تأثير السكروز في محتوى اليخضور للنباتات السليمة والمصابة بالشفافية لبعض أصناف نبات الجبسوفيلا المكاثر مخبرياً

رنا الشحود[1] و سهيل حداد[2]

الملخَّص

درس تأثير استخدام ثلاثة تراكيز (10،30،50 غ/ل) من السكروز في محتوى اليخضور لثلاثة أصناف من الجبسوفيلا (Golantwo، Planshnet، وNewlove)، وأجريت المقارنة بين النباتات السليمة والنباتات الشفافة. بينت النتائج تفوق المعاملة 10 غ/ل سكروز في تخفيض الشفافية (p < 0.01) إلى 36.78% بالمقارنة مع معاملة الشاهد (30 غ/ل) البالغة 62.57%، كما وجد فرق معنوي بين الأصناف (p < 0.01) ؛ حيث تفوق الصنف Planshnet بمحتواه من اليخضور في كل من النباتات الشفافة والنباتات السليمة، ورافق ذلك تفوق المعاملة (10) غ/ل بزيادة محتوى اليخضور مقارنة مع باقي المعاملات، إذ بلغ محتوى اليخضور الكلي عند النباتات السليمه 17.46 ميكروغرام/مل بالمقارنه مع النباتات الشفافه (14.26 ميكروغرام/مل)، في الصنف Planshnet.

الكلمات المفتاحية: الجبسوفيلا، الإكثار الخضري الدقيق، الشفافية، السكروز، اليخضور.

[1] قائمة بالأعمال، [2] أستاذ، قسم علوم البستنة، كلية الزراعة، ص.ب.30621، جامعة دمشق، سورية.

The effect of sucrose on the chlorophyll content of healthy and vitrificated plants of some species of *Gypsophylla panicolata* micropropagated *in vitro*

AL-Shahoude, R.[1] and S. Haddad [2]

Abstract

This study was conducted at the laboratories of Horticultural Department, Faculty of Agriculture, Damascus University to determine the effect of using three levels of sucrose (10, 30, 50 g /l) on chlorophyll content between healthy and vitrified plants of three varieties of *Gypsophylla panicolata* (Golantwo, Planshnet, Newlove). Results showed superiority of treatment 10 g / l sucrose in reducing vitrification percent to 36.78% compared with 62.57% for control (30 g/l) and with significant differences between varieties. Planshnet was the best variety in chlorophyll content either in healthy or in vitrified plantlets. Moreover, the treatment with sucrose of 10 g/l caused significant increment of chlorophyll content compared with other treatments. The high total chlorophyll content was 17.46 micrograms/ ml in healthy plants compared with 14.26 micrograms / ml in vitrification plants for Planshnet at 10 g/l sucrose.

Keywords: *Gypsophylla panicolata*, Sucrose, Micropropagation, Vitrification, Chlorophyll .

[1] Teacher Assistant, [2] Professor, Dep. Horticulture Agric., Fac., P.O.Box 30621. Damascus Univ. Syria.

المقدمة

تُعد القرنفلية *Caryophyllaceae* من الفصائل الهامة التي تتميز بحساسيتها العالية للإصابة بالشفافية خلال مراحل الإكثار بالنسج النباتية (Mii وزملاؤه، 1990). وتعد هذه الظاهرة واحدة من المشكلات التي تعيق إكثار بعض الأصناف بطريقة زراعة النسج النباتية، إذ تتطور النباتات المكاثرة تطوراً غير طبيعي ويعيق عملية النقل والأقلمة. ويعد هذا الأمر خسارة كبيرة على المستوى التجاري (Hammerschlag، 1986).

وتشير كلمة الشفافية Vitrification إلى حالة النسج والأعضاء النباتية المشوهة مورفولوجياً وفيزيولوجياً، والفاقدة لعملها الوظيفي، وهي تصيب بعض النباتات العشبية والخشبية خلال مراحل إكثارها بطريقة زراعة النسج النباتية (Debergh وZiv، 1991). وتتمثل الأعراض المورفولوجية للنباتات الشفافة بساق قصيرة وثخينة مع قاعدة عريضة (Kevers وزملاؤه، 1984)، وأوراق سميكة ذات بنية هشة قابلة للكسر مستطيلة الشكل، وذات مظهر مجعد وملتف، في حين تتمثل الأعراض الفيزيولوجية بضعف في بنية الجدار الخلوي (Kever وزملاؤه، 1988) وبانخفاض في مستوى التعضي لنسج محددة مثل الحزم الوعائية(Ziv وزملاؤه، 1983) والنسج الداعمة (Vieitez وزملاؤه، 1987)، وانخفاض في الترسبات الشمعية على القشيرة كماً ونوعاً (Gaspar وزملاؤه، 1995). وقد رافق تطور الأفرع المشوهة وجود ميزوفيل شفاف في بنية الأوراق لعدة أصناف مع وجود مسافات خلوية كبيرة. وبدت خلايا الميزوفيل ذات حجم كبير مع احتوائها على فجوات أكبر بداخلها، وكان ذلك واضحاً في أوراق القرنفل الشفافة (Vieitez وزملاؤه، 1985).

وتأخذ المسامات شكلاً مشوهاً، وتفقد وظيفتها، فالخلايا الحارسة تأخذ شكلاً مستديراً بدلاً من الشكل البيضوي مع كبر حجمها ورقة جدرها، وانخفاض محتواها من البلاستيدات (Ziv، 1991)، ومن الكلوروفيل والبروتين (Frank وزملاؤه، 2004).

وهناك كثير من العوامل التي تؤدي إلى حدوث ظاهرة الشفافية، بصفتها رد فعل تكيفي للنسج المعرضة لعدة اجهادات متزامن بعضها مع بعض، من ذلك الجروح بسبب التشريح المسبق للخزعة النباتية (Gaspar وزملاؤه، 1995) والعوامل الوراثية، لأن مدى حدوث هذه الظاهرة يختلف بحسب التركيب الوراثي للنبات. ويمكن أن تحدث ظاهرة الشفافية في الأنواع الخشبية والعشبية، ولكن هناك فصائل تكون عرضة لحدوث الشفافية أكثر من غيرها، منها الفصيلة القرنفلية *Caryophyllaceae* (Ault، 1992).

وهناك عوامل تتعلق بالوسط أو بيئة النمو، ومن أهمها تركيز السكروز ونوعيته، وكذلك تركيز عامل التهلم ونوعيته، إذ يعد كل من الآغار والسكروز من العوامل الهامة التي تحد من الشفافية عند النباتات، وذلك من خلال اختيار التركيز المثالي لنمو هذه

النباتات؛ إن زيادة تركيز السكروز المترافق مع زيادة تركيز الآغار غالباً ما يقلل حدوث هذه الظاهرة في معظم النباتات العشبية والخشبية. وقد يؤثر جهد الماء في الوسط على نمو النباتات وتطورها في الأنبوب، فعند زيادة تركيز السكروز من 3–8% في بيئة مضاف لها 1% آغار كان لها التأثير نفسه في منع الشفافية عند زيادة تركيز الآغار (Ziv وزملاؤه، 1983)، في حين وجد Langford وWainwright(1988) أن الشفافية كانت نادرة الحدوث عند زراعة القمم النامية لأفرع الورد في بيئة MS المضاف لها 40 غ/ل سكروز.

وقد أشار Mondal وزملاؤه (1993) إلى أن كميه اليخضور المتطوره في أوراق أفرع نبات Papaya المكاثره على أوساط مختلفه التركيز من السكروز وBAP قد ارتبطت بتركيز السكروز في الوسط. لقد لاحظ ارتفاع نسبة كلوروفيل A/B مع زيادة تركيز السكروز في الوسط في حين أدت التراكيز المنخفضة من السكروز إلى التزجيج والشفافيه في الأفرع. ترافق ذلك مع انخفاض في معدل البقاء في وسط منخفض التركيز من السكروز.

كما توصل Langford وWainwright (1987) إلى تخفيض تركيز السكروز في الوسط بشكل متتال مع عمليات النقل باعتبارها طريقه لزيادة قدرة أفرع الورد على النمو في المخبر لامتصاص غاز CO_2، ولاحظ تناقصاً في مستويات امتصاص الغاز في التراكيز العاليه من السكروز، ولكن الصنفين كليهما لم يَنْمُوَا عند غياب السكروز من الوسط.

هدف البحث إلى دراسة تأثير تراكيز مختلفة من السكروز في نسبة حدوث الشفافية، ومحتوى اليخضور في النباتات الشفافة والسليمة لبعض أصناف الجبسوفيلا المكاثرة مخبرياً.

مواد البحث وطرائقه

نفذت الدراسة على ثلاثة أصناف من الجبسوفيلا Gypsophylla panicolata، وهي Planshnet وNewlove وGolantwo وذلك في مرحلة الإكثار في مخبر زراعة النسج النباتية-شركة البيت الأخضر- اللاذقية خلال العام 2008-2009. وأجريت التحاليل المخبرية في مخابر كلية الزراعة بجامعة دمشق.

استخدمت بيئة موراشيج وسكوج (1962) (1/2MS) المضاف لها ربع كمية نترات الأمونيوم في مراحل التجربة كلها، وضبطت الحموضة (5.8) قبل إضافة الآغار، ثم وزعت البيئات على أنابيب زجاجية بحيث يحتوي كل أنبوب على 25 مل من البيئة وعقمت باستخدام جهاز التعقيم الرطب (Autoclave) في درجة حرارة 121 °س مدة 20 دقيقة.

أخذت القمم النامية من النباتات الأم المدروسة وغسلت بالماء الجاري والصابون مدة 15 دقيقة، ثم عقمت بالكحول الإيتيلي (70%) لعدة ثوان، وغمرت بمحلول هيبو كلوريد الصوديوم التجاري بتركيز 10% من المحلول تحت ظروف زراعة معقمة مدة 10 دقائق، ثم غسلت الأجزاء النباتية المعقمة بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات بمعدل 5 دقائق لكل مرة، لإزالة آثار المادة المستخدمة في التعقيم.

زرعت القمم النامية للجبسوفيلا على بيئة الزراعة الأولية المؤلفة من:

(آغار 6 g/l + سكروز 30 g/l +IAA 0.1mg/l + NH4NO3 1/4 + MS 1/2)

ووضعت الأوعية بعد عملية الزراعة في غرف النمو في درجة الحرارة (27 ±1°س)، والشدة الضوئية (2500- 3000) لوكس، والفترة الضوئية 16 ساعة إضاءة و8 ساعات ظلام مدة أربعة أسابيع، ثم استخدمت النباتات الناتجة من بيئة الزراعة الأولية في مرحلة الإكثار وتنفيذ التجربة التالية:

أُضيفت ثلاثة تراكيز من السكروز (50،30،10 غ/ل) إلى بيئة الإكثار التي تحوي وسط الزراعة الأولية المضاف لها 0.5 مغ/ل من الكينيتين مع أخذ التغيير في تراكيز السكروز بعين الاعتبار. وكررت التجربة ثلاث مرات، وفي كل مرة كانت معاملة تضم ثلاثة مكررات، وكل مكرر يضم ست نموات خضرية بحيث أصبح عدد النموات في كل معاملة 18 نمواً.

حسبت نسبة الشفافية في النباتات الشفافة مقارنة بالنباتات السليمة تبعاً للمعادلة الآتية:

نسبة الشفافية % = عدد النباتات الشفافة في المعاملة × 100/ العدد الكلي للنباتات

قدّر محتوى النباتات من الكلوروفيل باستخدام المطياف Spectrophotometer وفقاً لطريقة Porra (2002). وزن 1غ من المادة النباتية الرطبة من العينات النباتية التي اختيرت عشوائياً (لكل معاملة 6 قراءات)، ثم استُخلص الكلوروفيل باستخدام الأستون 80%. أجريت عملية الطحن حتى استخلاص كامل الكلوروفيل أي حتى زوال اللون، وظهور اللون الأبيض للنسيج النباتي، كما تمت عملية الترشيح لعدة مرات. ثم إجري القياس على طول موجتي (646.6 -663.6 نانومتر). وبعد ذلك حسب الكلوروفيل الكلي وكلوروفيل A، وكلوروفيل B وفق المعادلات التالية:

الكلوروفيلa (ميكروغرام /مل)= 12.25 A 663.6 – 2.55 A 646.6

الكلوروفيلb (ميكروغرام /مل)= 20.31 A 646.6 –4.91 A 663.6

الكلوروفيل الكلي (ميكروغرام /مل) = 17.76 A 646.6 - 7.34 A 663.6

التصميم التجريبي:

نفذت التجارب وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة، وحللت المعطيات باستخدام برنامج SPSS v.15، وحسب أقل فرق معنوي LSD على مستوى ثقة1% للقراءات المدروسة.

النتائج

تأثير تراكيز السكروز المختلفة في نسبة الشفافية:

بلغ متوسط نسبة الشفافية في أصناف الجبسوفيلا 52.95%. وتبين أن الصنف Newlove أقل عرضة لحدوث الشفافية بالمقارنة مع الصنفين الآخرين (الجدول 1)، فقد انخفضت فيه نسبة الشفافية إلى 44.94% بالمقارنة مع متوسط نسبة الشفافية في الصنفين Golantwo، وPlanshnet على التوالي 63.80 و 50.12%. كما تبين من خلال المقارنة بين المعاملات زيادة نسبة الشفافية مع زيادة تركيز السكروز في الوسط، إذ انخفضت نسبة الشفافية إلى 36.78% في التركيز المنخفض (10غ/ل) بالمقارنة مع التركيز المرتفع (50غ/ل) الذي ارتفعت فيه الشفافية إلى 59.52%، في حين كانت نسبة الشفافية في الشاهد (30غ/ل) 62.57% (الجدول 1).

الجدول (1) نسبة الشفافية (%) في أصناف الجبسوفيلا المكاثرة في أوساط مختلفة التركيز من السكروز.

نسبة الشفافية%				
السكروز(غ/ل)/الصنف	**Golantwo**	**Planshnet**	**Newlove**	**المتوسط**
10	58.52^{a}	36.16^{b}	15.66^{b}	36.78
30	66.23^{a}	62.37a	59.11^{a}	62.57
50	66.66^{a}	51.84^{a}	60.05^{a}	59.52
المتوسط	63.80	50.12	44.94	52.95
LSD 1%	**11.17**			

تُشير الأحرف المتشابهة في العمود نفسه على عدم وجود فروق معنوية بين المتوسطات (P < 0.01).

تأثير تراكيز السكروز المختلفة في محتوى اليخضور في النباتات الشفافة:

أظهرت المقارنة (الجدول 2) وجود فرق معنوي (P < 0.01) بين الأصناف؛ فقد تفوق الصنف Planshnet على الأصناف الأخرى بمحتواها من الكلوروفيل الكلي، وكلوروفيل A، وكلوروفيل B، إذ بلغت القيم بالمتوسط 9.48، و4.61، و4.50 ميكروغرام/مل على التوالي بالمقارنة مع الصنفين الآخرين.

وأظهرت المقارنة بين المعاملات انخفاض محتوى النباتات من الكلوروفيل مع زيادة تركيز السكروز في الوسط، إذ أدت التراكيز المنخفضة من السكروز (10) غ/ل إلى

زيادة محتوى الأصناف من الكلوروفيل بالمقارنة مع التراكيز الأعلى (30، و50 غ/ل). لقد لوحظ وجود فروق معنوية بين المعاملات المدروسة بالنسبة للأصناف المختلفة، إذ ارتفع محتوى الأصناف Planeshnet،golantwo، Newlove من الكلوروفيل الكلي عند المعاملة 10 غ/ل من السكروز إلى 8.75، 9.39، 14.26 ميكروغرام/مل على الترتيب، بالمقارنة مع المعاملة 30 غ/ل التي بلغت عندها القيم 7.15، 6.15، و8.42 ميكروغرام/مل على الترتيب، في حين انخفض محتوى الكلوروفيل الكلي إلى 6.53، 4.43، 5.76 ميكروغرام/مل عند التراكيز المرتفعه من السكروز 50 غ/ل. وهذا واضح في الشكل (4).

ومن خلال حساب نسبة كلورفيل A/B تبين أن أعلى نسبة (4.61%) لوحظت في الصنف Newlove عند المعاملة 10غ/ل من السكروز بالمقارنة مع باقي الأصناف وباقي المعاملات.

الجدول (2) تغيرات محتوى اليخضور(ميكروغرام/مل) في النباتات الشفافة لأصناف الجبسوفيلا المكاثرة في أوساط مختلفة التركيز من السكروز (غ/ل).

الأصناف	تركيز السكروز	الكلوروفيل الكلى	كلوروفيل A	كلوروفيل B	نسبة ChA/B
NEWLOVE	10	8.75	7.14	1.55	4.61
	30	7.15	3.43	3.68	0.93
	50	6.53	3.19	3.31	0.96
	المتوسط	7.48	4.59	2.84	1.62
Golantwo	10	9.39	6.71	2.62	2.56
	30	6.15	3.82	2.30	1.66
	50	4.43	2.44	1.97	1.24
	المتوسط	6.66	4.32	2.29	1.89
PLANSHNET	10	14.26	7.83	6.35	1.23
	30	8.42	4.70	3.46	1.36
	50	5.76	2.27	3.68	0.62
	المتوسط	9.48	4.61	4.50	1.07
المتوسط الكلى		7.87	5.19	3.21	1.61
LSD 1% التفاعل		1.98	2.01	1.37	
LSD 1% أصناف		1.62	1.64	1.12	
LSD 1% التراكيز		1.62	1.64	1.12	

تأثير تراكيز السكروز المختلفة في محتوى اليخضور في النباتات السليمة:

وجدت فروق معنوية (الجدول3) بين الأصناف في محتواها من الكلوروفل، فقد تفوق الصنف Planshnet بمحتواه من الكلوروفيل بالمقارنة مع الصنفين الآخرين، إذ ارتفعت قيمة الكلوروفيل الكلي إلى 11.25 ميكروغرام/مل، في الصنف Planshnet، في حين

انخفضت إلى 8.27، و8.44 على الترتيب في الصنفين Newlove، وGolantwo مع عدم وجود فروق معنوية بينهما.

كما ظهرت فروق معنوية بين المعاملات، فقد تفوقت المعاملة 10غ/ل من السكروز بمحتواها من الكلوروفيل بالمقارنة مع المعاملتين 30، و50 غ/ل من السكروز، إذ بلغت قيم الكلوروفيل الكلي عند المعاملة 10 غ/ل من السكروز على التوالي: 17.46، 11.63، و9.86 ميكروغرام/مل بالنسبة للأصناف Planshnet، Golantwo، وNewlove. ومع زيادة تركيز السكروز بالوسط انخفض محتوى الكلوروفيل في الأصناف المدروسة. كما تبين أن نسبة كلوروفيل A/B ارتفعت في الصنف Golantwo إلى 2.13، في حين انخفضت إلى 1.45، 2.04 على التوالي في الصنفين Newlove، Planshnet. وهذا واضح في الشكل (5).

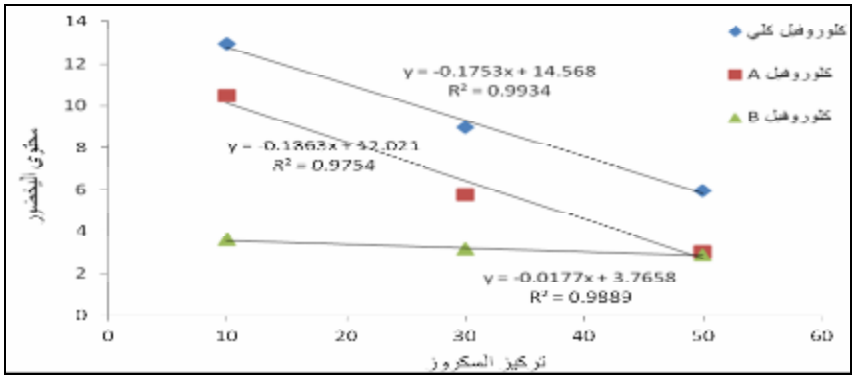
الجدول (3) تغيرات محتوى اليخضور(ميكروغرام/مل) في النباتات الطبيعية لأصناف الجبسوفيلا المكاثرة في أوساط مختلفة التركيز من السكروز (غ/ل).

الأصناف	تركيز السكروز	الكلوروفيل الكلي	كلوروفيل A	كلوروفيل B	نسبة ChA/B
NEWLOVE	10	9.86	6.53	3.28	1.99
	30	8.62	4.43	4.15	1.07
	50	6.27	3.63	2.65	1.37
	المتوسط	8.27	4.86	3.36	1.45
Golantwo	10	11.63	8.28	3.28	2.52
	30	8.31	6.07	2.19	2.77
	50	5.39	2.79	2.57	1.09
	المتوسط	8.44	5.71	2.68	2.13
PLANSHNET	10	17.46	13.07	4.28	3.05
	30	10.01	6.72	3.23	2.08
	50	6.27	2.74	3.50	0.78
	المتوسط	11.25	7.51	3.67	2.04
المتوسط الكلي		9.32	6.03	3.24	1.86
LSD 1% التفاعل		2.15	2.62	1.29	
LSD 1% أصناف		1.75	2.14	1.05	
LSD 1% التراكيز		1.75	2.14	1.05	

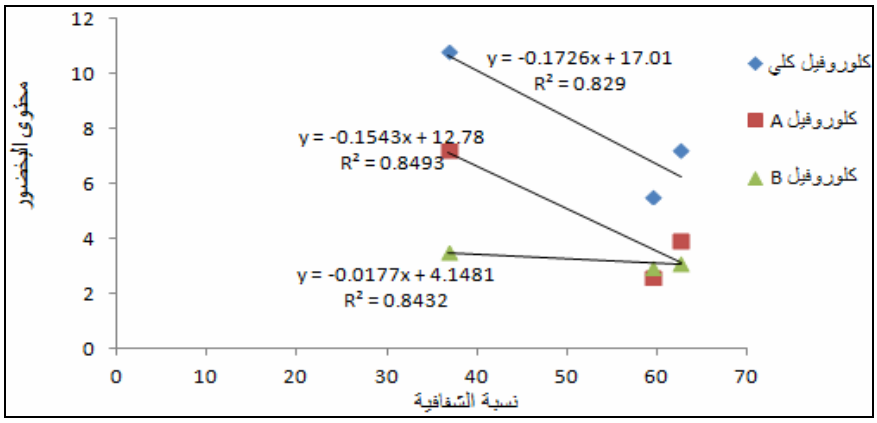
ومن خلال المقارنه بين النباتات الشفافه وغير الشفافه تبين ارتفاع محتوى النباتات السليمه من الكلوروفيل الكلي عند المعاملات المستخدمه من السكروز (الشكل 6).

دراسة العلاقة الارتباطية بين نسبة الشفافية ومحتوى اليخضور وتركيز السكروز.

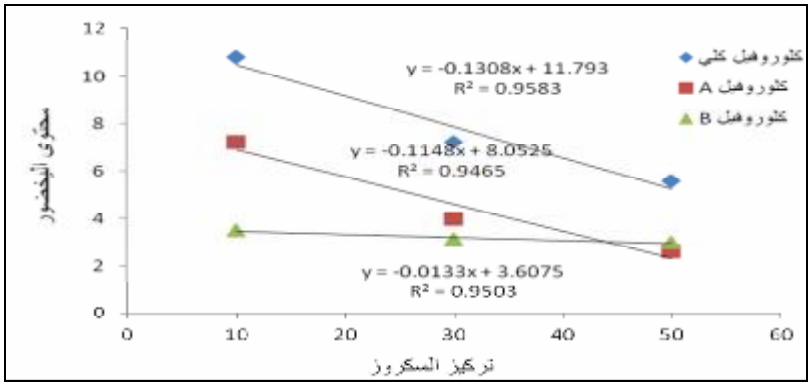
ظهرت علاقة ارتباط خطية وعكسية قوية جداً بين تركيز السكروز ومحتوى الأصناف من اليخضور، فقد تراوحت قيم معاملات التحديد (R^2) للنباتات السليمة ما بين 0.97، 0.99 (لشكل 1) إذ تبين أن زياده تركيز السكروز بالوسط تؤدي إلى خفض محتوى اليخضور بالنبات. كذلك كانت العلاقة بين نسبة الشفافية ومحتوى اليخضور علاقة خطية عكسية قوية جداً بالنسبة للكلوروفيل الكلي وكلوروفيل A وكلورفيل B، فقد بلغت قيم معاملات التحديد (0.82، و0.85، و0.84) على التوالي، إذ انخفض محتوى النباتات من الكلوروفيل مع زيادة نسبة الشفافية (الشكل 2). كما كانت العلاقة عكسية وقوية بين تركيز السكروز ومحتوى اليخضور في النباتات الشفافة أيضاً (الشكل 3).



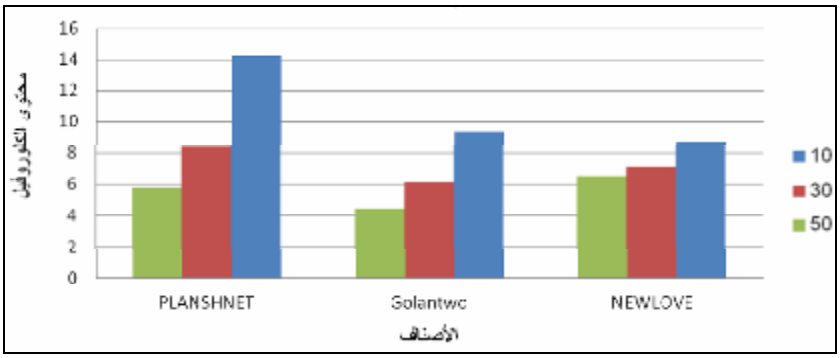
الشكل(1)العلاقة بين تركيز السكروز ومحتوى اليخضور في النباتات السليمة لأصناف الجبسوفيلا.



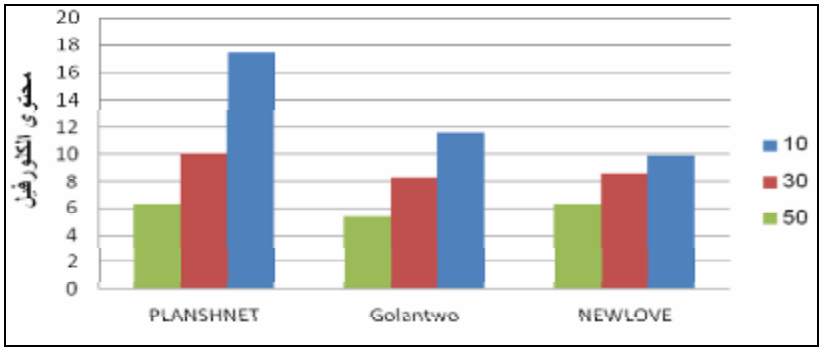
الشكل(2)العلاقة بين نسبة الشفافيه ومحتوى اليخضور في النباتات الشفافه لأصناف الجيسوفيلا.



الشكل(3)العلاقة بين تركيز السكروز ومحتوى اليخضور في النباتات الشفافة أصناف الجبسوفيلا.



الشكل (4) تغيرات محتوى الكلوروفيل الكلي في نباتات الجبسوفيلا الشفافه المكاثرة على أوساط مختلفة من السكروز.



الشكل (5) تغيرات محتوى الكلوروفيل الكلي في نباتات الجبسوفيلا السليمه المكاثرة على أوساط مختلفة من السكروز.

الشكل (6) مقارنه بين النباتات الشفافه والسليمه بالنسبه لمحتوى الكلوروفيل الكلي في أصناف الجبسوفيلا المكاثرة على أوساط مختلفة من السكروز.

المناقشة

استخدم الإكثار بطريقة زراعة الأنسجة النباتية بشكل واسع في عمليات الإكثار السريعة للعديد من الأنواع النباتية، لكن النجاح النهائي على المستوى التجاري يعتمد على القدرة على نقل النباتات المزروعة إلى الخارج على نطاق واسع وبكلفة منخفضة، ومعدل بقاء عال. والنباتات المزروعة مخبرياً تكون عادة معرضة لصدمات النقل التي تقود إلى مستوى عالٍ من الفناء خلال المرحلة الأخيرة من الإكثار، إذ إن النباتات أو الأفرع المزروعة مخبرياً معرضة بشكل مستمر لبيئة محيطة صغيرة مزودة بالحدود الدنيا من الاجهادات والظروف المثالية لإكثار النباتات (Hazarika وزملاؤه، 2006). ويتطلب النمو المخبري الجيد التزويد المستمر بمصدر لسكروز خارجي المنشأ (2-3)% كمصدر للكربون (Hazarika وزملاؤه، 2004).

وقد بينت نتائج هذه الدراسة أن التراكيز المنخفضة من السكروز 10غ/ل أدت إلى تخفيض نسبة الشفافية في أصناف الجبسوفيلا المدروسة إلى 36.78 %. وترافق ذلك مع وجود ارتباط قوي وعكسي بين تركيز السكروز ومحتوى النباتات من اليخضور، فقد ارتفع محتوى النباتات من اليخضور الكلي إلى 17.26، و14.26 ميكرو غرام/مل، على الترتيب في النباتات السليمة والشفافة عند الصنف Planshnet، في حين أدت زيادة تركيز السكروز إلى 50 غ/ل، إلى زيادة الشفافية وانخفاض محتوى اليخضور، وترافقت مع ضعف في النموات وقلة التفرعات الجانبية.

تتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه Zimmerman و Gregcob (1989) في دراستهما على نبات البيتونيا المكاثرة في وسط MS ، فقد لاحظ أن التراكيز العالية من السكروز شجعت على حدوث الشفافية، وتتفق كذلك مع Ziv (1992) على نبات الغلاديول، إذ وجد أن زيادة تركيز السكروز في الوسط أدى إلى تناقص الكتلة الحية إلى أكثر من 50%.

وهي تتفق أيضاً مع نتائج دراسة Ziv وزملاؤه (1983) على نبات القرنفل التي بينت أن عدد الأفرع الشفافه ارتفع مع زيادة تركيز السكروز في الوسط إلى أعلى من (30 غ/ل، في حين وجد Debergh وزملاؤه (1981) أن زيادة تركيز السكروز لم تقلل من عدد الأفرع الشفافه في نباتات الأرضي شوكي. كذلك وجد Lang ford و Wainwright (1988) أن الشفافية كانت نادرة الحدوث عند زراعة القمم النامية لأفرع الورد على بيئة Ms مع 40 غ/ل سكروز. ويمكن أن يعزى حدوث الشفافية في الزراعة إلى الرطوبة النسبية داخل أوعية الزراعة (Williams و Taji، 1991) ونوعية الأغطية المستخدمة في إغلاق الأوعية (Winarto وزملاؤه، 2004)، وتأثير عملية التعقيم، ودرجة الحرارة، والإضاءة في غرف النمو (Edwin، 1996) والأجواء المحصورة وأدوات الزراعة، وتجمع الإيتلين، وغاز ثاني أوكسيد الكربون وغازات أخرى (Demeeste وزملاؤه، 1995).

كما يمكن أن يعزى ذلك أيضاً إلى الفترة الزمنية التي تبقى فيها النباتات في الوسط نفسه، فقد وجد Picoli وزملاؤه (2008) أن حدوث الشفافية يرتبط في الواقع مع حالة الإجهاد، يضاف إلى ذلك ظروف الزراعة في المختبر، ولاحظ انخفاض محتوى أوراق Eucalypt من اليخضور خلافاً للكاروتين في النباتات الشفافة مقارنة مع النباتات السليمه. كما بيَّن Ziv (1991) أن للرطوبه النسبيه وللهرمونات النباتية تأثيراً على تكرار حدوث الشفافيه في الأفرع الشفافة hyperhydri. وهو ينطوي على عوامل متعددة، اعتماداً على الاستجابات الفيزيولوجية المحددة لظروف الزراعه والأنواع المدروسة، يُعبَّر عنها بدرجات مختلفة من التشكلات غير الطبيعية والتشوهات.

ولاحظ Jones وزملاؤه (1993) تغيراً واضحاً في معدل التمثيل الضوئي في أوراق النباتات الشفافه، بالإضافه إلى انخفاض في عدد البلاستيدات الخضراء و أغشيه thylakoids في الغرانا.

وهذه النتائج تتفق أيضاً مع Smeekens (2000) الذي وجد أن التراكيز المرتفعة من السكريات في الوسط تمنع حدوث عملية التركيب الضوئي وتؤدي إلى تناقص محتوى النباتات من الكلوروفيل، في حين لم يلاحظ Kawa-Miszczak وزملاؤه (2009) تأثيراً للسكروز المستخدم بتراكيز (10، و30 غ/ل) في محتوى النباتات من الكلوروفيل، ولكنهم لاحظوا زيادة تراكم الكلوروفيل في المستويات المنخفضة من النتروجين. ويعزى ذلك إلى أن نمو النباتات مخبرياً في أوساط معدنية مغذية مع وجود كمية مرتفعة من السكروز،

وظروف إضاءة ضعيفة في غرف النمو، يؤدي إلى الحد من كفاءة عملية التركيب الضوئي، وتصبح النباتات، في هذه الظروف، فقيرة المحتوى من الكلوروفيل، أو فقيرة بالإنزيمات المسؤولة عن التركيب الضوئي؛ وبمعنى آخر يصبح إنزيم الريبسكو (ريبولوز ثنائي فوسفات كربوكسيلاز) غير فعال أو خاملاً بسبب وجود السكروز في أثناء تطور الأوراق (Donnelly وVidaver، 1984).

ووجد Capellades وزملاؤه (1991) في دراستهم على نبات الورد *Rosa Mltiflora* (Montse) أن عملية التركيب الضوئي في النباتات المخبرية *in vitro* تأثرت بمستويات السكروز في بيئة زراعة النسج النباتية، فنتج عن المستويات المنخفضة من السكروز معدل تركيب ضوئي أعلى. وهذا متعلق بارتفاع محتواها من الكلوروفيل، لأن القطع النباتية الصغيرة المزروعة في البيئة تفرز إنزيم الأنفرتاز من الجدران الخلوية والفجوات والسيتوبلازما في شكل رد فعل لعملية تجريح الأجزاء النباتية (Sturm، 1999)، فيعمل هذا الإنزيم على حلمأة السكروز إلى غلوكوز وفركتوز، ولكن درجة الحلمأة تعتمد على كمية الإنزيم المفرز، التي تختلف من نبات إلى آخر (George، 1993).

استنتج عن وجود اختلاف واضح في حساسية الأصناف لحدوث الشفافية، فقد تفوق الصنف Planshnet، على باقي أصناف الجبسوفيلا، وأدت إضافة 10غ/ل سكروز إلى وسط الإكثار السابقة (MS 2/1) مع ربع كمية نترات الأمونيوم و(0.1) ملغ/ل IAA، إلى تخفيض الشفافية، وترافق ذلك مع زيادة محتوى اليخضور.

واقترح إلى ضرورة التعمق في دراسة ظاهرة الشفافية والبحث على المستوى الجزيئي لفهم أسبابها بشكل أعمق، وأنَّ تبريد قواعد أوعية الزراعة يقلل من حدوث الشفافية، بالإضافه إلى استخدام أغطية نفوذة للتبادل الغازي من أجل تقليل تراكم الغازات والرطوبة النسبية، وإضافة مواد ماصة للإيتلين مثل الفحم النشط أو نترات الفضة.

Reference المراجع

1- **Ault, J. R. 1992. *In vitro* propagation of a Silene hybrid (S.polyPlanshnettala * virginica). *Hort Sience*, 27:1226.**

2- **Capellades, M., R. Lemeur and P. C. Debergh. 1991. Effects of sucrose on starch accumulation and rate of photosynthesis in Rosa cultured *in vitro*. Plant Cell. *Tiss and Org Cult*, 25:19-20**

3- **Demeester, J. J., D. G. Matthÿs., B. Pascat and P. C. Debergh. 1995. Toward a controllable headspace composition. Growth, development, and headspace of a micropropagated Prunus rootstock in different containers. *In Vitro* Cell. Dev. Biol, 31:105-112**

4- **Debergh, P., Y. Harbaoui and R. Lemeur. 1981. Mass propagation of globe artichoke (cynara scolymus) evaluation of different hypotheses to overcome vitrification with special reference to water potential .*phsiol plant*, 53:181-187.**

5- **Debergh, P. and M. Ziv. 1991. On the relation between vitrification and somatal cell wall deformity in carnation. *Acta Hort*, 314:121-129**

6- **Donnelly, D. J. and W. E. Vidaver. 1984. Pigment content and gas exchange of red raspberry *in vitro* and *ex vitro*. J. Am. Soc. *Hort Science*, 109:177–181.**

7- **Edwin, F. 1996. Plant propagation by tissue culture. second .ed .1360.**

8- **Frank, T., C. Kavers., T. Gaspar., J. Dommes., C. Deby., R. Greimess., S. Didier. And G. D. Duspont. 2004. Hyperhydricity of Prunus avium shoots cultured on gelreite: a controlled stress response. Plant Physiol. Biochem, 42:519– 527.**

9- **Gaspar,T., C. Kevers., T. Frank., B. Bisbis., J. Billard., S. Huault., F. Ledily., M. Rideau., M. Crevecoeur and H. Creppin. 1995. Paradoxical paradoxical results in the analysis of tissues considered as being under stress: Questions for a debate. BULG. J. *Plant Physiol*, 21(2–3):80–97.**

10-**George, E. F. 1993. Plant propagation by tissue culture.Part1: the technology, 2nd edn. Exegetics Ltd, England, pp 654–670.**

11-**Hammerschlag, F. A. 1986. Temperatre fruits and nuts.Pp.221-236. In:Zimmerman R. H., R. J. Griesbach., F. A. Hammerschlag and R. H. Lawson (eds.) Tissue culture as a plant production system for horticultural crops. Martinus Nijhoff, Dorbrecht.**

12- **Hazrika, N. b. 2006. Morpho-physiological disorders in *in vitro* culture of plants. *Hort Sience*,108: 105–120.**

13- **Hazarika, B. N., V. A. Parthasarathy and V. Nagaraju. 2004. Influence of in vitro preconditioning of Citrus sp. microshoots with sucrose on their *ex vitro* establishment. Ind. J. *Hortic*. 61: 29–31.**

14- **Jones, N. B., P. M. Drennan and J. Van Staden. 1993. Leaf anatomy, chloroplast organization and photosynthetic rate of hyperhydric Eucalyptus saligna Sm. Material. South African. J.Botany. 59: 551–555.**

15- **Kawa-Miszczak, L., E. Węgrzynowicz-Lesiak., E. Gabryszewska and M. Saniewski. 2009. Effect of different sucrose and nitrogen levels in the medium on chlorophylle and anthocyanin content in Clematis pitcheri shoots cultured in vitro at different temperature. J. *Fruit Ornam. Plant Res*, 17(1):113-121.**

16- Kevers, C., M. Conmans., M. F. Conmans Gilles and T. Gasper. 1984. Physiological and biochemical events leading to vitrification of plants cultured in vitro. *Physiol. Plant,* 61: 69-74.

17- Kevers, C., R. Goldberg., J. Chu-Ba and Th. Gaspar. 1988. Composition of the walls of stem and leaves of vitrifying carnation. *Biol. Plant,* 30: 219-223.

18- Langford, p. j. and H. Wainright. 1988. Influence of sucrose concentration on the photosynthetic ability in vitro grown rose shoots. *Acta Hort.* 227: 305-310.

19- Langford, P. J. and H. Wainwright. 1987. Effects of Sucrose Concentration on the photosynthetic ability of rose shoots *in vitro*. *ann bot,* 60 (6): 633-640.

20- Mii, M., M. Buiatti. and F. Gimelli. 1990. Carnation In:Handbook of Plant Cell Culture. (Eds.): P.V. Ammirato, D. A. Evans, W. R.Sharp, Y. P. S. Bajaj. McGraw-Hill Pub. Co., New York, USA:284-318

21-Mondal, M., S. Gupta and B. B. Mukherjee. 1993. Effects of 6-benzylaminopurine and sucrose on chlorophyll content in leaves of *in vitro* cloned papaya, Carica papaya var honey dew. Ind. J. Experimental Biology. 31(4): 338-341

22- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant.* 15:473–497.

23- Porra, R. J. 2002. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynthesis Research,* 73:149-156

24- Picoli, E. A. T., E. A. S. Paiva., A. Xavier., R. M. Aguiar., S. M. B. Carolino., M. G. Fári and W. C. Otoni. 2008. Ultrastructural and biochemical aspects of normal and hyperhydric eucalypt, Inter. J. *Hort Science*, 14 (3): 61–69.

25-Smeekens, S. 2000. Sugar-induced signal transduction in plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol, 51:49-81.81-Sturm, A. 1999. Invertase: Primary structures, functions, and roles in plant development and sucrose partitioning. *Plant Physiol*, 121: 1-8.

26-Sturm, A. 1999. Invertase: Primary structures, functions, and roles in plant development and sucrose partitioning. *Plant Physiol*,121: 1-8.

27-Vieitez, A. M., A. Ballester., M. C. San-Jose and E. Vieitez. 1987. Vitrification in chesnut shoots regenerated *in vitro*. *Acta Hortic*, 212: 231-234.

28-Vieitez, A., A. Ballester., M. C. SanJose. and E. Vieitez. 1985. Anatomical and chemical studies of vitrified shoots of chestnut regenerated *in vitro*. *Physiol Plant,* 65: 177-184.

29-Williams, R. R. and A. M. Taji. 1991. Effect of temperature gel concentration and cytokinins on vitrification of Olearia microdisca (J.M. Black) *in vitro* shoot cultures. plant cell tiss.Org.Cult,26: 1-6.

30-Winarto, B., M. A. Aziz., A. A. Rashid and M. R. Ismail. 2004. Effect of Peramable vessel closure and gelling agent on reduction of hyperhydricity in *in vitro* culture of carnation. *Ind. J. Agr Science,* 5(1):11-19.15

31-Ziv, M. 1991. Quality of micropropagated plant – vitrification *in vitro* cell. Dev .Biol, 27:64-69.

32-Ziv, M. 1991. Vitrification Morphological and physiological disorders *of in vitro* plants. In: P. C. Debergh and R. H. Zimmerman (eds.). Micropropagation: Technology and Application. Dordrecht, Kluwer Academic Press, 45–69.

33-Ziv, M. 1992. Morphogenyc control of plants micropropagted in bioreactor cultures and its possible impact on acclimatization. *Acta Hort,* 319:119-124.

34-Ziv, M., G. Meir. and A. H. Halevy. 1983. Factors influencing the production of hardened glaucus carnation plantlets in vitro. *Plant Cell Tissue Organ Cult,* 2: 55-65.

35-Ziv, M., G. Meir. and A. H. Halevy. 1983. Factors influencing the production of hardened glaucus carnation plantlets *in vitro*. Plant Cell. *Tiss and Org.Cult,* 2: 55-65.

36-Zimmerman, W. and B. Greg Cobb. 1989. Vitrification and soluble carbohydrate levels in Petunia leaves as influenced by media gelrite and sucrose concentrations. Springerlink, (6):358-360.

Received	**2013/03/11**	**إيداع البحث**
Accepted for Publ.	**2014/01/07**	**قبول البحث للنشر**