تأثير تراكيز الأملاح اللاعضوية لوسط MS في تجذير أفرع أصلي التفاح والكمثرى خارج الجسم الحي

Effect of MS Inorganic Salts Concentration on Shoots Rooting of Apple and Pear Rootstocks *in vitro*

نورا صاحب عبد زينب عبد الجبار حسين تغريد عبد الجبا ر سعيد اخلاص لازم محمد
أشواق عبد الرزاق عبد الكريم قاسم محمد
دائرة البحوث الزراعية/ وزارة العلوم والتكنولوجيا

Noura Sahib Abed Zainab Abduljabar Hussain Tagreed Abduljabar Eklase lazem Mohammed
Ashwak Abdl razak Abd Al Kareem Qasim Mohammed
Ministry of Science and technology/Agriculture Research Office

E-Mail: zainab.goldy@yahoo.com

الملخص

درس تأثير تراكيز مختلفة من الأملاح اللاعضويه لوسط MS (قوة كاملة ، نصف القوة ، ضعف القوة) (MS ، 1/2MS، 2MS) والخالي من منظمات النمو في قابلية تجذير أفرع أصلي التفاح *Malus domestica* Borkh MM106 والكمثرى *pyrus communis* المكثرة خارج الجسم الحي والمحضنه تحت شده أضاءه 1000 لوكس لمدة 16 ساعة / يوم على درجة حرارة (25 ± 2)م لمدة 8 اسابيع.

أظهرت النتائج إن الوسط الغذائي 1/2 MS أعطى أعلى نسبه تجذير بلغت 70% مقارنه مع الوسطين الاخرين (MS، 2MS) واللذين بلغت نسبه تجذيرهما 40 و 20 % على التوالي . كما أظهرت النتائج إن أصل التفاح MM106 والمزروع في الوسط 1/2 MS تفوق معنويا على أصل الكمثرى في متوسط عدد وطول الجذور والتي بلغت 2.80 جذر /فرع و3.40 سم على التوالي في حين تفوق أصل الكمثرى في معدل طول النبات والذي بلغ 5.80 سم/ نبات.

الكلمات المفتاحيه: أصل الكمثرى ،التفاح ، 1/2MS، MS، 2MS ، خارج الجسم الحي .

Abstract

The effect of different concentration of MS for medium strength (MS, 1/2MS, 2MS) on rooting ability of apple *Malus domestica* Borkh MM106 and pear *pyrus communis* rootstocks were studied, which incubated under 1000 lux light for 16 hr / day with temperature of 25 ±2˚C for 8 weeks. Results showed that 1/2 MS gave higher rooting percentage reached to 70% than 2MS and MS which reached to 40,20 % respectively, Also, results showed that MM106 apple rootstock was significantly superior in number and length of the roots which reached 2.80 root/shoot, 3.4cm respectively, as compared with pear rootstock. While pear rootstock surpass in length of shoots which reached 5.80cm/shoots.

Key words: Pear, apple, 1/2 MS, MS, 2MS, *In vitro.*

المقدمة

يعد أصل التفاح *Malus domestica* Borkh MM106 من أصول مجموعة مولنك مرتن Malling Mirtin التي أنتجت في انكلترا وهو ناتج من التضريب بين Northern spy و Malling [1] والتي تمتاز بجذورها القويه والتي تعطي دعامه قويه للاصناف المطعمه عليها اضافه الى تحملها لمدى واسع من الترب [2]. أما الكمثرى فهي من الأصول النشطة ويمكنه تحمل الترب الثقيلة ذات المستوى المائي العالي وتعتبر من الأمهات لإنتاج البذور منه وبالتالي أنتاج شتلات الأصول للتطعيم عليها والتي تنتشر زراعتها في العراق.

هناك العديد من المشاكل التي تواجه انتاج الفاكهه التفاحيه (التفاح و الكمثرى) منها الانتاجيه المنخفضه ورداءه النوعيه نتيجة لرداءة الأصناف والإصابات المرضيه، وكما هو الحال مع العديد من المحاصيل التجاريه فان اشجار الفاكهه التفاحيه تتعرض لاجهادات احيائيه ولااحيائيه حيث تعد الاصابه الفايروسيه من المحددات المهمه والمؤثره في قوه النمو والحاصل والنوعيه [3]. لذا فان تقنية زراعة الأنسجة النباتية تعد من أهم الطرائق الحديثة في الإكثار الخضري السريع للنباتات والتي وظفت في إنتاج أعداد كبيرة من أصول التفاح والكمثرى خالية من الإصابة المرضية خلال مدة زمنية قصيرة [4، 5، 6، 7،8، 9] ، كما درس العديد من الباحثين العوامل المؤثرة في تجذير الزروعات المكثرة خارج الجسم الحي ، ووجدوا إن قابلية التجذير خارج الجسم الحي تعتمد على نوع الوسط الغذائي وتراكيز الأملاح الداخلة في تكوينة [10] ،لذا فان مرحلة التجذير تعد مرحله مهمه لاتقل أهميتها عن باقي المراحل الأخرى حيث اجريت تجارب عديده لتجذير الافرع في الوسط الغذائي MS بقوه كامله لانواع مختلفه من الاشجار كاشجار الزينه الخشبيه واشجار الفاكهه والغابات [11] ، وفي هذا الصدد وجد [12] إن الوسط الغذائي MS بربع تراكيز املاحه مضافاً اليه 0.25 ملغم / لتر Indole -3- butyric acid (IBA) أعطى اعلى نسبة تجذير 80% لافرع تفاح عمارة مقابل 25% في الوسط الذي يحتوي على الثلث أو النصف اما [13] فقد سجل اعلى نسبه تجذير وعدد وطول جذور لاصل الكمثرى *Pyrus communis* L. عندما اضيف 2 ملغم/لتر IBA لوسط MS بقوه كامله بلغت 100% ، 14.00 جذرو 4.60 سم على التوالي . في حين وثقت دراسة [14] كفاءه Indole -3- butyric acid (IBA) في التجذير مقارنه بـ Naphthalene acetic acid (NAA) حيث حصلت على نسبه تجذير 85% في الوسط الغذائي MS بنصف القوه المضاف اليه 2 ملغم /لتر IBA اضافه الى 1 غم/لتر (AC) الفحم النشط و 20 غم /لتر سكروز. كما درس [3] تاثير تراكيز مختلفه لاملاح اللاعضويه لوسط MS (ربع القوه ، نصف القوه ، قوه كامله وضعف القوه) في قابليه التجذير لافرع اصلي التفاح MM106 والكمثرى *Pyrus calleryana* حيث سجلوا افضل عدد وطول جذر واعلى نسبه تجذير لاصل التفاح بلغت 1.95 جذر، 2.23 سم و 90% على التوالي في وسط MS بنصف قوه املاحه والتي اختلفت معنويا عن باقي المعاملات في حين اعطى وسط MS بنصف قوه املاحه المزروع فيه افرع اصل الكمثرى نسبه تجذير وعدد جذور بلغت 80% و 1.84 جذر على التوالي . لذا يهدف البحث الحالي الى دراسة تأثير التراكيز المختلفة من أملاح MS

اللاعضوية في تجذير افرع أصلي التفاح *Malus domestica* Borkh MM106 والكمثرى *Pyrus communis* المأخوذة من المزارع النسيجية بدون إضافة منظمات النمو إلى الوسط الغذائي.

المواد وطرق العمل

نفذ هذا البحث في مختبرات دائرة البحوث الزراعية / وزارة العلوم والتكنولوجيا 2010-2011 و ذلك باختيار الأصلين الكمثرى *Pyrus communis* L. والتفاح *Malus domestica* Borkh أصل MM106 حيث زرعت أفرع بطول 3 سم متجانسة من حيث عدد الأوراق والسمك ناتجة من المزارع النسيجية (الزراعات المتكررة ، Sub culture 3-4) بعد إزالة الأوراق السفلية منها في وسط MS [15] الصلب ذو تراكيز مختلفة من املاحه اللاعضوية (MS 1/2، MS و2MS) وبدون إضافة أي منظمات نمو جدول (1). حضنت الزروعات تحت درجة 25± 2 مْ و16 ساعة ضوء 1000 لوكس / يوم، أخذت الملاحظات عن نسبة تجذير النباتات أسبوعيا ولمدة 8 اسابيع كما تم حساب عدد الجذور واطوالها وطول النبات وعدد الأوراق.

نفذت الدراسة كتجربة عامليه باستخدام التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design (C.R.D) وبعشرة مكررات لكل وسط ولكل أصل وجرى تحليل البيانات ومقارنتها احصائياً حسب اختبار اقل فرق معنوي (L.S.D) وعلى مستوى احتمال 5% [16].

جدول (1): مكونات وسط MS من الأملاح اللاعضوية المستخدم في تحضير الوسط الغذائي (Murashige و Skoog، 1962) الخاص بالتجذير.

المجموعة	أسم المركب	الصيغة الكيمياويه	الأوساط الغذائية المستخدمة في الدراسة التركيز ملغم/لتر		
			MS	1/2 MS	2 MS
النترات	نترات الأمونيوم	NH4NO3	1650	825	3300
	نترات البوتاسيوم	KNO3	1900	950	3800
الكبريتات	كبريتات المغنيسيوم المائية	MgSO4.7H2O	370	180	740
	كبريتات المنغنيز المائية	MnSO4.4H2O	22.3	11.15	44.6
	كبريتات الخارصين المائية	ZnSO4.7H2O	8.6	4.3	17.2
	كبريتات النحاس المائية	CuSO4.5H2O	0.025	0.0125	0.05
الهاليدات	كلوريد الكالسيوم المائي	CaCl2.2H2O	440	220	880
	كلوريد الكوبلت المائي	CoCl2.6H2O	0.025	0.0125	0.05
	أيوديد البوتاسيوم	KI	0.83	0.415	1.66
B-P-Mo	فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين	KH2PO4	170	85	340
	مولبيدات الصوديوم المائية	Na2MoO4.2H2O	0.25	0.125	0.5
	حامض البوريك	H3BO3	6.2	3.1	12.4
الحديد المخلبي	كبريتات الحديدوز المائية	FeSO4.7H2O	27.8	13.9	55.6
	أثلين ثنائي الأمين رباعي حامض الخليك	EDTA.Na2	37.3	18.65	74.6
PH= 5.7					

النتائج والمناقشة

تأثير تراكيز أملاح MS في النسبة المئوية لتجذير أصلي التفاح والكمثرى أسبوعيا :-

تشير النتائج في جدول (2) إلى إن أفرع الأصل للتفاح MM106 بدأت في التجذير خلال الاسبوع الرابع من زراعتها في وسط 1/2 MS وبلغت 20% وازدادت نسبة التجذير بمرور الزمن لتصل إلى 100% بعد 8 اسابيع من التجذير، بينما بدأت أفرع أصل الكمثرى بالتجذير في الاسبوع الخامس من الزراعة في وسط 1/2MS بلغت 20% في حين فشلت أفرع أصل التفاح MM106 في اعطاء جذور في وسط 2MS .

جدول (2) تأثير تراكيز أملاح MS في النسبة المئوية لتجذير أفرع أصلي التفاح والكمثرى أسبوعيا".

الأصل	تراكيز أملاح وسط Ms	النسبة المئوية للأفرع المجذرة (أسبوع)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
الكمثرى	1/2MS	-	-	-	-	20	20	20	20
	MS	-	-	-	-	-	-	20	20
	2MS	-	-	-	-	-	-	20	20
التفاح MM106	1/2MS	-	-	-	20	40	80	80	100
	MS	-	-	-	-	20	20	80	80
	2MS	-	-	-	-	-	-	-	-

أما نتائج جدول (3) فقد أظهرت إن نسبه التجذير قد تأثرت معنويا بأصلي الكمثرى والتفاح وتراكيز الأملاح اللاعضويه لوسط MS حيث تفوق اصل التفاح MM106 معنويا على اصل الكمثرى وأعطى نسبه مئوية بلغت 46.67% كذلك بلغت اعلى نسبه تجذير 70% في الوسط الغذائي 1/2 MS مقارنه مع الوسط 2MS الذي اعطى اقل نسبه مئويه بلغت 20%، كذلك كان للتداخل بين الأصول وتراكيز الأملاح اللاعضويه لوسط MS تأثير معنوي في هذه النسبه اذ بلغت 100% عند زراعه افرع اصل التفاح MM106 في وسط 1/2MS واختلف معنويا عن باقي التداخلات في حين فشل نفس الاصل المزروع في وسط 2MS في إعطاء جذور.

جدول (3): تأثير تراكيز أملاح MS في النسبة المئوية لتجذير أفرع أصلي التفاح والكمثرى.

تراكيز أملاح اللاعضويه لوسط MS	الاصناف الكمثرى	التفاح MM106	المعدل
1/2 MS	40.00	100.00	70.00
MS	40.00	40.00	40.00
2MS	40.00	0.00	20.00
المعدل	40.00	46.67	
أ.ف.م عند مستوى 5%	الأصل= 3.65 الأوساط الغذائية = 4.47 الأصل * الأوساط الغذائية = 6.32		

تاثير تراكيز أملاح MS في عدد الجذور واطوالها لتجذير أصلي التفاح والكمثرى.

تشير نتائج جدول (4) إن التراكيب الوراثية لم تختلفت معنويا فيما بينها في صفة عدد الجذور حيث بلغت عدد الجذور0.70 و 1.07 جذر/فرع لاصل الكمثرى واصل التفاح على التوالي، أما تراكيز الأملاح اللاعضويه لوسط MS فقد أثرت معنويا في صفة عدد الجذور وبلغ اعلى معدل 1.70جذر/فرع في وسط 1/2MS اما اقل معدل جذور بلغ 0.40 جذر/نبات عند الوسط 2MS .

أما التداخلات بين تراكيز الأملاح اللاعضويه لوسط MS والاصول فقد اثرت معنويا اذ أعطى أصل التفاح MM106 المزروع في الوسط الحاوي على تراكيز الأملاح اللاعضويه لـMS 1/2 أعلى معدلا بلغ 2.80 جذر/فرع والذي اختلف معنويا عن باقي التداخلات اما اقل معدل عدد جذور بلغ 0.40 جذر/فرع لاصل التفاح MM106 المزروع في الوسط MS في حين فشلت أفرع أصل التفاح MM106 في اعطاء جذور في وسط 2MS .

اما طول الجذر فتشير نتائج الجدول نفسه إن الأصول المدروسة أيضا لم تختلف معنويا فيما بينها في حين اثرت التراكيز المختلفة لاملاح MS في تلك الصفة وبلغ اعلى معدل لطول الجذر 2.10 سم/فرع عند الوسط 1/2 MS في حين بلغ اقل معدل طول جذر 0.20 سم/ فرع في الوسط 2MS.

واثرت التداخلات بين اوساط MS والاصول المدروسة معنويا في طول الجذر وبلغ اعلى معدل 3.40 سم/فرع لافرع أصل التفاح MM106 المزروع في الوسط 1/2 MS ولم يختلف معنويا عن أفرع أصل الكمثرى المزروعه في الوسط MS واختلف معنويا عن باقي التداخلات ، اما اقل معدل في طول الجذر 0.40 سم/فرع لافرع أصل الكمثرى المزروعه في الوسط 2MS في حين لم يكن هناك اي تجذير لافرع أصل التفاح MM106 المزروعه في الوسط 2MS.

جدول (4): تأثير تراكيز أملاح MS في نسبة تجذير أصلي التفاح والكمثرى في معدل عدد الجذور واطوالها (سم) بعد 8 أسابيع من الزراعة.

تراكيز أملاح وسط MS	معدل عدد الجذور الكمثرى	التفاح MM106	المعدل	تراكيز أملاح وسط MS	طول الجذور (سم) الكمثرى	التفاح MM106	المعدل
1/2 MS	0.60	2.80	1.70	1/2 MS	0.80	3.40	2.10
MS	0.80	0.40	0.60	1MS	2.00	0.50	1.25
2MS	0.80	0.00	0.40	2MS	0.40	0.00	0.20
المعدل	0.70	1.07		المعدل	1.07	1.30	
أ.ف.م عند مستوى 5%	الأصل= غ.م التركيز = 1.01 الاصل * التركيز =1.43			الاصل = غ.م التركيز = 1.34 الاصل* التركيز = 1.89			

تأثير تراكيز أملاح MS في طول النبات وعدد الأوراق لتجذير أصلي التفاح والكمثرى

أظهرت النتائج في جدول (5) إن التراكيز المختلفة من أملاح اللاعضويه لوسط MS وتداخلاتها مع الأصول المدروسة لم تؤثر معنويا في معدل صفتي طول النبات وعدد الأوراق في حين أثرت الأصول معنويا في صفه طول النبات اذ تفوق أصل الكمثرى معنويا في معدل طول النبات بلغ 5.40 سم / فرع بينما أعطى أصل التفاح MM106 معدل طول بلغ 3.73 سم / فرع، ولم يختلفا الأصلين معنويا في معدل عدد الأوراق. قد يرجع السبب في الاختلاف بين الأصلين إلى الاختلاف في التركيب الوراثي وتأثير ذلك في الحالة الفسيولوجية للفروع المأخوذة من وسط التضاعف [17].

جدول (5): تأثير تراكيز أملاح MS في نسبة تجذير أصلي التفاح والكمثرى في معدل طول النبات (سم) وعدد الأوراق بعد 8 أسابيع من الزراعة.

تراكيز أملاح وسط MS	معدل طول النبات(سم) الكمثرى	التفاح MM106	المعدل	تراكيز أملاح وسط MS	متوسط عدد الأوراق الكمثرى	التفاح MM106	المعدل
1/2 MS	5.70	3.50	4.60	1/2 MS	15.80	14.60	15.20
MS	5.80	3.70	4.75	1MS	18.00	20.20	19.10
2MS	4.70	4.00	4.35	2MS	17.40	17.60	17.50
المعدل	5.40	3.73		المعدل	17.07	17.47	
أ.ف.م عند مستوى 5%	الأصل = 0.68 التركيز = غ ,م الأصل * التركيز = غ.م			الأصل = غ.م التركيز = غ.م الأصل * التركيز = غ.م			

إن استخدام بيئة الزراعة بهذا التركيز المنخفض من الأملاح يكون مناسبا لعدم حاجة النباتات إلى قدر كبير من النتروجين في هذه المرحلة [18] ويمكن تفسير قدره الأفرع على التجذير في الأوساط ذات المستوى المنخفض من الأملاح إلى إن تقليل مستويات العناصر ومنها النتروجين إلى النصف حسب تركيز الأملاح المضافة إلى الوسط يؤدي إلى تقليل مستويات النتروجين في الفروع و بالتالي إلى زيادة نسبة الكربوهيدرات إلى النتروجين C/N Ratio حيث إن ارتفاع هذه النسبة يساعد بشكل غير مباشر بنشوء الجذور وزيادة عددها وطولها [1، 19، 20] ، من خلال تقليل النمو الخضري على حساب زيادة تكوين الجذور. حيث يعتبر مصدر النتروجين في بيئات الزراعة (الامونيوم NH_3^- والنترات NO_3) عنصر أساسي في التكوين الجزيئي للكلوروفيل والحوامض النووية وبعض الهرمونات النباتية والاحماض الامينية اما السكروز فيعد المصدر الكاربوهيدراتي الذي يعد مصدر للطاقة في الأوساط الغذائية حيث إن نمو جذور بعض النباتات يكون أحسن في وجود السكروز [18].

أشارت بعض الدراسات إن زيادة درجة استعادة الحداثة للأفرع [22] و تقدم عمر المزرعة النسيجية [21] لها علاقة بالزراعات المتكررة للأفرع في مرحلة التضاعف من خلال تأثيرها في حاجة تلك الأفرع للاوكسين لأجل حدوث التجذير. جاءت هذه النتائج متفقة مع [24،23] في حين لم تتفق مع [25] في تفوق الأصل MM106 وسطي MS المحتويين على ثلث وخمس قوة الأملاح اللاعضوية للنباتات المحضنة والناتجة من الزراعات الثانوية المتكررة في ظروف الإضاءة، إن النتائج المتحصل عليها تعطي فرصه الحصول على نباتات مجذرة ذات نمو خضري وجذري جيد يساعد في أقلمتها لزراعتها لاحقا أضافه إلى الاقتصاد في كمية الأملاح اللاعضوية المضافة إلى وسط MS مع الاستغناء عن إضافة الاوكسينات الخاصة بالتجذير.

المصادر

1.Hartmann, H. T., Kester, D.E., Davies, F.T. and Geneve, R. L. (2002). Plant Propagation, Principles and Practices. 7th Edition. New Jersey: Prentice Hall.

2. Wikipedia article. (2003). Apple Propagation. Available at http://www.know ledgerush.com.

3. Salih Duhoky, M.M.S., Omar, M.S. and Yaseen, S.A.H. (2012). "*In Vitro* Rooting of Apple MM106 (*Malus domestica* Borkh.) and Pear (*Pyrus calleryana*) Rootstocks" Athens: ATINER'S Conference Paper Series, No: AGR2012-0346.

4. الحسيني، زينب عبد الجبار حسين. (2001). الإكثار والتطعيم لأشجار الكمثرى خارج الجسم الحي. رسالة ماجستير- كلية الزراعة- جامعة بغداد- العراق.

5. Freire , I.C.G., Coelho, C.P.S and Barros, M.T.F. (2002). Improved culture media for the *in vitro* establishment of pear from nodal cuttings. Acta Horticulture. 2: 457-461.

6. Kadota, M. and Nimi, Y. (2003). Effect of cytokine types and their concentration on shoot proliferation and hyperdricity *in vitro* pear cultivar shoots. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 66: 73-77.

7. Zhu, LH., Li. XY. and M.Welander. (2005). Optimization of growing conditions for the apple rootstock M26 grown in RITA containers using temporary immersion principle. Plant Cell Tissue Organ Cult. 81: 313-318.

8. Thakure, A., Dalal, R.P.S. and Najat. (2008). Microprpahation of pear (Pyrus spp). A review. Agric. Rew. 29 (4): 260-270.

9. Thakure, A. and Kanwar, J.S. (2008). Micropropagation of wild *Pyrus pyrifolia* (Burm F.) Nakai. I. Explant establishment and shoot multiplication. Not. Bot. Hort. Agrobot. Gluj. 36(1): 103-108.

10. Centellas, A.Q., Fortes, GRD., Muller, NTG., Zanol, G.C. and Flores, R. (1999). Effect of synthetic auxins on the *in vitro* rooting of apple tree. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. 34 (2): 181-186.

11. Monocousin, C. (1998). A Revised Medium for rapid Growth and Bioassay with Tobacco Tissue Cultures. Physiol. Plant. 15:473-479.

12. باشي، عمار زكي أمين. .(1988). إكثار أصل التفاح عمارة باستخدام الزراعة النسيجية – رسالة ماجستير – كلية الزراعة والغابات – جامعة الموصل – جمهورية العراق .

13. Al-Ansary, A. M. F., Rizkalla, A. A. and Badr-Elden, A.M. (2007). Micropropagation and Biochemical Genetic Markers detection for Drought and Salt Tolerance of Pear Rootstock. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 1(4): 625-636.

14. Sabah, A. H. and Mahdia, .F. G. (2012). *In vitro* Propagation of pear *Pyrus betulaefolia* Rootstock . American – Eurrasian. J. Agric.& Environ. Sci. 12(4) : 484-489.

15. Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15:473-497.

16. الساهوكي، مدحت و وهيب، كريمة محمد. (1990). تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة بغداد- العراق.

17. Zimmerman , R.H. and Fordham, I. (1985). Simplified methods for rooting apple cultivars *in vitro*. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 110(1):34-38.

18. شكري، وفاء محمد والمعيقل، ريم محمد. (2013). زراعة الخلايا والانسجة النباتية. مكتبة الدمام الطبعة الأولى. المملكة العربية السعودية.

19. الدباغ، فرقد محمد و محمد عباس سلمان. (2000). الإكثار الخضري للبشملة *Eriobotrya japonica* Lindle باستخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية التضاعف الخضري. التجذير والأقلمة. مجلة الزراعة العراقية. مجلد 5 – عدد 3 . الصفحات 152 – 163.

20. Orlikowska , T. (1992). Influence of arginine on *in vitro* rooting of dwarf apple rootstocks. Plant Cell, and Organ Culture. 31: 9-14.

21. George, E.F. (1996). Plant propagation by tissue culture – part II In practice (2nd ed) British.

22. Webster, CA. and Jones, O.P. (1989). Micro propagation of the apple root stock M9: effect of sustained subculture on apparent rejuvenation *in vitro*. J. Hort. Sci. 64 (4): 421-428.

23. الجلبي، سامي كريم، زينب عبد الجبار حسين الجسيني وعبد الجاسم محيسن الجبوري. (2002). تأثير البنزل ادنين BA والاندول حامض البيوتريك IBA في تضاعف وتجذير طعوم واصول اشجار الكمثرى خارج الجسم الحي. مجلة ابحاث التقانة الحيوية المجلد الرابع – العدد (الثاني).

24. Lucyszyn, N., Quoirin, M., Ribas, L.L.F. and Sierakowski, M.R. (2006). Effect of agar, galactomannan and indole-butyric acid on *in vitro* rooting of the pear cultivar 'Durondeau' and apple rootstock cultivar 'Marubakaido'. The J. of Hort. Sci. and Biot. 81(2): 310-314.

25. الحسيني، زينب عبد الجبار حسين وعبد الجاسم محيسن الجبوري ومسلم عبد علي عبد الحسين وسحر نعيم عبد الوهاب. (2006). تأثير تراكيز الأملاح اللاعضوية لوسط MS في تجذير أفرع أصلي التفاح MM106 وتفاح عمارة خارج الجسم الحي. مجلة أم سلمه للعلوم مجلد 3(2) :202-210.