مجلة جامعة النهرين المجلد ١٥ العدد(٣) أيلول، ٢٠١٢ ص ٤٢-٥٠
العلوم

الأكثار الدقيق لثلاثة اصناف من العنب الاوربي *Vitis vinifera* L. خارج الجسم الحي

كاظم محمد ابراهيم* ، خليل ابراهيم رشيد** و ثامر حميد خليل***
* كلية العلـوم ، جامعة النهرين ، بغداد– العراق.
** الكلية التقنية الطبية ، هيئة التعليم التقني ، بغداد– العراق.
*** الكلية التقنية المسيب ، هيئة التعليم التقني ، بابل – العراق.

الخلاصة

استخدمت تقنية زراعة الانسجة في اكثار ثلاثة اصناف من العنب الاوربي ***Vitis vinifera*** L. هي فرنسي اسود، حلواني وكمالي. درس تأثير اضافة السايتوكاينينين بنزل ادنين (BA) والكاينتين (Kin) في عدد الافرع واطوالها. عولجت ظاهرة الاسمرار في الوسط الغذائي الناتجة عن اكسدة المواد الفينولية بإضافة 100 ملغم/ لتر من حامض الاسكوربك مع 150 ملغم/ لتر من حامض الستريك الى الوسط الزرعي مع غمر الاجزاء النباتية بالماء لمدة 24 ساعة قبل زراعتها. اثرت اضافة BA بتركيز 1 ملغم/ لتر في تضاعف عدد الافرع حيث بلغ 2.6، 2.4 و2.4 فرع/ نبيته للافرع الناتجة من زراعة العقد المفردة و 2.4، 2.3 و2.2 فرع/ نبيته للافرع الناتجة من زراعة اطراف الافرع للاصناف المدروسة على التوالي. وبلغ معدل طول الافرع 4.3، 3.4 و2.7 سم للافرع الناتجة من زراعة العقد المفردة و 4.6، 3.7 و3.0 سم للافرع الناتجة من زراعة اطراف الافرع للاصناف المذكورة على التوالي. اما الكاينتين فقد اعطى 2.4، 2.4 و 2.2 فرع/ نبيته عند التركيز 0.1 ملغم/لتر على التوالي. بينت نتائج اقلمة النبيتات الناتجة من الزراعة النسيجية للاصناف الثلاثة على اوساط الزراعية: بيت موس فقط، بيت موس: رمل (1:1) ورمل فقط وتبين ان الوسط بيت موس: رمل حقق اعلى نسبة نجاح وصلت الى 80% ولاسيما عند تغطية النبيتات في اثناء الاسابيع الاربع الاولى بالبلاستك الشفاف. كما وجد ان اضافة محلول يحتوي على املاح MS بنصف او ربع قوة بين مدة واخرى مفيد في انتاج نباتات قوية النمو.

الكلمات المفتاحية: زراعة الانسجة النباتية، العنب، *Vitis vinifera* L.، الاكثار الدقيق.

المقدمة Introduction

يعود العنب ***Vitis vinifera*** L. الى العائلة العنبية Vitaceae ويصنف ضمن الاعناب الاوربية European grapes، وهو من الفاكهة واسعة الاستهلاك في العالم نظراً لقيمتها الغذائية العالية حيث تحتوي حبات العنب على الماء والسكريات والبروتينات والدهون والفيتامينات وبعض المواد المعدنية وكذلك الاحماض الامينية والعضوية (السعيدي، 1982). ويستخدم لاغراض طبية ايضاً بوصفه منشطاً لخلايا المخ وعضلات القلب (الاشرم وعبدول، 1985). ويستخدم في علاج مرض السرطانCancer therapy حيث يثبط تكوين التورم Tumer، ايقاف تلف الحامض النووي DNA، ايقاف انتقال الخلايا الاعتيادية الى الحالة السرطانية ويستخدم كشراب كحولي (Juanita وآخرون، 1990).

تعد طريقة الاكثار بالعقل الخشبية هي الاكثر شيوعاً في انتاج شتلات العنب التي تقتصر زراعتها في فصل الشتاء وقبل بداية الربيع حيث تزرع العقل اما بأرض المشتل مباشرة او في اكياس الاكثار او السنادين والتي تحتاج الى جهد وكلفة عالية ومادة نباتية كثيرة (Ibrahim وMajeed، 2001).

اما في مجال الاكثار الدقيق للنبات فيتم بوضع الجزء النباتي على وسط زرعي مناسب لغرض التضاعف وتعاد الزراعة على وسط جديد (Fresh medium) حيث يمكن الحصول على العديد من النباتات قد تصل الى عدة ملايين خلال السنة الواحدة بدءاً بعزل طرف فرع منفرد (Dodds وRoberts، 1995).

تمكن Heloir وآخرون (1997) بأكثار صنف العنب الاوربي Pinot Noir خارج الجسم الحي عن طريق البراعم الابطية Axillary buds المأخوذة من العقل الدقيقة (Microcuttings) المزروعة على الوسط MS مع اضافة السايتوكاينين BA بتركيز 2.25 ملغم/ لتر ولمدة شهر واحد ثم أعادة الزراعة (Subculture) على الوسط نفسه مع تقليل تركيز BA الى ١.٠ ملغم/ لتر، حيث قطعت الافرع الى عقد مفردة (Single nodes) وعند وصول الافرع الى الطول المناسب نقلت الى وسط التجذير وهو الوسط السابق نفسه مضافاً اليه 0.5 ملغم/ لتر من الاوكسين IBA. كما درس Mosquera وآخرون (1997) تأثير نوع الجزء النباتي لبعض اصناف العنب الاوربي بزراعة اجزاء نباتية من اطراف الافرع والعقد حيث وجد ان عدد الافرع كان اكبر في العقد مقارنة بأطراف الافرع فضلاً عن حصول زيادة في عدد العقد لكل فرع.

وقام Lee وWetzstein (1990) بزراعة البراعم الابطية لنبات العنب بعد قطعها مع جزء من الساق بطول 1-0.5 سم تحوي عقدة واحدة على الوسط MS المجهز بمستويات مختلفة من السايتوكاينينات والاوكسينات وحصلوا على زيادة في عدد الافرع. أشار Peros وآخرون (1997) الى اكثار(32) صنفاً من العنب *V. vinifera* في ضمنها سبعة هجن بواسطة البراعم الابطية واعيدت الزراعة كل 4-8 اسابيع على وسطي اكثار خاليين من الهرمونات هما G90, M64 واثبتوا ان جميع الاصناف قد نجحت بالزراعة خارج الجسم الحي على الوسط M64 مع ظهور اختلافات واضحة بينها في عدد العقد، ارتفاع الساق وعدد الجذور. وقد طور Barlass وSkene (1980) طريقة لأكثار العنب خارج الجسم الحي من خلال تشجيع تكون البراعم العرضية على اجزاء من نهايات الافرع اذ اخذت القمة النامية للفرع بطول 2-1 ملم مع 2-3 من مبادئ الورقة (Leaf primordial) وزرعت على الوسط الملائم ونتج عنها افرع عديدة ناتجة من البراعم العرضية وصل طول بعضها الى 3 سم بعد مرور 60 يوم من الزراعة وبعد اعادة زراعة الافرع امكن الحصول على 8000 نبات خلال 3 اشهر وكانت جميع النباتات الناتجة ثنائية العدد الكروموسومي (Diploid).

تهدف الدراسة الحالية الى الاكثار الدقيق لبعض اصناف العنب التي تأقلمت تحت ظروف العراق والتي ثبت نجاحها واقبال المستهلك عليها وهي فرنسي اسود، حلواني وكمالي والتي لم يسجل اكثارها بالزراعة النسيجية سابقاً، وانتاج شتلات عنب من الاصناف الثلاثة على مدار السنة بغض النظر عن المواسم الزراعية، وايجاد افضل طريقة لأقلمة شتلات العنب المكثرة خارج الجسم الحي.

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

الجزء النباتي: تم الحصول على المادة النباتية (الجزء النباتي) على شكل عقل بطول 15 سم خلال شهر تشرين ثاني. وضعت العقل في وعاء يحوي ماء حنفية الى ثلثه داخل غرفة النمو وعلى درجة حرارة 25ْم مع تبديل الماء كل 2-3 يوم لحين ظهور الافرع الخضرية بعد حوالي 15-20 يوم. وبعد وصول الافرع الى طول يتراوح بين 5-7 سم قطعت الى نوعين من الاجزاء النباتية هي اطراف الافرع (Shoot tips) وعقد مفردة (Single nodes) تحوي برعم واحد وبطول 1 سم.

تعقيم الجزء النباتي: استعملت مادة هايبوكلورات الصوديوم NaOCl بتركيز 1.0% وبمدة 15 دقيقة لتعقيم الاجزاء النباتية لأصناف العنب المدروسة واضيف اليها 2-3 قطرات من المادة الناشرة Tween-20 لتسهيل عملية انتشارها على الجزء النباتي، غسلت بعدها الاجزاء النباتية ثلاث مرات بالماء المقطر المعقم ولمدة 5 دقائق في كل مرة حيث اصبحت جاهزة للزراعة.

الوسط الغذائي: حضر الوسط الغذائي مختبرياً من مجموعة املاح وفيتامينات الوسط الزرعي (Murashige و Skoog، 1962) MS مع اضافة السكروز ومنظمات النمو ومادة المايوانوسيتول (Myoinositol). حضرت محاليل الاصل Stock solutions للعناصر الغذائية الكبرى والصغرى والفيتامينات.

زراعة الاجزاء النباتية: زرعت الاجزاء النباتية على الوسط الزرعي MS ثم نقلت الانابيب المزروعة الى غرفة النمو (Growth chamber) وحضنت على درجة حرارة 25±1ْ م وشدة اضاءة 3000 لوكس وبفترة ضوئية 16 ساعة/ يوم.

المواد الفينولية: نفذت عدة تجارب للحد من تأثير المواد الفينولية، اشتملت على استعمال مضادات الاكسدة Anti oxidants التي شملت حامض الاسكوربك Ascorbic acid بتركيز 100 ملغم/ لتر وحامض الستريك Citric acid بتركيز 150 ملغم/ لتر منفردة او معاً. استعمل الوسط الغذائي MS المصلب بالآكار بنسبة 0.7% وحضنت الزروعات بالظروف السابقة نفسها. استعملت 10 مكررات وبمعدل انبوبة لكل مكرر وحسبت النسبة المئوية للاسمرار وظهور المواد الفينولية في الوسط الزرعي كما يأتي:

النسبة المئوية للاسمرار=عدد الانابيب التي ظهر فيها/ العدد الكلي للمعاملة X 100

مرحلة التضاعف: نقلت الافرع الناتجة من المرحلة السابقة ومن المعاملة 1 ملغم/ لتر BA الى الوسط MS الذي تم تهيئته لغرض التضاعف، حيث زرعت افرع بطول 1.5 سم في اوعية الزراعة وبعدد 4 افرع لكل وعاء لتشجيع عملية التضاعف وحضنت الزروعات كما اشير اليها سابقاً. تم تسجيل البيانات من حيث عدد الافرع وطولها بعد 4 اسابيع من الزراعة.

تأثير اضافة السايتوكاينينات: اجريت هذه التجربة لمعرفة تأثير تراكيز مختلفة من السايتوكاينينات وهي البنزل ادنين (BA) والكاينتين (Kin) في نمو وتضاعف افرع اصناف العنب المدروسة، اذ تم اضافة (0، 1، 1.5 أو 2.5) ملغم/ لتر من BA و(0.1 أو0.2) ملغم/ لتر من الـ Kin كل على حدة الى الوسط الغذائي MS بنصف قوة الاملاح لبيان تأثير الاضافة على تضاعف الافرع واطوالها.

مرحلة الاقلمة: استعملت ثلاث أوساط زراعية هي البيتموس Peat moss، الرمل وخليط البيتموس مع الرمل (1:1). عقمت هذه الأوساط باستعمال جهاز التعقيم بالبخار على درجة حرارة 121 مْ وضغط 1.04 كغم/ سم^2 لمدة ١٥ دقيقة لضمان للتخلص من المسببات المرضية. استخرجت النبيتات المجذرة من أنابيب الزراعة وغسلت بماء الحنفية الجاري للتخلص من بقايا الآكار العالق في جذورها. استعمل محلول المبيد الفطري (Benlate) بتركيز 0.2% بغمر النبيتات فيه لبضع ثواني لأجل الوقاية من الفطريات، ثم زرعت النبيتات في أصص بلاستيكية ورفعت الرطوبة النسبية في محيط منطقة الزراعة خلال الأسابيع الثلاثة الأولى بتغطية النبيتات بالبلاستك الشفاف للسماح بنفاذ الضوء وزيادة قدرة النبيتات على تصنيع غذائها بنفسها، تم تثقيب الغطاء البلاستيكي الشفاف بشكل متساوي للسماح بتبادل الغازات. استمر ري النبيتات بالماء مع إعطائها محلول مغذي يحوي املاح MS بربع قوة ثم نصف قوة خلال الاسبوعين الثاني والثالث وقوة كاملة خلال الاسبوع الرابع بعدها رفع الغطاء البلاستيكي كلياً. نقلت النبيتات بعدها الى سنادين فخارية قطر 20 سم داخل الظلة الخشبية مع استمرار عملية الري بالماء حسب حاجة النبات، واستعمل السماد الورقي رشاً على الاوراق كل 10 أيام فضلاً عن استمرار الرش بالمبيد الفطري كل اسبوعين لتقليل فرص نمو الفطريات على النباتات. سجلت البيانات الخاصة بنسب النجاح لأصناف العنب المدروسة وللاوساط المستعملة في الاقلمة كافة. اخضعت جميع البيانات الى التحليل الاحصائي كتجارب عاملية باستعمال التصميم العشوائي الكامل (CRD)، وتم حساب قيمة اقل فرق معنوي (LSD) على مستوى احتمال 0.05 (الراوي وخلف الله، 1982).

النتائج والمناقشة Results and Discussion

معالجة ظاهرة الاسمرار: اظهرت نتائج الجدول (1) ان اضافة موانع اكسدة المركبات الفينولية مثل خليط حامض الاسكوربك وحامض الستريك بمقدار 100 و150 ملغم/ لترعلى التوالي، كان هو الاكثر كفاءة في الحد من ظهور الاسمرار في الوسط الغذائي ويلاحظ ايضاً بأنه عند خلطهما معاً لم يظهر أي اسمرار في الوسط الغذائي اما استعمال كل منهما على انفراد فقد وصل الاسمرار الى 10% من اوعية الزراعة لكل منهما في حين وصل الى 30% من الاوعية في معاملة المقارنة، وان تغطيس الاجزاء النباتية بالماء لمدة 24 ساعة قبل زراعتها على الوسط الغذائي لم يكن كافياً للتخلص من ظاهرة الاسمرار، ويتفق هذا مع ما اشار اليه Collin و Edwards (1998) اللذان بينا امكانية الحد من تأثير المواد الفينولية وذلك بوضع النسيج النباتي في الماء المقطر المعقم طوال الليل مباشرة قبل زراعته على الوسط الغذائي واضافة مضادات الاكسدة اذا دعت الحاجة لذلك.

جدول (1)

كفاءة بعض مضادات الاكسدة في الحد من اكسدة المواد الفينولية على الاجزاء النباتية واسمرار الوسط الغذائي.

المواد المستعملة *	الكمية المضافة (ملغم/ لتر)	% الاسمرار
المقارنة	---	30
حامض الاسكوربك	100	10
حامض الستريك	150	10
حامض الاسكوربك + حامض الستريك	150+100	0
* تم تغطيس الاجزاء النباتية بالماء لمدة 24 ساعة قبل زراعتها على الوسط الغذائي.		

مرحلة التضاعف

تأثير BA والـ Kin: درس تأثير تراكيز مختلفة من BA (0، 1.0، 1.5 او 2.5) ملغم/ لتر والـ Kin (0، 0.1 او 0.2) ملغم/ لتر في عدد الافرع واطوالها لاصناف العنب المدروسة عند ثبات تركيز IAA بمقدار 0.25 ملغم/ لتر.

يتضح من الجدول (2) ان لاضافة BA تأثيراً معنوياً في تضاعف الافرع الناتجة من زراعة العقد المفردة، فقد اظهرت المعاملات (1، 1.5 و2.5) ملغم/ لتر تفوقاً معنوياً لجميع الاصناف المدروسة حيث بلغ معدل عدد الافرع للصنف فرنسي اسود (2.6، 2.4 و2.6) فرع/ نبيته وللصنف حلواني (2.4، 2.4 و2.2) فرع/نبيته.

جدول (2)

تأثير تراكيز مختلفة من BA في معدل عدد الافرع الناتجة من العقد المفردة واطراف الافرع لثلاثة اصناف من العنب المزروعة على الوسط الغذائي ½MS مضافا اليه 0.25 ملغم/ لتر من IAA.

الاصناف	BA ملغم/ لتر	عدد الافرع/ نبيته	
		عقد مفردة	اطراف الافرع
فرنسي اسود	0.0	1.6	1.4
	1.0	2.6**	2.4**
	1.5	2.4**	2.4**
	2.5	2.6**	2.5**
		LSD 0.05 = 0.457	LSD 0.05 = 0.488
حلواني	0.0	1.4	1.2
	1.0	2.4**	2.3**
	1.5	2.4**	2.2**
	2.5	2.2**	2.4**
		LSD 0.05=0.490	LSD 0.05=0.412
كمالي	0.0	1.4	1.2
	1.0	2.4**	2.2**
	1.5	2.3**	2.2**
	2.5	2.2**	2.4**
		LSD 0.05=0.466	LSD 0.05=0.402

اما الصنف كمالي فقد اعطى معدل (2.4، 2.3 و2.2) فرع/ نبيته على التوالي. واختلفت جميع المعاملات معنوياً عن معاملة المقارنة التي اعطت (1.6، 1.4 و1.4) فرع/ نبيته للاصناف فرنسي اسود، حلواني وكمالي على التوالي.

اما تأثير BA في معدل عدد الافرع الناتجة من زراعة اطراف الافرع فقد اظهر سلوكاً مشابهاً حيث تفوقت المعاملات المشار اليها اعلاه معنوياً على معاملة المقارنة، اذ بلغ معدل عدد الافرع (2.4، 2.4 و2.5) فرع/ نبيته للصنف فرنسي اسود و (2.3، 2.2 و2.4) فرع/ نبيته للصنف حلواني وقد اعطى الصنف كمالي معدل (2.2، 2.2 و2.4) فرع/ نبيته على التوالي. واختلفت جميع المعاملات معنوياً عن معاملة المقارنة التي اعطت معدل (1.4، 1.2 و1.2) فرع/ نبيته بحسب تسلسل الاصناف.

بينت نتائج الجدول (3) تأثير الـ Kin بالتركيزين (٠.١ و 0.2) ملغم/ لتر في تضاعف الافرع للاصناف

الثلاثة، حيث اظهرت المعاملة 0.1 ملغم/ لتر تفوقاً معنوياً في عدد الافرع للصنف فرنسي اسود بلغ 2.4 فرع/ نبيته واعطت المعاملة 0.2 ملغم/ لتر 2.2 فرع/ نبيته ولم تختلف معنوياً عن معاملة المقارنة التي اعطت معدل 1.6 فرع/ نبيته. ولم تظهر أية فروقات معنوية بين المعاملات للصنف حلواني حيث اعطت المعاملة 0.1 ملغم/ لتر اكبر عدد من الافرع بلغ 2.4 فرع/ نبيته تلتها المعاملة 0.2 ملغم/ لتر التي اعطت 2.2 فرع/ نبيته بينما اعطت معاملة المقارنة 1.4 فرع/ نبيته، وظهر تأثير معنوي للمعاملتين 0.1 و0.2 ملغم/ لتر من الـ Kin في معدل عدد الافرع للصنف كمالي حيث بلغ 2.2 فرع/ نبيته لكلا المعاملتين واختلفت معنوياً عن معاملة المقارنة التي اعطت 1.4 فرع/ نبيته.

جدول (3)

تأثير تراكيز مختلفة من الكانتين في تضاعف عدد الافرع لثلاث اصناف من العنب المزروعة على الوسط MS ½ مضافا اليه 0.25 ملغم/لتر من IAA.

الاصناف	Kin (ملغم/لتر)	عددالافرع/ نبيته
فرنسي اسود	0.0	1.6
	0.1	2.4*
	0.2	2.2
		LSD
حلواني	0.0	1.4
	0.1	2.4
	0.2	2.2
		LSD
كمالي	0	1.4
	0.1	2.2*
	0.2	2.2*
		LSD

ويتضح من نتائج هذه الدراسة استجابة العقد المفردة واطراف الافرع للتراكيز المدروسة من السايتوكاينينات وهذا يعود الى دورها المعروف في كسر السيادة القمية مما يؤدي الى زيادة عدد الافرع الناتجة من نمو البراعم الجانبية اذ ان اضافة السايتوكاينين شجع نمو بادئات البراعم الابطية الموجودة في اباط الاوراق للقمة النامية (عبدول، 1987).

اما طول الافرع الناتجة من العقد المفردة فقد ظهر من نتائج الجدول (4) تأثير معنوي جداً للمعاملتين ١.٠ و1.5 ملغم/ لتر من BA في زيادة طول الافرع للصنف فرنسي اسود بلغ 4.3 و3.3 سم على التوالي وتفوقتا على المعاملة 2.5 ملغم/ لتر التي اعطت معدل طول بلغ 2.4 سم والتي لم تختلف عن معاملة المقارنة والتي بلغ فيها 2.6 سم. كما تفوقت المعاملتان ١.٠ و 1.5 ملغم/ لتر في زيادة معدل طول الافرع للصنف حلواني على المعاملة 2.5 ملغم/ لتر حيث اعطيا معدل طول بلغ 3.4 و2.7 سم في حين بلغ 2.5 سم عند معاملة المقارنة وقد تفوقت الاخيرة معنوياً في زيادة معدل طول الافرع على المعاملة 2.5 ملغم/ لتر التي لم توثر معنوياً في معدل الطول وبلغ معدل الطول عندها 2.0 سم. اما الصنف كمالي فقد اظهرت المعاملة ١.٠ ملغم/ لتر تفوقاً معنوياً في زيادة معدل طول الافرع على المعاملتين 1.5 و2.5 ملغم/ لتر حيث بلغ معدل الطول 2.7، 2.2 و1.9 سم على التوالي. كما ظهر تأثير معنوي لمعاملة المقارنة في زيادة طول الافرع وقد تفوقت معنوياً على المعاملتين 1.5 و2.5 ملغم/ لتر اذ اعطت معدل طول بلغ 2.4 سم. اما طول الافرع الناتجة من زراعة اطراف الافرع فقد بينت النتائج تفوق المعاملتان ١.٠ و 1.5 ملغم/ لتر من BA معنوياً على المعاملة 2.5 ملغم/ لتر للصنف فرنسي اسود حيث بلغ معدل الطول فيها 4.6، 3.3 و2.7 سم على التوالي وتفوقت معاملة المقارنة معنوياً على المعاملة 2.5 ملغم/ لتر اذ اعطت معدل طول بلغ 2.9 سم. وتفوقت المعاملة ١.٠ ملغم/ لتر من BA للصنف حلواني على بقية المعاملات في زيادة معدل طول الافرع حيث بلغ المعدل فيها 3.7 سم بينما اعطت المعاملتان 1.5 و2.5 ملغم/ لتر 3.0 و2.4 سم على التوالي ولم يؤثرا معنوياً في زيادة معدل الطول كما لم يختلفا عن معاملة المقارنة التي بلغت 2.8 سم.

جدول (4)

تأثير تراكيز مختلفة من BA في طول الافرع الناتجة من زراعة العقد المفردة واطراف الافرع لثلاثة اصناف من العنب المزروعة على الوسط الغذائي MS ½ والمضاف اليه 0.25 ملغم/لتر من IAA.

الاصناف	BA ملغم/ لتر	طول الافرع (سم)	
		عقد مفردة	اطراف الافرع
فرنسي اسود	0.0	2.6	2.9*
	1.0	4.3**	4.6**
	1.5	3.3**	3.3**
	2.5	2.4	2.7
		LSD 0.05=0.412	LSD 0.05=0.081
حلواني	0.0	2.5*	2.8
	1.0	3.4**	3.7**
	1.5	2.7**	3.0
	2.5	2.0	2.4
		LSD 0.05=0.299	LSD 0.05=0.379
كمالي	0.0	2.4*	2.3
	1.0	2.7**	3.0**
	1.5	2.2	2.3
	2.5	1.9	2.2
		LSD 0.05=0.316	LSD 0.05=0.343

اما الصنف كمالي فقد سلك سلوكاً مشابهاً للصنف حلواني وذلك بتفوق المعاملة 1 ملغم/ لتر على بقية المعاملات في زيادة معدل طول الافرع حيث بلغ 3.0 سم. اما المعاملتان 1.5 و 2.5 ملغم/ لتر فقد بلغ معدل الطول فيهما 2.3 و2.2 سم على التوالي ولم يختلفا عن معاملة المقارنة التي اعطت 2.3 سم. يلاحظ من خلال النتائج ان المعاملة 1 ملغم/ لتر من BA كانت متفوقة معنوياً في معدل طول الافرع بينما كان اقل معدل للطول عند المعاملة 2.5 ملغم/ لتر ولجميع الاصناف المدروسة. وتتفق هذه النتائج مع ما وجده Heloir وآخرون (1997) الذين اكدوا استعمال الوسط MS المجهز بـ 1 ملغم/ لتر من BA في زراعة العقد المفردة للعنب الأوربي صنف Pinot Noir. اضافة BA الى الوسط الغذائي الى تحفيز نمو وتكوين الافرع من البراعم الابطية للافرع المزروعة وبجميع التراكيز. وحصلت زيادة في عدد الافرع للنبيتات الناتجة من زراعة العقد المفردة مع انخفاض في معدل طولها مقارنة بالنبيتات الناتجة من زراعة اطراف الافرع التي اعطت اقل عدد من الافرع ولكنها اكثر طولاً. وتتفق هذه النتائج مع ما حصل عليه (Diaz وآخرون، 1997) الذين وجدوا ان العقد المفردة اعطت اكبر عدد من الافرع / نبيته واقل طول مقارنة بأطراف الافرع للعنب الاوربي صنف Albarino.

من خلال نتائج هذه الدراسة يتضح ان وجود BA في الوسط الغذائي له الأثر في تحفيز البراعم الابطية لافرع العنب المزروعة، الذي قد يرجع الى دور السايتوكاينين المعروف في تشجيع نمو البراعم الابطية وتحررها من تأثير السيادة القمية حيث تقوم القمة النامية بتصنيع الاوكسين الذي يتحرك نحو الاسفل عبر البراعم في العقد ويثبط نموها (عبدول،1987). وظهر ان للسايتوكاينين دوراً في تشجيع تكوين البراعم العرضية على الانسجة المزروعة (Barlassو Skene، 1980) حيث ادت اضافته الى تشجيع تكون هذه البراعم عند قاعدة الافرع وتطورها الى افرع عرضية (Adventitious shoots)، وتعد هذه العملية من الطرق المتبعة في عدد كبير من الانواع النباتية التي تكون براعم عرضية ومنها نبات العنب.

ووجد ان تأثير اضافة الـ BA كان اكبر من تأثير الـ Kin في تحفيز نمو العقد المفردة وأطراف الافرع حيث اوضحت الدراسة اختلاف استجابة الاجزاء النباتية المزروعة للسايتوكاينين المضاف وقد يعزى السبب في زيادة فعالية السايتوكاينين الى احتواء السلسلة الجانبية على آصرة مزدوجة واحدة او اكثر، حيث يحتوي الـ BA على ثلاث اواصر مزدوجة في سلسلته الجانبية مقارنة بالكاينتين الذي يحتوي على اصرتين فقط. وتبين نتائج الدراسة ان التراكيز العالية نوعما من BA ادت الى تقليل عدد الافرع او تشوه الافرع، وقد يعزى السبب الى ان مثل هذه التراكيز تعد ذات تأثير تثبيطي، وتجمعها يؤدي الى زيادة في عمليات الهدم نسبة الى ما يبنى (محمد واليونس، 1991). اما من حيث طول الافرع فأن زيادة تراكيز BA في الوسط الغذائي ادى الى نقص في طول الافرع، وربما تؤدي هذه الزيادة الى تقليل دور

الاوكسين داخل الافرع والمسؤول عن انقسام خلايا الساق باتجاه المحور الطولي مما يؤدي الى انخفاض نسبة طول الافرع. وينصح باضافة الـ BA الى الاوساط الغذائية في الاكثار لتأثيره الواضح مقارنة بالـ Kin، وهذا يتفق مع ما توصل اليه (Hussey، 1980)الذي اشار الى ان BA من اكثر السايتوكاينينات تأثيراً وارخصها ثمناً، لذا يضاف لغرض تقليل كلف الاكثار خارج الجسم الحي.

مرحلة الاقلمة: اظهرت نتائج جدول (5) نسب نجاح نباتات العنب المنقولة من الزراعة النسيجية الى اوساط الاكثار بيتموس فقط، بيتموس: رمل بنسبة 1:1 ورمل فقط للاصناف فرنسي اسود، حلواني وكمالي بعد مرور 4 و8 اسابيع من نقل النبيتات الى هذه الاوساط. ان نسب نجاح نباتات الصنف فرنسي اسود كانت 70، 80 و20% لأوساط الاكثار على التوالي خلال المرحلة الاولى من الاقلمة واحتفظت النباتات بالنسب نفسها بعد مرور 8 اسابيع عدا وسط الرمل فقد انخفضت النسبة الى 10% . وكانت نسب نجاح نباتات الصنف حلواني 70، 80 و10% على التوالي خلال الشهر الاول من الاقلمة وانخفضت خلال الشهر الثاني الى 60، 70 و10% على التوالي وسلكت نباتات الصنف كمالي المنحى نفسه.

لوحظ من نتائج الجدول حصول انخفاض كبير في نسبة نجاح النباتات على وسط الرمل ويعود السبب الى عدم احتفاظ هذا الوسط بالماء فضلاً عن افتقاره للمواد الغذائية. كما تبين حصول نسب نجاح عالية للصنف فرنسي اسود واستمرارها الى نهاية مدة الاقلمة البالغة 8 اسابيع ويعود السبب الى قوة هذا الصنف وغزارة نموه حيث كان متفوقاً على بقية الاصناف في جميع التجارب.

جدول (5)

نسب نجاح ثلاثة اصناف من العنب بعد مرور 4 و8 اسابيع من نقلها الى ثلاثة اوساط زراعية لغرض الاقلمة.

الوسط	% النجاح					
	فرنسي اسود		حلواني		كمالي	
	4 اسابيع	8 اسابيع	4 اسابيع	8 اسابيع	4 اسابيع	8 اسابيع
بيتموس	70** (56.79)+	70** (56.79)	70** (56.79)	60 (50.77)	70** (56.79)	60 (50.77)
بيتموس : رمل(1:1)	80** (63.44)	80** (63.44)	80** (63.44)	70** (56.79)	80** (63.44)	70** (56.79)
رمل	20 (26.56)	10 (18.44)	10 (18.44)	10 (18.44)	10 (18.44)	10 (18.44)
LSD 0.01= 4.75			LSD 0.05= 3.34			
+ القيم المحصورة بين قوسين تمثل قيم التحويل الزاوي Arc sine						

ومن خلال هذه الدراسة وجد ان غسل النبيتات بالماء الجاري بعد اخراجها من اوعية الزراعة لإزالة بقايا الوسط الغذائي كانت ذات فائدة كبيرة كي لا تكون عرضة لمهاجمة الفطريات لاحتواء الوسط على السكر والآكار، فضلاً عن غمرها في محلول مائي من المبيد الفطري Binlate وبتركيز 1 غم/ لتر لوقاية النباتات من الفطريات، حيث لوحظ موتها عند عدم معاملتها بالمبيد الفطري نتيجة الاصابة الشديدة بالفطريات، وكان لرش النبيتات بالمبيد نفسه بعد مرور اسبوعين من الزراعة دور مهم في منع أي اصابة جديدة قد تتعرض لها.

ومن المهم ضمن برنامج الاقلمة تغطية النبيتات بغطاء بلاستيكي شفاف خلال الاسابيع الاولى من الاقلمة للحفاظ على رطوبة نسبية عالية حولها ومنع جفافها والسماح بنفاذ الضوء وزيادة عملية التركيب الضوئي لكي يقوم النبات

بتصنيع غذاءه بنفسه ويتحول من حالة التغذية الرمية (Heterotrophic) الى حالة التغذية الذاتية (Autotrophic) فضلاً عن ان للاقلمة فائدة في تنظيم آلية عمل الثغور. ويتضح بأن عملية تغطية النبتات يجب ان تستمر 4 اسابيع مع عمل ثقوب مناسبة في الغطاء البلاستيكي الشفاف قبل رفع الغطاء بمدة مناسبة لتقليل الرطوبة المحيطة بالنباتات بشكل تدريجي. ادت تغطية النباتات لمدة اقل الى جفاف قسم كبير منها بسبب زيادة النتح وفقدان الماء من الجو المحيط بالاوراق.

ومن الامور التي تم ملاحظتها ان درجة الحرارة الملائمة لأقلمة نبيتات العنب تراوحت بين 28-30°م في اثناء الاربع اسابيع الاولى و 30-35°م في اثناء الاربع اسابيع الثانية من الاقلمة. ومن المفيد ايضاً اضافة محلول يحتوي على املاح MS بنصف او ربع قوة بين مدة واخرى للحصول على نباتات قوية قادرة على التكيف للبيئة الخارجية. ان هذا الاسلوب في عملية التقسية ثم النقل الى التربة اثبت نجاحه وادى الى اقلمة اكثر من 80% من نباتات العنب الناتجة من الزراعة خارج الجسم الحي. ويشابه برنامج الاقلمة هذا في بعض مفرداته البرنامج الذي اتبعه (Gribaudo، 2002) و(Thomas، 1998) في اقلمة اصناف اخرى من العنب.

المصادر References

[١] الأشرم، محمد عبدالحليم وعبدول، كريم صالح. الاسس العلمية والفسلجية لنبات العنب. الجزء الاول. جامعة صلاح الدين. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جمهورية العراق، (1985).

[٢] الدجوي، علي موسوعة زراعة وانتاج نباتات الفاكهة. الكتاب الثاني. الفاكهة متساقطة الاوراق، (1997).

[٣] الراوي، خاشع محمود وخلف الله، محمد عبد العزيز. تصميم التجارب الزراعية. مطبعة جامعة الموصل. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جمهورية العراق، (1982).

[٤] السعيدي، ابراهيم حسن محمد. زراعة وانتاج الكروم. مطبعة جامعة الموصل. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جمهورية العراق، (1982).

[٥] عبدول، كريم صالح. منظمات النمو النباتية. الجزء الاول. مطبعة جامعة الموصل. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جمهورية العراق، (1987).

[٦] محمد، عبدالعظيم كاظم واليونس، مؤيد احمد. اساسيات فسيولوجيا النبات. الجزء الثالث. مطبعة جامعة بغداد. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.جمهورية العراق، (1991).

[7] Barlass, M. and K. G. Skene. Studies on fragmented shoot apex of grapevine. I. The regenerative capacity of leaf primordial fragments ***in vitro***. J. Exp. Bot. 31: 483-488, (1980).

[8] Collin, H. A. and S. Edwards. Plant Cell Culture. Bios Scientific Publishers, Oxford, U. K., 123-128, (1998).

[9] Diaz, T., M.V. Mosquera, M. C. SanJose and E. Gonzalez. Effect of culture media and explant type on propagation of ***Vitis vinifera*** L. cv. Albarino. International Journal of Experimental Botany. 60:11-15, (1997).

[10] Dodds, J. H., and L.W. Roberts. Experiments in Plant Tissue Culture. Cambridge Press. Second Eddition, (1985).

[11] Gribaudo, I. Vented vessels affect growth rate of ***in vitro Vitis vinifera*** cv.Nebbiolo. Biologia vite via Leonard da vinci 44. (Abst.). (i.gribaudo@cvt.to.cnr.it), (2002).

[12] Heloir, M.C., J. C. Fournioux, L. Oziol and R. Bessis. An improved procedure for the propagation in vitro of grapevine (Vitis vinifera cv.Pinot noir) using axillary-bud microcuttings. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 49(3): 223-225, (1997).

[13] Hussey, G. In Vitro Propagation. In: D. S. Ingram and J. Helgeson (Editors). Tissue culture methods for plant pathologists. Blackwell Scientific Publishers, Oxford.: 51-61, (1980).

[14] Ibrahim, K. M. and S. H. Majeed. The nurseries. Dar Al Kutub, Mosul Univ, Iraq, (2001).

[15] Juanita, P. T., A. B. Richard, K. Zimmerman, and A. Selders. Growing grapes in West Verginia. Extension service. (Abst), (1990).

[16] Kim, S. H. and S. K. Kim. Effect of auxins and cytokinins on callus induction from leaf blade, Petiole and stem segments of ***in vitro*** grown Sheridan grape shoots. J. Plant Biotechnology.,4(1):1-5, (2002).

[17] Lee, N. and H. Y. Wetzstein. ***In vitro*** propagation of Muscadine grape by axillary

Keywords: Plant tissue culture, Grape, *Vitis vinifera* L.

shoot proliferation. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 115(2):324-329, (1990).

[18] Mosquera, M.V.and E. Gonzalez, and M. C. San Jose. Effect of ulture media and explant type on propagation of ***Vitis vinifera*** L. Alberino. Qyton International Journal of Experimental. Botany. Spain.:11-15, (1997).

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

[20] Peros, J. P., L. Torregrosa. and G. Berger. Variability among ***Vitis vinifera*** cultivars in micropropagation, organogenesis and antibiotic sensitivity. Vitis, 37(1): 171-179, (1997).

[21] Thies, K. L. and C. H. Graves. Meristem micropropagation protocols for ***Vitis rotundifolia*** Michx. Hortscience 27(5): 447-449, (1992).

[22] Thomas, P. Humid incubation period and plantlet age influence acclimatizatin and stablishment of micropropagated grapes. Society for ***In vitro*** Biology: 1071-2090, (1998).

Abstract

In vitro techniques were used for the propagation of three grape varieties. They were Ollivate blane, Halawani and Kamali. The effects of Benzyl adenine (BA) and Kinetin (Kin) were studied on shoot number and height. Browning phenomenon in nutrient medium was treated by adding 100 mg/l of ascorbic acid with 150 mg/l of citric acid then soaking the explants for 24 hours in water before culture. BA of 1 mg/ l affected shoot multiplication, reaching to 2.6, 2.4 and 2.4 shoot/ explant formed from single nodes, and 2.4, 2.3 and 2.2 shoot/explant for those formed from shoot tips. Kin at 0.1 mg/l gave 2.4, 2.4 and 2.2 shoot/ explant for the three varieties respectively. Among the three propagation media tested during acclimatization, which were peat moss, peat moss: sand (1:1) and sand only, the peat moss: sand achieved the highest survival rate reaching 80% especially when combined with plantlet covering with plastic. Irrigation with ½ or ¼ strength MS salts improved subsequent plants growth.