مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (38) العدد (6) 2016
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (38) No. (6) 2016

# تأثيـر تركيب الوسط المغذي في إنبـات ونمو نبات الزريقاء اللبديـة *Heliotropium hirsutissimium* Grauer المزروعـة مخبريـاً فـي الأنابيب

**الـدكتورة دينا حداد***
**الـدكتورة حنان حمامي****
**مها حمدان*****

**(تاريخ الإيداع 26 / 7 / 2016. قبل للنشر في 12 / 12 / 2016)**

## □ ملخّص □

تم فـي هـذا البحث دراسـة تأثيـر تركيـب الوسط المغـذي فـي إنبات ونمـو بـذور النـوع *Heliotropium hirsutissimium* Grauer (نبات الزريقاء اللبدية) المزروعة مخبرياً في الأنابيب *In vitro*.

حيث تم استخدام الأوساط التالية (الماء، وسط MS جامد Murashige & Skoog، وسط MS 1/2 جامد) مع تراكيز مختلفة من منظم نمو الجبريلين GA3 (0.001 -0.01 -0.1 -1مغ/ل) أو بدونه. أظهرت النتائج تفوق الوسط MS الجامد بوجود الجبريلين 0.1 مغ/ل على باقي التراكيز والأوساط الأخرى، حيث سجل أعلى نسبة إنبات بمعدل 80.5 %، وبمتوسط طول جذر بلغ 20 مم، ومتوسط طول ساق 35 مم بعد أسبوعين من الزراعة. كما تحسنت نسبة الإنبات في الوسط MS 1/2 الجامد مضافاً إليه الجبريلين بتركيز 0.1 مغ/ل، حيث بلغت 75.44%، وسجل متوسط طول الجذر 19 مم، والساق 24 مم. كما أدى إضافة الجبريلين 0.1 مغ/ل إلى الماء، إلى الحصول على إنبات 65.33 % بعد أسبوعين من الزراعة، وبمتوسط طول جذر 12.66 مم، ومتوسط طول ساق 20 مم. زرعت بعض البادرات الناتجة من أفضل وسط في أصص تحوي تربة مغذية (تورب) وتمت أقلمتها حتى الحصول على نباتات بحالة خضرية جيدة أخذت نتائجها بعد شهر من الزمن.

**الكلمات المفتاحية:** إنبات البذور في الأنابيب، وسط مغذ، منظم نمو الجبريلين، الزريقاء اللبدية.

* أسـتاذ مساعد– قسـم علم الحيـاة النباتيـة– كليـة العلـوم– جامعـة تشريـن– اللاذقيـة– سوريـة
** مـدرس– قسـم علـم الحيـاة النباتيـة– كليـة العلـوم– جامعـة تشريـن– اللاذقيـة– سوريـة.
*** طالبة دراسات عليا (دكتوراه)– قسم علم الحياة النباتية– كلية العلوم– جامعة تشرين– اللاذقية– سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (38) العدد (6) 2016
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (38) No. (6) 2016

# Effect of media culture composition on In Vitro germination and growth of seeds of Heliotropium hirsutissimum Grauer

**Dr. Dina Haddad***
**Dr. Hanan Hamame****
**Maha Hamdan*****

**(Received 26 / 7 / 2016. Accepted 12 / 12 /2016 )**

## □ ABSTRACT □

The effect of different culture medias (water, MS solid, MS 1/2 solid) on germination and growth of heliotropiun hirsutissimum Grauer. in vitro was studied with different concentrations of gibberellic acid (0.001-0.01-0.1 and 1 mg/l).

The results showed that best germination rate (80.5%) and root (20mm) and shoot (35mm) growth were obtained in MS solid medium with 0.1mg/l GA3.

Addition of 0.1mg/l GA3 to MS1/2 solid medium improved germination rate (75.44%), root (19mm), and shoot (24mm)growth.

When GA3 (0.1 mg/l) was added to water medium, germination rate reached (65.33%), as well as root and shoot growth (12.66mm and20mm) alternatively after 2 weeks of planting.

Seedling of MS solid medium were transferred into pots contained torp medium to adapting them with outside environment, and then surviving their growth until maturity after 4 weeks.

**Key words:** Germination seeds in vitro, Culture Medium, Gibberellic acid, Heliotropium.

* **Associate Professor, Department of Botany, Faculty of sciences, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
** **Assistant Professor, Department of Botany, Faculty of sciences, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
*** **Postgraduate student, Department of Botany, Faculty of sciences, Tishreen University, Lattakia, Syria**

**مقدمـــــة:**

تطورت تقنية زراعــة الأنسجــة النباتيــة تطوراً كبيراً خلال العقود الأربعــة الماضيــة، وتم التركيز على إنتــاج المواد الإستقلابيــة الثانويــة كـ rosmarinic acid, naphtaquinone, Pyrrolizidine alkaloids بالإضافــة إلى إكثار الأنواع النباتية مخبرياً *In vitro*. (Koca *et al*., 2012)

تعد الفصيلة البوراجينية Boraginaceae إحدى الفصائل التي طبقت عليها التقانات الحيوية بسبب قيمتها الإقتصادية، الطبية، التزيينية، موادها الإستقلابية الثانوية بالإضافة لأنواعها المهددة بالإنقراض. (Rodriguez *et al*., 2012)

تحتوي هذه الفصيلــة المعروفــة بـ Borage أو don't forget me (أي لاتنساني) أكثر من 154 جنساً موزعــاً في 2500 نوعــاً في العالم (Boulos, 2000)، يأتي منها في سوريـــة 29 جنســاً موزعــاً في 91 نوعــاً وفقــاً لــ (Mouterde,1983). ينتمي النوع المدروس لشعبــة مغلفات البذور Dictyledonaea=Magnoliopsida وتحت صف النجميات Asteridae ورتبة الشفويات Lamiales. (Cronquist, 1981)

درس Kumar&Rao (2007) تأثير الوسط الجامد بدون منظم نمو (MS و 1/2MS) في النسبة المئوية لإنبات بذور نبات الزريقاء الهندية *Heliotropium indicum*، حيث سجل الوسط MS أعلى نسبة إنبات مقارنة بالوسط 1/2MS، ولاحظا انخفاضاً في إنبات البذور بمعدل 90% بعد شهر واحد من تخزينها، ولم يسجل الإنبات أي نسبة ( 0% ) بعد 6 أشهر من التخزين. كمــا قــام Bhatia (1983) بدراســة تأثيــر درجــات حرارة مختلفة في معدل إنبات بذور نبات الزريقاء المفترشة .*Heliotropium Supinum* L، واستخدمت الدرجات التالية (°C ):

1. حرارة المخبر التي تراوحت بين 19.5-25.6.
2. درجة ثابتة 35.
3. درجة ثابتة 10.
4. (10 ثم °35) كل 12 ساعة على التوالي ، ووجد بأن هذا التطبيق (4) سجل أعلى نسبة إنبات مقارنة بالدرجات السابقة، بينما كان للدرجة 10 نتيجة سلبية في الإنبات.

بينت الدراسة التي قام بها Hunt *et al*. (2006) حول تأثير درجات حرارة مختلفة (°20-°25-°30) في معدل إنبات بذور نبات الزريقاء الأوروبية *Heliotropium europaeum* أن الدرجة °25 كانت الأفضل في نسبة الإنبات. كما استخدم Al wahibi& Bukhar (2013) الورقة كمعيار تصنيفي، من خلال القيام بدراسة تشريحية لأوراق 4 أنواع من جنس *Heliotropium* وهي:

*H.curassavicum, H.strigosum, H.subulatum, H.digynum* (الزريقاء الملحية)

حيث درست خلايا البشرة، الصانعات الخضراء، وجود أو غياب أوكسالات الكالسيوم، الحزم الوعائية بالإضافة إلى نمط التعريق، ولوحظ وجود اختلاف في ترتيب خلايا البشرة وفي أشكال الصانعات الخضراء بين الأنواع المدروسة،

بينما وجدت أوكسالات الكالسيوم في خلايا الميزوفيل ( الطبقة الوسطى )عند نوعين فقط وهما الزريقاء الخشنة *H.subulatum* والزريقاء ثنائية الكرابل *H.digynum*.

يعدُ الجبريلين GA3 مـن منظمات النمــو النباتيــة التــي ساهمــت فــي إنبات بـذور العديد من الأنواع، حيــث كــان للتراكيز المنخفضــة منــه دوراً إيجابيــاً فــي زيــادة نسب إنبات بــذور نبــات الخس (*Lactuca sativa*)

والشعير (*Hordeum vulgar*) بشكل ملحوظ. (Kabar&Baltepe,1989) يختلـف تأثيـر GA3 حسـب تركيـزه ومكـان تأثيره والوسـط المستخـدم وحسـب النـوع النباتـي (Patel&Mankad, 2014) ، بينت الباحثـة ابراهيم (2012) الدور الإيجابي لـ GA3 (بالتراكيز المنخفضـة) في كسر سكون البذور لدى أحد أنواع نبات الجرجير (*Nasturtium officinale*) بدلاً من معاملتها بالحرارة المنخفضـة وثم تعريضها للضوء، حيث كان له دوراً منشطاً لعمليـة الإنبات حتى في الظلام.

لاحـظ الباحثـان (Sauls&Campbell, 1980) زيـادة متوسـط إنبـات بـذور الأفوكـادو عنـد معاملتـها بـ GA3 (250 ppm)، ودرس (Butola&Badola, 2004) الدور الإيجابي لـ GA3 بالتراكيـز المنخفضـة في تحفيـز نمـو بذور نبات حشيشة الملاك *Angelica glauca*، ولاحـظ pradhan&Badola, (2010) تأثيـر GA3 (50-350 µM) في نمو وقصر فترة إنبات بذور النوع *Swertia chirayita*.

يساهم GA3 في تطاول السويقـة من خلال دوره في زيادة انقسام الخلايا، فقد لاحظ (Scott, 1984) زيادة طول شتلات النباتات العطريـة المعاملة بالجبريلين، كما يؤثر GA3 في إنـتاج الأنزيمات المسؤولة عن تحليل المدخرات في الحبوب، ويؤخر تساقط أوراق وثمار الليمون عنـد رشها بتراكيز مدروسـة منـه (Salisbury&Ross, 1922)، كمـا لاحظ (Ram *et al*., 1970) حدوث إزهار مبكر عنـد نبات فم السمكـة *Antirrhinum majus* عند رشـه بـ (5-25 ppm) من الجبريلين.

لجنس *Heliotropium* أهمية طبية، حيث استخدم نبات الزريقاء الهندية *H.indicum* قديماً في الطب الشعبي لعلاج التقرحات الجلدية والحروق والجروح والتهاب الجلد والروماتيزم.
(Bagadekar&Jayaraj, 2011; Hassan *et al*., 2010; Kumar&Rao, 2007)

وأظهرت الدراسات احتواء خلاصات جذور النوع *H.indicum* على أشباه القلويدات Alkaloids والستيروئيدات Steroids والكربوهيدرات Carbohydrates (Bagadekar&Jayaraj, 2011). كما استخدمـت خلاصات أوراق *H.kotschyi* كمضاد لسـم الأفعى (Sadeghi *et al*., 2009)، وفـي الدراسـات الحديثـة، قام الباحـث (Alcontres, 2014) بدراسة تأثير مستخلصات الأنواع التالية: *H.dolosum, H.hirsutissimum, H.lasiocarpum* على الخلايا السرطانية عند مرضى سرطان البروستات، حيث لوحظ انخفاض في معدل انتشار الخلايا السرطانية بنسبة 70% لكل 10 مغ/ل عند نبات الزريقاء الساحلية (حشيشة العقرب) *H.dolosum*، وبنسبة 50% عنـد النباتين: الزريقاء لامع الثمر *H.lasiocarpum* والزريقاء اللبديـة *H.hirsutissimum.* لكل 10مغ/ل.

## أهميـــــة البحـــث وأهدافـــه:

يعتبر جنس *Heliotropium* من النباتات الهامة طبياً واقتصادياً، ونظراً لقلة الدراسات المخبرية حول إنباته، وضرورة تحديد الشروط المثلى والأوساط المناسبة لإنباته مخبرياً والحصول على نباتات في أي فترة من السنة، من أجل استخدامها في دراسات لاحقة، فقد هدف البحث إلى:

1. دراسة تأثير أوساط مغذية في معدل إنبات ونمو بذور النوع *H.hirsutissimum* وتحديد أفضلها.
2. إكثار وأقلمة النباتات النامية داخل الأنابيب الزجاجية والناتجة من أفضل وسط.

## طرائـق البحث ومـــواده:

### 1. المادة النباتيـة *Heliotropium hirsutissimum*:

نبات عشبي حولـي طولـه (10 – 50) سم مكســو بالأشعار، متفرع عنــد القاعــدة. الساق أسطوانيـــة منتصبة، والأوراق بيضويــة الشكل. النورة انتهائية متراصة تشبـه السنبلـة، بسيطـة أو متفرعـة. الأزهار بيضاء مصفرة، لاطئة. يتكون الكأس مـن 5 سبلات والتويج من 5 بتلات بيضاء ذات لون أصفر عند قمـــة الأنبوبـــة التويجيـــة. الأسدية عـددها 5 مثبتـة قرب قاعـدة الأنبوبـة التويجية، والمـآبر شبـه لاطئـة. الميسم لاطئ، يأخذ شكل قلنسوة (وسادة). تتألف الثمرة من 4 جويزات أو بندقات. الشكل (1). أماكن الإنتشار في العالم: سورية، لبنان، فلسطين، تركيا، افريقيا، بلغاريا واليونان. أماكن الإنتشار في سورية: اللاذقية، بانياس، القنيطرة وتدمر. تم توصيف النوع بالرجوع إلى المراجع العلمية المختصة من قبل (حداد ،2011)، وهي:

(Mouterde, 1983; Davis, 1978; Boulos, 2000)

**الشكل (1) الوصـــف العـــام للنبـات المـدروس**

### 2. قياس أبعاد الثميرات والبذور المستخدمة:

جمعـــت الثميـرات مـــن النبـــات مباشرة، وحفظـــت فـي عبوات بلاستيكيـــة، ثـم قيست أبعـاد 50 ثميـرة وبـذرة باستخـــدام مسطرة ميليمتريـــة مدرجـــة، وتـم حساب المتوسط الحسابي X والإنحراف المعياري ±SD لكل منهما. كما هو موضح في الجدول (1):

**الجـــدول (1) أبعـــاد الثميـرات والبـذور المدروسـة (مـم)**

| متوسط طول الثميرة | ±SD | متوسط عرض الثميرة | ±SD | متوسط طول البذرة | ±SD | متوسط عرض البذرة | ±SD |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1.654 | 0.37± | 0.9 | 0.1± | 1.5 | 0.06± | 0.8 | 0.03± |

**3 الأوساط المستخدمة في الإنبات:**

تم استخدام ثلاثة أوساط: الماء، MS، 1/2MS (Murashige & Skoog, 1962) مضافاً إليه السكروز بمعدل 30غ/ل، واستخدمت الأوساط مع تراكيز مختلفة (0.001, 0.01, 0.1, 1) مغ/ل من الجبريلين GA3 أو بدونه. ضبطت درجة الحموضة على 5.6، وأضيف الأغار بمعدل 8غ/ل، ثم عقمت الأوساط المغذية والماء المقطر والأدوات المستخدمة في جهاز الأوتوغلاف في درجة حرارة 121م° مدة 20 دقيقة.

**4. تعقيم البذور وزراعتها وحضنها:**

عقمت الثميرات بوضعها في الكحول الإيتيلي 70% مدة دقيقة واحدة ثم غسلت بالماء المقطر ووضعت في محلول من هيبوكلوريت الصوديوم 10% (وهي نسبة المادة الفعالة) مدة 15 دقيقة ثم غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات. زرعت البذور (بعد تمزيق قمة الثميرة بمشرط حاد) في أطباق معقمة مجهزة بورقة ترشيح مرطبة بالوسط الزرعي 10مل (الماء ومنظم النمو)، كما زرعت ضمن أنابيب زجاجية (2.5 X 20) سم حاوية على الوسط المغذي MS (25) مل بمعدل 3 بذرة للأنبوب الواحد (تم الزرع في الأنابيب للتقليل من التلوث الحاصل نتيجة الزرع في الأطباق ذات القطر العريض مقارنة بالأنبوب). تم زرع 30 بذرة لكل تركيز (بمعدل 3 مكرر). تمت عملية التعقيم والزراعة في غرفة العزل (Labtech) المعقمة بالأشعة فوق البنفسجية، ووضعت الأطباق والأنابيب في الحاضنة بدرجة حرارة 25±1 م° وإضاءة 16 سا/يوم وشدة 1500 لوكس، مع أخذ القراءات أسبوعياً لتحديد نسبة الإنبات وطول الجذر والساق. أجري هذا البحث في مخابر قسم علم الحياة النباتية/ كلية العلوم/ جامعة تشرين.

**5. أقلمة النبات:**

بعد تحديد الوسط والتركيز الأفضل للإنبات، قمنا بنقل بعض النباتات النامية في الأنابيب بعد وصولها للطول المناسب (بعد شهرين من زراعتها في الوسط المغذي) إلى أصص بلاستيكية تحوي وسط زرعي (التورب)، بعد غسل جذورها جيداً بالماء للتخلص من بقايا الأغار. تم تغطية الأصص في البداية بأكياس من النايلون، وتثقيبها بشكل تدريجي حتى إزالة الأكياس نهائياً بعد أسبوع. رطبت التربة بشكل يومي برذاذ مائي مع تعريضها للضوء، وتابعنا نمو النباتات لمدة شهر مع أخذ القراءات أسبوعياً لطول البادرات.

**6. الطرق الإحصائية المستخدمة:**

تم استخدام برنامج الحزمة الإحصائية للعلوم الاجتماعية (SPSS V18)، وذلك للقيام بعملية التحليل وتحقيق الأهداف الموضوعة في البحث واستخدم مستوى الدلالة (5%)، يقابله مستوى ثقة يساوي (95%) من أجل تفسير نتائج الدراسة ، عبر عن النتائج بالمتوسط $\bar{X} \pm SD$ الانحراف المعياري، وتم استخدام الطرق الإحصائية التالية:

- المتوسطات الحسابية والأخطاء المعيارية.
- اختبار تحليل التباين one way anova للمقارنة بين الأطوال في الأسبوع الأول والثاني ، ثم المفاضلة بين أفضل الأوساط.
- اختبار L.S.D لاستنتاج مكان تواجد الفروق المعنوية بين الأطوال.

## النتائـــج والمناقشـــة:

### 1. تأثيـر المـــاء والجبريليـن فـــي معـدل الإنبـات والنمـــو:

بينـت النتائـج الموضحـــة فـــي الجـــدول (2) مايلـــي:

سجـل الوسـط (المـاء + GA3 0.1 مـغ/ل) أفضـل نسبـة إنبات 65.33% بعـد أسبوعيـن مـن الزراعـة، وانخفضت هـذه النسـبـة في الوسـط (المـاء + GA3 1 مـغ/ل) إلى 64 %، وبلغـت 54.66 % فـي الوسـط (المـاء + GA3 0.01 مـغ/ل)، وفـي الوسـط (المـاء + GA3 0.001 مغ/ل) 48 %، بينمـا لـم تتـجاوز % 44.33 فـي المـاء لوحـده (بدون منظم نمو).

تم حساب متوسط طـول الجـذر والسـاق لـ 3 مكررات بعـد أسبوعين من الزراعـة، وقد أظهرت النتائـج تفـوق الوسـط (المـاء + GA3 0.1 مـغ/ل) علـى باقـي الأوسـاط، حيـث بلـغ متوسـط طـول الجذر 12.66 مـم ومتوسـط طـول السـاق 20 مـم، بينمـا انخفـض متوسـط طـول الجذر فـي الماء (الشـاهد) إلى 2.2 مـم والساق إلـى 3.2 مـم.

تتفـق نتائجنـا مـع Al-Selawy (2011) و Cheyed (2008) و Roychowdhury *et al.* (2012) اللـذين درسـوا دور الجبريليـن فـي تحسيـن النسـبـة المئويـة للإنبـات ونمـو البـادرة في الـذرة الصفراء، وأوضحـوا تأثيـره فـي طبقـة الأليـرون (الطبقـة الفاصلـة بيـن القشـرة والسويـداء) فـي الحبـوب مـن أجـل إطـلاق أنزيمـات التحـلل المائـي مثـل الألفـا أميلاز وبيتـا أميـلاز وغيرهـا مـن الأنزيمـات المسؤولـة عـن الإنبـات والتي لهـا دوراً فعـالاً فـي تحـلل المـواد الرئيسـة الموجـودة فـي السويـداء مثـل اللبيـدات والبروتينات والكربوهيدرات إلـى مـواد أبسـط تنتقـل إلى الجنين مـن خلال القصعـة Scuteiium فضلاً عـن زيادة نسبـة الأحماض الأمينيـة في الجنين مما ينعكس إيجاباً على نسبـة الإنبـات. لدى إجراء تحليل التباين anova للمقارنة بين متوسطات طول الجذر بين الأوساط المدروسة لوحظ وجود فروق معنوية ذات دلالة إحصائية ($P<0.05$) ولإستنتاج مكان وجود هذه الفروق تم إجراء اختبار LSD حيث كل متوسطين الفرق بينهما أكبر من قيمة LSD يكون معنوياً، وبالتالي الفرق المعنوي هو بين الأوساط: (الشاهد مع جميع الأوساط)، (ماء+ 1 مع جميـع الأوساط باستثناء ماء +0.1)، (مـاء + 0.01 مع جميع الأوساط)، (ماء + 0.001 مع جميـع الأوساط) وبالتالي الوسـط الأفضل هو (ماء +1) و (ماء + 0.1) وبما أن الوسـط (ماء + 0.1) هـو الأعلى متوسطاً لذا يمكـن اعتباره الوسط الأفضل. وبالنسبة لمتوسطات طـول الساق فقد لوحـظ الفرق المعنوي بيـن جميع الأوسـاط مثنى مثنى وبمقارنـة متوسطات الأطوال نلاحـظ أن الوسط (ماء +0.1) هو الأعلى متوسطاً وبالتالي هو الوسط الأفضل.

**الجـــدول (2) تأثيـر المـــاء والجبريليـن GA3 (مـغ/ل) فـي متوسط النسبـة المئويـة للإنبـات % ومتوسط النمـو (مـم) بعـد أسبوعيـن مـن الـزراعة (أسبوعWeek=W) (X:المتوسط، ±SD:الإنحراف المعياري)**

| الوسـط | النسبـة المئويـة للإنبات | Xطول الجذر ±SD | | Xطول الساق ±SD | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | W1 | W2 | W1 | W2 |
| مـاء (شاهد) | 44.33 | 0 ± 0 | 0.51± 2.2 | 0± 0 | 0.6± 3.2 |
| مـاء + GA3 1 | 64 | 1.22 ± 6.5 | 2.33± 12.4 | 1.38± 6 | 4.28± 18.5 |
| مـاء + GA3 0.1 | 65.33 | 1.11 ± 5.6 | 2.53± 12.66 | 2.6± 10.5 | 4.97± 20 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| مـاء + GA3 0.01 | 54.66 | 1.19 ± 3.2 | 3.57± 9.6 | 1± 5.5 | 2.33± 12.5 |
| مـاء + GA3 0.001 | 48 | 0.63± 2.1 | 1.97± 6.5 | 0± 0 | 3.09± 8 |
| F (مؤشر فيشر من جدول تحليل التباين) | 450 | | 311.47 | 420 | 379.73 |
| LSD 5% | 0.66 | | 0.71 | 0.85 | 0.99 |

**2. تأثيـر MS والجبريليـن فـي عمليـة الإنبـات والنمـو:**

بينـت النتائـج الموضحـة فـي الجـدول (3) مايلـي:

سجـل الوسـط (MS + GA3 0.1 مـغ/ل) أفضـل نسبـة إنبـات 80.5% بعـد أسبوعيـن مـن الـزراعـة مقارنـة مـع الشاهـد، وانخفضت هـذه النسبـة فـي الوسـط ( MS + GA3 1 مـغ/ل) إلـى 78.33%، وبلغـت 73.21% فـي الوسـط (MS + GA3 0.01 مـغ/ل)، بينمـا لـم تتـجاوز 70.54% فـي الوسـط (MS +GA3 0.001 مـغ/ل).

تفوق الوسـط (MS + GA3 0.1 مـغ/ل) علـى باقـي الأوسـاط، حيـث بلـغ متوسـط طـول الجـذر 20 مـم خـلال الأسـبوع الثانـي مـن الـزراعـة مقارنـة مـع الأسبـوع الأول 10 مـم، ومتوسط طـول الساق 35مـم خـلال الأسـبوع الثـانـي مقارنـة مـع الأسـبوع الأول 15 مـم (لوحظ عند استخدام هذا التركيز حدوث إزهار للنبات ضمن الأنابيب بعد شهر من الزراعة)، بينمـا انخفـض متوسـط طـول الجذر فـي الوسطيـن (MS + GA3 1 و0.01 مـغ/ل) إلـى 18 مـم خـلال الأسـبـوع الثاني مـن الـزراعـة، أما السـاق فسجـلت أقل طـول لهـا فـي الوسطين (الشاهد و MS + GA3 0.001 مـغ/ل) حيـث بلـغت 20 مـم فـي الأسبوع الثانـي مـن الـزراعة، وقد تمت متابعة قياس أطوال الجذر والساق حتى نهايـة الشهر الثانـي مـن الزراعـة كمـا هـو موضح فـي الجـدول(4).

تتفق هذه النتائج مع دراسات Haba *et al*. (1985) و Kumar&Neelakandan (1992) و Mask *et al*. (1997) علـى دور حمـض الجبريليك المضـاف بتراكيز مختلفة فـي تحسـين معـدل إنبـات بـذور نبات فول الصويا *Soybean* من الفصيلة الفولية Fabaceae حيث كان للتركيز 0.1 مغ/ل تأثير إيجابي في معدل الإنبات مقارنة بالتراكيز الأخرى، وتم الإشارة إلى أهمية GA3 في زيادة طول وثخانة الجذر والساق، من خلال دوره في زيادة إنتاج الإيثيلين التي تساهم في زيادة تركيب ACC (Amino cyclopropane-1-Carboxilic acid)

وبين Bojorquez-Quintal *et al*. (2011) في دراسته على تأثيره GA3 في معدل إنبات بذور نبات القهوة Coffee ونمو الأجنـة، أن التركيز 0.1 مغ/ل أعطى أفضل نسبـة إنبات بمعدل وصل حتى 100 % بعد 5 يوم.

لدى إجراء تحليل التباين anova للمقارنـة بين متوسطات طول الجذر بين الأوساط المدروسة لوحظ الفرق المعنوي بـين الأوسـاط: (MS الشـاهد، MS+1)، (MS الشـاهد، MS+0.1)، (MS الشـاهد، MS+0.01)، (MS + 1، MS+0.1)، (MS + 1، MS+0.001)، (MS + 0.1 مع جميع الأوساط) ، (MS + 0.01، MS+0.001)، وبالتالي الوسـط (MS +0.1) هـو الأفضل بين جميع الأوساط (الأعلى متوسطاً والفارق معنوياً عن جميع الأوسـاط)، وبالنسبة لمتوسطات طول الساق لوحظ الفرق المعنوي بين الأوساط:

(الشاهد مع جميع الأوساط باستثناء MS + 0.001)، (MS + 1 مع جميع الأوساط باستثناء MS+0.01)، (MS + 0.1 مع جميع الأوساط)، (MS + 0.01، MS+0.001)، وبالتالي الوسط (MS+0.1) هو الأفضل بين جميع الأوساط (الأعلى متوسطاً والفارق معنوياً عن جميع الأوساط).

**الجـــدول (3) تأثيــر الوسط MS والجبريليــن GA3 (مـغ/ل) فـي متوسط النسبــة المئويــة للإنبـات % ومتوسط النمـــو (مـم) بعـد أسبوعين مـن الــزراعة (أسبوعW=Week)**

| الوســط | النسبـة المئويـة للإنبات | Xطول الجذر ±SD | | Xطول الساق ±SD | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | W1 | W2 | W1 | W2 |
| مــاء (شاهد) | 66.33 | 1.38 ± 5 | 4.11± 14.8 | 2.02± 9 | 4.51± 20 |
| مــاء + GA3 1 | 78.33 | 2.06 ± 9 | 4.12± 18 | 1.86± 12 | 4.65± 30 |
| مــاء + GA3 0.1 | 80.5 | 1.09 ± 10 | 2.19± 20 | 0.86± 15 | 2.01± 35 |
| مــاء + GA3 0.01 | 73.21 | 2.14 ± 9 | 4.28± 18 | 2.11± 12 | 5.11± 29 |
| مــاء + GA3 0.001 | 70.54 | 0.99± 5 | 3.11± 15.6 | 1.87± 9 | 4.16± 20 |
| F | | 20.73 | 29.37 | 421.23 | 219.54 |
| LSD 5% | | 1.17 | 1.07 | 0.76 | 1.24 |

**الجـــدول (4) تأثيــر الوسط MS والجبريليــن GA3 (مـغ/ل) فـي متوسط النسبــة المئويــة للإنبـات % ومتوسط النمـــو (مـم) بعـد شهريـــن مـن الــزراعة (شهـرM=Month)**

| الوســط | النسبـة المئويـة للإنبات | متوسط طـول الجـذر | | متوسـط طـول الساق | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | M1 | M2 | M1 | M2 |
| MS (شاهد) | 66.33 | 40 | 50 | 60 | 160 |
| GA3 1+ MS | 78.33 | 40 | 50 | 90 | 185 |
| GA3 0.1+ MS | 80.5 | 40 | 60 | 100 | 190 |
| GA3 0.01+ MS | 73.21 | 35 | 50 | 80 | 180 |
| GA3 0.001+ MS | 70.54 | 40 | 50 | 75 | 165 |

### 3. تأثيـر 1/2 MS والجبريليــن فــي عمليــة الإنبـات والنمــو:

أظهـرت النتائـــج الموضحـــة فـــي الجـدول (5) التالـــي:

تفـوق الوســط (1/2 MS + GA3 0.1 مـغ/ل) علـى باقـي التراكيـز، حيـث سجـل أعلـى نسبـة إنبـات للبـــذور 75.44% بعـــد أسبوعيـن مـــن الـزراعة، وانخفضـت هـذه النسـبـة إلـى 74.55% فـي الوسـط (1/2 MS + GA3 1 مـغ/ل)، بينمـا لـم تتجـاوز 68.55% في الوسـط (1/2 MS + GA3 0.001 مـغ/ل). تم حساب متوسط طـول الجـذر والساق، وقـد أظهرت النتائج تفـوق الوسط (1/2 MS + GA3 0.1 مـــغ/ل) علـى باقـي التراكيـز، حيـث بلـغ متوسـط طـول الجذر 19 مـم خـلال الأسـبوع الثانـي مـن الــزراعة مقارنـــة مـع الأسبـوع الأول 10 مـم، ومتوسط طـول الساق 24 مـم خـلال الأسـبوع الثـانـي مقارنـــة مـــع الأسـبوع الأول 14 مـم، بينما انخفـض متوسـط طـول الجذر فـــي الوسط (1/2 MS + GA3 0.001

مـغ/ل) إلـى 5 مـم خـلال الأسـبوع الأول و 15 مـم فـي الأسبوع الثانـي مـن الـزراعـة، أمـا الساق فبلـغ متوسـط طولـها 11 مـم فـي الأسبـوع الأول و 19 مـم في الأسبوع الثاني مـن الـزراعـة، وقد تمـت متابعـة قياس أطـوال الجـذر والسوق حتـى نهايـة الشهر الثانـي مـن الزراعـة كمـا يوضح الجـدول (6).

وقـد بيـن Nasri *et al.* (2014) الـدور الإيجـابـي للجبريليـن فـي كسـر سبات البـذرة وزيـادة معـدل الإنبـات عنـد النـوع زنبق بيرو أو زنبق ألانكا *Alstroemeria Ligtu* مـن الفصيلـة Alstroemeraceae عنـد إضافتـه لوسـط 1/2MS الجامـد، فالبـذور الخاملـة التـي تحتـاج للتطبـق (تكويـن طبقـات جداريـة)، والتخزين الجاف بعـد النضـج، والضـوء كمحفز للإنبات يمكن معالجتها بـ GA3 (Gupta, 2003) الـذي يحفـز النشـاط الإستقلابـي لتوفيـر متطلبـات الجنيـن الضروريـة لإنبـات العديـد من الأنـواع النباتيـة (King&Bridgen, 1990) مثـل *Trichocereus terscheckii* من الفصيلة الصبارية (Cactaceae) (Baes et *al.*, 2007) و *Rubia tinctorum* (Sadeghi *et al.*, 2014) ونبـات الفوّة الصبغية *Pedicularis olympica* من الفصيلة الخنازيرية (Scrophulariaceae) (Kirmizi *et al.*, 2010)

لدى إجراء تحليل التباين anova للمقارنـة بين متوسطات طول الجذر بين الأوساط المدروسة لوحظ الفرق المعنوي بين الأوساط: (الشاهد مع جميع الأوساط باستثناء 1/2 MS +0.001)، (1/2 MS +1 مع جميع الأوساط باستثناء 1/2MS+0.01)، (1/2 MS + 0.1 مع جميع الأوساط) وبالتالي الوسـط (1/2MS +0.1) هـو الأفضل (الأعلى متوسطاً والفارق معنوياً عن جميع الأوسـاط)، وبالنسبة لمتوسطات طول الساق لوحظ الفرق المعنوي بين الأوساط: (1/2MS + 0.1 مع جميع الأوساط) وبالتالي الوسط (0.1+1/2MS) هو الأفضل بين جميع الأوساط (الأعلى متوسطاً والفارق معنوياً عن جميع الأوساط).

**الجـدول (5) تأثيـر 1/2MS والجبريليـن GA3 (مـغ/ل) فـي متوسط النسبـة المئويـة للإنبـات % ومتوسط النمـو (مـم) بعـد أسبوعين مـن الـزراعة (أسبوعWeek=W)**

| الوسـط | النسبة المئوية للإنبات | Xطول الجذر ±SD | | Xطول الساق ±SD | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | W1 | W2 | W1 | W2 |
| 1/2 MS (شاهد) | 67.43 | 0.95 ± 5 | 2.85± 15 | 1.9± 9 | 4.03± 19 |
| GA3 1+1/2 MS | 74.55 | 1.65 ± 7 | 4.01± 17 | 2.06± 11 | 3.76± 20 |
| GA3 0.1+1/2 MS | 75.44 | 2.4 ± 10 | 4.56± 19 | 1.55± 14 | 2.66± 24 |
| GA3 0.01+1/2 MS | 71.23 | 2.07 ± 7 | 5.05± 17 | 3.27± 12 | 5.19± 19 |
| GA3 0.001+1/2 MS | 68.55 | 1.1± 5 | 3.31± 15 | 3.12± 11 | 5.4± 19 |
| F | | 6.6 | 15.18 | 28.61 | 22.94 |
| LSD 5% | | 1.01 | 1.18 | 1.1 | 1.26 |

**الجـدول (6) تأثيـر 1/2MS والجبريليـن GA3 (مـغ/ل) فـي متوسط النسبـة المئويـة للإنبـات % ومتوسط النمـو (مـم) بعـد شهريـن مـن الـزراعة (شهـرMonth=M)**

| الوسـط | النسبة المئوية للإنبات | متوسط طـول الجـذر | | متوسـط طـول السويقـة | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | M1 | M2 | M1 | M2 |
| 1/2 MS (شاهد) | 67.43 | 40 | 50 | 50 | 150 |
| GA3 1+1/2 MS | 74.55 | 40 | 60 | 90 | 175 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 180 | 90 | 60 | 40 | 75.44 | GA3 0.1+1/2 MS |
| 165 | 74 | 50 | 40 | 71.23 | GA3 0.01+1/2 MS |
| 150 | 75 | 50 | 40 | 68.55 | GA3 0.001+1/2 MS |

يتوضح من النتائج السابقة أن الوسط ذو التركيز 0.1 هو الأفضل، ولاستنتاج أي من هذه الأوساط هو الأفضل بالنسبة لطول الجذر والساق، تم إجراء تحليل التباين anova للمقارنة بين هذه الأوساط ، ونوضح نتائجه في الجدول (7)

| الوسط | Xطول الجذر ±SD | Xطول الساق ±SD |
|---|---|---|
| GA3 0.1 +ماء | 2.53 ± 12.57 | 4.97 ± 19.89 |
| GA3 0.1+ MS | 2.19 ± 20.02 | 2.01 ± 35 |
| GA3 0.1+1/2 MS | 4.56 ± 19 | 2.66 ± 24 |
| F | 137.83 | 459.4 |
| LSD5% | 0.95 | 1.01 |

نلاحظ من الجدول السابق أن الفرق المعنوي هو بين جميع الأوساط، وبمقارنة متوسطات طول الجذر والساق يتبين أن الوسط (0.1+ MS) هو الفضل (الأعلى متوسطاً والفارق معنوياً عن جميع المتوسطات).

## 4. أقلمـــــــة النبـات:

بعد تحديد الوسط الأفضل للإنبات ( 0.1 GA3 + MS مغ/ل)، تم نقل بعض البادرات النامية في الأنابيب الزجاجية (25 بادرة) بعد وصولها للطول المناسب إلى أصص بلاستيكية تحوي وسط زراعي(التورب)، وتمت متابعة النمو حتى بلغت النباتات عمر الشهر من النمو مع أخذ القراءات أسبوعياً لطول البادرة، وحساب نسبة نجاح عملية التقسية التي سجلت 80 % حيث استمرت 20 بادرة في النمو. جدول (8)، الشكل (2).

**الجـــدول (8) متوسط أطوال الجذور والسوق وعدد الأوراق للبادرات النامية في الأنابيب قبل وبعد الأقلمة**

| متوسط أطوال الجذور والسوق وعدد الأوراق للبادرات النامية في الأنابيب بعد شهرين من الزراعة (سم) | | | متوسط أطوال الجذور والسوق وعدد الأوراق للنباتات النامية في الأصص بعد شهر من الأقلمة (سم) | | |
|---|---|---|---|---|---|
| الجذر | الساق | عدد الأوراق | الجذر | الساق | عدد الأوراق |
| 6 | 19 | 24 | 10 | 28 | 30 |

بعـد أسبوعيـن من الـزراعة

بعـد شهـر من الــزراعة

بعـد شهـرين من الــزراعة

بعـد شهــر مـن الأقلمــة

**الشــكل (2) صــور توضيحيــة لعمليـة النـمو فــي الأنابيــب الـزجاجيـة وصــولاً إلــى الــزراعـة فــي التربــة حتــى الأقلمـة**

## الاســتنتــاجــات والتــوصيــات:

### الاســتنتــاجــات:

1. تفـوق الوسـط (MS + GA3 0.1 مـغ/ل)، علـى باقـي التراكيز والأوساط الأخـرى، حيـث سجـل أعلـى نسبـة إنبـات بمعـدل 80.5%، وبمتوسـط طـول جذر بلـغ 20 مـم، ومتوسط طـول ساق 35 مـم، مع حدوث إزهار للنبات ضمن الأنابيب بعد شهر من الزراعة.

2. تحسـن نسبـة الإنبـات بشكل ملحـوظ عنـد إضافـة الجبريلي ـن بتركيـز 0.1 مـغ/ل إلـى الوسـط MS 1/2 الجامـد، حيـث بلغـت نسبـة الإنبـات 75.44%، وسـجل متوسـط طـول الجذر 19 مـم، والساق 24 مـم.

3. عنـد إضافـة الجبريلين بتركيـز 0.1 مـغ/ل إلـى المـاء، بلغـت نسبـة الإنبـات 65.33% بعـد أسبوعيـن مـن الـزراعة، وبمتوسـط طـول جذر 12.66 مـم، ومتوسـط طـول ساق 20 مـم.

4. الحصـول علـى نباتـات بحالـة خضريـة جيـدة استمـر نموهـا حتـى شهر مـن الزمـن.

### التــوصيــات:

1. دراسـة تأثيـر تراكيـز منظمات نمو أخـرى فـي معـدل الإنبـات، وتحديـد أفضلهـا.

2. إجـراء دراسـات معمقـة علـى جنـس *Heliotropium* كونـه مـادة علميـة هامة تستحق الدراسـة، والاستفـادة مـن خلاصاته الغنية بمواد فعالة مضادة للجراثيم والفيروسات، والمستخدمة حالياً لعلاج بعض أنواع الخلايا السرطانية.

## المــراجــع:


1. *ابراهيم، ريـم. دراسـة تأثير بعـض الشروط البيئيـة في إنبات ونمو بذور نبات الجرجير المائـي (Nasturitium offinale R.BR) المزروعة مخبرياً من بعض مناطق الساحل السوري* ، أطروحة ماجستير. جامعة تشرين، قسم علم النبات، كلية العلوم، سورية، 2012، 140 ص.

2. حـداد، دينا. *دراسـة تصنيفية مورفولوجية لتسعة أنواع تنتمي للفصيلة البوراجينية (الحمحمية) Boraginaceae ضمن محافظة اللاذقية–سورية* ، مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية . سلسلة العلوم البيولوجية، 33(5)، سوريـة، 2011، 23 ص.

3. ALCONTRES, G. *C23° Sila congress.* vol. 2, Italy, 2014, P94.

4. AL-SELAWY, R.L.A. *Response of growth and yield of some Rice cultivars to the seed Enhancement. P.H.D. Dissertation.* Field crops DEPT., College of agriculture, University of Baghdad, Iraq, 2011, 106.

5. ALWAHIBI, M.; BUKHARY, N. *Anatomical study of four species of heliotropium L. (Boraginaveae) from Saudi Arabia*, African journal of plant science, 7(1), Saudi Arabia, 2013, 35-42.

6. BAGADEKAR, A.N.; JAYARAJ, M. *In vitro rhizogenesis from leaf and stem callus of heliotropium indicum, L.- medicinal herb*, international journal of plant, animal and environmental sciences, 1(2), India, 2011, 1-5.

7. BAGADEKAR, A.N.; JAYARAJ, M. *I n vitro flowering of heliotropium indicum, L. – an important medicinal herb, society of applied sciences*, 2(1), India, 2011, 90-95.

8. BAES, P.O.&ROJAS, M. *Seed germination of trichocereus terscheckii (Cactaceae): light, temperature and gibberellic acid effects,* J Arid Environ Argentina . 69(1) , 2007, 169-176.

9. BHATIA, R.C. *Imbibition and germination in seeds of heliotropium suoinum L., ACTA societatis, botanicorum poloniae,* vol. 52, India, 1983, 45-51.

10. BOJORQUEZ-QUINTAL, J.E.; SANCHEZ-CACH, L.A.; GAMBOA-TEC, N.F.; QUINTAL- TUN, F.; GARCIA, Y.M.; ESTEVEZ, M.M.; CERDA, C.F.; BRIONES, C.E. *Effect of plant growth regulators on in vitro germination of coffee zygotic embryos,* African journal of biotechnology, 10(82), Mexico, 2011, 19056-19065.

11. BOULOS, L. *Flora of Egypt volum two (GERANIACEAE- BORAGINACEAE).* AlHadara publishing, Cairo, Egypt, 2000, 352.

12. BUTOLA, J.S.& BADOLA, H.K. *Effect of pre-Sowing treatment on seed germination and seedling vigour in Angelica glauca,* athreatened medicinal herb. current science India . 87(6), 2004, 796-799.

13. CHEYED, S.H. *Effect of gibberellic acid on viability and seed vigour of sorghum resulted from different plant population Sorghum bicolor L*, Meonch.M.SC, Thesis field Crops Dept., College of agriculture, University of Baghdad, Iraq, 2008, 99.

14. CRONQUIST, A. *An integrated system of classification of flowering plant*, Columbia University Press, N.Y. 1881. P554.(in:classification of plant. Alsahar, F.K,1981).

15. DAVIS, D. *Flora of Turkey*. University of Edinburgh at the University press, volum six, Turkey, 1978, 825.

16. GUPTA,V. *Seed germination and dormancy breaking teachniques for indigenous medicinal and aromatic plants*, J Med and Arom plants Sci, vol 25, 2003, 402-407.

17. HASSAN, A.K.M.; BEGUM, N.; JAHAN, M.A.A.; KHATUN, R. *In vitro mass propagation of heliotropium indicum L., using apical and axillary bud explants,* Bangladesh journal of scientific and industrial research, 45(1), Bangladesh, 2010, 69-47

18. HABA, P.; ROLAND, J.M.; JIMENEZ, F. *Antagonistic effect of gibberellic acid and boron on protein and carbohydrate metabolism of soy bean germination seeds,* journal of plant nutrition, 8(11), Spain, 1985, 1061-1073.

19. HUNT, J.R.; COUSENS, R.D.; KNIGHTS, S.E. *The germination ecology of common heliotrope (heliotropium europaeum L.),* 15th Australian weeds conference, Australia, 2006, 126-129.

20. KABAR, K., BALTEPE,S. *Effects of Kn and gibberellic acid in overcoming high temperature and salinity (Nacl) stresses on the germination of barley and lettuce seeds,* phyton (Horn, Australia), vol 30, 1989, 65-74.

21. KIRMIZI, S., GULERYUZ, G., ARSLAN, H., SSAKAR, F.S. *Effects of moist chilling, gibberellic acid, and scarification on seed dormancy in the rare endemic pedicularis olympica (Scrophulariaceae),* Turk J Bot, vol 32, 2010, 225-232.

22. KING, J.; BRIDGEN, M.P. *Environmental and genotypic regulation of Alstroemeria seed germination*, Hort Science, 25(12), 1990, 1607- 1609.

23. KOCA, U.; COLGECEN, H.; REHEMAN, N. *Progress in Biotechnological applications of diverse species in Boraginaceae Juss*, Department of pharmacognosy, Biotechnological, production of plant secondary Metabolites, Turkey, 2012, 200-214.

24. KUMAR, M.S.; RAO, M.V. *In vitro micropropagation of heliotropium indicum L.an ayurvedic herb*, indian journal of biotechnology, vol. 6, India, 2007, 245-249.

25. KUMAR,K.G.A.; NEELAKANDAN, N. *Effect of growth regulators on seedling vigour in soybean (Glycine max (L.) Merr.),* legume research, vol. 15, Spain, 1992, 181-182.

26. MASK, E.V.G.; DOTALE, R.D.; SORTE, P.N.; TALE, B.D.; CHORE, C.N. *Germination, root and shoot studies in soy bean influenced by GA3 and NAA,* journal of soils and crops, vol. 7, 1997, 147-149.

27. MOUTERDE, P. *Nouvelle flore du liban et la syrie, tom 3 Beyrouth Dar el Machreq,* 1983, p578. .

28. MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A. *Revised medium of rapid growth and biaassays with tobacco tissue culture*, physiology plant, vol (15), 1962, 473-479.

29. NASRI, F.; KOSHESH SABA, M.; GHADERI, N.; AKBAR MOZAFARI, A.; JAVADI, T. *Improving germination and dormancy breaking in Alstromeria Ligtu Hybrid seeds*, Trakia Journal of Sciences Iran. vol (12) , 2014, 38-46.

30. PATEL, R.G.; MANKAD, A.U. *Effect of gibberellins on seed germination of Tithonia rotundifolia Blake*. International Journal of Innovative research in science, Engineering and Technology India . 3(3), 2014, 10680-10684.

31. PRADHAN, B.K.; BADOLA, H.K. *Chemical stimulation of seed germination in ex situ produced seeds in swertia chirayita,* Acritically endangered medicinal herb, Research Journal of seed science, 3(3), 2010, 139-149.

32. RAM, K.; ABBAS, S.L.; SACHAN, B.P. *Influence of GA3 on growth and flowering of Antirrhinum majus*, Lal-Baugh, 15(4), 1970, 9-12.

33. RODRIGUEZ- SAHAGUN, A.; DEL TORO- SANCHEZ, C.L.; GUTIERREZ-LOMELI, M.; CASTELLANOS- HERNANDEZ, O.A. *Plant cell and tissue culture as a plant secondary metabolites*, Chapter 1, México, 2012, 3-20.

34. ROYCHOWDHURY, R.; MAMGAIN, A.; RAY, S.; TAH, J. *Effect of gibberellic acid, Kinetin and Indole 3-Acetic acid on seed germination performance of dianthus Caryophyllus (Carnation),* Agriculture conspectus scienticus India , 77(3), 2012, 157-160.

35. SADEGHI, S.; YAGHOB, Z.Y.; TABATABAI. M.F.; ALIZADE, H.M. *Study methods of dormancy breaking and germination of common madder (Rubia tinctorum L.)* seed in laboratory conditions. Bot Rest In Iran . 2(1), 2009, 7-10.

36. SADEQ, M.A.; PATHAK, M.R.; SALIH, A.A.; ABIDO, M.; ABAHUSSAIN, A. *Highly efficient in vitro regeneration method of endangered medicinal plant heliotropium kotschyi (Ramram) in the kingdom of bahrain*, American journal of plants sciences, vol. 5, Bahrain, 2014, 736-747.

37. SALISBURY, F.; ROSS, C.W. *Plant physiology*, 4th edition, Wadsworth publishing company, Belmont, 1922.

38. SCOTT, T.K. *Hormonal regulation of development.2. The functions of hormones from the level of the cell to whole plant,* In Encyclopaedia of plant physiology, New series, Springer-verlag, Berlin, 1984, 180-185.

39. SAULS, J.W.; CAMPBELL, C.W. *Avocado seed germination studies proceedings of the florida state Horticultural society*, vol 93, 1980, 153-154.