



تأثير نترات الفضة ($AgNO_3$) والفلوروجلويسينول (Phloroglucinol) على تشجيع النمو الخضري للعقد المفردة للرمان صنف خضوري

خليفة محمد خليفة^{1*}، زهير مصطفى بن سعد²، مرام فتحي محمد ميلاد³
¹ قسم البستنة، مركز البحوث الزراعية، ليبيا
^{2,3} قسم البستنة، كلية الزراعة، جامعة طرابلس، ليبيا

Effect of Silver Nitrate ($AgNO_3$) and Phloroglucinol (PG) on enhancing vegetative growth of single nodes of pomegranate (*Punica granatum*) cv. Kahdouri

Khalifa M. Khalifa^{1*}, Zuher M. Bensaad², Maram F. Milad³

¹Horticulture Department, Agricultural Research Center, Libya

^{2,3}Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Tripoli, Libya

*Corresponding author

www.khalefa62@gmail.com

*المؤلف المراسل

تاريخ النشر: 2025-02-12

تاريخ القبول: 2024-12-15

تاريخ الاستلام: 2024-10-01

المخلص

أجريت هذه التجربة لدراسة تأثير نترات الفضة ($AgNO_3$) والفلوروجلويسينول (Phloroglucinol) على نمو العقد المفردة لصنف الرمان خضوري المستزرعة على وسط الزراعة (Woody Plant Medium) (WPM). استخدمت نترات الفضة بتركيز 0، 10، 20، 30، 40 و 50 ميكرومول، واستخدم الفلوروجلويسينول بتركيز 0، 20، 40، 60، 80 و 100 ملجم/لتر في وجود Benzyl adenine (BA) بتركيز 9 ميكرومول. حضنت الأنابيب في غرفة نمو درجة حرارتها 27م و 16 ساعة إضاءة (2000 Lux)، و 8 ساعات ظلام وذلك لمدة 5 أسابيع. كان تركيز 30 ميكرومول من نترات الفضة الأعلى تأثيراً معنوياً على عدد الأوراق الكلية وعدد الأغصان النامية، مع تفوق التركيز 10 ميكرومول في صفة طول الأغصان النامية في المستأصلات المستزرعة. أما الفلوروجلويسينول فكانت أفضل استجابة له عند تركيز 20 ملجم/لتر لعدد الأوراق الكلية وطول الأغصان النامية.

الكلمات المفتاحية: الرمان، خضوري، نترات الفضة، الفلوروجلويسينول، الأكتار الدقيق.

Abstract

An experiment was conducted to study the effect of Silver Nitrate ($AgNO_3$) and Phloroglucinol individually on growth of single node explants of local pomegranate cv. Khadouri cultured on Woody Plant Medium. Silver nitrate was used at 0, 10, 20, 30, 40 and 50 micromoles, while Phloroglucinol was used at 0, 20, 40, 60. 80 and mgL^{-1} in the presence of Benzyl adenine (BA) at 9 micromoles. The cultures were incubated in a growth room where the temperature was kept at $27^{\circ}C \pm 2$ and 16 hr. light (200Lux) /8hr. dark photoperiod for 5 weeks. Silver nitrate at 50 micromoles significantly affected total number of leaves and number of growing shoots. Moreover, Silver nitrate at 10 micromoles significantly

had the highest length of shoots. Using Phloroglucinol at 20 mgL⁻¹ gave the highest number of leaves and length of growing shoots.

Keywords: Pomgranate, Khadouri, Silver Nitrate, Phloroglucinol, Micropropagation.

مقدمة

الرمان (*Punica granatum* L Pomegranate) يتبع العائلة الرمانية *Punicaceae* يعدّ من أقدم الفواكه المعروفة التي يرجع تاريخها إلى أقدم العصور، حيث تعد تماره مصدراً غنيا بالأحماض العضوية والمركبات الفينولية والسكريات والمعادن والفيتامينات الذائبة في الماء (ابراهيم، 1996). يتم أكثر الرمان بعده طرق منها البذور ولكن ليس على نطاق واسع نظراً لأنها تعطي شجيرات تختلف فيما بينها في التركيب الوراثي، ولكن يلجأ إلى هذه الطريقة في استنباط الأصناف الجديدة (الزناتي وحسن 1990)، كذلك يتم الأكثر الخضري للرمان بالعقل الساقية الناضجة والسرطانات والترقيد والتطعيم لتجديد الأصناف المتدهورة إلا أنه يعاب على هذه الطرق احتمال انتقال الأمراض لذلك تم اللجوء لاستخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية لإكثار الرمان كغيره من المحاصيل البستانية لمزيه العديدة (ميلاد، 2014). بدأت الأبحاث في زراعة الأنسجة في الرمان منذ التسعينات من القرن العشرين لدراسة العوامل التي تؤثر على استجابة المستأصل المزروعة للزراعة النسيجية مثل تأثير منظمات النمو والأوساط الغذائية ونوع المستأصل (Cabriela and Zăpârțan, 2009).

كان الباحثون في مجال تقنيات زراعة الأنسجة النباتية في بحث مستمر عن مركبات جديدة يمكن أن تحسّن من استجابة النباتات في مزارع الأنسجة ومن هذه المركبات المستخدمة في مزارع الأنسجة هو نترات الفضة *Silver Nitrate* ($AgNO_3$) وهو مركب غير عضوي ويستخدم بشكل واسع في زراعة الأنسجة النباتية وتنظيم نمو النباتات، والذي أثبت فعاليته في تثبيط تخليق غاز الإيثيلين في المزارع النسيجية (Turhan, 2004). أشارت دراسات سابقة إلى أن نترات الفضة لها تأثير إيجابي على توالد الأغصان (shoots) ففي دراسة على نبات الفستق (*Pistacia vera*) قام بها (Ozden et al., 2005) وجدوا أن إضافة نترات الفضة بتركيز 48.0 ميكرو مول إلى وسط الزراعة رفع من كفاءة الإكثار ونمو الأغصان، وقلل من تكوين الكالس في قواعد المستأصلات، ووجد الباحث (Chithra et al., 2004) في دراسة لإكثار النبات الطبي والعطري (*Rotula aquatica* L) أن إضافة نترات الفضة بتركيز 11.7 ميكرو مول لوسط MS ½ السائل والذي يحتوي على 2.69 ميكرومول NAA من حقق أعلى عدد من الجذور بمعدل 16.8 جذر لكل مستأصل وأن النباتات الصغيرة الناتجة من وسط يحتوي على نترات الفضة أعطت نسبة نجاح 95%. وفي دراسة قام بها (Turhan, 2004) عن الإكثار الدقيق لبعض أصناف البطاطس وجد أن أفضل تطور للأغصان كان باستخدام نترات الفضة بتركيز 5 أو 10 ميكرو مول، كما استخدم (Drisy-Ravi et al., 2019) نترات الفضة لتشجيع نمو الأغصان والبراعم الابيطية لنبات المورينجا (*Moringa olifera*) وكان أفضل تركيز 2.5 ميكرو مول مع BA بتركيز 2.5 ميكرو مول.

ومن المركبات الأخرى التي استخدمت بشكل ناجح في مزارع الأنسجة النباتية مركب الفلوروجلو سينول *1,3,5-trihydroxybenzene* ($C_6H_6O_3$) من أجل تحفيز توالد وتكوين الأغصان وتطور الخلايا الجسمية في العديد المحاصيل البستانية (Texiera et al., 2013a)، ويعدّ من المركبات الثانوية التي تنتجها بعض النباتات والطحالب والبكتيريا بشكل طبيعي. أشارت دراسة قام بها (Stephen et al., 2010) على نبات الارثد الطبي والعطري (*Vitex agnus castus* L.) باستخدام الفلوروجلو سينول أنه يمكن كسر السكون المبكر للبراعم وتشجيع توالد الأغصان بإضافة الفلوروجلو سينول بمعدل 100 ملجم/لتر مع 1 مجم/لتر BA. وفي دراسة عن نبات البرسيم (*Medicago sativa* L.) قام بها (Cabriela and Zăpârțan, 2009) لوحظ أن إضافة الفلوروجلو سينول إلى وسط MS بمعدل 100 ملي/لتر حفز على توالد قمم النباتات وتكوين أكبر عدد من الجذور. تهدف هذه التجربة إلى دراسة تأثير نترات الفضة والفلوروجلو سينول بعدة تركيزات على تشجيع النمو الخضري للعقد المفردة للرمان صنف خضوري.

مواد وطرائق البحث

أجريت هذه التجربة بمركز البحوث الزراعية بطرابلس في موسم ربيع 2013 حيث جمعت نموات طرفية

من أشجار رمان بعمر 10 سنوات تقريبا من مزرعة خاصة بمنطقة تاجوراء التي تبعد 30 كم شرقي طرابلس. أحضرت النموات الخضرية إلى المختبر في نفس اليوم وأزيلت الأوراق وغسلت المستأصلات بالماء والصابون لإزالة الأتربة، ثم وضعت تحت الماء الجاري لمدة 30 دقيقة. بعد ذلك أجري التعقيم السطحي بغمر المستأصلات في محلول هيبوكلورات الصوديوم بتركيز 1.5% (تركيز المادة الفعالة) لمدة 30 دقيقة مع الرج الجيد، ثم غسلت بالماء المقطر والمعقم ثلاث مرات لمدة 5 دقائق في كل مرة مع الرج بشكل جيد.

زرعت عقد مفردة بطول 1 سم داخل أنابيب استزراع تحتوي على وسط الزراعة (McCown & Lloyd WPM (1980), يحتوي على منظم النمو 6- Benzylaminopurine (BA) بتركيز 9 ميكرومول. اضيفت نترات الفضة إلى الوسط السابق تحضيره بتركيز 0، 10، 20، 30، 40 و 50 ميكرومول. كما اضيف الفلوروجلويسينول بتركيز، 20، 40، 60، 80 و 100 ملجم/لتر وكل من المركبين بشكل منفرد. عقت الأوساط على درجة حرارة 121م° وتحت ضغط Bar 1 بواسطة جهاز التعقيم لمدة 15 دقيقة. زرعت المستأصلات بعدد مستأصل واحد في أنابيب استزراع حجم 25 مل تحتوي كل منها على 5 مل من الوسط الغذائي، وحضنت الأنابيب في غرفة نمو درجة حرارتها 27م° و 16 ساعة إضاءة، (2000 Lux) و 8 ساعات ظلام وذلك لمدة 5 أسابيع، وسجلت البيانات المتعلقة بعدد الأوراق، عدد الأغصان النامية وطول الأغصان النامية في كل مستأصل بعد شهر من الاستزراع.

استخدم النظام العشوائي الكامل (Completely Randomized Design) بعدد 5 مكررات وحللت النتائج إحصائيا باستخدام برنامج حاسوب (Minitab ver.16) وعند وجود فروق معنوية عزلت المتوسطات باستخدام اختبار أقل فرق معنوي عند مستوى 5%.

النتائج والمناقشة

من النتائج المبينة في جدول 1 يتضح تفوق التركيز 30 ميكرومول نترات الفضة على معامليتي المقارنة و 10 ميكرومول في عدد الاوراق الكلية حيث وصل متوسط العدد الكلي للأوراق إلى 23.6 ورقة لكل مستأصل، ولم تلاحظ أية فروق معنوية في صفة عدد الأغصان النامية وأطولها. ويلاحظ ان التركيز 30 ميكرومول سجل اعلى متوسط للأغصان النامية بمتوسط بلغ 2.4 غصن لكل مستأصل بالرغم من عدم وجود فروق معنوية بين التراكيز المستخدمة، وإن أقل عدد للأغصان النامية كان في وسط المقارنة والتركيز 40 ميكرومول/لتر. أما طول الأغصان النامية فكان الأكثر تأثيرا هو التركيز 10 ميكرومول بمتوسط بلغ 1.25 سم وأقله في التركيز 50 ميكرومول بمتوسط 0.40 سم بالرغم من عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات.

جدول 1: تأثير نترات الفضة على نمو العقد المفردة في صنف الخضوري بعد 4 أسابيع من الاستزراع.

نترات الفضة (ميكرومول)	عدد الاوراق الكلية في المستأصل	عدد الأغصان النامية	طول الأغصان النامية (سم)
المقارنة (0)	2.8	1.8	0.60
10	14.8	2.0	1.25
20	20.6	2.2	0.95
30	23.6	2.4	0.70
40	21.4	1.8	0.60
50	20.6	2.0	0.40
أقل فرق معنوي عند مستوى 5%	10.6	*غ.م	غ.م

*غ.م: غير معنوي.

أشارت دراسات سابقة إلى أن نترات الفضة لها تأثير معنوي على توالد أغصان البطاطا الحلوة (Gong et al., 2005) إذ تحقق أفضل توالد للأغصان من أجزاء من الساق والتي زرعت وسط MS مضافاً إليه 1.0 مجم/لتر NAA مع إضافة 8.0 نترات الفضة وبنسبة توالد بلغت 86.3%. كما تتفق هذه النتائج مع دراسة على نبات الفستق (*Pistacia vera L.*) قام بها (Ozden et al., 2005) حيث وجدوا أن إضافة نترات الفضة بتركيز 48.0 ميكرومول إلى وسط الزراعة رفع من كفاءة الاكثار ونمو الأغصان، وقلل من تكوين

الكالس في قواعد المستأصلات في جميع الأجزاء النباتية المتوالدة. وفي دراسة قام بها (Turhan, 2004) عن بعض أصناف البطاطس وجد أن أفضل تطور للأغصان كان باستخدام نترات الفضة بتركيز 5 أو 10 ميكرومول.

وفيما يتعلق باستخدام الفلوروجلوسينول أشارت النتائج إلى تأثيره الإيجابي بشكل عام على تشجيع النمو الخضري في العقد المفردة. ويتضح من النتائج الواردة في جدول 2 وجود فروق معنوية في كل من عدد الأوراق الكلية وطول الأغصان النامية حيث تفوق التركيز 20 ملجم/لتر بمتوسط 18.0 ورقة للمستأصل وأقلها كان عند المقارنة بمتوسط 5.2 ورقة للمستأصل، وفي طول الأغصان النامية تفوق أيضا تركيز 20 ملجم/لتر بمتوسط 2.40 سم، والمعاملة الأقل تأثيرا كانت المقارنة بمتوسط 0.30 سم. هذا ولم يلاحظ وجود فروق معنوية بين المعاملات في عدد الأغصان النامية ولكن سجل التركيز 100 ملجم/لتر أعلى عدد من الأغصان بمتوسط 1.8 وأقلها كان عند المقارنة بمتوسط 0.8. تتفق هذه النتائج مع نتائج دراسة قام بها (Stephen et al., 2010) على نبات الارثد الطبي والعطري (*castus Vitexagnus*) باستخدام الفلوروجلوسينول ونترات الفضة حيث شجع توالد الأغصان عند استخدام الفلوروجلوسينول بمعدل 100 ملجم/لتر. وقد اختبرت فعالية الفلوروجلوسينول لتشجيع النمو الخضري والتضاعف للقمم الخضرية في ستة من اصناف البطاطس في وسط MS وأشارت النتائج الى ان الفلوروجلوسينول بتركيز 8 مللي مول وفي وجود السكروز بتركيز 2 مول مع حمض الجبرلين بتركيز 5.8 ميكرومول وبنزاييل ادينين بتركيز 1.1 ميكرو مول كان أفضل تركيز ادى الى زيادة الوزن الطري للافرخ وطولها (Sarka and Naik, 2000). وفي دراسة عن نبات اليرسيم (*Medicago sativa L.*) قام بها (Cabriela and Zaparatr, 2009) لوحظ أن إضافة الفلوروجلوسينول إلى الوسط MS بمعدل 100 ملليتر/لتر حفز توالد قمم النباتات وتكوين أكبر عدد من الجذور.

جدول 2: تأثير الفلوروجلوسينول على نمو العقد المفردة في صنف الخضوري.

طول الأغصان النامية (سم)	عدد الأغصان النامية	عدد الاوراق الكلية في المستأصل	فلوروجلوسينول (ملجم/لتر)
0.30	0.8	5.2	0
2.40	1.6	18.0	20
0.70	1.4	13.6	40
0.70	1.6	17.8	60
0.48	1.6	9.8	80
1.00	1.8	17.8	100
1.03	غ.م	8.2	أقل فرق معنوي عند مستوى 5%

إن التأثير الإيجابي للفلوروجلوسينول يتشابه مع نتائج بعض الابحاث في هذا الخصوص من حيث تأثيراته المشجعة على تكوين الجذور وتوالد الاغصان في العديد من المحاصيل البستانية حيث فسر استخدامه على أنه قد يكون كمساعد للأكسينات أو لحمايتها من الأكسدة، كما أن له نشاط مشابه للسيتوكينينات مثل منظم النمو TDZ (Texiera et al., 2013b). تخلص نتائج التجربة الى التأثير الإيجابي لنترات الفضة بشكل عام وكذلك الفلوروجلوسينول وانه ينصح باستخدام نترات الفضة بتركيز 30 ميكرومول والفلوروجلوسينول بتركيز 100 ملجم/لتر عند اكنار صنف الخضوري، ويمكن اختبار ذلك ايضا في اصناف أخرى من الرمان للتأكيد على التأثير الإيجابي لهذه المركبات تحت ظروف التجربة.

المراجع

1. إبراهيم؛ عاطف محمد. (1996). الفاكهة المتساقطة الأوراق، زراعتها، ورعايتها وإنتاجها. الطبعة الثانية. منشأة المعارف. الاسكندرية.
2. الزناتي؛ محمد راغب وحسن، مختار محمد. (1990). زراعة وانتاج الفاكهة في الأراضي الجديدة. الدار العربية للنشر والتوزيع. القاهرة. مصر: 73.
3. ميلاد؛ خليفة محمد خليفة. (2014). الاكثار الدقيق لصنفين من الرمان التاجوري والخضوري. رسالة

4. Chithra, M., K., P. Martin, C. Sunandakumari and P.V. Madhusoodanan. (2004). Silver nitrate induced rooting and flowering *in vitro* on rare rheophytic woody medicinal plant *Rotula aquatica* L. Indian journal of biotechnology,3: 418-421.
5. Drisya -Ravi, R. S., E. A . Siril and B. R. Nair .(2019). The effect of silver nitrate on micropropagation of *Moringa oleifera* Lam. an important vegetable crop of tropics with substantial nutritional value. Physio. Mol. Biol. Plants, 25(5):1311-1322.
6. Gabriela, V. and M. Zăpârțan. (2009). The effect of phloroglucinol over the explants of red clover cultivated *in vitro* (*Trifolium pretense* L.). University of Oradea, Faculty of Environmental Protection. Romania, 316-321.
7. Gong, Y., F. Gao and K. Tang. (2005). *In vitro* high frequency direct root and shoot regeneration in sweet potato using the ethylene inhibitor silver nitrate. South African Journal of Botany, 71(1): 110-113.
8. Kumar, V., P. Giridhar and R. Gokare. (2009). AgNO₃ - a potential regulator of ethylene activity and plant growth modulator. Electronic Journal of Biotechnology, 12 (2): 1-15.
9. Lloyd, G. and B.H. McCown. (1980). Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. Combined Proceedings-International Plant Propagator's Society, 30:421-427.
10. Ozden-Tokatli, Y., E.A. Ozudogro and A. Akcin. (2005). *In vitro* response of pistachio nodal explants to silver nitrate. Gebze Institute of Technology, Faculty of Science, 106: 415-426.
11. Sarka, D. and P. S. Naik. (2000). Phloroglucinol enhances growth and rate of axillary shoot proliferation in potato shoot tip cultures *in vitro*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 60: 139–149.
12. Steephen, M., S. Nagarajan, and D. Ganesh. (2010). Phloroglucinol and silver nitrate enhances axillary shoot proliferation in nodal explants of *Vitex negundo* L. An aromatic medicinal plant. Iranian Journal of Biotechnology 8(2): 82-89.
13. Texiera da Silva, J., A., 31J. Dobránszki and S. Ross.(2013). Phloroglucinol in plant tissue culture. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 49 (1):1-16.
14. Teixeira da Silva, J., T. S. Ranac, D. Narzary, N. Verma, D. T. Meshram and S. A. Ranade.2013b. Pomegranate biology and biotechnology: A review. *Scientia Horticulturae*,160:85-107.
15. Turhan, H. (2004). The effect of silver nitrate (ethylene inhibitor) on *in vitro* shoot development in potato (*Solanum tuberosum* L.). Asian Network for Scientific Information and Biotechnology, 3(1): 72-74.