الإكثار الخضري الدقيق لنوعين من نبات أجرد الكمأة الصحراوية *Helianthemum salicifolium* (L.) Miller و*Helianthemum ledifolium* (L.) Miller المنتشرين برياً في سورية.

Micropropagation of Two Desert Truffles Plant Hosts: *Helianthemum salicifolium* (L.) Miller and *Helianthemum ledifolium* (L.) Miller Which are Wldly Distributed in Syria.

حجازي محمد حسين مندو[1] بسام بياعة[2] فهد البيسكي[1]

Hijazi Mohammed Husein Mando[1] Bassam Bayaa[2] Fahed Albiski[1]

hijaz.mando@gmail.com

(1) الهيئة العامة للتقانة الحيوية، دمشق، سورية، صندوق بريد: **301902**.

(1) National Commission for Biotechnology (NCBT), Damascus, Syria, P.O. Box: 301902.

(2) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة حلب.

(2) Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, University of Aleppo.

الملخص

نُفِّذَ البحث في مختبرات الهيئة العامة للتقانة الحيوية (دمشق، سورية) خلال عامي 2014 و2015، بهدف اختبارَ تأثير اثنين من السيتوكينين (Benzyladenine وKinetin) في الإكثار الخضري الدقيق لنوعين حوليين من نبات أجرد الكمأة واسعي الانتشار في سورية؛ هما: (*H. salicifolium* و*H. Ledifolium*). أُستخدم المُستنبت موراشيغ وسكوغ MS مضافاً إليه سبعة تراكيز مختلفة لكل سيتوكينين إضافةً للشاهد وفق الآتي: 0، 0.25، 0.5، 0.75، 1، 1.5، 2 و3 مغ.ل$^{-1}$، أُخِذَت القراءات الآتية: عدد الأفرع وطولها، عدد الأوراق، عدد الجذور العفوية، درجة التزجج ودرجة تشكل الكالوس.

أظهرت النتائج أن أفضل المعاملات لإكثار النوعين (*H. salicifolium* و*H. ledifolium*) هي معاملة Kin. بتركيز 1.5 مغ.ل$^{-1}$ للأول و0.75 مغ.ل$^{-1}$ للثاني، إذ أعطت تفرعاً عالياً في النوعين (4.25 و4.625 فرعاً على التوالي)، واستطالةً عالية للأفرع (11.57 و10.26 سم على التوالي)، وتَوَرُّقاً كبيراً (44 و49.5 ورقة على التوالي)، وتزججاً بدرجة عالية للأول ومقبولةً للثاني (1 و0.375 درجة على التوالي)، وتشكلاً للكالُّوس بدرجة مقبولة للأول ومثالية للثاني (0.25 و0 درجة على التوالي)، مع انعدام التجذير العفوي للنوعين، إذ زاد نقل النُبَيّتَات إلى مستنبت MS½ ثم إلى MS1 مرتين متتاليتين نسبة التجذير إلى 47.5 % للأول و77.5 % للثاني. وبلغت نسبة النُبَيّتَات الباقية بعد انتهاء عملية الأقلمة أكثر من 79 % للأول وأكثر من 83 % للثاني، وكانت هذه النُبَيّتات في نهاية عملية الأقلمة جاهزةً للإعداء والنقل إلى الحقل، مَكَّنَت هذه الدراسة

©2021 The Arab Center for the Studies of Arid Zones and Dry Lands, All rights reserved.

ISSN:2305 - 5243 ; AIF-023 (p:20 - 37)

من وضع بروتوكول للإكثار الخضري الدقيق لنوعي أجرد الكمأة المدروسين، والمعروفين بصعوبة إكثارهما بالبذور.
الكلمات المفتاحيّة: أجرد الكمأة، الرقروق، إكثار خضري دقيق، *Helianthemum ledifolium*. *Helianthemum salicifolium*، *Kinetin*، *Benzyladenine*.

Abstract

The effect of two cytokinins: Benzyladenine and Kinetin were studied on the micropropagation of two Syrian annual plant host species of desert truffle: *H. salicifolium* and *H. ledifolium*, at The National Commission for Biotechnology laboratories, (Damascus/ Syria) in 2014 and 2015, using Murachige and Skoog (MS) medium with seven different concentrations for each cytokinin in addition to a control treatment: 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, and 3 $mg.l^{-1}$. The parameters recorded were: number and length of shoots, leaves number, roots number, hyperhydricity degree, and degree of callus formation. Results showed that the best treatment for *H. salicifolium* and *H. ledifolium* was that of Kin at 1.5 $mg.l^{-1}$ for the former and at 0.75 $mg.l^{-1}$ for the latter, which gave the best results as follows: high shooting (4.25, 4.625 shoots, respectively), high elongation (11.57, 10.26 cm, respectively), high leaves formation (44.0, 49.5 leaf, respectively), no rooting for both species, high hyperhydricity degree for the former and acceptable for the latter (1, 0.375 degrees, respectively), and an acceptable degree of callus formation for the former and perfect for the latter (0.25, 0 degrees, respectively). Rooting was improved to 47.5% for H. salicifolium and to 77.5% for *H. ledifolium* after moving plantlets to ½MS medium then to 1MS two times with an interval of 15 days. Finally, more than 79% of *H. salicifolium* rooted plantlets survived after acclimatization, and so did more than 83% of *H. ledifolium*, where at the end these plantlets were ready for inoculation, and then for being transported to the field. This study set a protocol for the micropropagation of two studied rockrose species which are known to have a difficult seed propagation.
Keywords: Desert truffle host plant, Rockrose, Micropropagation, Benzyladenine, Kinetin, *Helianthemum salicifolium*, *Helianthemum ledifolium*.

المقدمة

تُعَدُّ سورية موطناً مهماً للعديد من الأنواع النباتية ذات الأهمية العالمية، إذ تنتشر في معظم بيئاتها المتباينة إما على شكل تجمعات نباتية أو بشكل مفرد أو مختلط مع نباتات الغابة أو نباتات المراعي. وتتميز سورية بتنوع طبيعي كبير ضمن الفلورا النباتية البرية، إذ يضم هذا التنوع الطبيعي نحو 16 نوعاً برياً لجنس الأجرد *Helianthemum* (Post، 1932؛ Mouterde، 1966؛ سنكري، 1987؛ أكساد، 2008)، والذي يتميز بأهمية اقتصادية وصناعية وطبية ورعوية كبيرة (Polunin وHuxley، 1972؛ López، 1982؛ Brickell، 1989)، وله دور مهم في مكافحة التصحر، إذ تتسم أنواعه بتحملها للجفاف وقدرتها على العيش في المناطق الجافة وشبه الجافة، ويسهم عدد من أنواعه بدور العائل النباتي للكمأة الصحراوية Desert truffles التي تُعَدُّ فطراً متعايشاً (Honrubia وزملاؤه، 1992).

ينتمي جنس الأجرد *Helianthemum* إلى الفصيلة اللاذنيَّة Cistaceae، التي تضم ثمانية أجناس و165 نوعاً، ومن أهم أجناسها جنسا الأجرد *Helianthemum* واللاذن (القريّضة) Cistus، إذ تنتشر أنواعهما في نصف الكرة الشمالي وأمريكا الجنوبية، وتوجد في منطقة حوض البحر المتوسط. ويضم جنس الأجرد نحو 44 نوعاً (Polunin وHuxley، 1972؛ López، 1982؛ Brickell، 1989).

أُثْبِتَتْ قدرة العديد من أنواع الأجرد على إقامة علاقة تعايش مع فطر الكمأة الصحراوية من الجنس *Terfezia*، وأشارت بحوث كثيرة إلى نجاح إقامة هذه العلاقة تحت الظروف المُتَحَكَّم بها، وذلك بين العديد من أنواع الأجرد *Helianthemum* من جهة، وأهمها:

H. ledifolium، *H. guttatum*، *H. violaceum*، *H. almeriense*، *H. lippii*، *H. sessiliflorum*، *H. salicifolium*، *H. ovatum*، *H. canariense*، *H. hirtum*، والعديد من أنواع الكمأة الصحراوية *Terfezia* من جهة ثانية، وأهمها:

Kovács ؛2001 ،Gutiérrez) *T. boudieri*، *T. claveryi*، *T. nivea*، T. leptoderma، *T. arenaria*، *T. terfezioides* وزملاؤه، 2003؛ Morte وزملاؤها، 2009؛ Torrente وزملاؤه، 2009؛ Slama وزملاؤها، 2010؛ Andrino وزملاؤه، 2011؛ Zambonelli وBonito، 2012). وتتجلى بذلك الأهمية الاقتصادية لنباتات جنس الأجرد في إمكانية زراعتها كعائل لإنتاج الكمأة الصحراوية من الجنس *Terfezia* في مزارع اصطناعية بغية الإنتاج التجاري لثمار الكمأة.

أظهرت الدراسات انتشار العديد من أنواع الأجرد في سورية منها: الأجرد المصري *H. aegyptiacum* (L.) Mill. (Post، 1932؛ Mouterde، 1966؛ سنكري، 1987؛ أكساد، 2008)، وأجرد كوتشيني *H. kotschyanum* Boiss. (Mouterde، 1966؛ سنكري، 1987)، والأجرد *H. vesicarium* Boiss. (Post، 1932؛ Mouterde، 1966؛ سنكري، 1987)، والأجرد *H. umbellatum* (L.) Spach.، والأجرد *H. ellipticum* (Desf.) Pers.، والأجرد *H. lavandulifolium* Mill.، والأجرد *H. chamaecistus* Mill. (Post، 1932)، والأجرد *H. kahiricum* Del.، والأجرد *H. stipulatum* (Forssk.) C.، والأجرد *H. racemosum* (L.) Pau.، والأجرد *H. nummularium* (L.) Mill. (Mouterde، 1966).

وعلاوةً على ما سبق، أشارت بعض المراجع والدراسات إلى وجود نوعين من أنواع الأجرد في سورية لهما أهمية خاصة، فقد أَكَّدَ عدد من الباحثين قدرة هذين النوعين على إقامة علاقة تعايش مع الكمأة الصحراوية، إذ يسهم كل منهما بدور العائل النباتي؛ وهما:

1. الأجرد صفصافي الأوراق *H. salicifolium* (L.) Mill.: وله مرادف هو *Cistus salicifolius* L.، واسمه الإنكليزي Willow-leaved rockrose، وهو نبات حولي شتوي، ينتشر في سورية ومنطقة حوض البحر المتوسط وأوروبا وسيبيريا وغربي إيران وفي بلاد الشام والعراق وشمالي الجزيرة العربية ومصر، وهو من أكثر أنواع الأجرد انتشاراً في البادية السورية، ويسهم بدور العائل لفطر الكمأة *Terfezia leonis* (Post، 1932؛ Mouterde، 1966؛ سنكري، 1987؛ Al-Oudat وزملاؤه، 2005؛ Hall وزملاؤه، 2007؛ أكساد، 2008). كما أكد Awameh وزملاؤه (1979) وAwameh (1981) أنه عائل لأنواع عدة من الكمأة الصحراوية.

2. الأجرد لاذنيّ الأوراق *H. ledifolium* (L.) Mill.: نبات حولي شتوي، ينتشر في بلاد الشام والعراق وشمالي شبه الجزيرة العربية ومصر، ويوجد شمال غربي البادية السورية، وفي المنطقة بين حلب وقنسرين، وفي جبل البشري، وقُرْبَ الحسكة، ومدخل دير الزور (Post، 1932؛ Mouterde، 1966؛ سنكري، 1987). وأشارت دراسات سابقة إلى إمكانية استخدام هذا النوع كعائل لزراعة الكمأة الصحراوية (Awameh وزملاؤه، 1979؛ Awameh، 1981)، وهذا ما أكدته دراسات أحدث (Gutiérrez، 2001).

تشير الدراسات العلمية إلى أن الإكثار الخضري الدقيق لأنواع مختلفة من نبات الأجرد أصبح متقدماً كما في النوع *H. lippii*، إذ بَيَّنَ Hamza وزملاؤه (2012) إمكانية الحصول على نسبة عالية من الأفرع الجانبية عند إضافة 0.5 مغ.ل$^{-1}$ من منظم النمو بنزيل أمينو بيورين 6-Benzylaminopurine (BAP)، إذ بلغ متوسط عدد الأفرع الجانبية 2.7 فرعاً بمتوسط طول للفرع الواحد بلغ 2.28 سم. كما درست Morte وHonrubia (1992) أثر مجموعة من منظمات النمو النباتية، هي: الكنيتين Kinetin (Kin) وBAP وحمض النفتالين الخلي Naphthalene acetic acid (NAA) في التطور المباشر لنبات الأجرد من النوع *H. almeriense*، وحصلت على أعلى معدل لمتوسط عدد الأفرع الجانبية عند إضافة Kin بتركيز 0.46 و 0.93 ميكرومول إلى مستنبت MS، وبلغ متوسط عدد الأفرع الجانبية 7.72 و6.12 فرعاً على التوالي دون فروق معنوية. إضافةً لذلك بيَّن Zamora وزملاؤه (2006) نجاح الإكثار الخضري الدقيق للنوع *H. violaceum* بأفضل معدل إكثار باستخدام المستنبت MS مع إضافة 0.23 ميكرومول من منظم النمو Kin قدره 2.55 فرعاً لمدة 4 أسابيع. وأشار Zamora وزملاؤه (2006) إلى أن استخدام Kin بتركيز 0.23 ميكرومول في إكثار النوع *H. violaceum* قلل من التباين في معدل إكثار الأفرع أثناء الزراعات المخبرية المتتالية (Subcultures)، وأشارت دراسة أخرى إضافةً لما سبق إلى أن النُبَيِّتَات تُعاني بنسبة مئوية أقل من ظاهرة التزجج وموت القمة النامية وتَشَكُّل الكالُّوس (Azcón-Aguilar وزملاؤه، 2009). كما أظهرت دراسات أخرى أُجريت على النوع المهدد بالانقراض *H. inaguae* أن أفضل معدلات الإكثار سُجِّلَ باستخدام المستنبت MS، مع إضافة منظم النمو بنزيل أدنين Benzyladenine (BA) بتركيز 1 و1.5 مغ.ل$^{-1}$، إذ سُجِّلَ أعلى متوسط لطول الأفرع الجانبية على المستنبت MS مع إضافة 1 مغ.ل$^{-1}$ من BA، في حين ثبطت التراكيز الأعلى 2 مغ.ل$^{-1}$ والأدنى 0.5 مغ.ل$^{-1}$ تشكل الأفرع الجانبية، كما أعطى Kin متوسط عدد أفرع جانبية أقل مما أعطاه BA، وفي الوقت نفسه، أعطى Kin متوسط طول للفرع الواحد أعلى مما أعطاه BA (López وزملاؤه، 2006)، وتتوافق هذه النتائج مع دراسات سابقة أشارت إلى أن منظم النمو BA يحث تَشَكُّل عدد أكبر من الأفرع الجانبية، بينما يَكُون Kin أكثر فعَّاليةً في استطالة

هذه الأفرع (Morte وHonrubia، 1992؛ Iriondo وزملاؤه، 1995؛ López وزملاؤه، 2004)، لذلك يستخدم تركيز منخفض من Kin 0.2 مغ.ل$^{-1}$ ليحث الأفرع الجانبية على الاستطالة بعد معاملات BA. وأخيراً فإن وجود NAA في المستنبت سواءً مع BA أو مع Kin يشجع تشكيل الكالوس، وهي صفة غير مرغوبة في الإكثار الخضري الدقيق (López وزملاؤه، 2006). ولوحظ من جهة أخرى حدوث ظاهرة التشبع المائي (تزجج الأنسجة) (Hyperhydric tissues) لدى النُبَيّتات التي تم اكثارها على المستنبتات التي تحوي BA، وفي الواقع فإن 50 % من النُبَيّتات أظهرت الأعراض سابقة الذكر عندما استُخدِمَ BA بتركيز 1 مغ.ل$^{-1}$ أو أعلى، في حين لم تُلاحظ هذه الأعراض عند استخدام Kin (López وزملاؤه، 2006). وسُجِّلَت أفضل النتائج للإكثار الدقيق للنوع *H. bystropogophyllum* على المستنبت المغذي MS مع إضافة منظم النمو BA بتركيز 1 مغ.ل$^{-1}$ من حيث عدد الأفرع الجانبية (López وزملاؤه، 2004).

أشارت دراسات سابقة إلى أن معظم أنواع جنس الأجرد تمتاز بظاهرة التجذير العفوي عند إكثارها الدقيق في الزجاج على مستنبت MS دون الحاجة لمعاملتها بأي من هرمونات التجذير، فقد أشار López وزملاؤه (2004) إلى أن تجذير نباتات الأجرد *H. bystropogophyllum* في الزجاج بعد إكثارها باستخدام BA وKin كانت أفضل في معاملة الشاهد من حيث عدد وطول الجذور منها في معاملات هرمون التجذير Indolebutiric acid (IBA) بتراكيز 0.5، 1، 2، 3، 4، 4.5 مغ.ل$^{-1}$، وأضافوا أن نباتات هذا النوع كانت جيدة التجذير في معاملة الشاهد التي لم تُعامل بهرمون تجذير، وكانت صالحة للنقل إلى الأصص إذ بقي 82 % منها بعد النقل والتقسية. كما أشار Hamza وNeffati (2015) إلى أن تجذير نباتات الأجرد *H. kahiricum* المكاثرة في الزجاج باستخدام منظمي النمو Zeatin (Ze) وKin كان أفضل في معاملة الشاهد التي تفوقت من حيث عدد وطول الجذور على المعاملات التي عُومِلَت بهرمون التجذير IBA بتراكيز مختلفة. وأكد Hamza وزملاؤه (2012) حصولهم على نتائج مشابهة لدى الإكثار الخضري الدقيق للأجرد لاطئ الأزهار *H. lippii* L.var *sessiliflorum*، إذ كان كل من عدد وطول الجذور المتشكلة أفضل في معاملة الشاهد منها في جميع معاملات هرمون التجذير IBA. وبينت دراسة أخرى أُجريت على النوع *H. almeriense* أن التجذير كان أفضل لدى استخدام تراكيز مخففة من العناصر المعدنية الكبرى في تركيب المستنبت MS:MS½ وMS¼ من استخدام هرمون التجذير NAA (Morte وHonrubia، 1992).

كما بينت دراسة أجريت على الأجرد *H. inaguae* أن تجذير نُبَيّتات هذا النوع نجحت في الزجاج بوجود تراكيز مختلفة من هرمون التجذير IBA أو دونه، إلا أن معاملة النُبَيّتات بهرمون التجذير IBA شجعت تشكل الكالُّوس، وهذه من الخواص السيئة لاستخدام هرمون التجذير IBA عند إكثار معظم أنواع جنس الأجرد (López وزملاؤه، 2006).

أهمية البحث ومبرارته:

1. عُدَّت الكمأة الصحراوية فطراً مأكولاً منذ 3000 سنة (Chang وHayes، 1978؛ Morte وزملاؤها، 2008)، وهي شائعة جداً في بلدان البحر المتوسط وتقيم علاقة تعايش مع أنواع متعددة حولية ومُعَمِرة من الجنس *Helianthemum* (Honrubia وزملاؤه، 1992)، و أُنشأت أول مزرعة للكمأة الصحراوية في إسبانيا عام 1999، وحَفَّزَ الطلب المتزايد على هذا المحصول - ليس في إسبانيا فقط - وإنما في عدة بلدان أخرى لاتباع استراتيجيات جديدة تفضي بالانتقال من المستوى التجريبي إلى الحقول الموسعة (Morte وAndrino، 2014)، وأنشأ منذ 1999 أكثر من 20 مزرعةً للكمأة في إسبانيا وجزر الكناري (Morte وزملاؤها، 2008؛ 2009؛ 2012)، وبدأت الزراعة تنجح مؤخراً على مستوى تجريبي في تونس (Slama وزملاؤها، 2010)، وفلسطين المحتلة والأرجنتين (Morte وAndrino، 2014)، وبما أن الكمأة تنمو بشكل طبيعي في سورية، إذ أن هناك 4 أنواع من الأجرد العائل لها تنتشر في سورية بشكل واسع، لذلك يُعَدّ الإكثار الخضري الدقيق لأنواع هذا الجنس خياراً مهماً، ويؤسس للإنتاج الكمي للنباتات الملقحة بالكمأة بأسعار اقتصادية (Morte وزملاؤها، 2008 و2009).
2. تبدي بذور أغلب أنواع الجنس *Helianthemum* صعوبةً في الإنبات، إضافةً إلى الإنبات غير المنتظم (Pérez-García وGonzález-Benito، 2006). وتعاني البادرات المُنبتة من الموت الطبيعي بنسب مرتفعة خلال أول شهرين بعد الإنتاش تبلغ لدى بعض الأنواع نحو 70 %. لذلك أُدرجت هذه الأنواع ضمن مجموعة الأنواع النباتية صعبة الإكثار. ومن هنا أتت أهمية الإكثار الخضري الدقيق لأنواع هذا الجنس النباتي (Morte وزملاؤها، 2008 و2009 و2012).
3. إضافة إلى ذلك هنالك قلة في البحوث التي نُفِّذَت حول الإكثار الخضري الدقيق لأنواع الأجرد، ومن خلال استقصاء المعلومات عبر الشابكة (الإنترنت) تبين قلة الدراسات المتعلقة عالمياً بإكثار هذا النبات خضرياً بالعقل أو بتقانة زراعة الأنسجة، إضافةً إلى أنه لا توجد أية بحوث حول الإكثار الخضري الدقيق له في سورية حتى الآن.

هدف البحث:

1. دراسة تأثير منظمي النمو النباتيين (Benzyladenine وKinetin) في مراحل الإكثار الخضري الدقيق والنمو لنوعي الأجرد *H. salicifolium* (L.) Mill. و*H. ledifolium* (L.) Mill. واسعي الانتشار في البادية السورية، بهدف الحصول على أفضل معدل للإكثار والنمو، وأكبر عدد من النُبَيّتَات في الزجاج الصالحة للتقسية.
2. دراسة تأثير منظمي النمو السابقين في التجذير العفوي لنُبَيّتَات النوعين السابقين، وتحسين نسبة تجذيرهما، بهدف الحصول على أعلى معدل تجذير وجذور ذات نوعية جيدة دون استخدام هرمون تجذير.
3. وضع بروتوكول للإكثار التجاري للنوعين السوريين السابقين من أجرد الكمأة، كخطوة أولى لتقسيتهما ولإعدائهما بفطر الكمأة، بغرض إنتاج نباتات مُجَذِّرة مُقَسَاة ومُعْدَاة وجاهزة للنقل إلى الحقل.

مواد البحث وطرائقه

المادة النباتية:

تم الحصول على عينات بذور للنوعين المنتشرين في سورية: *H. salicifolium* (L.) Mill. و*H. ledifolium* (L.) Mill. من قسم بيولوجيا النبات، في كلية البيولوجيا، بجامعة مورثيا (إسبانيا). ونُفِّذَ البحث في مختبرات قسم التقانات النباتية الحيوية لدى الهيئة العامة للتقانة الحيوية في دمشق (سورية).

مرحلة إدخال البذور والزرعات التأسيسية:

حُفَّت البذور ميكانيكياً بين ورقتي زجاج بحركة دائرية بالـيد بضغط قليل لمدة دقيقتين، وبعد الحف طُهِّرَت البذور سطحياً كالآتي:

- غُمِسَت البذور في الكحول الإيثيلي 70 % لمدة دقيقة واحدة مع التحريك المستمر بوساطة محرك مغناطيسي.
- نُقِلَت البذور إلى محلول من هيبوكلوريت الصوديوم 1 % + Tween 20 لمدة 20 دقيقة مع التحريك المستمر بمحرك مغناطيسي.
- نُقِلَت البذور بعدها إلى الماء المقطر المعقم ثلاث مرات متتالية لمدة 5 دقائق في كل مرة.
- نُقِلَت البذور إلى دورق يحوي 200 مل ماءً مقطراً معقماً، ثم أُغْلِق الدورق بإحكام، وحُضِّن لمدة 24 ساعة في الظلام عند درجة حرارة 20 °م درجة حرارة لتحفيز الإنبات.
- نُقِلَت البذور في اليوم التالي، إلى ورق نشاف معقم، وتُرِكَت لتجف، ثم زُرِعَت في أنابيب اختبار زجاجية بأبعاد 20 × 2.5 سم تحوي 15 مل من مستنبت MS بمعدل بذرة واحدة في كل أنبوب.
- حُضِّنَت الأنابيب في غرفة النمو عند 2±24 °م ودورة إضاءة/ظلام 16/8 ساعة (Morte وHonrubia، 1992؛ López وزملاؤه، 2004؛ Pérez-García وGonzález-Benito، 2006؛ مندو وزملاؤه، 2017).

حُضِّنَت الأنابيب في غرفة النمو لمدة شهر، ونُقِلَت النُبَيّتات إلى مستنبتات جديدة كل شهر، واستخدمت النُبَيّتات بعد نموها لطول 10 إلى 15 سم لإجراء الزرعات الثانوية (Subcultures)، إذ قُطِّعَ النُبَيّت إلى أجزاء مفردة وزُرِعَ كل منها في أنبوب جديد بهدف الإكثار الكمي للنُبَيّتات، ثم حُضِّنَت الأنابيب في غرفة النمو كما ذُكِرَ سابقاً حتى تجهيز معاملات منظمات النمو.

زُرِعَت الأجزاء النباتية المفردة في أنابيب اختبار زجاجية جديدة (الشكل 1) بأبعاد 20× 2.5 سم تحتوي على 15 مل من المستنبت MS (Murachige وSkoog، 1962) الخالي من الهرمونات النباتية، والذي يحوي: 1 مغ.ل$^{-1}$ ثيامين، و100 مغ.ل$^{-1}$ ميوانوزيتول، و30 غ.ل$^{-1}$ سكروز، و5.8 غ.ل$^{-1}$ آجار عالي النقاوة. وعُدِّلَ رقم حموضة المستنبت إلى pH = 5.8 قبل التعقيم بالأوتوكلاف، وأُجريت عمليات التحضين والزرع في غرفة النمو عند درجة حرارة 24 ± 2 °م، وفترة إضاءة 16 ساعة و8 ساعات ظلام، وشدة ضوئية قدرها 3000 - 4000 لوكس، ورطوبة نسبية قدرها 70 ± 10 %.

بلغ عدد المعاملات: 2 نوع × 8 تراكيز (7 تركيزات + الشاهد) × 2 منظم نمو = 32 معاملةً بمعدل 12 مكرراً لكل معاملة (عقلة نباتية مفردة واحدة لكل أنبوب).

مرحلة الإكثار:

قُطِّعَت النُبَيّات السليمة الناتجة عن مرحلة الزراعة الأولية إلى أجزاء مفردة بطول 1 - 1.5 سم، ونُقِلَت إلى أنابيب اختبار زجاجية جديدة بأبعاد 20× 2.5 سم تحتوي على 15 مل مستنبتاً مغذياً من مستنبتات الإكثار MS بمعدل 12 مكرراً/معاملة (عقلة نباتية مفردة واحدة لكل أنبوب)، إذ دُرِسَت سبع معاملات من تراكيز مختلفة لكل من منظمي النمو بالإضافة إلى معاملة الشاهد (0، 0.25، 0.5، 0.75، 1، 1.5، 2، 3) مغ.ل$^{-1}$ من بنزيل أدينين Benzyladenine(BA)؛ و(0، 0.25، 0.5، 0.75، 1، 1.5، 2، 3) مغ.ل$^{-1}$ من كينتين Kinetin (Kin). لتحديد أفضل هذه المعاملات، وحُضِّنَت الأنابيب في غرفة النمو عند درجة حرارة 24 ± 2 °م، وفترة إضاءة 16 ساعة بشدة ضوئية قدرها 4000-3000 لوكس و8 ساعات ظلام، ورطوبة نسبية قدرها 70 ± 10 %، وأُخذت القراءات بعد أربعة أسابيع (الشكل 1).

الشكل 1. a: نبات من الأجرد صفصافي الأوراق ناتج عن عملية إدخال البذور، b: نبات من الأجرد لاذنيّ الأوراق ناتج عن عملية إدخال البذور،
c: عقل مفردة لنبات الأجرد صفصافي الأوراق ناتجة عن تقطيع أحد نباتات إدخال البذور،
d: بعض معاملات الإكثار الخضري الدقيق للأجرد صفصافي الأوراق بعد زرع العقل النباتية المفردة في الأنابيب،
e: نُبَيّت مُجَذَّر من الأجرد صفصافي الأوراق ناتج عن عملية الإكثار الخضري الدقيق،
f: النُبَيّات المجذرة أثناء معاملتها بمحلول المبيد الفطري Carbendazim قبل عملية الأقلمة، g: النُبَيّات أثناء عملية الأقلمة،
h: نبات من الأجرد لاذنيّ الأوراق ناجي بعد نهاية عملية الأقلمة، i: نبات من الأجرد صفصافي الأوراق ناجي بعد نهاية عملية الأقلمة.

مرحلة التجذير وتحسين التجذير:

بناءً على نتائج دراسات سابقة لم يُستخدم أي من هرمونات التجذير في هذه الدراسة، وتم الاكتفاء بدراسة التجذير العفوي للنُبَيّتات في الزجاج. إذ اعتمدت الدراسة على التجذير العفوي للنُبَيّتات، فقد أجرت Morte وHonrubia (1992) دراسة على الأجرد *H. almeriense* وأوصت باستخدام تراكيز مخففة من العناصر المعدنية الكبرى ½MS وMS¼ في المستنبت MS لتحريض التجذير بدلاً من استخدام هرمون التجذير NAA الذي لم يتفوق على الشاهد، علاوةً عن خواصه السيئة في تحريض تَشَكُّل الكالوس (López وزملاؤه، 2006)، كما أشارت دراسة أخرى إلى إمكانية رفع نسبة التجذير إلى 100 % لدى نُبَيّتات الأجرد *H. violaceum* بعد نقلها عدة مرات على المستنبت MS (Morte وزملاؤها، 2009). وقد اُعتُمِدَت التقانتان السابقتان في الدراسة بغية تحسين التجذير، وبعد نهاية دراسة تأثير منظمي النمو BA وKin في النوعين المدروسين، انْتُخِبَت أفضل معاملة لكل نوع، وأجريت عليها معاملة تحسين التجذير كما يلي:

حُضِّرَ حامل (40 أنبوباً) من المستنبت MS + Kin بتركيز 1.5 مغ.ل$^{-1}$ ، وزُرِعَ في كل أنبوب عقلة نباتية مفردة من النوع *H. salicifolium* وكان الشاهد عبارة عن حامل (40 أنبوباً) من المستنبت MS المعياري دون إضافة أي منظم نمو، إذ زُرِعَ في كل أنبوب عقلة نباتية مفردة من النوع المدروس نفسه، وحُضِّرَ حامل (40 أنبوباً) من المستنبت MS + Kin بتركيز 0.75 مغ.ل$^{-1}$ وزُرِعَ في كل أنبوب عقلة نباتية مفردة من النوع *H. ledifolium*، وكان الشاهد عبارة عن حامل (40 أنبوباً) من المستنبت MS المعياري دون إضافة أي منظم نمو، إذ زُرِعَ في كل أنبوب عقلة نباتية مفردة من النوع المدروس نفسه، حُضِّنَت الأنابيب في غرفة النمو عند درجة حرارة 2±24 ° م، وفترة إضاءة 16 ساعة بشدة ضوئية قدرها 3000 - 4000 لوكس و8 ساعات ظلام، ورطوبة نسبية قدرها 70 ± 10 %، واستُخدِمَت النُبَيّتات الناتجة بعد أربعة أسابيع في معاملة تحسين التجذير، إذ نُقِلَت النُبَيّتات إلى المستنبت ½MS، ثم نُقِلَت إلى المستنبت MS المعياري مرتين متتاليتين وبفاصل زمني قدره 15 يوماً بين كل نقلتين، وقُدِّرَت النسبة المئوية للنُبَيّتات المُجَذِّرَة باستخدام المعادلة التالية:

النسبة المئوية للنُبَيّتات المُجَذِّرَة (%) = عدد النُبَيّتات المجذرة/عدد النُبَيّتات الكلي × 100.

- قراءات معايير الإكثار الخضري الدقيق: تم أخذ القراءات الآتية:

- عدد الأفرع الجانبية المتشكلة لكل نُبَيّت في الزجاج.
- أطوال الأفرع الجانبية المتشكلة: وذلك بقياس طول كل فرع جانبي، وجمع أطوال كل الأفرع للنُبَيّت الواحد في كل أنبوب.
- عدد الأوراق المتشكلة على الأفرع: وقُدِّرَت بِعَدّ الأوراق على كل فرع جانبي، وجمعت أوراق كل الأفرع للنُبَيّت في الأنبوب.
- عدد الجذور بشكل عفوي لكل نُبَيّت في الأنبوب.
- درجة النسج المزججة (Hyperhydric tissues): وقُدِّرَت باعتماد سلم من درجتين (مندو وزملاؤه، قيد النشر - ب).

الدرجة	ظاهرة التزجج
0	لا يوجد تزجج على أي جزء من أجزاء النُبَيّت في الأنبوب
1	ظهور أعراض التزجج على أي جزء من أجزاء النُبَيّت في الأنبوب

- درجة تشكل الكَالُّوس: وقُدِّرَت باعتماد سلم من 5 درجات (مندو وزملاؤه، قيد النشر- ب).

الدرجة	حجم الكالّوس على سطح الوسط في الأنبوب
0	لا يوجد تشكل للكالّوس على سطح المستنبت في الأنبوب
1	يغطي الكالّوس من 1 إلى 25 % من سطح المستنبت في الأنبوب
2	يغطي الكالّوس من 26 إلى 50 % من سطح المستنبت في الأنبوب
3	يغطي الكالّوس من 51 إلى 75 % من سطح المستنبت في الأنبوب
4	يغطي الكالّوس من 76 إلى 100 % من سطح المستنبت في الأنبوب

مرحلة الأقلمة:

غُسِلَت جذور النُبَيّتات المجذرة بالماء المقطر لإزالة الآغار، ثم غُمِسَت الجذور بمحلول من المبيد الفطري Carbendazim بتركيز 0.3 غ.ل$^{-1}$ لمدة 5 دقائق (López وزملاؤه، 2006)، ثم نُقِلَت إلى أصص بقطر 11 سم تحوي خليطاً معقماً من التربة والبيتموس والرمل حسب عدة معاملات (Morte وHonrubia، 1992؛ López وزملاؤه، 2004؛ López وزملاؤه، 2006؛ Hamza وزملاؤه، 2012). أُضيف 50 مل من الماء المقطر إلى كل أصيص، ثم غُطِّيَ كل أصيص بكيس من البولي إيثيلين (PE) الشفاف للمحافظة على رطوبة عالية، وحُضِّنَت الأصص في غرفة النمو عند 24 ± 2 °م، وفترة 16 ساعة إضاءة/ 8 ساعات ظلام، وبشدة ضوئية قدرها 3000 - 4000 لوكس، ورطوبة نسبية قدرها 70 ± 10 %، مع سقاية النباتات مرةً أسبوعياً بمحلول ¼ MS، لمدة أربعة أسابيع، وبعد ثلاثة أيام أُحدث ثقبان في كل كيس بقص زاويتي الكيس بالمقص، وأُضيفت ثقوب جديدة لكل كيس كل يومين حتى أزيلت الأكياس بشكل كامل بعد نحو 4 أسابيع، ثمّ نقلت بعدها إلى ظروف الوسط الخارجي في أصص تحوي تربة ورملاً وتورباً بنسبة (1:1:2 على التوالي) (حجم/ حجم)، ووصفت طبيعة نمو النباتات في هذه المرحلة، وكُرِّرَت التجربة مرتين، وقُدِّرَت نسبة نجاح عملية الأقلمة وفقاً للمعادلة الآتية:

نسبة النباتات الباقية بعد عملية الأقلمة (%) = عدد النباتات الناجية بعد الأقلمة/عدد النُبَيّتَات المنقولة لمرحلة الأقلمة × 100.

تصميم التجربة والتحليل الإحصائي:

أُجرِيَت عمليات النقل كل 30 يوماً، إذ نُقِلَت العقل المفردة المزروعة إلى أنابيب زجاجية جديدة تحوي المستنبت المغذي نفسه ومعاملة منظم النمو النباتي، وُضِعَت التجربة وفق التصميم العشوائي الكامل (CRD) بمعدل 12 مكرراً لكل معاملة، وعُدَّ كل أنبوب مكرراً، واستخدم برنامج التحليل الإحصائي GenStat12 لحساب قيمة أقل فرق معنوي L.S.D عند مستوى معنوية (5 %)، وكانت القيم في جداول النتائج هي عبارة عن المتوسطات ± الخطأ القياسي (Mean ± SE).

النتائج والمناقشة

الإكثار الخضري الدقيق للأجرد صفصافي الأوراق *H. salicifolium*

تشكل الأفرع الجانبية:

بينت النتائج تبايناً واضحاً في تأثير معاملات كل من منظمي النمو Kin وBA في عدد الأفرع المتشكلة لكل نُبَيّت في الزجاج وبفروق معنوية، فبالنسبة لمعاملات منظم النمو BA، تفوقت معاملة التركيز 2 مغ.ل$^{-1}$ على باقي المعاملات بمتوسط بلغ 3.125 فرع/النُبَيّت وبفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد (2.75 فرع/النُبَيّت)، وثبطت المعاملات 0.75 و1 و1.5 مغ.ل$^{-1}$ تفرع النُبَيّت بمتوسطات بلغت 2.25، 2.375، 2.5 فرع/النُبَيّت على التوالي بفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد، في حين ثبطت التراكيز 0.25 و0.5 و3 مغ.ل$^{-1}$ تفرع النُبَيّت بمتوسطات بلغت 1.625، 1.875، 1.875 فرع/النُبَيّت على التوالي ولكن بفروق معنوية مقارنةً بالشاهد. أما بالنسبة لمعاملات منظم النمو Kin فقد تفوقت جميع المعاملات على الشاهد، وكانت أفضلها معاملة التركيز 1.5 مغ.ل$^{-1}$ بمتوسط بلغ 4.25 فرع/النُبَيّت وبفروق معنوية مقارنةً بالشاهد، في حين تفوقت باقي المعاملات 0.25 و0.5 و0.75 و1 و2 و3 مغ.ل$^{-1}$ بمتوسطات بلغت 3.375، 3.50، 3.50، 3.75، 3.625، 3.125 فرع/النُبَيّت على التوالي بفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد. يُلاحظ مما سبق أن منظم النمو Kin كان فعّالاً أكثر من BA في تحريض تفرع النُبَيّت إذ إن جميع متوسطات معاملات Kin كانت أعلى من الشاهد، في حين كانت أغلب متوسطات معاملات BA أدنى من الشاهد، وكانت المعاملة Kin بتركيز 1.5 مغ.ل$^{-1}$ هي المعاملة الأفضل على الإطلاق في تحريضها لتفرع نُبَيّتات الأجرد صفصافي الأوراق في الزجاج (الجدول 1).

استطالة الأفرع الجانبية:

بيَّنت النتائج تباين المعاملات في تأثيرها في استطالة الأفرع الجانبية للنُبَيّتَات في الزجاج، إذ ثبطت جميع معاملات منظم النمو BA استطالة الأفرع بفروق معنوية مقارنةً بالشاهد (5.73 سم)، وكانت أسوأ معاملة هي معاملة التركيز 0.25 مغ.ل$^{-1}$، وأفضلها معاملة التركيز 2 مغ.ل$^{-1}$ بمتوسطات بلغت 1.28، 4.14 سم على التوالي. أما بالنسبة لمعاملات منظم النمو Kin فقد تفوقت معاملة التركيز 1.5 مغ.ل$^{-1}$ على باقي المعاملات بمتوسط بلغ 11.57 سم وبفروق معنوية مقارنةً بالشاهد، تلتها معاملات التراكيز 0.75 و1 و2 مغ.ل$^{-1}$ بمتوسطات بلغت 6.18، 6.75، 6.49 سم على التوالي وبفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد، في حين ثبطت باقي المعاملات 0.25 و0.5 و3 مغ.ل$^{-1}$ استطالة الأفرع

بمتوسطات بلغت 4.80، 5.64، 5.26 سم على التوالي وبفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد، يُلاحظ مما سبق أن منظم النمو Kin كان أفضل من BA في تحريض استطالة الأفرع عند الأجرد صفصافي الأوراق، لأن جميع متوسطات معاملات المنظم BA كانت أدنى من الشاهد، وأغلب متوسطات معاملات المنظم Kin كانت أعلى من الشاهد، وكانت أفضل معاملة على الإطلاق هي معاملة منظم النمو Kin بتركيز 1.5 مغ.ل$^{-1}$ (الجدول 1).

تشكل الأوراق:

تباينت المعاملات في عدد الأوراق المتشكلة على الأفرع بشكل معنوي، وبالنسبة لمعاملات BA فقد تفوقت معاملة التركيز 2 مغ.ل$^{-1}$ على باقي المعاملات بمتوسط بلغ 26.75 ورقة وبفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد (25.25 ورقة)، وثبطت المعاملات 0.75 و1 و1.5 مغ.ل$^{-1}$ تشكل الأوراق بمتوسطات بلغت 20.75، 21.5، 23.5 ورقة على التوالي وبفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد، أما المعاملتان 0.25 و3 مغ.ل$^{-1}$ فقد ثبطتا تشكل الأوراق بمتوسط بلغ 12.0، 15.25 ورقة على التوالي ولكن بفروق معنوية مقارنةً بالشاهد. أما بالنسبة لمنظم النمو Kin فقد تفوقت معاملة التركيز 1.5 مغ.ل$^{-1}$ على باقي المعاملات بمتوسط بلغ 44.0 ورقة، وبفروق معنوية مقارنةً بالشاهد، في حين تفوقت باقي المعاملات 0.25 و0.5 و0.75 و1 و2 و3 مغ.ل$^{-1}$ على الشاهد بمتوسطات بلغت 33.5، 33.75، 34.0، 35.5، 36.25، 29.75 ورقة على التوالي ولكن بفروق غير معنوية، ويُلاحظ مما سبق أن Kin أكثر فعاليةً من BA في تحريضه على تشكل الأوراق عند الأجرد صفصافي الأوراق، إذ كانت متوسطات أعداد الأوراق لدى جميع معاملات Kin أعلى من الشاهد، في حين كانت أغلب متوسطات معاملات BA أدنى من الشاهد، وكانت أفضل معاملة على الإطلاق هي معاملة Kin بتركيز 1.5 مغ.ل$^{-1}$ (الجدول 1).

الجدول 1. تأثير منظمي النمو BA وKin في تشكل الأفرع واستطالتها وتشكل الأوراق عند نُبَيّتات الأجرد صفصافي الأوراق *H. salicifolium*.

الصفة	متوسط عدد الأفرع		متوسط مجموع أطوال الأفرع		متوسط عدد الأوراق	
منظم النمو / التركيز (مغ.ل$^{-1}$)	BA (فرع)	Kin (فرع)	BA (سم)	Kin (سم)	BA (ورقة)	Kin (ورقة)
0	2.75±0.4119$^{BCDEFab(1)}$	2.75±0.4119$^{BCDEFd(2)}$	5.73±0.964^{BCa}	5.73±0.964^{BCb}	25.25±3.206^{CDa}	25.25±3.206^{CDb}
0.25	1.625±0.1830^{Gd}	3.375±0.80^{ABCDab}	1.28±0.1698^{Ge}	4.80±1.445^{BCDEb}	12.0±1.069^{Fc}	33.50±7.56^{BCab}
0.5	1.875±0.125^{FGcd}	3.50±0.50^{ABCab}	1.89±0.2642^{FGcde}	5.64±1.365^{BCDb}	15.0±1.134^{EFbc}	33.75± 4.182^{BCab}
0.75	2.25±0.1637^{EFGbcd}	3.50±0.2673^{ABCab}	2.20±0.1973^{FGcde}	6.18±1.528^{BCb}	20.75±1.77^{DEFab}	34.00±4.567^{BCab}
1	2.375±0.183^{DEFGabcd}	3.75±0.3134^{ABab}	2.96±0.533^{EFGbcd}	6.75±0.4598^{Bb}	21.50±2.50^{DEFab}	35.50±2.612^{ABab}
1.5	2.50±0.4226^{CDEFGabc}	4.25±0.3134^{Aa}	3.15±0.2803^{DEFGbc}	11.57±1.80^{Aa}	23.50±1.402^{DEa}	44.00±4.14^{Aa}
2	3.125±0.4407^{BCDEa}	3.625±0.2631^{ABab}	4.14±0.5102^{CDEFb}	6.49±1.309^{BCb}	26.75±3.909^{BCDa}	36.25±3.239^{ABab}
3	1.875±0.125^{FGcd}	3.125±0.3981^{BCDEab}	1.80±0.2758^{FGde}	5.26±0.886^{BCDEb}	15.25±1.461^{EFbc}	29.75± 3.75^{BCDb}
$L.S.D_{0.05}$ تركيز منظم نمو	0.839 (فرع)	1.192 (فرع)	1.332 (سم)	3.269 (سم)	6.728 (ورقة)	11.60 (ورقة)
$L.S.D_{0.05}$ نوع منظم نمو × تركيز منظم النمو	1.0399 (فرع)		2.516 (سم)		9.545 (ورقة)	

(1) تدل الأحرف الكبيرة المختلفة على وجود فروقات معنوية ضمن الصفة المدروسة لكل من منظمي النمو BA وKin عند مستوى معنوية 5 %.

(2) تدل الأحرف الصغيرة المختلفة على وجود فروقات معنوية ضمن العمود الواحد (ضمن تراكيز منظم النمو الواحد) عند مستوى معنوية 5 %.

النتائج في الجدول: متوسطات القراءات M ± الخطأ القياسي SE.

مرحلة التجذير وتحسين التجذير:

تباينت المعاملات في تأثيرها في التشكل العفوي للجذور على النُبَيّتات في الزجاج (دون استخدام هرمون خاص بالتجذير) بشكل معنوي، فقد ثبطت جميع معاملات منظمي النمو BA وKin تشكل الجذور على النُبَيّتات في الزجاج بشكل معنوي، إذ ثبطت معاملة منظم النمو BA بتركيز 0.25 مغ.ل$^{-1}$ تشكل الجذور بمتوسط بلغ 1.25 جذر/النُبَيّت وبفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد (2.50 جذر/النُبَيّت)، وانعدم التشكل العفوي للجذور بشكل كلي في باقي المعاملات. وكذلك الأمر بالنسبة لمنظم النمو Kin فقد ثبطت معاملة التركيز 0.25 مغ.ل$^{-1}$ التشكل العفوي للجذور بمتوسط بلغ 0.38 جذر/النُبَيّت وبفروق معنوية مقارنةً بالشاهد، وانعدم التشكل العفوي للجذور بشكل كلي في باقي المعاملات (0.5 و0.75 و1 و1.5 و2 و3 مغ.ل$^{-1}$) (الجدول 2)، وبلغت النسبة المئوية لنُبَيّتَات الأجرد صفصافي الأوراق المجذرة بعد معاملة تحسين التجذير 47.5 %.

ظاهرة التزجج:

أظهرت النتائج تباين المعاملات في تأثيرها في ظاهرة تزجج النُبَيّتات في الزجاج، وهي ظاهرة سيئة وغير مرغوبة في الإكثار الخضري الدقيق لأنواع الأجرد، فبالنسبة لمعاملات منظم النمو BA لم تؤثر معاملة التركيز 0.25 مغ.ل$^{-1}$ في درجة التزجج مقارنةً بالشاهد (0.375 درجة) وبمتوسط بلغ 0.375، 0.375 درجة على التوالي، في حين زادت معاملات التراكيز 0.5 و0.75 و1 و1.5 و2 مغ.ل$^{-1}$ درجة التزجج بمتوسطات بلغت 0.50، 0.625، 0.625، 0.75، 0.750 درجة على التوالي بفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد، وزادت المعاملة 3 مغ.ل$^{-1}$ درجة التزجج بمتوسط بلغ 0.875 درجة ولكن بفروق معنوية مقارنةً بالشاهد. أما معاملات منظم النمو Kin فقد زادت جميع المعاملات (0.25 و0.5 و0.75 و1 و1.5 و2 و3 مغ.ل$^{-1}$) من درجة التزجج بمتوسطات بلغت 0.75، 0.875، 1.0، 1.0، 1.0، 1.0، 1.0 درجة على التوالي بفروق معنوية مقارنةً بالشاهد. وكانت الملاحظة المثيرة للاهتمام تشكل ظاهرة التزجج لدى الأجرد صفصافي الأوراق في معاملة الشاهد دون وجود أي منظم نمو، ويُلاحظ أيضاً التأثير الأكبر لمنظم النمو Kin في زيادة ظاهرة التزجج مقارنةً بمنظم النمو BA، إذ كانت جميع متوسطات معاملات Kin أعلى من مثيلاتها في معاملات BA (الجدول 2).

تشكل الكالّوس:

أظهرت النتائج تباين المعاملات في تحريضها على تشكل الكالّوس لدى النُبَيّتات في الزجاج، وهي ظاهرة غير مرغوبة في الإكثار الخضري الدقيق لأنواع الأجرد، ففي معاملات BA لم تسبب معاملات التراكيز 0.25 و0.5 و 0.75 و1 و1.5 و2 مغ.ل$^{-1}$ تشكل الكالّوس على أنسجة النُبَيّتات في الزجاج نهائياً، في حين سببت معاملة التركيز 3 مغ.ل$^{-1}$ زيادةً طفيفةً بمتوسط بلغ 0.125 درجة وبفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد (0.0 درجة). أما معاملات Kin فلم تسبب كذلك التراكيز 0.25 و0.5 و0.75 و1 مغ.ل$^{-1}$ أي تشكل للكالّوس، في حين سببت المعاملتان 1.5 و2 مغ.ل$^{-1}$ زيادة درجة تشكل الكالّوس بمتوسط بلغ 0.25 و0.25 درجة على التوالي وبفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد، وزادت المعاملة 3 مغ.ل$^{-1}$ درجة تشكل الكالّوس بمتوسط بلغ 0.375 درجة بفروق معنوية مقارنةً بالشاهد. وهنا يُلاحظ أن BA كان أفضل من Kin في تحريض نُبَيّتات الأجرد صفصافي الأوراق على تشكل الكالّوس في الزجاج، وذلك بسبب انعدام تشكل الكالّوس في معاملات منظم النمو BA حتى تركيز 2 مغ.ل$^{-1}$ وتشكلها بدرجات منخفضة عند التركيز الأعلى 3 مغ.ل$^{-1}$، أما عند معاملات Kin فقد تشكل الكالّوس بدءاً من التركيز 1.5 مغ.ل$^{-1}$، وازداد عند التركيز 3 مغ.ل$^{-1}$ بشكل معنوي، ومع أن BA كان أفضل نسبياً من منظم النمو Kin إلا أن كليهما يُعَدّ مقبولاً جداً بدرجة تحريضه على تشكل الكالّوس على نُبَيّتات الأجرد صفصافي الأوراق في الزجاج (الجدول 2).

مرحلة الأقلمة:

بلغت نسبة النباتات الناجية من النُبَيّتَات المجذرة عند الأجرد صفصافي الأوراق بعد نهاية عملية الأقلمة 79.4 %، والتي كانت جاهزةً للعدوى ثم النقل إلى الحقل.

الجدول 2. تأثير منظمي النمو BA وKin في التشكل العفوي للجذور وتزجج وتشكل الكالُّوس عند نُبَيّتات الأجرد صفصافي الأوراق *H. salicifolium*.

الصفة	متوسط عدد الجذور العفوية		متوسط درجة التزجج		متوسط درجة تشكل الكالُّوس	
منظم النمو / التركيز (مغ.ل$^{-1}$)	BA (جذر)	Kin (جذر)	BA (درجة)	Kin (درجة)	BA (درجة)	Kin (درجة)
0	2.5±1.68$^{Aa(1)}$	2.5±1.68$^{Aa(2)}$	0.375±0.183^{Aa}	0.375±0.183^{Aa}	0.0±0.0^{Aa}	0.0±0.0^{Aa}
0.25	1.25±1.25^{ABab}	0.38± 0.183^{Bb}	0.375±0.183^{Aa}	0.75±0.1637^{ABCb}	0.0±0.0^{Aa}	0.0±0.0^{Aa}
0.5	0.0±0.0^{Bb}	0.0±0.0^{Bb}	0.50±0.189^{ABab}	0.875±0.125^{BCb}	0.0±0.0^{Aa}	0.0±0.0^{Aa}
0.75	0.0±0.0^{Bb}	0.0±0.0^{Bb}	0.625±0.183^{ABCab}	1.0±0.0^{Cb}	0.0±0.0^{Aa}	0.0±0.0^{Aa}
1	0.0±0.0^{Bb}	0.0±0.0^{Bb}	0.625±0.183^{ABCab}	1.0±0.0^{Cb}	0.0±0.0^{Aa}	0.0±0.0^{Aa}
1.5	0.0±0.0^{Bb}	0.0±0.0^{Bb}	0.75±0.1637^{ABCab}	1.0±0.0^{Cb}	0.0±0.0^{Aa}	0.25±0.1637^{BCab}
2	0.0±0.0^{Bb}	0.0±0.0^{Bb}	0.75±0.1637^{ABCab}	1.0±0.0^{Cb}	0.0±0.0^{Aa}	0.25±0.1637^{BCab}
3	0.0±0.0^{Bb}	0.0±0.0^{Bb}	0.875±0.125^{BCb}	1.0±0.0^{Cb}	0.125±0.125^{Aa}	0.375±0.183^{Cb}
$L.S.D_{0.05}$ تركيز منظم نمو	2.110 (جذر)	1.685 (جذر)	0.4543 (درجة)	0.2780 (درجة)	0.1256 (درجة)	0.2965 (درجة)
$L.S.D_{0.05}$ نوع منظم نمو × تركيز منظم النمو	1.832 (جذر)		0.3756 (درجة)		0.2243 (درجة)	

(1) تدل الأحرف الكبيرة المختلفة على وجود فروقات معنوية ضمن الصفة المدروسة لكل من منظمي النمو BA وKin عند مستوى معنوية 5 %.
(2) تدل الأحرف الصغيرة المختلفة على وجود فروقات معنوية ضمن العمود الواحد (ضمن تراكيز منظم النمو الواحد) عند مستوى معنوية 5 %.
النتائج في الجدول: متوسطات القراءات M ± الخطأ القياسي SE.

الإكثار الخضري الدقيق للأجرد لاذنيّ الأوراق *H. ledifolium*

تشكل الأفرع الجانبية:

تباينت المعاملات في تأثيرها في تفرع نُبَيّتات هذا النوع في الزجاج بشكل معنوي، فضمن معاملات BA تفوقت معاملة التركيز 0.75 مغ.ل$^{-1}$ على باقي المعاملات بتفرع النُبَيّت بمتوسط بلغ 3.25 فرع وبفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد (2.5 فرع)، وكانت كل من المعاملات 0.5 و1 و1.5 أفضل من الشاهد بمتوسطات بلغت 2.625، 3.125، 3.0 فرع على التوالي ولكن بفروق غير معنوية، في حين ثبطت المعاملات 0.25 و2 و3 مغ.ل$^{-1}$ تفرع النُبَيّت بمتوسطات بلغت 1.75، 2.25، 1.875 فرع على التوالي وبفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد. أما بالنسبة لمعاملات Kin فقد تفوقت معاملة التركيز 0.75 مغ.ل$^{-1}$ على باقي المعاملات بمتوسط بلغ 4.625 فرع بفروق معنوية مقارنةً بالشاهد، وتفوقت المعاملتان 0.25 و0.5 بمتوسط بلغ 3.625، 3.750 فرع على التوالي وبفروق معنوية مقارنةً بالشاهد، أما المعاملتان 1 و1.5 مغ.ل$^{-1}$ فقد تفوقتا بمتوسط بلغ 3.375، 2.75 فرعاً على التوالي بفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد، وتعادلت المعاملة 2 مغ.ل$^{-1}$ مع الشاهد، في حين ثبطت معاملة التركيز 3 مغ.ل$^{-1}$ تفرع النُبَيّت بمتوسط بلغ 2.375 فرع وبفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد. وبناءاً على ما سبق يُسْتَنْتَجُ أن منظم النمو Kin كان أفضل من BA في تحريض التفرع لدى نُبَيّتات الأجرد لاذنيّ الأوراق لأن أغلب متوسطات معاملات Kin كانت أعلى من مثيلاتها من معاملات BA، وكانت أفضل المعاملات على الإطلاق هي معاملة Kin بتركيز 0.75 مغ.ل$^{-1}$ (الجدول 3).

استطالة الأفرع الجانبية:

تباينت المعاملات في تأثيرها في استطالة الأفرع الجانبية المتشكلة على النُبَيّتات في الزجاج بشكل معنوي، فبالنسبة لمعاملات BA تفوقت معاملة التركيز 0.75 مغ.ل$^{-1}$ على معاملة الشاهد بمتوسط بلغ 4.39 سم ولكن بفروق غير معنوية، في حين ثبطت معاملات التراكيز 0.5 و1 و1.5 و2 مغ.ل$^{-1}$ استطالة الأفرع بمتوسطات بلغت 3.69، 3.81، 3.68، 2.95 سم على التوالي وبفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد (4.30 سم)، وثبطت معاملتي التركيزين 0.25 و3 مغ.ل$^{-1}$ استطالة الأفرع بمتوسط بلغ 1.89، 2.28 سم على التوالي ولكن بفروق معنوية مقارنةً بالشاهد. أما بالنسبة لمعاملات منظم النمو Kin فقد تفوقت معاملات التراكيز 0.25 و0.5 و0.75 و1 مغ.ل$^{-1}$ بمتوسطات بلغت 8.45، 8.70، 10.26، 7.64 سم على التوالي وبفروق معنوية مقارنةً بالشاهد، في حين تفوقت المعاملتان 1.5 و2 مغ.ل$^{-1}$ بمتوسط بلغ 5.25، 4.53 سم على التوالي ولكن بفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد، في حين ثبطت معاملة التركيز 3 مغ.ل$^{-1}$ استطالة الأفرع بمتوسط بلغ 4.13 سم وبفروق غير معنوية أيضاً مقارنةً بالشاهد. وبناءاً على ما سبق يُستَنْتَج أن Kin كان أفضل من BA في تحريض استطالة الأفرع عند الأجرد لاذنيّ الأوراق لأن أغلب متوسطات أطوال الأفرع عند معاملات Kin كانت أعلى من الشاهد، بينما كانت أغلب متوسطات معاملات BA أدنى من الشاهد، وكانت أفضل المعاملات معاملة Kin بتركيز 0.75 مغ.ل$^{-1}$، كما يلاحظ أنه يمكن استخدام التراكيز 0.25 و0.5 و1 مغ.ل$^{-1}$ بكفاءة جيدة في تحريض استطالة الأفرع عند هذا النوع من الأجرد (الجدول 3).

تشكل الأوراق:

تباينت المعاملات في تأثيرها في تشكل الأوراق بشكل معنوي، فبالنسبة لمعاملات BA تفوقت معاملة التركيز 1 مغ.ل$^{-1}$ على باقي المعاملات بمتوسط بلغ 33.25 ورقة بفروق معنوية مقارنةً بالشاهد (24.75 ورقة)، وتفوقت المعاملات 0.5 و0.75 و1.5 مغ.ل$^{-1}$ بمتوسطات بلغت 25.50، 32.75، 31.75 ورقة على التوالي بفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد، في حين ثبطت المعاملات 0.25 و2 و3 مغ.ل$^{-1}$ تشكل الأوراق بمتوسطات بلغت 18.25، 24.12، 19.75 ورقة على التوالي وبفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد. أما بالنسبة لمعاملات Kin فقد تفوقت المعاملات 0.25 و0.5 و0.75 و1 بمتوسطات بلغت 39.0، 41.25، 49.5، 43.5 ورقة على التوالي بفروق معنوية مقارنةً بالشاهد، وتفوقت المعاملتان 1.5 و2 مغ.ل$^{-1}$ بمتوسط بلغ 28.0، 27.5 ورقة على التوالي بفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد، في حين ثبطت المعاملة 3 مغ.ل$^{-1}$ تشكل الأوراق بمتوسط بلغ 23.75 ورقة وبفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد. وبناءً على ما سبق يمكن القول أن منظم النمو Kin كان أفضل من BA في تحريض تشكل الأوراق على أفرع نُبَيّتات الأجرد لاذنيّ الأوراق في الزجاج، لأن أغلب متوسطات عدد الأوراق في معاملات Kin كانت أعلى من مثيلاتها في معاملات BA، وكانت أفضل المعاملات على الإطلاق هي معاملة Kin بتركيز 0.75 مغ.ل$^{-1}$، ويمكن استخدام معاملة BA بتركيز 1 مغ.ل$^{-1}$، ومعاملات منظم النمو Kin بتراكيز 0.5 و0.75 و1.5 مغ.ل$^{-1}$ في تحريض تشكل الأوراق لدى نُبَيّتات الأجرد لاذنيّ الأوراق في الزجاج بشكل مقبول وكفاءة جيدة (الجدول 3).

مرحلة التجذير وتحسين التجذير:

تباينت المعاملات في تأثيرها في التشكل العفوي للجذور على النُبَيّتات في الزجاج (دون استخدام هرمون خاص بالتجذير) بشكل معنوي، فقد ثبطت جميع معاملات منظمي النمو BA وKin تشكل الجذور على النُبَيّتات في الزجاج بشكل معنوي، إذ ثبطت معاملة منظم النمو BA بتركيز 0.25 مغ.ل$^{-1}$ تشكل الجذور بمتوسط بلغ 0.88 جذر/النُبَيّت بفروق معنوية مقارنةً بالشاهد (6.75 جذر/النُبَيّت)، وانعدم التشكل العفوي للجذور بشكل كلي في باقي المعاملات 0.5 و0.75 و1 و1.5 و2 و3 مغ.ل$^{-1}$. وكذلك بالنسبة لمعاملات Kin فقد ثبطت معاملة التركيز 0.25 مغ.ل$^{-1}$ التشكل العفوي للجذور بمتوسط بلغ 1.50 جذر/النُبَيّت وبفروق معنوية مقارنةً بالشاهد، وكذلك انعدم التشكل العفوي للجذور بشكل كلي في باقي المعاملات 0.5 و0.75 و1 و2 و3 مغ.ل$^{-1}$. وبناءً على ما سبق يُستَنْتَج أن كل من منظمي النمو BA وKin ثبطا التشكل العفوي للجذور لدى نُبَيّتات الأجرد لاذنيّ الأوراق في الزجاج بشكل معنوي (الجدول 4). وبلغت نسبة النُبَيّتات المجذرة عند الأجرد لاذنيّ الأوراق بعد معاملة تحسين التجذير 77.5 %.

الجدول 3. تأثير منظمي النمو BA وKin في تشكل الأفرع واستطالتها وتشكل الأوراق عند نُبَيّتات الأجرد لاذنيّ الأوراق *H. ledifolium*.

الصفة	متوسط عدد الأفرع		متوسط مجموع أطوال الأفرع		متوسط عدد الأوراق	
منظم النمو / التركيز (مغ.ل$^{-1}$)	BA (فرع)	Kin (فرع)	BA (سم)	Kin (سم)	BA (ورقة)	Kin (ورقة)
0	2.5±0.3273$^{DEFGHabcd(1)}$	2.5±0.3273$^{DEFGHde(2)}$	4.3±1.081^{CDa}	4.3±1.081^{CDc}	24.75±3.981^{FGHbcd}	24.75±3.981^{FGHIc}
0.25	1.75±0.1637^{Hd}	3.625±0.4978^{Bbc}	1.89±0.1187^{Fc}	8.45±0.664^{Bb}	18.25±1.623^{Id}	39.0± 4.309^{BCDb}
0.5	2.625±0.375^{CDEFGabc}	3.75±0.1637 ^{Bab}	3.69±0.663^{CDEab}	8.7±0.2307^{ABab}	25.5±3.831^{EFGHIabcd}	41.25±0.75^{BCab}
0.75	3.25±0.526^{BCDa}	4.625±0.183^{Aa}	4.39±0.665^{CDa}	10.26± 0.5189^{Aa}	32.75±5.042^{DEFab}	49.5±2.196^{Aa}
1	3.125±0.1250^{BCDEa}	3.375±0.2631^{BCbcd}	3.81±1.023^{CDEab}	7.64±0.75^{Bb}	33.25±3.272^{CDEa}	43.5±2.922^{ABab}
1.5	3.0±0.1890^{BCDEFab}	2.75±0.1637^{CDEFcde}	3.68±0.4122^{CDEab}	5.25±0.3449^{Cc}	31.75±2.576^{DEFGabc}	28.0±1.813^{EFGc}
2	2.25±0.1637^{FGHbcd}	2.5±0.378^{DEFGHde}	2.95±0.1402^{DEFabc}	4.53±0.538^{CDc}	24.12±1.493^{GHIcd}	27.5±2.719^{EFGHc}
3	1.875± 0.125^{GHcd}	2.375±0.3239^{EFGHe}	2.28±0.2462^{EFbc}	4.13±0.4078^{CDc}	19.75±1.906^{HId}	23.75±3.081^{GHIc}
$LSD_{0.05}$ تركيز منظم نمو	0.7848 (فرع)	0.894 (فرع)	1.569 (سم)	1.788 (سم)	8.16 (ورقة)	8.43 (ورقة)
$LSD_{0.05}$ نوع منظم نمو × تركيز منظم النمو	0.8263 (فرع)		1.674 (سم)		8.229 (ورقة)	

(1) تدل الأحرف الكبيرة المختلفة على وجود فروقات معنوية ضمن الصفة المدروسة لكل من منظمي النمو BA وKin عند مستوى معنوية 5 %.
(2) تدل الأحرف الصغيرة المختلفة على وجود فروقات معنوية ضمن العمود الواحد (ضمن تراكيز منظم النمو الواحد) عند مستوى معنوية 5 %.
النتائج في الجدول: متوسطات القراءات M ± الخطأ القياسي SE.

ظاهرة التزجج:

أظهرت النتائج تباين المعاملات في تأثيرها في ظاهرة تزجج النُبَيّتات في الزجاج، فبالنسبة لمعاملات BA سببت المعاملة 0.25 مغ.ل$^{-1}$ زيادة درجة تزجج النُبَيّتات بمتوسط بلغ 0.125 درجة بفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد (0.0 درجة)، في حين زادت معاملات التراكيز 0.5 و0.75 و1 و1.5 و2 و3 مغ.ل$^{-1}$ ظاهرة التزجج بمتوسطات بلغت 0.625، 0.625، 0.75، 0.75، 1، 1 درجة على التوالي وبفروق معنوية مقارنةً بالشاهد. أما بالنسبة لمعاملات منظم النمو Kin فقد خلت نُبَيّتات معاملة التركيز 0.25 مغ.ل$^{-1}$ كلياً من التزجج، وزادت درجة التزجج في التراكيز 0.5 و0.75 و1 مغ.ل$^{-1}$ بمتوسطات بلغت 0.25، 0.375، 0.375 درجة على التوالي بفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد، في حين زادت المعاملات 1.5 و2 و3 مغ.ل$^{-1}$ درجة التزجج بمتوسطات بلغت 0.50، 0.625، 0.875 درجة على التوالي ولكن بفروق معنوية مقارنةً بالشاهد. ويُلاحظ مما سبق أن منظم النمو Kin كان أفضل من منظم النمو BA في تحريضه المحدود لنُبَيّتات الأجرد لاذنيّ الأوراق على التزجج، وذلك لأن جميع متوسطات معاملات Kin كانت أقل من مثيلاتها لدى معاملات BA (الجدول 4).

تشكل الكالّوس:

تباينت المعاملات في تأثيرها في تشكل الكالّوس لدى النُبَيّتات في الزجاج، فقد خلت نُبَيّتات معاملتي التركيزين 0.25 و0.5 مغ.ل$^{-1}$ من أي تشكل للكالوس، وزادت معاملات التراكيز 0.75 و1 و1.5 و2 مغ.ل$^{-1}$ درجات تشكل الكالّوس بمتوسطات بلغت 0.25، 0.25، 0.375، 0.375 درجة على التوالي وبفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد (0.0 درجة)، في حين زادت معاملة التركيز 3 مغ.ل$^{-1}$ درجة تشكل الكالّوس بمتوسط بلغ 0.625 درجة ولكن بفروق معنوية مقارنةً بالشاهد. بينما خلت معاملات منظم النمو Kin بالتراكيز 0.25 و0.5 و0.75 و1 و1.5 و2 مغ.ل$^{-1}$ من تشكل الكالّوس كلياً، وزادت المعاملة 3 مغ.ل$^{-1}$ فقط درجة تشكل الكالّوس بمتوسط بلغ 0.125 درجة وبفروق غير معنوية مقارنةً بالشاهد. وبناءً على ماسبق يُسْتَنْتَج أن منظم النمو Kin كان أفضل من BA بتحريضه المحدود على تشكل الكالّوس، عند استخدامه في الإكثار الدقيق للأجرد لاذنيّ الأوراق، وذلك بسبب خلو أغلب معاملات منظم النمو Kin من تشكل الكالّوس (الجدول 4).

الجدول 4. تأثير منظمي النمو BA وKin في التشكل العفوي للجذور وتزجج وتشكل الكالُّوس عند نُبَيِّتَات الأجرد لاذنيّ الأوراق *H. ledifolium*.

الصفة	متوسط عدد الجذور العفوية		متوسط درجة التزجج		متوسط درجة تشكل الكالُّوس	
منظم النمو / التركيز (مغ.ل$^{-1}$)	BA (جذر)	Kin (جذر)	BA (درجة)	Kin (درجة)	BA (درجة)	Kin (درجة)
0	6.75±1.790$^{Aa(1)}$	6.75±1.790$^{Aa(2)}$	0.000±0.0^{Aa}	0.0±0.0^{Aa}	0.0±0.0^{Aa}	0.0±0.0^{Aa}
0.25	0.88±0.611^{Bb}	1.5±1.225^{Bb}	0.125±0.125A^{Ba}	0.0±0.0^{Aa}	0.0±0.0^{Aa}	0.0±0.0^{Aa}
0.5	0.0±0.0^{Bb}	0.0±0.0^{Bb}	0.625±0.183^{DEFb}	0.25±0.1637^{ABCab}	0.0±0.0^{Aa}	0.0±0.0^{Aa}
0.75	0.0±0.0^{Bb}	0.0±0.0^{Bb}	0.625±0.183^{DEFb}	0.375±0.183^{BCDab}	0.25±0.1637^{ABab}	0.0±0.0^{Aa}
1	0.0±0.0^{Bb}	0.0±0.0^{Bb}	0.75±0.1637^{EFGbc}	0.375±0.183^{BCDab}	0.25±0.1637^{ABab}	0.0±0.0^{Aa}
1.5	0.0±0.0^{Bb}	0.0±0.0^{Bb}	0.75±0.1637^{EFGbc}	0.50±0.189^{CDEbc}	0.375±0.183^{BCab}	0.0±0.0^{Aa}
2	0.0±0.0^{Bb}	0.0±0.0^{Bb}	1.0±0.0^{Gc}	0.625±0.183^{DEFbc}	0.375±0.183^{BCab}	0.0±0.0^{Aa}
3	0.0±0.0^{Bb}	0.0±0.0^{Bb}	1.0±0.0^{Gc}	0.875±0.125^{FGc}	0.625±0.183^{Cb}	0.125±0.125^{ABa}
$LSD_{0.05}$ تركيز منظم نمو	1.871 (جذر)	2.109 (جذر)	0.3593 (درجة)	6993.0 (درجة)	2083.0 (درجة)	6521.0 (درجة)
$LSD_{0.05}$ نوع منظم نمو × تركيز منظم النمو	1.919 (جذر)		0.374 (درجة)		0.2862 (درجة)	

(1) تدل الأحرف الكبيرة المختلفة على وجود فروقات معنوية ضمن الصفة المدروسة لكل من منظمي النمو BA وKin عند مستوى معنوية 5 %.
(2) تدل الأحرف الصغيرة المختلفة على وجود فروقات معنوية ضمن العمود الواحد (ضمن تراكيز منظم النمو الواحد) عند مستوى معنوية 5 %.
النتائج في الجدول: متوسطات القراءات M ± الخطأ القياسي SE.

مرحلة الأقلمة:

بلغت نسبة النباتات الناجية من النُبَيِّتَات المجذرة عند الأجرد لاذنيّ الأوراق بعد نهاية عملية الأقلمة 83.6 %، والتي كانت جاهزة للعدوى ثم النقل إلى الحقل.

المناقشة:

بَيَّنَت النتائج أن أفضل المعاملات للإكثار الخضري الدقيق للأجرد صفصافي الأوراق *H. salicifolium* كانت المعاملة بمنظم النمو Kin بتركيز 1.5 مغ.ل$^{-1}$، وهذا يتوافق مع نتائج دراسات على أنواع أخرى من الأجرد (Morte و1992 ،Honrubia؛ López وزملاؤه، 2004؛ مندو وزملاؤه، قيد النشر - ب). إذ أعطى تفرعاً عالياً نسبياً (4.25 فرع/ النُبَيِّت)، واستطالةً عاليةً (11.57 سم)، وتَوَرُّقاً عالياً (44.0 ورقة)، وتشكلاً منخفضاً ومقبولاً للكالُّوس (0.25 درجة)، مع انعدام التجذير العفوي، وارتفاع درجة تزجج النُبَيِّتات بشكل كبير (1 درجة)، وتفوقت هذه المعاملة على الشاهد من حيث التفرع والاستطالة والتَوَرُّق (2.75 فرع/النُبَيِّت، 5.73 سم، 25.25 ورقة/النُبَيِّت على التوالي)، في حين لم تتفوق أية معاملة على الشاهد من حيث التجذير العفوي والتزجج وتشكل الكالُّوس (2.5 جذر/النُبَيِّت، 0.375 درجة، 0.0 درجة على التوالي)، وبلغت النسبة المئوية للنُبَيِّتَات المُجَذِّرَة بعد معاملة تحسين التجذير 47.5 %. أما معاملات BA فلم تتفوق أي منها على الشاهد بشكل معنوي، وكانت أفضلها معاملة التركيز 2 مغ.ل$^{-1}$، إذ أعطت تفرعاً منخفضاً نسبياً (3.125 فرع)، واستطالةً متدنيةً (4.14 سم)، وتَوَرُّقاً قليلاً (26.75 ورقة)، ودرجة تزجج عالية (0.75 درجة)، ويتوافق هذا مع دراسة سابقة على الأجرد *H. inaguae*، إذ بيَّنت الأثر الكبير لمنظم النمو BA في تحريضه على تزجج النُبَيِّتات (López وزملاؤه، 2006)، مع انعدام كل من التجذير وتشكل الكالُّوس.

يُلاحظ مما سبق أن معاملة منظم النمو Kin بتركيز 1.5 مغ.ل$^{-1}$ كانت ممتازةً من حيث التَفَرُّع والاستطالة وتشكل الأوراق وانعدام تشكل الكالُّوس، ولكن يعيب هذه المعاملة تثبيطها للتشكل العفوي للجذور بشكل كامل على خلاف دراسات سابقة على أنواع أخرى من جنس الأجرد (Morte وHonrubia، 1992؛ López وزملاؤه، 2004؛ López وزملاؤه، 2006؛ Hamza وزملاؤه، 2012؛ Hamza وNeffati،

2015؛ مندو وزملاؤه، قيد النشر - ب) ، علاوةً عن الدرجة العالية لتزجج النُبَيّتات، مما يدعو للبحث في الحد من ظاهرة التزجج المزعجة في الإكثار الخضري الدقيق للأجرد صفصافي الأوراق *H. salicifolium*، أو تجريب منظمات نمو أخرى كالزياتين (Zeatin)، وإزو بنتنيل أدنين (2iP) (2-isopentenyladenine) التي دُرِسَت على أنواع أخرى للأجرد (M'Kada وزملاؤه، 1991؛ Hamza وNeffati، 2015)، لاختبار كفاءة كل منها في إكثار هذا النوع السوري والوقوف على الجوانب السيئة لكل منها في العملية.

وبينت النتائج أيضاً أن أفضل المعاملات للإكثار الخضري الدقيق للأجرد لاذنيّ الأوراق *H. ledifolium* كانت المعاملة بمنظم النمو Kin بتركيز 0.75 مغ.ل$^{-1}$، ويتوافق هذا مع نتائج سابقة لدراسات أُجريت على أنواع أخرى من الأجرد (Morte وHonrubia، 1992؛ López وزملاؤه، 2004؛ مندو وزملاؤه، قيد النشر- ب) ، إذ أعطت هذه المعاملة تفرعاً عالياً نسبياً (4.625 فرع/النُبَيّت)، واستطالة عاليةً (10.26 سم)، وتَوَرُّقاً كبيراً (49.5 ورقة)، وتزججاً بدرجة مقبولة (0.375 درجة)، مع انعدام كلي للتجذير العفوي على خلاف دراسات سابقة على أنواع أخرى من الأجرد والتي كانت جيدة التجذير العفوي (Morte وHonrubia، 1992؛ López وزملاؤه، 2004؛ López وزملاؤه، 2006؛ Hamza وزملاؤه، 2012؛ Hamza وNeffati، 2015؛ مندو وزملاؤه، قيد النشر ب)، وانعدام تشكل الكالُّوس. وبلغت نسبة النُبَيّتات المجذرة بعد معاملة تحسين التجذير 77.5 %، ويُلاحظ تفوق هذه المعاملة على الشاهد من حيث التفرع والاستطالة والتَوَرُّق (2.5 فرع/النُبَيّت، 4.30 سم، 24.75 ورقة/النُبَيّت على التوالي)، وكانت هذه النتائج أفضل من نتائج معاملات منظم النمو BA بشكل عام، والتي كانت أفضلها معاملة التركيز 0.75 مغ.ل$^{-1}$ من حيث التفرع (3.25 فرع/النُبَيّت)، والاستطالة (4.39 سم)، والتَوَرُّق (32.75 ورقة/النُبَيّت)، وانعدام كلي للتجذير العفوي، وارتفاع درجة التزجج (0.6125 درجة)، ويتوافق هذا مع دراسة سابقة على نوع آخر من الأجرد هو *H. inaguae*، إذ بيَّنت الأثر الكبير لمنظم النمو BA في تحريضه على تزجج النُبَيّتات (López وزملاؤه، 2006)، وتشكل الكالُّوس بدرجة مقبولة (0.25 درجة). وبمقارنة المتوسطات السابقة يمكن القول أن منظم النمو Kin كان أفضل من BA في الإكثار الخضري الدقيق للأجرد لاذنيّ الأوراق*H. ledifolium*، إذ إن أكثر ما يعيب معاملات منظم النمو BA هو انخفاض جميع المعايير الأساسية للإكثار الخضري الدقيق: التفرع والاستطالة والتَوَرُّق، وتحريضها على زيادة المعايير السيئة للإكثار: التزجج وتشكل الكالُّوس.

إن تسجيل وجود ظاهرة التزجج عند الأجرد صفصافي الأوراق *H. salicifolium* في معاملة الشاهد على مستنبت MS المعياري دون وجود أي منظمات نمو، وكذلك عند النوع *H. ledifolium* في معاملات منظمي النمو BA وKin بتراكيز منخفضة على خلاف نتائج دراسات سابقة (Morte وHonrubia، 1992؛ López وزملاؤه، 2004) تُعدّ ظاهرةً تستحق الدراسة والتفسير، وتؤشر إلى حساسية هذين النوعين إلى واحد أو أكثر من مكونات مستنبت MS المعياري ولكن بدرجات متفاوتة بين النوعين، إذ أظهر الأجرد صفصافي الأوراق حساسيةً أعلى من الأجرد لاذنيّ الأوراق، الأمر الذي تؤكده نتائج الدراسة، ولاسيما عندما تَحَّسَن التجذير عند نقل النُبَيّتات إلى المستنبت ½MS، إذ انخفضت تراكيز العناصر المعدنية الكبرى في هذا المستنبت إلى النصف، وقد يعزى هذا لحساسية الأنواع البرية التي تقطن البيئات الجافة وشبه الجافة للتراكيز العالية لشاردة الأمونيوم NH_4^+ في مستنبت MS المعياري، الأمر الذي قد تفسره حقيقة أن الشكل الرئيس للآزوت N المعدني في تُرَب المناطق الجافة، جيدة التهوية، قليلة أو عديمة المادة العضوية، هو النترات NO_3^-، بينما الشكل الرئيس له في تُرَب المناطق الرطبة، وعالية المحتوى من المادة العضوية، أو التُرَب الحامضية، هو الأمونيوم NH_4^+ (Xu وزملاؤه، 2012)، فقد أَوصى Morte وAndrino (2014) بضرورة التعديل في تركيب المستنبت MS المعياري، بحيث يُخَفَّض تركيز شاردة الأمونيوم مع الحفاظ على التركيز النهائي لشاردة النترات NO_3^- بحيث تنخفض النسبة النهائية للأمونيوم/النترات NO_3^- / NH_4^+، وذلك عند الإكثار الخضري الدقيق لأنواع جنس الأجرد *Helianthemum*، فقد استبدلا جزءاً من نترات الأمونيوم بنترات الكالسيوم، وأشارا إلى أن أفضل نسبة للأمونيوم/النترات في المستنبت المعدل لإكثار الأجرد *H. almeriense* كانت تتراوح ضمن المجال 0.13 و0.39 بدلاً من النسبة في الشاهد (مستنبت MS المعياري) وهي 0.52، وذلك بسبب حساسية أنواع هذا الجنس لتركيز الأمونيوم المرتفع. وقد أشارت دراسات إلى أن لزيادة الأمونيوم تأثيرات عدة ضارة في نمو النبات، إذ يَحْرُم الخلية من القدرة على تعديل الضغط الأسموزي، وتتراوح أعراض السمية به من شحوب الأوراق، والتوقف التام للنمو، ونقص الغلة حتى تصل إلى الموت، ومن الأعراض الأخرى لسميته تدني نسبة الجذور/الأفرع، وتثبيط إنتاش البذور، وإعاقة تكوّن البادرات (Britto وKronzucker، 2002)، إضافةً إلى التزجج الذي يُعَدّ التسمم بالأمونيوم أحد مُسَبباته (Asunción Morte، Personal communication)، وهذا يستدعي تعديل تركيب المستنبت MS ليلاءم هذا النوع في المستقبل، أو تجريب تراكيز مخففة للعناصر الكبرى في المستنبت: MS$_{1/8}$، MS$_{1/4}$، MS$_{1/2}$ (Morte وHonrubia، 1992).

الاستنتاجات والمقترحات:

- كانت أفضل المعاملات لإكثار النوعين المدروسين هي معاملة Kin بتركيز 1.5 مغ.ل$^{-1}$ للأجرد صفصافي الأوراق *H. salicifolium*، و0.75 مغ.ل$^{-1}$ للأجرد لاذنيّ الأوراق *H. ledifolium*.
- يمكن اعتماد بروتوكول الإكثار الخضري الدقيق للأجرد صفصافي الأوراق *H. salicifolium* والأجرد لاذنيّ الأوراق *H. ledifolium*، الذي وَصَّفَتْهُ هذه الدراسة، كخطوة أولى في عملية الإنتاج الكمي لشتول الأجرد المُعْدَاة بفطر الكمأة، مع العمل على تحسينه في المستقبل.
- يجب توسيع الدراسة لتشمل سلوك هذين النوعين مع منظمات نمو أخرى دُرِسَت سابقاً على أنواع أخرى من الأجرد كالـ Zeatin و2iP، لاختبار كفاءة كل منهما في الإكثار الخضري الدقيق لهذين النوعين المحليين، ومقارنتها بكفاءة الـ Kin.
- يجب التوسع في دراسة المستنبت MS المُعَدَّل من قبل Morte وAndrino (2014) في الإكثار الخضري الدقيق لهذين النوعين المحليين خصوصاً، وفي أنواع الأجرد الأخرى المنتشرة في سورية عموماً، باعتبارها أنواعاً تقطن بيئةً جافةً، ولا سيما أنه من المتوقع أن تبدي حساسيةً إزاء الأمونيوم في مستنبت MS المعياري.
- يجب التوسع في دراسة تأثير المستنبت MS المعدل من قبل Morte وAndrino (2014) في التجذير العفوي لهذين النوعين واسعي الانتشار في سورية.

تنويه: مُوِّلَ هذا البحث من قبل الهيئة العامة للتقانة الحيوية، وأُنْجِزَ في مختبرات قسم التقانات الحيوية النباتية لديها.

شكر وتقدير:

يتقدم فريق البحث بجزيل الشكر للأستاذة الدكتورة Maria Asunción Morte، من كلية البيولوجيا بجامعة مورثيا (إسبانيا) لتقديمها بذور أنواع الأجرد المختبرة، بالإضافة للمشورة والتعاون العلمي. كما يتقدم فريق البحث بجزيل الشكر للأستاذ الدكتور محمد فواز العظمة من كلية الزراعة بجامعة دمشق (سورية) للمساعدة الكبيرة التي قدمها لإنجاح هذا العمل.

Acknowledgements:

The authors are grateful to Prof. Maria Asunción Morte from Faculty of Biology, University of Murcia (Spain) for her valuable helps, which made this work possible. We are also grateful to Prof. Mohammed Fawaz Alazmeh from Faculty of Agriculture, University of Damascus (Syria) for his supporting and collaboration in this work.

المراجع

- أكساد .2008. أطلس نباتات البادية السورية، منشورات المركز العربي لدراسات المناطق الجافة والأراضي القاحلة (أكساد)، دمشق، سورية. 513 ص.
- سنكري محمد نذر .1977. بيئات ونباتات ومراعي المناطق الجافة وشديدة الجفاف السورية حمايتها وتطويرها، منشورات جامعة حلب، حلب، سورية. 793 ص.
- مندو حجازي، وبسام بياعة، ومحمد موفق يبرق، وفهد البيسكي، ومحمد فواز العظمة (2017). تحسين نسبة إنبات بذور أربعة أنواع من أجرد الكمأة *Helianthemum* باستخدام بعض معاملات البذور. المجلة العربية للبيئات الجافة/ أكساد.
- مندو حجازي، وبسام بياعة وفهد البيسكي (قيد النشر - ب). تأثير بعض منظمات النمو النباتية في الإكثار الخضري الدقيق لنوعين معمرين من نبات أجرد الكمأة: *Helianthemum almeriense* (L.) Mill و*H. violaceum* (L.) Mill. المجلة السورية للبحوث الزراعية.

- Al-Oudat, M., A. K. Salkini and J. Tiedemen. 2005. Major native plant species in Khanasser area, Syria (Al- Hass and Shbeith Mountains). *ICARDA, Aleppo*, Syria. 16 p.
- Andrino, A., A. Morte and M. Honrubia. 2011. Method for the production of mycorrhizal Cistaceae plants with desert truffle. (Revisión) *Spanish Invention Patent*. Registry number: 201100216.
- Awameh, M., A. ALsheikh and S. Ghawas. 1979. Mycorrhizal synthesis between *Henianthemum ledifolium*, *H.*

salicifolium and four species of *Terfezia* and *Tirmania* using ascospores and mycelial cultures obtained from ascospores germination. Proceedings 4th North American Conference on Mycorrhizae. Fort Collins Colorado, USA.

- Awameh, M.S. 1981. The response of *Helianthemum salicifolium* and *H. ledifolium* to infection by the desert truffle Terfezia boudieri. *Mush. Sc*., 11: 843-853.
- Azcón-Aguilar, C., J.M. Barea, S. Gianinazzi and V. Gianinnazzi-Pearson 2009. Mycorrhizas: Functional Processes and Ecological Impact. DOI: 10.1007/978-3-540-87978-7_15. *Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. German* : 221-233.
- Brickell, C. 1989. Gardeners' encyclopedia of plants and flowers. *Dorling Kindersley*, London.
- Britto, D.T. and H.J. Kronzucker. 2002. NH4 toxicity in higher plants: *a critical review. J. Plant Growth Regul.* 29(4): 477-584.
- Chang, S.T. and W.A Hayes. 1978. The biology and cultivation of edible mushrooms. Academic, New York.
- Gutiérrez, A. 2001. Caracterización, micorrización y cultivo en campo de las trufas de desierto. Doctoral thesis, *University of Murcia*, Spain.
- Hall, I.R., G.T. Brown and A. Zambonilli.2007. Taming The Truffle, the history, lore, and science of the ultimate mushroom. *Timber Press,* Inc. Portland, Oregon, U.S.A. 304 p.
- Hamza A., L. Hamrouni, M. Hanana, F. Hamza, G. Maher and M. Neffati 2012. *In vitro* Micropropagation of *Helianthemum lippii* L.var *sessiliflorum* (*Cistaceae*): A Valuable Pastoral Plant. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 11 (5): 652-655.
- Hamza, A., and M. Neffati. 2015. Germination and in vitro multiplication of *Helianthemum kahiricum*, a threatened plant in Tunisia arid areas. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 14(12): 1009-1014.
- Honrubia, M., A. Cano and C. Molina-Niñirofa. 1992. Hypogeous fungi from southern Spanish semiarid lands. Personia, 14: 647-653.
- Iriondo, J.M., C. Moreno and C. Pérez. 1995. Micropropagation of six Rockrose (*Cistus*) species. *Hort Science*, 30:1080-1081.
- Kovács, G.M., C. Vagvolgyi and F. Oberwinkler. 2003. *In vitro* interaction of the truffle *Terfezia terfezioides* with *Robinia pseudoacacia* and *Helianthemum ovatum*. *Folia Microbiol*, 48 (3): 360-378.
- López; G. 1982. La Guía de Incafo de los arboles y arbustos de la Península Ibérica. Incafo, Madrid, Spain.
- López, S.I., J.C. Luis, M. Ravelo Armas and F. Valdés González. 2004. *In vitro* propagation of *Helianthemum bystropogophyllum* Svent., a rare and endangered species from Gran Canaria (Canary Islands). *Botánica Macaronésica*, 25: 71-77.
- López, I.S., F.V. González and J.C. Luis. 2006. Micropropagation of *Helianthemum inaguae*, a rare and endangered species from the Canary Islands.Bot. Macaronesica, 26: 55-64.
- M'Kada, J., N. Dorion and C. Bigot.1991. In vitro propagation of *Cistus* ×*purpureus* Lam. *Elsevier Science Publishers* B.V., Amsterdam. *Scientia Horticulturae*, 46: 155-160.
- Morte, M.A. and M. Honrubia. 1992. *In vitro* propagation of *Helianthemum almeriense* Pau (*Cistaceae*). *Agronomie*, 12: 807-809.
- Morte, A., A. Gutiérrez and M. Honrubia. 2008. Biotechnology and cultivation of desert truffles. In: Varma A (ed) Mycorrhiza: Biology, Genetics, Novel Endophytes and Biotechnology. 3rd edition. *Springer, Germany*: 467-483.
- Morte, A., M. Zamora, A. Gutiérrez and M. Honrubia. 2009. Desert Truffle Cultivation in Semiarid Mediterranean Areas. In: Mycorrhizas Functional Processes and Ecological Impact Chapter 15. C. Azcón-Aguilar *et al*. (eds.), *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*: 221-233.
- Morte, A., A. Andrino, M. Honrubia and A. Navarro-Ródenas. 2012. Terfezia cultivation in arid and semiarid soil. In: Zambonelli A. and G.M. Bonito (eds) Edible ectomycorrhizal mushrooms. Siol biology, vol 34. *Springer*, *Heidelberg*, *Berlin*. DOI: 10.1007/978-3-642-33823-6-14.
- Morte, A. and A. Andrino. 2014. Domestication: Preparation of Mycorrhizal Seedlings. In: Kagan-Zur V., N. Roth-Bejerano, Y. Sitrit and A. Morte (eds) Desert Truffles: Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication.

DOI 10.1007/978-3-642-40096-4_21. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Soil Biology*, 38(21): 343-365.
- Mouterde; P. 1966. Nouvelle flore du Liban et de la Syrie. 3 Tome + Atlas: *DAR El- Mashreq, Beyrouth, Liban.* 563 p. (in French)
- Murachige T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and biossays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, 15: 473-497.
- Pérez-García, F., and M.E. González-Benito. 2006. Seed germination of five *Helianthemum* species: Effect of temperature and pre-sowing treatment. *J. Arid Environ* 65:688-693.
- Polunin, O., and A. Huxley. 1972. Flowers of the Mediterranean. *Chatto and Windus*, *London*, 260 p.
- Post, G. 1932. Flora of Syria, Palestinae and Sinai. Volumes I: *American Press, Beirut*. 928 p.
- Slama, A., Z. Fortas, A. Boudabous and M. Neffati. 2010. Cultivation of an edible desert truffle (*Terfezia* boudieri Chatin). *African Journal of Microbiology Research* Vol. 4(22): 2350-2356.
- Torrente, P., A. Navarro-Ródenas, A. Gutiérrez and A. Morte. 2009. Micropropagacion de *Helianthemum hirtum* y micorrización *in vitro* con micelio de *Terfezia claveryi*. VIII Reunión de la Sociedad Española de Cultivos *in vitro* de Tejidos Vegetales, Murcia, Spain.
- Xu, G., X. Fan and A. J. Miller. 2012. Plant nitrogen assimilation and use efficiency. *Ann. Rev. Plant Biol*. 63: 153-182.
- Zambonelli, A. and G.M. Bonito. 2012. Edible ectomycorrhizal mushrooms, current knowledge and future prospects. ISBN: 978-3-642-33822-9. *Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. Soil biology*, vol (34): 409 p.
- Zamora M., A. Morte, A. Gutiérrez and M. Honrubia. 2006. *Helianthemum violaceum* Pers., a new host plant for mycorrhizal desert truffle plant production. *5th Inter Conf Mycorrhiza, Granada, Spain*, 223 p.

N° Ref: 853