها ولم نحصل على فروق معنوية بين الأوساط، حيث وصل طول الجذر حتى 4.57 سم على الوسط WPM و3.89 سم على الوسط QL و3.97 سم على الوسط MS.

تتأثر عملية التجذير بالعديد من العوامل، ومنها تركيز العناصر المعدنية في وسط الزراعة(Shekafandeh, 2010) والتي تختلف من وسط إلى وسط آخر. حيث بينت نتائجنا أن نسبة التجذير وتأثير تركيز الأوكسينات يختلف حسب نوع الوسط المستعمل، حيث تفوق الوسط WPM وQL على الوسط MS بفروق معنوية، كما أن أعلى نسبة تجذير في الوسط WPM كانت بتركيز هرموني أقل منه على الوسط QL.الشكل (3).

جدول(5): تأثير نوع الوسط المستخدم في متوسط عدد وطول الجذور لنبات GF-677= (متوسط 20 جذر نباتي ± الخطأ المعياري SE)

رمز المعاملة	الوسط WPM			الوسط QL			الوسطMS		
	النسبة المئوية للتجذير	متوسط عدد الجذور	متوسط طول الجذور (سم)	النسبة المئوية للتجذير	متوسط عدد الجذور	متوسط طول الجذور (سم)	النسبة المئوية للتجذير	متوسط عدد الجذور	متوسط طول الجذور (سم)
0	0%	0 ± 0.0	0 ± 0.0	0%	0 ± 0.0	0 ± 0.0	0%	0 ± 0.0	0 ± 0.0
1	30%	1.17 ± 0.16 g	3.67 ± 0.21 bcd	20%	1 ± 0.0 g	3.75 ± 0.25 abcd	25%	1 ± 0.0 g	3.6 ± 0.245 bcd
2	70%	1.64 ± 0.13 fg	3.48 ± 0.23 bcd	60%	1.58 ± 0.15 g	3.69 ± 0.21 bcd	40%	1.38 ± 0.18 g	3.98 ± 0.025 ab
3	85%	2.65 ± 0.12 de	4.57 ± 0.18 a	70%	2.57 ± 0.14 de	3.90 ± 0.12 abc	50%	2.40 ± 0.16 ef	3.95 ± 0.229 ab
4	90%	3.94 ± 0.17 ab	3.07 ± 0.09 cde	85%	3.71 ± 0.13 abc	3.05 ± 0.098 cde	75%	3.13 ± 0.15 bcd	2.94 ± 0.065 de
5	75%	3.27 ± 0.12 bcd	2.36 ± 0.10 e	90%	2.94 ± 0.05 cde	2.59 ± 0.156 e	75%	3.27 ± 0.12 bcd	2.36 ± 0.107 e

ملاحظة: وجود تشابه بحرف واحد على الأقل في نفس الصف يشير إلى أن الفروق غير معنوية عند مستوى المعنوية 0.05.

تتفق نتائجنا مع ما توصل إليه (Ning*et al*., 2007) حيث بين تفوق الوسط WPM على الوسط MS عند تجذير الصنف Xuemeiوحصل على أفضلنسبة تجذير (94%) وأفضل عددللجذور (5.29) عند استعمال الوسط WPM. كما أن (Mahdavian*et al*., 2011) قارن بين ثلاثة أوساط DKW، MS و QL عند تجذير أصل الكرز PHL-A وحصل على أعلى نسبة تجذير (100%) على الوسط DKW أما على الوسط QL و MS فكانت(75%)، أما بالنسبة لعدد الجذور فتفوق الوسط DKW وQL على الوسط MS.

c b a

شكل رقم (3): تأثير الوسط على تجذير الأصلGF-677: (a)- الوسط (WPMb)- الوسط (QLc)- الوسط MS

- أقلمة النباتات الناتجة عن عملية التجذير:

لقد تأثرت تقسية النباتات بشكل كبير بعدد الجذور وطول النموات الخضرية، فكان واضحاً سرعة نمو النباتات ذات الطول وعدد الجذور الأكبر بشكل أسرع في الأصص مقارنة مع النموات ذات عدد الجذور والطول الأقل، بينما لم تتأثر عملية التقسية بطول الجذور. ويعتبر النمو القوي للنباتات في الأصص من حيث تشكيل نموات وتفرعات جديدة وزيادة طول النبات وزيادة عدد الأوراق من المؤشرات الهامة التي أعتمد عليها أثناء تقييم نتائج عملية الأقلمة. وقد كان متوسط طول النباتات 14 سم داخل غرف النمو، أما في البيت الزجاجي ازداد نمو النباتات ليصل متوسط الطول إلى 27 سمقبل زراعتها في الحقل، وكانت نسبة الأقلمة مرتفعة حيث وصلت نسبة النباتات المتبقية على قيد الحياة بعد انقضاء شهرين على بدء عملية الأقلمة إلى حوالي 95 %، مع العلم أنه لم يلاحظ أي فروق بنسبة نجاح الأقلمة لكافة النموات المنقولة من أوساط التجذير المدروسة في التجربة، حيث أبدت جميع النباتات المنقولة من جميع الأوساط استجابة جيدة للأقلمة، حيث يمكننا القول إن عملية الأقلمة للأصل GF-677 لا تشكل معوقا في عملية إكثاره بشكل عام وانتقاله من الزراعة النسيجية إلى الزراعة الحقلية وإن هذه النسبة العالية تتوافق مع نتيجة (Garoosi*et al*., 2010)، حيث وصلت نسبة نجاح عملية أقلمة الأصل GF-677 إلى 90 % الشكل (4).

شكل رقم(3): أقلمة الأصل GF-677 المكاثر بتقانة الأنسجة النباتية

تم الإكثار الخضري الدقيق لنبات GF-677بطرائق زراعة النسج النباتية *in vitro* بهدف الحصول على أعداد كبيرة من هذا النبات ذات مواصفات جيدة وخالية من الأمراض وبوقت قصير، كما تم تحديد أفضل وسط و أفضل تراكيز من الهرمونات للإكثار والتجذير ضمن حدود نطاق تجربتنا.

المراجع

المراجع الأجنبية

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.

Bell, L. R. and Reed, B. M. (2002). *In vitro* tissue culture of pear: Advances in techniques for micropropagation and germplasm preservation. *Acta.Hortic.* 596: 412- 418.

Bell, L.R., Srinivasan, C. and Lomberk, D. (2009). Effect of nutrient media on axillary shoot proliferation and preconditioning for adventitious shoot regeneration of pears. *In Vitro* Cell Dev. Biol.-Plant. DOI 10.1007/s11627-9196-8.

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

Chevreau, E., Thibault, B. and Arnaud, Y. (1992). Micropropagation of pear (*Pyruscommunis* L.). In: Bajaj Y. P. S. (eds) *Biotechnology in agricultureand forestry*, vol. 18. Springer, Berlin. pp: 224-261.

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.

Francini, A., Sebastiani, L. and Vitagliano, C. (2004). Physiological Affects by copper excess in peach rootstock MrS 2/5 and GF 677 growth *in vitro*. *ActaHort* 658

Garoosi, G., Alanagh, E. and Haddad, R. (2010). The effect of PGRs on *in vitro* shoot multiplication of GF677 hybrid (*Prunuspersica×P. amygdalus*) rootstock on GNH medium. *Iranian Journal of Genetic and Plant Breeding.* 1; 34 – 43.

Hartmann, H.T., Kester, D.E. and Davies, F.T. (1990). Plant propagation-principles and practices. 4TH edition. Prentice - Hall, Inc. Engle WoodCliffs. New Jersey. pp: 232 -233.

Hasan, U.S., Ahmad, T., Hafiz, A.I., Hussain, A. (2010). Direct plantregeneration from leaves of *prunus* rootstock GF-677. *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 DwarfGenotypes. *Arch. Appl. Sci. Res.*, 3 (1): 118-125.

Kamali, K.; Majidi, E. and Zarghami, R. (2001). Miropropagation of GF677 rootstocks (*Prunusamygdalus*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.

Lamrioui, M.A., Louerguioui, A., Bonaline, J., Bougdal, Y.S., Allili, N. and Kebbouche, G.S. (2011). Proliferation and rooting of wild cherry:The influence of cytokinin and auxin types and their concentration. *AfricanJournal of Biotechnology* Vol. 10(43), pp. 8613-8624.

Lioyd, G; and McCown, B (1981). Commercially- feasible micropropagation of mountain laurel, *Lamia Latifolia*, by use of shoot tip culture. *Proc. Inter Plant Propagation Soc*30: 421-427.

Mahdavian, M., Bouzari, N. and Abdollahi, H. (2011). Effects of media and plant growth regulators on micropropagation of a dwarfing cherry rootstock (PHL-A). *Biharean Biologist,* 5 (2): pp. 86-90.

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

Nedelcheva, S. (1986). Effect of inorganic components of the nutrient medium on *in vitro* propagation of pears. *Genet. Sel*. 19: 404-406.

Ning, G.G., Fan, L.X., Huang, J.W., Bao, Z.M. and Zhang, B.J. (2007). Micropropagation of six *Prunusmume* cultivars through auxiliary shoot proliferation, and ISSR analysis of cloned plants. Acta Biological

Cracoviensia*series Botanica*49/1: 25-31

Ning, Y., Sheng, L., Xiuchun, W. and Ziyi, C. (2004). Rapid propagation of almond's rootstock. ActaBotanicaBoreali-Occidentalia*Sinica*. 24: 324-328.

Shanjani, S.P. (2003). Nitrogen effect on callus induction and plant regeneration of *Juniperus excels*. International *Journal of Agriculture and Biology*.

Shekafandeh, A. (2010). The effects of pH levels and plant growth regulators on *in vitro* regeneration of Almond (*Prunusdulcis* Mill.). *World Applied Science Journal,* 8 (11): 1322-1326.

Silverira, P.A.C., Fachinello, C.J., Fortes, L.R.G., Citadin, I., Rodrigues, C.A., Quezada, C.A. and Silva, B.J. (2001). *In vitro* multiplication of *prunus* rootstocks in different BAP concentrations in two culture media. Rev.Bras. Frutic., *Jaboticabal*– SP, 23(. 3):. 488-492.

Stylianides, D. C.; Syrgianidis, G. D. and Almaliotis, D.D. (1988). The peachrootstocks: a review of bibliography with relative observations in Greece.*Agriculture Technology* 12: 34-69.

Thakur, A. and Kanwar, J. S. (2008). Micropropagation of 'Wild Pear' *PyrusPyrifolia* (Burm. F.) Nakai. I. Explant establishment and shoot multiplication. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj*. 35: 103-108.

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.

Touqeer, A., Rahman, U. H., Ahmad, S.M, 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.

Tsipouridis, C. and Thomidis, T. (2003). Methods to improve the *in vitro* culture of GF677 peach rootstock. New Zealand *Journal ofCrop and Horticultural Science*Vol. 31: 361-364.

Effect of Nutrient Media on in vitro Micropropagation of GF-677 Rootstock

Dakah, A. [1], *Mohsen, W* [2], *Zaid, S.* [1]

ABSTRACT

The current research studies the effect of different culture medium on *in vitro* GF- 677 growth and development. Single cuttings (0.5 – 1) cm in length withone bud excised from oldof GF-677 trees, grew in the filed under natural conditions. The explants are cultured on WPM, QL,MS media, containing a combination of growth regulators at different concentrations (BA at 2.2, 4.4, 6.6, 8.8 µM) each with IBA 1 µM. The WPM medium supplemented with BA (8.8 µM) and IBA (1 µM) showed the best result for proliferation (4.58). The shoots cultured on WPM, QL, MS media containing different concentrations (IBA at 2.46, 4.92, 9.84, 14.76 µM), Maximum rooting percentage was obtained on WPM medium with 9.84 µM/ l IBA. Rooted plantlets were transferred to pots with a mixture of 2:1 (v/v) peat/perlite for acclimatization and after one month transferred to green house then to the field. Acclimatization percentage was 95%.

Keywords: Nutrient Media, Micropropagation, GF-677 rootstock.

[1)] Department of Biology, Faculty of Sciences, Damascus University, Damascus-Syria
[2)] Biotechnology Department, GCSAR, P.O.Box 113,Douma, Damascus, Syria.
Wasimm06@yahoo.com
Received on 28/2/2013 and Accepted for Publication on 26/9/2013.