Agricultural and Marine Sciences, 8(1):35-40 (2003)
© 2003 Sultan Qaboos University

تأثير تركيز منظمات النمو (*BAP , IAA*) على الإكثار الخضري الدقيق للجاردينيا *Gardenia jasminoides* صنف *veitchii* باستخدام تقنيات زراعة الأنسجة

غسان رشيد عبدالله* وعبد اللطيف الخطيب ومحمود سراج علي

قسم البساتين – كلية العلوم الزراعية والأغذية – جامعة الملك فيصل

Effect of Different Concentrations of Growth Regulators on Ga*rdenia jasminoides* cv. *Veitchii* Micropropagation by Tissue Culture Technique

G. R. Abdullah, A.A. Al-Khateeb and M. Serage

ABSTRACT: Micropropagation techniques were set up for *Gardenia jasminoides c.v. veitchi*. Many plantlets were obtained by culturing shoot cuttings in MS nutrient media, 30 g/L Sucrose, 7 g/L Agar Agar, and different concentrations of BAP and IAA. The best concentration was 1mg /L BAP with 0.5 mg/L IAA. This concentration gave the best sprout growth suitable for rooting in primary and secondary culture by reculturing the stuck cutting every 6 weeks and for many times. We also obtained a high rooting percentage up to 98 % of natural rooting in rooting media different from propagation media by reducing mineral salt concentration to half, Sucrose to 20gm/L, and 2gm/L active charcoal, and 1mg/L IAA. Plantlets were transferred to greenhous and subjected for hardening. This technique gave 22 plantlets from one cutting in one year.

خلاصة: تم في هذا البحث وضع تقنية للتكاثر الخضري الدقيق للجاردينيا صنف veitchii حيث أمكن الحصول على عدد كبير من النباتات من زراعة العقل على وسط مغذي يحتوي على المحلول المعدني (MS) مضافاً له 30 جرام/لتر سكاروز و 7جرام/لتر آجار–آجار بالإضافة إلى تراكيز مختلفة من BAP و IAA كان أفضلها التركيز 1ملجرام/لتر من BAP بالمشاركة مع 0.5ملجرام/لتر من IAA في الوسط المغذي حيث أعطى أحسن النتائج من النموات الصالحة للتجذير في مرحلة الزراعة الأولية وكذلك الثانوية بإعادة زراعة العقلة الأم كل ستة أسابيع ولمرات عديدة . كما تم الحصول على نسبة تجذير عالية وصلت إلى أكثر من 98 % من الجذور الطبيعية على وسط تجذير يختلف عن وسط الإكثار بتخفيف العناصر الكبرى إلى النصف والسكاروز إلى 20جرام/لتر مع إضافة 2جرام/لتر فحم نشط و 1ملجرام/لتر IAA . تمت تقسية النباتات الناتجة مخبريا بنجاح في البيت المحمي دون أي عقبات تذكر, وبذلك فقد مكنت هذه التقنية من الحصول على 22 نبات حي في البيت الزجاجي من عقلة ساقية واحدة بعد سنة واحدة من الزراعة.

الكلمات المفتاحية: الجاردينيا, زراعة الأنسجة, الاكثار الخضري الدقيق , منظمات النمو

يضم الجنس *Gardenia* حوالي 200 نوع , من أهمها *G. jasminoides*, *G. thunbergia*, *G. rothmannia* و *G. augusta* والتي تضم أشجار صغيرة وشجيرات في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية. وتعتبر الجاردينيا من نباتات التنسيق الداخلي المستديمة الخضرة والمزهرة أيضا ومن النباتات ذات التربية الخاصة , تزرع في الداخل وعلى الشرفات وفي الحدائق المنزلية المظللة والقليل من الأصناف قادر على العيش في الخارج وذلك بسبب حساسيتها لحرارة الصيف العالية وأشعة الشمس المباشرة . كما أنها ذات شعبية كبيرة لجمال أزهارها ورائحتها العطرية والذكية, وهي ذات أهمية اقتصادية نظرا لاستخدامها في صناعة العطور وصناعة الأصبغة نظرا لإحتوائها مادة ألفا كروسيتين (α-crocetin) المستخدمة كصباغ أصفر للحرير.

ويعتبر النوع *G. jasminoides* بصنفيه ellis و veitchii من أكثر الأنواع شعبية , وهو ذو جذع شجيري يصل ارتفاعه إلى 15 -45 سم وبقطر 5 – 8 سم في حين يصل ارتفاع الشجيرة إلى 1.5 م , وهي دائمة الخضرة ذات رائحة شمعية , تزهرفي الفترة من منتصف مايو وحتى يونيو ويمكن أن يستمر إزهارها حتى سبتمبر, معطية أزهاراً مضاعفة بلون أبيض ورائحة عطرية قوية لكنها تحتاج إلى إضاءة قوية غير مباشرة للإزهار, وإلى درجات حرارة 18 – 21 درجة مئوية في الربيع والصيف بعد تشكل البراعم, ويمكن رفعها إلى 21 درجة مئوية بوجود رطوبة جوية عالية ولا ينصح بخفض الحرارة إلى أقل من 10 درجة مئوية في الشتاء.

يتم إكثار الجاردينيا خضريا لأنها متخالفة اللواقح (Hetrozygous) ويعطي إكثارها بواسطة البذور تباينا وراثيا ومظهريا بين أفراد النسل الناتج , وهو غير مرغوب من النواحي الزراعية. لذلك يتم إكثارها تقليديا بطريقتين: الأولى بالتطعيم بالرقعة على أصول مقاومة للنيماتودا مثل *G. thunbergia* والثانية بالعقلة . وهذه الطريقة الأخيرة غير اقتصادية لأن النبات بطيء النمو ولا ينتج سوى عدد محدود من النموات في النبات الواحد.

* عنوان المراسلة

يجب التذكير بأن الإكثار الخضري بالعقلة للأنواع الخشبية والشجرية يعترضه العديد من الصعوبات في القابلية للتجذير من خلال كهولة العقل المستخدمة , إضافة للاختلافات المرتبطة بموقع العقل على النبات الأم والحالة الفيزيولوجية لها وكذلك وقت أخذ العقل , وقد بينDumanois وفريقه عام 1984 بأن تجذير العقل القمية الغضة بنقع قواعدها في محلول يحتوي على 2ملغ / لتر من IAA لم يكن ناجحا على عكس العقل التي أخذت من قاعدة النبات الأم حيث وصلت نسبة تجذيرها إلى 65 %. ومن جهة أخرى يؤكد العديد من الباحثين على أن فصل الشتاء هو الوقت الأمثل لتجذير النموات النصف متخشبة (Watkins, 1971 و Siddique, 1973) باستخدام تراكيز مختلفة من الأوكسين (Bose, 1977) IBA) أو مثبطات النمو Ancymidol بتغطيس سريع لمدة 60 ثانية للتحريض على التجذير(Wan, 1983).

وتلعب تقنيات زراعة الأنسجة دورا كبيرا وهاما في إكثار العديد من النباتات الاقتصادية الهامة بعيدا عن التباين الوراثي في النسل الناتج وكذلك الأشجار والشجيرات الصعبة الإكثار بالطرق الخضرية التقليدية ومن بينها الجاردينيا . ولقد كان Dumanois أول من استخدم تقنيات زراعة الأنسجة لإكثار الجاردينيا في عام 1984م حيث نجح في تجذير النموات الحديثة التي تم انتاجها داخل الأنابيب وبنسبة 75% للصنف Ellis متخلصاً من تأثير وقت التجذير على نجاح الإكثار وأيضا من المردود المنخفض لطرق الإكثار التقليدية، و من قبله (Lyrene,1981) على *Vaccinuim ashei* و (Boulay, 1979) على *Sequoia sempervirens* وهذه النقطة مهمة جدا بالنسبة لإكثار الأنواع الخشبية.

ولكن لم يقتصر استخدام زراعة الأنسجة على إكثار هذا النبات فقط بل ذهب إلى أبعد من ذلك مثل دراسة تغير أنزيم البيروكسيداز أثناء مراحل التشكل النباتي (Shen,1990) و الحصول على المادة النباتية اللازمة لانتاج مادة الكروسين من الجاردينيا والمستخدمة في الأصبغة (George *et al.*, 1993) , إضافة إلى استخلاص الغليسرول والمانيتول ومركبات طبية أخرى بعد إضافة مستخلص فركتوز ثمار الجاردينيا إلى الوسط المزروعة فيه خلايا الجاردينا والتي أدت إلى تكاثرها . هذا وقد استخدمت ثمار الجاردينيا سابقا من قبل طبيب صيني كمضاد للالتهابات ومهدىء عصبي ومدر للبول ومسكن للحمى (Hayashi *et al.*, 1992) .

ومن أجل تحسين كفاءة الإكثار لنوعية النباتات الناتجة من حيث قدرتها على النمو الجيد عند التقسية ، فقد كانت هناك دراسات عديدة على تأثير إحكام إغلاق الأنابيب وتركيز السكر وغازثاني أكسيد الكربون والشدة الضوئية على إعطاء نباتات قادرة على التغذية الذاتية داخل الأنابيب وكذلك خلال مرحلة التقسية (Serret *et al.*, 1996, 1997) وقد بينت الدراسات بأن النباتات الناتجة من أنابيب غير محكمة الإغلاق كانت أكثر نجاحاً عند تقسيتها من تلك المأخوذة من أنابيب محمكة الإغلاق كما أن الاستجابة الضوئية لهذه النبيتات تختلف حسب تركيز السكروز المستخدم ، إضافة إلى استخدام مصادر نتروجينية مختلفة بالتناوب في الوسط المغذي والذي أدى إلى زيادة إنتاجية العقلة المخبرية من النموات المورقة في كل من الجاردينيا والموز (George and Ravishankar, 1996) .

مواد وطرق البحث

المادة النباتية: نفذ هذا البحث في مختبر زراعة الأنسجة التابع لقسم البساتين في كلية العلوم الزراعية والأغذية بجامعة الملك فيصل في الفترة الواقعة ما بين 2000 –2001م حيث استخدم لهذه الغاية عشر نباتات من *G. jasminoides* صنف veitchii مزروعة في بيت محمي كأمهات في أصص تحتوي على خلطة زراعية مؤلفة من رمل نهري وبيتموس وتربة زراعية بنسبة 1: 1:1 لكل منها مع مواصلة ريها بمحلول غذائي مخفف بين فترة وأخرى , بهدف الحصول على نموات حديثة بشكل مستمر لإمداد الزراعة النسيجية بالأجزاء النباتية اللازمة. فصلت النموات الحديثة من النباتات الأم وتم غسلها بالماء العادي ثم مسحها بالكحول الإيثيلي (تركيز 70 %) وتقطيعها إلى أجزاء بطول 2–3 سم يحتوي كل منها على عقدة واحدة فقط لتكون الجزء المستخدم في مرحلة التأسيس. تم تعقيم هذه الأجزاء بغمرها في محلول من الكلوروكس التجاري بتركيز 30% والمضاف له عدة نقاط من التوين (tween20) المخفف بنسبة 1% لمدة 35 دقيقة ثم غسلت الأجزاء النباتية ثلاث مرات بالماء المقطر والمعقم لمدة ثلاث دقائق في كل مرة.

بعد تعقيم الأجزاء النباتية المختارة وغسلها بالماء المقطر والمعقم, تمت زراعتها في أنابيب اختبار بوضع رأسي بمعدل عقلة واحدة في كل أنبوب تحت جهاز العزل الجرثومي (Laminar air flow hood) كزراعة أولية, ثم وضعت هذه الأنابيب بعد زراعتها في غرفة مكيفة وتحت شدة ضوئية مقدارها 5000 لوكس لمدة 16 ساعة يوميا في درجة حرارة 24± 2 مئوية نهارا و 22± 2 درجة مئوية ليلا.

أما في مرحلة الاكثار (الزراعة الثانية) فقد تم أخذ النموات المخبرية الناتجة عن الزراعة الأولية وتجزئتها إلى عقل مخبرية دقيقة وزراعتها في أوساط جديدة من المحاليل الغذائية التي نجحت عليها الزراعة الأولية . في حين تم إعادة زراعة العقل الأولية بعد أخذ النموات الحديثة منها لتجذيرها أو إكثارها من جديد بعد ترك قواعد النموات الحديثة عليها و التي تحتوي على البراعم وذلك لعدة زراعات بمعدل مرة واحدة كل 6 أسابيع بهدف الحصول على أرومات للإكثار (أمهات نسيجية) داخل الأنابيب دون الحاجة الى تكرار عملية التعقيم و لضمان إعطاء أكبر عدد من النموات الحديثة المورقة والوصول إلى الإنتاج التجاري ذو الجدوى الاقتصادية العالية.

أما في مرحلة التجذير فقد استخدمت النموات الحديثة الناتجة عن الزراعات الأولية أو عن مرحلة الاكثار أو عن أرومات الإكثار بطول حوالي3 سم لأن النموات الأصغر عن ذلك تكون ضعيفة التجذير و تصعب تقسيتها و تكون أقل نجاحا .

الأوساط المغذية: تم تنفيذ كافة الزراعات الأولية و التي تليها في وسط مغذي يحتوي على العناصر المعدنية الكبرى و الصغرى لموراشج وسكوج (Murashige and Skoog, 1962) مضافا إليه محلول الفيتامينات (Navarro *et al.*, 1975) وتراكيز مختلفة من BAP (0.0 و 0.25 و 0.5 , 1 و 1.5 و 2 ملجرام/لتر) أو IAA (0.0 و 0.25 و 0.5 و 0.75 و 1 ملجرام/لتر) بالمشاركة مع أفضل تركيز من BAP و 30 جرام/لتر سكاروز و 7.5 جرام /لتر آجار وضبطت حموضة الوسط على 5.5 , بعد إضافة الآجار– آجار حيث وزع الوسط المغذي في أنابيب اختبار قياس 150 x 25 مم بمعدل 15 مم / أنبوب والتي أغلقت بواسطة سدادات بلاستيكية شفافة وعقمت بواسطة جهاز التعقيم المائي (Autoclave) على درجة حرارة 121 درجة مئوية ولمدة 15 دقيقة.

أما مرحلة التجذير فقد نفذت مخبريا داخل أنابيب تحتوي على بيئة مغذية مؤلفة من العناصر المعدنية الكبرى المخففة إلى النصف والعناصر الصغرى من محلول (MS) و تراكيز مختلفة من الأوكسين IAA (0.0 و 0.25 و 0.5 و 0.75 و 1 , 1.5 ملجرام/لتر) مضا فا له محلول الفيتامينات المستخدم من قبل Navarro *et al.*, (1975) و20 جرام/لتر سكاروز و 7.5 جرام/لتر آجار–أجار وضبط معدل الحموضة للوسط على 5.5 , بعد إضافة الآجار– آجار. كما أضيف الفحم النشط بتركيز 2جرام/لتر في بعض الحالات.

التقسية: تشكل عملية الأقلمة للنباتات الناتجة مخبريا في معظم الأحيان المرحلة الأكثر حرجا للإكثار الدقيق باستخدام تقنيات زراعة الأنسجة, ومن أجل ذلك تم نقل النبيتات المجذرة مخبريا إلى بيئة أقل رطوبة من تلك السائدة اثناء المراحل المختلفة داخل المختبر, حيث زرعت في أصص صغيرة من البيتموس المضغوط والقابل للتحلل والحاوية على خلطة زراعية مؤلفة من بيتموس وفيرميكولايت بنسبة 1:3 تم تعقيمها مسبقا ثم ريها بمحلول مغذي مخفف يحتوي على مضاد فطري بنسبة 1 % , وتغطيتها بطبقة رقيقة من البولي إثيلين الأبيض الشفاف بشكل ناقوس لتأمين قدر عال من الرطوبة الجوية وذلك في البيت المحمي وبعد شهر من الزراعة يتم فتح الغطاء ومتابعة العناية بالنباتات الجديدة من ري وتسميد ومكافحة ثم تنقل إلى أصص بلاستيكية أكبر حجما.

أستخدم في هذه التجارب تصميم القطاعات كاملة العشوائية الإحصائي في أربع مكررات يضم كل منها 20 أنبوب اختبار ثم أخذت القراءات حول تأثير المعاملات على النسبة المئوية لتفتح البراعم الجانبية وعدد النموات المورقة /العقلة ومتوسط طول النموات بعد 6 أسابيع من الزراعة الأولية أو الثانوية ماعدا مرحلة التجذير حيث أخذت القراءات بعد أربعة أسابيع. ثم حللت البيانات احصائيا باستخدام تحليل التباين (ANOVA) بالاستعانة بالحاسب الآلي باستخدام برنامج التحليل Costate لحساب أقل فرق معنوي (.L.S.D) بين متوسطات تأثيرالمعاملات على الصفات المدروسة على المستوى (5 %) (Gomez and Gomez, 1984).

النتائج والمناقشة

مرحلة الإكثار: لقد سبق وبينت التربية المخبرية باستخدام تقنيات زراعة الأنسجة في الإكثار الخضري على أنها الطريقة المثلى للحصول على سلالات خضرية متجانسة بعيدة عن الاختلافات الوراثية بين أفراد النسل الناتج , إضافة للحصول على مردودية عالية للإكثار مقارنة بالطرق التقليدية. ومن أجل الوصول إلى هذا المستوى وحتى تكون هذه الطريقة ذات جدوى اقتصادية لابد من إنجاح كافة مراحل الإكثار من الزراعة الأولية وحتى مرحلة التقسية مروراً بالإكثار المكثف والتجذير. ويعتبر استخدام منظمات النمو من أوكسين و سيتوكينين من المعاملات الهامة والأساسية في نجاح هذه التقنية , حيث أن فعالية هذه المواد تختلف حسب نوعها وتركيزها وتفاعلها مع بعضها البعض ونوع المادة النباتية المستخدمة, وحسب كل من (Kitto and Yong, 1981) , (Dumanois *et al.*, 1984) و(George *et al,* 1993) فإن السيتوكينين (BAP) هو الأكثر استخداما في الإكثار من الكينيتين و 2-IP. هذا وتبين النتائج المدونة في الجدول رقم (1) أن النسبة المئوية المثلى لتفتح البراعم الجانبية كانت بوجود التراكيز العالية 1 و 1.5 و2 ملجرام/لتر من BAP حيث لا يوجد فرق معنوي بين تأثير التركيزين 1 و 1.5 ملغ/لتر في حين يتفوق عليهما التركيز 2 ملجرام/لتر . أما تأثير هذه التراكيز على متوسط عدد النموات الناتجة بالعقلة فإن التركيز 2 ملجرام/لتر تفوق معنويا على كافة التراكيز عدا التركيز 1.5 ملجرام /لتر في حين لا توجد فروقات معنوية بين التركيزين 1 و1.5 ملغ/لتر. أما بالنسبة إلى طول النموات فقد تفوق معنويا كل من الشاهد والتراكيز المنخفضة على التراكيز العالية 1.5 و2 ملجرام/لتر.

إن ظهور بعض التشوهات من اصفرار وشفافية (Vitrivication) على النموات المورقة الناتجة من التراكيز العالية (1.5 و 2 ملجرام/لتر) من BAP من جهة وعدم اختلاف التركيز المنخفض (0.25ملجرام/لتر) بتأثيره على نسبة للتفتح عن الشاهد وكذلك على متوسط طول النموات من جهة ثانية جعل من التركيز 1 ملجرام/لتر BAP هو الأفضل بالنسبة للمعايير الثلاثة المدروسة. تعطي العقدة الساقية عادة العديد من النموات المورقة نتيجة تفتح البراعم الجانبية الثانوية حسب (Altman *and* Goren, 1979) أو نتيجة التفرع الثانوي حسب (Nozeran *et al.*, 1983) . وحسب Gaspar, (1988) فإن تركيز السيتوكينين قليل جدا على مستوى القمة النامية الساقية من أجل الإكثارداخل الأنابيب وقبله بين (Okazawa,1978 Koda and) أن تركيب السيتوكينين يتم في مستوى القمة النامية الجذرية, لذلك فإن العقلة الساقية تتطلب تركيزا معينا من السيتوكينين المضاف إلى الوسط المغذي لتطورها.

كمـــا يتبين لنا من الجدول (1) بأن الجارديني يمكن إكثارها بدون اســـتخدام الســـيتوكينين ولكن بنسبة نجاح منخفضة في حين أن استخدام BAP بمفـــرده يؤمـــن نسبة تفتح عالية للبراعم الجانبية ولكن مع وجود بعـــض التدنـــي فـــي نوعية النموات الناتجة وطولها لذلك كان لابد من استخدام الأوكسين بالمشاركة لمؤازرة دور السيتوكينين في الإكثار وكذلك تحســـين نوعية النموات الناتجة. وقد استخدم من أجل ذلك خمسة تراكيز من IAA هي 0.0 و 0.25 و 0.5 , 0.75 و 1 ملجرام /ليتر وبوجود 1 ملجرام/لتر من BAP في الوسط.

وتبين لنا القيم المدونة في الجدول (2) بأنه لا توجد فروق معنوية بين تأثيرعدم إضافة الأوكسين (0.0) وإضافته بتراكيز منخفضة (0.25 و 0.5) فـــي حين لعبت التراكيز العالية (0.75 و 1 ملجرام /لتر) دوراً ســـلبياً فـــي تفتح البراعم حيث قللت من نسبة البراعم المتفتحة مع تشكل الكالوس على قواعد العقل. أما متوسط عدد النموات فقد تناقص مع وجود الأوكســـين حيـــث تفـــوق الشاهد على كافة التراكيز, لكن متوسط طول الـــنموات قـــد ازداد بوجـــود الأوكسين في الوسط المغذي وكان أفضلها التركيزان 0.5 و 0.75 ملجرام /لتر حيث لا يوجد فرق معنوي بينهما في حين تفوقا معنويا على كل من الشاهد و 0.25 ملجرام/لتر . ومن هنا نســـتنتج ضرورة وجود السيتوكينين والأوكسين معا في الوسط المغذي بتراكيز معينة , و كان أفضلها مشاركة كل من BAP و IAA بالتراكيز 1 و 0.5 ملجـــرام/لـــتر على التوالي , للحصول على أفضل النتائج في مرحلة الإكثار وعلى الأخص نوعية النموات الناتجة والصالحة للتجذير.

ونذكر هنا بأن قاعدة النموات المورقة الناتجة هي أكثر حيوية من المـــناطق الوسطى والعليا , لذلك استخدمت تقنية قص هذه النموات بعد تـــرك قواعدهـــا على العقلة الأولية (العقلة المخبريه الأم) والتي أعيدت زراعـــتها على وسط جديد مغذي يحتوي على 1 ملجرام/لتر BAP و 0.5 ملجـــرام/لـــتر IAA , والـــذي سمح بتطور جيل جديد من البراعم الجانبـــية إلـــى نموات مورقة على هذه القواعد, والتي قادت إلى تحقيق زراعـــة مـــتكررة للعقلـــة الأم على وسط جديد كل ستة أسابيع (دورة زراعية) واستمرت حتى تسع دورات . وسمحت هذه بالحصول على ما يسمى أرومة إكثار حقيقية من الدورة الثالثة بالإضافة إلى رفع مردودية العقلة من النموات المورقة, حيث تقطع النموات الصالحة للتجذير وتترك قواعدها على العقلة التي يعاد زراعتها كل 6 أسابيع.

يوضـــح الشـــكل (1) تأثـــير عدد الزراعات على مردودية العقلة الواحـــدة من النموات المورقة حيث نحصل على 1.8 نمو /العقلة منها 1.65 نمو صالح للتجذير (بطول 3سم فما فوق) في الزراعة الأولية في حيـــن نحصـــل علـــى 9.9 منها 8.78 نمو صالح للتجذير حيث الزيادة متســـارعة تناسبا مع ازدياد عدد الزراعات حتى الرابعة إذ نحصل على 15.28 نمـــو مورق صالح للتجذير وبعد ذلك يتباطأ التزايد حتى الدورة التاسعة بسبب شيخوخة الأرومة التي تصبح بحاجة إلى تجديد, ونذكر هنا بـــأن الأرومة بعد الدورة الرابعة تصبح كبيرة الحجم وتحتاج لتجزئة إلى أرومات أصغر.

جدول رقم (1):

تأثير السيتوكينين (BAP) في الوسط المغذي على نجاح الزراعة الأولية.

التركي ملجرام/لتر	نسبة تفتح البراعم	متوسط عدد النموات /العقلة	متوسط طول النمو /سم
0.00	25.03 d	1.23 e	2.35 a
0.25	33.75 d	1.70 d	2.10 ba
0.50	60.42 c	2.14 c	2.03 ba
1.00	86.67 b	2.26 cb	1.65 bc
1.50	93.33 ba	2.44 b	1.45 c
2.00	100.00 a	2.69 a	0.78 d

المعاملات التي تحمل أحرف متشابهة ليس بينها أي فرق معنوي على اختبار L.S.D. وذلك على المستوى 5 %.

جدول رقم (2):

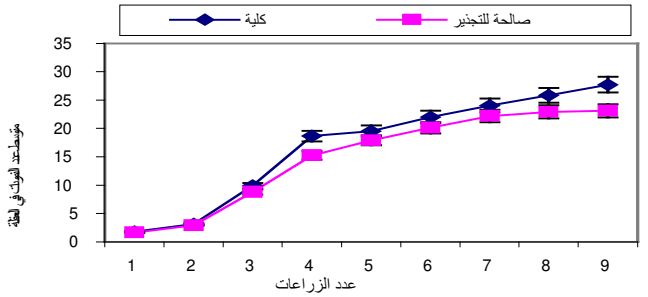
تأثير تركيز الأوكسين (IAA) في الوسط المغذي على نجاح الزراعة المخبرية(بوجود 1ملجرام/لتر من BAP في الوسط)

التركيز ملجرام/لتر	نسبة لتفتح البراعم	متوسط عدد النموات /العقلة	متوسط طول النموات /سم
0.00	86.67 a	2.26 a	1.65 d
0.25	88.33 a	1.83 b	3 c
0.50	93.34 a	1.80 b	4.14 a
0.75	75.00 b	1.70 cb	3.74 ba
1.00	63.34 c	1.58 c	3.38 bc

المعـــاملات التي تحمل أحرف متشابهة ليس بينها أي فرق معنوي على اختبار L.S.D. وذلك على المستوى 5 % .

وهكذا فإن متوسط ما تنتجه العقلة الواحدة من النموات المورقة الصالحة للتجذير حوالي 22 في الدورة السابعة حيث لا يوجد فروقات معنوية بين الـــدورات الـــثلاثة الأخيرة (7 و8 و9). في حين توجد فروقات معنوية واضـــحة بيـــن الدورات من الأولى وحتى السابعة , لذلك ننصح بتجديد الأورومـــات بعـــد الدورة السابعة أي بعد حوالي 10 أشهر من الزراعة الأولية.

مـــرحلة التجذير: في هذه المرحلة زرعت النموات (بطول 3سم) الناتجة عـــن مـــرحلة الإكثار بعد إزالة الأوراق السفلية عن قاعدتها على وسط للـــتجذير يخـــتلف عـــن الوسط السابق الذي نتجت عليه بتخفيض تركيز العناصر المعدنية الكبرى إلى النصف وكذلك السكاروز إلى 20 جرام/لتر ووجود الاوكسين IAA على تراكيز مختلفة.



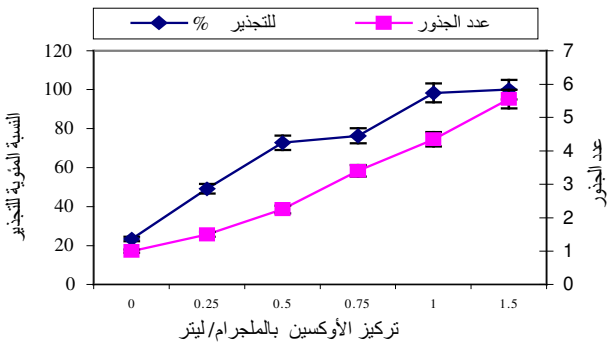
الشكل (1): تأثير عدد الزراعات على مردودية العقلة من النموات الحديثة المورقة

يوضـــح الشـــكل (2) تأثير تركيز الأوكسين IAA على النسبة المئوية للتجذير, وبأن الأوكسين بكافة تراكيزه متفوق على الشاهد كما لا يوجد فرق معنوي بين التركيزين 0.5 و 0.75 ملجرام/لتر. ولكنهما متفوقين على التركيز 0.25 ملجرام/لتر, في حين أن التراكيز العالية (1 و 1.5 ملجـــرام /لتر) متفوقة على التراكيز الأخرى دون وجود فرق معنوي بينهما , وبذلك يكون التركيز 1 ملجرام/لتر من الأوكسين هو الأفضل حيـــث نسبة التجذير بلغت 98.33 %. أما تأثير تركيز الأوكسين على عـــدد الجذور فقد تناسب طرداً مع التركيز وهذه ليست خاصية شديدة الإيجابـــية خاصة أثناء عملية التقسية حيث يعيق عمليات النقل للنباتات المجـــذرة. كما لاحظنا تضخم الجذور على التراكيز العالية (1 و 1.5 ملجـــرام/لتر) ولذلك تم استخدام الفحم النشط بتركيز 2ملجرام/لتر مما قلل من عدد الجذور ومن تضخمها مع وجود الجذور الثانوية عليها .

التقســـية: تعتـــبر هذ ه المرحلة هي الأكثر حرجا وأهمية من مراحل الإكـــثار المخبري والتي تمت بنقل النباتات المجذرة بعد غسل جذورها جيدا من الجيلوز وزراعتها في ظروف عالية الرطوبة كما هو موضح سابقا وذلك دون أية عقبات تذكر حيث كانت نسبة النجاح 100% بعد شـــهر من النقل. وقد لاحظنا بأنه لا يوجد أي تأثير لعدد الجذور على نجاح التقسية وكذلك تطور النباتات لاحقا, حيث أن النباتات لها القدرة علـــى إعطاء جذور أخرى غير المتشكلة مخبريا. ثم نقلت هذه النباتات إلـــى أصـــص أكـــبر بحجم 1.5 لتر من ثم تابعت تطورها في البيت المحمي بنجاح ودون أية عقبات تذكر.

الإستنتاج

أثبتـــت الدراسة نجاح تقنية التكاثر الخضري لإكثار الجاردينيا . وفيما يتعلق بمردودية العقلة المخبرية من النباتات الحية في البيت المحمي , فـــإن اســـتخدام تقنية الإكثار الخضري بزراعة العقلة الأولية متبوعة بإعـــادة زراعـــتها لمـــرات عديدة وتشكيل أرومات الإكثار يمكن من الحصـــول علـــى حوالي 22 نبات حي من العقلة الواحدة بعد سنة من الزراعة إضافة إلى أرومات أخرى للإكثار في المختبر.



الشكل (2) تأثير تركيز الاوكسين (IAA) على النسبة المؤية للتجذير ومتوسط عدد الجذور في النمو

المراجع

Altman, A. and R. Goren. 1979. Growth and dormancy cycles in citrus bud culture and their hormonal control. *Physiology Plant* 30:240–245.

Bose,T.K. 1977. Standardization of propagation frum cutings under mist. Effect of wood and size of cuttings on root formation. *Horticultural Abstract* 47, 6, 5806.

Boulay, M. 1979. Propagation *in vitro* du Duglas par micropropagation de germination aseptique et culture de bourgeons dormance. Documents AFOCEL N 12:67-75.

Dumanois, CH., B. Godin, J. Leboeuf, and C. Bigo. 1984. Multiplication vegetative *in vitro* de gardenia jasminoids Ellis. *P.H.M.Revue Horticole* 249:19-30.

Gaspar, T. 1988. Aspect physiologique de l'organogneses *in vitro.* In: Culture de cellules, tissus et organes vegetaux", J.P. Zryd (Ed). *Presses Polytechniques Romandes* 69-87.

George, J and G.A. Ravishankar. 1996. Development of modified plant tissue culture media using alternate sources of nitrogen and vitamins for micropropagation. *Indian Journal of Experimental Biology* 34(2):163-170.

George, P.S., G.A. Ravishankar, and L.V. Venkataraman. 1993. Clonal multiplication of Gardenia jasminoides Ellis through axillary bud culture. *Plant Cell Reports*. 13(1):59-62.

Gomez, A. and A.A. Gomez. 1984. *Statical Procedures for Agricultural Research*. John Wiley and Sons. New York, Chichester, Brisbane, Toronto and Singapore. Pp 680.

Hayashi, T., T. Kaji, M. Takebayashi, R. Soejima, M. Morita, M. Sakamoto, and N. Sakuragawa. 1992. Stimulants from *Gardeniae Fructus* for cultured endothelial cell proliferation. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 40(4):942-945.

Kitto, I. and M.J. Yong. 1981. *In vitro* propagation of carrizo citrang. *Horticultural Sciences* 16(3):305 – 306.

Koda, Y. and Y. Okazawa. 1978. Cytokinin production by tomato root: occurrence of cytokinin in staled medium of root culture. *Physiology Plant* 44:412–416.

Lyrene, P.M. 1981. Juvenility and production of fast-rooting cuttings from blueberry shoot culture. *Journal of American Society of Horticultural Sciences* 106:396-398.

Murashige, T. and F. Skooge. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiology Plant* 15:473-497.

Navarro, L., C.N. Roistacher, and T. Murashige. 1975. Improvement of shoot-tip grafting *in vitro* for virus-free Citrus. *Journal of American Society of Horticultural Sciences* 100:471–479.

Nozeran, R., S. Demni, S. Bouzid, and B.L. Rossingnol. 1983. Analyse du comportement morphogenetique du jeunes Bigardier. *Bull. Soc. Bot*. France, 130:109–129.

Serret, M.D. M.I. Trillas, J. Matas, and J.L. Araus. 1997. The effect of different closure types, light, and sucrose concentrations on carbon isotope composition and growth of Gardenia jasminoides plantlets during micropropagation and subsequent acclimation *ex vitro*. *Plant-Cell, Tissue and Organ Culture* 47(3):217-230.

Serret, M.D. M.I. Trillas, J. Matas, and J.L. Araus. 1996. Development of photoautotrophy and photoinhibition of *Gardenia jasminoides* plantlets during micropropagation. *Plant-Cell, Tissue and Organ Culture* 45(1):1-16.

Shen, H.J. 1990. Studies of the peroxidase isoenzyme pattern during morphogenesis in *Gardenia jasminoides* and *Dendranthema morifolium* cv. Xia Ju. *Acta Horticulturae Sinica* 17(1):65-70.

Watkins, J.V. 1971. *Growing Gardenias*. U.S.D.A. Home and Garden Bulletin No. 152, 8p.

Received November 2001.
Accepted June 2002,

Siddique, A.M. 1973. Effect of Season in rooting performance of stem cutings of some Shrubby flower plants of Bangladesh. *Indian Journal of Horticulture* 30:440-443.

Wan, C.K. 1983. Rooting cutings of *Gardenia jasminoides*, *Duranta repens*, *Bougainvillea glabra*, in Ornamental Horticulture, 9, 8, (abstract).