

تأثير الوسط في الإكثار الخضري الدقيق لنوع التفاح البري *Malus trilobata* Lab (مرحلتى النمو والتضاعف)

اياذ دنوره*⁽¹⁾ وحافظ محفوض⁽¹⁾ وعلي ديب⁽²⁾

(1). مركز بحوث اللاذقية، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دمشق، سورية.

(2). قسم البساتين - كلية الزراعة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

(*للمراسلة الباحث: اياذ دنوره. البريد الإلكتروني: eyed.dannoura@gmail.com)

تاريخ القبول: 2020/09/03

تاريخ الاستلام: 2020/08/12

الملخص:

أجري البحث عام 2016 بالتعاون بين جامعة تشرين ومركز البحوث العلمية الزراعية في اللاذقية وشركة البيت الأخضر في اللاذقية (مخبر إكثار الأنسجة)، وهدف البحث تحديد أفضل وسط نمو من حيث نوع وتركيز منظمات النمو، حيث تم الحصول على الأجزاء النباتية من أحد الطرز التابعة لنوع التفاح البري (*Malus trilobata* Lab) من موقع الاريزة التابع لمنطقة القرداحة في محافظة اللاذقية، وتوصلت هذه الدراسة إلى وضع طريقة ناجحة و مفصلة للإكثار الخضري الدقيق لنوع التفاح البري (*Malus trilobata* Lab) (مرحلة النمو والتضاعف) إذ أعطت مادة هيبوكلوريت الصوديوم نتائج جيدة لتعقيم النموات الخضرية الصغيرة سطحياً، وأعطى التركيزين 1 و 0.5 مغ/لتر من BAP أفضل متوسط لطول وعدد النموات على التوالي.

الكلمات المفتاحية: التفاح البري ، الإكثار الخضري الدقيق، مرحلة النمو والتضاعف.

المقدمة:

يعد نوع التفاح البري المنتشر في جبال المنطقة الشمالية الغربية من سورية (*Malus trilobata* Lab) واحداً من الأصول الوراثية، التي تحتاج إلى دراسات مستفيضة للاستفادة منها لاحقاً في برامج التربية و التحسين الوراثي لأشجار التفاح المزروع، إذ تعد زراعة التفاح من الزراعات الرئيسة في القطر العربي السوري، فقد وصل عدد أشجار التفاح عام 2016 إلى 15985.2 ألف شجرة والإنتاج إلى 451730 طن (المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية، 2016).

ينتمي التفاح إلى الجنس *Malus* الذي يتبع تحت الفصيلة التفاحية Pomoideae و الفصيلة الوردية Rosaceae التي تضم عدداً كبيراً من الأنواع يصل إلى أكثر من 3500 نوعاً تابعة لـ 100 جنس (أسود و الورع، 1992)، و منها النوع *Malus trilobata* Lab الأكثر انتشاراً في منطقة غرب آسيا و من ضمنها سورية (Qrnflech, 1994).

دلت أبحاث كثيرة على إمكانية تطبيق تقنية الإكثار الخضري الدقيق Micropropagation على أصناف و أصول عديدة من اللوزيات و التفاحيات، فقد بين Herman (2006) بأن هذه التقنية أصبحت تشمل النباتات الخشبية إضافة للنباتات الحولية، ومنها الكرز والتفاح والزيتون والموز والأناناس والبن والجوافة، وأصبح عدد النباتات التي يمكن إكثارها بهذه التقنية يفوق الـ 200 نوعاً و جنساً و طرازاً.

تم القيام بالكثير من الأبحاث على نباتات عدة لدراسة إمكانية تطبيق تقنيات إكثار الأنسجة عليها والوصول لأفضل الأوساط الاختبارية والتراكيز المثالية لمنظمات النمو المستخدمة ومواد التعقيم المناسبة، وحسب الحداد (2004) تعد معاملة القمم النامية

للأصل MM106 بمحلول كلوريد الزئبق بتركيز 0.065 مغ/ 100 مل لمدة 2.5 دقيقة أفضل من محلول هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز 1.5 مغ/100 مل، و أن الوسط MS (Murashige and Skoog., 1962) مضافاً له (IBA: Indole Bbutyric Acid) و (BA: benzyl adenine) و (GA3: gibberellic acid) بتركيز (0.1, 0.8, 1) مغ/ل على التوالي مناسباً لمراحل ما قبل التجذير.

تختلف تراكيز منظمات النمو المستخدمة في الإكثار الخضري الدقيق تبعاً للنوع و الجزء النباتي المكاثر، والطريقة المتبعة في الإكثار بالإضافة إلى تأثير محتوى الخزعات النباتية من منظمات النمو الطبيعية (PGRs: : Plant Growth Regulators). أجريت أول تجربة لإكثار التفاح بالإكثار الخضري الدقيق *invitro* Micropropagation من قبل كل من Elliott (1972) و Walkey (1972) باستخدام البراعم القمية و الجانبية، و اللذان أكدّا إمكانية إكثار التفاح و بشكلٍ ناجح لهذه التقنية. و قد أشار Lane and McDougald (1982) إلى أن نجاح الإكثار الخضري الدقيق للتفاح *invitro* Micropropagation يعتمد بالدرجة الأولى على الصنف أو الأصل المراد إكثاره، و من ثم منظمات النمو (PGRs) و على التفاعل ما بين العاملين المذكورين.

أجريت العديد من التجارب لتحديد الوسط الغذائي المناسب لأصول التفاح المختلفة، حيث أشارت الأبحاث المنفذة على أصول التفاح و أصنافه المختلفة بأن أفضل الأوساط المستخدمة في هذا المجال هي الوسط (MS) مضافاً له بعض أو كل من منظمات النمو (IBA) و (IAA) و (GA3) و (BA) في مراحل ما قبل التجذير، و إضافة (IBA) في مرحلة التجذير (Andreu and Marin, 2005; Jarausch et al., 1996).

حقق الباحثون النجاح في إكثار العديد من أصول و أصناف التفاح بطرق إكثار الأنسجة المختلفة، وقد حددت الأوساط و الظروف الملائمة لإنتاج هذه التقنية، توصل Golosin and Radojeric (1987) إلى أن زراعة الميرستيم القمي للأصول MM106, M27, M26 في نهاية مرحلة السكون الشتوي على وسط (MS) و وسط (Quorin and Lepoivre., 1977) مع استخدام التراكيز التالية على التوالي [0.1, 0.1, 0.9 mg/L] من المنظمات [BA + IBA + GA3] أعطى نتيجة إيجابية من حيث عدد النموات المكاثرة، و استخدام وسط (MS) أو وسط (QL) ممدد إلى النصف مع 1% سكروز و 2 mg/L من (IBA) قد أعطى أعلى نسبة من التجذير.

أوضح Ciccotti et al. (2008) أن نسبة النباتات التي تم الحصول عليها بعد النقسية تراوحت بين 90-100 % من نسبتها بعد التجذير بالنسبة لطرز نوع التفاح *Malus sieboldii* (Regel) Rehd، و قد تم استخدام ثلاثة أوساط غذائية و هي: (MS) و (QL) و (WPM woody plant medium) (Liloyd & McCown., 1981)، مضافاً لها منظمات النمو (IBA) بتركيز 0.25 ميكرومول/ل و (BAP: Benzyl amino purin) بتركيز 4.44 ميكرومول/ل و (GA3) بتركيز 0.28 ميكرومول/ل مع فيتامين الثيامين بتركيز 2.96 ميكرومول/ل، وذلك في المرحلة الأولى من الزراعة و في ظروف إضاءة 16 ساعة ضوء و 8 ساعات ظلام و حرارة $18 \pm 1^\circ\text{C}$ و ثم نقلها إلى نفس الأوساط مع (IBA) بتركيز 25 ميكرومول/ل للتجذير و دون إضاءة و على حرارة $24 \pm 1^\circ\text{C}$ ، و كانت النتيجة بأن الوسط (MS) بنصف قوة أملاحه هو أفضل الأوساط. توصل Druart (1996) إلى أن أفضل وسط غذائي هو وسط (MS) مضافاً له السكروز و الفركتوز بنسبة 1.25 % عند إكثار أصول التفاح M29, M26, M6.

بيّنت دراسة Schuch and Peters (1994) بأن زراعة الميرستيم القمي في وسط (MS) مضافاً له (BA) بوجود (GA3) أو بدونه يعطي نفس النتيجة، وكان التركيز المناسب من (BA) 2 مغ/ليتر بالنسبة لـ *Malus prunifolia* Willd و التركيز 3.5 مغ/ليتر هو الأفضل بالنسبة لـ *Malus domestica* Borkh.، وأن استخدام (GA3) بتركيز 800 مغ/ليتر للنباتات الصغيرة الناتجة من الإكثار الخضري الدقيق و لثلاث مرات يؤدي إلى تشجيع نمو هذه النباتات الصغيرة و زيادة فرصة بقائها، (Pereiram et al., 2002).

عند إكثار صنف التفاح Topaz تم التوصل إلى أن الـ (BAP) أعطى أفضل النتائج عند التركيز 1-1.5 مغ/ليتر ولم يحقق وجود الـ (Kinetin:KI) أية فروق معنوية، كما كانت أفضل نسبة تجذير عند التركيز 2 مغ/ليتر من (IBA) (Keresa et al., 2012).

أثبتت بعض الدراسات المرجعية أن الـ BAP أكثر السيتوكينينات استخداماً في زراعة الأنسجة نظراً لفعاليتها العالية في تضاعف و زيادة عدد النموات الخضرية (Jambborn and Dopranszki, 2005., Jabbar-Zadeh and Khoush-Khui, 2005)، وعند إكثار الأصول M9, M27, MM106 تم استخدام كل من المنظمات 2,4-D: (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid), BAP, TDZ: (Thidiazuron), IBA, NAA, GA3 وفق تراكيز و تراكيب مختلفة، تبين أن العامل المحدد لأفضل الأوساط هو وجود و تركيز الـ BAP و حقق التركيزان 1 و 2 مغ/ليتر أفضل النتائج بالنسبة لمتوسط عدد و طول النموات (Amiri and El ahinia, 2011). كما أكد Soni et al. (2011) بأن استخدام تركيز 0.5 مغ/ليتر من الـ BAP أعطت أفضل النتائج عند إكثار الأصل Merton I.793 و إضافة الـ KI للوسط لم يحدث أثراً مقارنةً بوجود الـ BAP لوحده.

أشار Ferradini et al. (1997) بأن استخدام التراكيز العالية من (IBA) في الضوء له نفس تأثير التراكيز المنخفضة في الظلام على شكل النموات لأصل التفاح M.26.

وتوصل Mahana and Motaleb (2007) إلى أن أفضل وسط لإكثار صنف التفاح *Golden Delicious* هو (MS) مضافاً له (BAP: Benzyl amino purine) بتركيز 1 مغ / ليتر، و قد بينت هذه الدراسة أن مادة (PVP: Polyvinyl pyrrolidone) هي الأفضل في التخلص من ظاهرة الاسمرار مقارنة مع حمض الأسكوربيك، كما يمكن تطبيق عملية الإكثار في أي وقت من السنة لكن الأفضل نجاحاً في فصل الربيع و الصيف مقارنةً مع الشتاء و الخريف.

تأتي أهمية إكثار نوع التفاح البري *Malus trilobata* (Lab)، من أنها تعد مادة نباتية موجودة في الطبيعة لم تدرس بعد، و تحتوي على مخزون وراثي كبير و مهم لم يتم الاستفاضة منه، و خاصةً أنه مدرج ضمن الأنواع المهددة بالانقراض، فقد صدر من قبل وزارة الزراعة و الإصلاح الزراعي ما بين عامي 1996 و 1999 عدة قرارات تقضي بتشكيل عدة محميات طبيعية من بينها محمية الفرنلق و محمية الشوح و الأرز، و ذلك لحماية الأنواع الطبيعية الموجودة في هذه المحميات و المهددة بالانقراض، و من ضمن هذه الأنواع التفاح البري و الكمثرى السورية و غيرها، كما يفسح المجال واسعاً للقيام بأي دراسة لاحقة لاستثمار هذا النوع. مما سبق يمكن تحديد هدف البحث تحديد أفضل معاملة من معاملات التعقيم من حيث التركيز والزمن وأفضل وسط من أوساط النمو المستخدمة وذلك من حيث عدد وطول النموات الناتجة.

مواد البحث وطرائقه:

1- مكان تنفيذ البحث:

أجري البحث عام 2016 بالتعاون بين جامعة تشرين ومركز البحوث العلمية الزراعية في اللاذقية وشركة البيت الأخضر في اللاذقية (مخبر إكثار الأنسجة).

2-المادة النباتية

تم الحصول على النموات اللازمة للزراعة من أحد الطرز البرية لنوع التفاح البري (*Malus trilobata* (Lab) الموجود في موقع الاريزة التابع لمنطقة القرداحة (اريزة 8، E8)، و هذا الطراز عبارة عن شجرة ارتفاعها 5 متر ذات تاج يبلغ ارتفاعه 3 متر ومتوسط قطره 2 متر.

3- تحضير النموات

تم جمع الفروع بعمر سنة و بطول 15-20 سم قبل بدء سريان العصارة (نهاية شهر شباط) وضعت في الماء لعدة أيام في درجة حرارة الغرفة لفتح البراعم، و بعد ذلك أخذت النموات بطول 1 سم كنموات أولية للزراعة التأسيسية ووضعت في وعاء زجاجي مع الماء و منظف منزلي مع التحريك لعدة دقائق، و من ثم تم تنظيفها من آثار المنظف بوضعها تحت الماء الجاري.

4- طريقة التعقيم

تم تعقيم النموات النباتية أولاً بالكحول 70 % لمدة 30 ثانية ومن ثم تطبيق المعاملات المبينة بالجدول (1) من خلال استخدام مادة هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز فعال 5.25 % (كلوروكس تجارياً)، و ذلك بواقع 3 معاملات (تراكيز) وكل تركيز ثلاثة أزمنة بمعدل 3 مكررات لكل زمن بواقع 50 نمواً لكل مكرر.

الجدول(1): معاملات التعقيم بمادة هيبوكلوريت الصوديوم لمرحلة الزراعة التأسيسية

رقم المعاملة	التركيز % كمادة تجارية	مدة التعقيم/ دقيقة		
1	10	10	30	60
2	20	10	30	60
3	30	10	30	60

أجريت عملية التعقيم في جهاز العزل الجرثومي، و في نهاية التعقيم و قبل الزراعة تم غسل النموات النباتية بالماء المقطر و المعقم ثلاث مرات.

5- تحضير وسط الزراعة التأسيسية

استخدم وسط MS (Murashige and Skoog, 1962) مع إضافة السكروز 30 غ/لتر و 5 غ /لتر من مادة PVP كمانع أكسدة للتخلص من ظاهرة الاسمرار و 6 غ/لتر آغار، و تم ضبط درجة الحموضة عند 5.6-5.7 و تم التعقيم بالأتوكلاف على درجة حرارة 121 م° و ضغط 1.5 كغ/سم² لمدة 25 دقيقة.

6- الزراعة التأسيسية

زرعت النموات بعد تعقيمها في أنابيب اختبار قياس 2.5X20 سم بوجود 10 مل من وسط الزراعة MS، و بعد ذلك تم مراقبة الزروعات لاستبعاد الأنابيب الملوثة و الميتة خلال مدة أسبوعين و تم حساب كفاءة التعقيم من خلال حساب النسبة المئوية للأنابيب غير الملوثة و الحية.

7- الزراعة على أوساط النمو الاختبارية

تم زراعة النموات النظيفة في أنابيب اختبار من القياس السابق نفسه على أوساط النمو الاختبارية المكونة من وسط الزراعة التأسيسي MS مع منظمات النمو بتركيز مختلفة تم اختيارها من خلال الدراسات المرجعية الخاصة بإكثار الأنواع التابعة للفصيلة

الوردية و خصوصاً أنواع التفاح جدول(2)، لحثها على النمو والتضاعف، ومن ثم تحديد أفضل وسط من حيث عدد و طول النموات الخضرية الجديدة.

الجدول (2): رموز وتركيب أوساط النمو المستخدمة

تركيب الوسط	رمز المعاملة
MS+0.5mg/l BAP+0.25mg/l GA3+0.2mg/l IBA	T1
MS+1mg/l BAP+0.25mg/l GA3+0.2mg/l IBA	T2
MS+2mg/l BAP+0.25mg/l GA3+0.2mg/l IBA	T3
MS+1mg/l BAP+0.5mg/l KI+0.25mg/l GA3+0.2mg/l IBA	T4
MS+1mg/l BAP+1mg/l KI+0.25mg/l GA3+0.2mg/l IBA	T5
MS	T

8- شروط الزراعة

وضعت الزراعات في غرف نمو بدرجة حرارة $24 \pm 1^\circ\text{C}$ مع 16 ساعة إضاءة و 8 ساعات ظلام تحت لمبات فلورسنت بيضاء تعطي 4000 Lux/m^2 .

9- التحليل الإحصائي

صممت تجربة الإكثار الخضرية الدقيق وفق نظام العشوائية الكاملة حيث زرعت 10 نموات لكل مكرر و بواقع 5 مكررات لكل معاملة و لدينا 6 معاملات أي $(6 \times 5 \times 10 = 300)$ ، وأخضعت النتائج لتحليل التباين ANOVA باستخدام البرنامج الإحصائي SPSS و حساب أقل فرق معنوي L.S.D عند مستوى معنوية 5 %، كما تم استخدام ثلاثة تراكيز من مادة التعقيم، وثلاثة أزمنة لكل تركيز (تجربة عاملية ضمن قطاعات عشوائية)، حيث تم تسجيل النتائج (متوسط كل تركيز مع الزمن) وأخضعت النتائج لتحليل التباين ANOVA باستخدام البرنامج SPSS وحساب أقل فرق معنوي L.S.D عند مستوى معنوية 5 % وذلك لمعرفة أي تركيز وزمن معاً أفضل من حيث نسبة الحية غير الملوثة من أجل متابعة البحث.

النتائج والمناقشة:

1- التعقيم السطحي للنموات النباتية

تظهر النتائج المدونة في الجدول (3) اختلاف كفاءة معاملات التعقيم السطحي بمادة هيبوكلوريت الصوديوم حسب تركيز المادة وزمن التعقيم.

الجدول(3): كفاءة معاملات التعقيم السطحي

نسبة النموات الحية غير الملوثة %			التركيز% (كلوروكس تجاري)
مدة التعقيم/ دقيقة			
60	30	10	
0a	0a	0a	
10.7d	7.3b	0a	10
29.3e	15.3c	0a	20
1.105			30
			LSD 5%

* المتوسطات التي تشترك في نفس الحرف لا يوجد بينها فروق معنوية.

يتبين من الجدول بأن كلما زاد التركيز والزمن زادت النسبة المئوية للنموات الحية والنظيفة وبفرق معنوي، وأفضل نسبة من النموات الحية و النظيفة وصلت إلى 29.3 %، وهي أفضل نسبة تم التوصل إليها و ذلك عند الزمن 60 دقيقة و التركيز 30 % من المادة

التجارية (ما يعادل 1.58 % مادة فعالة) و انخفضت هذه النسبة حتى النصف تقريباً عند استخدام التركيز نفسه لكن بزمن 30 دقيقة . أظهرت العديد من الأبحاث فعالية مادة هيبوكلوريت الصوديوم في التعقيم السطحي للأجزاء النباتية المستخدمة في زراعة الأنسجة، (Soni et al., 2011; Ciccotti., 2008; Zaid et al., 2000;) .

وهذه النتيجة (29.3%) بالمقارنة مع الدراسات المرجعية تعتبر مقاربة جداً فقد أعطى التركيز 2% من هيبوكلوريت الصوديوم و لمدة تعقيم 20-25 دقيقة خزناً حية و نظيفة بنسبة 24.35% عند تعقيم العقل الصغيرة للأصل (Soni et Merton I. 793 (2011).

وحسب الحداد (2004)، تعد معاملة القمم النامية للأصل MM106 بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز 1.5 مغ/100 مل ولمدة 35 دقيقة كافيةً لمتابعة الإكثار . كما أعطت مادة هيبوكلوريت الصوديوم نتيجة أفضل من هيبوكلوريت الكالسيوم و كلوريد الزئبق و بتركيز 1.5 % لمدة 15 دقيقة عند إكثار أصول التفاح MM106, M7, M26، باستخدام الميرستيم و القمم النامية و البراعم الجانبية (Zaid et al., 2000). بلغت مدة التعقيم الأفضل في دراستنا 60 دقيقة و الملاحظ من خلال الدراسات المرجعية أن أطول مدة تعقيم وصلت حتى 35 دقيقة، و ربما يعود ذلك إلى نوعية المادة التجارية المستخدمة و نسبة المادة الفعالة فيها، و تجدر الإشارة إلى أن الزروعات في المراحل اللاحقة لم تعانٍ من مشاكل التلوث.

2- النمو و التضاعف

بدأت النموات المزروعة على أوساط النمو الاختبارية بالتطور بعد أسبوعين وتم أخذ القراءات بعد خمسة أسابيع من الزراعة الشكل (1).



الشكل (1): مرحلة تضاعف عدد النموات على الأوساط الاختبارية

2-1- تأثير منظّمات النمو في متوسط عدد النموات الجديدة

تفوقت كافة المعاملات على معاملة الشاهد، كما تفوقت المعاملات T1, T2, T3 على المعاملة T5 ، وقد دلت النتائج إلى أن زيادة تركيز BAP لم تحقق أي زيادة معنوية في معدل الإكثار، كما أن إضافة KI إلى الوسط لم يحقق أي نتيجة إيجابية بل أدى التركيز 1 مغ/لتر إلى انخفاض معدل الإكثار مقارنة مع باقي المعاملات، و بالتالي يمكن اعتبار وجود BAP دون KI هو الأفضل و بأقل تركيز مستخدم و هو 0.5 مغ/لتر، جدول(4).

2-2- تأثير منظّمات النمو في متوسط طول النموات الجديدة

تفوقت كل من المعاملات T1, T2, T4, T5 على معاملة الشاهد في متوسط طول النموات المكاثرة، و أدت زيادة تركيز BAP إلى 1 مغ/لتر في المعاملة T2 إلى زيادة في متوسط الطول لكن بدون فرق معنوي بالمقارنة مع T1، كما أن زيادة تركيز BAP

إلى 2 مغ/لتر في المعاملة T3 أدى إلى انخفاض متوسط الطول مقارنة مع التركيزين 0.5-1 مغ/لتر وبالتالي تفوقت المعاملتين T1, T2 على المعاملة T3 وإضافة الـ KI بتركيز 0.5 مغ/لتر أعطت زيادة معنوية في متوسط الطول بالمقارنة مع وجود الـ BAP لوحده بتركيز 2 مغ/لتر في المعاملة T3، جدول (4).

الجدول (4): تأثير منظمات النمو في متوسط عدد و طول النموات الجديدة

المعاملة	متوسط عدد النموات	متوسط طول النموات/ سم
T(MS)	1.40a	0.77a
T1 MS+0.5mg/l BAP+0.25mg/l GA3+0.2mg/l IBA	2.76c	1.518c
T2 MS+1mg/l BAP+0.25mg/l GA3+0.2mg/l IBA	2.60c	1.532c
T3 MS+2mg/l BAP+0.25mg/l GA3+0.2mg/l IBA	2.62c	1.03ab
T4 MS+1mg/l BAP+0.5mg/l KI+0.25mg/l GA3+0.2mg/l IBA	2.32bc	1.41dbc
T5 MS+1mg/l BAP+1mg/l KI+0.25mg/l GA3+0.2mg/l IBA	2.04b	1.254b
LSD5%	0.52	0.371

* المتوسطات التي تشترك في نفس الحرف لا يوجد بينها فروق معنوية.

تم في هذا البحث اتباع طريقة العقل الخضرية الصغيرة (Microcutting)، و التي تعد الأكثر انتشاراً مقارنةً مع زراعة البراعم و الميرستيم و ذلك لسهولة تطبيقها من حيث الحصول على الأجزاء اللازمة للزراعة، (George, 1996; Dopranszki and Silva, 2010; Ghanbari, 2014)، و يمكن القول بأن كل التراكيز المستخدمة من الـ BAP أعطت نتائج جيدة بالنسبة لمتوسط عدد النموات مقارنة مع الشاهد و المعاملات التي تحوي الـ KI، و تراوحت هذه التراكيز بين 0.5 و 2 مغ/لتر و هذا يتوافق مع (Amiri and El ahinia, 2011) عند إكثار الأصول M9, M27, MM106، كما أن التركيزين 0.5 و 1 مغ/لتر كانا الأفضل بالنسبة لمتوسط طول النموات، و إضافة الـ KI لم تحدث فرقاً واضحاً بل انخفض متوسط عدد النموات مقارنة مع عدم وجوده، وهذا يتوافق مع (Jambborn and Dobranszki, 2005., Jabbar-Zadeh and Khoush-Khui, 2005)، ويمكن القول بالمجمل بأن التركيز الأفضل بالنسبة لمرحلة النمو والتضاعف في هذه البحث هو 0.5 مغ/لتر من BAP، وهذا يتوافق مع (Soni et al, 2011) عند إكثار الأصل Merton I.793، وبالتالي يمكن الاعتماد على أقل التراكيز للحصول على نتائج جيدة وبأقل قدر ممكن من التكاليف المادية، مع الإشارة إلى أن التجربة تمت بعملية نقل واحدة فقط.

الاستنتاجات و المقترحات

- ساهمت مادة هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز 1.58% ولمدة ساعة في إعطاء أعلى نسبة من النموات الحية والنظيفة.
- أعطى التركيز 0.5 مغ/لتر من BAP (الوسط T1) أعلى متوسط من عدد النموات الحديثة وبأطوال جيدة وبناءً عليه ننصح ما يلي:
- اعتماد الطريقة المتبعة في هذا البحث من حيث أوساط النمو لإكثار أنواع أخرى من النباتات الخشبية.

– استخدام مواد تعقيم أخرى بتركيزات وأزمنة مختلفة للحصول على نسبة أعلى من النموات الحية والنظيفة.

المراجع

- أسود، محمد وليد؛ والورع، حسان بشير. (1992). تصنيف النبات. مديرية الكتب و المطبوعات الجامعية، جامعة حلب، سورية.
- الحداد، عباس فاضل. (2004). إكثار الأصل MM106 و تحديد الظروف المثلى لأقلمته باستخدام الزراعة النسيجية، هيئة التعليم التقني، الكلية التقنية، المسيب، العراق.
- المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية (2016). قسم الإحصاء، مديرية الإحصاء والتخطيط، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، دمشق، سورية.
- Amiri, E. M; And Elahinia, Ameneh. (2011). Optimization of medium composition for apple rootstocks. African Journal of Biotechnology Vol. 10 (18), 3594-3601.
- ANDREU, P; And MARIN, J. A. (2005). In vitro culture establishment and multiplication of the prunus rootstock 'Adesoto 101' (p. insititia L. as affected by the type of propagation of the donor plant by the culture median composition. Sci. Hortic. Vol. 106, 258-267.
- Baraldi, R; Fasolo, F. M; Predieri, F. S; CASTAGNETO, M.(1991). Effect of potassium humate on apple cv. „Golden Delicious“ cultured in vitro. Plant Cell Tissue Org. Cult. Vol. 24, 187–91.
- Ciccotti, A.M; Bisognin, C; Battoclet, I; Salvadori, A; Herdemertens, M; Jarausch, W.(2008). Micropropagation of apple proliferation- resistant apomitic Malus sieboldii genotypes. ISM research centre- plant protection on department, via E. Mach, 1-38010 san Michele all' adige(TN)-Italy.
- Dopranszki, J ; Abdul-Kader, A; Magyar-Tabori, K; Jambbor-Benczur, E; Buban, T; Szalai, J.(2000). In vitro shoot multiplication of apple: comparative response of three rootstocks to cytokinins and auxin. Int J. Hortic. Sci., Vol. 6, 36–39.
- DOPRANSZKI, J; SILVA, J. T.(2010). Micropropagation of apple-A review. Biotechnology. Adv., Vol. 28, 462-488.
- Druart, P. C.(1996). source and growth response of Prunus glandulosa' Sinensis' Thund. And Malus pumila Mill. M26 and M9 clone 29 during in vitro propagation. Horticultural Abstracts, Vol. 66 No. 1.
- Elliott. R. F.(1972). Axenic culture of shoot apices of apple. New Zea J, Bot. Vol. 10:254-258.
- Ferradini, N; Famiani, F; Proietti, P; Stanica, F.(1997). Influence of growth regulators and light on in vitro shoot regeneration in M.26 apple rootstock. Horticultural Abstracts, Vol. 67 No. 3.
- George, E. F.(1996). Fruit and nut crops. part 2. Rosaceae, Malus (apple) Plant propagation by tissue culture In practice. 2nd ed. Edington, Wilts. England: Exegetics Ltd, 1039–1042.
- Ghanbari, A.(2014). Impacts of plant growth regulators and culture media on in vitro propagation of three apple (Malus domestica Borkh.) rootstocks Iranian Journal Of Genetics And Plant Breeding, Vol. 3, No. 1.
- Golosin, B; Radojeric, L.(1987). Micropropagation of apple rootstock. USDA, National Agricultural Library, Vol. 212.
- Herman, B.(2006). Micropropagation systems and techniques 2002-2006. Vol. 10 of recent advances in plant tissue culture, agricell.
- Jabbar-Zadeh, Z; Khoush-Khui, M.(2005). Factors affecting tissue culture of Damask rose (Rosa damascene Mill). Scientica Horticulturae, Vol. 105, N. 4, 475-482.
- Jambborn-Benczur, E; Dopranszki, J.(2005). Kertezeti novenyek mikroszaporitasa, Mezogazdu Kiado, Budapest, Hungary, 325.

- Jarausch, W; Lansac, M. & Dosba, F.(1996). Long-term maintenance of nonculturable apple proliferation phytoplasmas in their micropropagated natural host plant. *Plant Pathol*, Vol. 45, 778–786.
- Keresa, S; Mihovilovic, B. A; Baric, I; Habus, J. I; Sarcevic, H; Bisko, A .(2012). Efficient Axillary Shoot Proliferation and in Vitro Rooting of Apple cv. ‘Topaz’, *Not Bot Horti Agrobo*, Vol. 40(1, 13-118.
- Kaushal, N; Modgil, M; Thakur, M; Sharma, D. R.(2005). In vitro clonal multiplication of an apple rootstock by culture of shoot apices and axillary buds. *Indian J. Exp. Biol.*, Vol. 43, 561–565.
- Lane, W.D; Mcdougald, J. M.(1982). Shoot tissue culture of apple: Comparative response of five cultivars to cytokinin and auxin. *Can J Plant Sci*, Vol. 62, 689-694.
- Lialoyd, G. & Mccown, B.(1981). Commercially feasible micropropagation of mountain laurel *Kalmialatifolia* by use of shoot tip-culture. *Int. Plant Prop. Soc. Proc*, Vol. 30, 421–427.
- MAHANA, N; And MOTALLEBI, A. A.(2007). In Vitro Micropropagation Of Apple (*Malus domestica* Borkh.) cv. Golden Delicious. *Bio. Sci*, Ghent University, 72-1.
- MARIN, J. A; JONES, O. P; HADLOW, C. C.(1993). Micropropagation of columnar apple trees. *Hortic. Sci*, Vol. 68, 289–97.
- MAURER, I; REMMY, B.(2000). Wildapfel Und Wildbim, Taxation Der "Wildformanhe" In Erhaltungs- Klonpflanzenplantagen "In AFZ/DER WALD" , Vol. 16, 846-849.
- Murashige, T.; and SKOOG, F. A.(1962). revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco culture. *Physiol. Plant* , Vol. 15, 473–497.
- PEREIRAM, J. E; FORTES, G.R; SILVA, J. B.(2002). Growth of micro propagated apple plant in green house with gibberellic acid application. *Horticultural Abstracts*, Vol. 72 (1).
- Qrnflech, M. M.(1994). Studies On The Hawthoren/ *Crataegus Azarolus/* Apontential Root Stock For Golden Delicious. Apple and wiliams. Pear. *Horticulture. Ural. Science*, vol. 65.
- Quorin, M.; And Lepoivre, P.(1977). Improved media for in vitro culture of *Prunus* sp. *Acta Hortic*, Vol. 78, 437–442.
- Schuch, M. W; Peters, J. A.(1994). in vitro multiplication of shoots from apple cultivars Marubakaido (*Malus prunifolia*, Willd, Borkh) and Megumi (*Malus domestica*, Borkh) . *Horticultural Abstracts*, Vol. 64(10).
- Soni, M; Thakur, M; Modgil, M. (2011). In Vitro Multiplication Of Merton I. 793-An Apple Rootstock Suitable For Replantation. *Indian Jornal Of Biotechnology*, Vol. 10, 362-368.
- WALKEY, D. G.(1972). Production of apple plantlets from axillary bud meristem. *Can J Plant Sci*, Vol. 52, 1085-1087.
- Zaid, S; Soulaïman, M; Abdul- Kader, A. (2000). The In Vitro Propagation of Rootstocks. *Damascus Universit Journal, Biological Sciences Series*, Vol. 16, N. 2, 63-78.

Micro Propagation of the Wild Apple *Malus trilobata* Lab (The Stages of Growth and Multiplication)

Eyad Dannoura ⁽¹⁾, Hafez Mahfoud ⁽¹⁾, Ali Deeb ⁽²⁾

(1). General Commission For Agricultural Scientific Research (GCSAR), Lattakia, Syria.

(2). Department Of Horticulture, Faculty, Of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.

(*corresponding author: Eyad Dannoura. Email: eyed.dannoura@gmail.com)

Received: 21/08/2020

Accepted: 03/09/2020

Abstract:

The research was conducted in 2016 in cooperation between Tishreen University and the Agricultural Scientific Research Center in Lattakia and the Green House Company in Lattakia (Tissue Multiplication Laboratory), The aim of the research is to determine the best growth medium of type and concentration of growth regulators, where plant parts were obtained from one of the type of the wild apple variety *Malus trilobata* (Lab) from the Ariza site of the Qardaha Area in Latakia, This study reached a successful and detailed method for micro-vegetative propagation of the wild apple variety *Malus trilobata* (Lab) (growth and multiplication stage), Which sodium hypochlorite gave good results in superficial sterilizing to small vegetative growths, and the tow concentrations 1 and 0.5 mg / liter of BAP gave respectively the best men for the length and number of growths.

Key word: Wild Apple, Micropropagation, The Stage of Growth and Multiplication.