

دراسة بعض العوامل المؤثرة في الإكثار الخضري الدقيق لشجيرة الرباطية الغارية التزيينية (*Viburnum tinus L.*)

الدكتور لورن نجيب ليوس*

(تاريخ الإيداع 23 / 6 / 2013. قبل للنشر في 2 / 10 / 2013)

□ ملخص □

أجريت هذه الدراسة خلال العامين 2012-2013 بهدف إكثار شجيرة الرباطية الغارية باستخدام تقنيات زراعة الأنسجة، وتم ذلك بزراعة عقل ساقية غضة للحصول على النموات الخضرية في وسط مغذي يحتوي على المحلول المعدني (MS) مضافاً له 30 غ/لتر سكروز و 7 غ/لتر آجار- آجار بالإضافة إلى حمض الستريك كمضاد أكسدة (300 مغ/لتر) وتراكيز مختلفة من BAP و NAA، في حين استخدم بمرحلة التجذير بيئة (MS) بعد تخفيف تركيز العناصر المعدنية الكبرى للنصف والسكروز إلى 20 غ/لتر وبوجود تراكيز مختلفة من IBA. وبينت النتائج بأن مشاركة الأوكسين مع السيتوكينين في مرحلة الزراعة الأولية ضرورية لتحسين نسبة تفتح البراعم وعدد النموات الخضرية الناتجة وخاصة عند التراكيز 0.25: 1 مغ/لتر على التوالي، والتي أعطت (93.33%) لتفتح البراعم و(1.57 نمو/عقلة). إلا أن عدد النموات الناتجة وطولها كانا دون المطلوب، لذلك تم استبدال المحلول المغذي (MS) بآخر (WPM) المسمى ببيئة النباتات الخشبية الذي أعطى استطالة أفضل للنموات الناتجة (3.21 سم) وأفضل عدد لها (2.72 نمو/عقلة) مقارنة ببيئة (MS) باستخدام نفس التوافق الهرموني (0.25 من NAA و 1 مغ/لتر من BAP). كما بينت النتائج أيضاً بأن أعلى نسبة تجذير وصلت إلى (84.44%) بوجود التركيز 0.5 مغ/لتر من IBA الذي تفوق على التركيز 1.5 مغ/لتر ومعاملة الشاهد، وأن أفضل متوسط لطول وعدد الجذور المتشكلة كان (2.7 سم، 3.82 جذر) أيضاً عند التركيز 0.5 مغ/لتر متفوقاً بذلك على الشاهد. أما نسبة نجاح تقسية النبيتات الناتجة مخبرياً في ظروف البيت الزجاجي فقد وصلت إلى (73.33%) وذلك بعد مرور شهر ونصف على نقلها.

الكلمات المفتاحية: الرباطية الغارية، زراعة الأنسجة، IBA، BAP، و NAA.

* أستاذ مساعد - قسم البساتين - كلية الزراعة - جامعة حلب - سورية.

A study of Some Factors Affecting the Vegetative Micropropagation of Ornamental Viburnum Bush (*Viburnum Tinus L.*)

Dr. Laurene Layous*

(Received 23 / 6 / 2013. Accepted 2 / 10 / 2013)

□ ABSTRACT □

This study was conducted during 2012-2013 in order to efficiently micropropagate viburnum (*Viburnum tinus*) bushes using tissue culture techniques. The shoots were cultured on a Murashige and Skoog medium supplemented with 30 g^l⁻¹ sucrose, 7 g^l⁻¹ agar - agar, citric acid as an anti-oxidant (300 mg^l⁻¹), and different concentrations of benzyl amino purine and Naphthalene Acetic Acid. A media of Murashige and Skoog was used for laboratory rooting after reducing the major mineral elements to the half, reducing the sucrose to 20 g^l⁻¹, and adding indole-3-butyric acid (IBA) of different concentrations (0, 0.5, 1, 1.5 mg^l⁻¹). The results showed that it is necessary to have auxin and cytokinin in culture to improve the value of open buds and the number of shoots per initial explants. The concentrations 0.25 mg^l⁻¹ from NAA with 1 mg^l⁻¹ from BAP gave the highest value of open buds (93.33%) and the maximum number of shoot per initial explants (1.57). To improve the number and length of the shoots produced, the solution mineral (MS) was replaced with another: media woody plants (WPM) which gave better elongation for the resulting growths (3.21 cm) and a better number of shoots (2.72 Growth/explant) compared to the media (MS) using the same compatibility hormone (0.25 mg^l⁻¹ of NAA and 1 mg^l⁻¹ of BAP).

The results also show that the highest percentage of rooting reached (84.44%) with (0.5 mg^l⁻¹) IBA which was better than (1.5 mg^l⁻¹) IBA and better than the treatment of the control. Results also showed that the best medium for the length and number of roots formed was (2.7cm, 3.82root) when the concentration was (0.5 mg^l⁻¹) surpassing the control. The success rate of the acclimatization of the resulting laboratory plantlets under glasshouse conditions reached (73.33%) one month and a half after the transplanting.

Key words: viburnum bush, *In vitro*, IBA, BAP and NAA.

*Associate professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Aleppo, Aleppo, Syria.

مقدمة:

يضم الجنس *Viburnum* التابع للفصيلة البيلسانية *Caprifoliaceae* 150-175 نوع من شجيرات وأشجار صغيرة، مستديمة الخضرة أو نصف متساقطة الأوراق، ومن بينها النوع *Viburnum tinus* الذي يدعى بالعربية رباطية غارية أو حية الرباط إشارة إلى السهولة في طي الأغصان، ولشبهه أوراقه مع أوراق الغار، ويسمى محلياً باسم البيلسان الهندي.

يستخدم النبات كشجيرة مستديمة الخضرة، موطنها الأصلي شمال أفريقيا وحوض البحر المتوسط والشرق الأدنى وجنوب أوروبا وفي جزيرة كورسيكا بفرنسا، متوسطة النمو، يصل ارتفاعها إلى 2-4 أمتار. تتكاثر الشجيرة بواسطة البذور وبالترقيد والعقل الساقية في الخريف أو الربيع حسب حالة الطقس، تتحمل التربة الجافة والكلسية والمالحة، تنمو في الأماكن المشمسة أو النصف مظلمة، والمظللة أيضاً لكن الإزهار يكون أقل ويعيداً عن الصقيع، تتحمل الجفاف والتلوث والرياح جيداً (Veticka, 1988).

يعدّ الوسط الغذائي بما يحتويه من عناصر معدنية الكبرى منها والصغرى من أحد العوامل المهمة في إنتاج الزراعة النسيجية بمختلف مراحلها، ويعد المحلول المعدني لموراشيخ وسكوج (MS) (1962) من أكثرها استخداماً خاصة في إكثار نباتات الزينة، وحالياً يتم استخدام بيئة النباتات الخشبية (WPM) التي ابتكرها Lloyd and Mccown عام 1980 للأصناف الخشبية خاصة الأنواع الحساسة للأملاح، إذ لوحظ أن التركيز الأيوني الإجمالي لبيئة النباتات الخشبية منخفضة إذا ما قورن بالتركيز الأيوني الإجمالي للبيئة الأساسية من أملاح ميوراشيخ وسكوج (MS) (Goh et al., 1988)، هذه البيئة (WPM) تزايد استخدامها في مجال زراعة الأنسجة النباتية لأنه تبين أنها الأفضل لإكثار أنواع أخرى من الجنس *Viburnum* وعدد من الأشجار المثمرة كالزيتون والتين.

كذلك تلعب منظمات النمو دوراً مهماً في نجاح الإكثار الدقيق، إذ أثبتت النتائج لدى إكثار إحدى أنواع الياسمين (*Jasminium azoricum*) بأن لاستخدام الكينيتين منفرداً تأثيراً إيجابياً على نمو البراعم واستطالة النموات الناتجة، في حين أن مشاركة الأوكسين (NAA) له بتراكيز مختلفة كانت مثبّطة لتفتح البراعم وخافضة لمعدل الإكثار (ليوس، 2004)، وهذا ما أكدته (حيدر، 2010) عند إكثار شجيرة فرشاة الزجاج التابعة للجنس (*Callistemon*). أما عند استخدام السيتوكينين (BAP) في إكثار نوع هجين من الورد بتركيز (3 مغ/ل) فقد تم الحصول على أفضل معدل إكثار وصل إلى 7 نموات بالعقلة الواحدة بعد شهر من الزراعة (Oo et al, 2008)، كذلك تمكن (Sedlák and Paprštejn, 2007) من الحصول على أعلى متوسط لعدد النموات الناتجة (10.5 ± 0.7) لكن باستخدام التركيز 2 مغ/ل عند إكثار النوع (*Lonicera kamtschatica*). في حين حصل كل من (الأطرقجي والسلطان، 2007) على أفضل استطالة للساق وأفضل عدد للسلاميات وللأوراق على الجزء النباتي المزروع من شجيرة الليلك (صنف أبيض قطمر) لكن باستخدام السيتوكينين 2IP بالتراكيز 5 و 7.5 مغ/ل.

لقد ذكر كثير من الباحثين ضرورة خلق نوع من التوازن بين الأوكسين والسيتوكينين المضافين إلى الوسط الغذائي، فقد تم الحصول على أعلى نسبة لتفتح براعم الياسمين الأبيض بمشاركة كل من BAP (4 مغ/ل) و NAA (0.1 مغ/ل)، أما أفضل استطالة للنموات فكانت باستخدام الكينيتين منفرداً في الوسط بالتركيز (2 مغ/ل) (Bhattacharyyas, 2010). ولدى إكثار نبات الخرنوب (*Ceratonia siliqua*)، تبين أن لاستخدام كل من BAP (0.5 مغ/ل) و IBA (0.1 مغ/ل) و GA3 (0.5 مغ/ل) تأثيراً إيجابياً في نسبة تفتح البراعم وفي متوسط عدد وطول النموات الناتجة، كما تم الحصول على أعلى معدل إكثار باستخدام BAP خلال مرحلة الإكثار بتركيز

(2 مغ/ل) (Naghmouchi *et al.*, 2008). أما عند التين الباكي (*Ficus benjamina*) فقد كان لوجود (BAP) بتركيز 1 مغ/ل تأثيراً إيجابياً كبيراً على تفرع النموات الناتجة (Amo-Marco and Picazo, 1994). وعند دراسة استجابة الجزء النباتي مع تراكيز مختلفة من الكينينين وحمض أندول البيوتريك والتأثير المشترك بينهما في معدل أطوال الأفرع النامية عند نبات الشبو (*Cestrum nocturnum L.*) الشجيري، تبين وجود زيادة معنوية في متوسطات أطوال النموات الخضرية عند استخدام التراكيز المختلفة ولكل من أطراف الأفرع والعقد المفردة مقارنة بمعاملة الشاهد (قصاب باشي والمزوري، 2007). وأثبت (Schoene and Yeager, 2005) عند إكثار شجيرة الوبيرنوم العطري (*Viburnum odoratissimum*) أن استخدام البنزول أدنين (BA) بتركيز أعلى من 0.2 مغ/ل وبمشاركة GA3 بتركيز (5 مغ/ل) قد أعطى أفضل معدل إكثار من النموات الخضرية الناتجة، لكنه أدى إلى انخفاض معدل استطالتها، في حين أدى استخدامه بتركيز 0.1 مغ/ل للحصول على أفضل النتائج في مرحلة الاستطالة وأن تواجد حمض الجبريلين في الوسط المغذي سمح بتطور جيد للنموات الناتجة، لكنه تسبب في خفض نسبة تجذيرها لاحقاً.

تختلف استجابة النباتات للتجذير المخبري باختلاف النوع النباتي ونوع وتركيز الأوكسين المستعمل، فقد تبين عند تجذير نموات الياسمين الأزوري وفرشاة الزجاج أن استخدام الأوكسين IBA بتركيز 1 و 0.5 مغ/ل قد أعطى أفضل نسبة تجذير وصلت على التوالي إلى 99% و 91.1% (ليلوس، 2004 و ليلوس وآخرون، 2010). في حين أدى استخدامه بتركيز 2.5 مغ/ل للحصول على أفضل نمو جذري لنبيتات العسلية الناتجة مع تأقلم جيد فيما بعد مع الظروف الخارجية (Sedlák and Paprštejn, 2007). كذلك كان لاستخدامه بتركيز 2 مغ/ل تأثيراً كبيراً في نسبة التجذير (100%) عند نبات الوبستيريا الصينية (حسن، 2012)، في حين أن استخدام نفس الأوكسين (IBA) بتركيز منخفض (0.6 مغ/ل) قد أعطى أفضل نتيجة عند الوبيرنوم العطري (82%) بعد 3 أسابيع من الزراعة (Schoene & Yeager, 2005). أما عند تجذير النموات الخضرية لشجيرة الكاسيا (*Cassia angustifolia*) فقد بين (Siddique & Anis, 2007) أن إضافة الفحم النشط (1%) مع تركيز عالي من IBA (12 مغ/ل) ضروري للحصول على أفضل نسبة تجذير، بينما أمكن الحصول على أكبر متوسط عدد وطول للجذور المتشكلة على قواعد نموات الياسمين العطري (*Jasminum grandiflorum*) الناتجة مخبرياً باستخدام 1 أو 1.25 مغ/ل فقط من IBA (Jahromi *et al.*, 2008). كذلك الحال بالنسبة إلى نبات (*Smilax china*)، إذ تم الحصول على تجذير مبكر للنموات وعلى أفضل متوسط عدد للجذور المتشكلة على قواعد (3.4 جذر) باستخدام التركيز 1 مغ/ل (Song *et al.*, 2010).

أما بالنسبة إلى مرحلة التقسية التي تعد المرحلة الأكثر دقة وحساسية لبعض الأنواع النباتية المكاثرة نسيجياً، فقد تم الحصول على نباتات قادرة على الحياة في ظروف الوسط الخارجي عند استخدام خلطة زراعية مكونة من البرليت والبتاموس بنسبة 2:1 على التوالي، وبلغت نسبة نجاح التقسية (80% و 70%) عند كل من النوع (*Callistemon viminalis*) والوبستيريا الصينية (ليلوس وآخرون، 2010) و(ليلوس وآخرون، 2012) على التوالي. كما كان النمو القوي مؤشراً جيداً لإمكانية تأقلم نبيتات الجاردينيا وفرشاة الزجاج مع ظروف الوسط المحيط، إذ بلغت النسبة على التوالي (100 و 90-85%) (عبد الله وآخرون، 2003) و (Atta-alla *et al.*, 2006).

أهمية البحث وأهدافه:

تكمن أهمية هذا البحث في أهمية هذه الشجيرة الجمالية والتسويقية العالية التي تزرع بكثرة إما بشكل إفرادي كشجيرة تزيينية محبوبة في الحدائق العامة والخاصة خاصة الحدائق المنزلية وحدائق الفيلات وفي الحدائق النوعية، أو على شكل تجمعات كسياج نباتي جميل، وفي تحملها للترب الجافة والكلسية والمالحة وتحملها للجفاف والتلوث الجوي والرياح، ومن أجل استعمالها الطبية المتعددة خاصة في طب الأعشاب التقليدي كمضاد للتقلصات ولمعالجة مرض الربو.

ونظراً لوجود مشكلة الاسمرار التي تظهر على قواعد العقل الساقية المستخدمة في الإكثار التقليدي التي تعود لارتفاع كمية المواد الفينولية في النبات والتي تعيق بدورها عملية تشكل الجذور أو تؤدي للحصول على نسبة تجذير غير مرضية، لذا جاء هذا البحث بهدف دراسة أهم العوامل المساعدة في حل هذه المشكلة وفي إنجاح إكثار هذه الشجيرة باستخدام تقنيات زراعة الأنسجة وتحديد كل من البيئة الملائمة والتوافق الهرموني المناسب لإنجاح هذه الطريقة للحصول على أفضل مردودية من النموات الخضرية القابلة للتجذير والأقلمة وبالتالي الحصول على أكبر عدد ممكن من الوحدات التكاثرية اللازمة لزيادة نشر زراعة هذا النوع الهام جمالياً وطيباً.

طرائق البحث ومواده:**1- المادة النباتية:**

أجريت الدراسة في مخبر زراعة الأنسجة النباتية في قسم البساتين بكلية الزراعة في جامعة حلب خلال العامين 2012-2013، إذ تم أخذ عقل ساقية غضة من أفرع عدد من النباتات الأم السليمة ظاهرياً، وهذه العقل تحتوي على عقدة واحدة وبطول (2-3) سم، إذ تم تجريدتها من الأوراق مع ترك جزء من عنق الورقة لحماية البراعم في أثناء عملية التعقيم، بعد ذلك غسلت بالماء الجاري لعدة مرات، ثم بالكحول 70 % لمدة دقيقتان، ثم بالماء المقطر، بعدها غمرت في محلول من الكلوراكس التجاري (5.25% مادة فعالة) بتركيز 30 % ولمدة 25 دقيقة بهدف تطهيرها سطحياً في ظروف معقمة بغرفة العزل الجرثومي الذي أعطى أفضل نسبة للعينات السليمة بلغت أقصاها (100%)، تبع ذلك غسلها بالماء المقطر والمعقم لثلاث مرات متتالية ولمدة 5 دقائق في كل مرة لإزالة آثار المادة المعقمة.

2- المحاليل والأوساط المستخدمة والزراعة:

تم استخدام المحلول المعدني لميوراشيخ وسكوج (1962) كاملاً والمحلول المعدني (WPM, 1980) (Lloyd and Mccown, 1980) الكامل من العناصر المعدنية الكبرى والصغرى أو مايسمى ببيئة النباتات الخشبية (جدول 1) وذلك في مرحلة الزراعة الأولية (التأسيسية)، مضافاً إليه الفيتامينات والغليسين كحمض أميني، وحمض الستريك كمضاد أكسدة، والسكروروز بتركيز 30 غ/ل إضافة إلى الآجار - آجار كمهلم للوسط بتركيز 7 غ/ل. كذلك تم استخدام كمنظمات نمو كلاً من السيتوكينين بنزيل أمينو بيورين (BAP) بتركيز مختلفة (0، 0.5، 1، 2) مغ/ل والأوكسين نفتالين حمض الخل (NAA) بالتركيز (0، 0.25) مغ/ل ويتوافقات هرمونية مختلفة. ضبطت درجة حموضة الوسط باستخدام جهاز ph meter على $pH=5.6 \pm 0.2$ بإضافة ماءات الصوديوم أو حمض كلور الماء.

جدول (1): تركيب المحاليل الغذائية المستخدمة وتركيز العناصر فيها.

المحلول المغذي	MS (mg/L)	WPM (mg/L)	MS/2 (mg/L)
Macro elements			
KNO ₃	1900	-	950
NH ₄ NO ₃	1650	400	825
CaCl ₂ 2H ₂ O	440	-	220
Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O	-	556	-
MgSO ₄ 7H ₂ O	370	370	185
KH ₂ PO ₄	170	170	85
Micro elements			
Na ₂ EDTA	37.3	37.3	37.3
FeSO ₄ 7H ₂ O	27.80	27.80	27.80
MnSO ₄ 4H ₂ O	22.3	22.3	22.3
ZnSO ₄ 7H ₂ O	8.60	8.60	8.60
H ₃ BO ₃	6.20	6.20	6.20
KI	0.83	-	0.83
Na ₂ MoO ₂ 2H ₂ O	0.25	0.25	0.25
CuSO ₄ 5H ₂ O	0.025	0.25	0.025
CoCl ₂ 6H ₂ O	0.025	-	0.025
Vitamins and Amino Acids			
Myo- Inositol	100		100
Thiamine HCL	1		1
Nicotinic acid	1		1
Pyridoxine HCl	1		1
Biotin	0.01		0.01
Glycine	2		2

أما بالنسبة إلى مرحلة التجذير فقد تم باستخدام وسط مغذي مهلم يختلف عن السابق بتخفيض العناصر المعدنية الكبرى لمحلول MS إلى النصف (جدول 1) والسكروز إلى 20 غ/ل، إضافة إلى الأوكسين حمض إندول بيوتريك (IBA) بالتراكيز (0، 0.5، 1، 1.5 مغ/ل)، وضبطت درجة حموضة الوسط على $pH=5.4 \pm 0.1$. عقت الأوساط الغذائية في جهاز التعقيم الرطب على درجة حرارة 121°م ولمدة 20 دقيقة.

وبعد زراعة العقل تم تحضينها في غرفة النمو على درجة حرارة $24 \pm 2^\circ\text{C}$ وفي الظلام للأسبوع الأول فقط بعد الزراعة، ثم نقلت إلى ظروف إضاءة 16 ساعة يومياً وبشدة ضوئية مقدارها 3000 لوكس مع نسبة رطوبة بلغت 80%. تم تقسية النبتات الناتجة مخبرياً بنقلها إلى أصص صغيرة تحتوي خلطة زراعية معقمة مؤلفة من البرليت والبتاموس بنسبة 2:1 على التوالي، بعد ذلك تم تغطيتها بأكياس نايلون شفافة، ثم فتحت الأكياس لخفض الرطوبة تدريجياً إلى أن تتأقلم النباتات الصغيرة مع ظروف البيت الزجاجي، كما تم ريها بالمحلول المعدني (MS) الممدد للربع لمدة شهر بعد نقلها. صممت التجربة باستخدام القطاعات كاملة العشوائية باستخدام (45) عقلة في كل معاملة موزعة على 3 مكررات، وحللت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج GENSTAT 12 لاستخراج أقل فرق معنوي (L.S.D) عند مستوى المعنوية 1%.

النتائج والمناقشة:

أولاً: مرحلة الزراعة الأولية (التأسيسية):

1- دراسة تأثير تركيز كل من BAP و NAA في نسبة تفتح البراعم:

جدول (2): تأثير تركيز كل من BAP و NAA في نسبة تفتح البراعم بعد شهر من الزراعة.

المتوسط	2	1	0.5	0	BAP(مغ/ل)
					NAA (مغ/ل)
81.66 A	88.88 a	86.66 a	100 a	51.11 b	0
84.44 A	77.77 ab	93.33 a	86.66 a	80 ab	0.25
	83.32 AB	89.99 A	93.33 A	65.55 B	المتوسط
	22.80			BAP	LSD 0.01
	16.12			NAA	
	32.24			BAP×N AA	

• الأرقام المتبوعة بنفس الأحرف ليس بينها فروق معنوية على مستوى معنوية (0.01).

يتضح من النتائج المدونة في الجدول (2) تفوق التركيزين 0.5 و 1 مغ/ل من (BAP) معنوياً على الشاهد ودون أن تسجل بينهما وبين التركيز 2 مغ/ل أية فروق معنوية، إذ بلغت نسبة تفتح البراعم (93.33%) باستخدام التركيز 0.5 مغ/ل وهذا يتوافق مع نتائج كل من (ليوس وآخرون، 2012) و (ليوس وآخرون، 2010) عند إكثار شجيرة الويستيريا الصينية وفرشاة الزجاج على التوالي. كما تبين أن لوجود الأوكسين تأثيراً إيجابياً في نسبة العينات النامية التي بلغت 84.44% لكن دون وجود فروق معنوية مع نتيجة غيابه من الوسط المغذي. ولدى دراسة التفاعل بين تراكيز الأوكسين والسيتوكينين المدروسين، اتضح أن وجود BAP منفرداً في الوسط المغذي قد أعطى أفضل النتائج، إذ سجل التركيز (0.5 مغ/ل) أعلى نسبة تفتح بلغت (100%)، لكن لم تسجل بينه وبين التراكيز الأخرى أية

فروق معنوية سواء بوجود الأوكسين أو بغيابه، في حين كانت أقل نسبة عند الشاهد (51.11%). وهذا يدل على الدور الكبير الذي يلعبه كل من السيتوكينين والأوكسين عند تركيز معين في زيادة نسبة تفتح البراعم.

2- دراسة تأثير تركيز كل من BAP و NAA في عدد النموات الخضرية الناتجة (معدل الإكثار):

أما فيما يخص متوسط عدد النموات الناتجة في مرحلة الزراعة الأولية، فيتضح من نتائج الجدول (3) تفوق التركيز 1 مغ/ل من BAP معنوياً على الشاهد مسجلاً بذلك أفضل نتيجة بلغت (1.35 نمو/عقلة) ودون أن تسجل بينه وبين التراكيز الأخرى أية فروق معنوية، وهذا يتفق مع نتائج (Sedlák and Paprštejn, 2007) عند إكثار أحد أنواع الياسمين العرنتلي (*Lonicera kantschatica*)، إذ وصل متوسط عدد النموات الناتجة إلى (10.5 ± 0.7) . كذلك كان لوجود الأوكسين تأثيراً إيجابياً واضحاً في معدل الإكثار (1.19) متفوقاً بذلك معنوياً على معاملة الشاهد (0.92 نمو/عقلة).

جدول (3): تأثير تركيز كل من BAP و NAA في متوسط عدد النموات الخضرية بعد شهرين من الزراعة/ سم

المتوسط	2	1	0.5	0	BAP (مغ/ل)
					NAA (مغ/ل)
0.92 B	1.02 b	1.13 ab	1.07 b	0.47 c	0
1.19 A	1.013 b	1.57 a	1.02 b	1.18 ab	0.25
	1.02 AB	1.35 A	1.04 AB	0.82 B	المتوسط
	0.32			BAP	LSD 0.01
	0.23			NAA	
	0.46			BAP×NAA	

• الأرقام المتبوعة بنفس الأحرف ليس بينها فروق معنوية على مستوى معنوية (0.01).

وبدراسة التأثير المتبادل بين التراكيز الهرمونية المختلفة تبين أن أفضل نتيجة (1.57 نمو/عقلة) كانت بمشاركة الأوكسين للسيتوكينين (0.25: 1 مغ/ل) على التوالي وأن أدناها سجلت عند الشاهد (0.47 نمو/عقلة). وهذا يتفق مع نتائج (Hildebrandt and Harney, 1985) عند إكثار النوع *Viburnum opulus 'Nanum'*، في حين لا يتوافق مع نتائج (Oo et al, 2008) إذ تم الحصول على أفضل معدل إكثار (7 نمو/عقلة) عند نوع هجين من الورد بوجود BAP منفرداً في الوسط المغذي بتركيز (3 مغ/ل) وربما يعود ذلك إلى اختلاف التركيب الوراثي للأنواع النباتية.

3- دراسة تأثير تركيز كل من BAP و NAA في طول النموات الخضرية الناتجة:

أما بالنسبة إلى متوسط طول النموات الخضرية الناتجة فيظهر من نتائج الجدول (4) تفوق التركيز (2 مغ/ل) من السيتوكينين معنوياً وبفروق معنوية عالية على التركيز 0.5 مغ/ل (0.74 سم) وخاصة على الشاهد الذي لم يتجاوز عنده متوسط الطول (0.45 سم) مسجلاً بذلك أفضل نتيجة (0.94 سم) ودون وجود أية فروق معنوية بينه وبين التركيز 1 مغ/ل. في حين لم تكن هناك فروق معنوية بين وجود الأوكسين وغيابه (0.75 سم) في الوسط المغذي. وهذا يتفق مع ما توصلت إليه كل من (حيدر، 2010) و (حسن، 2012) على أن استخدام السيتوكينين

منفرداً في الوسط المغذي قد أعطى أفضل النتائج لدى إكثار شجيرة فرشاة الزجاج بنوعها الباكي والسياجي والويستيريا الصينية على التوالي. ويمكن أن يعزى ذلك إلى التركيب الوراثي للنبات من جهة وإلى التوازن الهرموني بين السيتوكينين والأوكسين فيه من جهة أخرى، والذي يلعب دوراً كبيراً في توجيهه تشكل ونمو البراعم وهذا يختلف من نوع نباتي لآخر.

جدول (4): تأثير تركيز كل من BAP و NAA في متوسط طول النموات الناتجة /سم بعد شهرين من الزراعة.

المتوسط	BAP (مغ/ل)				NAA (مغ/ل)
	2	1	0.5	0	
0.75 A	0.97 a	0.91 a	0.88 ab	0.23 d	0
0.75 A	0.91 a	0.81 abc	0.60 c	0.66 bc	0.25
	0.94 A	0.86 AB	0.74 B	0.45 C	المتوسط
	0.16			BAP	LSD 0.01
	0.11			NAA	
	0.22			BAP×NA A	

• الأرقام المتبوعة بنفس الأحرف ليس بينها فروق معنوية على مستوى معنوية (0.01).

كذلك كان للتأثير المتبادل بين التراكيز الهرمونية المختلفة دوراً مهماً، إذ أعطى التركيز (2 مغ/ل) من BAP أفضل النتائج (0.97 سم) بغياب الأوكسين، وهذا يتفق مع ما توصل إليه (Bhattacharyyas , 2010) عند الياسمين الأبيض، في حين سجل الشاهد أدنى استطالة للنموات بلغت 0.23 سم. بينما لا يتوافق ذلك مع نتائج (عبد الله وآخرون، 2003) لدى إكثار شجيرة الجاردينيا، حيث ازداد متوسط طول النموات الناتجة بزيادة تركيز الأوكسين سواءً بوجود أو بغياب السيتوكينين بتركيز معينة.

وبما أن متوسط طول وعدد النموات الناتجة كانا دون المطلوب، تم استبدال المحلول (MS) بمحلول معدني آخر (WPM, 1980) أو ما يسمى ببيئة النباتات الخشبية بهدف الحصول على أكبر عدد ممكن من النموات الخضرية وعلى أفضل استطالة لها لاستخدامها لاحقاً ولإنجاح المراحل اللاحقة من تجذير ونقسية وذلك بمشاركة الأوكسين (NAA) للسيتوكينين (BAP) بالتركيز 0.25 و 1 مغ/ل على التوالي.

يتبين من النتائج المسجلة في الجدول (5) تفوق المحلول المعدني (WPM, 1980) معنوياً في متوسط طول النموات الناتجة على المحلول MS مسجلاً بذلك أفضل استطالة وصلت إلى 3.21 سم، كذلك كان له تأثيراً إيجابياً واضحاً في زيادة متوسط عدد النموات المتشكلة والذي بلغ 2.72 نمو/عقلة، في حين لم يكن هناك أية فروق معنوية بينهما في نسبة تفتح البراعم. وهذا ما أكدته (Moura & Silva, 2009) لدى إكثار النوع *Viburnum treleasei Gand.* باستخدام البنزول أدينين بتركيز 0.25 مغ/ل وأيضاً (Hatzilazarou et al, 2009) عند إكثار النوع *Viburnum dentatum* والذي أعطت عنده العقل نموات جانبية بلغت بالمتوسط (4-2 نمو/عقلة) وذلك باستخدام أي نوع من السيتوكينين بتركيز 2 مغ/ل.

جدول (5): تأثير نوع المحلول المعدني المستخدم في نسبة تفتح البراعم وفي متوسط طول وعدد النموات الخضرية الناتجة بوجود NAA و BAP بتركيز 0.25 و 1مغ/ل على التوالي

الصفة المدروسة			المحلل المعدني
متوسط طول النموات (سم)	متوسط عدد النموات الناتجة	% تفتح البراعم	
0.81 b	1.57 a	93.33 a	MS (1962)
3.21 a	2.72 a	100 a	WPM (1980)
0.7	2.09	38.22	LSD 0.01

كذلك تتفق هذه النتائج مع نتائج (Schoene and Yeager, 2005) عند إكثار الوبيرنوم العطري (*Viburnum odoratissimum*) التي أكدت أن نقل الأجزاء النباتية من الوسط MS إلى الوسط (WPM, 1980) كان الأفضل في مرحلة الإكثار والاستطالة، حيث أمكن من الحصول على أفضل عدد للنموات الناتجة (11.8 نمو/عقلة دقيقة) وأفضل استطالة لها (1.8 سم) بوجود البنزول أدينين (BA) لوحده في الوسط المغذي بالتركيز 1 و 0.25 مغ/ل على التوالي. كما أكد (Chrystian et al, 2004) تأثير الوسط (WPM, 1980) الإيجابي في تكشف البراعم وزيادة النمو الخضري عند إكثار أشجار التين مخبرياً لكن بإضافة الكينيتين بتركيز 0.5 مغ/ل. ويمكن تفسير هذه النتائج على أساس أن البيئة MS تحتوي مستويات عالية من الأمونيا والبوتاسيوم والنترات لكنها قد لا تتناسب نمو وتطور بعض الأنواع النباتية، بينما البيئة (WPM, 1980) خالية من نترات البوتاسيوم ونترات الأمونيوم فيها مخففة إلى الربع، وهذا بدوره يعود أيضاً إلى التركيب الوراثي الذي يختلف من نوع نباتي لآخر (الخاصية الصنفية).

ثانياً - مرحلة التجذير:

تختلف استجابة النباتات للتجذير باختلاف النوع النباتي ونوع وتركيز الأوكسين المستعمل، فقد أشارت معظم الأبحاث السابقة إلى أن تشكل الجذور العرضية للأنواع الخشبية مرتبط بتوفر الأوكسين في وسط التجذير، إذ أن الأوكسينات تعمل على تحفيز وتنشيط تكوين الجذور، فهي تعمل على تنشيط الانقسام الخلوي على مستوى طبقة الكامبيوم في النباتات ثنائيات الفلقة، إذ تتشكل كتل ميرستيمية مقابل الحزم الوعائية تتطور فيما بعد لتكون الجذور (المعري، 1995). كما أن لتركيز العناصر المعدنية والظروف البيئية المحيطة وكذلك التركيب الوراثي وطبيعة النمو وحجمه دوراً مهماً في ذلك (George, 1996). لذلك فقد تم نقل النموات الناتجة عن مرحلة الزراعة الأولية إلى وسط التجذير مع التحضين في الظلام للأسبوع الأول ثم وضعت في ظروف الإضاءة العادية، وذلك لأن الظلام يثبط أو يخفف نشاط الأنزيمات المسؤولة عن تشكل المواد الفينولية المسببة للاسمرار الذي يظهر على قواعد النموات الخضرية والذي يعيق بدوره تشكل البداءات الجذرية، أما الإضاءة فهي تحفز فيما بعد على استطالة الجذور المتشكلة.

يتضح من نتائج الجدول (6) تفوق التركيز 0.5 مغ/ل معنوياً على التركيز 1.5 مغ/ل (51.10%) وعلى الشاهد (13.33%) مسجلاً بذلك أفضل نسبة تجذير بلغت 84.44 %، في حين لم تسجل بينه وبين التركيز 1 مغ/ل أية فروق معنوية. وهذا يتفق مع نتائج (ليوس وآخرون، 2010)، حيث وصلت نسبة تجذير نموات النوع الباكي لفرشاة الزجاج إلى 91.1 %، وأيضاً مع النتائج التي توصل إليها (Hatzilazarou et al, 2009) عند تجذير نموات النوع

Viburnum dentatum والتي أكدت أن التراكيز المنخفضة كانت فعالة أكثر من المرتفعة وذلك مهما كان نوع الأوكسين المستخدم مع نسبة تجذير تفوق الـ 65% وعدد جذور يتراوح ما بين 3-6 جذور/نمو.

جدول (6): تأثير تراكيز مختلفة من الأوكسين IBA في النسبة المئوية للتجذير وفي متوسط طول وعدد الجذور الناتجة بعد شهر ونصف من الزراعة.

التركيز (مغ/ل)	% التجذير	متوسط عدد الجذور	متوسط طول الجذور (سم)
0	13.33 c	1.43 b	1.3 b
0.5	84.44 a	3.82 a	2.7 a
1	68.88 ab	2.93 a	1.8 ab
1.5	51.10 b	3.65 a	2.03 ab
المتوسط	54.44	2.96	1.96
LSD	33.80	1.38	1.07
0.01			

• الأرقام المتبوعة بنفس الأحرف ليس بينها فروق معنوية على مستوى معنوية (0.01).

أما بالنسبة إلى متوسط عدد الجذور المتشكلة، فقد تفوقت التراكيز المدروسة كافة معنوياً على الشاهد والتي كان أفضلها التركيز 0.5 مغ/ل الذي سجل أيضاً أفضل نتيجة بلغت 3.82 جذر/نمو مقابل 1.43 فقط عند معاملة الشاهد. وهذا يتفق مع نتائج (Schoene and Yeager, 2005) عند الـ 0.5 مغ/ل من الأوكسين IBA و NAA (85 و 80%) ومتوسط عدد الجذور المتشكلة (8.3 و 5.6 جذر/نمو) باستخدام كل من الأوكسينين IBA و NAA بالتراكيز 0.6 و 0.5 مغ/ل على التوالي مقارنة بالشاهد الذي لم تتجاوز عنده النسبة 14% ومتوسط عدد الجذور 0.5 جذر/نمو.

وفيما يخص استتالة الجذور، يظهر من نفس الجدول أيضاً تفوق التركيز 0.5 مغ/ل معنوياً على الشاهد (1.3 سم) مسجلاً أفضل متوسط طول للجذور المتشكلة وصل إلى 2.7 سم، بينما لم تكن هناك أية فروق معنوية بينه وبين التراكيز الأخرى. وهذه النتائج تتفق مع نتائج (حيدر، 2010) إذ بلغ معدل طول الجذور 4.86 و 3.31 سم عند النوعين الباكي والسياجي على التوالي لشجيرة فرشاة الزجاج، لكنها لا تتوافق مع نتائج (حسن، 2012) التي أكدت أن التركيز 2 مغ/ل (IBA) أعطى أفضل النتائج من حيث نسبة التجذير ومتوسط طول وعدد الجذور المتشكلة عند شجيرة الـ 0.5 مغ/ل (IBA) وهذا الاختلاف في الاستجابة للتجذير ربما يعود إلى طبيعة الصنف أو للتباين بين الأنواع النباتية.

ثالثاً- مرحلة التقسية:

لقد استجابت نبيتات الرباطية الغارية الناتجة مخبرياً إلى عملية التقسية في البيت الزجاجي وذلك بعد نقلها إلى خلطة معقمة مؤلفة من البتموس والبرليت بنسبة 1:2، والتي تم إمدادها في البداية برطوبة عالية ومن ثم تم تخفيضها تدريجياً إلى أن تأقلمت مع ظروف الوسط المحيط، إذ وصلت نسبة نجاح التقسية بعد شهر ونصف من النقل إلى 73.33% من النباتات القابلة للحياة. هذه النتيجة تتقارب مع نتائج التقسية لكل من نبيتات النوع الباكي (80%)

والسياجي (73.33%) التابعين للجنس *Callistemon* (حيدر، 2010)، وأيضاً مع نتائج تقسية نباتات الويستيريا الصينية (73.33%) (حسن، 2012). في حين لم تتجاوز هذه النسبة 50% عند النوع *Viburnum treleasei* بعد شهر من النقل (Moura & Silva, 2009) وبلغت أقصاها (100%) عند الويبرنوم العطري وعند الجاردينيا (and Schoene Yeager, 2005) و(عبد الله وآخرون، 2003) على التوالي وذلك بعد 3 أسابيع على نقلها.

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات :

بعد استعراض نتائج هذا البحث نستنتج ما يلي:

1. إن لمشاركة الأوكسين للسيتوكينين في الوسط الغذائي تأثيراً إيجابياً في مرحلة الزراعة التأسيسية، خاصة في متوسط عدد النموات الخضرية الناتجة.
2. ضرورة استخدام المحلول المعدني WPM (بيئة النباتات الخشبية) وبمشاركة الأوكسين (NAA) للسيتوكينين (BAP) بالتوافق (1:0.25) مغ/ل على التوالي في مرحلة الزراعة التأسيسية وذلك للحصول على أفضل متوسط طول وعدد للنموات الخضرية الناتجة (3.21 سم ، 2.72 نمو/عقلة) تفيد في إنجاح المراحل اللاحقة.
3. إن إضافة الأوكسين IBA بتركيز 0.5 مغ/ل إلى وسط التجذير ضروري للحصول على أفضل نسبة تجذير (84.44%) وعلى أفضل متوسط طول (2.7 سم) وعدد للجذور المشكلة (3.82 سم) مقارنة بالشاهد.
4. أظهرت النباتات الناتجة قدرة جيدة على التأقلم مع ظروف البيت الزجاجي، إذ بلغت نسبة نجاح التقسية 73.33% بعد مرور شهر ونصف على نقلها.

التوصيات:

بناءً على هذه النتائج نوصي بتطوير طريقة الإكثار وتحسين النتائج باستخدام مصادر أخرى للطاقة ومنظمات نمو أخرى بهدف زيادة معدل الإكثار، وبالتالي الحصول على أكبر عدد ممكن من الوحدات التكاثرية، مع إمكانية تطبيق هذه التقنية على أنواع أخرى من الجنس *Viburnum* لما لأنواع هذا الجنس من أهمية طبية كبيرة من جهة ومن أهمية جمالية وتنسيقية عالية في الحدائق المختلفة من جهة ثانية.

المراجع:

1. الأطرقي. عمار؛ السلطان. سالم، استخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية في إكثار ثلاثة أصناف من شجيرات الليلكي (*Syringa vulgaris*). الندوة الدولية حول تكنولوجيا إنتاج البساتين للتنمية المستدامة والتنوع الحيوي، جامعة حلب، كلية الزراعة، قسم البساتين: 2007، 151-163.
2. المعري. خليل، إكثار النخيل بوساطة تقنيات زراعة الأنسجة النباتية، مؤسسة التنضيد التصويري (دبس) دمشق، الطبعة الأولى، 1995، ص 256.
3. حسن. رؤى، الإكثار الخضري الدقيق لنبات الويستيريا (*Wisteria sinensis*) باستخدام تقنيات زراعة الأنسجة، رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة حلب، 2012، ص 66.
4. حيدر. سونيا، دراسة تقنيات الإكثار الخضري الحقل والمخبري لنوعين من الجنس *Callistemon*، رسالة ماجستير-كلية الزراعة-جامعة حلب، 2010، 68 ص.

5. عبد الله. غسان؛ الخطيب. عبد اللطيف؛ وسراج. علي محمود، تأثير تركيز منظمات النمو (IAA, BAP) على الإكثار الخضري الدقيق للجاردينيا صنف *vitchii* باستخدام تقنيات زراعة الأنسجة، مجلة العلوم الزراعية والمائية، مجلد 8 (1)، جامعة السلطان قابوس في سلطنة عمان: 2003، 35-40.
6. قصاب باشي. عمار؛ والمزوري. ليلي، الإكثار الدقيق لنبات الشبو الشجيري *Cestrum nocturnum L.* باستخدام أطراف الأفرع، العقد المفردة والبراعم الزهرية غير الناضجة. الندوة الدولية حول تكنولوجيا إنتاج البساتين للتنمية المستدامة والتنوع الحيوي، جامعة حلب، كلية الزراعة، قسم البساتين، 2007، 128-140.
7. ليوس. لورن، التكاثر الخضري الدقيق للياسمين (*J. azoricum*) باستخدام تقنيات زراعة الأنسجة، مجلة جامعة الخرطوم للعلوم الزراعية، مجلد 12 (2)، 2004، 293-308.
8. ليوس. لورن؛ شوري. غسان؛ وحيدر. سونيا، دراسة تقنية الإكثار الخضري الدقيق لنبات فرشاة الزجاج *Callistemon viminalis*، مجلة بحوث جامعة حلب، سلسلة العلوم الزراعية، العدد (84)، 2010.
9. ليوس. لورن؛ شوري. غسان؛ وحسن. رؤى، استجابة نبات الويستيريا الصينية *Wisteria sinensis* للإكثار الخضري الدقيق باستخدام تقنيات زراعة الأنسجة، مجلة بحوث جامعة حلب، سلسلة العلوم الزراعية، العدد (95)، 2012.
10. AMO-MARCO, J. B. and PICAZO, I. 1994. *Effect of growth regulators on in vitro propagation of Ficus benjamina cv. Exotica*. *Biologia Plantarum* (impact factor: 1.97). 05/1994; 36(2):167-173. DOI:10.1007/BF02921081.
11. ATTA-ALLA, H.K.; MOGHAZY, E.I.; WALY, A.K.; MOHAMMED, S. 2006. Micropropagation of *Bombax malabaricum* and *Callistemon lanceolatus*. *Alexandria Journal of Agricultural Research*.
12. BHATTACHARYYA S., 2010. *In Vitro* propagation of *Jasminum officinale L.*: a woody ornamental vine yielding aromatic oil from flowers. department of Botany, Bose institute, Kolkata, India; 589:117-126.
13. CHRYSTIANE, B. F. ; PASQUAL, M.; Dutra L. F. and CAZETTA, J. O. 2004. Micropropagation of (*ficus carica L.*) "Roxo de valinhos" plants. *Plant Columbia seploct* vol. 40 (35): 471-475.
14. GEORGE, E.F. 1996. *Plant propagation by tissue culture*. Part 2: In practice Exegetics Ltd, Edington, Writts, England. 799 pp.
15. GOH, H. K. L. ; RAO, A. N. and LOH, C. S. 1988. *In vitro* plantlet Formation management (*garcinia managonstana L.*) *Ann. Bot.* (62): 87- 93.
16. HATZILAZAROU, S. ; RIFAKI, N. ; PATSOU, M. ; KOSTAS1, S. ; ECONOMOU A.S. 2009. *in vitro* propagation of *viburnum dentatum l. var. lucidum aiton*. *Propagation of Ornamental Plants Vol. 9, № 1*: 39-42.
17. HILDEBRANDT, V. and HARNEY, P.M. 1985. *In Vitro Propagation of Viburnum opulus 'Nanum'l.* *J. Environ. Hort.* 3(2):41-45. June 1985. Department of Horticultural Science- University of Guelph-Guelph, Ontario, Canada N1G 2W1.
18. JAHROMI, B.B. ; KHUI, M.K. ; TAFAZOLI, E. ; KHALIGHI, A. 2008. *Comparison of culture Media and plant growth regulators effect on Jasminum grandiflorum*. 1- Ph. D Student, Islamic Azad university, Sciences and Research Branch, Tehran, Iran 2-Professors, Department of Horticultural Science, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran 3-Professors, Department of Horticultural Science, College of Agriculture, Tehran University, Karaj, Iran. 4(1): 0-0.

19. LLOYD, GB. and MCCOWN, BH. 1980. *Commercially feasible micropropagation of mountain laurel (Kalmia latifolia) by use of shoot tip culture*. Proc. Int. Plant Prop. Soc. 30: 421-427.
20. MOURA, M. and SILVA, L. 2009. *Vegetative propagation of the Azorean endemic shrub Viburnum treleasei Gand.* Arquipélago. Life and Marine Sciences 26: 01-07.
21. MURASHIGE, T. and SKOOG, F. 1962. *A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures*. Physiol. Plant, (15) 473-497.
22. NAGHMOUCHI, S., KHOUJA, M.L., REJEB, M.N. and BOUSSAID, R.M. 2008. *Effect of growth regulators and explant origin on in vitro propagation of Ceratonia siliqua L. via cuttings*. Institute of Research in Rural Engineering, Water and Forestry (INRGREF). Rue Hédi Karray. BP 10. TN-2080 Ariana(Tunisia), University of Sciences. Campus universitaire. TN-1060 Tunis (Tunisia), Institute National of Sciences Applied to Technology (INSAT). Centre urbain Nord. BP 676. TN-1080 Tunis (Tunisia). 12(3), 251-258.
23. OO, K.T. ; KHAI, A.A. ; LWIN, K. 2008 . *Micropropagation of Rose (Hybrid Rosa spp.) by In Vitro culture technique*. GMSARN international conference on sustainable development: Issues and prospects for the GMS 12-14 Nov.
24. PEREZ-TORNERO, O. and BURGOS, L. 2000. *Different media requirement for micropropagation of apricot cultivars*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 63(2): 133-141.
25. SCHOENE, G. and YEAGER, T. 2005. *Micropropagation of sweet viburnum (Viburnum odoratissimum)*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. December 2005, Volume 83, Issue 3, pp 271-277 .
26. SEDLÁK, J. and PAPRŠTEIN, F. 2007. *In vitro propagation of blue honeysuckle*. Hort. Sci. (Prague), 34, 2007 (4): 129–131.
27. SIDDIQUE, I. and ANIS, M. 2007. *In vitro shoot multiplication and plantlet regeneration from nodal explants of Cassia angustifolia (Vahl.): a medical plant*. Plant biotechnology laboratory, Department of Botany, Aligarh Muslim University, Aligarh 202 002 UP, India. 29: 233-238.
28. SONG, H.J. ; SIM, S.J. ; JONG, M.H. ; HEO, C.M. ; KIM, H.G. ; HEO, S.Y. ; COE, Y.W. ; PARK, G.H. ; YANG, J.K. ; MOON, H.S. and CHOI, M.S. 2010. *Rapid micropropagation by axillary buds cultures of Smilax china*. Div. of Environ. forest Sci., Gyeongsang national Uni, (Insti. of Agric. of Life Sci.), Jinju 660-701, Korea Uiryeong-Gun Agricultural Technology Center, Uiryeong 636-805, Korea. 44 (6) pp.39-44.
29. VETICA, V. 1988. *Arbres et arbustes*. ISBN 2-7000-1517-7. Cinquième tirage 1988. Librairie Gründ- 60, rue Mazarine- 75006 Paris.