تأثير إضافة بعض منظمات النمو في إكثار نموات الحور الفراتي باستخدام زراعة الأنسجة

م. احمد نصر العزي النقشبندي –طالب دكتوراه في قسم البساتين – كلية الزراعة – جامعة الفرات

إشراف:

أ. د. زياد الحسين – عضو هيئة تدريسية في قسم البساتين – كلية الزراعة – جامعة الفرات

أ. د.عبد الرحمن الشيخ–عضو هيئة تدريسية في قسم البساتين –كلية الزراعة– جامعة الفرات

أ. د. عامر آغا– عضو هيئة تدريسية في قسم البيئة والحراج – كلية الزراعة – جامعة الفرات

الملخص

يهدف هذا البحث إلى دراسة تأثير بعض منظمات النمو على إكثار الحور الفراتي ، مستخدماً مادة نباتية من أشجار الحور في موقع الحويقة على ضفاف نهر الفرات . وتضمن مؤشرات الدراسة متوسط النموات الجانبية ، طول النموات ، معدل الإكثار ، ونسبة تطور العينات . وبالتالي تحسين زراعة الحور الفراتي في سوريا ضمن الكميات المطلوبة بجودة عالية ووقت مناسب.

زرعت العينات النباتية (براعم،أجزاء من النموات)في بيئة MS(1962) [1] تحتوي أنواع مختلفة من السيتوكينينات:(2-ip،BAP،زياتين،كينتين) بشكل مفرد أو مشترك وأنواع من الأوكسينات (IAA,NAA,IBA) (1,0.1,0مغ /ل)وإضافة حمض الجبرلين (GA3) بتركيز(1000,500 مغ /ل).

تطورت العينات في بيئات تحتوي BAP أو زياتين أو كينتين حيث بلغت المعدلات على التوالي (80, 84.4, 80 %) . إضافة مشتركة 2-ip و(BAP أو كينتين أو زينتين) أو BAP مع الكينتين أعطت أفضل المتوسطات لعدد النموات الجديدة.

وتأثير الأنواع المختلفة من السيتوكينينات يشير إلى أن أعلى متوسط لنمو الطولي لنموات (1.15سم) ومؤشر التضاعف (3.56) كان يلاحظ في بيئة تحتوي BAP.

بينت التراكيز المختلفة من BAP (8,4,2,1 مغ /ل) أن أفضل إستجابة لتضاعف النموات كانت مع إضافة (2 , 4 مغ / ل) والتي أعطت أعلى مؤشر لتضاعف على التوالي (2.97, 2.81).

تأثير الأنواع المختلفة من الأوكسينات مع وجود (2 مغ/ل) BAP يظهر أن الأوكسينات لم تؤثر معنوياً في متوسط عدد النموات الجديدة، بينما الأوكسينات أثرت في طول النموات ومؤشر التضاعف وحسب النتائج البيئة التي تحتوي IAA (1مغ/ل) أعطت أعلى متوسط لطول النموات (1.14 سم) ومؤشر التضاعف (5.14). تشير النتائج أن

إضافة حمض الجبرلين (GA3) وبالتراكيز المختلفة لم يؤثر معنوياً في مؤشرات التضاعف.

الكلمات المفتاحية : الحور الفراتي – منظمات النمو– تضاعف النموات– زراعة الأنسجة .

The effect of some growth regulators on in vitro multiplication shoot of *Populus euphratica* oliv.

Abstract

The aim of this study was to determine the optimum growth regulatores for shoot multiplication for in vitro propagation of populus (Populus euphratica Oliv.) Explants (shoot and node segments) were cultured on the Murashige and Skoog (1962)[1] medium containing different types of cytokinins (BAP,Zeatin,2-ip, Kinetin) alone or in combination ,different types of auxins (IBA, NAA, and IAA)in concentration (0- 0.1 – 1 mg/l) and (0 – 0.5-1 mg/l) of GA3.

The results showed that the highest regeneration rate wat obtained in the medium supplemented with BAP , Zea , and Kin(80 – 84.4 – 80 % resvectively). The combination of 2-ip (with BAP , Kin ,Zea) and BAP with Kin . was finding the best to shoots number . the effects of different types of cytokinins showed the highest shoot length (1.15 cm) and multiplication (3.56) was obtained on medium with BAP.

The different concentrations of BAP (1,2,4,8 mg/l) showed the best response of shoot multiplication on medium with (2-4 mg/l) of BAP

, which provided the highest multiplication rate (2.97-2.81 resvectively)

The effects of different types and concentration of auxins with cytokinin (BAP) showed , that auxins not significantly affect the number of shoot in explants , while auxins in ueced shoot length multiplication rate . According to the results , medium with IAA (1mg/l) gave the highest shoot length (1.14 cm) and shoot multiplication rate (5.14).

The results showed that GA3 not significantly affect the shoot multiplication parameter . this results suggest that MS medium containing (2mg/l) BAP and (1mg/l) IAA could be used to in vitro shoot multiplication of Populus euphratica L.

Keyword: Populus euphratica , shoot multiplication , growth regulators.

المقدمة:

تنتمي أشجار الحور الفراتي (*Populus euphratica* oliv.) إلى عائلة الصفصافية (Salicacae) ، وتنتشر في نصف الكرة الشمالي من خط عرض 45 شمالًا وحتى خط الاستواء .توجد في أوروبا وأسيا وشمال أفريقيا وبعض المناطق التي تحت المدارية[2].

ويعد الحور من اهم الأنواع الشجرية التي تمتاز بسريعة النمو والإنتاج العالي من الخشب والكتلة الحيوية . ويسمح نوع خشب الحور المميز بطيف واسع من الاستعمالات في صناعة الورق وإنتاج أنواع مختلفة من الخشب، بالإضافة لاستخدامه مصدر للطاقة [3].

يزرع الحور في سوريا منذ القدم خصوصاً على ضفاف الأنهار في الفرات والخابور والعاصي وبردى وغيرها .وكانت تنظم غابات الحور الفراتي ضمن طرز الغابات الكثيفة شبه النقية [4]. ويتم إنتاج أنواع الحور جنسياً وخضرياً [5]، يزيد الإكثار الجنسي من الإنعزالات الوراثية،لكن يتأثر الانبات بقصر فترة الحيوية والحاجة بعد النضج مباشرة إلى تربة رطبة ، وإضاءة [6]. يمكن إكثار الحور خضرياً باستخدام العقلة الساقية والسرطانات،ولكن تبقى هذه الطرق غير اقتصادية وخاصة صعوبة التجذير [5].وفي العقود الأخيرة استخدمت تقنية إكثار الأنسجة كأحد الطرائق الخضرية وذلك لم تتميز به من السرعة والحصول على نباتات خالية من الأمراض ولا تحتاج لمساحات كبيرة. [8] [7]

الدراسات السابقة :

في العقدين الأخيرين أصبحت زارعة الأنسجة تشكل إحدى الطرق المهمة في إنتاج النباتات خضرياً، لما تمتاز به من ميزات أهمها إنتاج نباتات خالية من الأمراض الفطرية والبكتيرية، كما أن النباتات الجديدة متماثلة وراثياً ومشابهة للنبات الأم، بالإضافة لمعدلات الإكثار العالية، وإمكانية الإكثار على مدار السنة وميزات أخرى، وقد استخدمت هذه التقنية في السنوات الأخيرة بنجاح لإكثار أنواع وأصول عديدة من النباتات الخشبية[9] ، كما أشير إلى إمكانية إكثار بعض أنواع وهجون الحور بزارعة الأنسجة [10]. ففي عام 1977 تمكن [11] لأول مرة من زارعة براعم جانبية من عدة أنواع من الحور.

ولنجاح زراعة أنواع خشبية مختلفة بزراعة الأنسجة تستخدم مواد وتراكيز مختلفة من منظمات النمو [12]. وحسب الدراسات لضمان نمو وتطور مناسب للعينات النباتية من الضروري توافق وانسجام الإضافات من منظمات النمو مع متطلبات الزراعة المختلفة، والجدير ذكره أن تأثير منظمات النمو في تطور العينات بزراعة الأنسجة يتعلق بمجموعة من العوامل الأخرى مثل الصنف والنوع النباتي ونوع الحالة الفسيولوجية للجزء النباتي والظروف المحيطة [13]. وتؤكد الدراسات أن التراكيز المثالية من منظمات النمو لضمان أفضل معدل للإكثار يختلف باختلاف الأنواع النباتية، ويرجع السبب الرئيس لهذا الاختلاف هو المحتوى الداخلي للانواع من هرمونات النمو [14] .

السيتوكينينات واحدة من هرمونات النمو التي تعتبر منظم رئيس للنمو والتطور في زارعة الأنسجة، وأن السيتوكينينات تلعب أدواراً مهمة في تطور النبات مثل تشجيع انقسام الخلايا واستطالتها، وتنبيه تركيب البروتين وتنشيط الأنزيمات [15]، وأكدت الدراسات على ضرورة إضافة السيتوكينينات إلى بيئات زراعة الأنسجة وخاصة مرحلة التضاعف وذلك لدورها في عملية نشوء وتحفيز الانقسام الخلوي والتمايز، وأن عملية تكون البراعم الجانبية مرتبط بصورة رئيسة بوجود السيتوكينينات [16].

وتبرز أهمية إضافة السيتوكينينات للبيئة الغذائية عند زراعة الأنسجة لدورها في تشجيع انقسام الخلايا وتكون البراعم العرضية وتطور النموات الجانبية والتي تم الإشارة إليها [17].

وحسب الدراسات هناك أنواع عديدة من السيتوكينينات مثل BAP, Zeatin, Kinetin, TDZ,2-iP

وغيرها والتي تلعب دوراً جوهرياً في إكثار بزراعة الأنسجة ولكن التركيز المثالي يختلف باختلاف نوع السيتوكينين والنوع النباتي [18] [19]، وهناك دراسات مختلفة درست تاثير عدة أنواع من السيتوكينين لضمان أفضل تطور للعينات في زراعة الأنسجة [20]. وفي هذا الخصوص تشير الدراسات الى أهمية إضافة اكثر من نوع من أنواع السيتوكينينات لتحسين تطور العينات [23] [22]، ويجد [21] أن أفضل معدلات تطور للعينات كان في بيئة تحتوي على نوعين من السيتوكينات .

من ناحية أخرى تؤكد الأبحاث أهمية السيتوكينين في تطور العينة ولكن التركيز المثالي لتكون وتطور النموات يختلف باختلاف النوع النباتي [24] [25].

أشير إلى أهمية إضافة الاوكسينات (مثل IBA, NAA , IAA, 2,4-D وغيرها) إلى جانب السيتوكينينات لتحسين تطور العينات بمرحلة الإكثار لأنواع مختلفة من الأشجار والشجيرات [23]. يؤكد كلا من [26] و[14] أهمية إضافة الأوكسين الى جانب السيتوكينين لتحسين تكون وتطور نموات الكرز و التاكسوس.

تبرز أهمية حمض الجبرلين كأحد منظمات النمو الرئيسية المسؤولة عن تنظيم خطوات بيولوجية عديدة والتي تنعكس إيجاباً على نمو النبات [27]. وحمض الجبرلين أحد الهرمونات النشطة والذي يلعب دوراً مهماً في كثير من العمليات الخلوية والفسيولوجية مثل السيادة القمية وكسر سكون البذور والبراعم وحث تكون الراعم الزهرية وغيرها [28]. ان إضافة حمض الجبرلين إلى جانب السيتوكينين إلى بيئة الإكثار يؤثر ايجابيا في نمو وتطور النموات الجانبية [29] .

هدف البحث:

نظراً لأهمية الحور الفراتي في المجال البيئي والاقتصادي ومع التدهور الشديد في مناطق انتشاره لابد من تطوير زراعة الحور في سوريا من خلال ادخال وسائل حديثة في إكثار الغراس وتربيتها في المشاتل حتى يمكن تامين الكميات التي يحتاجها القطر وبالسرعة الممكنة.

لذلك هدف هذا البحث لدراسة تأثير إضافة بعض منظمات النمو للحصول على أعلى معدل للإكثاروأفضل نوعية من النموات الجانبية في مرحلة إكثار الحور الفراتي مخبرياً.

مواد البحث وطرائقه:

مكان إجراء البحث وتاريخه تم تنفيذ البحث في مخبر زراعة الأنسجة بكلية الزراعة بدير الزور جامعة الفرات وذلك خلال الأعوام (2020-2023).

المادة النباتية: تم تأمين المادة النباتية من أشجار الحور الفراتي الموجودة على ضفاف نهر الفرات بعمر(5سنوات) بموقع (الحويقة)، وأخذت الأجزاء النباتية من الأفرع أو السرطانات وبمواعيد مختلفة خلال السنة (حسب الاختبارات).

طريقة العمل: تم أخذ طرود من النبات الأم بطول(10 – 30 سم) من نموات العام الحالي وفي المخبر تم إزالة الأوراق وقص الطرود إلى أجزاء بطول (5سم) وغسلت تحت

الماء الجاري لمدة / 15/ دقيقة للتخلص من الملوثات الخارجية، ومن ثم تركت الأجزاء النباتية في ماء مقطر مع مبيد فطري(سولفين تركيز 2.0غ/ل) لمدة نصف ساعة.

ضمن المخبر (في غرفة العزل الجرثومي) تم الغسيل بالماء المقطر ثم جزءت الطرود الى عقل صغيرة (0.5 سم مع برعم) او تفصل البراعم الكبيرة، وبعدها غمست الأجزاء في كحول إيثيلي(70%) لمدة(30ثانية) ، ثم عقمت بكلوريد الزئبق (0.1%) لمدة (2 دقيقة)ثم غسلت ثلاث مرات بالماء المقطر والمعقم. وتركت الأجزاء على أوراق ترشيح للتخلص من قطرات مواد التعقيم، ومن ثم زرعت الأجزاء الجاهزة على البيئة الغذائية في أنابيب اختبار (15*150مم) والذي تحتوي(10مل من البيئة الغذائية) ثم غلفت الأنابيب بورق القصدير (طبقة واحدة) وتركت تحت ظروف الحضن في غرفة النمو (حاضنات الاستنبات) على درجة حرارة(25 ± 2 مْ) وإضاءة بشدة(3000 لوكس) لمدة(16) ساعة والظلام لمدة(8)ساعة ورطوبة نسبية(50–70%)، ويتم إعادة الزراعة على بيئة جديدة بفواصل زمنية كل (28) يوم.

ب- البيئة الغذائية:

تم استخدام بيئة غذائية أساسية في جميع اختبارات المرحلة التأسيسية والإكثار وهي البيئة التي تتكون من العناصر المعدنية لبيئة Murashige and Skoog (MS) لعام (1962) [1] ويضاف إليها :

ميوانيوزيتول(100 مغ/ل)

ثيامين هيدروكلوريد(0.5 مغ/ل)

جلوتامين(2 مغ/ل)

بيرودوكسين هيدروكلوريد(0.5 مغ/ل).

بيوتين (0.2 مغ/ل).

بانثونات الكالسيوم(0.4 مغ/ل)

مع إضافة(30 غ/ل) سكروز و(7غ/ل) أجار.

ثم إضافة منظمات النمو (حسب الاختبارات) و ضبط الحموضة(pH) على درجة(5.6) قبل التعقيم بالأوتوغلاف على درجة حرارة(121 مْ) وضغط (4.1كغ/سم2) ولمدة (15) دقيقة.

اختبارات البحث : تضمن البحث دراسة تاثير العوامل التالية :

1- تأثير أنواع السيتو كينينات :

تم اختبار أربعة أنواع من السيتوكينينات بتركيز (ppm) بشكل مفرد أو مشترك و هي :

6-benzylaminopurine (BAP), zeatin (Zt),kinetin (Kin),(2 - isopentenyl) (2-iP).

2- **تركيز السيتوكينين:** بعد تحديد النوع الأفضل تم إختبار التراكيز التالية : (1000-2000-4000- 8000 ppm)

3-الأوكسينات : تم اختبار أنواع وتراكيز مختلفة من الأوكسينات بوجود (ppm) من السيتوكينين الأفضل والأوكسينات(IAA-IPA-NAA)بتركيز بين(100-1000 ppm).

4- حمض الجبرلين : تم إختبار تأثير إضافة حمض الجبرلين(GA3) السيتوكينين والتركيز الأفضل مع(100 ppm) من الأوكسين الأفضل. وتراكيز حمض الجبرلين هي(0 -500 – 1000 ppm) ..

القراءات والملاحظات: تم بعد زراعة الجزء النباتي لمدة / 28-30/يوماً إعادة الزراعة وتدوين الملاحظات والقياسات التالية:

- عدد النموات الجانبية الجديدة في العينة الواحدة
- طول النموات (مم)
- معدل الإكثار (مؤشر التضاعف) = عدد العينات في الزراعة الجديدة في نهاية الزراعة/عدد العينات الأصلية في بداية الزراعة
- نسبة تطور العينات : حسبت على أساس عدد العينات التي نمت وشكلت نموات جديدة بالنسبة لمجموع العينات الكلية

تصميم التجارب والتحليل الإحصائي:

تم إستخدام (30) جزءاً نباتياً لكل معاملة من المعاملات (بواقع 10 أجزاء لكل مكرر) وذلك وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة، وتخضع جميع المعطيات في كل التجارب لتحليل التباين ، وتحدد الفروق عند مستوى المعنوية(5%).

النتائج والمناقشة:

أولاً: تأثير أنواع مختلفة من البيئات الغذائية:

أولا- أنواع السيتوكينينات :

جدول (1) تاثير أنواع السيتوكينينات في تضاعف نموات عينات الحور الفراتي

أنواع السيتوكينينات *	نسبة تطور العينات %	عدد النموات الجانبية /عينة	متوسط طول النموات الجانبية (سم)	مؤشر التضاعف (معدل)
الشاهد	28	0.31	0.79	0.29
2IP	62	3.04	0.68	3.14
BAP	80	2.51	1.15	3.56
Zeatin	84.4	1.54	1.05	1.64
Kinitin	80	1.82	1.11	2.52
BAP+2IP	33.3	4.81	0.38	2.28
2IP+ Zeatin	41.1	4.71	0.48	2.75
2IP+ Kinitin	33.3	4.42	0.41	2.26
BAP+Kinitin	46.6	4.20	0.51	2.68
BAP+Zeatin	44.4	3.90	0.62	3.02
Kinitin+Zeatin	51.1	3.72	0.64	2.97
$LSD_{0.05}$		**1.1416**	**0.0267**	**1.0211**

من خلال قراءات الجدول (1) تبين أن إضافة السيتوكينينات كانت ضرورية لنمو وتطور العينات النباتية، ولكن تأثير السيتوكينينات في مؤشرات التطور اختلفت باختلاف نوع السيتوكينين. ويلاحظ من الجدول ان اضافة الستوكينيات بشكل مفرد أو مشترك زدات من نسبة تطور العينات مقارنة بالشاهد (28%). وفي هذا الخصوص يتبين ان إضافة السيتوكينينات بشكل مفرد أعطى أفضل نسب التطور مقارنة بنتائج إضافة السيتوكينينات

بشكل مشترك، وأن أعلى النسب كانت بوجود BAP والزياتين والكينتين في البيئة، وأقل النسب كانت مع وجود 2-ip (62%).

كما يشير الجدول (1) إلى إن وجود السيتوكينينات أثر إيجابياً في عدد النموات في العينة الواحدة ، وأن أعلى قيمة لعدد النموات كانت في بيئة تحتوي نوعين من السيتوكينينات مقارنة بنوع واحد وبدون أي فرق معنوي بين متوسطاتها، أما نتائج إضافة نوع واحد من السيتوكينينات تبين أن أعلى قيمة لعدد النموات كانت مع إضافة 2-ip و BAP حيث بلغت على الترتيب (2.51 – 3.04) .

من ناحية أخرى تباين تأثير الإضافات السيتوكينينة بالنمو الطولي للنموات، حيث يلاحظ ان إضافة السيتوكينين بشكل مفرد زاد من النمو الطولي، وأن أعلى قيمة بلغت (1,15سم) في بيئة تحوي BAP، ومن ثم في بيئة تحوي الزياتين أو الكينتين حيث بلغت على الترتيب (1,05-1,11سم) أما إضافة نوعين من السيتوكينيات فقد أدت بشكل عام إلى تناقص في النمو الطولي مقارنة بالنوع الواحد أو الشاهد، وأن أقل القيم حددت في بيئة تحتوي 2-ip مفرداً أو مع أحد السيتوكينيات الأخرى.

أما بخصوص معدل التضاعف (مؤشر التضاعف) يلاحظ من نتائج الجدول أن أفضل المعدلات كان مع إضافة 2-ip (3,14) أو BAP (3,56) بشكل مفرد ومن دون وجود فروق معنوية فيما بينها، ويليها معاملة BAP والزياتين (3,04) وزياتين وكينتين (2,97) بشكل مشترك.

كذلك تبين من الجدول (1) أن جميع الإضافات المشتركة من السيتوكينينات أدت إلى تشكل كميات كبيرة من أنسجة الكالوس في قاعدة ومحيط العينة النباتية، بينما إضافة السيتوكينين بشكل مفرد خاصة (BAP ، وزياتين، كينتين) لم تشجع تكون الكالوس في العينية النباتية ، وفي هذا الخصوص كان يلاحظ أن أغلب العينات التي شكلت كالوس

بكميات كبيرة تزامنت مع اصفرار الأوراق وتشوهات بالنموات (المؤشر غير موجود بالجدول).

ثانيا- تركيز السيتوكينين

جدول (2) تاثير تركيز السيتوكينين في تضاعف نموات عينات الحور الفراتي

تركيز BAP (مغ/ل)	عدد النموات الجانبية /عينة	متوسط طول النموات الجانبية (سم)	مؤشر التضاعف
الشاهد	0.11	0.34	0.04
1	1.62	0.88	1.78
2	3.31	0.72	2.97
4	4.41	0.51	2.81
8	3.11	0.33	1.27
$LSD_{0.05}$	**1.4089**	**0.2113**	**1.1504**

تشير معطيات الجدول (2) إلى أن إضافة السيتوكينين كانت جوهرية لتحسين نمو وتطور العينات، وأن تأثير السيتوكينين في عدد النموات الجانبية ونموها الطولي توقف على التركيز المستخدم. حيث يلاحظ أنه مع زيادة تركيز السيتوكينين حتى (4 مغ/ل) ازداد عدد النموات الجانبية وبشكل معنوي مقارنة بالشاهد (0.11)، ومع زيادة التركيز لم تكن هناك أي زيادة معنوية في عدد النموات الجانبية، وتبين نتائج الجدول أن أعلى قيمة لعدد النموات الجانبية كان مع إضافة (4 أو 2 مغ /ل) من BAP والتي بلغت على الترتيب(4.41- 3.31) وبدون فروق معنوية بينهما.

أما بالنسبة لطول النموات فقد ازداد مع إضافة (1مغ/ل) من BAP وبلغ أعلى طول (0.88 سم) ومن ثم تناقص معدل النمو الطولي مع زيادة تركيز السيتوكينين إلى (4 و 8 مغ /ل)، وحدد أقل طول للنموات (0.31 سم) مع إضافة (8 مغ/ل) من BAP.

كذلك تبين النتائج أن مؤشر التضاعف زاد مع إضافة السيتوكينين وبلغ أعلى قيمة(2.97، 2.81) على الترتيب مع وجود (2 أو 4 مغ /ل) سيتوكينين في البيئة، ثم تناقص إلى (1.27) مع زيادة التركيز إلى (8 مغ/ل).

من النتائج السابقة يمكن التأكد بأن إضافة السيتوكينين كانت مهمة لتحسين تطور العينات النباتية في زراعة الحور، وأهمية السيتوكينين لنمو وتطور العينات تنسجم مع ما أشار إليه [26] في الكرز و [27] في الحور الأبيض.

ويرجع [30] أهمية السيتوكينينات إلى دورها في تثبيط السيادة القمية وتنظيم خطوات انقسام وتمايز الخلايا وتشجيع البراعم العرضية مما ينعكس على زيادة النموات الجانبية.

كما بينت النتائج اختلاف تأثير أنواع السيتوكينينات في نمو و تطور العينات وأن أفضل مؤشرات التطور كانت مع إضافةBAP مقارنة ببقية الأنواع، وهذا ينسجم مع ما أشار إليه [23] [31]. ويمكن أن يرجع اختلاف تأثير أنواع السيتوكينينات في تطور العينات إلى اختلاف الأنواع في درجة امتصاصها وتجمعها في الخلايا وآلية عملها حسب فعالية مشتقاتها [32] كذلك يعتقد [18] أن اختلاف تأثير أنواع السيتوكينينات يرتبط بمعدل الانتقال إلى المناطق المستقبلة والاختلاف بدرجة الامتصاص والاختلاف في آلية التأثير على العمليات الاستقلابية وإمكانية التغير في المحتوى الداخلي من السيتوكينينات. ويؤكد [33] أن BAP كان أكثر فعالية من بقية الأنواع ويرجع السبب إلى أن مشتقات فينيل اليوريا (في كينتين وزياتين وTDZ) أقل فعالية في تكوين النموات، بينما مشتقات الأدينين (BAP) كانت أكثر أهمية لنمو وتطور وتمايز الخلايا في زراعة الأنسجة.

والتأثير القوي لإضافة 2ip في تطور العينات وزيادة كمية الكالوس وتكوين نموات مشوهة تنسجم مع ما أشار إليه [34].

كذلك بينت النتائج أن تكون وتطورالنموات تأثر بتراكيز السيتوكينين ، وأن افضل تركيز من BAP كان (2 مغ/ل)، وقد أشير إلى اختلاف تأثير التراكيز المختلفة من السيتوكينين في نمو وتطور العينات [35] [24].

إن زيادة تركيز السيتوكينين عن الحد المناسب يؤدي إلى تناقص النمو الطولي في العينة النباتية وهذا يتفق مع ما توصل إليه [24] [36].

لتوضيح العلاقة بين تركيز السيتوكينين ومعدل النموات الجانبية وطولها يبين [37] أن السيتوكينين يشجع نمو وتطور البراعم الجانبية لحين وصول التوازن مابين هرمونات النمو الداخلية، ومن ثم يلاحظ أن زيادة تركيز السيتوكينين يؤدي إلى تخفيض معدل النموات وطولها حيث يصبح تأثير السيتوكينين عكسي. ويضيف [25] أن التراكيز المرتفعة من السيتوكينين يمكن أن تسبب إجهادات للعينة النباتية في زراعة الأنسجة لأن هذه التراكيز يمكن أن تنشط الجينات المسؤولة عن التوازن الهرموني وبشكل خاص المرتبطة بتركيب السيتوكينينات وأنزيمات الأكسدة والتحلل المائي.

ثالثا – تاثير أنواع الاوكسينات

جدول (3) تاثير أنواع الاوكسينات في تضاعف نموات عينات الحور الفراتي

المعاملة	التركيز (مغ/ل)	عدد النموات الجانبية /عينة	طول النموات الجانبية (سم)	مؤشر التضاعف
الشاهد	0	3.18	0.68	2.7
IBA	0.1	4.09	0.94	4.81
IBA	1	3.10	1.02	3.95
IAA	0.1	3.52	0.71	3.12
IAA	1	3.61	1.14	5.14
NAA	0.1	3.76	1.01	4.68
NAA	1	3.41	1.11	4.70

$LSD_{0.05}$	**0.9361**	**0.0927**	**1.3271**

من خلال الجدول (3) تبين أن إضافة الأوكسين إلى جانب السيتوكين أثرت في تطور العينات ، وهذا التأثير اختلف باختلاف نوع الأوكسين وتركيزه. حيث يلاحظ أن جميع الأوكسينات أثرت بشكل إيجابي وزادت من طول النموات مقارنة بالشاهد، وأن أعلى قيمة كان في بيئة تحتوي (1مغ) من IAA، NAA أو IBAحيث كانت القيم على الترتيب (1.14، 1.11، 1.02 سم)، والتي تفوقت على جميع المعاملات الأخرى بما فيها الشاهد. كذلك يلاحظ أن الأوكسينات حسنت متوسط عدد النموات الجانبية، ولكن لم يكن هناك أي اختلاف معنوي بين معاملات إضافة الأكسين والشاهد.

يشير الجدول (3) إلى أن مؤشر التضاعف تأثر بنوع وتركيز الأوكسين، وتبين مقارنة النتائج أن أعلى قيمة لمؤشر التضاعف كانت مع إضافة (1مغ/ل) من IAA و بلغت (5.14) ويليها إضافة (0.1، 1 مغ/ل) من NAA وقد بلغت القيم على الترتيب (4.68، 4.7) ومن ثم إضافة (0.1مغ/ل) من IBA بقيمة بلغت(4.81) وبدون أي اختلاف معنوي بين المعاملات الأربعة والتي تفوقت معنوياً على الشاهد(2.7).

يتأكد من النتائج أهمية إضافة الأوكسين في البيئة إلى جانب السيتوكينين لتحسين نمو وتطور النموات، وهذا ينسجم مع ما توصل إليه [38] وتفوق نتيجة البحث IAA على بقية الأنواع وهذا يتتفق مع ماتوصل إليه [39] و [40] و [21] وإن تأثير IAA في تطور العينات تفوق على تأثير بقية أنواع الأوكسينات.واختلاف تأثير أنواع الأوكسينات في نمو وتطور الأجزاء النباتية يمكن إرجاعه إلى اختلاف أنواع الأوكسينات في طريقة ودرجة الامتصاص وبالتالي تحدد تراكيز هذه الأنواع داخل الخلايا بالرغم من إضافة نفس التراكيز من هذه الأنواع في البيئة، وهذا ما ينعكس على استجابات متباينة للعينة النباتية [41]. كما يبين [42] أن تباين تأثير أنواع الأوكسينات يتعلق بآلية تأمين التوازن مابين

الأوكسين والسيتوكينين والتي تكون مسؤولة عن حث تكون البراعم العرضية الجديدة، ومن ثم تكون وتطور النموات الجانبية.

رابعا- تاثير حمض الجبرلين (GA3)

جدول (4) تاثير حمض الجبرلين والاوكسين في تضاعف نموات عينات الحور الفراتي

تركيز حمض الجبرلين (مغ/ل)	IAA(1مغ/ل)	عدد النموات الجانبية /عينة	طول النموات الجانبية (سم)	مؤشر التضاعف
0	+	3.43	1.08	4.61
0.5	-	3.58	0.94	4.21
0.5	+	3.74	1.17	5.47
1	-	3.51	1.01	4.30
1	+	3.87	0.95	4.51
LSD $_{0.05}$		**1.4114**	**0.0968**	**1.4137**

تبين معطيات الجدول (4) تأثير إضافة حمض الجبرلين في نمو وتطور العينات، حيث يلاحظ أن إضافة حمض الجبرلين بوجود أو عدم وجود الأوكسين لم يكن لها تأثير معنوي في عدد النموات الجانبية، كما توضح نتائج المقارنة أن حمض الجبرلين لم يؤثر معنوياً في زيادة النمو الطولي للنموات، ولوحظ انخفاض معنوي في طول النموات عند التركيز 0.5 مغ/ل من حمض الجبرلين من دون استخدام أوكسين، وعند التركيز 1 مغ/ل من حمض الجبرلين مع استخدام الأوكسين (1مغ/ل IAA) مما يدل على ضرورة استخدام الأوكسين والجبرلين في الوسط لكن ضمن تراكيز محددة لأن التراكيز الأعلى من 0.5 مغ/ل من حمض الجبرلين تصبح مثبطة للنمو في حال أضيف الأوكسين للوسط مع

ملاحظة أن إضافة حمض الجبرلين بالتراكيز الأعلى قد عوض عن غياب الأوكسين في الوسط.

أما بخصوص مؤشر التضاعف تبين عدم وجود اختلافات معنوية بين المعاملات والشاهد. تتفق هذه النتائج مع ما أشار إليه [21] من أن حمض الجبرلين لم يكن له أي تأثير معنوي في تحسين تطور النموات الجانبية. أما [43] فقد أشار إلى أن تأثير إضافة حمض الجبرلين إلى البيئة اقتصر فقط على زيادة طول النموات الجانبية.

الاستنتاجات و التوصيات:

من أهم الأستناجات التي توصلت إليها نتائج هذا العمل مايلي:

1- إضافة السيتوكينين كانت ضرورية لتحسين جميع مؤشرات تضاعف النموات، وأفضل المؤشرات كانت مع إضافة BAP مع Kinetin أو Zeatin أو ip-2.
2- أفضل تركيز من BAP كان (2 أو 4 مغ / ل) وزيادة التركيز أدت إلى تناقص النمو الطولي ومؤشر التضاعف.
3- إضافة أنواع وتراكيز من الأوكسينات حسنت معنوياً من النمو الطولي للنموات وبالتالي مؤشر التضاعف، وأفضل المتوسطات كانت في بيئة تحتوي (1مغ) IAA.
4- إستخدام حمض الجبرلين مع أو بدون الأوكسين لم يسبب تأثيراً معنوياً في مؤشرات التضاعف مقارنة بالشاهد.

المراجع :

1. **Murashige T, and Skoog F. (1962).** Arevised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Culture. Physiol. Plant. 15: 473-479.
2. **Karrenberg S, Edwards PJ, Kollmann J (2002)** The life history of Salicaceae living in the active zone of floodplains. Freshwater Biol 47:733– 748
3. **Luo, J.; Zhou, J.-J. (2002)** :Growth performance, photosynthesis, and root characteristics are associated with nitrogen use efficiency in six poplar species. Environ. Exp. Bot. 2002, 164, 40–51.
4. **Amer Majeed Agha Amer (2002)** – Euphrates Poplar Forests in the Lower Euphrates Basin Region – An Integrated Ecosystem in Need of Protection, 1-6 September, **Al-Furat University**, Aleppo – Arab Conference of Biologists. (In Arabic)
5. **Fatemeh Ahmadloo ., Mohsen Caligari, Azadeh Salehi, Gholam Reza Goodarzi (2018)** : Investigation of rooting and growth characteristics of poplar clones in hydroponic and soil cultures . **JOURNAL OF FOREST SCIENCE**, 64, 2018 (5): 207–215.
6. Eduardo Gonza ´lez • Francisco Antonio Comı ´n • Etienne Muller (2010) : Seed dispersal, germination and early seedling establishment of Populus alba L. under simulated

water table declines in different substrates . Trees (2010) 24:151- 163 .

7. **Rasha Al-Ahmad Bak,Dr. Ziad Al-Hussein ,Dr. Asaad Al-Essa ,Dr. Alaa Al-Din Jarad (2024).**Effect of Season, Explant Source, Sterilization Method and Antioxidants on In Vitro Culture of Olive (Olea europeae L.) c.v Sorani, **Al-Baath University Journal**, Agricultural Engineering and Biotechnology Series, Volume 46, Issue 35, 2024. (In Arabic).
8. **AL-Hamood M (1) Prof. Dr. AL-Ouda A(2) Dr. AL-Beesky F (3) (2022):** Initiation of Callus and Plant Regeneration from Mature Embryos of Eight Durum Wheat Genotypes **Al-Baath University Journal** Volume 44 Issue 19 2022. (In Arabic).
9. **Buah John Nelson, Paul Agu Asare and Ransford Arthur Junior, (2015).**In vitro Growth and Multiplication of Pineapple under Different Duration of Sterilization and Different Concentrations of Benzylaminopurine and Sucrose. **Biotechnology**, 14: 35-.04
10. **Shahrzad , S. and Eman,M. (2012).** Micropropagation of Populus euphratica and P. alba hybrids by tissue culture .**Iran.J.Rang.Fores.pl.Breed.Gen.Res.** 19(2):327-.633
11. **Whitehead HMC & Giles KL (1977) :** Rapid propagation of poplars by tissue culture methods. N.Z. J. For. Sci.7:40-43 .

12. **Barkla, B.J.; Vera-Estrella, R.; Pantoja, O. Growing Arabidopsis in vitro(2014)**: Cell suspensions, in vitro culture, and regeneration. In Arabidopsis Protocols; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2014; pp. 53–62.

13. **Huang, Z.; Xu, C.; Li, Y.; Wang, P.; Li, Y.; Kang, X. (2015)**: Induction of somatic embryogenesis by anther-derived callus culture and plantlet ploidy determination in poplar (Populus × beijingensis). Plant Cell Tissue Organ Cult. 2015, 120, 949–959.

14. **Moghaddam ,A., , . Kaviani, A. d Torkashvand , V. Abdossi , A. Eslami (2024)** : In vitro PROPAGATION, COLD PRESERVATION AND CRYOPRESERVATION OF Taxus baccata L., AN ENDANGERED MEDICINAL AND ORNAMENTAL SHRUB. Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus 23(1), 13–28.

15. **Khan M.R., Rashid,H., and Quraihi,A.(2002)** : Development of Asepte protocols in field grown Olive (Olive europaea L .)cv.Pendollina . J.Pl. Sci. 3: 220-221

16. **Ziad Al-Hussein, Alaa Al-Din Al-Jarad and Rasha Al-Baik (2009)**: The effect of some treatments on the success of the initial cultivation stage for the propagation of olives (Olea europaea L). Aleppo University Research Journal. Agricultural Sciences Series. Issue (72): 155-175.. (in Arabic).

17. **Abdul Karim Juma Al-Taib, Naima Muhammad bin Khalifa, Zuhair Mustafa bin Saad (2022):** The effect of the type of nutritional medium and growth regulators on the micropropagation of the camel's hoof plant Bauhinia purpurea L, Libyan Journal of Agricultural Sciences, Volume (27): Issue (2) 2022: 12-20 (in Arabic)

18. **Rathore MS, Mastan SG, Yadav P, Bhatt VD, Shekhawat NS, Chikara J. (2016):.** Shoot regeneration from leaf explants of Withania coagulans Stocks Dunal and genetic stability evaluation of regenerates with RAPD and ISSR markers. South Afr J Bot 102: 12 - 17.

19. **Sonali Jana, Iyyakkannu Sivanesan, and Byoung Ryong Jeong (2013):** Effect of cytokinins on in vitro multiplication of Sophora tonkinensis . Asian Pac J Trop Biomed. 2013 Jul; 3(7): 549-553 .

20. **Mohammad Faisal,. Naseem Ahmad,. Mohammad Anis,. Abdulrahman A. Alatar,. and Ahmad A. Qahtan (2018):** - Auxin-cytokinin synergism in vitro for producing genetically stable plants of Ruta graveolens using shoot tip meristems . Saudi J Biol Sci. 2018 Feb; 25(2): 273-277.

21. **Rout, G.R.,S. K. Senapati, S. Aparajeta(2008) :** Micropropagation of Acacia chundra (Roxb.) DC. Hort. Sci. (Prague), 35, 2008 (1): 22-26.

22. **Abo El-Fadl,R.(2022) :** Factors affecting micropropagation of white poplar (Populus alpa L.). Journal

of Agriculture and Veterinary Science. Volume 15, Issue 6 Ser. I (June 2022), PP 24-36.

23. **Li , H. , H. Wang , L. Guan, Z. Li, H. Wang and J. Luo* (2023)** : Optimization of High-Efficiency Tissue Culture Regeneration Systems in Gray Poplar. Life 2023, 13, 1896: 1-12.

24. **Abdul Wahab Saleh Abdul Sattar, Mohammed Abdul Nabi Ghazal and Abbas Fadhel Alwan (2009)**: Effect of growth regulators on the vegetative multiplication of apple MM106 (Malus pumila mill) outside the living body. Al-Furat Journal of Agricultural Sciences 1(1): 1-6. (In Arabic)

25. **Kopečný D, Končitíková R, Popelka H, Briozzo P, Vigouroux A, Kopečná M, Moréra S. (2016)**: Kinetic and structural investigation of the cytokinin oxidase/dehydrogenase active site. FEBS J 283: 361 - 377.

26. **Sedlák,J. and F. Paprštein.(2008)**: In Vitro Shoot Proliferation of Sweet Cherry Cultivars Karešova and Rivan. Hort. Sci. (Prague), 35, 2008 (3): 95–98.

27. **Felek, W.; Mekibib, F.; Admassu, B. (2017)**:Micropropagation of peach, Prunus persica (L.) Batsch. cv. Garnem. Afr. J. Biotechnol. 2017, 16, 490–498.

28. **Bai, M.-Y.; Shang, J.-X.; Oh, E.; Fan, M.; Bai, Y.; Zentella, R.; Sun, T.-P.; Yong, Z.(2012)** Brassinosteroid,

gibberellin and phytochrome impinge on a common transcription module in Arabidopsis. Nat. Cell Biol. 2012, 14, 810–817.

29. **Kaviani, B., Deltalab, B., D.Kulus , , A. Khoddamzadeh and C. Roque-Borda. (2024):** In Vitro Shoot Multiplication and Rooting of 'Kashan' and 'Hervy Azerbaijan' Damask Rose (Rosa damascena Mill.) Genotypes for Cosmetic and Ornamental Applications. Plants 2024, 13, 1364:1-24.

30. **Clapa, D.; Nemes, S.-A.; Ranga, F.; Hârt,a, M.; Vodnar, D.-C.; Călinoiu, L.-F. Micropropagation of Vaccinium corymbosum L. (2022)** : An Alternative Procedure for the Production of Secondary Metabolites. Horticulturae 2022, 8, 480.

31. **Katalin M.-., Judit D.´, Jaime A. Teixeira da Silva , Sean M. Bulley , Ildiko´ Huda´k (2010)** : The role of cytokinins in shoot organogenesis in apple. Plant Cell Tiss Organ Cult (2010) 101:251–267.

32. **Ruzic,Dg,V. and T. I. Vujovic (2008)** : The effects of cytokinin types and their concentration on in vitro multiplication of sweet cherry cv. Lapins (Prunus avium L.). Hort. Sci. (Prague), 35, 2008 (1): 12–21.

33. **KADOTA M., NIIMI Y., 2003.** Effect of cytokinin types and their concentration on shoot proliferation and hyperhydricity in in vitro pear cultivar shoots. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 72: 261–265.

34. **Ermayanti, T.M. and E. Al-Hafiizh. (2013)**: Multiplication Shoots of Dahlia sp Using Different Type of Cytokinin on In Vitro Culture. Prosiding Seminar Nasional XVI Kimia dalam Pembangunan. Pp: 733-740.

35. Adibi Baladeh, D., Kaviani, B. (2021): Micropropagation of medlar (Mespilus germanica L.), a Mediterranean fruit tree. Intl. J. Fruit Sci., 21(1), 242-254

36. **Chaturvedia ,H., A. Sharma ., B. Agha ., H. Jain and M. sharma (2004)**: Production of cloned trees of Populus deltoids in vitro regeneration of shoots , from leaf , stem , and root explantats and their field cultivation . Indian , J. Bio. (2) April : 203-208.

37. **Hartmann, H.T.; Kester, D.E.; Davies, F.T. and Geneve, R.L. (2002)**: Plant Propagation Principles and Practices. 7th. ed. Perntice Hall. Inc. New Jersey. USA.

38. **Lina Al-Sayed, Salim Zaid and Mona Al-Sabbagh (2014)**: A study of the effect of some growth regulators on the propagation and rooting stages of carob plant Ceratonia siliqua L. in glass. Damascus University Journal for Basic Sciences - Volume (38) Issue 1: 389-406 (in Arabic)

39. **Kanwar,J. K. and S. Kumar(2009)**: Influence of growth regulators and explants on shoot regeneration in carnation . Hort. Sci. (Prague), 36, 2009 (4): 140-146.

40. **Priyanka S. and Anita R.G. (2011)**: Enhanced shoot multiplication in Ficus religiosa L. in the presence of adenine

sulphate, glutamine and phloroglucinol. Physiol. Mol. Biol. Plants 17: 271–280.

41. **De Klerk GJ, Ter Brugge J, Marinova S. (1997)**: Effectiveness of indoleacetic acid, indolebutyric acid and naphthaleneacetic acid during adventitious root formation in vitro in Malus 'Jork 9'. Plant Cell Tiss Org Cult 49: 39 – 44.

42. **Zhang, A., Wang, H., Shao, Q., Xu, M., Zhang, W. and Li, M. (2015)**: Large scale in vitro propagation of Anoectochilusroxburghiifor commercial application: pharmaceutically important and ornamental plant. Ind. Crop Prod. 70: 158– 162.

43. **Scherer, R.F.; Holderbaum, D.F.; Garcia, A.C.; da Silva, D.A.; Steinmacher, D.A.; Guerra, M.P. (2015)**:Effects of immersion system and gibberellic acid on the growth and acclimatization of micropropagated pineapple. Crop Breed. Appl. Biotechnol. 2015, 15, 66–71.