استجابة اللوز البري الوزالي (*Prunus. spartioides*) للإكثار الخضري الدقيق بزراعة الأنسجة

يوسف العموري*

(الايداع:7 آب 2022،القبول:24 تشرين الأول 2022)

الملخص:

أجري هذا البحث خلال العامين 2019-2020 م، بهدف وضع بروتوكول للإكثار الخضري الدقيق للوز البري الوزالي، إذْ استخدام الوسط MS المضاف إليه توافقات مختلفة من منظمات النمو (السيتوكينين BA بتركيزين 1 و 2 ملغ/ل وGA_3 بتركيز 0.2 ملغ/ل والأوكسين IBA بتركيز 0.1 ملغ/ل) في مرحلة الإكثار، في حين استخدم الوسط ½MS المضاف إليه تراكيز مختلفة من الأوكسين IBA (0.5 و1 و2 ملغ/ل) في مرحلة التجذير. بيَّنت النتائج أنّ أفضل معدل إكثار للنموات (4.66 نمواً خضرياً جديداً/الجزء النباتي)، وأكبر طول لها (2.3 سم) عند إضافة 1 ملغ/ل BA+ 0.2 ملغ/ل GA_3 للوسط MS، أما في مرحلة التجذير فقد سجلت أعلى نسبة تجذير (65%) ومتوسط عدد الجذور (4.85 جذر/الجزء النباتي) وطولها (3.54 سم) عند إضافة IBA بتركيز 0.5 ملغ/ل. وبلغت نسبة نجاح التقسية 75%.

الكلمات المفتاحية: اللوز الوزالي، الإكثار الخضري الدقيق، سيتوكينين، أوكسين، تجذير.

*دكتور باحث في الهيئة العامة للتقانة الحيوية، دمشق-سورية

The possibility of wild almond (Prunus. spartioides) for micropropagation by in vitro culture

Youssef Al-Ammouri*

(Received:7 August 2022,Accepted:24 October 2022)

Abstract:

This research was carried out during 2019-2020, to set up a micropropagation protocol for *Prunus. Spartioides*, by using MS medium supplemented with different combination of growth regulators (BA at 1 and 2 mg/l, GA3 at 0.2 mg/l, IBA at 0.1 mg/l) in multiplication stage, and ½MS supplemented with different concentration of IBA (0.5, 1, 2 mg/l) in rooting stage. The results showed that the highest number of growths (4.66 new vegetable growth/explant) and the highest length (2.3 cm) achieved when 1mg\l BA + 0.2 mg\l GA_3 are added to MS media. In the rooting stage, the highest rooting percentage (65%), the highest average number of roots (4.85 roots) and the highest average length of roots (3.54 cm) was obtained by adding 0.5 mg/l of IBA. Acclimatization percentage was 75%.

Keywords: Almond, *Prunus*. spartioids, Micropropagation, Cytokinin, Auxin, Rooting.

* Researcher in Department of Biotechnology, NCBT, Syria

1-مقدمة:

تعد سورية واحدة من أهم مراكز التنوع الحيوي ومهداً غنياً للعديد من المصادر الوراثية للأشجار المثمرة البرية والمزروعة في العالم، ومنها شجرة اللوز التي تعد من أشجار الفاكهة المنتشرة في العالم، وهي على الأغلب أقدم أشجار الفاكهة المزروعة وذلك منذ الألف الثالث قبل الميلاد (Spiegel-Roy، 1986)، تنمو هذه الشجرة برياً في المناطق الحارة والجافة من حوض البحر المتوسط، وكذلك في المنطقة المعتدلة من غرب آسيا (Candolle، 1883).

تنتمي شجرة اللوز للجنس *Prunus* (Rehder، 1940) الذي يضم أكثر من 400 نوع من الأشجار و الشجيرات المزهرة، ولبعضها أهمية اقتصادية كبيرة في جميع أنحاء العالم (Benediková و Giovannini، 2013)، وتتبع للفصيلة الوردية *Rosaceae* التي تعد من الفصائل النباتية ذات الأهمية الاقتصادية في مغلفات البذور (Takhtajan، 1997).

تنتشر المصادر الوراثية البرية لشجرة اللوز في غابات القطر العربي السوري وفي جباله وهضابه، وفي مناطق بيئية مختلفة إذ تعد ثروة طبيعية وطنية مهمة يجب صيانتها وحفظها وإتاحة المجال لاستخدامها في تحسين الأصناف المحلية. ومن أهم الأنواع البرية المنتشرة اللوز الوزالي *P. spartioids*، والعربي *P. arabica*، والشرقي *P. orientalis*، والشائع *P. communis*، ووالكورشنسكي *P. korschinskii* (أكساد، 1997؛ مزهر، 1998). وتستطيع هذه الأنواع البرية أن تنمو وتثمر بشكل جيد في مواقع يصعب على أي نوع من أنواع الفاكهة الأخرى العيش بها (أكساد، 1997)، إضافة إلى أنها من الأشجار المقاومة لحشرة الكابنودس (*Capnodis* sp.) (أكساد، 2000؛ الحمود وزملاؤه، 2003) التي تعد من الآفات الخطيرة المهددة لأشجار اللوزيات في المناطق الجافة، حيث سببت في السنوات الأخيرة موت الكثير من أشجار اللوز والمشمش في بعض مناطق سورية. كما أنها متحملة لحموضة التربة، وأملاح البورون التي لها تأثير واضح في صفات الثمار (Zarrouk وزملاؤه، 2005).

تتميز أشجار اللوز الوزالي (*Prunus. spartioids*) بأنها صغيرة الحجم، عادة ما تنمو على عدة سوق ملساء ذات أفرع منتصبة متطاولة طولها 1-2م، الأفرع ثخينة ذات زوايا، الأوراق متطاولة لسانية مستدقة مسننة الحافة تنتهي بعنق قصير، الأزهار مفردة على طول الفروع، ذات عنق قصير نسبياً، البتلات متطاولة ملعقية الشكل بيضاء اللون، الثمرة حسلة مخملية السطح بيضوية متطاولة شبه منضغطة صفراء قرمزية ، الغلاف جلدي يتشقق عند النضج، النواة الحجرية مائلة ناعمة تسقط بسهولة تاركة الغلاف الخارجي على الفروع. (أكساد، 1997).

الشكل رقم (1): طبيعة نمو شجرة اللوز الوزالي

إلا أنّ هذا النوع مهدد بالانقراض بسبب إهماله وعدم الاستفادة منه في برامج الإكثار والتحسين الوراثي، ولم يحظ حتى الآن بنصيب وافر في مجال البحث العلمي فيما يخص طرائق إكثاره مقارنة بالأنواع البرية الأخرى، ولاسيما باستخدام التقانات الحيوية الحديثة. كما أن الأبحاث التي تطرقت لطرائق إكثاره التقليدية لا تزال محدودة وتقتصر على الإكثار البذري، إذ ذكر Grasselly (1977) أن بذور اللوز البري تحتاج عند تنضيدها من 45- 60 يوماً لكسر طور سكونها، ورغم إمكانية إكثار هذه النوع بالطرائق التقليدية إلا أن عدد الغراس المنتجة يكون محدوداً، كما أنها تتطلب كميات كبيرة من المادة النباتية، ونظراً

لعدم إمكانية الحصول على غراس متماثلة ومتجانسة النمو من الأصول البذرية، فقد برزت أهمية الإكثار الخضري الدقيق للحفاظ على الصفات الوراثية ولإكثاره بأعداد كبيرة، ليتسنى استعماله فيما بعد في التطعيم بغية التوسع بزراعة أصناف اللوزيات في المناطق الجافة وشبه الجافة.

درس Abu Rayya وزملاؤه (2010) تأثير نوع وتركيز السيتوكينين في إكثار اللوز المر (bitter almond) إذ استخدم البنزيل الأدنين (BA)، والكينيتين (Kin) والزياتين (Zia) بتراكيز (0.5، 1، 2 و 4 ملغ/ل) لكل واحد منها، إذ أضيف كل نوع بشكل فردي للوسط MS المضاف إليه 0.1 ملغ/ل IBA + 0.1 ملغ/ل GA_3، وأظهرت النتائج تفوق BA من حيث عدد النموات المتشكلة على Kin و Zia بفروق معنوية، أما من حيث طول النموات فقد تفوق Kin بفروق معنوية على BA و Zia. وبيّن Garoosi وزملاؤه (2010) تأثير منظمات النمو في إكثار أصل اللوز GF-677 وذلك على وسط MS معدل، حيث درس تأثير السيتوكينيين BAP والزياتين Zia بتراكيز مختلفة لكل منهما (0.5 ، 0.75، 1 و 2 ملغ/ل) والأكسين IBA بتركيز (0.01 و 0.1 ملغ/ل)، وأظهرت نتائجهم تفوق BAP على Zia ، إذ وصل أعلى عدد للنموات إلى 4.8 عند استخدام التوافق الهرموني 1 ملغ/ل BAP+0.1 ملغ/ل IBA. أما خلال عملية التجذير فحصل على أعلى نسبة تجذير (40%) وذلك عند استعماله أوكسين IBA بتركيز 2 ملغ/ل. كما درس Lamrioui وزملاؤه (2011) تأثير نوع وتركيز السيتوكينينات والأوكسينات في إكثار وتجذير الكرز البري (*P. avium* L.)، وتبين لديهم تفوق BAP عند التركيز 2ملغ/ل على الكينيتين (KIN) و الايزوبنتينيل أدنين (2ip) المستعملة في الإكثار ، إذ حقق أعلى نسبة لتشكل النموات (91.66%)، أما في مرحلة التجذير فتفوق هرمون IBA عند التركيز 1ملغ/ل على كل من IAA و NAA في نسبة التجذير (100%)، ومتوسط عدد الجذور (2.83 جذر)، وطولها (1.40 سم). وبناءً على ما سبق ولأهمية نوع اللوز البري الوزالي، ووضعه البيئي المتدهور، وصعوبة تجذيره الطبيعي وإكثاره فقد هدف البحث إلى:

1- وضع بروتوكول للإكثار الخضري الدقيق لنوع اللوز البري الوزالي باستخدام تقانة زراعة الأنسجة، بغية الحصول على نباتات سليمة ومشابهة للنباتات الأم.
2- دراسة تأثير بعض منظمات النمو النباتية في مرحلة الإكثار.
3- دراسة تأثير تركيز الأوكسين IBA في نجاح التجذير، ونوعية الجذور الناتجة.

2-مواد البحث وطرائقه:

نفذ البحث في مخبر التقانات الحيوية للنباتات الطبية في الهيئة العامة للتقانة الحيوية في دمشق، وذلك خلال عامي 2019-2020 م.

1- **المادة النباتية:** بذور اللوز البري الوزالي التي تم جمعها من منطقة حفير التحتا في نهاية موسم النضج (أوائل شهر تموز).
2- **تحضير الوسط وتعقيمه:** استُخدم كوسط أساسي محلول غذائي مركب من العناصر المعدنية الكبرى والصغرى المستخدمة عند Murashige و Skooge (1962) بشكل كامل (MS) والموضح تركيبه في الجدول رقم (1). وحُضّرَ الوسط المغذي بوضع كمية من الماء المقطر في دورق زجاجي على جهاز التسخين والتحريك المغناطيسي، وبعد ذلك أضيفت مكونات الوسط الأخرى من العناصر الكبرى والصغرى والفيتامينات والسكروز، وكان آخرها إضافة الهرمونات، وضبط درجة الحموضة الوسط pH على درجة 5.6 بإضافة قطرات من ماءات الصوديوم (NaOH) (1 N) باستعمال جهاز pH meter وذلك قبل إضافة الآغار، ثم أُضيف الآغار (7.5غ.ل-1) إلى المحلول وتُرك الوسط على جهاز التحريك والتسخين المغناطيسي حتى الذوبان التام للآغار، ووُزّع الوسط بعد ذلك في أنابيب اختبار بحجم 20×2.5 سم بمعدل

12 مل من الوسط المغذي في كل أنبوب، وسدت الأنابيب بالقطن، وعقمت بعد ذلك في جهاز الأوتوكلاف Autoclave على درجة حرارة 121 C^{o} وتحت ضغط 1.04 كغ/سم2 لمدة20 دقيقة.

الجدول رقم (1): مكونات وسط الزراعة المستخدم في الدراسة

المركب	التركيب الكيميائي	وسط الزراعة MS (ملغ.ل$^{-1}$)
العناصر الكبرى		
نترات البوتاسيوم	KNO_3	1900
نترات الأمونيوم	NH_4NO_3	1650
كلوريد الكالسيوم المائي	$CaCL_2.2H_2O$	440
كبريتات المغنيزيوم المائية	$MgSO_4.7H_2O$	370
فوسفات البوتاسيوم	KH_2PO_4	170
العناصر الصغرى		
شيلات الحديد والصوديوم	$Na_2.EDTA$	37.3
كبريتات المنغنيز المائية	$MnSO_4.\ 4H_2O$	22.3
كبريتات التوتياء المائية	$ZnSO_4.\ 7H_2O$	8.60
حمض البوريك	H_3BO_3	6.20
يود البوتاسيوم	KI	0.83
مولبيدات الصوديوم المائية	$Na_2MoO_2.2H2O$	0.25
كبريتات النحاس المائية	$CuSO_4.\ 5H_2O$	0.025
كلور الكوبالت المائي	$CoCl_2.\ 6H2O$	0.025
الفيتامينات والأحماض الأمينية		
ميوانيوزيتول(B8)	$C_6H_{12}O_6$	100
ثيامين	$C_{12}H_{17}ClN_4OS^{+}Cl^{-}.HCl$	1
حمض النيكوتين	$C_6H_5NO_2$	1
بيرودوكسين	$C_8H_{11}NO_3$	1
غلايسين	$C_2H_5NO_2$	2
مواد أخرى		
الآغار	$C_{14}H_{24}O_9$	7.500
السكروز	$C_{12}H_{22}O_{11}$	30000

3- **التطهير السطحي:** تم معاملة البذور بمحلول هيبوكلوريد الصوديوم بتركيز 3.75%(حجم/حجم) لمدة 25 دقيقة ثم بالماء المقطر المعقم 3 مرات ولمدة 5دقائق بالمرة الواحدة حسب(Payghamzadeh and Kazemitabar, 2010).

4- **الزراعة الأولية:** زرعت الأجنة المعزولة من الفلقات بعد تعقيمها على وسط MS حسب (Murashige and Skoog, 1962) والمزود بـ 0.5 ملغ/ل BAP + 2ملغ/ل GA3 حسب(Kaur وزملاؤه، 2006)، وتم تحضين العينات المزروعة في غرف النمو على درجة حرارة 25±1مْ وفترة اضاءة (16:8) وشدة ضوئية 3000 لوكس لمدة 4 أسابيع (Kaur وزملاؤه، 2006).

5- **إكثار النموات الخضرية:** أخذت النموات الخضرية الناتجة من انبات البذور (البادرات) في مرحلة الزراعة الأولية التأسيسية والخالية من التلوث وثم جُزأت إلى عقل دقيقة بطول 1 سم وزرعت على وسط الإكثار MS المضاف له منظمات النمو بنزيل أدنين (BA)، أندول حمض الزبدة (IBA) و حمض الجبريلين (GA3) بتراكيز مختلفة (الجدول 1)،

وحضنت الزراعات بدرجة حرارة 23 ±1 مْ مع شدة إضاءة 3000 لوكس على مستوى الزراعات، وبتناوب 16ساعة إضاءة مع 8 ساعات ظلام مدة أربعة أسابيع.

الجدول رقم (2): أوساط الإكثار المستخدمة في البحث

رمز الوسط	تركيب الوسط
MS1	MS+1 mg/l BA
MS2	MS+1 mg/l BA+0.2 mg/l GA3
MS3	MS+2 mg/l BA+0.2 mg/l GA3
MS4	MS+ 1 mg/l BA + 0.1 mg/l IBA+ 0.2 mg/l GA3

وتم تسجيل القراءات التالية بعد أربعة أسابيع من النقل لأوساط الإكثار:

- متوسط عدد النموات المتشكلة/الجزء النباتي(الجزء المأخوذ من النمو الناتج عن الانبات).
- متوسط طول النموات المتشكلة (سم).

6- **تجذير النموات الخضرية المتشكلة في مرحلة الإكثار**: نقلت النموات الخضرية المتشكلة في مرحلة الإكثار وبطول 2سم إلى الوسط ½MS والمزود بتراكيز مختلفة من الأوكسين IBA وذلك وفق المعاملات الموضحة في الجدول 2، وتمت عملية الزراعة في أنابيب اختبار بمعدل 12 مل من الوسط المغذي في كل أنبوب وبمعدل 20 مكرر/معاملة، وحضنت الزراعات بالظلام لمدة أسبوع، ثم أخرجت إلى الإضاءة 3000لوكس ولفترة ضوئية 16ساعة ضوء مقابل 8ساعات ظلام يومياً على درجة حرارة 25±1مْ، وفي نهاية الأسبوع الرابع من الزراعة حسبت النتائج وأخذت القراءات التالية: نسبة التجذير(%). متوسط عدد الجذور(جذر). متوسط طول الجذور(سم).

الجدول رقم (3): أوساط التجذير المستخدمة في البحث

رمز الوسط	تركيب الوسط
R_1	½MS
R_2	½MS+ 0.5 mg/l IBA
R_3	½MS+ 1 mg/l IBA
R_4	½MS+ 2 mg/l IBA

7- **التقسية (الأقلمة)**: نقلت النباتات المجذرة بعد غسل الجذور جيداً بالماء المقطر والمعقم بغية التخلص من الآغار لتجنب نمو الفطريات والبكتريا التي تؤثر في نمو الجذور، ومن ثم في نمو النبات، إلى أصص بلاستيكية نظيفة تحتوي على خلطة من التورب والبرليت بنسبة 1:2 (حجم: حجم) والتي عقمت مسبقاً، وغطيت بأكياس شفافة من البولي ايتلين للمحافظة على الرطوبة العالية ثم وضعت في غرف النمو مدة أربعة أسابيع. وأجريت عملية الأقلمة بالفتح التدريجي للأكياس حتى إزالتها تماماً خلال 4أسابيع، ثم نقلت إلى البيت الزجاجي لمتابعة نموها.

8- **التحليل الإحصائي**: صممت التجربة وفق التصميم العشوائي الكامل، واستخدم البرنامج الإحصائي Genstate 12^{th} في تحليل النتائج، حيث قورنت متوسطات 40 عينة نباتية لكل معاملة إكثار وبثلاثة مكررات و20عينة نباتية لكل معاملة تجذير وبثلاثة مكررات عند مستوى المعنوية 0.01 .

3-النتائج والمناقشة:

1- **الإنبات:** بلغت نسب إنبات أجنة اللوز الوزالي المعزولة من الفلقات والمزروعة على وسط MS المضاف إليه 0.5 ملغ/ل BAP و2 ملغ/ل GA3 (85%).

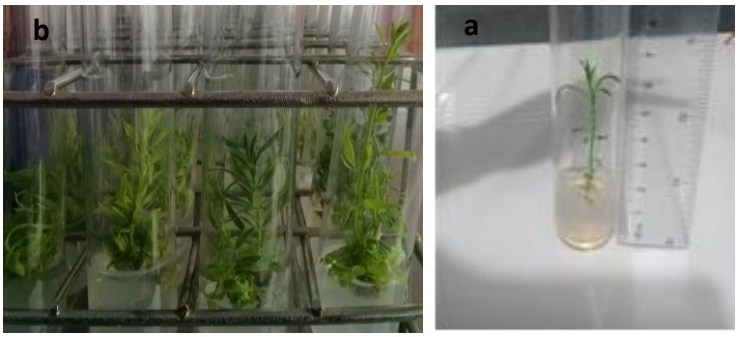
2- تأثير التوافقات الهرمونية في إكثار النموات الخضرية:

توضح النتائج المدونة في الجدول 4 أن المعاملة MS2 (1ملغ/ل BA+ 0.2 ملغ/ل GA_3) أعطت أفضل النتائج، من حيث تأثيرها في متوسط عدد النموات المتشكلة/ الجزء النباتي وطولها، إذ بلغ متوسط عدد النموات على هذا الوسط 4.66 نمواً ووصل متوسط طول النموات حتى 2.3 سم لكل نمو بعد أربعة أسابيع بدءاً من عقلة دقيقة تحوي برعم واحد وكانت الفروق معنوية مع باقي المعاملات. وقد جاءت النتائج متوافقة مع ما توصلت إليه Isikalan وزملاؤه (2008) الذين وجدوا أن إضافة 1ملغ/ل من BA لوحده حققت أفضل معدل تضاعف لنموات صنف اللوز Nonpareil. وتتعارض مع نتائج الصباغ (2007) بأن إضافة BA بتركيز 1ملغ/ل إلى الوسط MS وبوجود كل من الأوكسين IBA بتركيز 0.1ملغ/ل وGA_3 بتركيز 0.2 ملغ/ل أدى لتحقيق أعلى معدل لتكاثر النموات الخضرية في أصل الكرز البري *Prunus avium* L.، بينما لاحظت الصباغ (2007) أنّ استخدام الـ BA لوحده وبتركيز منخفض أدى إلى تشكل عدد أقل من النموات الخضرية وبطول أكبر، مقارنة باستخدام التركيز الأعلى الذي أعطى عدداً أكبر من النموات الخضرية وبطول أقصر، وهذا يتفق مع نتائج Wanas وزملائه (2006) عند إكثار صنف المشمش AL-Amar. وقد استعمل BA في أوساط الإكثار لكونه يعد من أكثر السيتوكينينات المستعملة وأكثرها فعالية، وهذا ما أكده Akbas وزملاؤه (2009) بأن هذا الهرمون حرض عند وجوده بوسط الإكثار بتركيز 1ملغ/ل على تشكل عدد أكبر من النموات الخضرية مقارنة باستخدام Kin، وقد يعزى ذلك إلى الدور الذي تقوم به السيتوكينينات في الحد من السيادة القمية وكسر سكون البراعم الجانبية وبالتالي زيادة التفرعات الجانبية والتثبيط الكلي أو الجزئي لتشكل الجذور كما لوحظ في التفاح(Giacobbo وزملاؤه، 2003).

الجدول رقم (4): تأثير التوافقات الهرمونية المختلفة في متوسط عدد النموات الجديدة وطولها بعد 4 أسابيع من الزراعة على وسط الإكثار.

رمز الوسط	تركيب الوسط	متوسط طول النموات (سم)	متوسط عدد النموات
MS_1	MS+1 mg/l BA	1.54 c	1.12 d
MS_2	MS+1 mg/l BA+0.2 mg/l GA3	2.3 a	4.66 a
MS_3	MS+2 mg/l BA+0.2 mg/l GA3	0.55 d	3.4 b
MS_4	MS+ 1 mg/l BA + 0.1 mg/l IBA+ 0.2 mg/l GA3	1.75 b	2.7 c
	$L.S.D_{0.01}$	0.03	0.2

*** يدل وجود الأحرف المتشابهة (... a, b, c, d) على عدم وجود الدلالة الإحصائية في المقارنات المختلفة عند مستوى معنوية1% .**



الشكل رقم (2): a: انبات جنين اللوز الوزالي.

b: اكثار النموات الخضرية على الوسط MS2.

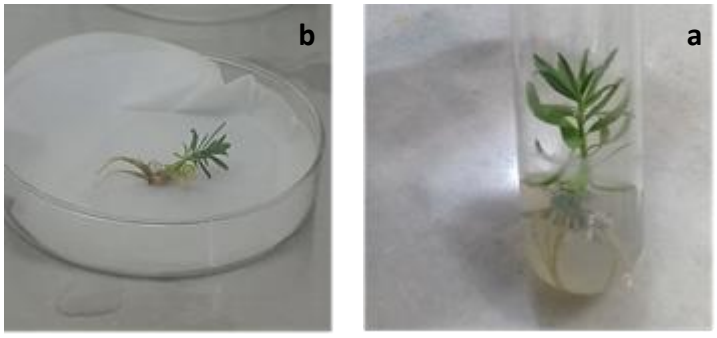
3- تجذير النموات الخضرية مخبرياً:

تبرز النتائج المتحصل عليها في الجدول 5 أنّ هرمون IBA أثر إيجاباً على نسبة التجذير ونوعية الجذور المتحصل عليه، وأنه لم يحدث أي تجذير للنموات بغياب IBA نهائياً، وهذا ما يؤكد أن للأوكسينات الدور الجوهري في التحكم بتشكل الجذور(Hu وWang ، 1983). وقد تم الحصول على أعلى نسبة تجذير (65%) عند إضافة الIBA بتركيز 0.5 ملغ/ل للوسط ½MS، وبلغ أعلى متوسط لعدد الجذور (4.85)، وطولها (3.54 سم) عند هذه المعاملة، متفوقة بذلك بدلالة معنوية على باقي المعاملات، وأدت زيادة تركيز IBA إلى 2ملغ/ل إلى تشكل الكالوس. وتتفق هذه النتائج مع ما نتائج الصباغ (2007) عند تجذير أصل الكرز البري. إذ يعمل الأوكسين بشكل عام على زيادة معدل التباين الأيوني، والنفاذية الخلوية والنشاط الأنزيمي ومعدل نقل الشوارد حسب (Rossignol وزملاؤه، 1990) ، مما يزيد من معدل تكوين الجذور على النسيج المزروع نتيجة دوره المهم والمباشر في مرحلة الدفع الجذري (Haissing، 1986).

الجدول رقم (5): تأثير تركيز الأوكسين في متوسط عدد وطول الجذور لنبات اللوز الوزالي بعد 4 أسابيع من الزراعة على أوساط التجذير.

رمز الوسط	تركيب الوسط	النسبة المئوية للتجذير (%)	متوسط طول الجذور(سم)	متوسط عدد الجذور
R1	½MS	0 c	0 c	0 c
R2	½MS+0.5 IBA	65 a	3.54 a	4.85 a
R3	½MS+1 IBA	25 b	3.12 **b**	2.55 b
R4	½MS+ 2IBA	0 c	0 c	0 c
L.S.D $_{0.01}$		1.94	0.02	0.02

***يدل وجود الأحرف المتشابهة (... a, b, c, d) على عدم وجود الدلالة الإحصائية في المقارنات المختلفة عند مستوى معنوية 1%**



الشكل رقم(3): a: تجذير النموات الخضرية على الوسط R2

b:تجذير النموات الخضرية على الوسط R3

4- التقسية:

تعد مرحلة التقسية من أكثر مراحل زراعة الأنسجة النباتية أهميةً، وذلك بسبب حساسية النباتات داخل الأنابيب، ولا بد من الاهتمام بالنباتات وتوفير الشروط اللازمة لإنجاح هذه العملية من ضوء وحرارة ورطوبة (Brainerd and Fuchigaami, 1982)، وأشار Broom و Zimmerman (1985) إلى ضرورة التدرج بتقليل الرطوبة، وكذلك الشروط المتحكم بها في عملية التقسية. فبعد أن تم الحصول على نباتات مخبرية كاملة تم نقلها إلى أصص صغيرة، وتمت تقسيتها تدريجياً، وبعد شهر من التقسية بلغت نسبة النجاح 75%.

الشكل رقم (4): نجاح تقسية النموات الخضرية بعد شهرين من التقسية

4-الاستنتاجات:

1- استجابة اللوز الوزالي للإكثار المخبري باستخدام تقانة زراعة الأنسجة النباتية.

2- أفضل وسط للإكثار الخضري من حيث عدد النموات وطولها هو الوسط MS المضاف إليه BA بتركيز 1ملغ/ل وGA_3 بتركيز 0.2 ملغ/ل.

3- أفضل وسط لتجذير النموات (من حيث نسبة التجذير وعدد الجذور وطولها) هو الوسط MS بنصف تركيز الأملاح الكبرى والمضاف إليه 0.5 ملغ/ل منIBA .

5-الاقتراحات:

يمكن اقتراح متابعة دراسة إكثار هذا النوع البري باستخدام أجزاء نباتية أخرى وكذلك منظمات نمو وأوساط غذائية مختلفة.

6-المراجع:

1-المراجع العربية

1. الحمود، أمل وحماشا، حسان رفاعي والكايد، نبيه. (2003). **التوصيف المورفولوجي والتوزيع الجغرافي لأنواع اللوز في الأردن**. المركز الوطني للبحوث الزراعية ونقل التكنولوجيا. 38صفحة.
2. الصباغ، منى. (2007). **إكثار بعض أصناف الكرز وأصول اللوزيات بتقنيات زراعة الأنسجة النباتية**. رسالة دكتوراه. جامعة حلب.سورية. 169ص
3. أكساد .(1997). **تحريات أولية بيئية وجغرافية نباتية حول الأصول البرية لجنس اللوز في سورية**. 75صفحة.
4. أكساد. (2000). **التعريف بالأصول البرية للوز والفستق الحلبي**. أكساد- دمشق. 25صفحة.
5. **مزهر**، بيان.(1998). **دراسة التنوع الحيوي للمصادر الوراثية للأشجار المثمرة في جنوب سورية**- رسالة ماجستير- قسم البساتين- كلية الزراعة- جامعة دمشق.

2-المراجع الأجنبية:

1. Abu Rayya, M.S., Kassim, E.N., and Ali, M.A., (2010). Effect of different cytokinins concentrations and carbon sources on shoot proliferation of bitter almond nodal cuttings. Journal of American Science. 6(9): 465-469.
2. Akbaş, F., Işıkalan, Ç., Namlı, S., and Ak, Be., (2009). Effect of plant growth regulators on *in vitro* shoot multiplication of Amygdalus communis L. cv. Yaltsinki. African Journal of Biotechnology. 8 (22), 6168-6174.
3. Benediková, D., and Giovannini, D., (2013). Review on genetic resources in the ECPGR *Prunus* working group. Acta Hortic. 981: 43-51.
4. Brainerd, K . E .and Fuchigami, L .H. (1982) .Acclimatization of aseptically cultured apple plants to low relative humidity .J. Amer Soc. Hort.Sci. 106: 515-518.
5. Broom, O.C. and Zimmerman R. H. (1985). culture of shoot Meristems fruit plant cell culture and somatic Cell, Genetics of Plants.V. 1. Chapter. (14): 111-122.
6. Candolle, A., (1883). Origine des plantes cultivees, edgeanne, Laffitte Marseille. Franc, 378p.
7. Garoosi, G., Alanagh, E., and Haddad, R., (2010). The effect of PGRs on *in vitro* shoot multiplication of GF677 hybrid (*Prunus persica* × *P. amygdalus*) rootstock on GNH medium. Iranian Journal of Genetic and Plant Breeding, 1 (1): 34-43.
8. Giacobbo, C. L., Gomes, F. R. C., Kroth, L., Conceicao, M. K., and Forts, G. R. O. L. (2003). *In vitro* multiplication of apple rootstocks `Marubakaido`, *Malus prunifolia* willd, borkh with different levels of benzyl amino purine and naphthalene acetic acid. R. Bras. de Agrociência. (9) : 31-33.
9. Grasselly, C.H., (1977). Reflexions sur les characterisigue des especces sauvages d'*amygdalus* genetic. P70-77. In: Third coll. Grempa, Ciheam, Bari, Italy.
10. Haissing, B. E., (1986). Metabolic processes in adventitious rooting of cuttings. In New Root Formation in Plants and Cuttings; Jackson, M.B., Ed.; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 141-189.
11. Hu, Y. C. and Wang, J. P., (1983). Meristem, shoot tip and bud cultures. In:Hand book of plant cell culture, (Eds): D. A. Evans, W.R.Sharp, -P.V.Ammirato and Y. Yamado, vol. I.Macmillan Publishing company, NY.177-227.
12. Isıkalan, C., Akbas, F.A., Namlı, S., Tilkat, E., and Basaran, D., (2008). *In vitro* micropropagation of almond (*Amygdalus communis* L. cv. Nonpareil). Afr. J. Biotechnol. 7:1875-1880.

13. Kaur, R., Sharma, N., Kumar, K., Sharma, D.R. and Sharma, S.D. 2006. In vitro germination of walnut (Juglans regia L.) embryos. Scientia Horticulturae 109: 385–388.
14. Lamrioui, M.A., Louerguioui, A., Bonaline, J., Bougdal, Y.S., Allili, N., Kebbouche, G.S., (2011). Proliferation and rooting of wild cherry. The influence of cytokinin and auxen types and their concentration. African Journal of Biotechnology Vol. 10(43): 8613-8624.
15. Murashige, T., and Skooge, F., (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiology Plant. 15:473-497.
16. Payghamzadeh, K. and Kazemitabar, S.K. (2010). The effects of BAP, IBA and genotypes on in vitro germination of immature walnut embryos. International Journal of Plant Production. 4(4): 309-322.
17. Rehder, A., (1940). Manual of cultivated trees and shrubs hardy in North America, exclusive of the subtropical and warmer temperate regions, 2nd revised and enlarged edition. Macmillian, New York.
18. Rossignol, M., Santoni, V., Szponaki, W., and Vansuyt, G., (1990). Differential sensitivity to auxin at the plasma membrane level. In: NijKamp, H.J.J., Van Der Plas, L.H.W., Van Aartrijk,J. (eds) progress in plant cellular and molecular biology. Current plant science and biotechnology in agriculture. 9: 498-503.
19. Spiegel-Roy, P., (1986). Domestication of fruit trees. The origin of domestication of cultivated plants. Elsevier. Amsterdam: 201-211pp.
20. Takhtajan, A., (1997). Diversity and classification of flowering plants. Columbia University Press, Columbia. 643p.
21. Wanas, W., Abou-Rawash, M.B., Abdel-Hamed, A., and El-Homosany, A.A., (2006). Micropropagation of Meet-Ghamr peach and Alamar apricot. Annals Agric .Sci. Sp. Issue, (1): 163-178.
22. Zarrouk, O., Gogorcena, Y., Gomez-Aparisi, J., Betran, J.A., Moreno, M.A., (2005). Influence of peach × almond hybrids rootstocks on flower and leaf mineral concentration, yield and vigour of two peach cultivars. Sci. Hortic. 106: 502-514.