الإكثار الخضري الدقيق لأصل الكرمة B41 بتطبيق تقانة زراعة الأنسجة النباتية

ميادة السمين* خليل المعري** فهد البيسكي***

الملخص

نُفِذَ هذا البحث في مخبر زراعة الأنسجة النباتية في الهيئة العامة للتقانة الحيوية وفي كلية الزراعة بجامعة دمشق خلال عامي 2018– 2019، بهدف أمثلة طريقة فعّالة للإكثار الخضري الدقيق لنبات الكرمة *Vitis vinifera*. L، حيث زُرعت عقل نباتية بطول 0.5–1 سم تحتوي برعماً جانبياً في الوسط المغذي موراشيج وسكوغ Murashige and Skoog(MS)، يحتوي تراكيز مختلفة (0، 0.5، 1، 1.5 ،2، 3 مغ/ ل) من 6- benzylaminopurine (BAP)، BAP (0، 0.5، 1، 1.5، 2، 3 مغ/ ل+ 0.2 مغ/ ل Naphthalene acetic acid (NAA) وBAP (0، 0.5، 1، 1.5، 2، 3 مغ/ ل+ 0.2مغ/ ل Indol-3- acetic acid (IAA). نُقلت النبيتات المكاثرة إلى وسط MS لاختبار تأثير تراكيز مختلفة من IAA (0، 1، 2، 4، 8 مغ/ ل) في تجذيرها. أظهرت النتائج أنَّ التوافق الهرموني (2 مغ/ ل BAP + 0.2 مغ/ ل NAA) سَجّل أعلى متوسط لطول النموات المتشكلة (3.233 سم) ولعدد الأوراق والبراعم المتشكلة (5.667 ورقة، 4.667 برعم/ الخزعة النباتية على التوالي). كما أدى التوافق الهرموني BAP/ NAA إلى

* قسم علوم البستنة– كلية الزراعة– جامعة دمشق.

** قسم علوم البستنة– كلية الزراعة– جامعة دمشق.

*** الهيئة العامة للتقانة الحيوية– وزارة التعليم العالي.

زيادة واضحة في قيم جميع المؤشرات المدروسة وذلك مقارنة بمعاملات التوافق الهرموني BAP/ IAA ومعاملات الوسط المُغذي المُضاف إليه BAP بمفرده، بينما لم يؤدِ التوافق الهرموني BAP/ IAA إلى زيادة واضحة في عدد الأوراق والبراعم المتشكلة مقارنةً بمعاملات الوسط المُغذي المُضاف إليه BAP بمفرده. تحققت أفضل نسبة تجذير (92.8%) في الوسط المُغذي MS مع (1مغ/ ل IAA). بلغت نسبة نجاح النباتات الناتجة عن زراعة الأنسجة 87% وتم نقلها إلى التربة بنجاح.

الكلمات المفتاحية: الكرمة *Vitis vinifera*. L، الإكثار الخضري الدقيق، الأصل B41، BAP، IAA، NAA.

Tissue culture technique on micropopagation of grape B41

Mayada Al-Sameen[*] Khalil Al-Ma'ari[**] Fahd Al-Bisky[***]

Abstract

This research was carried out in the Tissue Culture Lab of the National Commission of Biotechnology (NCBT) in Damascus/ Syria and in Faculty of Agriculture– Damascus University during 2018- 2019 to optimize an effective method for micropopagation of grape *Vitis vinifera L.* Explants of (0.5-1cm) with adjacent bud were planted in multiplying stage on MS medium contains different concentrations of BAP (0, 0.5, 1, 1.5, 2, 3 mg/ l), with or without 0.2 mg/ l NAA or IAA. The multiplied explants transferd in comparsion with MS medium without hormones (control) with different concentrations of IAA (1, 2, 4, 8 mg/ l) for its rooting stage**.** The results revealed that the hormone combinations (2 mg/ l BAP + 0.2 mg/ l NAA) had the highest average of the plant length (3.233 cm), leaves and the number of formed buds (5.667 leaf, 4.667 bud/ plant biopsy respectively). The hormonal combinations BAP/ NAA led to an obvious increase in the studied parameters in compare to hormonal combinations treatments BAP/ IAA and nutrition medium with BAP only treatments, whereas the hormonal combinations IAA/ NAA did not led to an obvious increase in the number of leaves and formed buds in compare with nutrition medium with BAP only treatments. The best percentage of rooting (92.8%) was achieved in MS medium suplementecl with (1 mg/ l IAA). 87% of the adapted produced plantlets from tissue culture were successfully moved and planted in soil.

Key words: Grape *Vitis vinifera* L., Micropropagation, Rootstock B41, BAP, IAA, NAA.

[*] Horticulture department-Faculty of Agriculture, Damascus university.
[**] Horticulture department-Faculty of Agriculture, Damascus university
[***] The National Commission of Biotechnology (NCBT) - Ministry of Higher Education.

المقدمة Introduction:

تُعد الكرمة من أهم أشجار الفاكهة المثمرة في العالم، إذ تحتل مساحة كبيرة نسبة إلى محاصيل الفاكهة الأخرى (Wang وزملاؤه، 2000). تحتل سورية المرتبة الثالثة عربياً بإنتاج العنب بعد مصر والمغرب، وبيّنت إحصائيات وزارة الزراعة السورية لعام 2018 أن إجمالي المساحة المزروعة بالكرمة بلغت نحو /44802/ هكتاراً. إذ تشكل محافظتي حمص والسويداء 72% منها (المجموعة الإحصائية الزراعية، 2018). تتبع عائلة *Vitaceae*، جنس *Vitis* الذي يضم 65 نوعاً بشكل شجيرات خشبية متساقطة الأوراق، أو متسلقات، ينمو عدد منها كنباتات زينة حدائقية في حين تنتج الأصناف التابعة للنوع *V. vinifera* الثمار (Dalbo وزملاؤه، 2000). تتكاثر أصناف الكرمة خضرياً بالطرائق التقليدية (العقل، الترقيد، التطعيم) (حامد والعيسى، 1999)، أو باستخدام تقانات زراعة الأنسجة النباتية التي تحتل أهمية كبيرة في مجالات الحفظ والإكثار أو التحسين الوراثي لعدد كبير من الأنواع النباتية المهمة (المعري، 1995)، تساعد زراعة الأنسجة على إنتاج شتلات من الكرمة خالية من الأمراض ولا سيَّما البكتيرية والفيروسية (Jiang وزملاؤه، 2000) وتكون هذه النموات– في أغلب الأحيان– متماثلة وراثياً ومشابهة للنبات الأم (Torres، 1989؛ Debrgh، 1992).

أكدت دراسة Ali وزملاؤه (2013) أن استجابة البراعم للإكثار النسيجي اختلفت باختلاف منظم النمو ودرجة تركيزه. حيث لوحظ أن أفضل استجابة لنمو البراعم المزروعة من السلالة المحلية من الكرمة *Vitis vinifera*. L كانت مع الوسط MS مضافاً إليه (4.4 أو 6.6 µM) من 6- benzylaminopurine (BAP) مقارنةً بمنظمات النمو الأخرى؛ بينما أدى ارتفاع التركيز(8.8 - 35.2 µM) BAP إلى نمو غير طبيعي للنباتات، بالوقت الذي لم يؤدي تداخل acetic acid –3–andol (IAA) مع BAP إلى زيادة عدد النبتات النامية بدءاً من الجزء النباتي المزروع. بيّن Skiada وزملاؤه (2010) أن نمو البراعم كان

ضعيفاً والنباتات الناتجة صغيرة عند وجود BAP فقط في الوسط. بينما تم الحصول على أفضل نسبة نمو مع التوافق BAP / Naphthalene acetic acid (NAA). كما حقق التوافق (IAA µM 2.85 + BAP µM 11.0) أفضل عدد براعم، حيث أثبتت الدراسة أن التوافق IAA /BAP أفضل من BAP بمفرده. أشار Nalwade و Shitole (2004) أن أفضل نسبة تجذير تحققت عند الزراعة على الوسط المُغذي MS مضافاً إليه IAA µM 0.75؛ بينما وصلت نسبة التجذير إلى 99% عند استخدام التوافق (IAA µM 5.7 + IBA µM 4.92)، بالوقت الذي أشارت فيه نتائج Mhatre وزملاؤه (2000) أنه لم يكن لـ IAA دوراً واضحاً في تعزيز عملية التجذير.

مبررات البحث Research justifications:

برزت أهمية تقانة زراعة الأنسجة النباتية كتقنية هامة بديلة عن الطرائق التقليدية لإكثار نبات الكرمة، ومن هنا أتت أهمية الإكثار الخضري الدقيق والذي يهدف إلى وضع بروتوكول للإكثار الكمي للأصل B41 نظراً لكونه جيد المقاومة لمرض الفيلوكسرا المنتشر في محافظة السويداء، حيث يمكن تطعيم العديد من الأصناف عليه بشكل جيد، وبالتالي تأمين الاحتياج المتزايد من غراس هذا الأصل مع الحفاظ على صفاتها الوراثية ومطابقتها للنباتات الأم.

هدف البحث Research Objective:

هَدَف هذا البحث إلى: دراسة تأثير منظمات النمو النباتية BAP، IAA، NAA في الإكثار الخضري الدقيق وتجذير الأصل B41 لنبات الكرمة، للحصول على أفضل معدّل إكثار ونسبة تجذير.

المواد والطرائق Material and Methods:

1- مكان تنفيذ البحث Research site: نُفذ البحث في مخبر التقانات الحيوية النباتية التابع للهيئة العامة للتقانة الحيوية، وفي كلية الزراعة بجامعة دمشق، خلال عامي 2018- 2019.

2- المادة النباتية Plant material: استخدم في هذا البحث الأصل الأمريكي B41: وهو أصل متوسط قوة النمو ناتج عن التهجين بين (*V.berlandieri x V.vinifera*) يتحمل الكلس الفعَّال في التربة حتى 40%، متوسط التحمل للجفاف، جيد المقاومة للفيلوكسيرا، كما أن الأصناف المطعمة عليه تبكر بالنضج (Dzhambazova وزملاؤه، 2007).

3- الإكثار الخضري الدقيق Micropropagation:

3-1. الزراعة الأولية Initial culture: جُمعت طرود بعمر سنة وبطول 30- 25 سم من مركز البحوث العلمية الزراعية في السويداء في شهر شباط، وزُرعت في البيت الزجاجي ضمن أكياس بلاستيكية تحتوي خليطاً مؤلفاً من تورب: برليت بنسبة (1:2 حجم/حجم)، وبعد الانتهاء من تربيتها تم زراعتها في الأرض الدائمة، وفي شهري أيار وحزيران نمت البراعم الجانبية وأعطت نموات حديثة وصل طولها إلى 10-12 سم، جُمعت هذه النموات وقسمت إلى عدة قطع (Explants) بطول 0.5-1 سم يحمل كل منها عقدة نباتية تحوي برعماً رئيساً وبرعمين جانبيين بالإضافة إلى العقل القمية، وُضعت الخزعات النباتية تحت الماء الجاري مدَّة ساعة، ثمَّ طُهِرت سطحياً تحت جهاز العزل بالغمر بالكحول 70% (Ethanol) مدَّة دقيقة واحدة، تبعها النقع مع التحريك بمحلول معقم من هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز 3% مدة 20 دقيقة، ثم غسلت ثلاث مرات بالماء المقطر المُعقم في كل مرة 10 دقائق للتخلص من آثار محلول هيبوكلوريت الصوديوم (المعري، 2018). زُرِعت العقل القمية والجانبية بمعدّل عقلة واحدة في كل أنبوب اختبار يحتوي 18 مل من المحلول المغذي لموراشيج وسكوغ MS (Murashige و Skoog، 1962) المُزوَّد بـ 30غ/ ل سكروز و7غ/ ل

آغار و1 مغ/ ل ثيامين، و100مغ/ ل ميواينوزيتول وبدرجة حموضة (pH) 5.8 والمُعقّم في جهاز التعقيم الرطب (Autoclave) عند حرارة 121م°، وضغط 1.04 كغ/ سم^2 مدَّة 20دقيقة، ثمّ حُضنت الأنابيب في غرفة النمو على درجة حرارة 24 ± 2°م، وإضاءة 16ساعة/ 8 ظلام، وشدّة ضوئية 2000- 3000 لوكس لمدة أربعة أسابيع.

3-2الإكثار والاستطالة طور Multiplication and Elongation stage:

جُزِئت النموات الخضرية السليمة الناتجة من مرحلة الزراعة الأولية إلى عقل بطول 1.5 1- سم، و نُقِلَت إلى أنابيب اختبار بحجم 2.5× 20 سم تحتوي 18 مل من الوسط MS الحاوي على الثيامين(1مغ/ ل)، ميواينوزيتول (100مغ/ ل)، سكروز (30غ/ ل)، وآغار (7غ/ ل) والمُزوَّد بتراكيز مختلفة من منظمات النمو BAP (0، 0.5، 1، 1.5، 2، 3 مغ/ ل)، أو BAP (0، 0.5، 1، 1.5، 2، 3 مغ/ ل+ 0.2 مغ/ ل NAA) أو BAP (0، 0.5، 1، 1.5، 2، 3 مغ/ ل+ 0.2 مغ/ ل IAA) الجدول (1)، ثم حُضنت الأنابيب في ظروف غرفة النمو على درجة حرارة 24 ± 2°م، وإضاءة 16ساعة/ 8 ساعة ظلام، وشدّة ضوئية 2000- 3000 لوكس وأخذت النتائج في الأسبوع الرابع من الزراعة، حيث دُرس تأثير منظمات النمو النباتية المضافة إلى الوسط المُغذي MS في متوسط كل من طول النموات المتشكلة، عدد الأوراق وعدد البراعم المتشكلة/ الخزعة النباتية.

تركيب الوسط المغذي		
BAP مغ/ ل	NAA مغ/ ل	IAA مغ/ ل
0	-	-
0.5	-	-
1	-	-
1.5	-	-
2	-	-
3	-	-

0	0.2	-
0.5	0.2	-
1	0.2	-
1.5	0.2	-
2	0.2	-
3	0.2	
0	-	0.2
0.5	-	0.2
1	-	0.2
1.5	-	0.2
2	-	0.2
3	-	0.2

الجدول (1): المعاملات المستخدمة في إكثار الأصل B41 *in vitro* .

3-3. مرحلة تكوين الجذور في الأنابيب Rooting stage: جُزِئت النموات الخضرية المُكاثرة بالمرحلة السابقة بعد 30 يوماً من الإكثار إلى عقل بطول- 1.5 1 سم ونُقلت إلى أنابيب اختبار تحتوي 18 مل من الوسط MS الحاوي على الثيامين (1 مغ/ ل)، ميواينوزيتول (100مغ/ ل)، سكروز (30غ/ ل)، وآغار (7غ/ ل) والمُزوَّد بتراكيز مختلفة من IAA (0, 1, 2, 4, 8 مغ/ ل).

حُضنت الأنابيب في ظروف النمو نفسها، وبعد 30 يوماً من الزراعة دُرِس متوسط كل من نسبة التجذير%، طول الجذر (سم)، عدد الجذور.

3-4. أقلمة النباتات الناتجة عن الزراعة المخبرية Acclimatization stage: غُسلت جذور النباتات التي اجتازت مرحلة التجذير بنجاح وعددها 79 نبات، بشكلٍ جيد بالماء المقطر المعقّم للتخلص من الآغار العالق، وعوملت الجذور بمبيد فطري

(ديفازيم 0.3غ/ ل)، مدّة خمسة دقائق (López وزملاؤه، 2006). وزرعت بعدها النباتات ذات التجذير الجيد في أصص بلاستيكية قطرها 20 سم تحتوي خليطاً مؤلفاً من تورب: برليت بنسبة (1:2 حجم/حجم)، وغُطّيت النباتات بأكياس شفافة من البولي اتيلين وحضنت بدرجة حرارة 23±1م° ومدة إضاءة بحدود 16 ساعة إضاءة/8 ساعة ظلام، حيث كانت شدة الإضاءة نحو 2000– 3000 لوكس، وذلك مدة أربعة أسابيع في غرف النمو، إذ تم خلال هذه الفترة فتح تدريجي للأكياس حتى إزالتها تماماً بنهاية الأسبوع الرابع، مع سقاية النباتات مرّة أسبوعياً بمحلول مغذي 1/4MS، نُقِلت بعدها إلى البيت البلاستيكي في أصصٍ تحتوي تربة ورمل وتورب بنسبة (1:1:2) (v/v). حسبت بنهاية عملية الأقلمة نسبة النباتات المتبقية بحالة جيدة وفقاً للمعادلة الآتية:

نسبة نجاح الأقلمة% = عدد النباتات الناجحة بعملية الأقلمة × 100/ عدد النباتات المنقولة لمرحلة الأقلمة.

4- التحليل الإحصائي Statistical analysis: سُجِلت نتائج مرحلة الإكثار والتجذير في جداول وحلّلت باستخدام البرنامج الإحصائي Genstat وفق تصميم القطاعات المنشقة لمرحلة الإكثار والقطاعات العشوائية الكاملة لمرحلة التجذير، إذ قورنت متوسطات 20عينة نباتية (مكرر) لكل معاملة إكثار، و20 عينة نباتية (مكرر) لكل معاملة تجذير. وتم مقارنة المتوسطات وفق Two Way ANOVAوحساب قيمة أقل فرق معنوي LSD عند مستوى ثقة 99%، وذلك بحسب Duncan (1995).

النتائج والمناقشة Results and Discussion:

1. تأثير التوافقات الهرمونية في طول النموات المتشكلة (سم):

يتبيَّن من النتائج الواردة في الجدول (2) عدم وجود فروق معنوية واضحة بين جميع المعاملات، حيث أظهرت النتائج أن التوافق الهرموني (2 مغ/ ل BAP + 0.2 مغ/ ل NAA) حقَّق أعلى متوسط لطول النموات المتشكلة (3.233 سم)، بينما سَجَل التركيز(0.5

مغ/ ل BAP) أقل قيمة لها (1.356 سم). وبمقارنة النتائج (الجدول 2) نلاحظ أن التوافق الهرموني NAA /BAP و IAA /BAP حقق نتائج أفضل (كمتوسط) مقارنة بالنتائج التي تم الحصول عليها مع الوسط المُغذي المُضاف إليه BAP بمفرده، وهذا ما أكدته النتائج التي توصل اليها الباحث Skiada وزملاؤه (2010) على صنفي الكرمة *Malagouzia* و *Xinomavro*، حيث لاحظ أن معدل النمو كان ضعيفاً والنباتات الناتجة كانت صغيرة عند وجود BAP فقط في الوسط المُغذي، بينما تم الحصول على أفضل نسبة نمو مع التوافق الهرموني NAA /BAP.

BAP مغ/ ل		**NAA 0.2 مغ/ ل**	**IAA 0.2 مغ/ ل**	**المتوسط**
0	1.411 [a]	2.000 [a]	1.900 [a]	1.770
0.5	1.356 [a]	2.967 [a]	2.000 [a]	2.107
1	2.389 [a]	2.267 [a]	1.933 [a]	2.196
1.5	2.211 [a]	1.833 [a]	1.833 [a]	1.959
2	1.789 [a]	3.233 [a]	2.233 [a]	2.418
3	1.978 [a]	2.033 [a]	1.867 [a]	1.959
المتوسط	1.855	2.388	1.961	
LSD(0.01)	**1.328**			

الجدول (2): تأثير التوافقات الهرمونية في طول النموات المتشكلة (سم).

** تشير الأحرف المختلفة إلى معنوية الفروق بين المعاملات (Duncan، 1995).

كما أشارت النتائج أيضاً أن معاملات التوافق الهرموني BAP/ NAA سَجّلت نتائج أفضل (كمتوسط) مقارنة بمعاملات التوافق BAP/ IAA وهذا ما أكدته نتائج دراسة Torregrosaو Bouquet (1996) على صنف الكرمة *Muscadinia* بأن أفضل معدل نمو وإكثار تم الحصول عليه مع التوافق BAP/ NAA.

2. تأثير التوافقات الهرمونية في عدد الأوراق المتشكلة/ الخزعة النباتية:

نلاحظ من النتائج (الجدول 3) تفوق التوافق الهرموني (2 مغ/ ل BAP + 0.2 مغ/ ل NAA) معنوياً (5.667 ورقة/ الخزعة النباتية) على التوافق (1.5 مغ/ ل BAP + 0.2 مغ/ ل IAA) الذي سَجل أدنى قيمة لمتوسط عدد الأوراق المتشكلة (1.333 ورقة/ الخزعة النباتية)، بينما كانت الفروق غير معنوية بين بقية المعاملات. كما أظهرت معاملات التوافق الهرموني BAP/ NAA نتائج أفضل (كمتوسط) مقارنة بمعاملات الوسط المغذي المُضاف إليه BAP بمفرده ومعاملات التوافق BAP/ IAA.

BAP مغ/ ل		**NAA 0.2 مغ/ ل**	**IAA 0.2 مغ/ ل**	**المتوسط**
0	2.444 ab	2.667 ab	2.667 ab	2.592
0.5	4.444 ab	3.667 ab	2.333 ab	3.481
1	3.556 ab	4.333 ab	2.667 ab	3.518
1.5	4.889 ab	2.667 ab	1.333 b	2.963
2	2.000 ab	5.667 a	3.000 ab	3.555
3	2.444 ab	5.000 ab	3.000 ab	3.481
المتوسط	3.296	4.000	2.5	

LSD(0.01)	**2.685**

الجدول (3): تأثير التوافقات الهرمونية في عدد الأوراق المتشكلة/ الخزعة النباتية.

** تشير الأحرف المختلفة إلى معنوية الفروق بين المعاملات (Duncan، 1995).

3. تأثير التوافقات الهرمونية في عدد البراعم المتشكلة/ الخزعة النباتية:

تَبيَّن من النتائج الواردة في الجدول (4) تفوق التوافق الهرموني (2 مغ/ ل BAP + 0.2 مغ/ ل NAA) معنوياً (4.667 برعم/ الخزعة النباتية) على التوافق (1.5 مغ/ ل BAP + 0.2 مغ/ ل IAA) الذي سجل أقل قيمة لمتوسط عدد البراعم المتشكلة (1.000برعم/ الخزعة النباتية)، بينما كانت الفروق غير معنوية بين بقية المعاملات.

BAP مغ/ ل		**NAA 0.2 مغ/ ل**	**IAA 0.2 مغ/ ل**	**المتوسط**
0	1.667 ab	2.000 ab	2.000ab	1.889
0.5	3.111 ab	3.000 ab	2.000 ab	2.703
1	3.222 ab	3.667 ab	2.000ab	2.963
1.5	3.778 ab	2.333 ab	1.000 b	2.370
2	1.667ab	4.667 a	2.333 ab	2.889
3	1.778ab	3.000 ab	2.000 ab	2.259
المتوسط	2.537	3.111	1.888	
LSD(0.01)	**2.269**			

الجدول (4): تأثير التوافقات الهرمونية في عدد البراعم المتشكلة/ الخزعة النباتية.

** تشير الأحرف المختلفة إلى معنوية الفروق بين المعاملات (Duncan، 1995).

كما أظهرت النتائج أيضاً أن معاملات التوافق الهرموني NAA /BAP حققت نتائج أفضل (كمتوسط) مقارنة بمعاملات الوسط المغذي المُضاف إليه BAP بمفرده ومعاملات التوافق IAA /BAP وهذا يتوافق مع نتائج أبحاث (Khan وزملاؤه، 2015؛ Abido وزملاؤه، 2013) التي أكدت أن أقصى معدل إكثار لبراعم أصناف الكرمة *King's Ruby* و (*Muscat of Alexandria*) تحقق مع التوافق NAA /BAP، بينما تناقضت نتائجنا مع نتائج (Nalwade و Shitole، 2004؛ Han وزملاؤه، 2003) التي أثبتت أن التوافق الهرموني IAA /BAP أعطى عدد براعم أفضل في الصنف *Tas-a-ganesh* والسلالة المحلية للكرمة مقارنة بمعاملات BAP بمفرده .

يمكن تفسير نتائجنا بالاعتماد على حقيقة أن وجود منظمات النمو في وسط الزراعة يُعد العامل الأساسي الذي يعزز التشكل في زراعة الأنسجة ويساعد على النمو ويرفع معدل تكاثر البراعم الإبطية (Hunter، 1979)، إذ تؤدي السيتوكينينات ومنها BAP دوراً مهماً في تكوين الفروع في عمليات الإكثار الدقيق وزيادة عدد التفرعات لأنّها تسهم في تنشيط انقسام الخلايا الميرستيمية النشطة لتكون نموات جديدة على النبات. يُلاحظ من النتائج السابقة، أنَّ طول النموات يتناقص مع ازدياد تركيز BAP في وسط الزراعة، ويُعزى ذلك إلى أنَّ السيتوكينين هو هرمون الانقسام الخلوي وتضاعف الأفرع (Messegner و Male ،1987)، حيث يشجع نمو البراعم الجانبية ويحد من السيادة القمية كما يُشجع النمو القطري الشعاعي ويحد من استطالة النموات المتكونة (Welsh و Sink، 1981). ويتبين من النتائج أنه كان لإضافة الأوكسين إلى المعاملات تأثير إيجابي غير معنوي في زيادة قيم المؤشرات المدروسة؛ وهذا يبين أهمية التوافقات الهرمونية سيتوكينين/ أوكسين في تشجيع تشكيل نموات جديدة، فقد أوضح Skoog و Miller (1957) أن التشكل العضوي يتم تحت سيطرة العلاقة ما بين الأوكسين/ السيتوكينين.

- **تكوين الجذور في الأصل B41:** نُقِلت النموات الخضرية المكاثرة بالمرحلة السابقة وبطول 1– 1.5 سم إلى وسط التجذير وبعد 4 أسابيع من الزراعة أُخذت النتائج (الجدول 5).

IAA مغ/ ل	نسبة التجذير (%)	متوسط عدد الجذور (جذر/نبات)	متوسط طول الجذر الرئيسي (سم)
0	23	3.000 ^{c}	8.20 ^{c}
1	92.8	6.667 ^{b}	14.77 ^{a}
2	71.4	8.000 ^{ab}	15.10 ^{a}
4	78.5	6.333 ^{b}	11.20 ^{b}
8	61.5	9.000 ^{a}	10.70 ^{bc}
LSD(0.01)	-	**2.12**	**2.59**

الجدول (5): تأثير التراكيز المختلفة من IAA في تجذير الأصل B41 *in vitro*.

** تشير الأحرف المختلفة إلى معنوية الفروق بين المعاملات (Duncan، 1995).

من خلال دراستنا للنتائج الواردة في الجدول (5) نلاحظ تفوق المعاملات المزودة بهرمون التجذير IAA على تلك الخالية منه (الشاهد)، وذلك بالنسبة إلى المؤشرات المدروسة جميعها، وهذا يؤكد أن وجود IAA في الوسط من الأمور المهمة للتجذير، الأمر الذي يتناقض مع نتائج دراسة (Mhatre وزملاؤه، 2000). لوحظ أن أفضل نسبة تجذير (92.8%) تم الحصول عليها كانت مع (1 مغ/ لIAA)، في حين انخفضت هذه النسبة عند التراكيز المرتفعة، كما تحقق أعلى متوسط لعدد الجذور (9.000) مع التركيز (8 مغ/ لIAA)، وأعلى متوسط لطول للجذر الرئيسي (15.10سم) مع التركيز (2 مغ/ ل IAA)، حيث تحفز الأوكسينات الانقسام الخلوي على مستوى خلايا الكامبيوم مما يشجع تكوين الجذور ونموها (Aloni، 2004).

الأقلمة Acclimatization: تُعد من أكثر مراحل زراعة الأنسجة أهمية؛ بسبب حساسية النباتات الموجودة في الزجاج، ونظراً إلى أنها آخر عملية تتوج نجاح العمل ومن ثم يجب الاهتمام بالنباتات وتوفير الشروط اللازمة لإنجاح هذه العملية من ضوء وحرارة ورطوبة، كما يجب مراعاة النبات عند نقله من الزجاج إلى الأصص وذلك لضمان بقائه حياً. ولذلك أجريت عملية التقسية بالفتح التدريجي للأكياس حتى إزالتها تماماً خلال 4 أسابيع حيث تجاوزت نسبة الأقلمة في نهاية تجربتنا 87%، إذْ تعد نسبة جيدة وتتوافق مع نتائج (Gok وزملاؤه،1997؛ Baydar، 2000)، والشكل (1) يبيّن نجاح عملية الأقلمة.

الشكل (1): عملية الأقلمة للأصل B41

الاستنتاجات والمقترحات:

من أهم الاستنتاجات التي توصل إليها هذا البحث ما يأتي:

1- أدى التوافق الهرموني BAP/ NAA و BAP/ IAA إلى زيادة في طول النموات المتشكلة مقارنةً بمعاملات الوسط المُغذي المُضاف إليه BAP بمفرده.

2- لم تُؤدِ اضافة الأوكسين IAA إلى الأوساط المُغذية المُضاف إليها BAP دور إيجابي في زيادة عدد الأوراق والبراعم المتشكلة بالمقارنة مع تلك المُضاف إليها BAP فقط.

3- حققت معاملات التوافق الهرموني BAP/ NAA نتائج أفضل بالنسبة لجميع المؤشرات المدروسة وذلك مقارنة بمعاملات التوافق الهرموني BAP/ IAA ومعاملات الوسط المُغذي المُضاف إليه BAP بمفرده.

4- لُوحظ أن إضافة IAA بتركيز (1 مغ/ ل) إلى وسط التجذير كان له تأثير إيجابي في تحسين نسبة التجذير.

5- إن عملية الأقلمة كانت بنسبة جيدة، حيث تجاوزت 87 % في تجربتنا.

وفي نهاية هذا البحث نقترح إجراء المزيد من التجارب باستخدام منظمات نمو نباتية أخرى في عملية الإكثار الخضري الدقيق للأصل B41 للوصول إلى معدل إكثار وتجذير أفضل.

المراجع:

المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية لعام 2018، الصادرة عن وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي السورية.

المعري، خليل. 1995. إكثار النخيل بزراعة الأنسجة النباتية، جامعة الملك فيصل، السعودية، ص. 77-96.

المعري، خليل. 2018. زراعة الأنسجة النباتية- الجزء النظري- جامعة دمشق، سوريا، ص. 39-43.

حامد، فيصل، وعماد العيسى. 1999. الفاكهة (إنتاجها وتخزينها)- الجزء النظري- جامعة دمشق، سوريا، ص. 161-162.

Abido, A. I. A., M. A. M. Aly. S. A. Hassanen and G. A. Rayan. 2013. *In vitro* Propagation of Grapevine (*Vitis vinifera L.*) Muscat of Alexandria cv. For Conservation of Endangerment. Middle- East Journal of Scientific Research, 13 (3): 328-337.

Ali, O., M. Ali and A. M. Salama. 2013. Effects of cytokinins and auxins on the micropropagation of a local grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivar, using nodal explants. Gezira Journal of Agricultural Science**,** 11 (2). ISSN. 1728-9556.

Aloni, R. 2004. The induction of vascular tissues by auxin, in Davies P.J. (ed.).Plant Hormones,Kluwer Academic Publishers. Dordrech, P: 471- 492.

Baydar, N.G. 2000. Study of adventitious shoot formation in leaves of grape (*Vitis* spp). Turkish Journal of Biology, 24(3):645-656.

Dalbo, M.A., G.N. Ye. N.F. Weeden. H. Steinkellner. K.M. Sefc and B.I. Reisch. 2000. Gene controlling sex in grapevines place d on a molecular marker- based genetic map. Genome, 43(2): 333-340.

Debrgh, P. 1992. Reconsideration of the term Verification as used in micropropagation. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 30:135-166.

Duncan, D. B. 1995. Multiple rang and multiple F test, Biomrtrics. 11: 1-53.

Dzhambazova, T., T. Hvarleva. A. Hadjinicoli. I. Tsvetkov. A. Atanassov and I. Atanassov. 2007. Characterization of Grapevine Rootstocks using Microsatelite Markers. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 21(1): 58-62.

Gok, S., F. Ergenoglu. A. B. J. Kudenm and FG. J.R. Dennis. 1997. Propagation of several grape Varieties and rootstocks by meristem culture. Acta Horticulture, 44 (1): 245-250.

Han, D.S., Y. Niimi and J. Y. Wu. 2003. Micropropagation of *Vitis amurrensis* Rupr. Vitis, 42(3): 163- 164.

Hunter, C.S. 1979. *In vitro* culture of *Cinchona ledgeriana*. L. J. Hort. Sci., 54: 111-114.

Jiang, L.E.I., Li Zhong. Wu. YuQiao. Ni. Gang. De. Jing. ZP. Jiang and L. Zhong. 2000. Regulations of multiplication and high growth of *Calmeria* grape shoot by, BA and IAA. Journal of Jiangsu Forestry Scienceand- Technology, 27(2): 27-29.

Khan, N., M. Ahmed. I. Hafiz. N. Abbasi. S. Ejaz and M. Anjum. 2015. Optimizing the concentrations of plant growth regulators for in vitro shoot cultures, callus induction and shoot regeneration from calluses of grapes. Journal international des sciences de la vigne et du vin, 49 (1): 37-45.

López, I.S., F.V. González and J.C. Luis. 2006. Micropropagation of *Helianthemuminaguae*, a rare and endangered species from the Canary Islands. Bot. Macaronesica, 26: 55-64.

Messegner, J. and E. Male. 1987. *In vitro* propagation of adult material and seedling of *corylusavellana*. Acta Hort., 212: 499- 503.

Mhatre, M., C.K. Salunkhe and P.S. Rao. 2000. Micropropagation of *Vitis vinifera* L. Vitis, 22: 363- 374.

Murashige, T and F. Skooge. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant., 15: 473-97.

Nalwade, A.R. and M.G. Shitole. 2004. *In vitro* multiplication of grape (*Vitis vinifera* L.*) Cv. Tas-a-Ganesh* from nodal sector and axillary bud explants. Indian j. Plant physiol., 9(2): 145-157.

Roger, P., M. Darren. H. Simon. B. David. and S. Duncan. 2009. GenStat for WindowsTM 12th Edition Introduction. GenStat Release 12 was developed by VSN International Ltd, in collaboration with practising statisticians at Rothamsted and other organisations in Britain. Australia and New Zealand.

Skiada, G. F., K. Grigoriadou and P. E. Eleftheriou .2010. Micropropagation of *Vitis vinifera* L. cv. 'Malagouzia' and 'Xinomavro'. Central European Journal of Biology, 5: 839–852.

Skoog, F. and C.O. Miller.1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro* Symp. Soc. Expt. Biol., 2 (9): 118-140.

Torregrosa, L. and A. Bouquet. 1996. Adventitious bud formation and shoot development from *in vitro* leaves of *Vitis x Muscadinia* hybrids. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 45: 245–252.

Torres, K. C. 1989. Stages of Micropropagation In: Tissue Culture Techniques for Horticultural Crops, ACI Book, Van Nostrand Reinhald. New York. N8: 52- 65.

Wang, Q., E. Tanne. A. Arav and R. Gafn. 2000. Cryopreservation of *in vitro* grown shoot tips of grapevine by encapsulation – dehydration. Plant Cell and Organ Culture, 63: 41-46.

Welsh, J. and C. Sink. 1981. Morphogenetic responses of *Browallia* leaf sections and callus. Ann. Bot., 48: 385-390.