مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (38) العدد (3) 2016
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (38) No. (3) 2016

تأثير تركيب الوسط المغذي في إنبات ونمو بذور نبات الكحلاء (*Echium angustifolium* Mill.) المزروعة مخبرياً في الأنابيب

الدكتورة دينا حداد*
الدكتورة حنان حمامي**
مها حمدان***

(تاريخ الإيداع 19 / 11 / 2015. قبل للنشر في 19 / 5 / 2016)

ملخّص

لقد تم في هذا البحث دراسة تأثير تركيب الوسط المغذي في إنبات ونمو بذور النوع *Echium angustifolium* Mill. (نبات الكحلاء) المزروعة مخبرياً في الأنابيب *In vitro*.

تم استخدام الأوساط التالية (الماء، وسط MS جامد Murashige & Skoog، وسط 1/2 MS جامد) بوجود هرمون الجبريلين GA3 (0.001-0.01-0.1-1 مغ/ل) أو بدونه.

أظهرت النتائج تفوق الوسط MS الجامد بوجود الجبريلين 1مغ/ل على باقي التراكيز والأوساط الأخرى، حيث سجل أعلى نسبة إنبات بمعدل 68.88%، وبمتوسط طول جذير بلغ 26.3 مم، ومتوسط طول سويقة 37 مم بعد أسبوعين من الزراعة.

كما تحسنت نسبة الإنبات في الوسط 1/2 MS الجامد مضافاً إليه الجبريلين بتركيز 1مغ/ل، حيث بلغت 64.43%، وسجل متوسط طول الجذير 24.5 مم، والسويقة 33 مم.

كما أدى إضافة الجبريلين 0.001 مغ/ل إلى الماء، إلى الحصول على إنبات 64% بعد أسبوعين من الزراعة، وبمتوسط طول جذير 18 مم، ومتوسط طول سويقة 20 مم.

زرعت بعض البادرات الناتجة عن أفضل وسط في أصص تحوي تربة مغذية (تورب) وأقلمتها، وتم الحصول على نباتات بحالة خضرية جيدة أخذت نتائجها بعد شهرين من الزمن.

الكلمات المفتاحية: إنبات البذور مخبرياً، وسط مغذٍ، الجبريلين، الكحلاء.

* أستاذ مساعد- قسم علم الحياة النباتية- كلية العلوم- جامعة تشرين- اللاذقية- سورية
** مدرس- قسم علم الحياة النباتية- كلية العلوم- جامعة تشرين- اللاذقية- سورية.
*** طالبة دراسات عليا (دكتوراه)- قسم علم الحياة النباتية- كلية العلوم- جامعة تشرين- اللاذقية- سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (38) العدد (3) 2016
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (38) No. (3) 2016

Effect of media culture composition on In Vitro germination and growth of seeds of Echium angustifolium Mill.

Dr. Dina Haddad*
Dr. Hanan Hamame**
Maha Hamdan***

(Received 19 / 11 / 2015. Accepted 19 / 5 /2016)

□ ABSTRACT □

The effect of different culture medias (water, MS solid, MS 1/2 solid) on germination and growth of *Echium angustifolium* Mill.

in vitro was studied with different concentrations of gibberellic acid (0.001-0.01-0.1 and 1 mg/l).

The results showed that best germination rate (68.88%) and root (26.3mm) and shoot (37mm) growth were obtained in MS solid medium with 1mg/l GA3.

Addition of 1mg/l GA3 to MS1/2 solid medium improved germination rate (64.43%), root (24.5mm), and shoot (33mm)growth.

When GA3 (0.001 mg/l) was added to water medium, germination rate reached (64%), as well as root and shoot growth (18mm and20mm) alternatively after 2 weeks of planting.

Seedling of MS solid medium were transferred into pots contained torp medium to adapting them with outside environment, and then surviving their growth until maturity after 8 weeks.

Key words: Germination seeds *in vitro*, Culture Medium, Gibberellin, *Echium*.

* **Associate Professor, Department of Botany, Faculty of sciences, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
** **Assistant Professor, Department of Botany, Faculty of sciences, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
*** **Postgraduate student, Department of Botany, Faculty of sciences, Tishreen University, Lattakia, Syria**

مقدمـــة:

تطورت تقنية زراعة الأنسجة النباتية تطوراً كبيراً خلال العقود الأربعة الماضية، وتم التركيز على إنتاج المواد الاستقلابيـــة الثانويـــة كـ rosmarinic acid, naphtaquinone, Pyrrolizidine alkaloids بالإضافـــة إلى إكثار الأنواع النباتية مخبرياً *In vitro*. (Koca *et al.*, 2012)

تعـدُ الفصيلـة البوراجينيـــة Boraginaceae إحدى الفصائل التي طبقت عليها التقانات الحيويـة بسبب قيمتها الاقتصادية، الطبية، التزيينية، موادها الاستقلابية الثانوية بالإضافة لأنواعها المهددة بالانقراض.

(Rodriguez *et al.*, 2012)

تحتوي هذه الفصيلة المعروفة بـ Borage أو don't forget me (أي لاتنساني) أكثر مـن 154 جنساً موزعاً في 2500 نوعـاً فـي العالم (Boulos, 2000)، يأتي منهـا في سورية 29 جنســاً موزعــاً في 91 نوعاً وفقـاً لـ (Mouterde,1983). ينتمي النوع المدروس لشعبة مغلفات البـــذور Dictyledonaea=Magnoliopsida وتحت صف النجميات Asteridae ورتبة الشفويات Lamiales وفقاً لنظام كرونكوست (Cronquist, 1981).

بحث Melser&Klinkhamer (2001) في العوامل المؤثرة في إنبات بذور *Echium vulgare* في الطبيعـة، كون هذا النبات يعاني من معدل إجهاض مرتفع للأجنة، وصممت تجربتهما باعتبار أن متوسط إنتاج البذور في الزهرة يختلف حسب الفصل، مما يؤدي إلى اختلاف في مستويات إجهاض الأجنة.

وفـي دراســة لاحقــة لـ Melser&Klinkhamer (2001) تـم دراســة تأثيــر المغذيـات (المكونــة مــن عناصر كبرى حسب Steiner 1968 وعناصر صغرى وفقاً لـ Arnon&Hoagland 1940) فـي معدل إنتاج البذور في الزهرة وعلاقتها بإجهاض البويضات عنـد النـوع *Cynoglossum officinale* من Boraginaceae.

كما قـام Melser *et al.* (1997) بدراسة تأثير التلقيح (الذاتـي و الخلطـي) في معـدل إنتـاج البذور في الطبيعـة عنـد النـوع *Echium vulgar* المنتمي لنفس الفصيلـة.

ودرس الباحثان Izmailow&Biskup (2003) تأثير الترب الملوثـة بالمعادن كـالزنـك Zn والنحاس CU فـي القـدرة الإنتاجيـة للنـوع *Echium vulgar*، ودور الزنـك الإيجابـي فـي معــدل إنبـات البــذور مقارنـــة بالنحـاس والشاهد.

وبينت مالك والمياحي (2007) " فـي دراســة تشريحيـة للأزهار والثمـار" مراحـل التطـور الجنينـي وأسبـاب فشـل إنبات بذور نبات البمبر *Cordia myxa* L. من فصيلة Boraginaceae، حيث أشارتا إلى أن السبب الرئيسي في فشل إنبات نسبـة عاليـة مـن بذور البمبر هو حدوث اضمحلال لنسيج الجنين وبقاء الغلاف الخارجي للبذرة فقط.

يعـد هـرمـون الجبريليـن GA3 مـن منظمـات النمـو النباتيـة التي ساهمـت في إنبـات بـذور العديـد مـن الأنواع، حيـث كان للتراكيز المنخفضـة منـه دوراً إيجابيـاً فـي زيـادة نسـب إنبات بـذور نبات الخس والشعيـر بشكل ملحـوظ (Kabar&Baltepe,1989)

يختلــف تأثيـر GA3 حســب تركيــزه ومكــان تأثيـره والوسـط المستخـدم وحسـب النـوع النبـاتـي (Patel&Mankad, 2014)، بينت ابراهيم (2012) الـدور الإيجابـي لهرمـون GA3 (بالتراكيز المنخفضة) فـي

كسر سكون البذور لدى أحد أنواع نبات الجرجير بدلاً من معاملتها بالحرارة المنخفضة وثم تعريضها للضوء، حيث كان له دوراً منشطاً لعملية الإنبات حتى في الظلام.

لاحظ الباحثان Sauls&Campbell (1980) زيادة متوسط إنبات بذور الأفوكادو عند معاملتها بـ GA3 (250 ppm)، ودرس Butola&Badola (2004) الدور الإيجابي لـ GA3 بالتراكيز المنخفضة في تحفيز نمو بذور النوع *Angelica glauca*، ولاحظ pradhan&Badola (2010) تأثير GA3 (50–350 µM) في نمو و قصر فترة إنبات بذور النوع *Swertia chirayita*.

يساهم GA3 في تطاول السويقة من خلال دوره في زيادة انقسام الخلايا، فقد لاحظ Scott (1984) زيادة طول شتلات النباتات العطرية المعاملة بهرمون الجبريلين، كما يؤثر GA3 في إنتاج الأنزيمات المسؤولة عن تحليل المدخرات في الحبوب، ويؤخر تساقط أوراق وثمار الليمون عند رشها بتراكيز مدروسة منه (Salisbury&Ross, 1922)، حيث لاحظ Ram *et al.* (1970) حدوث إزهار مبكر عند النوع *Antirrhinum majus* عند رشه بـ (5–25 ppm) من هرمون الجبريلين.

تتميز الفصيلة البوراجينية بأصبغتها الحمراء المعروفة بشكل رئيسي بـ naphtaquinones Alkannins و/أو Shikonins التي وجدت في السطح الخارجي لجذور الأنواع من جنس: *Echium*, *Onosma*, *Arnebia, Alkanna,* (Koca *et al.*, 2012)

تحتوي بذور *Echium* على زيت غني بأحماض Steariodonic acid (SDA) وأحماض Gamma–linolenic acid (GLA)، أي أنه غني بأحماض الأوميغا (3) الدسمة Omega3، وهذه الأحماض نادرة الوجود في النباتات الأخرى، ولها قيمة صحية عالية، كما استخدمت في مستحضرات العناية الشخصية على نحو واسع (مستحضرات التجميل) (Guil–Guerrero *et al.*, 2006)، ويمتاز نبات *Echium* بأنه جاذب كبير للحشرات الملقحة وخاصة نحل العسل Honey bee إذ أشارت الإحصائيات إلى أن حوالي 15% من العسل الأسترالي مصدره أزهار *Echium*. (Eberle *et al.*, 2014)

أهمية البحث وأهدافه:

أهمية البحث: يعاني جنس *Echium* من معدل إجهاض مرتفع للبويضات حيث يلاحظ إجهاض بويضة، بويضتان أوثلاث بويضات من العدد الإجمالي لها والبالغ أربع، وهذا أدى بدوره إلى انخفاض في نسب إنبات البذور بشكل ملحوظ، بالإضافة إلى أهميته الطبية والاقتصادية، وقلة الدراسات المخبرية حول إنباته جعلت منه مادة علمية جاذبة للدراسة.

أهداف البحث:

1. دراسة تأثير أوساط مغذية في معدل إنبات ونمو بذور *Echium* وتحديد أفضلها.
2. أقلمة النباتات النامية داخل الأنابيب الزجاجية والناتجة من أفضل وسط.

طرائـــق البحـــث ومـــواده:

1. الوصـف العـام للنبـات المـدروس:

نبـات معمـر شوكي، بـري، قليـل الوفـرة، طولـه (20–80) سـم، السـاق منتصبـة كثيرة التفـرع عنـد القاعـدة، الأوراق القاعديـة خيطيـة رمحيـة غيـر حـادة، النورات نهائيـة وإبطيـة متفرعـة تشبـه السنبلـة، الأزهار لاطئـة لها قنابـة بيضويـة حادة، التويـج قمعي الشكل أحمـر وردي أو بنفسجي، الأسديـة بـارزة عددهـا مـن (3–5)، تتألـف مـن خيوط ورديـة، ومآبـر ذات لـون بنفسجي مزرق. القلـم خيطـي مشعـر يتفـرع لفرعيـن، عـدد الثميرات (الجويـزات) حوالـي 4، رماديـة اللون، خشنـة الملمس، محدبـة قليـلاً، تـم الحصول علـى النبات مـن محافظة اللاذقيـة. كمـا هـو موضح بالشكل (1) الآتـي: (حـداد، 2011)

الشكـل (1) الوصـف العـام للنبـات المـدروس

2. قياس أبعاد الثميرات والبذور المستخدمة:

جمعـت الثميـرات مـن النبـات مباشرة مـن محافظـة اللاذقيـة، وحفظـت في عبوات بلاستيكيـة، ثـم قيـست أبعـاد 50 ثميـرة وبـذرة بـاستخـدام مسـطرة ميليمتريـة مدرجـة، وتـم حسـاب المتوسـط الحسابـي X والانحـراف المعياري ±SD لكـل منهمـا، لمعرفـة تأثيـر الوسـط المغذي على حجـم البـذور. كمـا هـو موضح في الجـدول الآتـي:

الجـدول (1) أبعـاد الثميـرات والبـذور المدروسـة (مـم)

X طـول الثميـرة	±SD	X عـرض الثميـرة	±SD	X طول البذرة	±SD	X عرض البذرة	±SD
2.38	0.4±	1.3	0.27±	2	0.07±	1.1	0.04±

3. الأوسـاط المستخدمـة في الإنبـات:

تـم استخـدام ثلاثـة أوسـاط: المـاء، MS، 1/2MS (Murashige & Skoog, 1962) مضافـاً إليـه السكروز بمعـدل 30غ/ل، واستخدمـت الأوسـاط مـع تراكيز مختلفـة (1 ,0.1 ,0.01 ,0.001) مـغ/ل مـن هرمـون الجبريليـن GA3 أو بدونـه. ضبطـت درجـة الحموضـة علـى 5.6، وأضيـف الأغـار بمعـدل

8غ/ل، ثم عقمت الأوساط المغذية والماء المقطر والأدوات المستخدمة في جهاز الأوتوغلاف في درجة حرارة 121 م° مدة 20 دقيقة.

4. تعقيم البذور وزراعتها وحضنها:

عقمت الثميرات بوضعها في الكحول الإيتيلي 70% مدة دقيقة واحدة ثم غسلت بالماء المقطر ووضعت في محلول من هيبوكلوريت الصوديوم 10% (وهي نسبة المادة الفعالة) مدة 15 دقيقة ثم غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات. زرعت البذور (بعد تمزيق قمة الثميرة بمشرط حاد) في أطباق معقمة مجهزة بورقة ترشيح مرطبة بالوسط الزرعي 10مل (الماء والهرمون)، كما زرعت ضمن أنابيب زجاجية (20 X 2.5) سم حاوية على الوسط المغذي MS (25) مل بمعدل 3 بذرة للأنبوب الواحد (تم الزرع في الأنابيب للتقليل من التلوث الحاصل نتيجة الزرع في الأطباق ذات القطر العريض مقارنة بالأنبوب). تم زرع 30 بذرة لكل تركيز (بمعدل 3 مكرر). تمت عملية التعقيم والزراعة في غرفة العزل (Labtech) المعقمة بالأشعة فوق البنفسجية، ووضعت الأطباق والأنابيب في الحاضنة بدرجة حرارة 1±25 م° وإضاءة 16 سا/يوم وشدة 1500 لوكس، مع أخذ القراءات أسبوعياً لتحديد نسبة الإنبات وطول الجذر والسويقة. أجري هذا البحث في مخابر قسم علم الحياة النباتية/ كلية العلوم/ جامعة تشرين.

5. أقلمة النبات:

بعد تحديد الوسط والتركيز الأفضل للإنبات، قمنا بنقل بعض النباتات النامية في الأنابيب بعد وصولها للطول المناسب (بعد شهرين من زراعتها في الوسط المغذي) إلى أصص بلاستيكية تحوي وسط زرعي (التورب)، بعد غسل جذورها جيداً بالماء للتخلص من بقايا الأغار. تم تغطية الأصص في البداية بأكياس من النايلون، وتثقيبها بشكل تدريجي حتى إزالة الأكياس نهائياً بعد أسبوع. رطبت التربة بشكل يومي برذاذ مائي مع تعريضها للضوء، وتابعنا نمو النباتات لمدة شهرين متتابعين مع أخذ القراءات أسبوعياً لطول البادرة.

6. الطرق الإحصائية المستخدمة:

تم استخدام برنامج الحزمة الإحصائية للعلوم الاجتماعية (SPSS V18)، وذلك للقيام بعملية التحليل وتحقيق الأهداف الموضوعة في البحث واستخدم مستوى الدلالة (5%)، يقابله مستوى ثقة يساوي (95%) من أجل تفسير نتائج الدراسة، عبر عن النتائج بالمتوسط $\pm$ الانحراف المعياري، وتم استخدام الطرق الإحصائية التالية:

- اختبار تحليل التباين one way anova للمقارنة بين الأطوال في الأسبوع الأول والثاني.
- اختبار L.S.D لاستنتاج مكان تواجد الفروق المعنوية بين الأطوال.
- معامل التحديد لتحديد نسبة تأثير الوسط على الطول.
- اختبار ستودنت T independent sample-t.test للمفاضلة بين أفضل وسطين مدروسين.

النتائـــج والمناقشـــة:

1. تأثيـر المـــاء والجبريليـن فـي معـدل الإنبـات والنمـو:

بينـت النتائـج الموضحـــة فـــي الجـــدول (2) مايلـــي:

سجـل الوسـط (المـاء + GA3 0.001 مـغ/ل) أفضـل نسبـة إنبات 64% بعـد أسبوعيـن مـن الزراعـة، وانخفضت هـذه النسـبـة في الوسـط (المـاء + GA3 0.01 مـغ/ل) إلى 60%، وبلغـت 56% فـي الوسـط (المـاء + GA3 0.1 مـغ/ل)، وفـي الوسـط (المـاء + GA3 1مغ/ل) 54%، بينمـا لـم تتـجاوز 29.3% فـي المـــاء لوحـده (بدون هرمون).

تم حساب متوسط طـول الجـذر والسويقـة لـ 3 مكررات بعـد أسبوعين من الزراعـة، وقد أظهرت النتائـج تفـوق الوسـط (المـــاء + GA3 0.001 مـغ/ل) علـى باقـي الأوســاط، حيـث بلـــغ متوسـط طـول الجذيـر 18 مـم ومتوسـط طـــول السويقـــة 20 مـم، بينمـا انخفـض متوسـط طـول الجذيـر فـي الوسـط (المـاء + GA3 0.1مغ/ل) إلى 12 مـم والسويقـــة إلـى 13.6 مـم.

تتفـق نتائجنـا مـع صيـوح (2009) التي بينـت فعاليـة الجبريليـن فـي رفـع نسبـة إنبـات بـذور الخـوخ، ومـع Al-Selawy (2011) و Cheyed (2008) و *et al.* Roychowdhury (2012) اللـذين درسوا دور الجبريليـن فـي تحسيـن النسـبـة المئويـة للإنبـات ونمـــو البـادرة في الـــذرة الصفراء، وأوضحـوا تأثيـره فـي طبقـــة الأليـرون (الطبقـة الفاصلـة بيـن القشـرة والسويـداء) فـي الحبـوب مـن أجـل إطـلاق أنزيمـات التحـلل المائـي مثـل الألفـا أميلاز وبيتـا أميـلاز وغيرهـا مـن الأنزيمـات المسؤولـة عـن الإنبـات والتي لهـا دوراً فعـالاً فـي تحـلل المـواد الرئيسـة الموجـــودة فـي السويـداء مثـل اللبيـدات والبروتينات والكربوهيدرات إلـى مـواد أبسـط تنتقـل إلى الجنين مـن خلال القصعـة Scuteiium فضلاً عـن زيادة نسبـة الأحماض الأمينيـة في الجنين مم ينعكس إيجاباً على نسبـة الإنبـات. أظهرت الدراسة الإحصائية قيمة معامل التحديد ($R^2 = 0.54$) وبالتالي فإن 54% من التأثيرات على النسبة المئوية للإنبات تعود لتغير التركيز المضاف للماء بغض النظر عن الشاهد، وبين التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية فقط في الأسبوع الأول للتجربة وذلك بالنسبة لطول الجذر ($p<0.05$) وللإستنتاج مكان تواجد هذه الفروق، تم إجراء اختبار LSD 5% الذي بين وجود فرق معنوي بين كل متوسطين الفرق بينهما أكبر من 1.34.

الجدول (2) تأثير الماء والجبريلين GA3 (مغ/ل) في متوسط النسبة المئوية للإنبات % ومتوسط النمو (مم) بعد أسبوعين من الزراعة (أسبوع Week=W)

الوسط	النسبة المئوية للإنبات	متوسط طول الجذر		متوسط طول السويقة	
		W1	W2	W1	W2
ماء (شاهد)	29.3	0.31± 6.66	1.8± 15.2	3.42± 13.5	3.34± 16.5
GA3 1	54	0.32± 2.3	3.97± 14.3	2.86± 9	3.63± 14
GA3 0.1	56	0.55± 3	2.83± 12	2.86± 9	3.86± 13.6
GA3 0.01	60	0.54±3	3.12± 16.4	2.65± 10.3	5± 19.6
GA3 0.001	64	1.39± 5	4.31± 18	2.33± 15	4.04± 20
F (مؤشر فيشر من جدول تحليل التباين)		17.84	1.38	2.786	1.737
P (المعنوية)		0*	n.s 0.31	n.s 0.09	n.s 0.22
LSD 5%		1.34	—	—	—

2. تأثير MS والجبريلين في عملية الإنبات والنمو:

بينت النتائج الموضحة في الجدول (3) مايلي:

سجل الوسط (MS + GA3 1 مغ/ل) أفضل نسبة إنبات 68.88% بعد أسبوعين من الزراعة مقارنة مع الشاهد، وانخفضت هذه النسبة في الوسط (MS + GA3 0.1 مغ/ل) إلى 55.5%، وبلغت 49.9% في الوسط (MS + GA3 0.01 مغ/ل)، بينما لم تتجاوز 25.5% في الوسط (MS +GA3 0.001 مغ/ل).

تفوق الوسط (MS + GA3 1 مغ/ل) على باقي الأوساط، حيث بلغ متوسط طول الجذير 26.3 مم خلال الأسبوع الثاني من الزراعة مقارنة مع الأسبوع الأول 18 مم، ومتوسط طول السويقة 37مم خلال الأسبوع الثاني مقارنة مع الأسبوع الأول 30 مم، بينما انخفض متوسط طول الجذير في الوسطين (MS + GA3 0.01 و 0.001 مغ/ل) إلى 6 مم خلال الأسبوع الأول و 13مم للتركيز 0.001 و12.4مم للتركيز 0.01 مغ/ل في الأسبوع الثاني من الزراعة، أما السويقة فسجلت أدنى قيمة لها في الوسط (MS + 0.1 مغ/ل) حيث بلغ 11 مم في الأسبوع الأول و 13 مم في الأسبوع الثاني من الزراعة، وقد تمت متابعة قياس أطوال الجذر والسويقة حتى نهاية الشهر الثاني من الزراعة كما هو موضح في الجدول(4).

تتفق هذه النتائج مع دراسة Jaya Chandra *et al.* (2013) على دور حمض الجبريليك المضاف بتراكيز مختلفة إلى وسط MS الجامد في تحسين معدل إنبات بذور *Morinda Citrifolia* L. من الفصيلة Rubiaceae حيث أعطى التركيز 1 مغ/ل أعلى نسبة إنبات مقارنة بالتراكيز الأخرى، وتم الإشارة إلى أهمية GA3 في رفع وتحسين مستوى العمليات الاستقلابية والأنزيمية التي تحدث داخل البذرة.

تبين لدى دراسة تأثير تراكيز مختلفة من GA3 على النسبة المئوية للإنبات أن قيمة معامل التحديد ($R^2 = 0.547$) وبالتالي 54.7% من التأثيرات على النسبة المئوية للإنبات تعود لتغير التركيز المضاف لـ MS

وذلك بغض النظر عن الشاهد، ولوحظ أن الفروق المعنوية تواجدت في الأسبوع الأول والثاني من التجربة، وذلك بالنسبة لطول الجذر والسويقة ($p<0.05$) ولاستنتاج مكان تواجد هذه الفروق تم إجراء اختبار LSD5% مع ملاحظة أن أعلى متوسط للأطوال في كل من الأسبوع الثان ـي (بالنسبة لطول الجـذر) وكل مـن الأسبوعين الأول والثاني بالنسبـة للسويقـة كان في الوسط MS +1.

الجـــدول (3) تأثيـر الوسط MS والجبريليـن GA3 (مـغ/ل) فـي متوسط النسبـة المئويـة للإنبـات % ومتوسط النمـو (مـم) بعـد أسبوعين مـن الـزراعة (أسبوع Week=W)

الوسـط	النسبة المئوية للإنبات	متوسط طـول الجـذر		متوسط طـول السويقـة	
		W1	W2	W1	W2
MS (شاهد)	62.21	4.48± 20	2.93± 24.5	3.67± 27	8.8± 35
GA3 1+ MS	68.88	4.08± 18	3.23± 26.3	4.7± 30	4.99± 37
GA3 0.1+ MS	55.5	0.1± 9	1.41± 12	2.21± 11	2.58± 13
GA3 0.01+ MS	49.9	1.7± 6	2.71± 12.4	2.63± 12.3	5.27± 20.6
GA3 0.001+ MS	25.5	1.7± 6	2.12± 13	3.67± 14.5	5± 20
F		16.33	23.13	19.36	10.09
P		*0	*0	*0	*0.002
LSD 5%		5.13	4.66	6.35	10.35

الجـــدول (4) تأثيـر الوسط MS والجبريليـن GA3 (مـغ/ل) فـي متوسط النسبـة المئويـة للإنبـات % ومتوسط النمـو (مـم) بعـد شهريـن مـن الـزراعة (شهـر Month=M)

الوسـط	النسبة المئوية للإنبات	متوسط طـول الجـذر		متوسط طـول السويقـة	
		M1	M2	M1	M2
MS (شاهد)	62.21	30	42.5	58.9	72
GA3 1+ MS	68.88	42.23	64.5	65	110
GA3 0.1+ MS	55.5	26.1	35	22.8	52.3
GA3 0.01+ MS	49.9	24.2	30.5	29.5	61
GA3 0.001+ MS	25.5	24	29	27.8	40.8

3. تأثيـر MS 1/2 والجبريليـن فـي عمليـة الإنبـات والنمـو:

أظهـرت النتائـج الموضحـة فـي الجـدول (5) التالـي:

تفـوق الوسـط (MS 1/2 + GA3 1مـغ/ل) علـى باقـي التراكيـز، حيـث سجـل أعلـى نسبـة إنبـات للبـذور 64.43% بعـد أسبوعيـن مـن الـزراعة، وانخفضـت هـذه النسـبـة إلـى 41.11% فـي الوسـط (MS 1/2 + GA3 0.01 مـغ/ل)، بينمـا لـم تتجـاوز 38.88% فـي الوسـط (MS 1/2 + GA3 0.001 مـغ/ل). تم حساب متوسط طـول الجـذر والسويقـة، وقـد أظهرت النتائج تفـوق

الوسط (1/2 MS + 1 GA3 مغ/ل) على باقي التراكيز، حيث بلغ متوسط طول الجذير 24.5 مم خلال الأسبوع الثاني من الزراعة مقارنة مع الأسبوع الأول 21 مم، ومتوسط طول السويقة 33 مم خلال الأسبوع الثاني مقارنة مع الأسبوع الأول 29 مم، بينما انخفض متوسط طول الجذير في الوسط (1/2 MS + 0.001 GA3 مغ/ل) إلى 14.3 مم خلال الأسبوع الأول و 17.5 مم في الأسبوع الثاني من الزراعة، أما السويقة فسجلت أدنى قيمة لها في نفس الوسط وتركيز GA3 حيث بلغ متوسط طولها 17 مم في الأسبوع الأول و 20.2 مم في الأسبوع الثاني من الزراعة، وقد تمت متابعة أطوال الجذر والسويقة حتى نهاية الشهر الثاني من الزراعة كما يوضح الجدول (6).

وقد بين Nasri *et al.* (2014) الدور الإيجابي لهرمون الجبريلين في كسر خمول البذرة وزيادة معدل الإنبات عند النوع *Alstroemeria Ligtu* من الفصيلة Alstroemeraceae عند إضافته لوسط 1/2MS الجامد، فالبذور الخاملة التي تحتاج للتطبق (تكوين طبقات جدارية)، والتخزين الجاف بعد النضج، والضوء كمحفز للإنبات يمكن معالجتها بـ GA3 (Gupta, 2003) الذي يحفز النشاط الإستقلابي لتوفير متطلبات الجنين الضرورية لإنبات العديد من الأنواع النباتية (King&Bridgen, 1990) مثل *Trichocereus terscheckii* (Cactaceae) (Baes *et al.*, 2007) و *Rubia tinctorum* (Sadeghi *et al.*, 2009) و *Pedicularis olympica* (Scrophulariaceae) (Kirmizi *et al.*, 2010)

لدى دراسة تأثير تراكيز مختلفة من الجبريلين مضافة لـ (1/2 MS) على النسبة المئوية للإنبات تبين أن قيمة معامل التحديد ($R^2 = 0.94$) وبالتالي فإن94% من التأثيرات على النسبة المئوية للإنبات تعود لتغير التركيز المضاف بغض النظر عن الشاهد، لوحظ أن الفروق المعنوية تواجدت في أسابيع التجربة باستثناء الأسبوع الأول بالنسبة لطول الجذر ($p>0.05$) ولاستنتاج مكان تواجد هذه الفروق تم إجراء اختبار LSD5% مع ملاحظة أن أعلى متوسط للأطوال في كل من الأسبوع الثاني (بالنسبة لطول الجذر) وكل من الأسبوعين الأول والثاني بالنسبة للسويقة كان في الوسط (1+1/2 MS).

الجدول (5) تأثير 1/2MS والجبريلين GA3 (مغ/ل) في متوسط النسبة المئوية للإنبات % ومتوسط النمو (مم) بعد أسبوعين من الزراعة (أسبوع W=Week)

الوسط	النسبة المئوية للإنبات	متوسط طول الجذر		متوسط طول السويقة	
		W1	W2	W1	W2
1/2 MS (شاهد)	56.66	4.91±19	2.4 ±23	2.65± 26	5.47± 30
GA3 1+ 1/2 MS	64.43	3.52± 21	2.37± 24.5	4.17± 29	2.9± 33
GA3 0.1+1/2 MS	47.77	3.36± 18.5	1.39± 21	2.52± 24	3.5± 27
GA3 0.01+1/2 MS	41.11	1.34± 15	2.95 ±18	4.17± 17	1.04 ±21.5
GA3 0.001+1/2 MS	38.88	2.81± 14.3	2.66 ±17.5	3.4± 17	4.91± 20.2
F		2.09	4.8	7.36	5.9
P		n.s 0.16	*0.02	*0.005	*0.011
LSD 5%		—	4.39	6.29	7.08

الجـــدول (6) تأثيـــر 1/2MS والجبريليـــن GA3 (مـغ/ل) فـي متوسط النسبـــة المئويـة للإنبـات % ومتوسط النمـــو (مـم) بعـد شهريـــن مـن الـــزراعة (شهـر M=Month)

الوســط	النسبـة المئويـة للإنبات	متوسـط طـول الجـذر		متوسـط طـول السويقـة	
		M1	M2	M1	M2
1/2 MS (شاهد)	56.66	35.5	53.3	40.6	69
GA3 1+1/2 MS	64.43	39.1	63.6	41.1	70.2
GA3 0.1+1/2 MS	47.77	38	58	39.5	66
GA3 0.01+1/2 MS	41.11	35.2	55.3	36.4	65.8
GA3 0.001+1/2 MS	38.88	30	50	35.6	60

نلاحظ من المقارنات السابقـة بالنسبـة للوسطين (MS و 1/2MS) أنـــه عنـد إضافـة 1 مـغ/ل من GA3 كان متوسـط طول الجذر والسويقـة هو الأعلى بين الأوســاط، لذا وللمفاضلـة بين هذين الوسطين تـم إجراء اختبار ستودنت (T) كما في الجدول (7)

الجدول (7) اختبار T للمفاضلة بين (MS و 1/2MS)

الوسط	متوسط طول الجذر		متوسط طول السويقة	
	W1	W2	W1	W2
1+ MS	4.08 ±18	3.23 ± 26.3	4.7 ± 30	4.99 ± 37.13
1+1/2MS	3.52 ±21	2.37 ± 2.45	4.17 ± 29	2.9 ± 33
T	0.96	0.87	0.28	1.24
P	n.s 0.39	n.s 0.48	n.s 0.79	n.s 0.28

نلاحظ بإجراء اختبار ستودنت عدم تواجد فروق معنوية في متوسط طول كل من الجذر والسويقة بين الوسطين المدروسين ($p>0.05$) ولكن بمقارنة النسب المئوية للإنبات لكل من الوسطين نلاحظ أن الوسط (1+ MS) أعطى النسبة الأعلى وبالتالي نستطيع القول أنه الوسط الأفضل.

4. أقلمـــــــة النبـات:

بعـــد تحديـد الوســـط الأفضـل للإنبـات (GA3 + MS 1 مـــغ/ل)، تم نقـــل بعـــض البـــادرات الناميـــة فـــي الأنابيـب الـزجاجيـــة (25 بـادرة) بعـــد وصولـها للطـول المناســب إلـــى أصص بلاستيكيـــة تحـوي وســـط زراعـــي(التـــورب)، وتمت متابعة النمـــو حتـــى بلغـــت النباتـــات عمـــر الشهريـــن مـــن النمـــو مـــع أخـــذ الـــقراءات أسبوعيـــاً لـطـــول البـــادرة، وحســاب نسبـــة نجـاح عمليـــة التقسيـــة التي سجلت 56% حيـث استمـــرت 14 بـــادرة فـــي النمـــو. جـــدول (8)، الشـكل (2).

الجـــدول (8) متـوسـط أطـوال الجـذور والسـويقـات وعـدد الأوراق للبـادرات النـاميـة فـي الأنابيـب قـبل وبعـد الأقلمـة

متوســط أطـوال الـجذور والسـويقات وعدد الأوراق للبـادرات النـاميـة فـي الأنابيـب بعـد شهريـن مـن الـزراعة (مـم)			متـوسـط أطـوال الجـذور والسـويقات وعـدد الأوراق للنـبـاتـات النـاميـة فـي الأصـص بعـد شهـرين مـن الأقلمــة (سـم)		
الجــذر	الســويقة	عـدد الأوراق	الجــذر	الســويقة	عـدد الأوراق
65	73	5	9	13	7

الشـكل (2) صـور توضيحيـــة لعمليـــة النـــمو فـــي الأنابيـــب الـزجاجيـــة وصـولاً إلـى الـزراعـة فـي التربـــة حتـى الأقلمـــة

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

1. تفوق الوسط (MS + GA3 1 مغ/ل)، على باقي التراكيز والأوساط الأخرى، حيث سجل أعلى نسبة إنبات بمعدل 68.88%، وبمتوسط طول جذير بلغ 26.3 مم، ومتوسط طول سويقة 37 مم.
2. تحسن نسبة الإنبات بشكل ملحوظ عند إضافة الجبريلين بتركيز 1مغ/ل إلى الوسط MS 1/2 الجامد، حيث بلغت نسبة الإنبات 64.43%، وسجل متوسط طول الجذير 24.5 مم، والسويقة 33 مم.
3. عند إضافة الجبريلين بتركيز 0.001 مغ/ل إلى الماء، بلغت نسبة الإنبات 64% بعد أسبوعين من الزراعة، وبمتوسط طول جذير 18 مم، ومتوسط طول السويقة 20 مم.
4. الحصول على نباتات بحالة خضرية جيدة استمر نموها حتى شهرين من الزمن.

التوصيات:

1. دراسة تأثير تراكيز هرمونية أخرى في معدل الإنبات، وتحديد أفضلها.
2. إجراء دراسات معمقة على جنس *Echium* كونه مادة علمية جاذبة للدراسة، والاستفادة من بذوره الغنية بالأحماض الدسمة والمستخدمة عالمياً في الوقت الحالي كبديل لزيت السمك.

المراجع:

1. ابراهيم، ريم. *دراسة تأثير بعض الشروط البيئية في إنبات ونمو بذور نبات الجرجير المائي (Nasturitium offinale R.BR) المزروعة مخبرياً من بعض مناطق الساحل السوري*، أطروحة ماجستير. جامعة تشرين، قسم علم النبات، كلية العلوم، سورية، 2012، 140ص.
2. حداد، دينا. *دراسة تصنيفية مورفولوجية لتسعة أنواع تنتمي للفصيلة البوراجينية (الحمحمية) Boraginaceae ضمن محافظة اللاذقية- سورية*، مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية. سلسلة العلوم البيولوجية، 33(5)، سورية، 2011، 23ص.
3. صيوح، صفاء شفيق. *تأثير بعض المعاملات الفيزيائية والكيميائية في إنبات بذور الخوخ*، رسالة ماجستير. كلية الزراعة، جامعة تشرين، سورية، 2009، 69ص.
4. مالك، سحر عبد العباس؛ المياحي، منال زياري سبتي. *دراسة التطور الجنيني وأسباب فشل إنبات بذور نبات البمبر*، مجلة دراسات البصرة. العدد 4، العراق، 2007، 107-130.
5. AMON, D.I & HOAGLAND, D.R. *Crop production in artificial culture solutions and in soils with special reference to factors in fluencing yields and absorption of inoranginc nutrients.* J Soil Sci U.S.A . vol. 50, 1940, 463-485.
6. AL-SELAWY, R.L.A. *Response of growth and yield of some Rice cultivars to the seed Enhancement. P.H.D. Dissertation.* Field crops DEPT., College of agriculture, University of Baghdad, Iraq, 2011, 106.
7. BOULOS, L. *Flora of Egypt volum two (GERANIACEAE- BORAGINACEAE).* AlHadara publishing, Cairo, Egypt, 2000, 352.

8. BUTOLA, J.S.& BADOLA, H.K. *Effect of pre-Sowing treatment on seed germination and seedling vigour in Angelica glauca,* athreatened medicinal herb. current science India . 87(6), 2004, 796-799.

9. BAES, P.O.&ROJAS, M. *Seed germination of trichocereus terscheckii (Cactaceae): light, temperature and gibberellic acid effects*, J Arid Environ Argentina . 69(1) , 2007, 169-176.

10. CRONQUIST, A. *An integrated system of classification of flowering plant*, Columbia University Press, N.Y. 1881. P554.(in:classification of plant. Alsahar, F.K,1981).

11. CHEYED, S.H. *Effect of gibberellic acid on viability and seed vigour of sorghum resulted from different plant population Sorghum bicolor L*, Meonch.M.SC, Thesis field Crops Dept., College of agriculture, University of Baghdad, Iraq, 2008, 99.

12. EBERLE, C.A.; FORCELLA, F.; GESCH, R.; WEYERS, S.; PETERSON, D.; EKLUND, J. *Flowering Dynamics and pollinator visitation of oil seed Echium (Echium Plantagineum)* USA , 9(11), 2014, 1-16. .

13. GUIL- GUERRERO, J.; LOPEZ- MARTINEZ, J.; MERCADO, F.; CAMPRA-MADRID, P. *Gamma- Linolenic and stearidonic acids from Moroccan Boraginaceae*, European Journal of lipid science and technology Spain. 108(1), 2006, 43-47.

14. GUPTA,V. *Seed germination and dormancy breaking teachniques for indigenous medicinal and aromatic plants*, J Med and Arom plants Sci, vol 25, 2003, 402-407.

15. IZMAILOW, R., BISKUP, A. *Reproduction of Echium vulgare L.(Boraginaceae) at contaminated sites. Acta Biologica Cracoviensia series Botanica* Poland. 45(1), 2003, 69-75.

16. JAYA CHANDRA, K.; ADIL AKSHMI, D.; DANIEL GNANA SAGAR, D. *Influence of various concentrations of plant growth regulators on in vitro nicked seed germination of Morinda Citrifolia L*., India Journal of plants sciences India. 2(3), 2013, 2319-3824.

17. KOCA, U.; COLGECEN, H.; REHEMAN, N. *Progress in Biotechnological applications of diverse species in Boraginaceae Juss*, Department of pharmacognosy, Biotechnological, production of plant secondary Metabolites, Turkey, 2012, 200-214.

18. KABAR, K., BALTEPE,S. *Effects of Kn and gibberellic acid in overcoming high temperature and salinity (Nacl) stresses on the germination of barley and lettuce seeds*, phyton (Horn, Australia), vol 30, 1989, 65-74.

19. KING, J.; BRIDGEN, M.P. *Environmental and genotypic regulation of Alstroemeria seed germination*, Hort Science, 25(12), 1990, 1607- 1609.

20. KIRMIZI, S., GULERYUZ, G., ARSLAN, H., SSAKAR, F.S. *Effects of moist chilling, gibberellic acid, and scarification on seed dormancy in the rare endemic pedicularis olympica (Scrophulariaceae)*, Turk J Bot, vol 32, 2010, 225-232.

21. MOUTERDE, P. *Nouvelle flore du liban et la syrie, tom 3 Beyrouth Dar el Machreq*, 1983, p578. .

22. MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A. *Revised medium of rapid growth and biaassays with tobacco tissue culture*, physiology plant, vol (15), 1962, 473-479.

23. MELSER, C.; KLINKHAMER, P.G.L. *Embryo selection, abortion and inbreeding depression 2. Echium vulgare (Boraginaceae).* American Journal of Botany The Netherlands. chapter 7, 2001, 107-129.

24. MELSER, C.; KLINKHAMER, P.G.L. *Selective seed abortion increases offspring survival in Cynoglossum officinale (Boraginaceae).*American Journal of Botany The Netherlands. chapter 3, 88(6), 2001, 1033-1040.

25. MELSER,C.; RADEMAKER, M.C.J.; KLINKHAMER, P.G.L. *Selection on pollen donors by Echium vulgare (Boraginaceae),* chapter 4, 10(5), The Netherlands, 1997, 305-312.

26. NASRI, F.; KOSHESH SABA, M.; GHADERI, N.; AKBAR MOZAFARI, A.; JAVADI, T. *Improving germination and dormancy breaking in Alstromeria Ligtu Hybrid seeds,* Trakia Journal of Sciences Iran. vol (12) , 2014, 38-46.

27. PATEL, R.G.; MANKAD, A.U. *Effect of gibberellins on seed germination of Tithonia rotundifolia Blake*. International Journal of Innovative research in science, Engineering and Technology India . 3(3), 2014, 10680-10684.

28. PRADHAN, B.K.; BADOLA, H.K. *Chemical stimulation of seed germination in ex situ produced seeds in swertia chirayita,* Acritically endangered medicinal herb, Research Journal of seed science, 3(3), 2010, 139-149.

29. RODRIGUEZ- SAHAGUN, A.; DEL TORO- SANCHEZ, C.L.; GUTIERREZ-LOMELI, M.; CASTELLANOS- HERNANDEZ, O.A. *Plant cell and tissue culture as a plant secondary metabolites,* Chapter 1, México, 2012, 3-20.

30. RAM, K.; ABBAS, S.L.; SACHAN, B.P. *Influence of GA3 on growth and flowering of Antirrhinum majus,* Lal-Baugh, 15(4), 1970, 9-12.

31. ROYCHOWDHURY, R.; MAMGAIN, A.; RAY, S.; TAH, J. *Effect of gibberellic acid, Kinetin and Indole 3-Acetic acid on seed germination performance of dianthus Caryophyllus (Carnation),* Agriculture conspectus scienticus India , 77(3), 2012, 157-160.

32. STEINER, A.A. *Soilles culture. Proc. Of the 6th. Coll*. Int. potash Inst., Florence, 41-324.

33. SAULS, J.W.; CAMPBELL, C.W. *Avocado seed germination studies proceedings of the florida state Horticultural society*, vol 93, 1980, 153-154.

34. SALISBURY, F.; ROSS, C.W. *Plant physiology*, 4th edition, Wadsworth publishing company, Belmont, 1922.

35. SADEGHI, S.; YAGHOB, Z.Y.; TABATABAI. M.F.; ALIZADE, H.M. *Study methods of dormancy breaking and germination of common madder (Rubia tinctorum L.)* seed in laboratory conditions. Bot Rest In Iran . 2(1), 2009, 7-10.

36. SCOTT, T.K. *Hormonal regulation of development.2. The functions of hormones from the level of the cell to whole plant*, In Encyclopaedia of plant physiology, New series, Springer-verlag, Berlin, 1984, 180-185.