تأثير توافقات من منظمات النمو(سيتوكاينين/اوكسين)على تكوين النموات الجديدة لإكثار نبات الجوز بزراعة الأنسجة

محسن السويعي
مركز البحوث العلمية الزراعية بحمص
الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية .سوريا

عبد الرحمن كلحوت
مركز البحوث العلمية الزراعية بحلب
الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية .سوريا

الخلاصة

نفذت هذه الدراسة في مخ بتو زراعة الأنسجة النباتية بمركز بحوث حلب . سوريا لدراسة إكثار ثلاث أصناف من الجوز *Juglans regia* هي(Hartley. Serr وبلحسين٢) . اخذت النباتات من المجمع الوراثي للجوز بمركز البحوث الزراعية بجوسية الخراب بحمص . وقد تم استخدام عدد من التداخلات لمنظمات النمو للحصول على أكبر عدد ممكن من النموات الخضرية الجديدة . استخدمت البراعم الخضرية كخزعات أولية في الزراعة التأسيسية ، وتم تعقيم هذه الخزعات سطحياً باستخدام عدة مواد للتعقيم . أظهرت النتائج أن أفضل معاملة للتعقيم كانت باستخدام كلوريد الزئبق بتركيز ٠.١ % لمدة ١٠ دقائق .مع ووجود تباين كبير في تأثير التوافقات المستخدمة من منظمات النمو في وسط MS المحتوي(سيتوكاينين/ أوكسين) على عدد النموات الخضرية الجديدة المتشكلة . فقد بينت نتائج التحليل الإحصائي لهذه الدراسة وجود تأثير معنوي للتفاعل بين الأصناف والمعاملات المدروسة . وبشكل عام تفوق الوسط الغذائي MS9 المضاف إليه ٢ ملغم/لتر BA و ٠.١ ملغم/لتر IBA في تكوين النموات الخضرية . حيث بلغ عدد النموات الجديدة المتشكلة ٥.٦٠ . ٤.٦ و ٥.٢ للأصناف Hartley . Serr وبلحسين٢ على التوالي . تلاه الوسط الغذائي MS3 المضاف إليه ٢ ملغم/لتر من BA لوحده فقط. حيث بلغ عدد النموات الجديدة المتشكلة ٤.٢ . ٤.٢ . ٤.٤ للأصناف المدروسة على التوالي.

المقدمة

تعد أشجار الجوز *Juglans regia* L من أشجار الفاكهة الهامة من النواحي الغذائية والاقتصادية . وتنتشر في شمال و جنوب أمريكا ومن جنوب شرق أوربا إلى شرق آسيا (Bailey و Bailey . ١٩٧٦) تطورت زراعة الجوز في سوريا خلال السنوات العشر الأخيرة من حيث الإنتاجية، أما المساحة المزروعة فلم تشهد زيادة ملحوظة . يتم إكثار الجوز عادة بالبذ ور غير أن هذه الطريقة من الإكثار لها العديد من المساوئ خاصة الإنعزالات الوراثية التي تظهر في الغراس الناتجة عن هذا النوع من الإكثار . وعالمياً يُكثر الجوز بالتطعيم على أصول بذرية حيث يتم التطعيم بالعين في الربيع و الص يف، أو بالقلم في نهاية الشتاء وتستخدم عدة أصول بذرية مثل الأصل من الجوز العجمي *Juglans regia* L. والجوز الأسود *Juglans nigra* L والجوز الانكليزي *Juglans hindiai* L (Hartmann . ١٩٨٣). لقد أكد El- Euch وآخرون (١٩٩٨) في العديد من الدراسات أن الإكثار الخضري الدقيق للجوز الهجين *Juglans nigra* x *J. regia*) صَعْب لوجود مشكلة في التجذير، وللمركبات الفينولية دور في هذه العملية الفسيولوجية . ويعتبر CHS (Chalcone Synthase) إنزيما رئيساً في مرحلة تصنيع الفلافونات مع مشاركة محددة لهذا الأنزيم في التجذير العرضي . من جهة أخرى أشار Caruso (١٩٨٣) إلى أن إضافة BA وIAA phe إلى الوسط الغذائي بتركيز ٢ ملغم/لتر لكل منهما أدى الى تحقيق نمو كبير للتفرعات الجانبية بدءً من محور الجنين. وتمكن من تجذير النموات الصغيرة الناتجة بشكل محدود على وسط 1/2MS+١ملغم/لتر IBA . كما درس الباحثان Gruselle و Boxus (١٩٩٠) الإكثار الدقيق لأنواع عديدة من الجوز مثل *Juglans.regia* و *J.nigra* و *J.cinerea* والأصل *Paradox* وتم التوصل إلى الزراعة التأسيسية باستخدام وسط MS يحوي ٠.٥ ملغم/ لتر BAP. ومن أجل الإكثار تم زيادة تركيز العناصر الكبرى الى الضعف ورفع تركيز BAP إلى ٠.٨- ١.٠ ملغم/لتر، ثم نقلت الزروعات إلى وسط الاستطالة لمدة ٣ أسابيع وبعدها تم التجذير على بيئة DKW (Driver و Kuniyuki.١٠٨٤) مضافا

تاريخ تسلم البحث ٢٠١١/١/١٧ وقبوله ٢٠١١/١٠/٣١

اليها ٢ملغم/لتر IBA مع الرايبوفلافين بمعدل ١ ملغم/لتر لمدة ١٠ايام بالظ لام. كذلك وجد Somers وآخرون (١٩٨٢) أن إضافة (٠.٢– ١) ملغم / لتر BA مع ٠.١ ملغم/ لتر IBA تحفز تكاثر النموات الجانبية في بادرات الجوز الأسود اليافعة دون النمو المفرط للكال س، ووجدوا أن البيئات MS وبيئة

(McCown and Lloyd. ١٩٨١) Woody Plant Medium (WPM) هي الأفضل مع ضرورة النقل السريع للنموات اليافعة للتغلب على المشاكل الناجمة عن إفراز المواد الفينولية وانتقالها إلى البيئة الغذائية . وبين عدد من الباحثين ومنهم Dolcet - Sanjuan واخرون (٢٠٠٣) ان توفر بعض العوامل في وسط الزراعة كزيادة غاز (CO2) وخفض كمية السكروز الى جانب نوع وتركيز الاوكسين المستخدم كان لها تأثير كبير في عدد الافرع والجذور العرضية المتكونة في عدة طرز وراثية من الجوز (*J.nigra* x hybrids *J. regia.J. regia*). أيضا درس Jay-Allemand وآخرون (١٩٩٣) الإكثار الخضري الدقيق لنموات الجوز *J.regia* ، وتم الحفاظ ع لى النموات الجانبية بإعادة الزراعة كل ٣ أسابيع على بيئة DKW تحوي ٧.٥ غم / لتر آجار و ١ ملغم / لتر BAP ضمن دوارق زجاجية سعة ٦٠٠ مل، وتم الحفاظ على الزروعات بظروف ١٦ ساعة ضوء بكثافة ضوئية (312 $mol/m^2/s$) ودرجة حرارة ٢٨/ ٢٥ مْ نهار / ليل. أما Fatima وآخرون (٢٠٠٥) فقد اختبروا بالزراعة النسيجية للجوز العجمي زراعة خزعات من الأجنة على بيئة MS المزودة بتراكيز وتوافقات مختلفة . فأظهرت نتائجهم أن استخدام التوافق من BA و IAA كان الأفضل، حيث تراوح عدد النموات المتكونة بعد ١٠ أسابيع من الزراعة على بيئة 1/2MS المزودة بـ ٢ ملغم/لتر IAA و٢ ملغم/لتر BA بين (٦-٨) نموات جديدة .

تهدف الدراسة الحالية لمعرفة أفضل التوافقات من منظمات النمو (سيتوكاينين/أكسين) المناسبة لإكثار ثلاثة أصناف من الجوز بزراعة الأنسجة النباتية. والوصول إلى طريقة مناسبة للحصول على غراس متماثلة بالتركيب الوراثي وسليمة من الأمراض.

مواد البحث وطرائقه

المادة النباتية : تمثلت المادة النباتية ب البراعم لبعض أصناف وسلالات الجوز المنتشرة في سوريا وهي(Hartley. Serr و بلحسين٢) وقد أخذت النباتات من المجمع الوراثي للجوز بمركز البحوث الزراعية بجوسية الخراب بحمص . حيث جمعت الطرود بعمر سنة وبطول ٣٠-٥٠ سم من الأصناف الثلاثة السابقة الذكر وتم تعقيم الخزع النباتية سطحياً في غرفة العزل بعدد من مواد التعقيم والتي شملت أولاً التعقيم بالكحول الإيثيلي ٧٠%لمدة١-٢دقيقة. تلا ذلك مباشرة التعقيم بالمواد الآتية:

١- هايبوكلورات الصوديوم NaOCl بتركيز 15% .

٢-هايبوكلورات الكالسيوم $Ca(ClO)_2$ بتركيز٤.٨ غم/ لتر. ٣-كلوريد الزئبق $HgCl_2$ بتركيز٠.١ %. ولمدة ١٠ دقيقة لكل منها . بعدها غسلت الخزع النباتية بالماء المقطر المعقم لمدة دقيقة ولثلاث مرات ثم نشفت على ورق نشاف معقم للتخلص من الماء الفائض عنها ثم نقلت بعد ذلك الى الأوساط الغذائية لزراعتها.

الأوساط الغذائية المستخدمة لتكاثر النموات الخضرية:

استخدمت بيئة MS (Murashige و Skoog. ١٩٦٢) كوسط أساسي في هذه الدراسة، بنصف أو كامل تركيز أملاح العناصر الكبرى لكافة مراحل الدراسة ، وأضيف الاكار (٧غم/لتر) لتصليب الوسط الغذائي. ثم أضيفت منظمات النمو للوسط الغذائي حسب التوافقات المبينة في جدول رقم (١) . وتم ضبط درجة حموضة الأوساط الغذائية (pH) بين ٥.٧- ٥.٨ بواسطة محاليل ٠.٥ عياري من HCl أو NaOH قبل التعقيم بالأوتوكليف والذي استخدم لمدة ٢٠ دقيقة عند تعقيم الاوساط الغذائية وبدرجة حرارة ١٢١ مْ وضغط ١.١ كغم / سم٢ . نقلت الخزع النباتية المزروعة في الأوساط الزراعة المختلفة للدراسة الى بيئات جديدة طازجة أسبوعياً وبعد مرور أربعة أسابيع أخذت القراءات عن عدد النموات الحديثة المتكونة.

ظروف الزراعة: حضنت الزروعات في غرفة النمو Growth Room في درجة حرارة ٢٥ ± ١ مْ تحت فترة ضوئية ١٦ساعة ضوء/٨ ساعة ظلام، تم تأمينها من خلال مصابيح فلوريسنت بيضاء توفر شدة ضوئية قدرها (PAR S^{-1} m^{-2} µ mol 90-54) أي ما يعادل ٣٠٠٠ - ٥٠٠٠ لوكس على مستوى الزروعات.

نفذت التجارب وفق التصميم العشوائي وبمعدل ٢٠ مكرراً للمعاملة الواحدة . حللت النتائج إحصائياً بالحاسوب، واستخدم البرنامج الإحصائي GENOSTAT5 وقورنت المتوسطات بحساب أقل فرق معنوي LSD عند مستوى احتمال ٠.٠٥ .

الجدول(١) توافقات منظمات النمو أوكسين/ سيتوكاينين المستخدمة في الإكثار المخبري لزراعات أصناف الجوز في بيئة MS (التركيزملغم/ لتر)

رمز	تركيز منظمات النمو(ملغم/ لتر)

الوسط الغذائي	BA	Kin	IBA	IAA
MS_0	٠.٠	٠.٠	٠.٠	٠.٠
MS1	٠.٥			
MS2	١			
MS3	٢			
MS4		٠.٥		
MS5		١		
MS6		٢		
MS7	٠.٥		٠.١	
MS8	١		٠.١	
MS9	٢		٠.١	
MS_{10}		٠.٥	٠.١	
MS_{11}		١	٠.١	
MS_{12}		٢	٠.١	
MS_{13}	٠.٥			٠.١
MS_{14}	١			٠.١
MS_{15}	٢			٠.١
MS_{16}		٠.٥		٠.١
MS_{17}		١		٠.١
MS_{18}		٢		٠.١

النتائج والمناقشة

١. تأثير استخدام BA : أظهرت نتائج الدراسة أن إضافة BA بشكل مفرد إلى الوسط الأساسي MS أدى الى زيادة عدد النموات الخضرية الجديدة بزيادة التركيز وبفروق معنوية واضحة عند مستوي ٥% . حيث بلغ عدد النموات الجديدة المتشكلة بعد ٦ أسابيع من الزراعة ٤.٢٠ ، ٤.٠٠ و ٤.٠٠ نمواً في الأصناف Hartley. Serr و بلحسين٢ على التوالي وذلك على الوسط الغذائي MS3 المحتوي ٢ ملغم/ لتر BA لوحده فقط (الجدول ٢) ، وقد لاحظ مثل هذه النتيجة الباحث .Pijut (١٩٩٧) حيث وجد أن إضافة BA بتركيز ٢ ملغم/ لتر هام جداً من أجل زيادة أعداد النموات المتشكلة . أما عند أوساط الزراعة MS1 وMS2 لم يكن هناك أية فروق معنوية عند جميع الأصناف ا لمدروسة.

٢. تأثير استخدام Kin : تبين أن إضافة Kin إلى الوسط الغذائي بشكل مفرد لم يكن فعالاً بالنسبة لزيادة عدد النموات الجديدة المتشكلة (الجدول ٢) ولم يكن هناك أية فروق معنوية عند زيادة تركيز الـ Kin في جميع أصناف الدراسة. حيث بقيت النموات الأولية مفردة مهما كان تركيز منظم النمو المستخدم. فكان عدد النموات الخضرية الجديدة في الوسط الغذائي MS4 (٠.٥ ملغم/ لتر Kin) ١.٤ عند أصناف الدراسة الثلاثة، في حين أصبح ١.٨ ، ١.٦ و ١.٢ نمواً عند الوسط الغذائي MS6 (٢ ملغم/ لتر Kin) بالأصناف Hartley. Serr وبلحسين٢ على التوالي. وهذه الفروق الظاهرية ليست ذات دلالة معنوية إحصائية . أي أن الـ Kin هو الأضعف فعالية من حيث التأثير على عدد النموات الخضرية المتشكلة خاصة عندما يضاف بشكل مفرد، غير أنه تفوق على معاملة المقارنة الخالية من منظمات النمو (MS0) والتي لم تعطي أي نموا خضريا جديدا بعد ٦ أسابيع من الزراعة . لقد استخدم Gruselle و Boxus (١٩٩٠) بيئة MS تحوي ٠.٢ ملغم/ لتر Kin و٠.٣ ملغم/ لتر BA لزراعة خزع الجوز فلاحظ تطور كالس كبير في قاعدة الخزع دون ظهور نموات خضرية ولم يشجع الـ Kin لوحده أي نموا خضريا .

الجدول (٢): تأثير التراكيز المختلفة لمنظمات النمو المضافة لوسط MS الصلب على عدد النموات الخضرية الجديدة لأصناف الجوز بعد مرور ٦ أسابيع من الزراعة.

رمز الوسط	منظمات النمو(ملغم/ لتر)				عدد النموات الخضرية		
	BA	Kin	IBA	IAA	Serr	Hartley	بلحسين ٢
MS0	٠.٠	٠.٠	٠.٠	٠.٠	٠.٠٠ g	٠.٠٠ d	٠.٠٠ e
MS1	٠.٥				٢.٢٠ def	١.٨٠ c	١.٦٠ cd
MS2	١				٢.٤٠ def	٢.٠٠ c	١.٨٠ bcd
MS3	٢				٤.٢٠ bc	٤.٠٠ ab	٤.٠٠ a
MS4		٠.٥			١.٤٠ f	١.٤٠ c	١.٤٠ d
MS5		١			١.٨٠ f	١.٦٠ c	١.٦٠ cd
MS6		٢			١.٨٠ f	١.٦٠ c	١.٢٠ d
MS7	٠.٥		٠.١		٢.٢٠ def	٢.٠٠ c	٢.٠٠ bcd
MS8	١		٠.١		٣.٢٠ cd	٣.٢٠ b	٢.٨٠ b
MS9	٢		٠.١		٥.٦٠ a	٥.٠٠ a	٤.٨٠ a
MS10		٠.٥	٠.١		١.٤٠ f	١.٦٠ c	١.٤٠ d
MS11		١	٠.١		١.٨٠ f	١.٦٠ c	١.٨٠ bcd
MS12		٢	٠.١		١.٨٠ f	١.٨٠ c	١.٨٠ bcd
MS13	٠.٥			٠.١	٢.٢٠ def	٢.٠٠ c	١.٨٠ bcd
MS14	١			٠.١	٣.٠٠ de	٣.٢٠ b	٢.٦٠ bc
MS15	٢			٠.١	٥.٢٠ ab	٤.٤٠ a	٤.٦٠ a
MS16		٠.٥		٠.١	١.٤٠ f	١.٨٠ c	١.٤٠ d
MS17		١		٠.١	١.٦٠ f	٢.٠٠ c	١.٦٠ cd
MS18		٢		٠.١	٢.٠٠ f	٢.٠٠ c	١.٦٠ cd
LSD 0.05					١.٠٢٣٨١	١.٠٤٣٣	١.١٣٦٦

المتوسطات التي تحمل نفس الحرف لكل عمود لا تختلف معنويا. البيانات تمثل متوسط لـ٢٠ مكرر بعد ٦ أسابيع من الزراعة على وسط الإكثار.

٣. تأثير استخدام التوافق المتكون من IBA + BA : أظهرت نتائج الدراسة أهمية إضافة BA متداخلاً مع IBA إلى الوسط الغذائي الأساسي للزراعة MS في تشكل النموات الجديدة (الشكل ١) مقارنة مع المعاملة التي خلت من إضافة منظمات النمو(MS0) أو المعاملات التي احتوت BA لوحده بنفس التراكيز المدروسة حيث كان تأثير التداخل معنوياً وخاصة في المعاملة MS9 (٢ ملغم/ لتر BA مع ٠.١ ملغم/ لتر IBA) ولكافة الأصناف المدروسة، إذ بلغ عدد النموات الجديدة المتشكلة ٥.٦٠، ٥.٠٠ و ٤.٨٠ نمواً في الأصناف Hartley. Serr وبلحسين٢ على التوالي، وبفروق معنوية عن المعاملات التي احتوت ٠.٥ و١ ملغم/لتر متداخلاً مع ٠.١ ملغم/لتر IBA. وبشكل عام تزايد عدد النموات الخضرية الجديدة المتشكلة بتزايد تركيز BA مع ثبات تركيز IBA، وبفروق معنوية في الصنف Hartley من ٢ نمواً في المعاملة MS7 (٠.٥ ملغم/ لتر BA مع ٠.١ ملغم/ لتر IBA) إلى ٣.٢٠ نمواً جديداً في المعاملة MS8 (١ ملغم/ لتر BA مع ٠.١ ملغم/ لتر IBA) وبفروق معنوية. أما في الصنفين Serr و بلحسين٢ فقد كانت الفروق بين المعاملتين MS7 و MS8 ظاهرية فقط ودون أية دلالة إحصائية معنوية (جدول ٢).

لقد وجد Somers وآخرون (١٩٨٢) بأن إضافة١ ملغم/ لتر BA مع ٠.١ ملغم/لتر IBA قد شجع من تكاثر النموات الجديدة لخزعات الجوز الأسود اليافعة. بينما لاحظ Scaltsoyiannes وآخرون (١٩٩٧) في دراسة أخرى تشكل النموات الجانبية الجديدة كان أفضل بلستخدام ١ ملغم/لتر BA و ٠.٠١ ملغم/لتر IBA. مما يدلل على أهمية التوافق الهرموني الداخلي في تشكل النموات الجديدة .

٤. تأثير استخدام التوافق المتكون من IBA + Kin : وجد أن إضافة Kin إلى وسط الزراعة الأساسي MS0 بوجود الأوكسين IBA، تميزت بفعالية ضعيفة من حيث ت شكل النموات الخضرية الجديدة ولجميع الأصناف المدروسة شأنه بذلك مثل استخدامه لوحده. إذ أن زيادة تركيزه عن ٠.٥ ملغم/ لتر مع ثبات تركيز IBA (٠.١ ملغم/ لتر) لم يترافق بأية فروق معنوية حيث بلغ عدد النموات الخضرية الجديدة المتشكلة في المعاملة MS10 (٠.٥ ملغم/ لتر Kin مع ٠.١ ملغم/ لتر IBA) ١.٤٠ ، ١.٦٠ و ١.٤٠ نمواً جديداً في الأصناف Hartley. Serr وبلحسين٢ على التوالي، في حين أصبح في المعاملة MS12 (٢ ملغم/ لتر Kin مع ٠.١ ملغم/ لتر IBA) ١.٨٠ نمواً للأصناف كافة، وهذه الفروق ظاهرية . وقد يكون السبب عدم كفاية تركيز Kin في وسط الزراعة او عدم توافق التركيز لتحفيز تمايز الخلايا وتكوين النموات الجديدة .

٥. تأثير استخدام التوافق المتكون من IAA + BA: أوضحت نتائج الدراسة (الجدول ٢) أن إضافة BA بالتوافق مع IAA كان لها أثراً ايجابياً في عدد النموات الخضرية الجديدة المتشكلة في جميع الأصناف. ففي المعاملة MS13 (٠.٥ ملغم/ لتر BA مع ٠.١ ملغم/ لتر IAA) كان عدد النموات المتشكلة ٢.٢٠ ، ٢.٠٠ و ١.٨٠ نمواً للأصناف Hartley. Serr وبلحسين٢ على التوالي، في حين أصبح عند زيادة تركيز السيتوكاينين في المعاملة MS14 (١ ملغم/ لتر BA مع ٠.١ ملغم/ لتر IAA) ٣.٠٠ ، ٣.٢٠ و ٢.٦٠ نمواً للأصناف السابقة على التوالي، إلا أن هذه الفروق كانت معنوية في الصنف Hartley فقط. وارتفع في المعاملة MS15 (٢ ملغم/ لتر BA مع ٠.١ ملغم/ لتر IAA) إلى ٥.٢٠ ، ٤.٤٠ و ٤.٦٠ نمواً على التوالي وبفروق معنوية واضحة. وفي دراسة مشابهة ذكرCaruso (١٩٨٣) بأن التوافق بين BA و IAA بتركيز ٢ ملغم/ لتر لكليهما زاد عدد التفرعات الجانبية المتشكلة . مما يشير الى فعالية ال BA في نشوء النموات الجديدة في الجوز .

٦. تأثير استخدام التوافق المتكون من IAA + Kin : لم يبد Kin أي فعالية ايجابية بالنسبة لزيادة عدد النموات الخضرية المتشكلة عندما أضيف بالتوافق مع IAA ولجميع أصناف الدراسة(الجدول٢). وبشكل عام بلغ متوسط عدد النموات في الأوساط التي أضيف إليها هذا التوافق ١.٦٧ ، ١.٩٣ و ١.٥٣ للأصناف Hartley،Serr وبلحسين٢، ودون فروق معنوية بينها. كذلك لم يؤد رفع تركيز السيتوكينين في المعاملة MS18 إلى ٢ ملغم/ لتر إلى أي أثر ايجابي.

ويلاحظ من هذه الدراسة أهمية إضافة BA إلى وسط الزراعة من خلال تأثيره الواضح في زيادة أعداد النموات الخضرية الجديدة بالمقارنة مع Kin الذي كان تأثيره ضعيفاً وبفروق معنوية واضحة عند جميع الأصناف المدروسة وربما تعود فعالية BA إلى احتوائه على ثلاث أواصر مزدوجة في تركيبه الكيميائي مقابل اصرتين مزدوجة للـ Kin إذ إن تأثير السيتوكاينين يزداد بزيادة الأواصر المزدوجة كما ذكر بعض الباحثين ومنهم Krishnomoorthy (١٩٨١) والتي قد تمكنه من الارتباط داخل الخلية وتش جيع انقسام الخلايا وتمايزها لتكوين النموات الجديدة بالتعاون مع الاوكسين الداخلي الملائم .

لقد أوضحت الدراسة الحالية أن لكل من نوع منظم النمو المستخدم وتركيزه في وسط الزراعة أهمية كبيرة في تحفيز تكون النموات الجديدة فقد كان تأثر إضافة BA إلى وسط الزرا عة واضحا في زيادة أعداد النموات الخضرية الجديدة بالمقارنة مع Kin الذي كان تأثيره ضعيفاً وكذلك كان لتركيز BA أهمية واضحة في زيادة أعداد النموات الخضرية وكان لتواجد الاوكسين سواء IBA او IAA دور ما في خلق توافق هرموني داخلي مناسب لتشجيع التمايز العضوي لتكوين النموات الجديدة وتظهر هذه الفروق واضحة من خلال مقارنة الأوساط الغذائية (MS9.MS8.MS7) التي احتوت على IBA+BA مع الأوساط الغذائية (MS12.MS11. MS10) التي احتوت علىIBA +Kin حيث تراوح معدل عدد الأفرع الجديدة بين ٢.٢ و٥.٦ عند إضافة BA متداخلاً مع IBA وبين ١.٤- ١.٨ عند استخدام Kin متداخلاً مع IBA (الجدول ٢) . ولوحظ من النتائج أيضا أن الخزعات المزروعة ضمن بيئة مضاف إليها Kin اتجهت نحو تشكيل الكالس بشكل كبير . كما أظهرت النتائج أيضا تأثر عدد النموات الخضرية الجديدة المتشكلة من أصناف الجوز بصنف الجوز المستخدم نوعما فقد تفوق الصنف Hartley على الأصناف الأخرى متأثرا بزيادة تركيز السيتوكاينين (BA) في وسط الزراعة (جدول ٢). وبشكل عام فان المع املات المرتفعة التراكيز نسبياً من السيتوكينين مع التراكيز المنخفضة للأوكسين تحفز تشكل النموات الخضرية في كثير من الأنواع النباتية كما اشار الى ذلك العديد من الباحثين (Pierik. ١٩٨٨).إن وجود الأوكسين ضروري لتعزيز دور السيتوك اينين فـي التشكل العضوي وتحسين نوعي ـة النموات المورق ـة، فقد أوضـح Skoog و Miller (١٩٥٧) و Christison وWarnick (١٩٨٨) بأن التشكل يتم من خلال التداخل بين الأوكسين والسيتوك اينين وهذا يختلف باختلاف الأنواع النباتية وأجزائها المزروعة .

الشكل(١): تأثير التداخل بين BA و IBA في وسط MS (٢ ملغم/ لتر BA مع ٠.١ ملغم/ لتر IBA) على عدد النموات المتشكلة في الأصناف المدروسة بعد ٤ أسابيع من الزراعة مع إضافة الفحم المنشط لبيئة الإكثار.

EFFECT OF GROWTH REGULATOR COMBINATION ON SHOOT MULTIPLICATION RATE PRODUCING FROM MICROPROPAGATION OF WALNUT

AL-Sweiay. M
Sci. Agri. Research Center of Homs
General Commission for Scientific Agricultural Research in Syria

Kalhout.A.R
Sci. Agri. Research Center of Aleppo
General Commission for Scientific Agricultural Research in Syria

ABSTRACT

This study has been conducted in plant tissue culture laboratory in Aleppo Scientific Agriculture Research Center. Syria. the purpose is to find the best combinations to produce large number of shoot multiplication and develop suitable propagation method for three walnut cultivars (Hartley. Serr. Blhsen2) cultivated in genetic centre of walnut at Gosea AL-Kharab agricultural research center in Homs to obtain the same genotype of the seedlings free from diseases. Axillary bud are used as initial explants in establishment culture. this explants were sterilized in weaponless chamber by several disinfection substances The results show that the best sterilization treatment with $Hgcl_2$ 0.1% at for 10 minutes. there was much variations in the influence of used growth regulators on number new formed axillary microshoots. Statistical analysis shows a great influence in interactions between cultivars and treatments. generally medium MS7 which was supplemented with 2 mg / l and 0.1 IBA .promoted the number of new formation microshoots and increased to report 5.6. 4.6. 5.2 with cultivars Serr. Hartley and Blhsen2 respectively. The medium MS3 supplemented only with 2 mg / l . as number of new formation microshoots was 4.2. 4.2. 4.4 to study cultivars respectively.

REFERENCES

Bailey. L.H and Bailey. E.Z.(1976). Hortus third. Macmillan. New York. 1290 pp.

Caruso. J.L.(1983). *In vitro* auxiliary shoot formation and rooting in black walnut mature embryos. In: Guries RP (ed). Proc 3rd North Central Tree Improvement Association. 144- 149.

Christison. M.L; and Warnick. D.A.(1988). Organogenesis *in vitro* as a developmental process. Hort. Science vol. 23(3):115-119.

Dolcet-Sanjuan. R.. Claveria. E.. Gruselle. R.. Meier-Dinkel. A. and Gaspar. T.(2003). Practical Factors Controlling in vitro Adventitious Root Formation from Walnut Shoot Microcuttings. American Society for Horticultural Science

Driver. J.A. and Kuniyuki. A.H.(1984). *In vitro* propagation of Paradox walnut rootstock .Hortic.Sci.19:507-509.

El Euch. C.. Jay-Allemand. C.. Pastuglia. M.. Doumas. P.. Charpentier. J.P.. Capelli. P. and Jouanin. L.(1998). Expression of antisense chalcone synthase RNA in transgenic hybrid walnut microcuttings. Effect on flavonoid content and rooting ability. Plant Molecular Biology 38: 467- 479.

Fatima. A.N.; Kamili; A. and M. Shah.(2005).Plantlet regeneration from excised embryonal axes. Shoot apices and nodal segments of *juglans regia* L. Acta Horticulturae. 705. Sorrento. Italy.

Gruselle. R. and Boxus.P. (1990).Walnut Micropropagation. Acta Horticulturae 284: Budapest-Hungary.

Hartmann. H.T.(1983).Plant Propagation. Principles and Practices. England Wood Cliffs. N. J. Prentice Hall – Inc .

Jay-Allemand. C.. Peng. S.. Capelli. P. and Cornu. D.(1993). Micropropagation of hybrid walnut trees: some factors involved in rooting.-I.R.T.A.. International Walnut Meeting. Editors N. Aleta. J. Gironas and J. Tasias. Taragona (Spain) 21-25 October. 1991. Acta Horticulturae. 311:117-124.

Krishnamorthy.H.N(1981).Plant growth substance including application in agriculture. tata mc grow hill. New Delhi.p.214.

Lloyd. G and McCown. B.(1981). Commercially feasible micropropagation of mountain laurel. Kalmia Latifolia. by use of shoot-tip culture. Comb Proc Internal Prop Soc 30: 421- 427

Murashige. T and Skoog. F.(1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15: 473-497.

Pierik. R.L.M.(1988). *In vitro* culture of higher plants as a tool in the propagation of horticultural crops. Propagation of Ornamental 226:25-40.

Pijut. P.M.(1993). Somatic embryogenesis in butternut. Juglans cinerea. Can. J. or Res 23:835- 838.

Scaltsoyiannes. A.. Tsoulpha. P.. Panetsos. K. P and Moulalis. D.(1997). Effect of Genotype on Micropropagation of Walnut Trees (*Juglans regia*). Silvae Genetica.

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

Somers. P.W.. Van Sambeek. J.W.. Preece. J.E.. Gaffney. G. and Myers. O.Je.(1982). *In vitro* micropropagation of black walnut (*Juglans nigra* L.) In: Proc. 7th North American Forest Biology Workshop. pp 224- 230