المجلة الليبية للعلوم الزراعية
المجلد (16): العددان (1،2) 2011

الإكثار الدقيق لبعض أصول الحمضيات

زهير مصطفى بن سعد[1]، سامي إمحمد مانة[2]، عبد السلام محمد بن حميدة[2]، سعاد مخلوف أبوراوى[1]

1. قسم البستنة ـ كلية الزراعة ـ جامعة طرابلس 2. مركز البحوث الزراعية والحيوانية

المستخلص

من أجل تحقيق الإكثار الدقيق لبعض أصول الحمضيات وهي النارنج (*Citrus aurantium*) الذي يكثر استخدامه في ليبيا وكليوباترا مندارين (*Citrus reshni*) والبرتقال الثلاثي الأوراق (*Trifoliate orange*) *Citrus sinensis* × *Poncirus trifoliata* أخذت عقد مفردة من باذرات نامية في الزجاج (*in vitro*) بعمر 6 أسابيع وزرعت على وسط (Murashige and Skoog 1962)(MS) يحتوي على منظم النمو بنزايل أدنين Benzyl adenine (BA) بتركيز 0.0 ، 0.1 ، 0.5 ، 1.0 و 2.0 ملغم / لتر. تشير النتائج في أصل البرتقال الثلاثي الأوراق إلى أن BA بتركيز 0.5 ملغم / لتر تفوق معنويا على معظم المعاملات في تكوين الأفرخ العرضية وأنه مع زيادة التركيز قلّ عدد الأفرخ العرضية، أما بخصوص نمو الأفرخ الإبطية فلا توجد أي فروق معنوية بين المعاملات. وفي أصل النارنج ساعد وجود BA على تكوين الكالس حيث تفوق التركيز 0.1 ملغم / لتر معنوياً على جميع المعاملات باستثناء 0.5 ملغم / لتر، ولم يحدث أي تكوّن للأفرخ العرضية عند التركيزات المستخدمة. أما في أصل كيلوباترا مندارين فلم يحدث أي تكّون للكالس أو توالد للأفرخ العرضية في جميع التركيزات. ولتجذير الأفرخ العرضية في أصل البرتقال الثلاثي الأوراق استخدم نفتالين حمض الخليك Naphtalene acetic acid (NAA) وإندول حمض البيوتريك Indol-3-butyric acid (IBA) بتركيز 1.0 أو 2.0 ملغم / لتر أو توافيق بينهما بنفس التركيزات. أظهرت النتائج أن NAA منفردا بتركيز 1.0 ملغم / لتر أعطى أعلى نسبة للتجذير (80%) وأعلى عدد للجذور (1.1) في العقد المفردة ، متبوعا بتوافيق منهما بتركيز 0.5 و 1.0 ملغم / لتر بنسبة تجذير 60%، أما IBA فقد كان أقل فعالية تحت ظروف التجربة. تمت أقلمة النبيتات بنجاح في الظروف الطبيعية حيث بلغت نسبة النجاح 80%.

الكلمات الدالة : الإكثار الدقيق، أصول الحمضيات، منظمات النمو.

للاتصال: زهير مصطفى بن سعد
هاتف: 9227 522 92 218+
قسم البستنة- كلية الزراعة - جامعة طرابلس
بريد إلكتروني: zmbensaad@yahoo.com

استلمت بتاريخ: 2010/12/28
اجيزت بتاريخ: 1 /6/ 2011

المقدمة

تعتبر الحمضيات من أهم الفواكه المستديمة الخضرة وتنتشر زراعتها في الوقت الحالي في مساحات واسعة من العالم، واحتلت مركزا متميزا في الاقتصاد والتجارة العالمية، وتشكل غذاءً أساسياً للإنسان بعد أن كان استعمالها مقصوراً على الأعياد الدينية أو الوصفات الطبية عند القدماء. وتنحصر زراعة الحمضيات بين خطي عرض 30 و 40 شمال وجنوب خط الاستواء (المنيسي، 1975)، ويتركز حاليا أكثر من أربعة أخماس مساحة الحمضيات على مستوى العالم في القارة الأمريكية ودول حوض البحر الأبيض المتوسط بالإضافة إلى مناطق شرق وجنوب آسيا، وكذلك الجزء الجنوبي لقارة أفريقيا وأستراليا (إبراهيم وآخرون،1993). وفي ليبيا تنتشر زراعة الحمضيات في الشريط الساحلي الذي يمتد من صرمان غربا إلى القرهبوللي شرقاً والعزيزية جنوباً (أبوضبة وأبوزيادة، 1978).

يتم إكثار الحمضيات تجارياً بالتطعيم على أصول بذرية منها النارنج وكيلوباترا مندارين اللذين يمتازان بمقاومتهما لمرض التصمغ وفيروس الترستيزا كما يُعدان من الأصول الملائمة لجميع أصناف الحمضيات إضافة إلى تحملهما للملوحة بدرجة نسبية، أما أصل البرتقال الثلاثي الأوراق فيمتاز بكونه أصلاً مقزّما ومقاوما للبرودة والتصمغ. وهناك العديد من الأصول الأخرى مثل أصل البرتقال الحلو الذي يتميز بجودة الثمار (المنيسي،1975؛ حسن، 1996).

تعرضت الحمضيات للدراسات المتعلقة بالزراعة النسيجية بشكل واسع سواء فيما يتعلق بالإكثار الدقيق بتكوين الأفرخ العرضية أو الأجنة الجسمية (Gill *et al.*, 1994) أو زراعة البروتوبلاست وغيرها من التقنيات الحيوية (البرقوقي وإدريس،1994، البحر وآخرون،1999). وتشير الأبحاث المنشورة المتعلقة بزراعة الأنسجة في الحمضيات إلى إمكانية استخدام العديد من الأجزاء النباتية للبدء في زراعة الأنسجة مثل العقد المفردة (Moore,1986) والسويقة الجنينية والأوراق والبراعم والأكياس العصيرية (Rangan, 1993, Gill *et al.* 1994) حيث تم تكوين الكالس والأفرخ العرضية من أنواع الشادوك والبرتقال الحلو والزنبوعي (الجريب فروت) والبنزهير واليوسفي (Spiegel–Roy and Vardi, 1984). وفي الغالب استعملت منظمات النمو مثل البنزيل أدينين (BA) ونفتالين حمض الخليك (NAA) والكينتين (Kinetin) لتكوين الكالس من العقد المفردة في اصول النارنج وكيلوباترا مندارين وكارنل (Moore,1986) و (Singh *et al.* 1994). كما تم تطوير نظام توالد بتكوين الأعضاء من السلاميات الساقية من بادرات البنزهير المكسيكي والمندارين باستعمال (BA) وNAA (Perez and Alejo, 1997). كما استنبط (Van Lee *et al.*, 1999) طريقة تتمثل في استزراع شرائح رقيقة (thin cell layers) من سيقان أصل البرتقال الثلاثي الأوراق على وسط يحتوي على BAP وThidiazuron (TDZ) وتحصلوا على توالد للبراعم بشكل مباشر دون مرورها بمرحلة الكالس.

أما بالنسبة لتجذير الأفرخ الناتجة من الزراعة النسيجية فعادة ما تستعمل الأكسينات مثل نفتالين حمض الخليك (NAA) وإندول حمض البيوتريك (IBA) لتحقيق معدلات تجذير عالية في كثير من الأصول. فقد وجد بعض الباحثين أن أفضل تجذير للأفرخ الناتجة من الزراعة النسيجية كان باستخدام NAA و IBA بشكل منفرد أو بتوافيق منهما (El-Wakeel,1999)، و(Singh *et al.*, 1999)، و(Van-Lee *et al.*, 1999)، و(Moriera *et al.*, 2000)، و(الجبوري وآخرون، 2000) بتركيز تراوح بين 0.1 إلى 1.0 ملغم/لتر.

تهدف هذه الدراسة إلى تشجيع تكوين الأفرخ العرضية ونمو البراعم الإبطية في العقد المفردة وتجذير الأفرخ الناتجة من الزراعة النسيجية في عدد من أصول الحمضيات وهي البرتقال الثلاثي الأوراق *Citrus sinensis×Poncirus trifoliata* والنارنج (الشفشي) *Citrus aurantium* وكليوباترا مندارين *Citrus reshni*.

المواد وطرائق البحث

استخدمت في هذه التجربة عقد مفردة (single nodes) أخذت من باذرات عدد من أصول الحمضيات وهي البرتقال الثلاثي الأوراق *Citrus sinensi × Poncirus trifoliata*

والنارنج (الشفشي) (*Citrus aurantium*) وكليوباترا مندارين (*Citrus reshni*) نامية في البيئة الغذائية (MS) وبعمر ستة أسابيع (Murshige and skoog, 1962). تحتوي هذه العقد المفردة على برعمين إبطيين، ولاختبار تأثير منظم النمو على تكوين الأفرخ العرضية وتشجيع نمو البراعم الإبطية استخدم وسط (MS) يحتوي على منظم النمو (BA) بتركيز 0.0 و0.1 و0.5 و1.0 و2.0 ملغم/لتر، وبعد تحضير الوسط الغذائي تم تعقيمه في جهاز التعقيم بالبخار على درجة حرارة 121°م ولمدة 15 دقيقة، ثم وزّع 20 مليلتر من الوسط المعقم في أوعية استزراع (Jars) سعة 100 مليلتر. زرعت 3 عقد مفردة في كل وعاء حيث وزعت الأوعية عشوائيا في غرفة النمو تحت ظروف الإضاءة (24 ميكرول/م^2/ث) وهي تعادل (Lux 2000) باستعمال مصابيح فلورسنت بيضاء باردة وطول فترة إضاءة 16 ساعة إضاءة/8 ساعات ظلام، ودرجة حرارة تتراوح بين (22-25°م). وبالنسبة لتجذير الأفرخ النامية المتكونة فقد تم استئصالها من المستأصلات الأصلية وزرعت على وسط (MS) مضافا إليه منظمات النمو (IBA) أو (NAA) بتركيز 0.0 أو 1.0 أو 2.0 ملغم/لتر أو توافيق منهما بتركيز (0.0 + 0.0)، (0.5 + 0.5) و(1.0 + 1.0) ملغم/لتر حيث زرعت الأفرخ في أنبوب استزراع (Culture Tube) يحتوي 5 مليلترات من الوسط الغذائي ووضعت في الظلام لمدة 3 أيام ثم نقلت إلى ظروف الإضاءة المتبعة في التجربة.

عند نهاية التجربة بعد 8أسابيع من الاستزراع سجّلت القراءات المتعلقة بنسبة العقد المفردة التي كونت كالس (Callus) وعدد الأفرخ العرضية (النامية من الكالس) لكل عقدة مفردة وعدد الأفرخ النامية من البراعم الإبطية وعدد الأوراق بها، ونسبة التجذير في الأفرخ النامية وعدد الجذور. نقلت النبيتات إلى وسط إنماء عبارة عن خليط من الرمل الناعم (Sand) والكمبوست (Compost) بنسبة (1:1) حجما تم تعقيمه بالبخار. أجريت عملية الأقلمة للنباتات داخل صندوق مغطى بطبقة من البولي إيثيلين بتقليل الرطوبة النسبية تدريجيا على مدى أسبوعين وسجلت نسبة النباتات الحيّة بعد شهر. صممت التجربة بالنظام العشوائي الكامل (CRD) باستخدام 5 مكررات (كل مكرر عبارة عن وعاء استزراع يحتوي على 3 مستأصلات). تم تحليل البيانات إحصائيا باستخدام تحليل التباين، وعند وجود فروق معنوية تم حساب أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى 5%.

النتائج والمناقشة

تأثير BA على خصائص النمو الخضري:

تشير النتائج إلى أن استخدام منظم النمو (BA) وبجميع التراكيز قد شجع على تكوين الكالس على قواعد العقد المفردة في أصل البرتقال الثلاثي الأوراق حيث وصلت النسبة إلى 100% في جميع التركيزات فيما لم يحدث تكوين للكالس في معاملة المقارنة (الجدول 1)، ومن المعروف دور (BA) في تشجيع الانقسام الخلوي في الأنسجة المزروعة (Gaspar *et al.*,1996)، أما بالنسبة للتوالد بتكوين الأفرخ العرضية من الكالس فقد حدث فقط عند تركيز 0.5 و1.0 و2.0 ملغم/لتر ولم يحدث أي توالد في المقارنة أو 0.1 ملغم/

الجدول 1. تأثير BA على نسبة تكوين الكالس وعدد الأفرخ العرضية و الإبطية وعدد الأوراق في العقد المفردة في أصل البرتقال الثلاثي الأوراق بعد 8 أسابيع من الاستزراع.

الخاصية	BA (ملغم/لتر) 0.0	0.1	0.5	1.0	2.0	اقل فرق معنوي عند مستوى 5 %
نسبة الكالس (%)	0	100	100	100	100	غ.م*
عدد الأفرخ العرضية	0	0	15	12.7	7.8	3.4
عدد الأفرخ الإبطية	1.1	1.5	1.3	1.5	1.1	غ.م
عدد الأوراق	4.0	8.3	6.5	9.3	5.6	3.13

* غ.م = غير معنوي.

لتر. وتشير النتائج إلى تفوق (BA) بتركيز 0.5 ملغم/لتر معنويا على باقي التراكيز باستثناء 1.0 ملغم/ لتر بالنسبة لتكوين الأفرخ العرضية حيث كان معدلها 15 و12.7 و7.8 أفرخ لكل عقدة مفردة لكل من 5.0 و1.0 و2.0 ملغم/لتر على التوالي. وتعتبر هذه النتائج في التوالد العرضي مشجعة وتشابه أو تفوق بعض المعدلات الواردة في بعض الأوراق المنشورة، فقد أشار كل من (Perez and Alejo,1997) إلى أن متوسط عدد الأفرخ العرضية لكل عقدة مفردة في البنزهير المكسيكي والمندارين تراوح بين 7.8 و5.1 على التوالي عند استخدام منظم النمو (BA)، كما أشار (Al-Bahrany, 2002) إلى أن أكبر عدد من الأفرخ العرضية (9 أفرخ لكل مستأصل) تم الحصول عليه عند استخدام (BA) بتركيز 2 ملغم/لتر، كما تتشابه هذه النتائج مع ما وجده (Saini *et al.*, 2010) في أن أعلى نسبة للتوالد العرضي من فلقات الليمون المخرفش (Rough lemon)

الشكل 1 : تكّون الكالس على قواعد العقد المفردة (يمين) ونمو البراعم الإبطية على العقد المفردة (يسار) في أصل البرتقال الثلاثي الأوراق.

كان باستخدام (BA) بتركيز 0.5 ملغم/لتر وبمتوسط 8.6 برعم لكل مستأصل، كما أشار (Begum *et al.*,2003) إلى أن أعلى عدد للأفرخ المتكونة من كالس فلقات الشادوك (Pummelo) هو 6.5 نمو خضري لكل مستأصل عندما استخدم (BA) بتركيز 1 ملغم/لتر مع (NAA) بتركيز 5 ملغم/لتر.

ويوضح الشكلان (1و 2) تكوين الكالس والأفرخ العرضية النامية من العقد المفردة لأصل البرتقال الثلاثي الأوراق. هذا ولم تلاحظ فروق معنوية بين المعاملات فيما يتعلق بمتوسط عدد الأفرخ الإبطية النامية الذي تراوح بشكل عام من 1.1 إلى 1.5، أما بالنسبة لمتوسط عدد الأوراق لكل نمو خضري فقد تراوح من 4.0 في معاملة المقارنة إلى 9.3 عند المعاملة بمنظم النمو بتركيز 1.0 ملغم/لتر، وهو نمو ربما يعتبر منخفضاً نسبياً وقد يكون سببه عدم تكون الجذور في هذه المرحلة حيث إن وجود الجذور يساعد على زيادة امتصاص الماء والعناصر الغذائية وبالتالي زيادة النمو الخضري.

وفي أصل النارنج ساعد (BA) على تكوين الكالس إلى حد كبير حيث تفوق التركيز 0.1 ملغم/لتر معنويا على جميع المعاملات باستثناء 0.5 ملغم/لتر حيث وصلت نسبة تكوين الكالس إلى 91% (الجدول 2). هذا و يلاحظ انخفاض نسبة تكوين الكالس بزيادة التركيز من 0.1 إلى 2.0 ملغم/لتر، ولم يلاحظ أي تكون للبراعم العرضية طوال مدة التجربة، وتشير التقارير إلى أن تكوين البراعم العرضية هي خاصية وراثية تختلف حسب الأصناف والأنواع النباتية (Hartmann

(أ) (ب) (ج) (د) (هـ)

الشكل 2 : تأثير منظم النمو BA على تكوين الأفرخ العرضية من العقد المفردة في أصل البرتقال الثلاثي الأوراق:
أ (0.0)، ب (0.1)، ج (0.5)، د (1.0)، هـ (2.0) ملغم / لتر.

الجدول 2. تأثيرBA على نسبة تكوين الكالس وعدد الأفرخ العرضية و الإبطية وعدد الأوراق في العقد المفردة في أصل النارنج بعد 8 أسابيع من الاستزراع.

الخاصية	BA (ملغم/ لتر)					أقل فرق معنوي عند مستوى 5%
	0.0	0.1	0.5	1.0	2.0	
نسبة الكالس(%)	0.0	91.0	58.0	38.0	17.0	35.7
متوسط عدد الأفرخ العرضية	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	غ م*
متوسط عدد الأفرخ الإبطية لكل مستأصل	1.7	1.3	1.2	0.9	0.7	0.5
متوسط عدد الأوراق في النمو الخضري	6.4	6.5	4.2	4.2	2.5	1.5

* غ.م = غير معنوي.

الجدول 3. تأثيرBA على نمو البراعم الإبطية وعدد الأوراق في العقد المفردة في أصل كليوباترا مندارين بعد 8 أسابيع من الاستزراع.

الخاصية	BA (ملغم/ لتر)					اقل فرق معنوي عند مستوى 5%
	0.0	0.1	0.5	1.0	2.0	
متوسط عدد الأفرخ الإبطية لكل مستأصل	1.7	1.9	1.7	1.9	1.7	غ.م*
متوسط عدد الأوراق في النمو الخضري	4.6	7.7	4.5	4.9	4.1	1.6

* غ.م = غير معنوي.

and Kester,1975، وMoore, 1986) ويستلزم لتحقيق التوالد إيجاد حالة من التوازن الهرموني في البيئة الغذائية حيث إن العديد من مظاهر التكشف الخلوي وتكوين الأعضاء في مزارع الأنسجة تكون تحت تحكم التداخل بين السيتوكينين والاكسين (Gaspar *et al.*, 1996) وهذه الظروف ربما لم تتحقق في هذه التجربة. فقد وجد(Sharma *et al.*, 2009) أن أفضل تكوين للكالس من العقد المفردة في أصلي الليمون المخرفش والبرتقال الثلاثي الأوراق عند استخدام الكينتين و(NAA) و2,4-Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) بتركيز 0.5 و2.0ملغم/لتر علي التوالي، فيما لم يتمكنوا من الحصول على أفرخ أو تجذير في البرتقال الثلاثي الأوراق. كما أورد (Carimi and De Pasquale, 2003) التأثير الإيجابي لبعض المركبات العضوية على الزراعة النسيجية في الحمضيات، ومن هذه المركبات مستخلص الخميرة (yeast extract) بتركيز 500 ملغم/لتر كما في حالة إكثار بعض أصناف البرتقال مثل المندارين صنف Kinnow والبرتقال الحلو (السكّري) (Usman *et al.*, 2005)، وفي حالة أخرى اتضح التأثير الايجابي لمركب الكومارين (Coumarine) بتركيز 150 ميكرومول في تشجيع تكوين الأفرخ العرضية من كالس السويقة العليا والزيادة الكبيرة في عدد الأفرخ في أصل (*Swingle citrumelo*).

وفيما يتعلق بعدد الأفرخ الإبطية النامية فقد لوحظ انخفاض تدريجي في متوسط عدد الأفرخ مع زيادة تركيز منظم النمو (BA) أي إنه كانت هناك علاقة عكسية بين زيادة التركيز وعدد الأفرخ الإبطية النامية تحت ظروف التجربة، وقد لا يتوافق هذا مع التأثير المعروف لـ(BA) بتشجيع التفريع الإبطي. ولوحظت فروق معنوية بين معاملة المقارنة و0.5 و1.0 و 2.0 ملغم/لتر (الجدول 2). وفيما يتعلق بعدد الأوراق في الأفرخ النامية فقد ساد نفس الاتجاه حيث انخفض العدد بزيادة تركيز منظم النمو من 6.4 ورقة في المقارنة إلى 2.5 ورقة عند تركيز 2 ملغم/لتر ومن المتوقع أن يحدث انخفاض في عدد الأوراق بانخفاض عدد الأفرخ النامية.

وبالنسبة لأصل كليوباترا مندارين فلم يتكون كالس على العقد المفردة على الإطلاق طوال مدة التجربة، وبالتالي لم يكن هناك توالد عرضي من العقد المفردة (الجدول 3) وعدم فعالية (BA) تحت ظروف التجربة، وربما يتطلب

الجدول 4 . تأثير نفتالين حمض الخليك (NAA) على نسبة التجذير وعدد الجذور في أصل البرتقال الثلاثي الأوراق.

NAA (ملغم/لتر)	نسبة التجذير (%)	متوسط عدد الجذور/نبات
0.0	0.0	0.0
1.0	80.0	1.0
2.0	50.0	1.1
اقل فرق معنوي عند مستوى 5%	35.7	0.8

الجدول 5. تأثير IBA على نسبة التجذير وعدد الجذور في البرتقال الثلاثي الأوراق.

IBA (ملغم/لتر)	نسبة التجذير (%)	متوسط عدد الجذور/نبات
0.0	0.0	0.0
1.0	30.0	0.6
2.0	10.0	0.1
اقل فرق معنوي عند مستوى 5%	غ م	غ م*

*غ م = غير معنوي.

الجدول 6. تأثير NAA و IBA على نسبة التجذير وعدد الجذور في أصل البرتقال الثلاثي الأوراق.

IBA + NAA (ملغم/لتر)	نسبة التجذير (%)	متوسط عدد الجذور/نبات
0.0 + 0.0	0.0	0.0
0.5 + 0.5	60.0	1.1
1.0 + 1.0	60.0	1.2
اقل فرق معنوي عند مستوى 5%	41.2	0.93

الأمر إجراء دراسات أخرى لتحديد الاحتياجات الهرمونية بدقة حيث إن الاستجابة للزراعة النسيجية تعتمد على النوع النباتي (Perez and Alejo,1997).

وفيما يتعلق بالأفرخ الإبطية النامية فإن منظم النمو وبجميع التركيزات لم يكن فعالا ولم يعطي أي زيادة معنوية في عدد البراعم النامية. أما فيما يتعلق بعدد الأوراق النامية على الأفرخ الإبطية فقد تفوق التركيز 0.1 ملغم/لتر معنويا على جميع التركيزات حيث حقق 7.7 ورقة لكل نمو خضري. أشارت دراسة حول الإكثار الدقيق في أصل كليوباترا مندارين إلى إمكانية تكوين الكالس من العقد المفردة باستعمال خليط من منظمات النمو وهي الكينتين و(NAA) و(2,4-D) معاً بتركيز 0.5 و 2.0 و 2.0 ملغم/لتر علي التوالي (Sharma *et al.*,2009).

تأثير NAA و IBA على التجذير:

أشارت النتائج المتعلقة بتجذير الأفرخ النامية في أصل البرتقال الثلاثي الأوراق إلى أن أعلى نسبة تجذير (80%) تحققت عند استخدام (NAA) بتركيز 1.0 ملغم/لتر وهي زيادة معنوية مقارنة بالشاهد (0.0%) كما حقق تركيز 2 ملغم/لتر نسبة تجذير بلغت 50% وكلا التركيزين السابقين تفوقا معنويا على الشاهد الذي لم يحدث فيه تجذير على الإطلاق (الجدول 4). وبملاحظة عدد الجذور فقد كان منخفضا بشكل عام إذ لم يزد فيه العدد عن (1.1) جذر في كل نبات. أشارت تقارير علمية إلى أن متوسط عدد الجذور في أصلي النارنج وكليوباترا مندارين كان 1.34 و 1.27 عند استخدام (IBA) بتركيز 10 ملغم/لتر (Sharma *et al.*, 2009)، بينما ذكر (Singh *et al.*, 1994) أن متوسط عدد الجذور لكل مستأصل في نوعي المندارين والليمون كان 4.3 و4.9 وبنسبة تجذير بلغت 70 و 80% على التوالي.

وفيما يخص تأثير (IBA) على خصائص التجذير فلم تزد نسبة التجذير عن 30% عند تركيز 1.0 ملغم/لتر وبمعدل 0.6 جذر لكل نمو خضري (الجدول 5) مما يشير إلى قلة كفاءة (IBA) مقارنة بـ(NAA) تحت ظروف هذه التجربة، وهذه النتائج تتفق مع ما وجده (Begum *et al.*, 2003) في الشادوك من أن (NAA) كان أفضل من (IBA) في تجذير الأفرخ الناتجة حيث تحصل على نسبة تجذير 100% وبمتوسط عدد 5 جذور لكل نمو خضري عند استخدام (NAA) مقارنة (IBA) الذي كانت فيه نسب التجذير 73% ومتوسط عدد جذور 3 لكل نمو خضري.

كما تشير النتائج إلى أن استخدام (NAA) و(IBA) معاً بتركيز (0.0 + 0.0) و(0.5 + 0.5 ملغم/لتر) قد حقق نسبة تجذير بلغت 60% في كلتا المعاملتين وكانتا أعلى معنوياً من المقارنة وبمتوسط عدد الجذور 1.1 و 1.2 في المعاملتين على التوالي لكل نمو خضري (الجدول 6). أشارت دراسة منشورة فيما يتعلق بتجذير بعض أصول الحمضيات إلى أن أفضل تجذير في أصل الليمون المخرفش كان عند استخدام (NAA) و(IBA) بتركيز 1.0 ملغم/لتر لكل منهما حيث

بلغت نسبة التجذير 77% (Saini *et al.*,2010).

تمت أقلمة النبيتات وحققت معدلات نجاح وصلت إلى 80% والتي تقارب ما أورده كل من (Begum *et al.*, 2003) و(Saini *et al.*,2010) حيث كانت نسبة الأقلمة في الشادوك وأصل الليمون المخرفش 95% و77% على التوالي. وبمتابعة نمو النبيتات خلال شهرين بلغ متوسط الزيادة في طول النباتات حوالي 4.5 سم.

نستنتج من هذه الدراسة أنه لتكوين الأفرخ العرضية (عن طريق الكالس) في قواعد العقد المفردة لأصل البرتقال الثلاثي الأوراق يمكن استخدام (BA) تركيز 0.5 ملغم/لتر ولتجذير الأفرخ يمكن استخدام (NAA) بتركيز 1.0 ملغم/ لتر ونجاح عملية الأقلمة تحت ظروف التجربة. كما أشارت النتائج بشكل عام إلى قلة فعالية (BA) في أصل النارنج وكليوباترا مندارين فيما يتعلق بتكوين الأفرخ العرضية وتشجيع نمو البراعم الإبطية تحت ظروف التجربة.

المراجع

1. إبراهيم، فؤاد عبداللطيف، السيد إبراهيم بكر، أحمد محمد سويدان و ماجدة محمد خطاب. 1993. فاكهة متخصصة. مطبعة مركز التعليم المفتوح. جامعة القاهرة. مصر.
2. أبوضبة، نعيم محمد وإبراهيم أبو زيادة. 1978. الحمضيات في ليبيا نحو الأفضل والأكثر. قسم الإرشاد الزراعي. أمانة الزراعة، طرابلس. ليبيا.
3. البحر، محمد كمال، فؤاد عبد الرحيم ومحمود محمد الصقر. 1999. التكنولوجيا الحيوية النباتية: زراعة الأنسجة. الشركة العربية للنشر والتوزيع، القاهرة. مصر.
4. البرقوقي ، محمود هاشم و محمد حامد إدريس. 1994. زراعة الخلايا والأنسجة والأعضاء. أولاد عثمان للكمبيوتر. مصر.
5. الجبورى، عبد الجاسم محسن جاسم، هاشم كاظم العبيدي، سعد خالد عنان، وزينب عبدالجبار الحسيني. 2000. تأثير حامض الإندول بيوتريك IBA في تجذير أصلي *Troyer citrange* و*Carrizo citrange* خارج الجسم الحي. مجلة التقانة الحيوية. 2 (2):5-15.
6. المنيسي، فيصل عبدالعزيز. 1975 . الموالح؛ الأسس العلمية لزراعتها، دار المطبوعات الجديدة. مصر.
7. حسن، طه الشيخ. 1996. الحمضيات. فوائدها، زراعتها، خدمتها، أصنافها وآفاتها. الطبعة الأولى. منشورات دار علاء الدين. دمشق. سوريا.
8. Al-Bahrany, A. M. 2002. Effect of phytohormones on *in-vitro* shoot multiplication and rooting of lime *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swing. Sci. Horticulturae, 95:285-295.
9. Begum, F.; Amin M.N.; Islam S.; Azad M.A.K. and Rehman M.M. 2003. *In-vitro* plant regeneration from cotyledon-derived callus of three varieties of Pummelo (*Citrus grandis* L. Osb.). Online J. of Biol. Sci.,3(8):751-759.
10. Carimi, F. and De Pasquale, F .2003. Micropropagation of Citrus. *In*: Jain, M.S. and Ishii, K. (Eds.): Micropropagation of Woody Trees and Fruits. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands p:606.
11. El-Wakeel, H. 1999. *In-vitro* rooting study of some promising citrus rootstocks. Annals of Agric. Sci., 44 (2):705-716.
12. Gaspar, T.; Kevers, C.; Penel, C.; Greppin, H.; Reid, D. M. and Thorpe, T. A. 1996. Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue cultures. *In-vitro* Cell. Dev. Biol.- Plant 32:272-289.
13. Gill, M.T.S.; Sing, Z H.; Dhillon B.S., and Gossal S.S. 1994. Somatic embryogenesis and plantlet regeneration on calluses derived from seedling explants of "kinnow" mandarin (*Citrus nobilis* lour × *Citrus deliciosa* Tenora). J. Hort. Sci., 69 (2):231-236.
14. Hartmann, H .T. and Kester, D.D. 1975. Plant Propagation: Principles and Practices. Prentice Hall.– Inc. 3rd ed. London, pp:548-551.
15. Moore, G. A. 1986. *In-vitro* propagation of citrus rootstocks. HortScience, 21 (2):300-301.
16. Moriera, J. M.; Molina, R. V.; Bordon, Y.M.; Guardi, J. L. and Garcia, A. 2000. Direct and indirect shoot organogenic pathways in epicotyle cuttings of Troyer citrange differ in hormone requirements and their response to light. Annals of Bot., 85(1):103-110.
17. Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant., 15:473-497.
18. Perez-Molphe-Balch, E. and Ochoa-Alejo, N. 1997. *In-vitro* plant regeneration of Mexican lime and mandarin by direct organogenesis. HortScience 32(5):931-934.
19. Rangan, T.S. 1993. Clonal propagation of citrus. Plant tissue culture mannual. Kluwer Academic Publisher. The Netherlands, (7):1-18.
20. Saini, H.K.; Gill, M.S and Gill, M.I.S. 2010. Direct shoot organogenesis and plant regeneration in rough lemon (*Citrus jambhiri* Lush.). Ind. J. of Biotechnol.,9:419-423.

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

22. Singh, S.; Ray, B. K.; Bhattacharyya, S. and Deka P.C.1994. *In-vitro* propagation of *Citrus reticulata* (Blanco) and Citrus Limon (Burm. F.). HortScience, 29:214-216.

23. Singh, S.; Ray, B. K. and Deka, P.C.1999. Micropropagation of *Citrus jambhiri* cultivar rough lemon. J. of Interacademicia, 3(2):140-145.

24. Spiegel – Roy; P. and Vardi, A. 1984. Citrus. In: Ammirato, P.V., P. A. Evans, W.R. Sharp, and Y. Yamada (Eds.): Handbook of Plant Cell Culture, Macmillan Pub. Co.pp:355– 370.

25. Usman, M.; Muhammad, S. and Fatima, B. 2005. *In-vitro* multiple shoot induction from nodal explants of citrus cultivars. J. of Cen. Eur. Agric.,6(4): 435-442.

26. Van-Lee, B.; Thana Ha, N.; Anh Hong, L. T. and Tran Thanh Van, K. 1999. High frequency shoot regeneration from trifoliate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf.) using the thin cell layer method. Comptes Rendus de l`Academie des Sciences, Paris, Life Sciences, 322(12):1105-1111.