دراسة العوامل المؤثرة في تجذير أصل اللوزيات GF 677 باستخدام تقانة زراعة الأنسجة النباتية

وسيم اسماعيل محسن[1]، عبد الكريم دقة[2] وسليم زيد[2]

ملخص

تمت دراسة تأثير بعض العوامل في تجذير أصل اللوزيات GF 677 باستخدام تقانة زراعة الأنسجة النباتية، حيث أخذت عقل مفردة بطول 0.5 – 1 سم تحتوي على برعم واحد، وزرعت الأجزاء النباتية بعد تعقيمها على الوسط (WPM Woody Plant Medium) المزود بهرمون BA (Benzyl amino purine) بتركيز 6.6 µM والهرمون (indole-3-butyric acid) IBA بتركيز 1 µM الذي أظهر أكبر عدد من النموات الجديدة وصل إلى 4.58 نمو، نقلت النموات الخضرية بطول 1 – 2 سم من الزراعات المكاثرة إلى أوساط تجذير تحتوي على تراكيز مختلفة من IBA وتمت دراسة تأثير حضن النموات في الظلام وتأثير مصدر الكربون وتركيز الأملاح الكبرى في الوسط وتأثير إضافة الفحم الفعال على التجذير من حيث نسبة التجذير، وعدد الجذور وأطوالها حيث سجلت أعلى نسبة تجذير على الوسط WPM + 9.84 µM IBA (90%) وذلك عندما حضنت النموات بالظلام في السبعة أيام الأولى التي تلت عملية الزراعة على الأوساط، وكان أفضل عدد للجذور 3.94 جذر وأعلى طول لها 4.57 سم. ووجد إن تخفيض تركيز الأملاح الكبرى خفض نسبة التجذير وخفض عدد الجذور من 3.94 على 3.69 واطوالها من 4.57 إلى 4.36 سم وكذلك بالنسبة لإضافة الفحم الفعال، فقد انخفضت نسبة التجذير وكذلك عدد الجذور من 3.94 إلى 3.92 لكن طول الجذور زاد من 4.57 إلى 4.59 سم، بينما لم تتأثر نسبة التجذير بشكل معنوي مع تغيير مصدر الطاقة وكان عدد الجذور بالوسط المزود بالسكروز 3.94 بينما الوسط المزود بالسوربيتول 3.6. أما بالنسبة لطولها فكان 4.57 سم بالسكروز و4.6 سم بالسوربيتول. ونقلت النباتات المكاثرة إلى أصص تحتوي مزيج من التورب والبيرليت بنسبة 1:2 حجم/حجم من أجل الأقلمة، ونقلت بعد شهر واحد إلى البيت الزجاجي ثم إلى الحقل، وكانت نسبة نجاح الأقلمة 95%.

الكلمات الدالة: التجذير – زراعة الأنسجة – الأصل GF 677.

المقدمـة

تعد اللوزيات من الأشجار المهمة اقتصادياً، حيث تتميز ثمارها بأهمية غذائية ودوائية، وتستخدم ثمار اللوزيات طازجة للأكل كما يستخرج منها الزيت الذي يدخل في صناعة بعض المستحضرات والكريمات الطبية أو العطور. وقد شهدت زراعة اللوزيات في السنوات الأخيرة ميلاً نحو الزيادة والتوسع في سورية. ونتيجة لازدياد الطلب على غراس اللوزيات فإنه 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، وبالرغم من إمكانية إكثار هذه الأصول بالطرق التقليدية إلا أن عدد الغراس المنتجة يكون محدوداً، كما أن طرق الإكثار الخضري التقليدية تتطلب كميات كبيرة من المادة النباتية، بالإضافة الى ذلك فإن 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

[1] مركز البحوث العلمية الزراعية بالسويداء، ظهر الجبل، السويداء، سورية.
Wasimmo6@yahoo.com.

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

تاريخ استلام البحث 2012/12/30 وتاريخ قبوله 2013/4/30.

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

أهمية استخدام زراعة النسج النباتية كتقنية يمكن من خلالها إكثار الأنواع النباتية بمعدلات إكثار مرتفعة خاصة أن الإكثار الخضري للأصل677 GF صعب جداً (Stylianides *et al*., 1988; Ammer, 1999)

تعد تقنية زراعة النسج النباتية من أهم الوسائل الحديثة التي تستعمل من أجل إكثار هذه الأصول المهمة بأعداد كبيرة، كما نستطيع من خلالها المحافظة على المواصفات المرغوبة التي تملكها هذه الأصول ومن ثم نؤمن للمزارعين أصولاً مهمة تمكنهم من تحسين وزيادة الإنتاج. درس (Tsipouridis and Thomidis, 2003) طرائق لتحسين زراعة الأصل GF 677 في داخل الأنابيب *in vitro* واستنتجا أن إضافة كمية مضاعفة من Mg + Zn + B إلى الوسط MS (Murashinge and Skoog, 1962) يحسن من النمو. ودرس (Younas *et al*., 2008) تأثير مصادر مختلفة للكربون على استطالة وتجذير نموات الأصل GF 677 حيث استعمل السكروز والغلوكوز وبتراكيز مختلفة وتبين لديهم أن استخدام السكروز والغلوكوز مع بعضهما وبتركيز 15 غ/ل لكل منهما أعطى أفضل نتيجة للنمو والاستطالة، أما بالنسبة للتجذير فأفضل نتيجة تم الحصول عليها عند استخدام الغلوكوز بتركيز 20 غ/ل. وبين Loreti *et al*., في عام (1988) تأثير درجة الحرارة المتناوبة خلال مراحل الإكثار الخضري للأصل GF 677 وتبين له أن لتطبيق الحرارة المتناوبة ليلاً / نهاراً تأثيرا سلبيا خلال مرحلة إكثار النموات، أما خلال مرحلة التجذير فكانت الاستجابة مختلفة حسب الأصول المدروسة. ودرس (Caboni and Lauri, 2002) تأثير تخفيض تركيز الحديد (Fe-EDTA) إلى نصف وربع التركيز أو استبداله بكبريتات الحديدوز ($FeSO_4$) وبيكربونات البوتاسيوم ($KHCO_3$) بتركيز 1 ميللي مول على معدل إكثار الأصل GF 677 ومحتوى الكلوروفيلI لمدة 21 يوم. وتبين أن تخفيض الحديد إلى نصف أو ربع التركيز لم يعطِ أي فروق معنوية مع الشاهد بينما كانت الفروق معنوية عند استبداله بكبريتات الحديدوز وبكربونات البوتاسيوم، أما عن محتوى الكلوروفيل فكانت القيم قريبة من بعضها ولم تعطِ أي فروق معنوية. و في عام (2005) Chrysovalantou *et al*., درس التأثير المثبط للريبوفلافين (فيتامين B_2) على تجذير نموات الأصل GF 677 حيث استعملوا الوسط الصلب MS وأضافوا اليه 5 تراكيز من الريبوفلافين 0، 0.5، 1، 1.5، 2 ملغ/ل وأضيف للأوساط جميعها 1 ملغ/ل من IBA وتبين أن التركيز العالي من الريبوفلافين (2 ملغ/ل) ثبط عملية التجذير وقلل من متوسط طول الجذور. ودرس (Antonopoulou *et al*., 2007) تأثير فيتامين C (حمض أسكوربيك) و-Fe EDDHA على تجذير نموات الأصل GF 677 في الزجاج، حيث تم استبدال المعقد Fe-EDTA (12 % حديد) من الوسط MS بالمعقد Fe-EDDHA (6 % حديد) واستخدمت التراكيز 93.5 ، 187 و280 ملغ/ل، ولكل معاملة Fe-EDDHA وتمت دراسة تأثير أربعة تراكيز من حمض أسكوربيك (0، 0.1، 1، و10 ملغ/ل)، وبينت النتائج أن أفضل نسبة تجذير تم الحصول عليها عند استعمال -Fe EDDHA بتركيز 280 ملغ/ل ولم يظهر حمض أسكوربيك أي تأثير واضح على عملية التجذير. وقارن (Touqeer *et al*., 2007) تأثير نوع السكر المستخدم في الوسط على إكثار الأصل677 GF وتبين لديهم أن استعمال السوربيتول بتركيز 30 غ/ل أفضل من السكروز عند التركيز نفسه، حيث أعطى السوربيتول أفضل عدد من النموات المتشكلة. كما أن نسبة التجذير وصلت إلى 85 % عند استعمال السوربيتول، وكانت أطوال الجذور المتشكلة أكبر من 1.5 سم. أما عند التركيز نفسه من السكروز فقد كانت نسبة التجذير 50 %. ودرس (Younas *et al*., 2008) تأثير مصادر مختلفة للكربون على استطالة وتجذير نموات الأصل GF 677 حيث استعمل السكروز والغلوكوز وبتراكيز مختلفة وتبين لديهم أن استخدام السكروز والغلوكوز مع بعضهما وبتركيز 15 غ/ل لكل منهما أعطى أفضل نتيجة للنمو والاستطالة أما بالنسبة للتجذير فأفضل نتيجة تم الحصول عليها عند استخدام الغلوكوز بتركيز 20 غ/ل.

يعد أصل اللوزيات (*Prunus amygdalus* ×GF 677 *Prunus persica*)من الأصول المستعملة في التطعيم، ويستخدم بشكل واسع في اسبانيا وجنوب أوروبا بسبب نشاطه العالي وتوافقه الجيد مع أصناف الدراق وتحمله للظروف المناخية الجافة (Carrera, 1992) ويعد من أفضل الأصول

المستعملة في الترب القلوية للتغلب على نسبة الكلس المرتفعة (Hartmann *et al*., 1990)، وهو مقاوم لصدأ الدراق والتدرن التاجي وعقد الجذور، كما أنه أصل جيد لأشجار الدراق المزروعة في ترب معتدلة أو قليلة الخصوبة (Tsipouridis and Thomidis, 2003)، وينتج هذا الأصل الهجين جذورا قوية ويملك مقاومة جيدة للحشرات والأمراض، ولأن هذا الأصل مهم ومدخل إلى القطر وهو ملائم للبيئة السورية وأفضل من الأصول المتوفرة للمزارعين من حيث تحمله للجفاف وإعطاؤه قوة للطعم، وبما أن هذا الأصل صعب الإكثار بالطرق التقليدية بسبب صعوبة تجذيره وأن الإكثار الدقيق يعطي كمية كبيرة من النموات وبشكل أسرع بكثير من الإكثار بالطرق التقليدية (Kyriakidou and Pontikis, 1983) ولذلك فإن البحث يهدف إلى دراسة بعض العوامل المؤثرة في تجذير أصل اللوزيات GF 677 في داخل الأنابيب ومنها إضاءة / ظلام، ومصدر الكربون، و تأثير خفض تركيز أملاح العناصر الكبرى وكذلك تأثير إضافة الفحم الفعال.

المواد والطرائق:

– تحضير الأجزاء النباتية وتعقيمها:

نفذ البحث في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية – قسم التقانات الحيوية . وذلك خلال عامي 2010 – 2011. واستخدمت لهذه التجارب طرود بعمر سنة من أصل اللوزيات GF 677 الموجود بأعداد قليلة في محطة بحوث جلين في المركز العربي لدراسة المناطق الجافة والأراضي القاحلة– أكساد – ACSAD جنوب سورية، حيث قسمت هذه الطرود إلى عدة أجزاء نباتية يحمل، كل منها برعم ووضعت في أوعية زجاجية ثم غسلت تحت الماء الجاري لمدة ساعة، وبعد ذلك تم تعقيمها بالمبيد الفطري بيليكوت 40% (ايمينو كتادين تريس) بتركيز 0.5% لمدة 15 دقيقة وغسلت بالماء المقطر ثلاث مرات قبل إخضاعها للتعقيم السطحي الكيميائي تحت جهاز العزل الجرثومي حيث عقمت بالكحول 70% لمدة دقيقة واحدة وبعد ذلك تم استخدام كلوريد الزئبق بتركيز 0.1% لدقيقة واحدة، وقد أضيف الى محلول التعقيم الـ Tween 20 بمعدل قطرة واحدة لكل 100 مل، ثم غسلت ثلاث مرات بالماء المقطر المعقم. وزرعت الأجزاء النباتية المعقمة بطول 0.5 – 1 سم في أنابيب الاختبار على وسط الزراعة التأسيسية WPM (Lioyd and McCown 1981) الخالي من منظمات النمو وذلك لمدة أربعة أسابيع حيث استبعدت خلالهما الأنابيب الملوثة، وعدت الأجزاء النباتية الحية والسليمة الأساس للتجارب اللاحقة.

– إكثار الأجزاء النباتية الخالية من الملوثات:

بعد 4 أسابيع من الزراعة الأولية، أخذت النموات الخضرية المتشكلة الخالية من الملوثات وزرعت على الوسط WPM (WPM Woody Plant Medium) المزود بـ 8.8 µM (benzyl amino purine) BA + 1µM (indole-3-butyric acid) IBA حيث تمت الزراعة بأوعية زجاجية (11.5× 4.5) سم وأضيف للوعاء 30 مل من الوسط المغذي. حضنت الزراعات في غرفة نمو بدرجة حرارة 23 ± 1 مْ وفترة إضاءة 16 ساعة و8 ساعات ظلام في أثناء النمو وكانت شدة الإضاءة حوالي 2000– 3000 uMole/M2/S.

– تجذير النموات الخضرية:

زرعت النموات الخضرية المتشكلة في مرحلة الإكثار السابقة وبطول 1–2 سم على الوسط WPM المزود بعدة معاملات من هرمون التجذير IBA حيث درست بهذه المرحلة بعض العوامل المؤثرة في عملية التجذير *in vitro* وهي: تأثير معاملة إضاءة / ظلام، ومصدر الكربون، وخفض تركيز أملاح العناصر الكبرى، والفحم الفعال على تجذير الأصل GF 677, حيث تمت عملية الزراعة بأوعية زجاجية (11.5× 4.5) سم وبمعدل 20 مكرر/معاملة وأضيف الى الوعاء 30 مل من الوسط المغذي، وحضنت الزراعات في غرف النمو، وأخذت النتائج بعد أربعة أسابيع من الزراعة من حيث نسبة التجذير وعدد الجذور وطولها.

– تقسية النباتات:

نقلت النباتات التي اجتازت مرحلة التجذير بنجاح إلى أوعية بلاستيكية تحتوي على خليط مؤلف من 1/2 (حجم/حجم) من تورب/ برليت، ومغطاة بأكياس نايلون شفافة لحفظ الرطوبة حول النباتات حيث حضنت في ظروف غرف النمو وذلك لمدة أربع أسابيع مع فتح تدريجي للأكياس حتى إزالتها تماماً. وحسبت في نهاية عملية الأقلمة نسبة النباتات

المتبقية بحالة جيدة، ثم نقلت هذه النباتات لمتابعة النمو في ظروف البيت الزجاجي.

- التحليل الإحصائي:

تم تحليل النتائج باستخدام البرنامج الإحصائي SPSS. حيث قورنت متوسطات 40 عينة نباتية لكل معاملة إكثار وبثلاث مكررات، و20 عينة نباتية لكل معاملة تجذير. عند مستوى المعنوية % 0.05

النتائج والمناقشة:

1- تأثير معاملة إضاءة / ظلام في تجذير الأصل GF 677

أظهرت النتائج الموضحة في الجدول (1) أن نسبة التجذير كانت منخفضة جداً في المعاملات كافة، وفي كثير منها كانت معدومة وذلك عند حضن النموات المتشكلة في شروط نظام الإضاءة العادي (16 ساعة إضاءة و8 ساعات ظلام) مباشرة بعد الزراعة، حيث وصلت أفضل نسبة تجذير إلى 25% عند استعمال هرمون IBA بتركيز 14.76 ميكرومول اذ تعد هذه النسب متدنية وتشكل عائقا أمام إكثار هذا الأصل بمعدلات عالية وتشير كذلك إلى ضرورة تعميق البحث في هذا الموضوع تحديداً من أجل رفع كفاءة التجذير وتحسنها. وتبين النتائج الخاصة بهذه التجربة أن نسبة التجذير كانت معدومة تماماً وذلك عند استخدام التراكيز المنخفضة من هذا الهرمون وكانت نسبة التجذير 0% بالتراكيز 2.46-4.82- (1) ميكرومول، ويعود ذلك الى تفاعلات البناء والهدم للأوكسينات داخلية المنشأ أو خارجية المنشأ في ظروف الظلام مقارنة مع الضوء، حيث تمكنا من زيادة نسبة التجذير في الظلام باستخدام تركيز أقل من منظم النمو، وهذا يتوافق مع ما توصل إليه (Maynard and Bassuk, 1987) جدول (1). ولهذا؛ اتجهنا الى تطبيق معاملة الظلام المتواصل وذلك خلال الأسبوع الأول من الزراعة مع تثبيت معاملات الهرمونات المستخدمة، وذلك من أجل تحديد تأثير معاملة الظلام في تجذير النموات الخضرية المتشكلة، حيث بينت النتائج ازدياد نسبة التجذير بشكل كبير بالمقارنة مع النتائج السابقة حيث كانت أفضل نسبة تجذير90% باستعمال هرمون IBA عند التركيز 9.84 ميكرومول جدول (2)، وأظهرت النتائج أن عند تطبيق معاملة الظلام في بداية مرحلة التجذير لمدة 7 أيام ثم نقل النموات إلى نظام ضوئي 16ساعة إضاءة و8 ساعات ظلام لباقي مدة الحضن أدى إلى ارتفاع نسبة التجذير بشكل كبير جداً من 25% إلى 90% عند استخدام IBA وهذا ازدياد كبير في نسبة التجذير ومن ثم يمكننا القول إن حضن النموات في الظلام في الفترة الأولى من مرحلة التجذير خطوة ضرورية ومهمة واعتماداً على هذه النتائج أجريت التجارب اللاحقة جميعها (جدول2، الشكل 1).

جدول (1): تأثير الإضاءة / 16 ساعة إضاءة و8 ساعات ظلام / في متوسط عدد وطول الجذور لنبات GF 677 (متوسط 20 عينة نباتية ± الخطأ المعياري SE)

رمز الوسط	تركيب الوسط	النسبة المئوية للتجذير	متوسط عدد الجذور	متوسط طول الجذور (سم)
R0	WPM(0)	0%	0.0 ± 0.0 c	0.0 ± 0.0 c
R1	WPM + 1µM IBA	0%	0.0 ± 0.0 c	0.0 ± 0.0 c
R2	WPM + 2.46 µM IBA	0%	0.0 ± 0.0 c	0.0 ± 0.0 c
R3	WPM + 4.29 µM IBA	0%	0.0 ± 0.0 c	0.0 ± 0.0 c
R4	WPM + 9.84 µM IBA	15%	2.66 ± 0.119 b	3.1666 ± 0.2118 a
R5	WPM + 14.76 µM IBA	25%	3 ± 0.117 a	2.1 ± 0.2148 b

ملحوظة: وجود تشابه بحرف واحد على الأقل في العمود نفسه يشير إلى أن الفروق غير معنوية عند مستوى المعنوية 0.05.

يتبين من خلال النتائج الموضحة في الجدول (1) والجدول (2) أن أفضل عدد للجذور في معاملة الإضاءة وصل إلى 3 جذر باستخدام هرمون IBA عند التركيز 14.76 ميكرومول، أما عند تطبيق معاملة الظلام فكان أفضل عدد هو 3.94 جذر باستعمال IBA بتركيز 9.84 ميكرومول، حيث تبين النتائج وجود فروق معنوية بين هاتين المعاملتين، وكذلك الأمر فإن طول الجذور في معاملة الإضاءة وصل إلى 3.166 سم عند التركيز 9.84 ميكرومول، أما عند تطبيق معاملة الظلام فكان4.57 سم باستعمال هرمون IBA بتركيز 4.92 ميكرومول.

جدول(2): تأثير معاملة الظلام / 7 أيام ظلام / في متوسط عدد وطول الجذور لنبات GF 677
(متوسط 20 عينة نباتية ± الخطأ المعياري SE)

رمز الوسط	تركيب الوسط	النسبة المئوية للتجذير	متوسط عدد الجذور	متوسط طول الجذور (سم)
R0	WPM (0)	0%	0.0 ± 0.0 f	0.0 ± 0.0 f
R1	WPM + 1 µM IBA	30%	1.17 ± 0.167 e	3.6667 ± 0.21082 b
R2	WPM + 2.46 µM IBA	70%	1.64 ± 0.133 de	3.4857 ± 0.23059 b
R3	WPM + 4.92 µM IBA	85%	2.65 ± 0.119 bc	4.5765 ± 0.18992 a
R4	WPM + 9.84 µM IBA	90%	3.94 ± 0.171 a	3.0722 ± 0.09421 bc
R5	WPM + 14.76 µM IBA	75%	3.27 ± 0.118 b	2.36 ± 0.10726 cd

ملحوظة: وجود تشابه بحرف واحد على الأقل في العمود نفسه يشير إلى أن الفروق غير معنوية عند مستوى المعنوية 0.05.

إن التأثيرات المفيدة لحضن النموات في الظلام وجدت بصورة رئيسة في النباتات الخشبية صعبة التجذير (Fotopoulos and Sotiropoulos, 2005). وقد أكد (Ning *et al*., 2004; Shekafandeh and Ghasemi, 2009) أن حضن النموات المكاثرة مخبرياً في الظلام لفترة محددة خلال مرحلة التجذير يشجع على عملية التجذير لأنواع الجنس *Prunus*. كما أكد (George, 1996) أن حضن النموات في الظلام من العوامل الإيجابية المساعدة في تحسين التجذير لبراعم اللوز *Prunus*. وتتوافق نتائجنا مع ما توصل إليه (Kamali *et al*., 2006) حيث حصل على نسبة تجذير للأصل GF 677 وصلت إلى80 % عند حضن النموات لمدة 7 أيام في الظلام.

الشكل (1-a): تجذير النموات الخضرية المتشكلة داخل الأنابيب

الشكل (1-b): جذور الأصل GF 677 المتشكلة داخل الأنابيب

2- تأثير مصدر الكربون المستخدم في تجذير الأصل GF 677

تبين من خلال النتائج الموضحة في الجدول (3) أن استخدام السوربيتول كمصدر للكربون لم يظهر أي فروق معنوية بالمقارنة مع تلك الأوساط التي استخدمنا فيها السكروز وبالمعاملات المدروسة كافة. وتبين النتائج أن استخدام السوربيتول أدى إلى زيادة نسبة التجذير وبفروق معنوية في المعاملة التي تحتوي على تركيز مرتفع من IBA 14.76 ميكرومول فقط ولم تتأثر باقي المعاملات بتغيير مصدر الكربون، حيث كانت الفروق غير معنوية. وكذلك الأمر أظهرت النتائج أنه لا توجد فروق معنوية بين المعاملات المدروسة والمزودة بتراكيز مختلفة من السكروز والسوربيتول بالنسبة لعدد وطول الجذور ومن ثم يمكننا القول إنه لم يكن لنوع السكر المستخدم (مصدر الكربون) أي تأثير في نسبة التجذير كما لم يكن له أي تأثير في عدد وطول الجذور ويعود ذلك إلى أن عملية بدء نمو الجذور تتطلب طاقة عالية تحدث على حساب مادة أيضية متاحة وهي السكريات بشكل أساسي (Thorpe, 1982; De Klerk and Calamar, 2002) ولذلك يضاف عادة سكر السكروز، الغلوكوز والسوربيتول إلى وسط الزراعة (Bahmani *et al*., 2009). ولكن في نباتات أخرى، قد يكون لمصدر الكربون المستخدم تأثير في عملية التجذير (Alkhateeb, 2001; Romano *et al*., 1995).

جدول(3): تأثير مصدر الكربون في متوسط عدد وطول الجذور لنبات GF 677 (متوسط 20 عينة نباتية ± الخطأ المعياري SE)

رمز الوسط	تركيب الوسط	النسبة المئوية للتجذير	متوسط عدد الجذور	متوسط طول الجذور (سم)
R0-su	WPM (0)	0%	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 e
R1-su	WPM + 1µM IBA	30%	1.17 ± 0.167 d	3.6667 ± 0.21082 c
R2-su	WPM + 2.46 µM IBA	70%	1.64 ± 0.133 d	3.4857 ± 0.23059 c
R3-su	WPM + 4.92 µM IBA	85%	2.65 ± 0.119 c	4.5765 ± 0.18992 ab
R4-su	WPM + 9.84 µM IBA	90%	3.94 ± 0.171 a	3.0722 ± 0.09421 cd
R5-su	WPM + 14.76 µM IBA	75%	3.27 ± 0.118 abc	2.36 ± 0.10726 d
R0-so	WPM (0)	0%	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 e
R1-so	WPM + 1µM IBA	30%	1.17 ± 0.167 d	3.8333 ± 0.16667 bc
R2-so	WPM + 2.46 µM IBA	70%	1.57 ± 0.137 d	3.5571 ± 0.20481 c
R3-so	WPM + 4.92µM IBA	85%	2.59 ± 0.123 c	4.6353 ± 0.16714 a
R4-so	WPM + 9.84µM IBA	90%	3.67 ± 0.140 ab	3.1056 ± 0.10617 cd
R5-so	WPM + 14.76µM IBA	80%	3.19 ± 0.136 bc	2.4 ± 0.10801 d

ملحوظة: وجود تشابه بحرف واحد على الأقل في العمود نفسه يشير إلى أن الفروق غير معنوية عند مستوى المعنوية 0.05.

su : السكروز، **so**: السوربيتول ويمثلان مصدري الكربون في المعاملات المدروسة واستخدم كلاهما في الوسط بتركيز 3%

تعمل السكريات كمصدر للطاقة من جهة، والحفاظ على الضغط الحلولي من جهة أخرى (De Neto and Otoni, 2003). ولذلك يضاف عادة سكر السكروز، الغلوكوز والسوربيتول كمصدر للكربون إلى وسط الزراعة. وأشار (De Klerk and Calamar, 2002) إلى أن بدء نمو الجذور يتطلب طاقة عالية تحدث على حساب مادة أيضية متاحة وهي السكريات بشكل أساسي.

3- تأثير خفض تركيز أملاح العناصر الكبرى في تجذير الأصل GF 677

بينت النتائج الموضحة في الجدول (4) أن خفض تركيز

أملاح العناصر الكبرى أثر سلبياً على نسبة التجذير، حيث انخفضت هذه النسبة وبفروق معنوية واضحة في المعاملات جميعها ماعدا المعاملة التي تحتوي على تركيز 14.76 ميكرومول لـ IBA فلم تتغير نسبة التجذير، حيث كانت 75%. أما عدد الجذور فلم يتأثر بخفض تركيز العناصر الكبرى على الرغم من انخفاض نسبة التجذير حيث كانت الفروق غير معنوية في المعاملات جميعها، وكان أكبر عدد للجذور 3.69 جذر في المعاملة التي تحتوي على تركيز 14.76 ميكرومول لـ IBA. أما بالنسبة لطول الجذور فلم تلحظ فروق معنوية إلا بالمعاملة التي تحتوي على 1 ميكرومول لـ IBA، حيث انخفض طول الجذور من 3.666 سم إلى 2.2 سم أما بالنسبة لباقي المعاملات فكانت الفروق غير معنوية.

جدول(4): تأثير تخفيض تركيز الأملاح في متوسط عدد وطول الجذور لنبات GF 677 (متوسط 20 عينة نباتية ± الخطأ المعياري SE)

رمز الوسط	تركيب الوسط	النسبة المئوية للتجذير	متوسط عدد الجذور	متوسط طول الجذور (سم)
R0	WPM (0)	0%	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 f
R1	WPM + 1µM IBA	30%	1.17 ± 0.167 d	3.6667 ± 0.21082 abc
R2	WPM + 2.46 µM IBA	70%	1.64 ± 0.133 d	3.4857 ± 0.23059 bcd
R3	WPM + 4.92µM IBA	85%	2.65 ± 0.119 bc	4.5765 ± 0.18992 a
R4	WPM + 9.84 µM IBA	90%	3.94 ± 0.171 a	3.0722 ± 0.09421 cde
R5	WPM + 14.76 µM IBA	75%	3.27 ± 0.118 ab	2.36 ± 0.10726 e
1/2 R0	WPM (0)	0%	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 f
1/2 R1	1/2 WPM + 1 µM IBA	25%	1 ± 0.0 d	2.2 ± 0.5831 e
1/2 R2	1/2 WPM + 2.46 µM IBA	60%	1.5 ± 0.167 d	3.76 ± 22667 abc
1/2 R3	1/2 WPM + 4.92 µM IBA	65%	2.46 ± 0.144 c	4.3462 ± 0.2899 ab
1/2 R4	1/2 WPM + 9.84 µM IBA	80%	3.69 ± 0.151 a	2.8312 ± 0.18769 cde
1/2 R5	1/2 WPM + 14.76 µM IBA	75%	3.27 ± 0.118 ab	2.4933 ± 0.15720 de

ملحوظة: وجود تشابه بحرف واحد على الأقل في العمود نفسه يشير إلى أن الفروق غير معنوية عند مستوى المعنوية 0.05.

تحدث عملية التجذير بشكل جيد في الوسط الذي يحتوي على تركيز كامل للعناصر المعدنية، ولكن هناك العديد من التجارب الشائعة لنقل البراعم من وسط عالي التركيز إلى وسط منخفض التركيز من أجل التجذير (Fotopoulos and Sotiropoulos, 2005). وتختلف نتائجنا مع ما توصل إليه (Dimassi-Theriou, 1995) حيث بين أن تخفيض تراكيز المعادن في الوسط MS إلى نصف الطبيعي يزيد من نسبة تجذير الأصل GF 677. وربما يعود هذا الاختلاف في النتائج إلى اختلاف الوسط المستعمل في عملية التجذير حيث استخدمنا في تجاربنا الوسطً WPMبينما استخدم الباحث الوسط MS. وأوضح (Driver and Suttle, 1987) أن التأثير الإيجابي لتخفيض تركيز الأملاح في الوسط يعود إلى تخفيض تركيز النتروجين، باعتبار أن الوسط WPM يحتوي على تركيز منخفض من النتروجين، فلم تزداد نسبة التجذير عند تخفيض تركيز العناصر المعدنية في الوسط.

4- تأثير إضافة الفحم الفعال في تجذير الأصل GF 677

يتبين من خلال النتائج المتحصل عليها الموضحة في الجدول (5) أن لإضافة الكربون الفعال في وسط التجذير أثراً

سلبياً على نسبة التجذير، حيث وصلت أعلى نسبة تجذير إلى 70% عند التركيز 14.76 ميكرمول بينما كانت 90% في الوسط نفسه غير المزود بالكربون الفعال، كما بينت النتائج أن النسبة المئوية للتجذير قد انخفضت بشكل كبير من 90% إلى 60% عند إضافة الكربون الفعال، وذلك عند التركيز 9.84 ميكرومول لـ IBA. كما أن النسبة المئوية للتجذير انخفضت إلى 0% بعد أن كانت 30% عند التركيز 1 ميكرومول لـ IBA عند إضافة الكربون الفعال. وكانت الفروق غير معنوية بين الأوساط المضاف اليها الكربون الفعال وتلك الخالية منه وذلك بالنسبة لعدد الجذور وطولها، حيث وصل عدد الجذور إلى 3.92 جذر ووصل طولها إلى 4.59 سم عند التركيز 4.92 ميكرومول.

جدول(5): تأثير إضافة الكربون الفعال في متوسط عدد وطول الجذور لنبات GF 677 (متوسط 20 عينة نباتية ± الخطأ المعياري SE)

رمز الوسط	تركيب الوسط	النسبة المئوية للتجذير	متوسط عدد الجذور	متوسط طول الجذور (سم)
R0	WPM (0)	0%	0 ± 0.0 f	0 ± 0.0 e
R1	WPM + 1µM IBA	30%	1.17 ± 0.167 e	3.6667 ± 0.21082 bc
R2	WPM + 2.46 µM IBA	70%	1.64 ± 0.133 de	3.4857 ± 0.23059 bc
R3	WPM + 4.92 µM IBA	85%	2.65 ± 0.119 bc	4.5765 ± 0.18992 a
R4	WPM + 9.84 µM IBA	90%	3.94 ± 0.171 a	3.0722 ± 0.09421 cd
R5	WPM + 14.76 µM IBA	75%	3.27 ± 0.118 ab	2.36 ± 0.10726 d
R0-Ac	WPM (0) + 2g/l AC	0%	0 ± 0.0 f	0 ± 0.0 e
R1-Ac	WPM + 1µM IBA + 2 g/l AC	0%	0 ± 0.0 f	0 ± 0.0 e
R2-Ac	WPM + 2.46 µM IBA + 2 g/l AC	35%	1.29 ± 0.184 e	4.0857 ± 0.05948 ab
R3-Ac	WPM + 4.92 µM IBA + 2 g/l AC	55%	2.36 ± 0.152 cd	4.5909 ± 0.24916 a
R4-Ac	WPM + 9.84 µM IBA + 2 g/l AC	60%	3.92 ± 0.149 a	3.0250 ± 0.12005 cd
R5-Ac	WPM + 14.76µM IBA + 2 g/l AC	70%	3.29 ± 0.125 ab	2.4571 ± 0.16432 d

ملحوظة: وجود تشابه بحرف واحد على الأقل في العمود نفسه يشير إلى أن الفروق غير معنوية عند مستوى المعنوية 0.05.

يقوم الفحم بامتصاص منظمات النمو ومركبات عضوية أخرى من وسط الزراعة، كما أنه يحرر مواد مشجعة على النمو موجودة في النبات أو يمتصها من الوسط (Pan and Staden, 1998) وهذا ما توضحة نتائجنا، حيث انخفضت نسبة التجذير بشكل كبير في المعاملات جميعها باستثناء المعاملة التي تحتوي على أعلى تركيز من IBA وتتفق هذه النتيجة مع (Garoosi *et al*., 2010) حيث حصل على نسبة تجذير 40 % للأصل GF 677 عند استعمال هرمون IBA بتركيز 9.84 ميكرومول/ل وبإضافة 25 ملغ/ل من الكربون الفعال إلى وسط الزراعة.

5- أقلمة النباتات الناتجة عن عملية التجذير:

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 وطول النموات الأقل. ويعد النمو القوي للنباتات في الأصص من حيث تشكيل نموات وتفرعات جديدة وزيادة طول النبات وزيادة عدد الأوراق من المؤشرات المهمة التي اعتمد

عليها في أثناء تقييم نتائج عملية الأقلمةً.

كان متوسط طول النباتات 14 سم داخل غرف النمو أما في البيت الزجاجي فقد ازداد نمو النباتات ليصل متوسط الطول إلى 27 سم قبل 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 % وهذه النسبة العالية تتوافق مع نتيجة (Garoosi *et al*., 2010) فقد وصلت نسبة نجاح عملية أقلمة الأصل GF 677 إلى 90 % أي أن عملية الأقلمة للأصلGF 677 ممكنة بسهولة (الشكل 2).

الشكل(2):أقلمة النباتات الناتجة من الأنابيب للأصل GF 677

ومن خلال هذه الدراسة يمكننا أن نوصي باعتماد طريقة الإكثار الخضري الدقيق باستخدام طرائق زراعة النسج النباتية من أجل إكثار الأصل GF 677 بأعداد هائلة على مدار العام، بهدف الحصول على نباتات متجانسة وثابتة وراثياً تحمل مواصفات مطابقة للنبات الأم.

المراجع

المراجع الأجنبية

Antonopoulou, C., Dimassi, K., Therios, I., Chatzissavvidis, C. and Papadakis, I. 2007. The effect of Fe-EDDHA and of ascorbic acid on *in vitro* rooting of the peach rootstock GF-677 explants. Acta Physiol Plant, 29: 559-561.

Bahmani, R., Karami, O. and Gholami, M. 2009. Influence of carbon sources and their concentration on rooting and Hyperhydricity of apple rootstock MM.106. ***World***

Alkhateeb, A.A. 2001. Influence of different carbon sources and concentrations on *in vitro* root formation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.), Khanezi. Zagazig ***J. Agric. Res***, 28: 597-608.

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.

Appl Sci. J. 6 (11): 1513 – 1517.

Caboni, E. and Lauri, P. 2002. Micropropagation as a tool to evaluate response to Fe-limiting conditions in almond genotypes. ***Acta Hort***. 591.

Carrera, M. 1992. Patrones para el melocotonero. ***Fruticultura Profesional*** 46: 6-11.

Chrysovalantou, A., Kortessa, D., Ioannis, T., Christos, C. and Vasilios, T. 2005. Short communication inhibitory effects of riboflavin (Vitamin B_2) on the *in vitro* rooting and nutrient concentration of explants of peach rootstock GF 677 (*Prunus amygdalus × P. persica*). ***Scientia Horticulturae***, 106: 268-272

De Klerk, G. J. M. And Calamar, A. 2002. Effect of sucrose on adventitious root regeneration in apple. ***Plant Cell***, ***Tiss. Org. Cult***, 70: 207-212.

De Neto, V. B. P. and Otoni, W. C. 2003. Carbon sources and their osmotic potential in plant tissue culture.***Scient. Hort***, 97: 193-202.

Dimassi-Theriou, K. 1995. Factors affecting *in vitro* multiplication and rhizogenesis of the peach rootstock GF677 and petunia (*Petunia hybrid*). PhD Thesis. Aristotle University of Thessaloniki, Greece.

Driver, J. A. and Suttle, G. R. 1987. Nursery handling of propagles. In cell and Tissue culture in Forestry. Bonga, J. M. and Durzan, D J. (eds.), Dortrecht, Netherlands. 320-335.

Fotopoulos, S. and Sotiropoulos, E. T. 2005. *In vitro* rooting of 204/84 rootstock as influenced by mineral concentration of the culture medium and exposure to darkness for a period. ***Agronomy Research***, 3 (1): 3-8.

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

George, E. F. 1996. Plant propagation by tissue culture: in practice, Part II. 2nd edition. Exegetics Limited Press, London.

Hartmann, H. T., Kester, D. E. and Davies, F. T. 1990. Plant propagation-principles and practices. 4th edition. Prentice - Hall, Inc. Engle Wood Cliffs. New Jerseys. 232 -233.

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.

Kamali, K., Majidi, E., Zarghami, R. and Arvin, J. M. 2006. Difference in micropropagation of vegetative rootstock (GF-677) and other almond seed genotypes. ***Acta Hort***, 726: 199 – 200.

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

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.

Loreti, F., Morini, S., and Pasqualetto, P. L. 1988. Effect of alternating temperature during proliferation and rooting stages of GF 655/2 and GF 677 shoots cultured *in vitro*. Vegetative propagation woody species. ***Acta Hort***., 277:4 67-470.

Maynard, K. B. and Bassuk, N. L. 1987. Etiolation and banding effects on adventitious root formation. In *Adventitious Root Formation*. (Davies T., Haising, B. E. and Sankhla, N., eds.). Dioscourides Press Portland, Oregon.

Murai, Y., Harada, H. and Yamashita, H. 1997. *In vitro* propagation of apricot (*Prunus armenica L.*) cv. 'BakuohJunkyou'. ***J. Japa. Socie. Hort. Sci***, 66: 475-80.

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

Nevine,M., Taha, A. and Mohamed, I. 2011. Morphological and anatomical evaluation of a new five stone fruit rootstocks***. J. Amern Sci***. 7 (3).

Ning, Y., Sheng, L., Xiuchun, W. and Ziyi, C. 2004. Rapid propagation of almond rootstock. ***Acta. Bot Bor-Occid Sin***, 24: 324-328.

Pan, M. J. and Van Staden, J. 1998. The use of charcoal in *in vitro* culture. ***Plant Grow. Reg***., 26: 155-163.

Romano, A., Noronha, C. and Martins-Loucao, M. A. 1995. Role of carbohydrate in micropropagation of Cork oak. ***Plant Cell Tissue and Organ Culture***, 40 (2): 159-167.

Shekafandeh, A. and Ghasemi, M. 2009. Effect of hot-water and cold treatment on reducing contamination in almond tissue culture. ***J. Appl. Hort***, 11 (x)

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

Thorpe, T., 1982. Carbohydrate utilization and metabolism. In: Bonga, J. M., Durzan, D. J. (eds.), Tissue Culture in Forestry. Martinus Nijhoff Publishers, London, 325-368.

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 J. Crop and Hort. Sc***, 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.

Studies of Factors Affecting Rooting of GF 677 Rootstock by Plant Tissue Culture Technique

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

ABSTRACT

This research studied of effects of *in vitro* rooting of GF 677 rootstock by plant tissue culture technique. Single cuttings 0.5 – 1 cm in length with one bud excised and cultured on woody plant medium (WPM) supplemented with 6.6 µM benzyl amino purine (BA) + 1µM indole-3-butyric acid IBA which showed the best result for proliferation (4.58). Microshoots (1-2 cm) moved to rooting media containing different concentrations of IBA for studying the effect of incubation of shoots in dark, kind of the carbon source, macro-elements concentrations and active charcoal on rooting rate, number and length of the formed roots. Maximum rooting rate was obtained on WPM + 9.84 µM IBA (90%) when the shoots incubated in the dark for the first 7 days after the cultured on the medium, the highest number of the root was 3.94 with maximum length of 4.5 cm. Reducing macro-elements concentration led to reduce the rooting rate and number of root from 3.94 to 3.69 and length from 4.57 to 4.36 cm, and so for the addition of active charcoal that reduce the rooting rate and number of root from 3.94 to 3.92 but length of root increase from 4.57 to 4.59 cm. On the other hand, rooting rate did not change significantly when the carbon source was changed and the number of roots was 3.94 in the medium supplemented with sucrose and 3.6 in the medium supplemented with sorbitol, length of roots was 4.57 cm with sucrose and 4.6 cm with sorbitol. Rooted microshoots were successfully acclimatized (95%) on pots mixture of 2:1 (v/v) peat/perlite after one month.

Keywords: Rooting, tissue culture, GF 677 rootstock.

[1] Center of Agricultural Sciences, Sweida, Syria.
wasimmo6@yahoo.com
[2] Department of Biology, Faculty of Sciences, Damascus University, Syria.
Received on 30/12/2012 and Accepted for Publication on 30/4/2013.