Micropropagation of some Damask Roses genotypes (*Rosa damascena* Mill.) dispersed in Lattakia

Dr. Mazen Nassour [*]
Dr. Hafez Mahfoud [**]
Tharwat Redwan [***]

(Received 23 / 1 / 2020. Accepted 14 / 6 /2020)

□ ABSTRACT □

This research aimed to estimate the optimum medium for the in vitro propagation of some genotypes of *Rosa damascena* Mill., that have been phenotypically and molecularly describe. single-node explants were surface sterilized and cultured on Murashig and Skoog medium (MS) supplemented with various combinations of growth regulators (NAA, IBA and BA) at different concentrations.

1- Shoot proliferation was best on Ms medium supplemented with (0.25mg/ l NAA + 4 mg / l BA) with 3.41 migroshoots subculture after 4 weeks of planting.

2- The highest elongation ratio was on T3: (MS + 0.5mg / l NAA + 2 mg / l BA).

3- Efficient (95%) was achieved on half-strenth MS medium with (0.4 mg / l IBA).

4- The results indicated that the RD4 genotype was superior the average number of growths, while the RD1 genotype was superior the rest of the genotypes by rooting and average root length and number.

5- Rooted plantlets were gradually acclimatised for 4 weeks and planted out under field with a survival over 80% at RD1 and 75% at other studied genotypes.

Key words: *Rosa damascena*, Micropropagation, Plant Growth Regulators.

***Assistant Prof.,Department Of Horticulture, Faculty Of Agriculture, Tishreen University, Lattakia ,Syria. Email: Mazen.Nassour@Gmial.Com**

****Researcher, Department Of Biotechnology, General Commission For Scientific, Agriculture, Research, Lattakia. Syria. E Mail: Hafez.Mahfoud@ Yahoo.Com**

[***]**Postgraduate Student, Department Of Horticulture, Faculty Of Agriculture, Tishreenn Tishreen University, Lattakia, Syria. E Mail:Tharwat.Redwan@Yahoo.Com.**

الإكثار الخضري الدقيق لبعض طرز الوردة الدمشقية *Rosa damascena* Mill. المنتشرة في اللاذقية

د. مازن علي نصّور [*]
د. حافظ محمد محفوض [**]
ثروت سليم رضوان [***]

(تاريخ الإيداع 23 / 1 / 2020. قبل للنشر في 14 / 6 / 2020)

□ ملخّص □

يهدف البحث إلى تحديد الوسط الأمثل للإكثار الخضري الدقيق لبعض طرز الوردة الدمشقية ***Rosa damascena* Mill.** الموصفة مظهرياً و جزيئياً. أخذت عقل صغيرة ببرعم واحد و بعد تعقيمها سطحياً، زرعت على وسط Murashige and Skoog (MS) مضافاً له تراكيب متنوعة من منظمات النمو (NAA ، IBA، BA) و بتراكيز مختلفة، خلصت الدراسة إلى الآتي:

1- بلغت أعلى قيمة لمتوسط عدد النموات الخضرية المتشكلة على الوسط المغذي (T2: MS + 0.25mg/l NAA+ 4 mg/l BA) 3.41 نمواً خضرياً جديداً بعد أربعة أسابيع من الزراعة.

2- بلغت أعلى نسبة للاستطالة على الوسط (T3: MS + 0. 5mg/l NAA+ 2 mg/l BA).

3- كان التجذير فعالاً و بنسبة (95%)على الوسط (Tr4: **1/2** MS+0.4 mg/l IBA).

4- أشارت النتائج إلى تفوق الطراز RD4 في متوسط عدد النموات، في حين تفوق الطراز RD1 على بقية الطرز بنسبة التجذير و متوسط طول الجذور وعددها.

5- تم تقسية النموات المجذرة تدريجياً لمدة أربع أسابيع، ثم زرعت تحت الشروط الخارجية مع نسبة نجاح وصلت إلى 80% عند الطراز RD1 و75% عند بقية الطرز المدروسة.

الكلمات المفتاحية: الوردة الدمشقية، الإكثار الخضري الدقيق. منظمات نمو نباتية.

[*] أستاذ مساعد – قسم البساتين – كلية الزراعة – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية. mazen.nassour@gmial.com.
[**] باحث – قسم التفانات الحيوية – الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية – اللاذقية – سورية. ha.mahfoud@hotmail.com
[***] طالبة دراسات عليا(دكتوراه) – قسم البساتين – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية..tharwat.redwan@yahoo.com

مقدمة :

تنتمي الوردة الدمشقية *Rosa damascena* Mill. إلى العائلة الوردية Rosaceae، و للجنس *Rosa* الذي يضم أكثر من (200) نوعاً، و هي شجيرات متساقطة الأوراق أو دائمة الخضرة، متسلقة أو قائمة (Krussman, 1981). و يمكن التهجين بين الأنواع المختلفة بسهولة و هذا ما يفسر تنوع الورد بشكل كبير جداً، وتعد الوردة الدمشقية من نباتات الزينة الشائعة، و المنتشرة في الحدائق العامة و المنزلية و ذلك لجمال أزهارها و رائحتها العطرية المميزة. تأتي الأهمية الاقتصادية للورد الدمشقي من استخداماته المتعددة في النواحي التزيينية و الطبية و التصنيعية لاحتواء أزهاره على زيت الورد (Wylie, 1955).

تنتشر زراعة الوردة الدمشقية عالمياً في العديد من الدول (بلغاريا، فرنسا، تركيا، إيران، اليونان، الهند، الصين، روسيا، سورية، المغرب، مصر)، و يعد كل من وادي كازانلك في بلغاريا و شيراز و مشهد في إيران، و إسبارتا في تركيا، مناطق الإنتاج الرئيسة للورد الدمشقي (Ozkan, 2004).

يتم إكثار الورد الدمشقي عادة بالطرق الخضرية (الخلفات، العقل، الترقيد، التطعيم) (Nakkawatchara, 2001). و يمكن إكثاره أيضاً بالبذور (Horn *et al*., 1992)، تستغرق بذوره غالبا أكثر من سنتين لكي يتم استنباتها، ويعود سبب ذلك إلى حاجتها لفترة تنضيد طويلة على درجة حرارة بحدود 5 درجة مئوية (Rich, 2004)، كما يؤدي الإكثار بالبذور إلى تباينات وراثية على خلاف طرائق الإكثار الخضري، بالإضافة لكونها بطيئة ومستهلكة للوقت، وتعتمد على فصول السنة، و ليس بالضرورة أن تكون سليمة وخالية من الأمراض (Pati *et al*., 2006)، ومن هنا تبرز أهمية استخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية للحصول على أعداد كبيرة من نباتات الورد المرغوبة والخالية من الإصابات المرضية، إضافة إلى اختصار الفترة الزمنية اللازمة لإدخال الأصناف الجديدة وتحسينها واستثمارها على نطاق تجاري لتلبية ذوق المستهلك و متطلبات السوق المتغيرة؛ علاوة على ذلك إمكانية الإكثار على مدار العام بغض النظر عن الموسم و الفصل(George *et al*., 2008).

تشمل زراعة الأنسجة النباتية Plant tissue culture جميع التقنيات التي يتم من خلالها عزل خلية أو نسيج أو عضو نباتي تحت ظروف محكمة خالية من المسببات المرضية، وتعقيمها، ومن ثم زراعتها في أوساط غذائية اصطناعية معقمة، و تحضين الجزء النباتي المزروع في ظروف محددة من حيث الحرارة والضوء (Al refaie *and* Alshooeke.,2007 ; Mather and Roberts, 1998).

بينت الدراسة التي قام بها Reist (1985) أنّ إكثار النباتات بالأنسجة أعطى نباتات تميزت بإنتاجيتها العالية من الأزهار، كما أشارت الأبحاث إلى أن الورد الناتج من زراعة الأنسجة بهدف إنتاج نباتات الأصص كان لها معدل نمو أسرع، و إزهار مبكر، و أعطت نموات أقصر وأكثر تفرعاً بالمقارنة مع النباتات التي تم إنتاجها تقليدياً Dubois *et al* (., 1988).

أجريت العديد من الأبحاث والدراسات حول إكثار الورد بالأنسجة؛ إذ تناولت دراسة تفصيلية للعوامل الفيزيولوجية المتعلقة بالجزء النباتي المستخدم، إضافة للعوامل المتعلقة ببيئة و وسط الزراعة وتأثيرها في الإكثار الخضري الدقيق للورد أدت إلى فهم للمتطلبات الخاصة لكل مرحلة من مراحل زراعته بالأنسجة، وتطوير بروتوكولات عملية لتلك المراحل. (Rout *et al*., 1999; Pati *et al* , 2005; Pati *et al*., 2006). و بينت العديد من الدراسات إمكانية استخدام أجزاء مختلفة من النبات خاصة البراعم الإبطية والجانبية و الأوراق والمآبر وحبوب الطلع في تقنية الإكثار بالأنسجة(Rout *et al*., 1999; ; Pati *et al*., 2004; Misra and Chakrabarty, 2009)

تعد إضافة السيتوكينات و الأوكسينات إلى أوساط الزراعة عند الإكثار بالأنسجة من الأمور الأساسية لحث و تحفيز الأجزاء النباتية على النمو والتطور وتكوين الجذور، ومن أكثر المركبات شيوعاً واستعمالاً في زراعة الأنسجة النباتية هي benzyl adenine (BA) و furfuryl amine purine (KIN) وهي مركبات مصنعة مخبرياً، ونظراً لأهميتها فقد أكد الباحثين على ضرورة إضافتها إلى الأوساط الغذائية لغرض الإكثار الدقيق لأغلب النباتات المكاثرة نسيجياً(Kim *et al*, 2003)، ومن الضروري أن يكون هناك توازن بين تركيز الأوكسينات والساتيوكاينينات في الوسط الأساس المستعمل(Mohapatra *et al*., 2005). وتختلف الاستجابة لمنظمات النمو اعتماداً على نوع الجزء النباتي؛ إذ تستجيب العقل الساقية إلى مدى واسع من تركيز الأوكسين، الذي يُعدّ محفزاً للنمو في التراكيز المنخفضة، ومثبطاً للنمو عند التراكيز المرتفعة، وقد وجد أن الجذور هي الأكثر استجابة للأوكسين، ثم البراعم فالعقل الساقية (George *et al*, 2008).

تستخدم أوساط زراعة مختلفة في تقنية زراعة الأنسجة أهمها Murashige and Skoog (MS) و (WPM) woody plant medium، ففي الدراسة التي قام بها (Allahverdi Mamaghani *et al*., 2010) على ثلاث مدخلات من الوردة الدمشقية، والتي تم فيها الإكثار بالأنسجة باستخدام البراعم الإبطية و وسطي إكثار مختلفين (MS) و (WPM)، أظهرت النتائج أن معدل نمو النموات الخضرية المتشكلة كان أفضل في الوسط المغذي MS مقارنة بالوسط المغذي WPM .

وفي دراسة على النباتات الناتجة عن الإكثار بالأنسجة بيّن Pati و آخرون (2005) أن العقل الساقية التي أخذت من نباتات الوردة الدمشقية المكاثرة بالأنسجة أعطت نسبة تجذير مرتفعة، إضافة إلى تفوقها في عدد الجذور وطولها عن النباتات المكاثرة خضريًا بالعقل.

كما بينت الدراسة التي قام بها(Nassour *et al*.,2009) لدراسة تأثير منظمات النمو في الإكثار الخضري الدقيق لبعض الطرز المحلية من الورد الدمشقي والورد البري، أن أفضل وسط لتكاثر النموات الخضرية لنوعي الورد هو الوسط المغذي MS مضافا له 4.44 µM BA + 0.58 µM GA3 + 0.49 µM IBA ، وأن أفضل وسط لتجذير النموات الخضرية هو الوسط المغذي 1/2MS مضافاً له 4.90 µ M IBA.

بين كل من Nak-Udom1 و زملائه (2009) أن أفضل وسط إكثار للورد الدمشقي كان باستخدام الوسط المغذي MSمضافاً له BA بتركيز 3mg/l و NAA بتركيز 0.003 mg/l.

بينما أشار Ebrahimzadeh وزملائه (2016) إلى أن أفضل وسط إكثار هو باستخدام MS مع إضافة BA 1.5 mg/l مع BAP 5 mg/l .

في حين أشارت الدراسة التي قام بها (Alsamaan *et al*., 2011) على أربع أنواع من الخزعات النباتية للوردة الدمشقية إلى أن أفضل استجابة للنمو كانت في البراعم الجانبية، ثم العقل الجانبية فالقمم النامية، فالبراعم الطرفية وتحقق أعلى معدل إكثار في التوافق الهرموني(بنزين أدنين BA بتركيز 3 mg/ l مع حمض الأندول الخلي IAA بتركيز 0.1 mg / l، وكانت أفضل نسبة تجذير عند استخدام حمض النفتالين الخلي NAA أو حمض إندول بيوترك أسيد IBA عند التركيز 0.1) mg / l و0.5).

و في دراسة على نوع وتركيز الآغار المضاف لوسط الزراعة المستخدم عند إكثار الورد الدمشقي قام بها Doina وزملائه (2017) تبين أن أفضل وسط كان (MS مضافاً إليه BA بتركيز 4 mg / l و Daishin Agar تركيز 6 g / l و Plant Agar تركيز 4 g / l.

وفي دراسة حديثة تمت المقارنة بين طريقتي الإكثار بالأنسجة وطريقة الإكثار التقليدية على طرازين من الورد الدمشقي المنتشر في وادي كازالانكا، بينت النتائج أنه تم الحصول على 918 نبات من (120 خزعة نباتية) بطريقة الإكثار بالأنسجة، أي أكثر فعالية بحوالي 21 مرة من الطريقة التقليدية، كان أفضل وسط إكثار (MS مضاف له BAP بتركيز 3 mg / l (Badzhelova & Bozhanova ، 2018).

أهمية البحث و أهدافه:

تأتي أهمية البحث من عدة نقاط أهمها واقع زراعة الوردة الدمشقية و قلة أعدادها؛ إذ أنّ زراعتها وإنتاجها لاقت تراجعاً و تدهوراً كبيراً في مناطق انتشارها الرئيسة، و نظراً للأهمية الاقتصادية الكبيرة للوردة الدمشقية سواء من الناحية التزيينية أو الطبية أو التصنيعية، وعلى وجه الخصوص زيتها العطري، و تعد أصل ممتاز للعديد من أصناف الورد(متحملة للجفاف والبرودة و الكلس)، هذا يحتم علينا الحفاظ عليها من خلال إكثارها و حفظها في مجمعات وراثية لاستكمال الدراسات عليها، و من ثم الانطلاق لإكثارها بأعداد كبيرة بهدف نشر زراعتها في مناطق مختلفة من الساحل السوري. بناءً على ما سبق هدف البحث إلى تحديد الشروط المثالية لإكثار بعض طرز الوردة الدمشقية الموصفة مظهرياً (Redwan *et al*., 2020) وجزيئياً (و Redwan *et al*., 2018) بالإكثار بالأنسجة، بغية حفظها ونشر زراعتها في اللاذقية وتقييمها في مراحل لاحقة وذلك من خلال اختيار وتحديد التوافقات الهرمونية المثلى لتشكل التفرعات الخضرية الأكثر عدداً والأفضل من حيث قوة النمو .

طرائق البحث ومواده:

1- مكان تنفيذ البحث: أجري البحث في مخابر شعبة التقانات الحيوية – مركز البحوث العلمية الزراعية باللاذقية بالتعاون مع قسم البساتين – كلية الهندسة الزراعية – جامعة تشرين خلال العامين 2018- 2019.

2- المادة النباتية:

تمت الدراسة على ثلاثة طرز من الوردة الدمشقية تم جمعها من مناطق مختلفة من اللاذقية، وأُعطيت الرموز الآتية:

RD1 (كسب)، RD2 (القرداحة)، RD3 (جبلة)، بالإضافة إلى طراز من قرية المراح التابعة لمحافظة ريف دمشق RD4.

جمعت فروع بعمر سنة و بطول 50- 60 سم من شجيرات الوردة الدمشقية النامية تحت الظروف الطبيعية من مناطق مختلفة في اللاذقية و ريف دمشق. حيث استخدمت العقل ببرعم واحد لهذه الطرز و ذلك بالاعتماد على العديد من الدراسات (Nassour *et al*.,2009; Pati *et al*., 2006).

3- طرائق البحث :

3-1- تحضير الخزعة النباتية:

وضعت الفروع في أوعية زجاجية تحوي ماء عادي لمدة أسبوع حتى تفتح البراعم الخضرية (على درجة حرارة المخبر)، ثم تم تجهيز عقل صغيرة منها تحوي على برعم واحد، و وضعت في أوعية زجاجية تحوي الماء مع قطرة من Tween-20، بالإضافة إلى منظف منزلي سائل، تم تحريكها لبضع دقائق بواسطة المحرك المغناطيسي، ثم غسلت تحت الماء الجاري لمدة ساعة قبل إخضاعها للتعقيم السطحي.

3-2-التعقيم:

تم تعقيم الأجزاء النباتية بالكحول 70% لمدة دقيقة واحدة، تلاها التعقيم باستخدام هيبوكلوريد الصوديوم 25% لمدة 10 دقائق، مع إضافة قطرة واحدة من Tween-20 لكل 100 مل من المحلول (و ذلك من أجل خفض التوتر السطحي، و زيادة تماس الأجزاء النباتية مع مادة التعقيم)، وتمت عملية التعقيم تحت جهاز العزل بعد إزالة حراشف البراعم والأوراق. غسلت الأجزاء النباتية بالماء المقطر و المعقم ثلاث مرات متتالية (Alsamaan *et al.*, 2011)

3-3-تأسيس الزراعات المعقمة (الأولية):

زرعت الخزعات النباتية بعد تعقيمها بعبوات زجاجية تحوي 30 مل من الوسط MS 1/2 مع 20 غ سكروز دون إضافة منظمات النمو لمدة أسبوعين مع استبعاد العبوات الملوثة، ثم نقلت هذه النموات و زرعت على أوساط النمو الاختبارية، و اعتبرت هذه الأجزاء المزروعة الزراعات الأم التي ابتدأت منها التجارب.

3-4-إكثار النموات الخضرية على أوساط النمو الاختبارية:

تم تقسيم النموات الخضرية المتشكلة بدءاً من الزراعات الأولية إلى أجزاء بطول 1-2 سم وزراعتها في مرطبانات زجاجية على أوساط النمو الاختبارية المكونة من وسط الأساس MS مع منظمات النمو جدول(1) بهدف حثها على النمو والتضاعف، ومن ثم اختيار وتحديد الوسط الأمثل لتشكل التفرعات الخضرية الأكثر عدداً والأفضل من حيث قوة النمو. أخذت قراءات طول الجزء النباتي وعدد النموات الخضرية الجديدة المتشكلة بدءاً من جزء نباتي واحد بعد أربعة أسابيع من الزراعة.

الجدول(1): رموز وتركيب أوساط النمو الاختبارية المستخدمة.

رمز الوسط (المعاملة)	تركيب الوسط
T0	MS
T1	MS + (0.25mg/l) NAA+ (2 mg/l) BA
T2	MS + (0.25mg/l) NAA+ (4 mg/l) BA
T3	MS + (0. 5mg/l) NAA+ (2 mg/l) BA
T4	MS + (0. 5mg/l) NAA+ (4mg/l) BA

3-5- تجذير النموات:

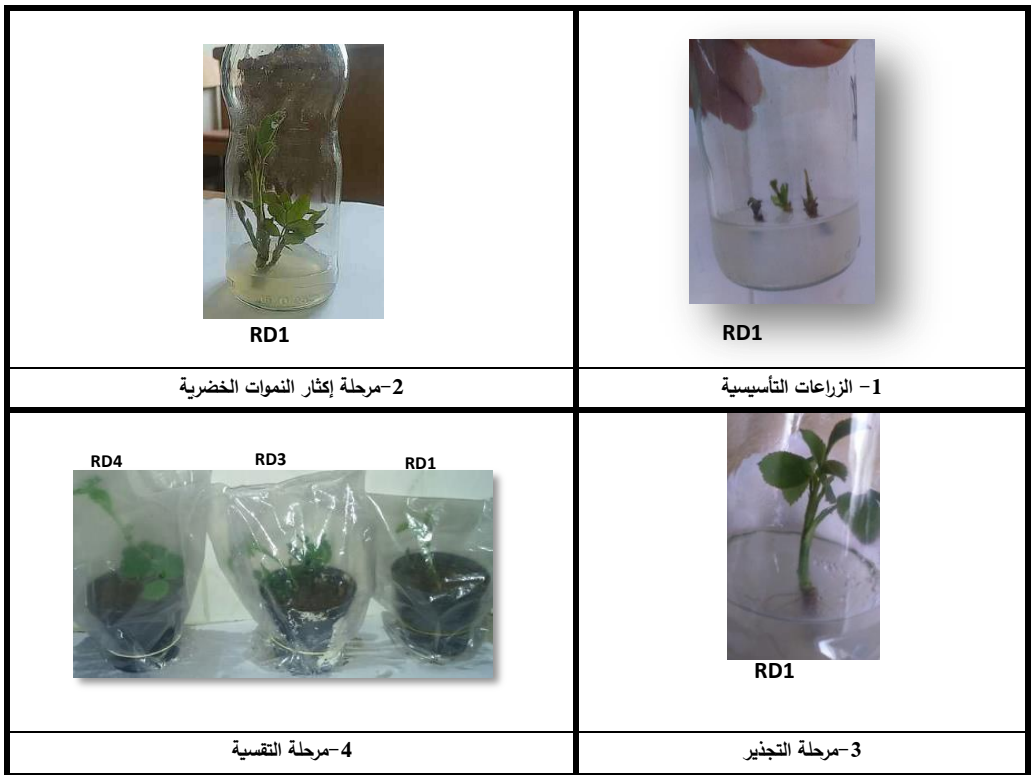
زرعت النموات الخضرية بطول 2-3 سم في مرطبانات زجاجية سعة 300 ml تحوي 30 ml من الوسط الغذائي MS 1/2 المهلم بالآجار مع كل من الأوكسين NAA بتراكيز (0، 0.2 mg/l) و IBA بتركيز (0.2 و 0.4 mg/l) جدول (2)، وحضنت في حاضنة. وقد قيمت الاستجابة للتجذير بعد 4 أسابيع من الزراعة من حيث نسبة التجذير، متوسط عدد الجذور وطولها.

3-6-التقسية:

نقلت النموات المجذرة بعد غسل الجذور جيداً بالماء إلى أصص تحوي خليط من البيتموس والبرليت المعقمة بنسبة 1: 1 (حجم/ حجم) بالاعتماد على نتائج (Alsamaan *et al.*, 2011)، و وضعت في حاضنة على درجة حرارة 20 م° و إضاءة تعطي تدفق فوتوني بمقدار 45 µmol.m-2 s-1 مع التغطية بأكياس بلاستيكية شفافة للمحافظة على الرطوبة الشكل (1). وأجريت عملية التقسية تدريجياً بعمل ثقوب صغيرة ثم أكبر فأكبر حتى إزالة الأكياس بشكل

نهائي. نقلت النباتات المقساة إلى ظروف البيت الزجاجي وسقيت أسبوعياً بمحلول MS ×1/10 لتتابع نموها تمهيداً للنقل والزراعة في الأرض الدائمة.

نفذت التجارب الأولية على الطراز RD1، وطبقت أفضل النتائج على الطرز الأربعة المدروسة.



الشكل (1) مراحل الإكثار الدقيق لبعض طرز الوردة الدمشقية المدروسة حيث:

RD1 (كسب)، **RD3**(جبلة)، **RD4** (المراح).

3-7-أوساط الزراعة المستخدمة:

3-7-1 - الوسط الأساس MS:

استخدم وسط موراشيج وسكوك (Murashige, and Skoog, 1962) مع الإضافات الآتية: ميواينزيتول 100 mg/l، ثيامين هيدرو0.5 mg/l، حمض النيكوتين 0.5 mg/l، بيرودكسين هيدروكلوريد 0.5 mg/l، غلايسين 2 mg/l، سكروز 30 g/l، آجار 7 g/l، pvp 2%. عدلت حموضة الأوساط إلى 5.7-5.8 قبل التعقيم بالأتوغلاف على درجة حرارة 121 م° لمدة 20 دقيقة وضغط 1.3 kg/cm^2.

3-7-2--أوساط النمو الاختبارية:

تكونت أوساط النمو الاختبارية من وسط الأساس (MS) الحاوي على تراكيب مختلفة من الأوكسين (NAA) و السيتوكينين(بنزيل أدنين BA) جدول (1)؛ إذ كان عدد المعاملات المختبرة 5 بما فيها معاملة الشاهد (MS) خالي من الإضافات الهرمونية.

3-7-3-أوساط التجذير:

تكونت أوساط التجذير من وسط الأساس (1/2MS) الحاوي على تركيزين مختلفين من أوكسين (NAA)، أو الوسط (1/2MS) المضاف له تركيزين مختلفين من أوكسين (IBA) الجدول (2).

جدول (2):أوساط التجذير المستخدمة.

رمز وسط التجذير	تركيب وسط التجذير
Tr0	1/2MS
Tr1	1/2 MS+0.2 mg/l NAA
Tr2	1/2 MS+0.4 mg/l NAA
Tr3	1/2 MS+0.2 mg/l IBA
Tr4	1/2 MS+0.4 mg/l IBA

3-7-4-شروط الزراعة:

حضنت الزراعات في غرفة النمو بدرجة حرارة 24 ± 2 مع 16 ساعة إضاءة و8 ساعات ظلام، تحت لمبات فلورسنت بيضاء تعطي تدفق فوتوني بمقدار $45mol.m^{-2}\ s^{-1}$ µ عند مستوى الزراعات.

3-7-5-التحليل الإحصائي:

صممت التجربة وفق القطاعات العشوائية الكاملة، حيث أخذت 150 خزعة نباتية لكل معاملة تكاثر بثلاث مكررات (3×50)، أخضعت المعطيات في كل التجارب لتحليل ANOVA باستخدام البرنامج الإحصائي (CoStat-5.918)، و تمت المقارنة بين المتوسطات بحساب أقل فرق معنوي LSD عند مستوى معنوية 1 %.

النتائج والمناقشة :

وصلت كفاءة التعقيم السطحي (باستخدام هيبوكلوريد الصوديوم) بعد 10 أيام من الزراعة إلى 65% (عقل حية غير ملوثة)، تتفق هذه النتائج مع نتائج (Jabbarzadeh and Khosh-Khu , 2005).

1: تكاثر النموات الخضرية مخبرياً:

تشكلت النموات الخضرية الجديدة للطراز RD1 على كافة الأوساط الاختبارية المستخدمة بعد 4 أسابيع من الزراعة وسجلت النتائج النهائية بعد ستة أسابيع من الزراعة (جدول 3).

جدول (3) تأثير نوع و تركيز منظمات النمو المستخدمة في متوسط عدد و طول النموات الخضرية الجديدة للطراز RD1.

رمز الوسط	الطراز RD1	
	عدد النموات الخضرية المتشكلة	الطول/ سم
T0	1.2 c	3.12 d
T1	2.83 b	3.35 c
T2	3.41 a	3.61 b
T3	2.5 b	3.89 a
T4	2.45 b	3.74 ab
LSD %1	0.56	0.16

تأثر متوسط عدد النموات الخضرية المتشكلة بشكل واضح بتركيز الأوكسين و السيتوكينين المستخدمين، حيث زاد مع بعض التوافقات الهرمونية.

تفوقت جميع المعاملات على معاملة الشاهد؛ إذ أعطت الخزعات النباتية المزروعة على الوسط المغذي T2 أفضل متوسط لعدد النموات الخضرية المتشكلة، و الذي بلغ بالمتوسط (3.41) نمواً جديداً، فيما لم تلاحظ فروقاً معنوية في

متوسط عدد النموات الخضرية المتشكلة بين باقي المعاملات. فيما أعطت الخزعات النباتية المزروعة على الوسط الأساسي MS والخالي من منظمات النمو (المعاملة T0) نموات جديدة بمتوسط عدد نموات منخفض جداً لم يتجاوز بالمتوسط 1.2نمواً جديداً بدءاً من الخزعة الأساسية. أعطت المعاملة T3 أعلى قيمة لمتوسط طول النباتات مقارنة بباقي المعاملات ؛ إذ بلغ متوسط طول النبات (3.89) سم، تلتها المعاملة T4 بمتوسط طول (3.74) سم، و أعطت معاملة الشاهد أقل قيمة لمتوسط طول النبات (3.12) سم.

إن زيادة تركيز الأوكسين NAA في وسط الإكثار المستخدم ترافق مع زيادة في متوسط طول النموات المتشكلة، بينما لم يترافق مع زيادة في عدد النموات المتشكلة، وهذا يتفق مع نتائج (Nassour *et al*.,2009) عن دور الأوكسين في زيادة طول النموات المتشكلة.

ويمكن أن يفسر ذلك بدور الأوكسين في تشجيع عملية انقسام الخلايا، و زيادة عدد المناطق الميرستيمية في قواعد العقل النسيجية واستطالة الخلايا الواقعة تحت القمة النامية التي بدأت بالتمايز (Rout and Jain, 2004)

أما زيادة تركيز السيتوكينين BA المترافق مع تركيز منخفض من الأوكسين NAA (الوسط T2) أدى إلى زيادة في متوسط عدد النموات الخضرية المتشكلة مقارنة بباقي الأوساط. ويمكن أن يفسر ذلك بأن وجود BA ضمن تركيز معين في وسط الزراعة ضروري لكسر طور الراحة في البراعم وتضاعف النموات الخضرية المتشكلة، ويعود ذلك إلى دوره في تنشيط البراعم الجانبية الساكنة من جهة، ومساهمته في تنشيط السيادة القمية للنموات من جهة أخرى، مما ينعكس ايجابياً على زيادة عدد النموات الخضرية Jabbarzadeh and khosh- khu, 2005).

طبقت التجربة على الطرز الأربعة باستخدام الوسط T2 الذي أثبت أنّه الأفضل بين الأوساط المستخدمة من حيث عدد النموات الجديدة المتشكلة جدول (4).

لوحظ تفوق الطراز RD4 على بقية الطرز في متوسط عدد النموات المتشكلة، فيما لم تلاحظ أية فروقات معنوية في متوسط عدد النموات المتشكلة بين الطرازين RD1 وRD2، وأعطى الطراز RD3 أقل عدد من النموات.

أما بالنسبة لتأثير وسط الإكثار T2 في طول النموات الخضرية الجديدة للطرز المدروسة تفوق الطرازان RD1 و RD3 على بقية الطرز. و يمكن أن تفسر استجابة الطرز لوسط الإكثار إلى اختلافات وراثية فيما بينها؛ إذ أن نمو الأنسجة أو الأجزاء النباتية خارج الجسم الحي و درجة استجابتها تختلف باختلاف الطرز و الأنواع النباتية ضمن العائلة الواحدة (Ozel and Arslan, 2006).

جدول(4) تأثير الوسط T2 في متوسط عدد و طول النموات الخضرية الجديدة للطرز المدروسة.

الطراز	عدد النموات	الطول/ سم
RD1	3.41 b	3.74a
RD2	3.3b	3.15c

RD3	2.93c	3.67a
RD4	3.80a	3.28 b
LSD 1%	0.15	0.11

2: التجذير:

تشكلت الجذور على النموات المتشكلة في مختلف الأوساط المستخدمة، بما فيها الوسط الخالي من منظمات النمو، وبينت نتائج التحليل الإحصائي تفوق الوسط Tr4 معنوياً على بقية الأوساط في نسبة التجذير بنسبة تجذير وصلت إلى (95%)، تلاه الوسط Tr1 بنسبة تجذير وصلت إلى (93.6%)، بينما لم تظهر المعاملتان Tr2 ، Tr3 أي فروق معنوية فيما بينها. وجاءت معاملة الشاهد بأقل نسبة تجذير (10.3 %) الجدول (5).

تفوقت المعاملتان Tr1 ، Tr4 في متوسط عدد الجذور على بقية المعاملات؛ إذ بلغ متوسط عدد الجذور (7.1) في المعاملتين Tr1 ، Tr4 ، تلاهما المعاملتان (Tr2 ، Tr3) (4.5 و 4.2) مع عدم وجود فروق معنوية بينها. أما بالنسبة لمتوسط طول الجذور تفوقت المعاملتان (Tr1 ، Tr4) على بقية المعاملات بمتوسط طول (4.98 ، 4.71) سم على التوالي، (الجدول 5)، وكذلك الأمر بالنسبة لنسبة التجذير؛ إذ تفوقت المعاملتان(Tr1 ، Tr4) في نسبة التجذير، تلاهما المعاملتان (Tr2 ، Tr3) مع عدم وجود فروقاً معنوية بينهما، وهذا يتفق مع العديد من الأبحاث التي أكدت على دور كل من الأوكسين NAA بتركيز 0.1 ملغ/ لتر والأوكسين IBA بتركيز 0.5 ملغ/ ل لرفع نسبة التجذير وزيادة عدد وطول الجذور (Nassour *et al.*,2009؛ Alsamaan *et al.*, 2011).

الجدول(5) تأثير وسط الزراعة في تجذير نموات الطراز RD1

رمز وسط التجذير	تركيب الوسط	الطراز RD1			
		متوسط طول النبيتات/ سم (Plantlet)	متوسط طول الجذور/ سم	متوسط عدد الجذور	نسبة التجذير%
Tr0	1/2MS	3.4 c	2.85 d	2.3c	10.3c
Tr1	1/2 MS+0.2 mg/l NAA	3.38 c	4.98 a	7.1 a	93.6a
Tr2	1/2 MS+0.4 mg/l NAA	3.5 b	3.83 b	4.5 b	69.8 b
Tr3	1/2 MS+0.2 mg/l IBA	3.6 a	3.3 c	4.2 b	71.2b
Tr4	1/2 MS+0.4 mg/l IBA	3.49 b	4.71 a	7.1 a	95 a
LSD 1%		0.04	0.43	0.84	7.05

اختيرت إحدى المعاملات التي أعطت أفضل النتائج (**Tr1**) على الطرز الأربعة ، حيث أشارت النتائج إلى تفوق الطراز RD1 في كافة الصفات المدروسة على بقية الطرز، تلاه الطراز RD2 في كل من نسبة التجذير ومتوسط طول وعدد الجذور، في حين حقق الطراز RD3 أقل قيمة لنسبة التجذير ومتوسط عدد وطول الجذور (الجدول، 6). ويمكن أن تفسر استجابة الطرز إلى اختلافات وراثية فيما بينها (Ozel and Arslan, 2006).

الجدول(6) تأثير وسط الزراعة Tr1 في تجذير نموات الطرز المدروسة.

الطراز	متوسط طول النبيتة/ سم	متوسط طول الجذور/ سم	متوسط عدد الجذور	نسبة التجذير %
RD1	4.48 a	4.78 a	7.2 a	94.3a
RD2	4.15 c	4.21 b	5.9 b	92 b
RD3	4.3 b	4.05 c	5.5 c	90.5 c
RD4	3.95 d	4.2 b	5.3 c	91.9 b
LSD 1%	0.13	0.14	0.35	0.53

3-التقسية:

تمت إزالة أكياس التغطية بعد حوالي الأسبوعين، ثم نقلت النباتات المقساة إلى ظروف البيت الزجاجي لمدة أسبوعين، استغرقت عملية التقسية حوالي الشهر، وبلغت نسبة نجاح النباتات المقساة 80% لطراز RD1 و 75 % لباقي الطرز وهذا يتفق مع العديد من الدراسات (Nassour *et al*.,2009؛ Alsamaan *et al*., 2011).

تم نقل النباتات إلى أصص أكبر حجماً ، وحفظت تحت الشروط الطبيعية، وتميزت بنمو جيد وخلوها من الإصابات المرضية و الشواذ المورفولوجية الظاهرية.

الاستنتاجات والتوصيات:

تم في هذه الدراسة وضع طريقة مفصلة وناجحة للإكثار الخضري الدقيق لبعض طرز الوردة الدمشقية، وتم التوصل إلى أن أفضل وسط لتكاثر النموات الخضرية هو الوسط T2:

(MS + (0.25mg/l) NAA+ (4 mg/l) BA). و أنّ أفضل وسط لتجذير النموات الخضرية هو الوسط **(1/2** MS+(0.4 mg/l) IBA):Tr4**)**، و تبين تفوق الطراز RD4 على بقية الطرز في معدل الإكثار (متوسط عدد النموات المتشكلة)، في حين تفوق الطراز RD1 على بقية الطرز المدروسة في كل من نسبة التجذير وعدد وطول الجذور المتشكلة.

إن التقنية الموصوفة ذات إمكانية واعدة في نشر زراعة الوردة الدمشقية من خلال إنتاج أعداد كبيرة من النباتات المتماثلة والخالية من الأمراض وخلال فترة زمنية قصيرة، كما تساهم في حفظ هذه الأنواع و حمايتها من التدهور والانقراض.

Reference:

- ALLAHVERDI MAMAGHANI, B.; GHORBANLI, M.; ASSAREH, M. H.; GHAMARI ZARE, A. *In Vitro Propagation of Three Damask Roses* Accessions. Iranian Journal of Plant Physiology .1,2010, (2), 85-94.
- ALREFAIE, AND ALSHOOEKE,A *Tissue culture and Micropropagation of plant,* The Egyptian Library for Printing and Publishing. Arab Republic of Egypt, 2007.
- ALSAMAAN, T.; AL BATAL, N.; AL MAARI,;K.*Micropropagation of Rosa damascena* Mill. Arab Univ. J. Agric. Sci. , Ain-Shams University, Cairo, 19(1), 2011, . 117-127
- BADZHELOVA, V. and BOZHANOVA, V. *Efficient Protocol For In Vitro Clonal Propagation of Rosa Damascena Mill. and Its Comparison With Conventional Propagation Method. Bulgarian Journal of Crop Sceince,* 2018, 55(6).
- DOINA, C.; FIRA, A.; BORSAI, O.; HÂRȚA, M.; SISEA1,C.; POP, R.and PAMFIL, D. *Micropropagation of Rosa Damascena Mill.: The Effects of Gelling Agents on The Multiplication Stages and Acclimatization.* Agriculture - Science and Practice ,2017. no. 3 – 4 (103-104).
- DUBOIS,L.A.M.; ROGGEMANS,J.; Soyeurt, G .; DE VRIES, D.P. *Comparison of The Growth And Development of Dwarf Rose Cultivars Propagated In Vitro And In Vivo By Softwood Cuttings* Scientia Horticulturae, 1988, 35(3-4):293-299.
- EBRAHIMZADEH, A.; MALEKIAN, S.; AAZAMI, M.A and HASSAN POURAGHDAM, M.B. *In Vitro Micropropagation of Rosa damascena Mill.* .World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering Vol:10, No:1, 2016.
- GEORGE, E. F. ; M. A. HALL and DE KLERK, G. J. *Plant Propagation by Tissue Culture.* Volume 1. The Background, 3rd Edition, Published by Springer, Dordrecht, The Netherlands, 2008.
- HORN, W. A. H. *Micropropagation of Rose (Rosa L). In: Bajaj YPS, editor. Biotechnology in Agriculture and Forestry* Vol 20 High-tech and micropropagation IV. Germany7 Springer; 1992, p. 320 –42.
- JABBARZADEH, Z. and KHOSH-KHU, M. *Factors affecting tissue culture of Damask rose (Rosa damascena Mill.* Scientia Horticulturae 105(4):475-482 · 2005.
- KIM, C.K. ; J.Y. OH; JEE, S.O.; CHUNG, J.D. *In Vitro Micropropagation of Rosa hybrida L.* J. Plant Biotechnolog., 5: 2005,115-119.
- KRUSSMAN, G.K .*The Complete Book of Roses*. Timber Press, Portland. Oregon, 15: 150 - 168.1981.
- MATHER , J. P and ROBERTS, P.E. *Introduction to Cell and Tissue Culture Theory and Technique. Genentech Inc. South San Francisco, California*, 1998 Plenum Press, New York A Division of Plenum Publishing Corporation 233 Spring Street, New York, N.Y. 10013. http://www.plenum.com.
- MISRA, P.; CHAKRABARTY, D. *Clonal Propagation of Rosa Clino phlla* .Thory. througaxillary bud culture.Scientia Horticulturae.Vol.119, N°. 2, 2009,212-216.
- MOHAPATRA, A.,G.R. ROUT And P. DAS. *Rapid Clonal Propagation From Nodal Explants And In Vitro Flowering of Three Rose Cultivars.* Propagation of Ornamental Plant, 5 (4) 219 – 223, 2005.
- MURASHIGE, T. and SKOOG, F. *A Revised Medium For Rapid Growth and* Bioassays With Tobacco Tissue Cultures. Physiologia Plantarum 15,1962, 473-497.

- NASSOUR, M.; ABBAS, S,; ALSABBAGH, M.; ABDUL- KADER,A. *The effectof growth regulators on the micropropogation of some local Genotypes of Rosa damascena Mill.& Rosa canina L*. Tishreen University Journal for reaseach and scientific studies- Biological Sciences Series Vol.(31)No.(6),2009.
- NAKKAWATCHARA, P. *A professional Way to Plant Rose.* Kayhakarnkasare (in Thai) Bangkok charenrant publishing, . 2001, p.21
- NAK-UDOM1, N.; KANCHANAPOOM,K and KANCHANAPOOM, K. *Micropropagation From Cultured Nodal Explants of Rose (Rosa hybrida L. cv. 'Perfume Delight').* Songklanakarin J. Sci. Technol. V. 31, N°. 6, 2009, 583-586.
- Ozel, C. and O. ARSLAN. *Efficient Micropropagation of English Shrub Rose "Heritage" under in Vitro conditions*. International Journal of Agriculture & Biology. V. 8, N°.5, 2006,626–629.
- OZKAN, M.G. *Antioxidant and Antibacterial Activities of Rosa damascena Mill flower Extracts*. Food Science and Technology International, V. 10,N°.4, 2004, 16 (1-2).
- PATI, PK.; PRAKASH, O.; SHARMA, M .; SOOD, A.; AHUJA, PS. *Growth Performance of Cuttings Raised From In Vitro And In Vivo Propagated Stock Plants of Rosa damascena* . Biol Plantarum,2004. 48: 609 – 61.
- PATI, P. K.; M, SHARMA.; A, SOOD, AND P.S, AHUJA. *Micropropagation of Rosa Damascena And R. Bourboniana In Liquid Cultures*. In: Hvoslef-Eide AK, Preil W, editors. Liquid systems for in vitro mass propagation of plants. Netherlands: Kluwer Academic Publishers; 2005. p: 245-266.
- PATI, P. K.; SHARMA, M.; SOOD, A. and AHUJA, P.S,. *Direct Shoot Regeneration From Leaf Explants of Rosa Damascene Mill.* In Vitro Call Dev Biol.Plant. Vol.40, N◦.2, 2004.192-195.
- PATI,P. K.; S.P, RATH.; M, SHARMA, ; A, SOOD AND PS, AHUJA In *Vitro Propagation of Rosa*. A.Journareview.l Biotechnology advances 24 ,2006.94–114.
- REDWAN, TH.; M.NASSOUR.; and H, MAHFOUD. *Genetic Diversity of Rosa damascena Mill. in Latakia Province As Reveled by ISSR Analysis*. SSRG International Journal of Agriculture & Environmental Science. 5 (6) 2018: 18-22.
- REDWAN, T.; MAHFOUD, H AND NASSOUR, MAZEN. *The Phenotypic Characterization of Some Genotypes of Damask Rose (Rosa damascena Mill.) Distributed in Lattakia Province.* Syrian Magazen for Agriculture Researches, Vol. (7) No. (3) 2020.
- REIST, A. *Culture In Vitro En Pipiniere De Rosiers:* une alternative au bouturage ou au greffage des varie-tes, Rev. Suisse Vitic. Arboric Hor-tic., 17:1985, 361–402.
- RICH, M. *Plants For A future- Edible, Medicinalis And Useful Plants For A Healthier World (Rosa canina L.)* 2004 .N.1057719, 9pp.
- ROUT GR. And JAIN SM. *Micropropagation of Ornamental Plants–cut Flowers*. Propag Ornam Plants,4(2), 2004, 3–28.
- ROUT,G.R.; SAMANTARARY, S.; MOTTLEY, J.; DAS. P. *Biotechnology of The Rose*: Arevew of recent progress. Scintia Horticulture.Vol. 81.1999,201-228.
- WYLIE, A.P. *The History of Garden Roses*. J. Royal Hort. Soc., Part 2 . 1955, 80:77-87.