دراسة تأثير تراكيز مختلفة من الأوكسين حمض إندول بيوتريك (IBA) في تجذير النموات الخضرية لنوع التفاح البري . Malus trilobata Lab

الدكتور علي ديب الدكتور حافظ محفوظ ****

(تاريخ الإيداع 13 / 6 / 2016. قبل للنشر في 24 / 10 / 2016)

□ ملخّص □

تناول هذا البحث دراسة تأثير خمسة تراكيز من حمض إندول بيوتريك IBA و هي [2, 1, 0.75, 0.5, 0.25] مغ/ الليتر بالإضافة للشاهد الخالي من الهرمون في تجذير النموات الخضرية لنوع التفاح البري Malus trilobata من خلال زراعة نموات بطول (2-1.5) سم على الوسط موراشيج و سكوغ (MS) بنصف قوة أملاحه (1/2MS) و حساب النسبة المئوية للتجذير و متوسط عدد و طول الجذور و أظهرت النتائج الآتي:

تفوقت المعاملة T1 (التركيز (0.25) مغ/ الليتر)على جميع المعاملات الأخرى من حيث النسبة المئوية للتجذير (64 %) ومتوسط عدد الجذور (16جذر)، في حين تفوقت المعاملة T3 (التركيز (0.75) مغ/الليتر) على باقي المعاملات من حيث متوسط طول الجذور المتشكلة(21.03) سم.

الكلمات المفتاحية: . Malus trilobata Lab، موراشيج و سكوغ (MS) ، حمض إندول بيوتريك IBA

^{*} أستاذ - قسم البساتين - كلية الزراعة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

^{**} باحث - الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية - مركز بحوث اللاذقية - سورية.

^{***} طالب دراسات عليا (دكتوراه) - قسم البساتين - جامعة تشرين - اللاذقية سورية.

Effect The Different Concentrations Of IBA Indole Butyric Acid On Rooting Plantlets Of Wild Apple (Malus trilobata Lab.)

Dr. Ali Deeb^{*} Dr. Hafez Mahfod** Eyad Dannora***

(Received 13 / 6 / 2016. Accepted 24 / 10 /2016)

\square ABSTRACT \square

This Research Deals With Studying Of Five Concentrations in IBA Auxin (0.25 – 0.5 – 0.75 – 1 – 2 mg\ 1) And Control Medium For Rooted Plantlets To Wild Apple (*Malus trilobata* Lab.) By Plantlets Cultured It's Length (1.5-2) cm On Half-Strength Murashige And Skoog Medium(½MS), Then Making Rooted Percentile And Mean Of Number And Length Of Roots, The Result Was: The First Treatments (0.25 mg\l) Were Significantly Better Than Other Treatments And Control For About Rooted Percentile (64%) And Mean Of Number Roots (16 Roots), The Third Treatments (0.75 mg\l) Were Significantly Better Than Other Treatments For About Mean Of Length Of Roots(21.03)cm.

Key Word: Malus trilobata Lab, Murashige And Skoog Medium(MS), Indole Butyric Acid IBA.

^{*}Professor, Department Of Horticulture, Faculty, Of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria. **Researcher Doctor, General Commission For Agricultural Scientific Research (GCSAR), Lattakia, Syria

^{***}Postgraduate Student, Department Of Horticulture, Faculty, Of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.

مقدمة:

تعد زراعة الأنسجة بتقاناتها المختلفة أحدث طرق الإكثار المستخدمة عالمياً في إكثار أصول و أصناف الفاكهة و بخاصة الأنواع التي يتطلب إكثارها بالطرق التقليدية وقتاً و جهداً كبيرين كما هو الحال في إكثار التفاح حيث يكاثر تقليدياً بتطعيم الأصناف على الأصول المختلفة و التي يتم إكثارها بذرياً و هذه الطريقة تعطي نباتات غير متجانسة و ذات صفات مختلفة أو بطريقة العقل و التي تعتبر غير عملية بسبب انخفاض نسبة التجذير و هذا ما يجعل الإكثار بزراعة الأنسجة تقانة عملية و ناجحة لإكثار أصول التفاح المختلفة لما تتمتع به من ميزات مثل السرعة في الإكثار و تخطى صعوبات الإكثار التقليدي وتعتبر مرحلة التجذير أهم مراحل الإكثار على الإطلاق .

ينتمي النوع . Malus trilobata Lab إلى الجنس Malus الذي يتبع تحت الفصيلة التفاحية المهيمالايا و الهند والفصيلة الوردية Rosacaea ، التي تضم عدد كبير من الأنواع ويعد القوقاز ووسط آسيا وجبال الهيمالايا و الهند والباكستان وغرب الصين الموطن الأصلي له (Juniper et al., 1998)، وقد أشار (Qrnflech, 1994) إلى وجود أكثر من 35 نوعاً من التفاح في العالم، ومنها النوع . Malus trilobata Lab الأكثر انتشاراً في منطقة غرب آسيا ومن ضمنها سورية.

دلت أبحاث كثيرة على إمكانية تطبيق تقنية الإكثار الخضري الدقيق Micropropagation in vitro على أصناف و أصول عديدة من اللوزيات و التفاحيات فقد بين (Herman, 2006) بأن هذه التقنية أصبحت تشمل النباتات الخشبية إضافة للنباتات الحولية و منها الكرز و التفاح و الزيتون و الموز و الأناناس و البن و الجوافة ، و أصبح عدد النباتات التي يمكن إكثارها بهذه التقنية يفوق الـ 200 نوع و جنس و طراز.

في العام 1972 أجريت أول تجربة لإكثار التفاح بالإكثار الخضري الدقيق من قبل كل من (Elliott, باستخدام البراعم القمية و الجانبية.

وتشير الدراسات إلى أن الهرمون IBA: Indole Butyric Acid هو الأكثر استخداماً بين هرمونات التجذير مثل NAA:Naphthalen Acetic Acid و NAA:Naphthalen Acetic Acid حيث يتم استخدامه في غالبية تجارب الإكثار و لمختلف أنواع النباتات من أشجار مثمرة و نباتات زينة و غيرها و قد تمت دراسة تأثير هذا الهرمون في مرحلة التجذير من حيث التركيز المناسب لأفضل نسبة تجذير و تأثيره في متوسط عدد الجذور و طولها .

و تشير التجارب بأن أفضل التراكيز لتجذير النموات الناتجة عن مرحلة التضاعف تتراوح بين

2- مغ/ ليتر عند إكثار نوع التفاح . (Sharma et al., 2006)، Malus domestica Borkh مغ/ ليتر عند إكثار نوع التفاح

كما توصلت (المعموري، 2008) عند إكثار صنفين من الورد الشجيري Rosa sp. وهما Peace وهما (IBA) أن أفرع كلا الصنفين نجحت بالتجذير عند زراعتها في الوسط (MS) بنصف قوة أملاحه مضافاً له (IBA) بتركيز 1 و 1.5 مغ/ل .

و عند إكثار ثلاثة أصناف من الجوز و هي (Hartley و Serr و بلحسين 2) تبين أن التركيز 4 مغ /ليتر من (IBA) هو الأفضل (السويعي، 2007).

أوضح (Ciccotti et al, 2008) أن الوسط (MS) ممدداً إلى النصف مع (IBA) بتركيز 2 مغ /ليتر هو أفضل الأوساط عند إكثار نوع التفاح .Malus sieboldii حيث تم اختبار ثلاثة أوساط غذائية و هي (MS) و (MS) و (WPM): woody plant medium (Lloyd &McCown., 1981) وقد وصلت نسبة التجذير إلى 100 % . يشير (De Klerk et al., 1997) إلى أن تشكل الجذور العرضية (تجذير النموات الناتجة عن الإكثار) يعتبر مفتاح تقدم الإكثار الخضري الدقيق عند الأنواع الخشبية.

و قد أكد (Tereso et al., 2008) بأن مرحلة التجذير بالنسبة لهذه الأنواع تعتبر الخطوة الأصعب في تقنيات الإكثار الخضري الدقيق.

كما حصل (Paprstein and Sedlik, 2015) على نسبة تجذير 44 % عند مكاثرة صنف التفاح Sames . باستخدام التركيز 1 مغ/ ليترمن الهرمون (IBA) في وسط (MS) ممدد إلى النصف

كما لوحظ أن نسبة التجذير تختلف حسب الأصل المكاثر حيث كان التركيز المثالي لتجذير أصلي التفاح MM و 106 و M7 هو 1 مغ /ليتر من الهرمون (IBA) حيث فاقت نسبة التجذير الـ 80 % في حين أعطى التركيز 3 مغ/ ليتر نتيجة أفضل للأصل M2 (% 60)، (60 %)، (2aid et al, 2000).

و في دراسة لتحديد التراكيز المثلى لـ (IBA) في تجربة لإكثار صنف التفاح Topaz تبين بأن أفضل نسبة تجذير كانت عند التركيز 2 مغ/ليتر من (IBA) (Keresa et al, 2012) .

من خلال الدراسة المرجعية تبين عدم وجود فروقات معنوية بين IBA و IBA في تجذير صنف التفاح Gala ووصلت نسبة التجذير إلى (80-90) % (90-80).

أهمية البحث و أهدافه

نظراً لكون سورية أحد مناطق انتشار الأنواع البرية للتفاح ومنها . Malus sylvestris (L) Mill. ومنها ومنها . Malus sylvestris (L) Mill. التي تنتشر في بيئات متعددة وترب مختلفة مما يعكس تأقلمها بشكل كبير مع هذه البيئات، فنوع التفاح البري . Malus trilobata Lab ينمو بشكل جيد في كافة أنواع الأتربة الخفيفة و المتوسطة والثقيلة، كما ينمو في الترب ذات الرطوبة العالية دون ضرر يذكر (Zahreddin et al., 2007)، وبالتالي تتلخص أهمية هذا البحث في تحديد إمكانية الإكثار الدقيق وبالأخص مرحلة التجذير لنوع التفاح البري . Malus trilobata Lab المنتشر في جبال محافظة اللاذقية و المعرض لخطر الانقراض، علماً أن طرز هذا النوع تشكل مخزون وراثي كبير ومهم لم يتم دراسته والاستفادة منه، وتفسح هذه الدراسة المجال واسعاً للقيام بدراسات لاحقة لاستثمار هذه الطرز في برامج التربية والتحسين الوراثي للتفاحيات.

و بالتالي فإن الهدف الرئيسي للبحث يكمن في تحديد أفضل تركيز من هرمون IBA لتجذير النموات الناتجة عن مرحلة التضاعف عند الإكثار الدقيق لنوع التفاح البري المدروس وذلك من حيث النسبة المئوية للتجذير ومتوسط عدد الجذور وطولها.

طرائق البحث و مواده:

مكان تنفيذ البحث

أجري البحث عام 2016 م بالتعاون بين جامعة تشرين و مركز البحوث العلمية الزراعية في اللاذقية (قسم التقانات الحيوية- دائرة زراعة الأنسجة النباتية) و شركة البيت الأخضر (مخبر إكثار الأنسجة)

المادة النباتية:

أخذت نموات خضرية بطول 2-1.5 سم ناتجة عن مرحلة النمو والتضاعف للإكثار الخضري الدقيق لنوع التفاح البري (A:1)، و قد تم الحصول على الخزعات اللازمة للزراعة التأسيسية من أحد الطرز البرية لنوع التفاح البري Malus trilobata Lab. الموجود في موقع الإريزة التابع لمنطقة القرداحة و هذا الطراز عبارة عن شجرة ارتفاعها 5 متر و ارتفاع تاجها 3 متر و نصف قطر تاجها 2 متر ذات تاج مخروطي نصف متطاول.

تحضير وسط الزراعة

استخدم وسط موراشيج و سكوك (1962) ممدداً إلى النصف وثم ضبط درجة الحموضة عند 5.6-5.7 و من ثم التعقيم بالأتوكلاف على درجة حرارة 121 م° و ضغط 1.5 كغ/سم² لمدة 25 دقيقة.

الزراعة على أوساط التجذير الاختبارية

تم زراعة النموات في أنابيب اختبار قياس 20X2.5 سم بعد وضع 10 مل من أوساط التجذير الاختبارية المكونة من الوسط السابق مع تراكيز مختلفة من الهرمون (IBA) ، (جدول 1) لحثها على التجذير ومن ثم تحديد أفضل وسط هرموني من حيث نسبة التجذير المئوية و متوسط عدد و طول الجذور ، شكل (B:1).

لتجذير المستخدمة	أوساط ا	وتركيب	(1):رموز	الجدول
------------------	---------	--------	----------	--------

تركيب الوسط	رمز المعاملة
½ MS+0.25 mg/I IBA	T 1
½ MS+0.5mg/I IBA	T2
½ MS+0.75mg/I IBA	Т3
½ MS+1mg/I IBA	T4
½ MS+2mg/I IBA	T5
MS	T(لشاهد)

شروط الزراعة

وضعت الزراعات في غرف نمو بدرجة حرارة 24 ± 1 م $^{\circ}$ مع 16 ساعة إضاءة و 8 ساعات ظلام تحت لمبات فلورسنت بيضاء تعطى 4000 Lux/m^2 .

تصميم التجربة

صممت التجربة وفق نظام العشوائية الكاملة حيث زرعت 10 نموات لكل مكرر و بواقع 5 مكررات لكل معاملة فيكون عدد النباتات المستخدمة (10X5X6) = 300 نبات و قد أخضعت النتائج لتحليل التباين ANOVA باستخدام البرنامج الإحصائي SPSS و حساب أقل فرق معنوي L.S.D عند مستوى معنوية 5 %.

النتائج و المناقشة

النتائج

لتجذير . تأثير تركيز الهرمون (IBA) في النسبة المئوية للتجذير .

بدأ التجذير في الأسبوع الثالث من الزراعة، شكل (C:1)، و أخذت القراءات في الأسبوع السادس حيث تم حساب النسبة المئوية للتجذير، جدول (2) و ثم استخدام طريقة التحويل الزاوي للنسب المئوية حيث تستخدم هذه الطريقة في التحويل عندما تكون البيانات بصورة نسب مئوية حسب (يعقوب، (2005) و ثم حساب قيمة أقل فرق معنوي بعد تحليل التباين، جدول (3) و كانت النتائج على النحو التالي:

الجدول (2): النسبة المئوية للتجذير

T5	T4	Т3	T2	T1	Т	المعاملة
26	20	44	40	64	22	النسبة المئوية للتجذير
30.13	25.97	41.48	39.18	53.95	27.6	القيمة بعد التحويل الزاوي









C

الشكل (1): A: (مرحلة النمو و التضاعف) ، B: النقل إلى وسط التجذير، C: التجذير

98

النسبة المئوية للتجذير	المعاملة
22a	Т
64b	T1
40cd	T2
44d	Т3
20a	T4

الجدول (3): تأثير تركيز الهرمون (IBA) في النسبة المئوية للتجذير

يتبين من الجدول السابق:

تفوق كل من المعاملات (T3, T2, T1) على معاملة الشاهد و تفوق المعاملة T2 على المعاملة T4 و تفوق المعاملة T3 على المعاملات و هي المعاملة تفوق المعاملة T3 على المعاملات و هي المعاملة الأفضل أي أن التركيز 0.25 مغ/ليتر من الهرمون (IBA) حقق أفضل نسبة تجذير، و يمكن ترتيب المعاملات من حيث أفضليتها بالنسبة للتجذير وفق الآتي:

T1 > T3 > T2 > T5 > T > T4

T5

LSD5%



26ac

11.01

ا تأثير تركيز الهرمون (IBA) في متوسط عدد الجذور.

الجدول (4): تأثير تركيز الهرمون (IBA) في متوسط عدد الجذور.

متوسط عدد الجذور	المعاملة
6.8a	Т
16b	T1
7.6a	T2
9.6a	Т3
5.8a	T4
11.2ab	T5
6.22	LSD5%

^{*} المتوسطات التي تشترك في نفس الحرف لا يوجد بينها فروق معنوية.

^{*} المتوسطات التي تشترك في نفس الحرف لا يوجد بينها فروق معنوية.

يتبين من الجدول (4) تفوق المعاملة T1 على كل المعاملات عدا المعاملة T5 أي أن التركيز 0.25 مغ/ليتر هو الأفضل بين التراكيز المستخدمة، من حيث عدد الجذور المتشكلة .

و يمكن ترتيب المعاملات من حيث أفضايتها بالنسبة لمتوسط عدد الجذور وفق الآتى:

T1 > T5 > T3 > T2 > T > T4



تأثير تركيز الهرمون (IBA) في متوسط طول الجذور.

الجدول (5): تأثير تركيز الهرمون (IBA) في متوسط طول الجذور.

متوسط طول الجذور (سم)	المعاملة
4.78a	Т
12.71be	T1
18.75bc	T2
21.03c	Т3
8.29ade	T4
4.57a	T5
7.7	LSD5%

^{*} المتوسطات التي تشترك في نفس الحرف لا يوجد بينها فروق معنوية.

نلاحظ من الجدول (5) تفوق المعاملة T1 على الشاهد و المعاملة T5 و تفوق المعاملة T2 على الشاهد و المعاملة T4 و T5 أي أن التركيز 0.75 مغ/ليتر أعطت أفضل متوسط لطول الجذور .

و يمكن ترتيب المعاملات من حيث أفضليتها بالنسبة لمتوسط طول الجذور وفق الآتي:

T3 > T2 > T1 > T4 > T > T5



:المناقشة

لكل نوع نباتي تركيز مثالي من IBA تكون عنده النسبة المئوية للتجذير أفضل ما يمكن و تتخفض هذه النسبة بالابتعاد عنه زيادة أو نقصان و أفضل تركيز في هذه الدراسة هو 0.25 مغ/الليتر و لوحظ انخفاض في هذه النسبة مع زيادة التركيز مع توقع نسبة تجذير أفضل بالنسبة للتراكيز الأقل من 0.25 مغ/الليتر و ينطبق ذات الشيء على متوسط عدد الجذور و بالنسبة لمتوسط طول الجذور يلاحظ بأنه يزداد مع زيادة التركيز و أفضل متوسط طول كان عند التركيز 0.75 مغ/الليتر ليعود و ينخفض مع زيادة التركيز و قد توصل (Zaid et al., 2000) إلى نسبة تجذير

فاقت 80 % بالنسبة لأصلي التفاح MM106, M7 عند التركيز 1 مغ/الليتر وإلى نسبة 60% للأصل M2 عند التركيز 3 مغ/الليتر مع ملاحظة انخفاض النسبة المئوية للتجذير مع زيادة تركيز BA وهذا يتوافق مع دراستنا مع اختلاف التراكيز المستخدمة

و وصلت نسبة النباتات المجذرة إلى 44 % عند إكثار صنف النفاح James Grieve Compact باستخدام التركيز 1 مغ/الليتر من الهرمون IBA وهي نسبة منخفضة نسبياً و متقاربة مع النسبة الناتجة عن التركيز مغ/الليتر في هذه الدراسة حيث وصلت إلى 40 (Paprstein and Sedlik, 2015) ، وفي دراسة مشابهة وصلت هذه النسبة إلى 66.7 % عند إكثار أحد الطرز التابعة لنوع التفاح ... Malus domestica L. عند إكثار أحد الطرز التابعة لنوع التفاح ... (2010 هذه البحث مغ/الليتر (Boudabousa et al., 2010). و عموماً هذه التراكيز تعتبر عالية إذا ما قورنت بنتائج هذا البحث (0.25 مغ/الليتر) و هذا يخالف هذه الدراسة مع التقارب من حيث النسبة المئوية للتجذير.

و عند إكثار أصل النقاح 11.1 (الريحاني و آخرون،، 2008) أعطى التركيز 2 مغ/الليتر أفضل متوسط عدد جذور 5.4 جذر و نفس التركيز في دراستنا أعطى 11.2 جذر و التركيز 1 مغ/الليتر أعطى نتيجة متقاربة مع الريحاني و هي 5.8 جذر وكان أفضل متوسط طول في الدراسة المذكورة 6.2 سم في حين كان متوسط الطول في هذه الدراسة وفي الوسط الخالي من الـ 4.78 المهم ووصل إلى 21.03 سم عند التركيز 0.75 مغ/الليتر و هذه تعتبر نتيجة أفضل.

و بتركيز 1 مغ /ليتر عند إكثار نوع التفاح . Malus sieboldii (وصل متوسط عدد الجذور إلى 5.8 جذر وهذا المتوسط يتطابق تماماً مع دراستنا عند ذات التركيز في حين نرى أن متوسط طول الجذور 2 سم في الدراسة المذكورة و يقابله 8.29 سم في هذه الدراسة .

ووصل متوسط عدد الجذور إلى 9.2 جذر عند التركيز 2 مغ/الليتر عند إكثار نوع التفاح 9.6 جذر، وكان متوسط domestica Borkh. وهذا يتوافق مع التركيز 0.75 مغ/الليتر في دراستنا و بعدد جذور 9.6 جذر، وكان متوسط الطول 3.5 سم في الدراسة المذكورة و هذا متقارب مع دراستنا عند التركيز 2 مغ/الليتر و بمتوسط طول 4.57 سم، . (Sharma et al., 2006)

و أعطى التركيز 2 مغ/الليتر في تجربة لإكثار صنف التفاح Topaz متوسط عدد جذور 6.6 جذر و متوسط طول 3.2 سم و تعتبر هذه النتيجة قريبة من نتيجة دراستنا بالنسبة للوسط الخالي من الهرمون BA وهذا يعتبر دليلاً على قابلية النوع المدروس .Malus trilobata Lab للتجذير بسهولة بطريقة الإكثار الخضري الدقيق Al. 2012) .al.

و بالمحصلة يمكن القول أن التركيز 0.25 مغ/ليتر هو الأفضل بالنسبة لمرحلة التجذير عند إكثار نوع النفاح البري . Malus trilobata Lab حيث أعطى أعلى نسبة تجذير وأفضل متوسط لعدد الجذور و على الرغم من أن التركيز 0.75 مغ/ليتر أعطى أفضل طول إلا أن عدد الجذور يعتبر أهم من طولها بالنسبة لنسبة البقاء في مرحلة التقسية التالية لمرحلة التجذير .

مما سبق و بالمقارنة مع الدراسات المرجعية نلاحظ أننا يمكن الحصول على نتائج جيدة من حيث النسبة المئوية للتجذير و متوسط عدد و طول الجذور و بتراكيز منخفضة من هرمون التجذير BA أي الحصول على نتيجة جبدة و بأقل تكلفة ممكنة.

الاستنتاجات و التوصيات:

في نهاية هذا البحث يمكن استتاج الآتي:

- 1- في هذه الدراسة تم إيجاد طريقة مفصلة و جيدة النتائج لمرحلة التجذير عند الإكثار الخضري الدقيق لنوع التفاح البرى . Malus trilobata Lab .
- 2- أفضل تركيز من هرمون التجذير BA بالنسبة للنسبة المئوية للتجذير و متوسط عدد الجذور هو 0.25 مغ/الليتر .
 - 3- متوسط طول الجذور الأفضل تحقق عند التركيز 0.75 مغ/الليتر.

كما يمكن اقتراح الآتى:

- 1- التوسع في الدراسة لتشمل هرمونات جديدة مثل IAA بتراكيز مختلفة و مقارنتها مع الهرمون المستخدم في هذه الدراسة IBA .
 - . (مغ/ الليتر مخففة جداً من الهرمون $^{-2}$

المراجع:

المراجع العربية:

- 1- الريحاني، خالد.، كلحوت، عبد الرحمن.، ديوب، عبد العزيز.، عبد القادر، أحمد. دراسة حول الإكثار الخضري الدقيق لأصل التفاح 11 MM111 باستخدام تقنيات زراعة الأنسجة النباتية، المجلة الأردنية في العلوم الزراعية، المجلد 4 ، العدد 2 ، 2008 ، 191-206 .
- 2- السويعي، محسن، الإكثار الخضري الدقيق لأهم أصناف و سلالات الجوز في القطر العربي السوري، http://gcsar.gov.sy/elibrary/phd-msc/masters/master-73/. في العلمية الزراعية، http://gcsar.gov.sy/elibrary/phd-msc/masters/master-73/. 2015/11/30
- 3- المعموري، كوثر، الإكثار الخضري الدقيق لصنفين من الورد الشجيري Rosa sp خارج الجسم الحي، مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية المجلد (10) العدد (2) لعام 2010، 114–132.
 - 4- يعقوب، غسان. أساسيات تصميم التجارب. مديرية الكتب و المطبوعات الجامعية، منشورات جامعة تشرين، كلية الزراعة، سوريا، 2005، 327.

المراجع الأجنبية:

- 1. BOMMINENI, V. R., MATHEWS, H., SAMUEL, S. B., KRAMER, M., WAGNER, D. R. *A New Method for Rapid In Vitro Propagation of Apple and Pear*. HORTSCIENCE 2001, 36(6):1102–1106.
- 2. BOUDABOUSA, M., MARSA, MONGIA., MARZOUGUIA, NIDHAL., FERCHICHIA, ALI. *Micropropagation of apple (Malus domestica L. cultivar Douce de Djerba) through in vitro culture of axillary buds*, Acta Botanica Gallica: Botany Letters, Volume 157, Issue 3, 2010, pp 513-524.
- 3. CICCOTTI, A.M; BISOGNIN, C; BATTOCLETT, I; SALVADORI, A; HERDEMERTENS, M; JARAUSCH, W. *Micropropagation of apple proliferation-resistant apomitic Malus sieboldii genotypes*. ISM research centre- plant protection on department, via E. Mach, 1-38010 san Michele all' adige(TN)-Italy, 2008.

- 4. DE KLERK, G.J., TER, B. J., MARINOVA, S. Effectiveness of indoleacetic acid, indolebutyric acid and naphthaleneacetic acid during adventitious root formation in vitro in Malus 'Jork 9'. Plant Cell Tiss Org ,1997, 49:39-44.
- 5. Elliott, R. F. Axenic culture of shoot apices of apple. New Zea J, 1972, Bot 10:254-258.
- 6. GOLOSIN,B; RADAJEVIC, L. *Micropropagation of apple rootstock*. USDA, National Agricultural Library, 1987, Vol. 212.
- 7. HERMAN, B. *Micropropagation systems and techniques 2002-2006*. Volume 10 of recent advances in plant tissue culture, agricell, 2006.
- 8.JUNIPER, B. E. WATKINS, R. HARRIS, S. A. *The Origin Of The Apple*. Acta Horticulturae, 1998, 27-34.
- 9. KERESA, S., MIHOVILOVIC, B. A., BARIC, I., HABUS, J. I., SARCEVIC, H., BISKO, A . *Efficient Axillary Shoot Proliferation and in Vitro Rooting of Apple cv. 'Topaz'*, Not Bot Horti Agrobo, 2012, 40(1):113-118.
- 10. LIOYD, G. & McCOWN, B. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel Kalmialatifolia by use of shoot tip-culture. Int. Plant Prop. Soc. Proc. 1981,30, 421–427.
- 11. MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco culture. Physiol. Plant. 15, 1962, 473–497.
- 12. PAPRESTEIN, F., SEDLEK, J. *Micropropagation Of Czech Apple Cultivars*. Acta Horticulturae, 2015, Vol. 16, N. 33.
- 13. QRNFLECH, M. M. Studies On The Hawthoren/ Crataegus Azarolus/ Apontential Root Stock For Golden Delicious. Apple and wiliams. Pear. Horticulture. Ural. Science, 1994, Vol. 65,983-987.
- 14. QUORIN, M. & LEPOIVRE, P. Improved media for in vitro culture of Prunus sp. Acta Hortic. 78, 1977, 437–442.
- 15. SHARMA, T., MODGIL, M., THAKUR, M. Factors affecting induction and development of in vitro rooting in apple rootstocks. Indian J Exp Bio, 2006,45:824-829.
- 16. TERESO, S., MIGUEL, C. M, MASCARENHAS, M., ROQUE, A., TRINDADE, H, MAROCO, J. *Improved in vitro rooting of Prunus dulcis Mill. cultivars.* Biol Plantarum, 2008, 52:437-444.
- 17. WALKEY, D. G. *Production of apple plantlets from axillary bud meristem*. Can J Plant Sci, 1972, 52:1085-1087.
- 18. ZAHREDDINE, H. G., STRUVE, D. K., TALHOUK, S. N. Malus trilobata and Acer syriacum Boin and Gaill water use as affected by two fertilizer rates. ScientiaHorticulturae, 2007,112 (1):99-107.
- 19. ZAID, S., SOULAIMAN, M., ABDUL- KADER, A. The In Vitro Propagation of Rootstocks. Damascus Universit Journal, Biological Sciences Series, 2000, Vol. 16, N. 2, pp: 63-78.