إستخدام معاملات التبريد ومنظمات النمو لموائمة بروتوكولات للإكثار الدقيق للزيتون.

المستخلص

شاه حسين زاهد: الطالب

حموه طلعت بن بهجت. د.أ :المشرف

الإكثال الدقيق للزيتون يواجه تحديات بسبب الطبيعة الخشبية للأشجار. الدراسة الحالية تضمنت ٤ أصناف من الزيتون المستخدم تجارياً في شركة الجوف الزراعية بالمملكة العربية السعودية (أربوسينا ، أربيكانا ، كورنيكي ، سوراني) لدراسة التأثيرعلى تكوين المجموع الخضري ومعدل النمو من خلال الإكثار في بيئة معدة خصيصاً لإكثار الزيتون مضاف اليه تركيزات مختلفة من منظمات النمو (zeatin,BAP) ومعلاملات برودة (صفر ، ٢٤ ، ٤٨ ساعة). تم تحصيل النتائج مرفلوجياً من خلال قياس طول الأوراق الإبتدائية، نسبة الأوراق المنتجة، عدد الأوراق لكل نبات إبتدائي. وكما تم تحصيل النتائج فسيولوجياً من خلال قياس المحتوي لكل من (كلورفيل أ ، كلورفيل ب ، مركبات الكرتونيدات ، إمتصاص ثاني أكسيد الكربون). كما تم قياس المركبات الأولية للأيض من خلال قياس (سكر الميثانول، النشا، الجلوكوز، الفركتوز، السكروز، الريفنوز، البلرولين) والمنتجات الثانوية من خلال قياس (القلويدات، مركبات الفلافودين، والتانينات، مركبات الفينول). جميع الأصناف تحت التجربة أعطت نتائج إيجابية مع معاملات البرودة و زيادة تركيز منظمات النمو (zeatin, BAP)، ولكن المعاملة من خلال البرودة لمدة ٤٨ ساعة وكذلك الأصناف أربوسيانا و أربيكينا ومنظم النمو (zeatin) أعطت أفضل النتائج. المعاملة بكل من البرودة لمدة ٤٨ ساعة مع منظم النمو (zeatin) بتركيز ٢,٥ ملج/ لتر أعطي نتائج أفضل من منظم النمو (BAP) لجميع القياسات تحت الدراسة. من خلال الفحص بتقنية الميكروسكوب الإلكتروني أوضحت النتائج إن منظم النمو (zeatin) أعطي نتائج أفضل من منظم النمو (BAP) في الإسراع في الإستفادة من العناصر المعدنية المتواجدة في البيئة الزراعية المستخدمة.

تكوين المجموع الجذري للنباتات المكاثرة نسيجياً من المراحل الهامة لنجاح عملية التكاثر الدقيق للنباتات الخشبية. تم بنجاح تكوين المجموع الجذري لجميع الأصناف تحت الدراسة من خلال المعاملة بتركيزات مختلفة من الأوكسينات (IBA,NAA) وفترات مختلفة من الظلام. تم تقييم نتائج معاملات التجذير مرفلوجياً من خلال (نسبة التجذير، طول الجذور، عدد

الجذورلكل فرع نباتي، عدد الأيام لظهور الجذور). وكذلك من خلال القياسات الكيموحيوية للمنتجات الأولية والمنتجات الثانوية. وجد من خلال الفحص بواسطة تقنية الميكروسكوب الإلكتروني لدراسة مراحل نمو الجذور وعلاقتها بمنظمات النمو زيادة كبيرة في درجة تركيز الهرمون مما أنعكس على نتائج أفضل للصفات الجذرية المرفلوجية وكذلك العمليات الخاصة بالأيض. أظهرت النتائج الظاهرية والكيموحيوية إن المعاملة من خلال إضافة ٢,٥ ملجرام/ لتر من الأكسين (IBA,NAA) لبيئة الزراعة النسيجية أدت الى نتائج إيجابية لعملية التجذير. وكذلك وجد من خلال إستخدام الأكسين (IBA) نتائج أفضل مقارنة بالأكسين (NAA) في بعض المقارنات. جميع الأصناف المكاثرة كانت إستجابتها لمعاملات التجذير إيجابية عند المعاملة بتركيز ٢,٥ ملج / لتر، ولكن وجد إن صنف أربوسيانا وأربيكانا كانت الأفضل في النتائج. وجد من خلال المعاملة للتعرض لفترة الظلام تأثير في نتائج نسبة الجذور المتكونة ولم تكن هناك نتائج معنوية لكل من المواصفات المرفلوجية والأيضية. وكما تم ملاحظة إن إستخدام (IBA) كان ذو نتائج أفضل لنمو وتكشف الجذور والمعاملات الأيضية عند مقارنته بمنظم النمو (NAA).

Adjustment of Micropropagation Protocols for Olive Using Pre-cooling and Growth Regulators Combinations

Abstract

By

Zahid Hussain Shah

Supervised by: Dr Bahget T. Hamooh

To set a definite micro-propagation protocol for olive has always remained a challenging task owe to its woody nature. In this study four olive cultivars from Aljouf region of Saudia Arabia (Arbosana, Arbequina, Koroneiki and Sorany) were evaluated for their optimized micropropagation protocol. In first phase four olive cultivars were evaluated in three factorial arrangement of RCBD, for shoot induction and proliferation protocol on olive media using different concentrations of growth regulators (zeatin and BAP), and levels of pre-cooling treatments (0, 24 and 48 hours). The *in vitro* performance of all the cultivars was assessed using a range of parameters including, morphological (length of primary shoot, percentage of induced shoots, number of leaves shoot^{-1}, number of shoots explant^{-1}), physiological (chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids, CO_2 absorption), primary metabolites (mannitol, starch, glucose, fructose, sucrose, raffinose, proline) and secondary metabolites (alkaloids, flavonoids, tannins, phenols). Significant effect of interactions between, pre-cooling and hormones (P x H), and varieties and hormones (V x H) was noticed on the mean values of morphological, physiological and metabolic paratetrs. However, no effect of three way interaction among precooling, varieties and hormones (P x V x H) was reported. All cultivars indicated the maximum values of morphological, physiological and metabolic parameters for increasing pre-cooling treatments, and increasing concentration of hormones, zeatin and BAP. However, performance of 48 hrs pre-cooling, Arbosana and Arbequina cultivars, and zeatin hormone was noteworthy at all levels of evaluation. Furthermore, the interaction of 48 hrs pre-cooling with 2.5

mgL^{-1} zeatin exceed to BAP as revealed by the parameters included in the study. Likewise, SEM micrographs endorsed the higher affectivity of zeatin compared to BAP in accelerating the uptake of nutrients from olive medium as revealed by the EDX spectrum. Findings of the study present more reliable results for olive shoot induction and proliferation as it basis on wide range of parameters.

In vitro rhizogenesis is the last step determining the success of micropropagation of woody plants like olive. Therefore, second phase of current study has delineated a successful protocol of root induction in proliferated microshoots of four promising olive cultivars by using different levels of auxins (IBA and NAA) and dark period. The effects of these treatments were screened at morphological (rooting percentage, root length, number of roots per shoot and days of root initiation) and biochemical (primary and secondary metabolites) levels by conducting the comprehensive study using three factorial arrangement in RCBD. Significant effect of interactions between, dark treatment and hormones (D x H), and varieties and hormones (V x H) was reported only on metabolites (starch, fructose, sucrose, proline and alkaloids), however no effect was reported on mean values of root morphological parameters. No three way interaction among the treatment was reported. Moreover, SEM micrographs of developing roots were generated to get the better understanding about the role of hormones in root architect regulation. Significant impact of increasing levels of hormones was detected in improving the root parameters as well as in triggering the metabolic activities. Our evaluations on morphological and biochemical basis ratified the higher rooting effectiveness of olive media with 2.5 mg L^{-1}supplementation of IBA and NAA; however comparative study marked IBA more promising as compared to NAA. This was proved by high mean values of morphological and biochemical parametrs for IBA as compared to NAA. In addition all cultivars showed noteworthy performance on both morphological and biochemical fronts at 2.5 mg L^{-1} concentration of hormones; while the performance of Arbosana and Arbequina was noteworthy. Both cultivars depicted the higher mean values of morphological and biochemical parameters as compared to Soarany and Koroneiki, for the same concentrations of hotmones. The dark treatment showed only exceptional

performance in increasing the rooting percentage, while no promising impact was noticed for other morphological and metabolic parameters. However, comprehensive assessment revealed promising performance of IBA in mediating growth and metabolic activities as compared to NAA.