Effect of Brassinolide ،Cytokinin and Auxins on *In Vitro* propagation of Citrus Rootstock (Troyer Citrang)

تأثيرالبراسينولايد والسايتوكاينين والاوكسينات في إكثار أصل الحمضيات الترويرسترانج خارج الجسم الحي

محمد شهاب حمد   ميادة طارق الجبوري
كلية الزراعة – جامعة بغداد

المستخلص

أجري البحث في مختبر الزراعة النسيجية الكائن في بناية الدراسات العليا / كلية الزراعة / جامعة بغداد للمدة من ايلول 2010 لغاية اب 2011 ، لدراسة اكثار أصل الحمضيات الترويرستراتج Troyer Citrange (*C. sinensis (L.) Osb* x *P.* *trifoliate* (L.) Raf) خارج الجسم الحي بزراعة العقد المفردة أو أطراف الأفرع في وسط MS مضافاً اليه تراكيز مختلفة من منظمات النمو بهدف زيادة عدد التفرعات وأطوالها وتجذيرها ثم افضل الظروف في أقلمة النبيتات الناتجة . بينت النتائج ان التركيز 3% من هايبوكلورات الصوديوم ولمدة 10 دقائق كان الأفضل في تعقيم الأجزاء النباتية وبقائها اذ بلغت نسبة التلوث 25 % علماً أن التركيزين 4.5 و6% أعطيا نسبة تلوث 0.0% الاانهما أديا الى تلف الأجزاء النباتية وموتها . في مرحلة نشوء الزروعات تفوقت العقد المفردة على أطراف الأفرع في النسبة المئوية للاستجابة . وفي مرحلة التضاعف وجد ان زراعة الأفرع في وسط MS المجهز بالتوليفة 1.0 ملغم / لتر BA + 0.2 ملغم / لتر IAA أعطى افضل معدل تضاعف إذ بلغ 5.30فرع / جزء نباتي.وفي مرحلة التجذير أدت زراعة الافرع في وسط MS المجهز بـ 1.0 ملغم / لتر NAA + 0.096 ملغم / لتر BL الى تحسين تجذير الأفرع ، وكان معدل عدد الجذور 4.89 جذر/ فرع . بلغت نسبة النبيتات المتأقلمة 90 % عند الزراعة في وسط زرعي مكون من مزيج وبيتموس بنسبة1:1.

ABSTRACT

A study on *in vitro* micropropagation of a citrus Rootstock Troyer Citrange Was Conducted at the tissue culture lab.located in postgraduate building /Collage of Agric./Uni.of Baghdad from September 2010 till August 2011. Single nodal segment or terminal shoots were explanted on MS medium supplemented with different concentrations of plant growth regulators(Brassinolide ،Cytokinin and Auxins). The aims of the study were increasing number and length of shoots , rooting and plantlet acclimatization .

Results showed that 3% of NaOCl was the best for explant disinfestation only 25% of explants were contaminated .Although 4.5 or 6.0 %of NaOCl gave 100% disinfestation ،the concentrations were poisonous. Single nodal segments responded better than terminal shoots. In the establishment stage. MS medium supplemented with 1.0 mg / L BA + 0.2mg / L IAA was superior on shoot multiplication (5.30 shoots / explant) . While MS medium supplemented with 1.0 mg / L NAA + 0.096 mg / L BL. was more effective on root number 4.89 roots / explant .Most plantlets 90% were acclimatized when cultured on soil consisted of 1 : 1 sand : peatmoss.

*Part of M . Sc.thesis of the second author

المقدمة

تنتمي الحمضيات الى العائلة السذبية Rutaceae وتشمل العديد من الأجناس أهمها الجنس *Citrus* وهو من أهم الأجناس من الناحية الاقتصادية ، ويضم اربع مجاميع هي مجموعة البرتقال ومجموعة اللالنكي(اليوسفي) ومجموعة الليمون الهندي والمجموعة الحامضية وتضم كل مجموعة العديد من الأنواع التي تشتمل على العديد من الأصناف والسلالات ، وكذلك الجنس *Poncirus* ومن أهم أنواعه البرتقال الثلاثي الاوراق والجنس *Fortunella* ومن اهم انواعه الكمكوات (3 و 15). أزدادت أهمية زراعة الأنسجة النباتية بوصفها احدى اهم الوسائل المستخدمة في اكثار النباتات وتحسينها كماً ونوعاً (6).ان الجهود المكثفة التي أجراها العلماء اكدت ان تقانة زراعة الانسجة النباتية التي استخدمت في البدء كأداة اصبحت علماً تطبيقياً واسع المجال ، يطبق في مجالات عديدة ، اذ استخدم للاكثار الدقيق للعديد من النباتات في مدة زمنية قصيرة وعلى مدار السنة او لأنتاج نباتات متحملة للعوامل البيئية المختلفة في مجال تربية النباتات وتحسينها او لأنتاج المركبات الثانوية المهمة في الصناعات الدوائية ، وحفظ المصادر الوراثية فضلاً عن انتاج نباتات خالية من المسببات المرضية ولاسيما الفايروسية منها ، كما تعد تقنيات زراعة الانسجة النباتية نظاماً مهماً في الدراسة الكيموحيوية والفسلجية بتوفيرها للعديد من المعلومات في العلوم الرئيسة كعلم الخلية وفسلجة النبات ، وعلم الوراثة وتربية النبات وعلم الكيمياء الحياتية وعلم امراض النبات ، وعلم تشريح النبات ، ويعد الاكثار الدقيق من اكثر التطبيقات العملية لزراعة الأنسجة النباتية في الوقت الراهن (17). الاوكسينات عبارة عن مجموعة من الاحماض العضوية ذات الأوزان الجزيئية العالية، وتستخدم بتراكيز قليلة جداً لتحدث تأثيراً كبيراً في الجزء المزروع . وهناك العديد من الاوكسينات منها 2,4-D و NAA ، والاوكسين الطبيعي IAA و IBA (11). والاوكسينات مسؤولة عن استطالة الخلايا وتطور الاعضاء او تكوينها (14) ، اما السايتوكاينينات فهي عبارة عن قواعد نتروجينية ذات أوزان جزيئية عالية تعطي بالتراكيز الواطئة تأثيرات فسيولوجية عديدة ، وتؤدي السايتوكاينينات دوراً كبيراً في زراعة الانسجة النباتية اذ انها تشجع على انقسام الخلايا النباتية وتمايزها ونمو البراعم الابطية (8). و تعد البراسينوستيرويدات (BRs) من منظمات النمو النباتية اضيفت الى المجاميع الخمس المعروفة من منظمات النمو (الاوكسينات والسايتوكاينينات والجبرلينات والاثلين وحامض الابسيسيك) . وتم استخدامها حديثاًَ في مجال زراعة الانسجة النباتية، فهي ذات تأثيرات فسلجية في استطالة وانقسام الخلايا وتمايز الاوعية الناقلة(13 و10)

قسم (10) مراحل الاكثار خارج الجسم الحي الى خمس مراحل :

1- مرحلة الصفر Zero stage او مرحلة التحضير Preparation stage
2- مرحلة نشوء الزروعات Initiation stage
3- مرحلة التضاعف multiplication stage
4- مرحلة التجذير Rooting stage
5- مرحلة الأقلمة Acclimatization stage

المواد وطرائق العمل

تحضير الاجزاء النباتية

تم اختيار أقلام ساقية غضة بطول 5 سم من شتلات الترويز سترانج البالغة من العمر 6 اشهر والمزروعة في اكياس بلاستيكية سعة 2 كغم، ومنماة في الظلة الخشبية التابعة لقسم البستنة. نقلت الاجزاء النباتية الى المختبر وتركت تحت الماء الجاري مدة نصف ساعة أعقبها الغسل بالماء والصابون السائل للتخلص من الاتربة والمواد العالقة بها، بعد ذلك ازيلت الاوراق والاشواك وقسمت الى الأجزاء الاتية التي استخدمت كعينات .

أ- اطراف الأفرع Terminal shoots و بطول 1.5 سم.

ب- أقلام ساقية ذات عقدة واحدة Single Node Cuttings بطول 1 .5 سم

تم اختيارها من المنطقة الوسطية للفرع، للحصول على براعم جيدة الحجم ثم نقلت الى كابينة انسياب الهواء الطبقي للمباشرة بعملية التعقيم السطحي.تم اختبار تأثير هايبوكلورات الصوديوم NaOCl (محلول القاصر التجاري فاس تركيز 6%) وحضرت منه التراكيز (0 – 1.5 – 3 – 4.5 او 6%) غمرت فيها الأجزاء النباتية لمدة 10 دقائق مع التحريك المستمر، بعدها غسلت العينات بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات، لازالة تأثير المعقم، بعدها نقلت الى اطباق بتري معقمة لاستئصال القمم النامية والعقد ، وتم استخدام 10 مكررات لكل معاملة وبمعدل انبوبة أختبار لكل مكرر. وسجلت النتائج عن نسبة التلوث بعد 7 أيام من الزراعة بعد اكتمال عملية التعقيم السطحي نقلت الأجزاء النباتية وبصورة منفردة الى اطباق بتري المعقمة في منضدة الزراعة . ثم قطعت نهايات العقد التي ربما قد تضررت من اثر استخدام المادة

المعقمة ، اما اطراف الأفرع فتم قطع النهاية السفلى فقط بحيث اصبح طول العينات (اطراف الأفرع والعقد) 1 سم .
استخدم الوسط الغذائي MS (16) في مراحل الاكثار كافة واضيف اليه منظمات النمو وكانت المعاملات المستخدمة كالأتي :

1- في مرحلة تنشأة الزروعات تمت دراسة تأثير 2 ملغم / لتر BA + 40 ملغم / لتر كبريتات الادينين + 0.2 ملغم / لتر GA_3 (2) على مدى استجابة الأجزاء النباتية المزروعة.
2- في مرحلة التضاعف تم دراسة تأثير التداخل بين الـ BA بالتراكيز (0 ، 1 ، 1.5 ، 2 و 2.5) ملغم / لتر و الـ IAA بالتراكيز (0 ، 0.1 ، 0.2 و 0.4) ملغم / لتر .
3- في مرحلة التجذير اضيف الـ NAA بالتراكيز (0 ، 1 و 2) ملغم / لتر بالتداخل مع BL (Brassinolide) بالتراكيز (0 ، 0.048 و 0.096) ملغم / لتر .

وزعت المعاملات في انابيب الزراعة بواقع 10 مل لكل انبوبة، وجرى تعقيمها باستخدام الموصدة على درجة حرارة 121ْم وضغط 1.04 كغم / سم^2 لمدة 15 دقيقة.
أستناداً الى النتائج المتحصل عليها من تجارب مرحلة النشوء أستخدمت الأفرع الناتجة من نمو العقد في تجارب التضاعف، اذ قطعت الافرع الخضرية بطول 2 سم وزرع فرع واحد في كل انبوب ، وبواقع عشر مكررات لكل معاملة اذ عد كل انبوب مكرراً واخذت القياسات بعد 6 اسابيع من الزراعة .
تم أخذ الأفرع الناتجة من مرحلة التضاعف وزرعت على اوساط التجذير سجلت البيانات بعد 6 اسابيع من الزراعة .وحضنت الزروعات في مراحل الأكثار كافة على درجة حرارة 25 $\pm$ 2ْم و شدة اضاءة 1000 لوكس لمدة 16 ساعة ضوء و 8 ساعات ظلام.
اختيرت النبيتات المتجانسة التي تم الحصول عليها من مرحلة التجذير ونقلت الى اوساط زرعية لغرض الاقلمة . اذ استخرجت النبيتات من اوعية الزراعة وغسلت بماء الحنفية للتخلص من بقايا الاكار الملتصق بجذورها ، بعدها غمرت النبيتات لمدة 10 ثوان بمحلول مبيد البيلتانول (مبيد فطري بكتيري) بتركيز 1 مل / لتر لوقايتها من الاصابة الفطرية.وزرعت النبيتات في أصص بلاستيكية بقطر5 سم مملوءة بوسط مكون من البيتموس والمزيج بنسبة 1: 1 والمعقم بجهاز الموصدة على درجة حرارة 121ْم وضغط 1.04 كغم / سم^2 لمدة 20 دقيقة واعادة تعقيمها في اليوم الثاني لمدة 20 دقيقة ايضاً لضمان التخلص من المسببات المرضية ، غطيت الأصص بأغطية بلاستيكية شفافة، وحضنت في غرفة النمو تحت نفس الظروف البيئية التي حضنت عليها العينات المزروعة . وبعد مرور اسبوعين من الزراعة ، تم فتح الأغطية بصورة تدريجية مع مراعاة السقي بمحلول MS بربع قوة تركيز املاحه، وبعد مرور 4 اسابيع نقلت الى البيت الزجاجي ورفعت الأغطية البلاستيكية نهائياً .
أستخدام التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design(CRD) وبتجارب عاملية ، وحللت النتائج باستخدام البرنامج الاحصائي الجاهز SAS(2004) وقورنت المتوسطات على وفق اختبار اقل فرق معنوي (LSD) وعلى مستوى احتمال 5% (1).

النتائج والمناقشة

تعقيم الأجزاء النباتية

يبين الجدول (1) كفاءة هايبوكلورات الصوديوم في تقليل نسبة تلوث الأجزاء النباتية اذ بلغت نسبة التلوث في معاملة المقارنة 100% وانخفضت هذة النسبة الى 25% عند التركيز 3% ، وبلغت نسبة تلوث العقد 30% أما اطراف الأفرع فقد بلغت نسبة التلوث فيها 20% وكما اعطى التركيز 3% أعلى نسبة لبقاء الأجزاء النباتية حية في حين ان زيادة تركيز هايبوكلورات الصوديوم الى (4.5 او 6%) اثرت سلباً في نسبة بقاء الأجزاء النباتية، وأدت الى موتها. وقد يعود سبب ذلك الى ان التراكيز العالية من هايبوكلورات الصوديوم لها تأثير سمي على الأجزاء النباتية المعقمة (18).

جدول (1). تأثير هايبوكلورات الصوديوم في النسبة المئوية لتلوث الأجزاء النباتية لأصل الحمضيات ا لترويز سترانج . (غمرت الاجزاء النباتية لمدة 10 دقائق)

الجزء النباتي	تراكيز هايبوكلورات الصوديوم (%)					المعدل
	0.0	1.5	3.0	4.5	6.0	
عقدة	100	60	30	0.0	0.0	38
طرف الفرع	100	60	20	0.0	0.0	36
المعدل	100	60	25	0.0	0.0	37
قيمةLSD 0.05	التراكيز = 12.3 ، الجزء النباتي = 7.8 التراكيز × الجزء النباتي = 17.3					

تنشئة الزروعات

اوضحت نتائج جدول (2) ان نسبة استجابة اطراف الأفرع للزراعة خارج الجسم الحي كانت منخفضة مقارنة باستجابة العقد المفردة، اذ بلغت نسبة استجابة العقد المفردة 100% في حين بلغت نسبة استجابة اطراف الأفرع 20% ، ان سبب اختلاف استجابة الاجزاء النباتية المزروعة في وسط MS المزود ب2 ملغم / لتر BA + 40 ملغم / لتر كبريتات الادينين + 0.2 ملغم / لتر GA_3 قد يرجع الى التفاوت في قابلية تلك الأجزاء النباتية على بناء هذه الهرمونات داخلياً . او ربما يعزى السبب في ذلك الى الحالة الفسيولوجية للنبات الأم، اذ تختلف استجابة البراعم لوسط الزراعة باختلاف الحالة الفسيولوجية للنبات الأم (5 و 10) . ولا تتفق هذه النتائج مع (19 و2 و 20) الذين وجدوا ان البراعم الطرفية اكثر استجابة من البراعم الجانبية.

جدول (2). استجابة العقد المفردة واطراف الأفرع المستأصلة من أصل الحمضيات الترويز سترانج المزروعة على وسط MS المجهز بـ 2 ملغم/لتر BA و 40 ملغم /لتر $AdSo_4$ 2 .0 ملغم /لتر GA3 بعد مرور ستة اسابيع من الزراعة.

الجزء النباتي المستخدم	عدد المكررات المزروعة	عدد المكررات الناجحة	نسبة الاستجابة (%)
عقدة	10	10	100
طرف الفرع	10	2	20

مرحلة تضاعف الزروعات

تشير نتائج الجدول (3) ان زراعة افرع الترويز في وسط MS المجهز بـ **1** ملغم / لتر BA اعلى معدل لعدد الأفرع بلغ **3.75** فرع / جزء نباتي الذي اختلف معنوياً عن بقية المعاملات ، وأعطت معاملة المقارنة اقل معدل لعدد الأفرع بلغ 1 فرع / جزء نباتي . اما عن تأثير تراكيز IAA فتشير نتائج الجدول نفسه الى ان الأفرع المزروعة على وسط MS المجهز بـ 0.2 ملغم / لتر IAA أعطت أعلى معدل لعدد الأفرع بلغ 3.00 فرع / جزء نباتي الذي لم يختلف معنوياً عن بقية المعاملات. وبالنسبة للتأثير المشترك بين تراكيز BA و IAA ، يلحظ من الجدول نفسه ان افرع الترويز المزروعة على وسط MS المزود بـ 1ملغم / لتر BA + 0.2ملغم / لتر IAA قد أعطت أعلى معدل لعدد الأفرع بلغ 5.30 فرع / جزء نباتي الذي اختلف

معنوياً عن المعاملات جميعها وقد يعزى ذلك الى ان فعالية السايتوكاينين في احداث التضاعف تزداد بوجود الاوكسين في الوسط الغذائي (4و 17).أماسبب تفوقBA في معدل عدد الأفرع ربما يعزى الى دور السايتوكاينينات في كسر السيادة القمية التي ينتج منها تحفيز نمو البراعم الجانبية الموجودة في أباط الأوراق (9). وأعطت المعاملات التي تحتوي على IAA فقط اقل المعدلات لعدد الأفرع ،و قد يعود سبب ذلك الى دور الاوكسين في تشجيعه السيادة القمية ومنع نمو البراعم الجانبية (4).

جدول (3). تأثيرتراكيز الـ BA والـ IAA والتداخل بينهما في معدل عدد الأفرع المتضاعفة لأصل الحمضيات الترويربعد 6 أسابيع من الزراعة على وسط MS.

تراكيز BA (ملغم / لتر)	تراكيز IAA (ملغم / لتر)				المعدل
	0.0	0.1	0.2	0.4	
0.0	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
1.0	2.70	2.80	5.30	4.20	3.75
1.5	2.60	1.70	2.80	2.00	2.27
2.0	3.00	3.30	2.80	2.40	2.87
2.5	1.60	1.90	3.10	2.80	2.35
المعدل	2.18	2.14	3.00	2.48	2.45
قيمةLSD 0.05	للـ BA = 0.85 ، للـ IAA = 0.90 للـ BA × IAA =0.67				

بينت نتائج الجدول (4) ان الأفرع المزروعة في معاملة المقارنة أعطت أعلى معدل لطول الأفرع بلغ3.48 سم والذي اختلف معنوياً عن بقية المعاملات.ويوضح الجدول نفسه انه لاتوجد أختلافات معنوية بين تراكيز IAA المضافة ومعاملة المقارنة في معدل أطوال الأفرع. اما عن تأثير التداخل بين تراكيز BA و IAA فقد اعطت الأفرع المزروعة في وسط MS الخالي منBA والمجهز بـ 0.1 ملغم / لتر IAA اعلى معدل لطول الافرع بلغ 3.95 سم الذي اختلف معنوياً عن بقية المعاملات . انخفض معدل طول الأفرع بزيادة تراكيز BA أي ان لتراكيز BA في الوسط الغذائي تأثيراً سلبياً في معدل اطوال الأفرع المتكونة على الأجزاء النباتية المزروعة وقد يعود السبب في ذلك الى زيادة معدل عددالأفرع وزيادة تنافسها على المواد الغذائية الموجودة في الوسط الغذائي مما قلل من معدل اطوالها . و يعزى سبب تفوق تراكيز IAA في معدل طول الأفرع الى قلة عدد الأفرع المتكونة وبالتالي أستفادتها من المواد الموجودة في الوسط الغذائي .

جدول (4). تأثيرتراكيز الـ BA والـ IAA والتداخل بينهما في معدل اطوال الأفرع (سم) المتضاعفة لأصل الحمضيات الترويربعد 6 أسابيع من الزراعة على وسط MS

تراكيز BA (ملغم / لتر)	تراكيز IAA (ملغم / لتر)				المعدل
	0.0	0.1	0.2	0.4	
0.0	2.95	3.95	3.50	3.51	3.48
1.0	2.81	1.72	1.32	1.32	1.79
1.5	1.63	2.50	1.41	2.08	1.91
2.0	1.75	1.40	2.38	2.20	1.93
2.5	1.92	1.97	1.46	1.55	1.73
المعدل	2.21	2.31	2.01	2.13	2.17
قيمةLSD 0.05	للـ BA = 0.28 ، للـ IAA = 0.39 للـ BA × IAA =0.42				

مرحلة التجذير

أ-تأثير NAAوالبراسينولايد BLفي معدل عدد الجذور

تبين نتائج الجدول (5) ان الأفرع المعاملة بـ 1 ملغم / لتر NAA أعطت اعلى معدل لعدد الجذور بلغ 2.52 جذر الذي لم يختلف معنوياً عن الأفرع المزروعة في وسط MS المزود بـ 2 ملغم / لتر NAA ، وكان اقل معدل لعدد الجذور للأفرع المزروعة في معاملة المقارنة الذي بلغ 0.15 جذر .اما عن تأثير تراكيز BL فيلحظ ان عدم وجود أختلافات معنوية بين تراكيزBL المضافة الى الوسط الغذائي ومعاملة المقارنة في معدل عدد الجذور . وفيما يتعلق بتأثير التداخل بين تراكيز NAA و BL فيلحظ ان الأفرع المعاملة بـ 1 ملغم / لتر NAA + 0.096 ملغم / لتر BL أعطت اعلى معدل لعدد الجذور بلغ 4.89 جذر الذي اختلف معنوياً عن المعاملات جميعها ماعدا معاملة 2 ملغم / لتر NAA والخالي من BL والتي بلغت 4.44 جذروبما ان BLبتداخلة مع NAAبالتركيزين المشار اليهما كانا التركيزان المثاليان في اعطاء اعلى معدل لعدد الجذور الذي بلغ 4.89جذر او قد يعود السبب في ذلك الى ان البراسينوستيرويدات لها تأثير اضافي مع الاوكسينات في تحفيز تكوين الجذور (7).

جدول (5). تأثير NAA والبراسينولايد BL والتداخل بينهما في معدل عدد الجذور المتكونة لأصل الحمضيات الترويز بعد مرور ستة اسابيع من الزراعة في وسط MS .

تراكيز NAA (ملغم / لتر)	تراكيز BL (ملغم / لتر)			المعدل
	0.0	**0.048**	**0.096**	
0	0.44	0.00	0.00	0.15
1	1.00	1.67	4.89	2.52
2	4.44	1.33	0.44	2.07
المعدل	1.96	1.00	1.78	1.58
قيمة LSD 0.05	للـNAA = 1.33 ، للـ BL = 1.24 للـNAA × BL = 0.65			

ب- تأثير NAAوالبراسينولايد BLفي معدل أطوال الجذور

تبين نتائج الجدول (6) الأفرع المزروعة في وسط MS المجهز بـ 1 ملغم / لتر NAA أعطت اعلى معدل لطول الجذور بلغ 7.81 سم على التوالي الذي اختلف معنوياً عن باقي المعاملات .اما عن تأثير تراكيز BL فيتبين من الجدول تفوق المعاملة 0 ملغم / لترBL عن بقية المعاملات اذ بلغ معدل طول الجذور 6.70 سم على . وبالنسبة لتأثير التداخل بين تراكيز NAA و BL أعطت الأفرع المزروعة في وسط MS المجهز بـ 1ملغم / لتر NAA + 0 ملغم / لتر BL اعلى معدل لطول الجذور بلغ 14.89 سم الذي اختلف معنوياً عن باقي التداخلات الاخرى وقد يعود السبب الى قلة عدد الجذور المتكونة وبالتالي استفادتها من المواد الغذائية الموجودة في الوسط الغذائي ومن ثم زيادة معدل أطوالها قد

يرجع السبب في ذلك وقد يرجع السبب في ذلك الى ان التركيز الواطىء من البراسينوسيترويدات يعمل على حث النباتات على تكوين الجذور في حين ان التراكيز العالية لها تؤدي الى تحفيز انتاج الاثيلين وان قسماً من التأثيرات المثبطة لنمو الجذور تعود الى انتاج الاثيلين كما ان المعاملة ب BLربما تحفز انتقال الاوكسين قطبياً والذى أدى الى نمو الجذور وتطورها (12).

جدول (6).تأثير NAA والبراسينولايد BL والتداخل بينهما في معدل اطوال الجذور (سم) المتكونة لأصل الحمضيات الترويز بعد مرور ستة اسابيع من الزراعة في وسط MS .

تراكيز NAA (ملغم / لتر)	تراكيز BL (ملغم / لتر)			المعدل
	0.0	0.048	0.096	
0	0.89	0.0	0.0	0.30
1	14.89	4.28	4.27	7.81
2	4.33	1.89	1.33	2.52
المعدل	6.70	2.06	1.87	3.54
قيمة LSD 0.05	للـNAA = 1.53، للـ BL = 1.78 للـNAA × BL = 0.96			

مرحلة الأقلمة

نستنتج من نتائج الجدول (7) ان نوع الوسط الزرعي المستخدم في نمو النبيتات له أثر كبير في النسبة المئوية لنجاح النبيتات المتأقلمة ، إذ بينت النتائج تفوق الوسط المكون من المزيج والبتموس بنسبة 1 : 1 معنوياً عن بقية المعاملات ، اذ بلغت نسبة النبيتات المتأقلمة90 % في حين بلغت 80و70% عند استخدام الوسط المكون من البتموس و المزيج على التوالي .ان سبب تفوق الوسط الزرعي المكون من المزيج والبتموس في النسبة المئوية لنجاح النبيتات المتأقلمة قد يرجع الى ان المزيج يمتلك مسامات جيدة لنمو الجذور وانتشارها ، فضلاً عن كونه وسط جيد لتصريف الماء ويمنع اختناق جذور النبيتات ، كما إن وجود البيتموس كوسط مغذي مع وسط جيد التهوية كالمزيج يعتبر جيد وملائم لنمو النبيتات. أما انخفاض النسبة في الوسط المكون من مزيج فقط فيعود الى إن المزيج ذو محتوى قليل من العناصر الغذائية فضلاً عن كونه لا يحتفظ بالرطوبة .

جدول (7). تأثير نوع الوسط الزرعي في النسبة المئوية لاقلمة النباتات الناتجة من مرحلة التجذير .

الوسط الزرعي			المعدل
مزيج	مزيج وبتموس	بتموس	
70	**90**	**80**	**80.00**
التربة =9.00 جدول (7). تأثير نوع الوسط الزرعي في النسبة المئوية لاقلمة النباتات الناتجة من مرحلة التجذير			

المصادر

1. الساهوكي ، مدحت ووهيب ، كريمة احمد. 1990. تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. العراق.
2. العبيدي ، هاشم كاظم محمد والجبوري ، عبدالجاسم محيسن جاسم وعثمان ، اسعد خالد والحسيني ، زينب عبدالجبار حسين. 2001. تأثير البنزل ادنين (BA) في تضاعف اصلي الحمضيات Troyer citrange و Carrizo citrange خارج الجسم الحي. المجلة العلمية لمنظمة الطاقة الذرية ، مجلد 3 ، العدد 1 ، ص 63-73.
3. المنيسي ، فيصل عبدالعزيز . 1975. الموالح ، الاسس العلمية لزراعتها . الطبعة الاولى – دار المطبوعات الجديدة – الاسكندرية.
4. محمد ، عبدالعظيم كاظم واليونس ، مؤيد احمد. 1991. اساسيات فسيولوجيا النبات . الجزء الثالث . كلية الزراعة . العراق. جامعة بغداد.
5. Altman , A. and R. Goren. 1974. Growth and dormancy cycles in citrus bud cultures and their hormonal control . Physiol. Plant., 30 : 240-245.
6. Aurelia , S. ; J. Lusarkiewicz ; P. Aleksandro and K. Zygmunt. 2007. Influence of cultivar , explant source on *in vitro* growth of (*Cannabis sativa* L.) . Plant Genet., 47 : 145-151.
7. Bao , F. ; J. Shen ; S.R. Brady ; G.K. Muday ; T. Asami and Z. Yang. 2004. Brassinosteriods interact with auxin to promote lateral root development in Arabidopsis. Plant Physiol. 134 : 1624-1631.
8. Delloloio , R. 2007. Cytokininus determine Arabidopsis root – meristem size by controlling cell differentiation. Curr. Biol., 17 : 678-682.
9. Devlin , R.M. and F. H. Witham. 1983. Plant physiology . (4th ed) Wadsworth Publishing Company Belmont California.
10. George , E.F. ; M.A. Hall and G.J. De Klerk. 2008. Plant Propagation by tissue culture. Vol. 1. The Background , 3rd Edition , published by Springer , Dordrecht , the Netherlands.
11. Hartmann , H.T. ; D.E. Kester ; F.T. Davies and R.L. Geneve. 2002. Plant propagation . Principles and Practices. 7th ed. New Jersey .
12. Hedden , P. and S. Thomas. 2006. Plant Hormone Signaling. Blakwell Publishing , Ltd.
13. Khripach , V. ; V. Zhabinskii and A. de Groot . 2000. Brassino-steroids : A New Class of Plant Hormones . Academic Press , London.
14. Kepinski , S. and O. Layser. 2005. Plant development : Auxin in Loops. Curr. Biol., 15 : 208-210.
15. Ladaniya , M. 2008. Citrus Fruit , Technology and Evaluation 1ed Academic Press is an imprint of Elsevier .
16. Murashige , T. and F. Skoog . 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant ., 15 : 473-497.
17. Neumann , K.H. ; A. Kumar and J. Imani . 2009. Plant cell and tissue culture _ Atool in Biotechnology , Basics and Application. Springer – Verlag Berlin Heidelberg.
18. Ramawat , K.G. 2004. Plant Biotechnology .S .Chand and Company LTD .Ram Nagar ،New Delhi ، India.

Salman , M.A. ; M.A. Hani and S.M. Bader. 1994. *In vitro* shoot multiplication of orange (*C. aurantium* L.) buds. Iraqi J. Agric. Sci. 25 (1) : 42-51.

19. Sharma , S. ; A. Prakash and A. Tele. 2009. *In vitro* propagation of *Citrus* Rootstock . Not., Bot. Hort. Agrobot. Cluj, 37 (1) : 84-88.