مجلة اتحاد الجامعات العربية
للعلــوم الزراعيــة
جامعة عين شمس ، القاهرة
مجلد(19)، عدد (1)، 117-127، 2011

التكاثر الخضري الدقيق للوردة الدمشقية

[7]

طارق السمعان[1] – نبيل البطل[2] – خليل المعري[3]
1- قسم علوم البستنة، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سوريا
2- قسم علوم البستنة، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سوريا
3- قسم علوم البستنة، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سوريا

الكلمات المفتاحية: الوردة الدمشقية، التكاثر الخضري الدقيق، زراعة الأنسجة النباتية، الخزعات النباتية، التوافقات الهرمونية

الموجز

يهدف البحث وضع بروتوكول للتكاثر الخضري الدقيق للوردة الدمشقية لإنتاجها بواسطة زراعة الأنسجة النباتية في الصوبات الزجاجية. تم تنفيذ البحث في الهيئة العامة للتقانات الحيوية بدمشق بزرع أربعة أنواع من الخزعات النباتية على وسط (MS) واختبار تأثير بعض العوامل في الأطوار المختلفة للزراعة. بينت النتائج أنه لم تلاحظ أية إصابة فيروسية، وأن أفضل استجابة للنمو كانت في البراعم الجانبية، ثم العقل الجانبية، فالقمم النامية، فالبراعم الطرفية. وقد تحقق أعلى معدل إكثار في التوافق الهرموني (بنزيل أدنينBA بتركيز 3 مجم/لتر مع حمض الأندول الخلي IAA بتركيز 0.1 مجم/لتر)، وتحقق أعلى متوسط لاستطالة النموات في التوافقات الهرمونية (حمض الأندول الخلي IAA بتركيز 0.1 مجم/لتر مع البنزيل أدنين BA بتركيز 2- 6 مجم/لتر) و(حمض أندول الزبدة IBA بتركيز 0.1 مجم/لتر مع البنزيل أدنين BA بتركيز 5- 6 مجم/لتر)، ولوحظ ازدياد مطرد في معدل الإكثار ومتوسط الاستطالة مع كل عملية نقل، وأن أعلى نسب تجذير قد تحققت عند استخدام حمض النفتالين الخلي NAA أو حمض أندول الزبدة IBA بالتراكيز (0.1-0.5 مجم/لتر)، وأن أفضل وسط نمو للتقسية هو (بيتموس: برليت بنسب حجمية 1:1).

(سلم البحث فى 27 ديسمبر 2010)
(ووفق على البحث 17 يناير 2011)

المقدمة

تعد الوردة الدمشقية أحد محاصيل الأزهار الاقتصادية الهامة التي تحظى باهتمام متزايد محلياً وعالمياً نظراً لاحتواء أزهارها على زيت عطري هو زيت الورد "Attar" الذي يعد من الزيوت غالية الثمن جداً.

يعد نوع الوردة الدمشقية Rosa damascena هجين نقي من النوعين: R. gallica x R.moschata **(Katzer, 2003)** له الكثير من الطرز التي تختلف باختلاف عدد بتلات أزهارها ويتم إكثاره عادة إكثاراً خضرياً مثل الفسائل، والعقل، والترقيد، والتطعيم **(Horn,1992 ; Nakkawatchara, 2001)**.

يعد الإكثار بالعقل الساقية من أهم الأساليب التقليدية المستخدمة في إكثاره، لكن على الرغم من أن الإكثار الخضري بالأساليب التقليدية لا يزال شائعاً إلا أنه لا يضمن الحصول على نباتات صحيحة وخالية من الأمراض؛ فضلاً عن سلبياته كعدم إمكانية تنفيذه على مدار العام، والعدد القليل من النباتات الناتجة عنه مما يحد من استخدامه. وخلال السنوات القليلة الماضية كان إكثار الوردة الدمشقية بزراعة الأنسجة النباتية ثورة في الإنتاج الاقتصادي لما يلعبه من دور هام في الإكثار السريع للطرز المختلفة، وما يحققه من مزايا في إنتاج نباتات جيدة النوعية وخالية من الأمراض

الفيروسية (**Bhoomissiri & Masomboon, 2000**) وخاصة بعد انتشار فيروسات تهدد بانقراضها كفيروس موزاييك الورد، وموزاييك التفاح (**Thomas, 1984**).

تمت دراسات عديدة حول الإكثار الخضري الدقيق للورد الدمشقي خلال السنوات الأخيرة شكلت مرجعية في إكثاره باستخدام البراعم والعقل الدقيقة، وأدت إلى فهم عميق للمتطلبات الخاصة لكل مرحلة من مراحل زراعة بالأنسجة النباتية وتطوير بروتوكولات عملية لتلك المراحل (**Pati *et al* 2005**). وقد أوضح Martin **وآخرون (1981)** أنه باستخدام هذه التقنية يمكن إنتاج 400.000 نبات من نبات واحد من الورد الدمشقي خلال سنة واحدة وأكد **Onesto وآخرون (1985)** أن النباتات المتكاثرة بالأنسجة مناسبة جداً لإنتاج الأزهار كما أنها سهلة التنفيذ وتسمح هذه التقنية بزيادة نوعية طرود الورد وتزيد إنتاجيته من الأزهار (**Reist, 1985**)، كما بين **Pati وآخرون (2005)** أن العقل الخضرية الساقية التي أخذت من نباتات الورد الدمشقي المتكاثرة بالأنسجة أعطت نسب تجذير مرتفعة إضافة إلى تفوقها في عدد الجذور وطولها عن النباتات المتكاثرة خضرياً بالعقل الساقية عندما عوملت بهرمون التجذير IBA بتركيز (1000 PPm)؛ بالإضافة إلى أن زراعة الأنسجة النباتية تتميز بإنتاج نباتات سريعة النمو وتؤدي إلى إزهارها المبكر وإنتاجية أكبر بالمقارنة مع النباتات الناتجة عن الإكثار الخضري التقليدي (**Dubois *et al* 1988**).

يعود إكثار الورد الدمشقي "Rosa damascena" بالأنسجة إلى سنة **1982** عندما قام Khosh-Khui & Sink بإكثاره لأول مرة باستخدام البراعم والميرستيمات الجانبية. ويتكون البروتوكول الناجح للإكثار الخضري الدقيق من سلسلة من المراحل لكل منها متطلباتها الخاصة. تلك المراحل هي:

1- مرحلة الزراعة الأولية

تهدف مرحلة الزراعة الأولية إلى الحصول على عينات خالية من التلوث ولها القدرة على النمو داخل الأنابيب، لذلك فمن المهم تطبيق تقنية تطهير سطحي فعالة للقضاء على الأحياء الدقيقة التي يمكن أن تسبب التلوث للعينات المزروعة (**Skirvin *et al* 1990**). ويمكن أن يتم التطهير السطحي للأجزاء النباتية من الورد الدمشقي بالكحول الإيتانولي 70% لمدة 20-30 ثانية متبوعة بكلوريد الزئبق 0.1% لمدة 5-7 دقائق ثم تغطيس بماء مقطر معقم (Rout et al 1989a)، كما يمكن أن يتم باستخدام هيدروكلوريت الصوديوم 5.25% و توين- 20 (0.1%) لمدة 5-10 دقائق متبوعة بغسيل بالماء المقطر المعقم (**Khosh-khui and Sink, 1982a**).

2- مرحلة الإكثار والاستطالة

تعد هذه الخطوة هي المرحلة الحاسمة في الإكثار الخضري الدقيق حيث أن نجاح بروتوكول الإكثار الدقيق يعتمد على معدل الإكثار والاستطالة للنموات الدقيقة. وقد وجد (**Khosh-Khuia & Sink, 1982b**) أن وسط موراشيج وسكوج القياسي MS هو أفضل الأوساط استخداماً لإكثار الورد الدمشقي (**Van der Salm *et al* 1994**)، ويعتمد إكثار النموات بشكل كبير على محتوى الوسط من السيتوكينين مع تركيزات منخفضة من الأوكسينات؛ حيث أكد **Rout وآخرون (1989a)** أن وجود السيتوكينين في الوسط بتركيز معتدل كان قد ساعد في إكثار الورد الدمشقي على مدار العام.

3- مرحلة التجذير

تجذير النموات الدقيقة هو إجراء هام في أي بروتوكول لزراعة الأنسجة النباتية لأنه يسهل تأسيسها في التربة فيما بعد، ويمكن إجراء هذا التجذير إما في الأنابيب أو خارجها، وقد أوضح (**Kirichen Ko,1991**) خلال محاولته إيجاد أفضل عوامل الإكثار بالأنسجة لأصناف الورد التزيينية والعطرية، وجد أن تجذير النموات الدقيقة في أصناف الورد العطرية كان أصعب من أصناف الزينة، وقد بين **Badzian وآخرون (1991)** أن استخدام وسط موراشيج وسكوج (MS) مع العناصر الأساسية الكبرى بتخفيض تركيزه إلى الربع أوالثلث هو أفضل وسط لتجذير النموات الدقيقة من الورد. وقد استخدمت تركيزات

مختلفة من الأكسينات؛ حيث تم تجذير النموات الدقيقة الناضجة بسهولة بزراعتها على وسط MS مضافاً إليه التركيزات التالية من الاكسينات (NAA أو IBA أو IAA) في مدى من (0.1-0.5 ملغ/لتر) **(Hasegawa 1979,1980)**.

4- مرحلة التقسية والزراعة في الحقل

التقسية الناجحة للنبات المتكاثر بالأنسجة ومن ثم نقلها إلى الحقل هي خطوة حاسمة في العمل الاقتصادي لهذه التقنية، وأشار **(Campos & Pais,1990)** إلى أن 85-100% من النباتات المتكاثر نسيجياً من أصناف الورد الدمشقي نمت جيداً في التربة بعد 45 يوم من النقل، وكان معدل النجاح أعلى من الذي ذكر في أنواع الورد الأخرى **(Dubois *et al* 1988; Khosh-Shui and Sink, 1982a&b)**

أهداف البحث ومبرراته

نظراً لأهمية الوردة الدمشقية كوردة وطنية للجمهورية العربية السورية وأهميتها البيئية والاقتصادية الكبيرة، واستخداماتها الطبية والعطرية والغذائية، والخوف من خطر انقراض سلالاتها في البيئة السورية نتيجة إصابتها ببعض الأمراض الفيروسية أو عوامل بيئية خاصة كالجفاف، وانخفاض المساحة المزروعة بالورد الدمشقي في القطر العربي السوري فقد هدف البحث إلى الحصول على نباتات خالية من الأمراض الفيروسية من الورد الدمشقي بوساطة زراعة الأنسجة النباتية بعد جمعها وإكثارها بالأنسجة النباتية، ثم نشر زراعتها.

مواد البحث وطرائقه

1- مكان تنفيذ البحث Location

تم تنفيذ العمل المخبري في مخبر زراعة الأنسجة النباتية في الهيئة العامة للتقانات الحيوية الكائن في كلية الهندسة الزراعية (جامعة دمشق)، أما التقسية والزراعة الحقلية فقد تمت في مزرعة أبي جرش التابعة للكلية نفسها.

2- المادة النباتية المستخدمة Plant Material

سلالة برية من الوردة الدمشقية المنتشرة في قرية الوردة الدمشقية "المراح" التابعة لمحافظة ريف دمشق في الجمهورية العربية السورية.

3- طرائق العمل Methods

أ- تجارب التطهير السطحي

تم أخذ نموات طرفية من كل نبات بطول 10-20 سم، والنموات الطرفية هي في الواقع القمم النامية التي تحوي عدة براعم جانبية بالإضافة إلى البرعم الطرفي. تم غسل القمم النامية بالماء والصابون السائل بشكل جيد ثم بالماء العادي لمدة 15 دقيقة ثم غمرت بالكحول 70% لمدة دقيقة وغسلت بالماء المقطر، وبعد ذلك تم تقسيمها إلى أجزاء صغيرة بطول 5-10 سم وعقمت بعدها سطحياً بنقعها في محلول الكلوروكس (وهو محلول يحوي 5.25% من هيبوكلوريت الصوديوم كمادة فعالة). وقد تمت دراسة بعض العوامل المؤثرة في فعالية التطهير السطحي بحسب الخزعة النباتية المستخدمة:

- تركيز هيبوكلوريت الصوديوم (10- 20- 25%) مع 3 نقاط من توين- 20.
- طول الفترة الزمنية للنقع (10- 15- 20 دقيقة).

غسلت بعدها العينات بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات ثم تم تجهيز العقل الجانبية والقمم النامية والبراعم الجانبية والبراعم الطرفية وهي الأجزاء النباتية التي تمت زراعتها في التجربة.

- تجارب طور الزراعة الأولية (العقل الجانبية، والقمم النامية، والبراعم الجانبية، والبراعم الطرفية):

زرعت الأجزاء النباتية بمعدل 150 عينة من كل جزء نباتي مدروس على وسط مغذ يحوي المحلول المعدني لموراشيج وسكوج (MS) مضافاً إليه المكونات التالية: الثيامين 1 ملجم/ل، الجلوتامين 200 ملجم/ل، بيريدوكسين 1 ملغ/ل، إينوزيتول 100

ملجم/ل، حمض النيكوتين 1 ملجم/ل، الجلايسين 2 ملجم/ل، وقد اختبرت بعض العوامل المؤثرة في طور الزرعة الأولية بحسب الجزء النباتي المزروع.

- نوع الأوكسين مع ثبات التركيز (IAA- NAA-IBA بتركيز 0.1 مغ/لتر).
- البنزيل أدنين BA بتركيز (0-1-2-3-4-5-6 مغ/لتر).

أضيف السكروز بمعدل 30 غ/لتر، وعدلت الحموضة إلى 5.8 قبل إضافة الاجار بمعدل 7جم/ل والفحم النشط 3 جم/لتر، وقد تم تعقيم الأنابيب على درجة حرارة 121ْC لمدة 20 دقيقة قبل زراعتها.

ب- تجارب طور الإكثار

تم استخدام أوساط مشابهة للأوساط المستخدمة في الزراعة الأولية لطوري الإكثار والاستطالة لكن دون إضافة الفحم النشط بهدف الحصول على عدد كبير من النباتات حيث زرعت الأجزاء النباتية داخل أنابيب بقياس 150*24 ملم يحوي كل منها 15 مل من الوسط المغذي بعد تعقيمها مسبقاً بواسطة الأوتوكلاف على درجة حرارة 115ْC لمدة 20 دقيقة **(Khosh-Khui and Sink, 1982b)**. تم نقل الأجزاء النباتية بعد نموها بمعدل مرة كل شهر إلى أنابيب جديدة تحوي وسط مغذ مشابه بهدف الإكثار، وفي كل مرة تم تقسيم الأجزاء النامية إلى أجزاء صغيرة بطول 1-2 سم تحوي 2-3 براعم جانبية.

وقد تمت دراسة بعض العوامل المؤثرة في الإكثار والاستطالة:

- تأثير عدد مرات إعادة الزراعة في مرحلة الإكثار.
- نوع الأوكسين مع ثبات التركيز (IAA- NAA-IBA بتركيز 0.1 مغ/لتر).
- تركيز البنزيل أدنين BA (0-1-2-3-4-5-6 مغ/لتر).

وقد تم خلال هذه التجربة دراسة تأثير عدد مرات النقل في معدل الإكثار ومتوسط استطالة النموات وحسبت النتائج على أساس متوسط 24 عينة لكل معاملة وكررت التجارب مرتين.

ج- تجارب طور التجذير

تم نقل النموات الطرفية بطول 2-3 سم بعد تجزئتها على وسط مغذ جديد بهدف التجذير. احتوى وسط التجذير المحلول المغذي لموراشيج وسكوغ (MS) مضافاً إليه التيامين (1ملغ/لتر)، والإينوزيتول (100 ملغ/لتر). وقد تمت دراسة بعض العوامل المؤثرة في التجذير:

نوع الأوكسين المستخدم (IAA، IBA، NAA).

تركيز الأوكسين المستخدم (0.1، 0.25، 0.5 ملغ/ل).

وأضيف السكروز بمعدل 30 جم/لتر، وفحم حيواني بمعدل 3 جم/ل، والآغار آغار 6 جم/لتر. تم وضع الأنابيب المزروعة في غرف نمو خاصة على درجة حرارة 24±1°م لمدة مع طول فترة إضاءة يومية 16 ساعة. تم خلال هذا الطور دراسة نسبة التجذير ونوعية الجذور (عدد، طول).

د- تجارب مرحلة التقسية

تم نقل النباتات بعد تجذيرها في الأنابيب إلى أصص صغيرة تحوي وسط نمو معقم وقد تمت دراسة تأثير نوع وسط النمو في نسبة النباتات الناتجة حيث تم اختبار أوساط التجذير التالية (برليت، بيتموس حامضي، برليت+بيتموس حامضي بنسبة حجمية 1:1) وضعت تلك الأصص المزروعة بالنباتات المجذرة من الورد الدمشقي في البيت المحمي بحيث كانت الرطوبة النسبية 90% ودرجة الحرارة 25ْم مع المحافظة على الرطوبة المرتفعة في الفترة الأولى لعملية النقل ثم تم تخفيضها تدريجياً حتى تتأقلم النباتات مع الظروف الطبيعية.

هـ- تجارب التأكد من خلو النباتات الناتجة بزراعة الأنسجة من الفيروسات

تم التأكد من خلو النباتات المتكاثرة بالأنسجة من الفيروسين (موزاييك التفاح، وموزاييك الورد) قبل إكثارها بأعداد كبيرة بطريقة الادمصاص المناعي المرتبط بالأنزيم (ELISA) باستخدام طريقة ELISA: (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) **(Clark and Adams, 1977)** فقد تم فحص نباتات

بعمر شهر تقريباً لضمان زيادة تركيز الفيروس إن وجد باستخدام الأجسام المضادة والأجسام المرتبطة بالأنزيم ألكالين فوسفاتاز بعد استخلاص العصارة النباتية باستخدام المنظم الملحي الفوسفاتي 1جم عينة: 10 مل محلول منظم وقد تم الكشف عن الفيروسين باستخدام قارئ ELISA على طول موجة 405 نانومتر.

النتائج والمناقشة

1. زراعة الأنسجة النباتية

- **طور الزراعة الأولية**

لم تتجاوز نسبة الأجزاء النباتية الملوثة بعد أسبوع من عملية الزرع 12% من العينات المزروعة المختلفة، ولم يسجل أي تلوث بعد ذلك. بقيت العينات المزروعة سليمة وخالية من التلوث، وبدأت البراعم بالتفتح والنمو على الوسط المغذي بدءاً من الأسبوع الثاني للزراعة وسجلت النتائج النهائية **(الشكل 1)** بعد ستة أسابيع من عملية الزرع. وقد لوحظ أن أفضل استجابة للنمو كانت في البراعم الجانبية، ثم في العقل الجانبية، فالقمم النامية؛ في حين كانت الاستجابة للنمو في البراعم الطرفية هي الأقل. كما لوحظ أن أعلى نسبة للنمو في البراعم الجانبية تحققت في المعاملتين (20% هيبوكلوريت الصوديوم لمدة 15 دقيقة) و(25% لمدة 10 دقائق)، أما في العقل الجانبية فقد تحققت أعلى نسبة للنمو في المعاملات (20% لمدة 20 دقيقة)، و(25% لمدة 15 دقيقة)، و(25% لمدة 20 دقيقة)، بينما تحققت أعلى نسبة للنمو في القمم النامية في المعاملات (20% لمدة 10، 15،20 دقيقة)، وأخيراً فقد تحققت أعلى نسبة لنمو البراعم الطرفية في المعاملتين (10% لمدة 10، 15 دقيقة).

وقد يعزى ذلك التفاوت في نسب النمو إلى اختلاف طبيعة الأجزاء المزروعة واختلاف حساسيتها للتراكيز المرتفعة من هيبوكلوريت الصوديوم والفترة الزمنية للمعاملة **(Khosh-Khui & Sink,1982a)** وذلك يتوافق مع نتائج **(Skirvin *et al* 1990)**.

لم تلاحظ أية إصابة بالفيروسين المدروسين (فيروس موزاييك الورد، وفيروس موزاييك التفاح).

- **طور الإكثار والاستطالة**

تم تسجيل النتائج **(الشكل 2)** و**(الشكل 3)** بعد شهر من عملية النقل وملاحظة النقاط التالية:

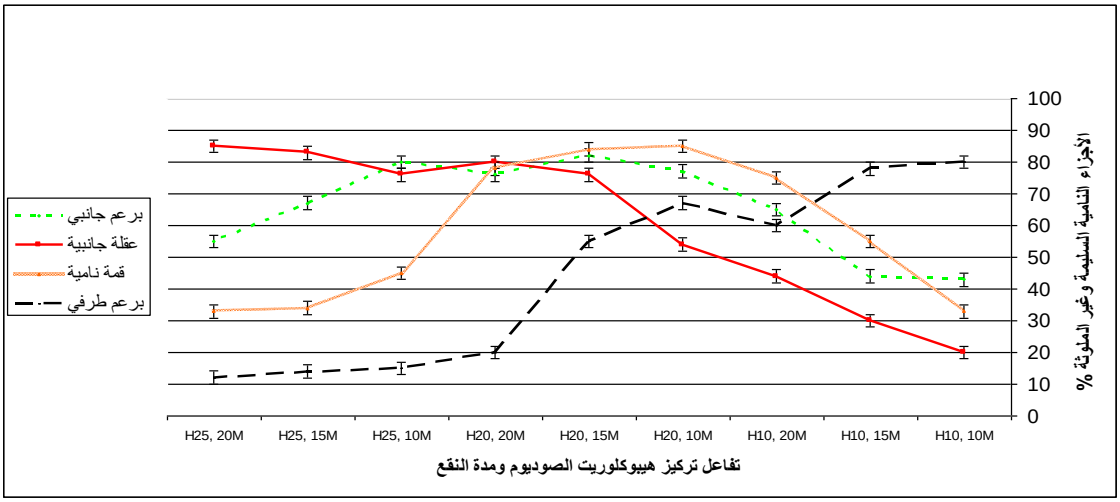
- ازدياد معدل الإكثار بشكل جزئي بالمقارنة مع طور الزراعة الأولية.
- ازدياد في استطالة النموات المتكونة بالمقارنة مع طور الزراعة الأولية.
- تفاوت كبير في معدل الإكثار واستطالة النموات تبعاً للتوافقات الهرمونية كما يلي:

أ. تحقق أعلى معدل إكثار في التوافق الهرموني (BA بتركيز 3 مجم/لتر مع IAA بتركيز 0.1 مجم/لتر) بفروق معنوية عن بقية التوافقات الهرمونية الشكل (9).

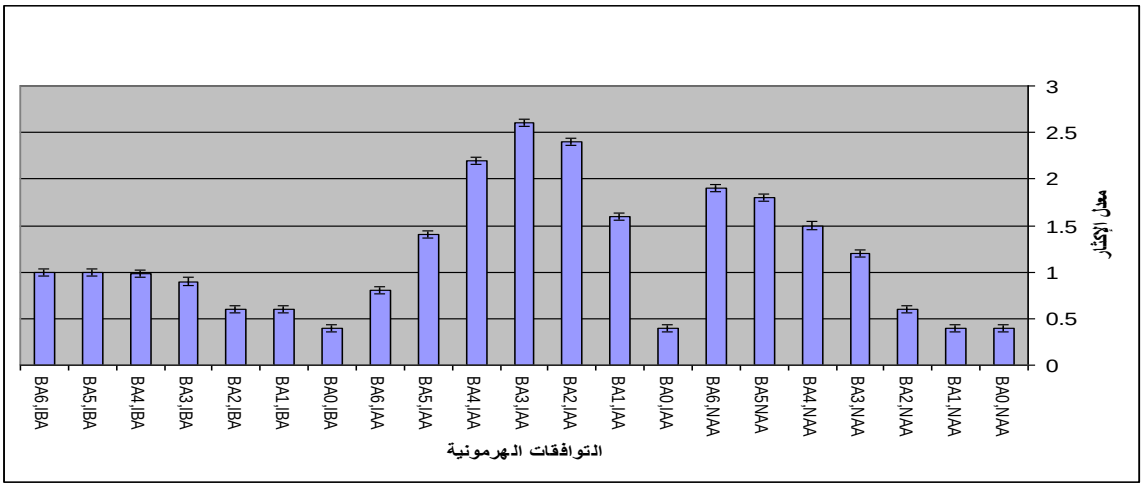
ب. تحقق أعلى متوسط لاستطالة النموات في التوافقات الهرمونية التالية (IAA بتركيز 0.1 مجم/لتر مع BA بتركيز 2، 3، 4، 5، 6 مجم/لتر) و(IBA بتركيز 0.1 مجم/لتر مع BA بتركيز 5، 6 مجم/لتر) بفروق معنوية عن بقية التوافقات الهرمونية.

تأثير عدد مرات النقل في الإكثار والاستطالة

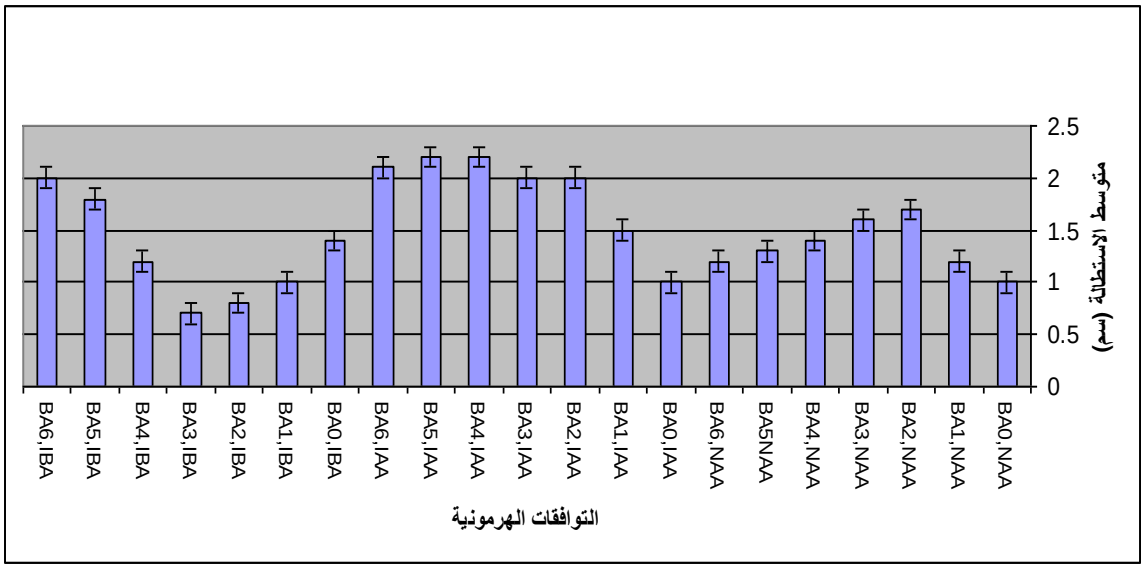
لوحظ ازدياد مطرد في معدل الإكثار مع كل عملية نقل فقد كان معدل الإكثار 1 في طور الزراعة الأولية وازداد بشكل تدريجي أثناء عمليات النقل الأولى والثانية حتى بلغ 4 بعد عملية النقل الثالثة، كما تمت ملاحظة ازدياد تدريجي وواضح في متوسط استطالة النموات المتكونة مع ازدياد عدد مرات النقل **(الشكل 4)** حتى بلغ 2.8 بعد عملية النقل الثالثة.



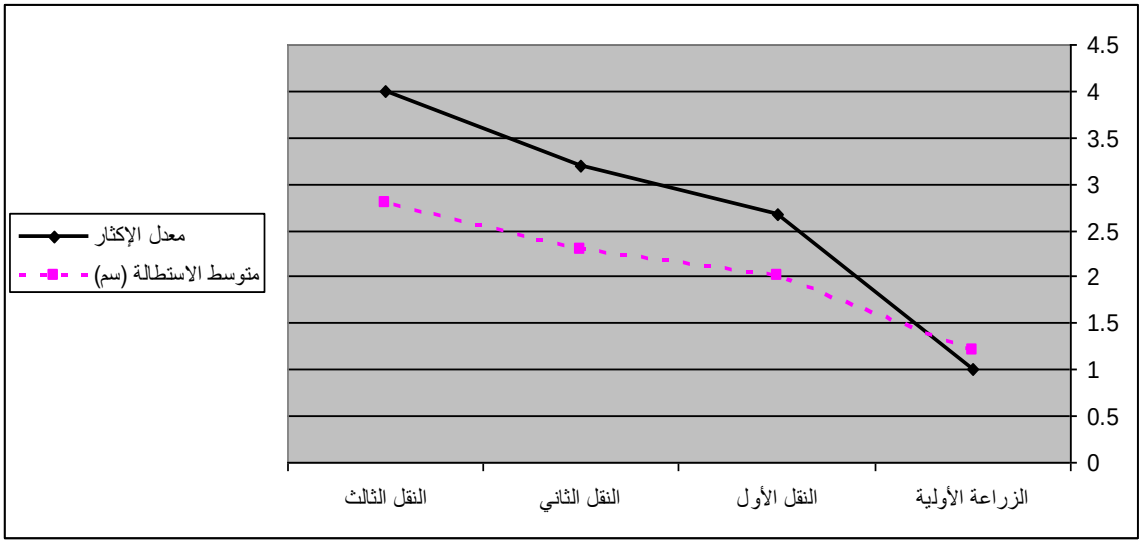
الشكل1. تأثير تركيز هيبوكلوريت الصوديوم ومدة النقع في نسبة نمو الأجزاء النباتية المزروعة المختلفة



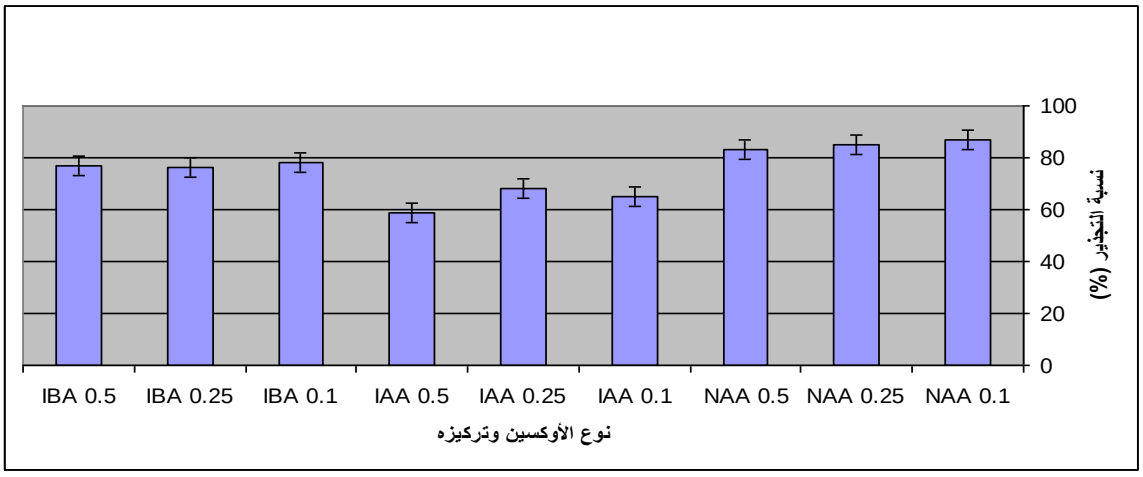
الشكل2. تأثير التوافقات الهرمونية في معدل الإكثار



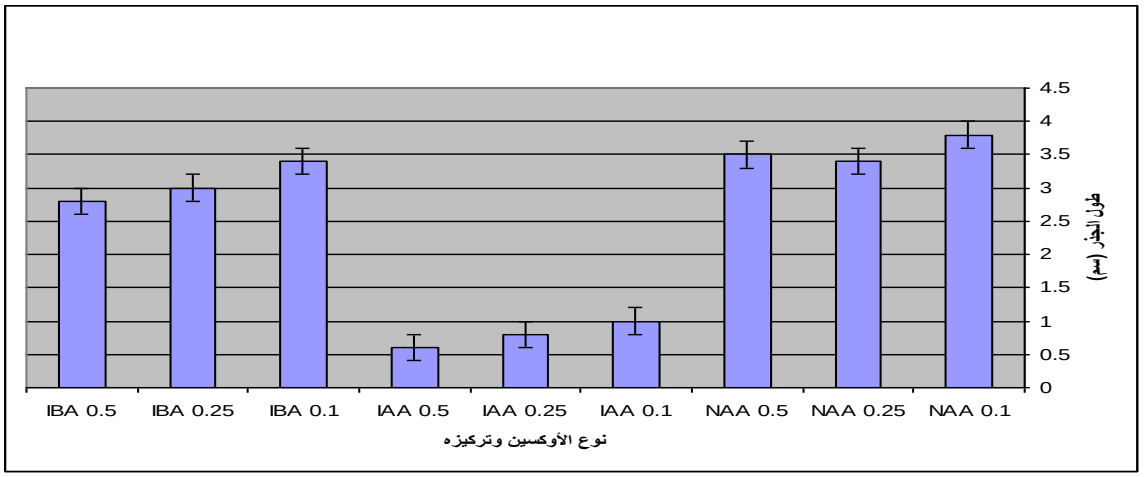
الشكل3. تأثير التوافقات الهرمونية في متوسط استطالة النموات



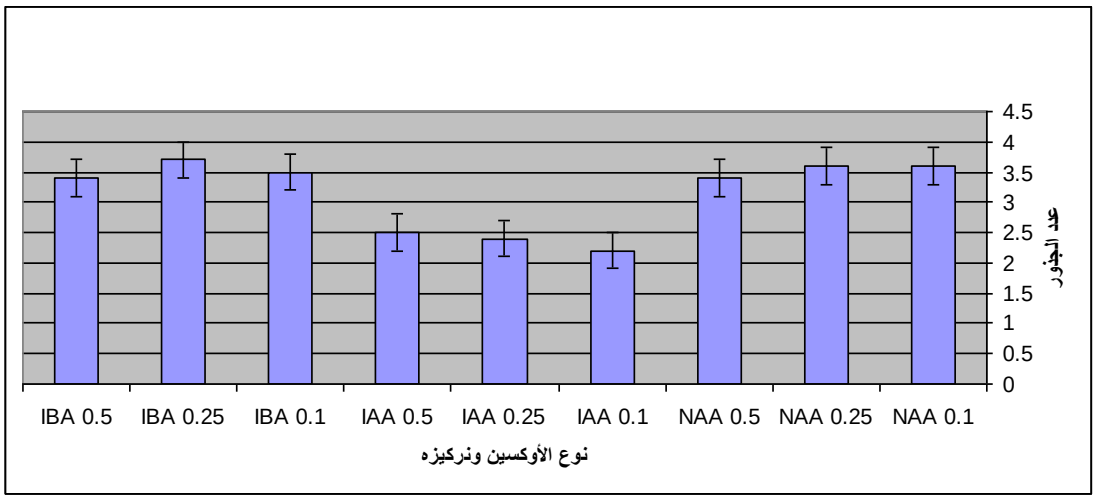
الشكل4. تأثير عدد مرات النقل في معدل الإكثار ومتوسط الاستطالة



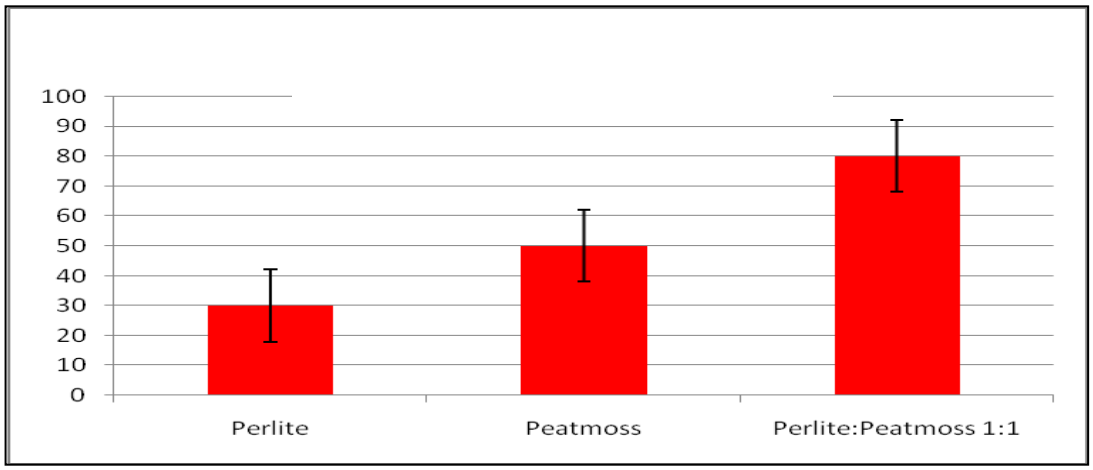
الشكل5. تأثير نوع الأوكسين وتركيزه في نسبة التجذير



الشكل6. تأثير نوع الأوكسين وتركيزه في طول الجذور



الشكل7. تأثير نوع الأوكسين وتركيزه في عدد الجذور



الشكل 8. تأثير وسط النمو في نسبة نجاح عملية التقسية

ويمكن أن يعزى ذلك الأثر الإيجابي لعدد مرات النقل باستخدام الوسط المغذي نفسه في عدد النموات المتكونة ودرجة استطالتها إلى اكتساب الأجزاء النباتية المزروعة صفات النباتات الفتية وبالتالي ازدياد قدرتها على الإكثار والاستطالة بازدياد عدد مرات النقل حيث تعد زراعة الأنسجة النباتية إحدى الطرائق المستخدمة لتجديد حيوية النباتات وإعادة الفتوة إليها **(Franclet, 1979)**. وقد سجلت نتائج مماثلة على بعض الأنواع النباتية الأخرى كالتفاح والأجاص **(Welander and Snygg, 1983)**.

- **طور التجذير**

تجاوزت نسبة التجذير في الأنابيب 50% في جميع أنواع الأوكسينات المستخدمة في جميع التراكيز **(الشكل 5)**، ويلاحظ أن أعلى نسب تجذير قد تحققت عند استخدام NAA أو IBA بالتراكيز (0.1-0.5 مغ/لتر) متجاوزة 75% ومتفوقة بذلك على الأوكسن IAA بفروق معنوية، وكذلك الأمر بالنسبة لطول الجذور **(الشكل 6)** وعددها **(الشكل 7)** اللذين تجاوزا (3 جذور بطول 2.5 سم) عند استخدام NAA أو IBA بالتراكيز (0.1-0.5 مغ/لتر) متفوقة بذلك على الأوكسين IAA بفروق معنوية. وبشكل عام لم يلاحظ أية مشكلة في هذا الطور ويمكن تفسير ذلك بأن

الأوكسبنات NAA وIBA أكثر فعالية في عملية التجذير من IAA (**Khosh-Khui and Sink, 1982a**).

- **طور التقسية والنقل إلى الظروف الطبيعية**

بلغت نسبة نجاح عملية التقسية 80% في الوسط (بيتموس: برليت، 1:1) الذي تفوق بفروق معنوية على الوسطين (بيتموس) و(برليت) (**الشكل 8**)؛ حيث انخفضت فيها نسبة نجاح النباتات المقساة إلى (50%، 30%) على التوالي مع ملاحظة التفوق المعنوي للوسط (بيتموس) على الوسط (برليت) ويمكن تفسير ذلك بأن الخليط من البيتموس والبرليت يتمتع بصفات فيزيائية وكيميائية أفضل مما لو بقيت منفصلة (**Hartmann *et al* 2002**).

REFERENCES

Badzian, T.; G.R. Hennen and J. Fotyma-Kern (1991). *In vitro* rooting of clonal propagated miniature rose cultivars. **Acta Hortic., 30: 289-329.**

Bhoomissiri, C. and N. Masomboon (2000). Multiple Shoot Induction and Plant Regeneration of Rosa damascene. **www.journal.su.ac.th.**

Campos, P.S. and M.S.S. Pais (1990). Mass propagation of the dwarf rose cultivar Rosamini T. **Sci.Hortic., 43: 321-330.**

Clark, M. and A.N. Adams (1977). Charactaristics of the microplate method enzyme-linked ammuno sorbent assay for the detection of viruses. **Virol., 34: 475-483.**

Dubois, L.A.M.; J. Roggemans; G. Soyeurt and D.P. De Vries (1988). Comparison of the growth and development of dwarf rose cultivars propagated in vitro and in vivo by softwood cuttings. **Sci. Hortic., 96: 389-391.**

Franclet, A. (1979). Rajeunissement des arbres adultes en vue de leur propagation vegetative. **Etudes et Recherches, 12: 3-18.**

Hartmann, H.T.; D.E. Kester; F.T. Davies and R.L. Geneve (2002). Plant Propagation Principles and Practices. Prentice Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey. Seventh edition, **pp. 367-374**.

Hasegawa, P.M. (1979). *In vitro* propagation of rose. **Hortic. Sci., 14(5): 610-612.**

Hasegawa, P.M. (1980). Factors affecting shoot and root initiation from cultured rose shoot tips. **J. Am. Soc. Hortic. Sci., 105(2): 216- 222.**

Horn, W.A.H. (1992). Micropropagation of Rose (Rosa L). vol. 4: 320-324. In: Bajaj Y.P.S (ed.), Agriculture and Forestry, Springer-Verlag, Berlin.

Katzer, G. (2003). The rose fragrance is used in Turkey for perfuming coffee. In Iran, honey and jams are made more fragrant with rose flowers. **Journal of Ethnopharmacology: "Zahraa", a Unani multicomponent, pp. 73-112.**

Khosh-Khui, M. and K.C. Sink (1982a). Callus induction and culture of Rosa. Sci. **Hortic., 17: 361-370.**

Khosh-Khui, M. and K.C. Sink (1982b). Rooting enhancement of Rosa hybrida for tissue culture propagation. **Sci. Hortic., 17: 371-376.**

Kirichenko, E.B.; T.A. Kuz'-mina and N.V. Kataeva (1991), Factors in optimizing the multiplication of ornamental and essential oil roses in vitro. **Buˆll. Gl. Bot. Sada, 159: 61 –73.**

Martin, C.; M. Carre and R. Vernoy (1981). La multiplication vegetative in vitro des vegetaux ligneux cultives: cas des rosiers. **C.R. Acad Sci. Paris., 193: 175-177.**

Nakkawatchara, P. (2001). A Professional Way to Plant Rose. p. 21. Kayhakarnkasare (in Thai) Charenrant Publishing, Bangkok.

Onesto, J.P.; R. Poupet and P. Julien (1985). Production de potees Fleuries de rosier a partir d plantules obtenus par multiplication in vitro conforme automme. **Horticulture, 176: 3–10.**

Pati, P.K.; A. Sharma; A. Sood and P.S. Ahuja (2005). Micropropagation of Rosa damascena and R. bourboniana in liquid cultures. In: Hvoslef-Eide AK, Preil W, editors. **Liquid Systems for in vitro Mass Propagation of Plants. pp. 373–385.** Springer, The Netherlands.

Reist, A. (1985). Culture in vitro en pipiniere de rosiers: une alternative au bouturage ou au greffage des varietes, **Rev. Suisse Vitic. Arboric Hortic., 17: 361–402.**

Rout, G.R.; B.K. Debata and P. Das (1989a). In vitro mass-scale propagation of Rosa hybrida cv Landora. **Curr Sci., 58: 871-876.**

Rout, G.R; B.K. Debata and P. Das (1989b). Micropropagation of propagation of Rosa hybrida cv Queen Elizabeth through in vitro culture of axillary buds. **Orissa J. Hortic, 16: 1–9.**

Skirvin, R. M.; M. C. Chu and H. J. Young (1990). Rose. In: Ammirato P.V.; D.R. Evans; W.R. Sharp; Y.P.S. Bajaj (Eds.). **Handbook of Plant Cell Culture. (5):716-743.** McGraw Hill Publisher Co., Springer-Verlag, New York.

Thomas, B.J. (1984). Epidemiology of three viruses infecting the rose in the United Kingdom. **Ann. Appl. Biol. 105: 213-222.**

Van der Salm, T.P.M; C.J.G. van der Toorn; C.H. Hanisch ten Cate; L.A., M. Dubois; D.P. De Vries and H.J.M. Dons(1994). Importance of the iron chelate formula for micropropagation of Rosa hybrida. **Plant Cell Tissue Organ Cult, 37: 73 –79.**

Welander, M. and J.O. Snygg (1983). Effect of Applied and Endogenous Auxin on Callus and Root Formation of In Vitro Shoots of the Apple Rootstocks M26 and A2. **Oxford Journals Life Sciences Annals of Botany, 59(4): 439-443.**