وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعـــة ديالى
كليــة التربيـــة للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة



أثر المجال المغناطيسي ومنظمات النموالنباتية في نمو واستحثاث الكالس في نباتي اللالنكي(*Citrus reticulata* L. blanco) والليمون الحامض(*Citrus limon* L.Burumf) خارج الجسم الحي

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة . جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات درجة الماجستير

علوم الحياة / علم النبات

من قبل

نور صبري ناصر

باشراف

أ.د وسام مالك داود　　م.د أياد عاصي عبيد

١٤٣٣هـ　　٢٠١٢م

قائمة المحتويات

الرقم	الموضوع	الصفحة
١	المقدمة	١
٢	مراجعة المصادر	٥
٢-١	زراعة الانسجة النباتية	٦
٢-٢	تاثير السايتوكاينينات في نمو الحمضيات خارج الجسم الحي	٨
٢-٢-١	تاثير البنزيل ادنين	٨
٢-٢-٢-	تاثير الكاينتين	٩
٢-٢-٣-	دور الثيادازورون	١١
٢-٣-	نشوء الكالس	١٢
٢-٤-	المجال المغناطيسي	١٥
٢-٤-١-	تاثيرات المجال المغناطيسي في نمو النباتات خارج الجسم الحي	١٦

٢-٥-	مركبات الايض الثانوي	١٨
٢-٥-١	القلويدات	١٨
٢-٥-٢	انتاج القلويدات خارج الجسم الحي	٢٠
٣	المواد وطرائق العمل	٢٣
٣-١	مصدر البذور وتعقيمها	٢٤
٣-٢	تحضير الوسط الغذائي	٢٤
٣-٣	تعقيم الادوات	٢٥
٣-٤-	التجارب والمعاملات	٢٦
٣-٤-١-	بيان التاثير البنزيل ادنين في انبات البذور ونمو البادرات	٢٦

الرقم	الموضوع	الصفحة
٣-٤-٢-	تاثير البنزيل الادنين في نمو وتضاعف اطراف الافرع	٢٧
٣-٤-٣-	تاثير الكاينتين في انبات البذور ونمو البادرات	٢٧
٣-٤-٤-	تاثير المجال المغناطيسي في نمو بادرات الحمضيات	٢٧
٣-٥	نشوء الكالس	٢٨
٣-٥-١	اضافة الثيادازورون في انبات البذور ونشوء الكالس	٢٨
٣-٥-٢	تاثير اضافة NAAمع 2,4-D في نشوء الكالس ونموه	٢٨
٣-٥-٣	تاثير التداخل TDZ و2,4-D في نشوء الكالس	٢٨
٣-٦	تاثير المجال المغناطيسي في انتاج الهرمونات النباتية والقلويدات	٢٩
٣-٦-١	طريقة الاستخلاص	٣١
٣-٦-٢	طريقة التقدير الكمي والنوعي للهرمونات النباتية	٣١

٣-٦-٣	طريقة التقدير الكمي والنوعي للقلويدات	٣٢
٣-٧	التحضيرات المجهرية المؤقتة للمقاطع التشريحية	٣٢
٣-٧-١	مصدر العينات النباتية وعمل المقاطع	٣٢
٣-٧-٢	التصبيغ	٣٢
٣-٨	التصميم التجريبي والتحليل الاحصائي	٣٣
٤-	النتائج والمناقشة	٣٤
٤-١	تاثير السايتوكاينينات في نمو البادرات	٣٥
٤-١-١	تاثير اضافة البنزيل ادنين في انبات البذور ونمو بادرات اللالنكي كليمنتاين	٣٥

الرقم	الموضوع	الصفحة
٤-١-٢	تأثيرالبنزيل أدنين في تضاعف اطراف الفروع	٣٩

٤-١-٣	تاثير الكاينتين في انبات البذور ونمو بادرات اللالنكي كليمنتاين	٣٩
٤-١-٤	تاثير الكاينتين في نمو بادرات الليمون الحامض المحلي	٤٤
٤-٢	تاثير المجال المغناطيسي في نمو بادرات اللالنكي	٤٧
٤-٣	تاثير المجال المغناطيسي في نمو بادرات الليمون الحامض المحلي	٥٠
٤-٤	تاثير TDZوNAA و2,4-Dفي نشوء الكالس ونموه	٥٥
٤-٤-١	تاثير الثيادازورون في نشوء الكالس	٥٥
٤-٤-٢	تاثيرNAA و2,4-D في انبات البذور ونمو البادرات ونشوء كالس اللالنكي	٥٦
٤-٤-٣	تأثير تداخل TDZ و 2,4-D في انتاج الكالس بعد مرور ٤ أسابع من زراعة البذور على وسط MS	٦٢
٤-٥	تأثير كثافة خطوط الفيض المغناطيسي في محتوى كالس اللالنكي من الكاينتين و وحامض أندول أستيك والجبرلين حامض الابسيسك	٦٤
٤-٦	تاثير كثافة خطوط الفيض المجال المغناطيسي في انتاج القلويدات من كالس اللالنكي	٦٩
--	الاستنتاجات	٧٥

--	التوصيات	٧٥
--	المصادر العربية	٧٧
--	المصادر الاجنبية	٨٠
--	الخلاصة باللغة الانكليزية	٩٠

الفصل الأول : المقدمة

تنتمي الحمضيات الى العائلة السذبية (Rutaceae) , والتي تضم عدداً من الاجناس اهمها إقتصادياً هو الجنس *Citrus* الذي يعد مصدراً مهماً من مصادر غذاء الانسان (Germana, ١٩٩٧) ,هي نباتات استوائية تأقلمت في المناطق تحت الاستوائية والمناطق الدافئة وفي هذه البيئة الجديدة غيرت بعض خصائصها بما يلائم بيئتها الجديدة (الجميلي وحسن ، ١٩٨٩) ان للحمضيات اهمية طبية اذ وجد انها تحتوي على العديد من مركبات الفعالة مثل القلويدات المهمة في الاستخدامات الطبية (Suryawnshi ، ٢٠١١).

بالرغم من زراعة الحمضيات بشكل واسع الا ان نموها بطيء بالاضافة الى اصابة معظم اشجارها بالامراض والحشرات (Mukhtar وآخرون ,٢٠٠٥).إن زراعة الحمضيات وانتاجها مازال متأخراً في العراق مقارنة مع الدول المنتجة, إذ أدى إنخفاض الانتاج الى توليد فجوة في احتياجات السوق المحلية مما أدى الى تعويض النقص عن طريق الاستيراد من الدول المجاورة . إذ وجد انخفاض في معدلات الإنتاج للبرتقال واللالنكي في حين حصلت زيادة واضحة في معدلات انتاج الليمون الحامض والحلو والنارنج خلال الموسم الشتوي لسنة ٢٠١١ ، إذ انخفض انتاج اللالنكي للسنة الحالية بنسبة ٤٪, فقد تراجع الانتاج من ٣٦٦٨ طن لسنة ٢٠١٠ الى ٣٥٣٠ طن في الموسم الحالي, في حين شهد الليمون الحامض زيادة بنسبة ١٤٪عن الموسم السابق فبعدما كانت كمية الانتاج ٤١٩١ طن عام ٢٠١٠ ازدادت كمية الانتاج الى ٤٧٥٩ طن عام ٢٠١١, وسبب الانخفاض يعود الى اصابة معظم اشجار الحمضيات بمرض الذبابة البيضاء (الجهاز المركزي للاحصاء وتكنولوجيا المعلومات ، ٢٠١١).

تعُدّ تقنية زراعة الانسجة النباتية وسيلة مهمة لاكثار العديد من النباتات بكميات كبيرة ومدد زمنية قصيرة اذ ان خلايا الجزء النباتي بإمكانها التضاعف الى الاف النباتات في اقل من سنة (Devi, ٢٠٠٣). وقد اصبحت من التقنيات الحياتية المستخدمة في المجالات الزراعية

والصناعية والطبية (Haq ,٢٠٠٧). واصبحت لها تطبيقات مهمة منها الاكثار السلالي السريع (Micropropagation) للاصناف الجيدة والنادرة(Messmer وBerger ,٢٠٠٤). في إنتاج نباتات خالية من المسببات المرضية (Beachy وMurakishi , ١٩٧٣). وفي إنتاج مركبات مفيدة في ظل ظروف مسيطر عليها واستخراج مواد فعالة ذات استخدامات طبية من كالس النباتات (Sree واخرون ، ٢٠١٠) . في انتاج المركبات الطبية طيلة أيام السنة دون التقيد بموسم النمو (Park واخرون ، ٢٠٠٨) .

تستخدم عدة طرائق لاكثار الحمضيات بزراعة الانسجة أكثرها نجاحاً هي الحصول على الاجنة الجسمية بزراعة نسيج النيوسيلة أو أجزاء من الفلق والتي تعطي نباتات خالية من الاصابات الفايروسية أو أجزاء من الفلق والتي نباتات خالية من الاصابات الفايروسية (Navarro, ١٩٨٤).

جرى اكثار اللالنكي باستخدام السويقة الجنينية العليا على وسط MT, (Marashige and Tucker, 1969) (Zenge وآخرون ، ٢٠٠٩) ، كذلك امكانية الحصول على الكالس من زراعة بذور اللالنكي على وسط MS مضاف اليه 2 , 4 – D و BA (Altaf وآخرون ، ٢٠٠٩) .هذا وقد توصل بعض الباحثين الى امكانية استخلاص القلويدات من الحمضيات(Teng وآخرون ، ٢٠٠٥) ، فضلاً عن امكانية استخراج القلويدات من كالس نبات *Ephedra strobilacea* Bung(Mousavi وآخرون ، ٢٠١١).

وهذا وقد توصلت بعض الدراسات الى ان تعريض الاجزاء النباتية المزروعة خارج الجسم الحي الى المجال المغناطيسي لمدة وشدة تعريض محددة له دور في تحسين إخلاف الفروع وتجذير وزيادة محتوى الاوراق من الكلوروفيل لبعض أشجارالفاكهة(Lucchesini واخرون ، ١٩٩٢) .

من كل ماسبق ولعدم وجود دراسات سابقة في العراق تتناول هذا الموضوع فقد أجريت هذه الدراسة بهدف معرفة :-

١- دور السايتوكاينينات في انبات البذور ونمو بادرات اللالنكي والليمون الحامض المحلي.

٢- دور الـ BA في تضاعف الفروع .

٣- دور الـ TDZ في انبات بذوراللالنكي ونموها ونشوء الكالس .

٤- دور الاوكسينات 2,4-D و NAA في انبات البذور ونشوء الكالس اللالنكي.

٥- دور المجال المغناطيسي في انبات البذور ونمو بادرات اللالنكي والليمون الحامض .

٦- دور المجال المغناطيسي في انتاج الهرمونات النباتية والقلويدات من كالس اللالنكي .

الفصل الثاني : استعراض المراجع

٢-١: زراعة الانسجة النباتية Plant tissue culture

يقصد بهاعزل خلية أو نسيج أوعضو نباتي أو جزء من عضو وتعقيمه وزراعته على أوساط غذائية اصطناعية معقمة وحضنها في ظروف محددة من حيث الحرارة والضوء لتكوين الكالس او الأفرع الخضرية المتعددة ومن ثم الحصول على النبات الكامل فضلاً عن استخدامها في المجالات الحيوية كافة (وصفي ، ١٩٩٨ و Lineberger ، ٢٠٠١) .

بدأ تاريخ زراعة الانسجة النباتية مع ظهور مفهوم الخلية بوصفها وحدة وظيفية مستقلة ، التي اقترحها Schleiden و Schwann عام ١٨٣٩ وأثبت Heberlandt ذلك عام ١٩٠٢ اذ بدأ بزراعة خلايا النسيج المتوسط (Mesophyll) وخلايا البشرة لبعض النباتات مستخدماً لذلك محلول (Knop) المغذي ، سكروز ، (Aspargin) والـ (Pepton) ولاحظ بقاء الخلايا المزروعة حية لفترة (٣-٤) أسابيع دون حصول انقسام خلوي ولكن حصلت زيادة في حجوم الخلايا (Ramawat , ٢٠٠٤) وبين سبب ذلك هو غياب عامل النمو(growth factor) الذي افترض انه مجموعة من الانزيمات أسماها انزيمات النمو(growth enzyme) وعلى

الرغم من عدم تحقيق التجربة لاهدافها الا انها تعد الركيزة الاساسية لتقانة زراعة الانسجةالنباتية وأطلق لأول مرة مفهوم الطاقة الكامنة الذاتية للخلايا (Totipotency) بأن كل خلية نباتية لها القدرة على الانقسام النمو والتطورالى نبات كامل اذا ماوفرت لها الظروف المناسبة من حرارة وضوء ورطوبة فضلاً عن توفر المواد الغذائية ومنظمات النمو (Chang وآخرون ، ١٩٩٩) .

تلعب الهرمونات النباتية دوراهاما في نمو وتكشف الخلايا والانسجة وهي تقسم الى الاوكسينات والسايتوكاينينات والجبريلينات وحامض الابسيسك والايثلين (الرفاعي والشوبكي ,٢٠٠٧) , ان للاوكسينات دورا كبيرا في السيادة القمية وتكوين او تطور الاعضاء (Kepinski و Layser،٢٠٠٥) وانبات البذور وفي تكوين الجذور و البراعم و بادئات الازهار (Liang وSkinner ،٢٠٠٤) وان من اهم مراكز تخليق الاوكسينات هي الانسجة الحديثة النمو التي تنمو بنشاط مثل المرستيمات القمية للساق والجذور والاوراق النامية بينما توجد بكميات أقل في الانسجة الناضجة (حسونة, ٢٠٠٣). ان للسايتوكاينينات تاثيرات عديدة منها زيادة سرعة انقسام الخلايا، كسر السيادة القمية (Delloloio ،٢٠٠٧) , وتساعد في تكوين الأفرع من البراعم العرضية وتشجيع تكوين الأفرع من أنسجة الكالس والأوراق والجذور والفلق والقطع الساقية (Hopkins، ١٩٩٩).

اما الجبريلينات فان لها دور في تحفيز التزهير و كسر كمون البذورتشجيع استطالة الساق (حسونة ,٢٠٠٣) .ويعد حامض الابسيسك من مثبطات النمو ويعمل على تنظيم عمل الثغور وكمون البذور وكمون البراعم وانفصال الاوراق, ويعمل الاثلين على تشجيع نضج الثمار وذبول الاوراق وانفصالها (محمد,١٩٨٢)

وفي سنة ١٩٣٤ تمكن الباحث Kogl واخرون من تشخيص اول هرمون وعزله من ادرار الانسان وعد على انه اول هرمون له تاثير نباتي طبيعي وهو اندول حامض الخليك (IAA) (Kogl وآخرون, ١٩٣٤). وفي سنة ١٩٥٥ تمكن الباحث

Miller واخـرون مـن فصـل اول سـايتوكاينين مـن حيـامن سـمكة الرنكـة (Herring sperms) وهـو الكـاينتين. وتعـد هـذه خطـوة رائـدة فـي تـاريخ زراعـة الانسـجة النباتيـة (Miller وآخرون ,١٩٥٥). وفـي سنة ١٩٥٧ تمكن العالمـان Miller و Skoog مـن السـيطرة علـى تكـوين الاعضـاء النباتيـة فـي انسـجة كـالس نبـات التبـغ وذلـك عـن طريـق الموازنـة بـين الاوكسـينات والسـايتوكاينينات المضـافة الـى الوسـط(Miller و Skoog ,١٩٥٧) .

٢-٢: تأثير السايتوكاينينات في نمو الحمضيات خارج الجسم الحي

السايتوكاينينات هي مجموعة من المركبات تستعمل في الزراعة النسيجية لتحفيز نمو البراعم الابطية بعد التخلص من ظاهرة السيادة القمية وكما تستعمل لتحفيز انقسام الخلايا وتكوين الأفرع العرضية من نسيج الكالس والأعضاء النباتية الاخرى ومن اكثرها استعمالاً هو البنزيل أدنين ، والكاينتين و الزياتين (سلمان ، ١٩٨٨) .

٢-٢-١: تأثير البنزيل أدنين

يعدَ BA من اكثر السايتوكاينينات استخداما في الزراعة النسيجية ,لانه اكثر فعالية مقارنة بألـ2iP لاحتوائه على اكثرمن اصرة مزدوجة (Kirshnamurthy وآخرون ,١٩٨٤). اتفق عدد من الباحثين على أهمية BA في عملية توالد وتضاعف الفروع في الزروعات النسيجية أذ لا يكاد يخلو بحث أو دراسة من اضافة BA الى وسط التضاعف والاكثار الخضري خارج الجسم الحي *in vitro* .

اجريت دراسات عديدة لبيان دور البنزيل أدنين BA في التضاعف والاكثار منها ما وجده الشنطاوي واخرون (١٩٩٨) من خلال دراسة أجروها على أفرع النارنج *C.*) Sour Orange

(*aurantium* L. بطول٥ سم وزراعته على وسط MS مجهز بالتراكيز ٠، ٠,٥ ، ١، ١,٥و٢ ملغم / لتر ، وأظهرت النتائج ان تركيز ١ملغم/لترهو الأفضل للتضاعف والتفرع اذ بلغ عدد الفروع ٦,١ فرع / جزء نباتي وبطول ٢٤,٢ ملم . واستخدم سلمان وآخرون (٢٠٠٣) فروعاً ناتجة من مرحلة النشوء لنوعين من الحمضيات هما البرتقال المحلي (*C. sinensis* L. osbeck) والليمون الحامض المحلي (*C. limon* L. Brumf) وزراعتها على وسط MT (Murashige and Tucker 1969) مضاف اليه BA بتراكيز ٠ ، ١ ، ٢ ، ٣ و٤ ملغم/لتر, وكانت أفضل النتائج للبرتقال المحلي عند تجهيز الأوساط بتركيز ١ ملغم / لتر اذ بلغ عدد الفروع ٥ فرع / جزء نباتي في حين بلغ أكبر عدد للفروع ٢,١ فرع / جزء نباتي لليمون الحامض المحلي عند تجهيز الأوساط بتركيز ٣ ملغم / لتر .

أما Usman وآخرون (٢٠٠٥) فقد وجدوا من خلال دراسة أجروها على أنواع مختلفة من الحمضيات منها اللالنكي (*C. reticulata* L. Blanco) والليمون حلو (*C. limetta* L.) والبرتقال (*C. sinensis* Osbeck) , وذلك باخذهم فروعاً بطول ٣-٥ ملم تحتوي (١-٢) بادئات أوراق من نباتات بعمر٨ اسابيع ناتجة من الزراعة النسيجية وزراعته على وسط MS مضاف اليه تراكيز من BA ٠,١ ، ١ ، ١٠ ملغم /لتر, ووجدوا ان أفضل استجابة حصلت عند اضافة ١٠ ملغم / لتر ولكل الأنواع المدروسة اذ بلغت نسبة الأستجابة للانبات ٩٠٪ للالنكي ، ٨٤٪ و٧٩٪ لليمون الحامض والبرتقال, على التوالي .

وأشار Mukhtar وآخرون (٢٠٠٥) الى انه عند زراعة أطراف فروع وبراعم جانبية للالنكي بطول ١-١,٥ سم من على وسط MS مضاف اليه BAP بتراكيز ٠,٢٥ ، ٠,٥ ، ١ ، ٢ ملغم / لتر فأن افضل استجابة كانت للوسط المجهز بتركيز ١ ملغم / لتر وبنسبة ٨٤٪ ولكلا جزئي النبات المستخدم . كما وجد Zeng وآخرون (٢٠٠٩) عند زراعة السويقة الجنينية العليا للالنكي (*C. reticulat*a L. Blanco) بطول ١ سم على وسط MT مضافاً اليه تراكيز من BAP ١ ، ٢ ، ٣ ملغم / لتر, ان تركيز ٢ ملغم / لتر كان ألافضل لتكون الفروع اذ أعطى نسبة استجابة ٧٢,٥٪ في حين بلغ عدد الفروع ٧,٨ فرع / جزء نباتي . وبين البدر

وآخرون (٢٠٠٩) عند زراعتهم لأطراف فروع وعقد بطول ٠,٥-١ سم من الليمون المخرفش (*C. jambhiri* Lushi) على وسط MS مضافاً اليه BA بتراكيز ٠ ، ٠,٥ ، ١ ، ١,٥ ، ٢ ، ٣ ، ٤ و ٥ ملغم / لتر ان تركيز ٠,٥ ملغم / لتر أعطى أعلى معدل تضاعف الفروع وبلغ ١,٨٠ فرع / جزء نباتي في حين بلغ معدل تضاعف الفروع ١,٢٨ فرع / جزء نباتي في معاملة المقارنة .

٢-٢-٢: تأثير الكاينتين : Kinetin

الكاينتين هو أول السايتوكاينين تم اكتشافه من قبل الباحث Miller وآخرون من حيامن سمكة الرنكة (Herring sperm) (محمد ، ١٩٨٢) . اجريت العديد من الدراسات لمعرفة دور الكاينتين في نمو واستجابة الحمضيات خارج الجسم الحي *in vitro* ومنها ما توصل اليه AL – Khayri و AL – Bahrany (٢٠٠١) عند زراعة عقد ليمون البنزهير *C.* (*auralifolia*) بطول ١ سم على وسط MS مضاف اليه تراكيز مختلفة من BA و Kin. كمعاملات مستقلة ومتداخلة اذ وجد ان أفضل معاملة لتضاعف الافرع هي التي احتوت BA + Kin. بشكل متداخل وبتركيز ١+٠,٥ ملغم / لتر على التوالي, وبعدد ٨ أفرع لكل عقدة .أما أفضل استطالة للفروع فقد حصلت في معاملة التي تحتوي على Kin. + BA بتركيز ١+٠,٢٥ ملغم / لتر على التوالي , بلغ طول الفروع ٢٤ ملم , في حين بلغ عدد الفروع ٣ فرع , وطول الفروع ١١ ملم عند استخدام الـ Kin. لوحده بتركيز ١ملغم/لتر.

وأشار Mukhtar وآخرون (٢٠٠٥)عند زراعتهم لأطراف فروع وبراعم جانبية لنبات اللالنكي (*C.reticulata* L. Blanco) بطول ١-١,٥ سم على وسط MS مضاف اليه تراكيز من الـ Kin. (٠,٥ ، ١ ، ١,٥ و٢ ملغم / لتر) الى ان استجابة الفروع بلغت ٨٠٪ عند تجهيز الأوساط بتركيز ١,٥ ملغم / لتر Kin. , وبعدد فروع بلغ ٧,٩٩ فرع / جزء نباتي , في حين

كانت نسبة استجابة البراعم الجانبية ٧٠٪ عند تركيز ١ ملغم / لتر كاينتين, وبلغ عدد الفروع ٦,٣ فرع / جزء نباتي.

وأكد قصاب باشي (٢٠٠٦) انه عند زراعة بذور منزوعة الغلاف وبذورغير منزوعة الغلاف من الليمون الحامض المحلي (*C. limon* L. Brumf)على وسط MS مضاف اليه BA و .Kin كمعاملات مستقلة ومتداخلة ان استجابة البذورمنزوعة الغلاف أفضل من البذور غير منزوعة الغلاف عند تركيز ٣ ملغم/لتر .Kin . وأشارالباحث نفسه الى ان زراعة بذور منزوعة الغلاف على وسط يحوي تركيز ٣ ملغم / لتر .Kin هو الأفضل لاستطالة الجذور نسبة الى معاملة المقارنة اذ بلغ ٣,٥ سم في حين بلغ ٢,٨٥ سم في معاملة المقارنة.وذكر Sharma وآخرون(٢٠٠٩) عند زراعة أطراف فروع وبراعم جانبية لاصول من الحمضيات لليمون المخرفش (Rough Lemon) واللالنكي Cleopatra على وسط MS مجهز بتراكيز ٠,٥ ، ١ ، ١,٥ ، ٢ ملغم/ لتر .Kin اذ أعطى تركيز ٢ ملغم / لتر أفضل استجابة لكليهما وبلغت ٣٣٪ لليمون المخرفش لكل من البراعم الابطية وأطراف الفروع اما اللالنكي فكانت النسبة ٢٢٪ و ٣٣٪ لكل من أطراف الفروع والبراعم الجانبية على التوالي, كما وجدوا من خلال دراستهم على تكون البراعم باستخدام نفس التراكيز من .Kin ان أفضل استجابة لتكون البراعم هو تركيز ٠,٥،١ ملغم/لتر وبنسبة ٦٠٪ لاطراف الفروع و ٨٠٪ للبراعم الجانبية لليمون المخرفش أماللالنكي فان تركيز ١ملغم /لتر هو الافضل وبنسبة ٧٣٪ لكل من أطراف الفروع والبراعم الجانبية .

٢-٢-٣: دور الثيادازورون : (TDZ) thidiazuron

أحد منظمات النمو التي استخدمت حديثاً في مجال زراعة الأنسجة النباتية كمنظم نمو شبيه بالسايتوكاينينات ويكون أكثر فعالية من الزياتين في تحفيز النمو عند اضافته الى الأوساط الغذائية ، أذ يحفز نمو البراعم الابطية في العديد من النباتات الخشبية (Sajid وAftab، ٢٠٠٩). كما أشارت بعض الدراسات الى ان التركيز القليل من TDZ يحفز نمو البراعم الابطية والجانبية والتركيز العالية منه تثبط النمو ويكون الكالس ويكون الأجنة الجسمية (

Huettemanو Preece، ١٩٩٣) ومن الدراسات التي أجريت في مجال اكثار اشجار الفاكهة ما وجده الحسين (١٩٩٧) عندما زرع أطراف أفرع لأصل التفاح S3(Glbe schafsnase) الناتجة عن الزراعة النسيجية على وسط MS مجهز بتراكيز ٠ ، ٠,١ ، ٠,٥و١ ملغم / لتر من TDZ يؤدي الى انتاج أكبر عدد من الأفرع وبلغ ١٠,١ فرع والذي تكون بعد مرور ٨ أسابيع من الزراعة في الوسط المجهز بـ ٠,٥ ملغم / لتر, في حين بلغ أطول فرع ١٣,١ ملم تكون في معاملة المقارنة التي خلت من TDZ .

ووجد Paudyal وHaq (٢٠٠٠) ان زراعة أطراف فروع من الشادوك (*C. grandis* L.Obseck) على وسط MS المجهز بتراكيز مختلفة من TDZ ان استجابة الأجزاء النباتية قليلة جدا اذ إن ٣٠٪ منها فقط يبقى على قيد الحياة بعد مرور ٦ أسابيع عند زراعتها على أوساط مجهزة بتركيز ٠,٠١٢٥ ملغم / لتر . كما وجد ان الجزء النباتي المزروع على تركيز ٠,١٢٥ ملغم / لتر بدأ بالموت من الأسبوع الثاني , وجميع النباتات تموت بعد مرور ٤ أسابيع . وبين القضاة وآخرون (٢٠٠٨) عند زراعتهم لبراعم جانبية لنبات المشمش صنف عجمي ناتجة من الزراعة النسيجية بطول ١,٢٥ سم على وسط MS مجهز بتراكيز من TDZ(٠ ، ٠,٥ ، ١ ، ٢ ملغم / لتر) ، وبلغ أعلى متوسط للتضاعف ٤,١٦ عند تركيز٢ ملغم/لتر وأعلى متوسط استطالة عند تركيز ١ ملغم / لتر اذ بلغ ١,٧ سم في حين بلغ معدل التضاعف ١,٠٨ ومتوسط الاستطالة ٠,٣١ سم في معاملة المقارنة . وتوصل Canli و Tain (٢٠٠٨) عند زراعتهم أجزاء من الفلقة لعدة أصناف من الأجاص الياباني على وسط MS مضاف اليه TDZ بالتراكيز (٠ ، ١ ، ١,٢٥ ، ١,٩ ، ٣ ، ٣,٨ ، ٧,٥ ملغم / لتر) الى ان التركيز الأفضل لأحداث التضاعف كان متبايناً وحسب الاصناف, اذ تفوقت معاملة ١,٢٥ ملغم / لتر للصنفين Gladstone و Bruce ,والمعاملة ٣ ملغم / لتر للصنف Erlygolden , ومعاملة ١ ملغم / لتر للصنف Red heart, والمعاملة ٧,٥ ملغم / لتر للصنف Shiro . كما وجد عبيد (٢٠٠٩) عند زراعة البراعم الجانبية الساكنة من أصل الخوخ البيضاوي بطول ١ سم على وسط MS مضاف له TDZ بالتراكيز ٠ ، ١ ، ٢ ، ٣ ، ٤ ، ٥ ملغم / لتر انه حفز تكون الكالس ,وان التراكيز المرتفعة حفزت على تكوين أفرع متضخمة وأوراق رفيعة والافرع الناتجة غيرصالحة

للتجذير. وتوصل نفس الباحث عند استخدام تراكيز منخفضة من الـ TDZ(٠, ٠,٢ , ٠,٤ , ٠,٦ و٠,٨ ملغم/لتر) عند زراعة عقد من الخوخ الى ان تراكيز من ٠,٢- ٠,٨ ملغم/لتر أدت الى تضخم العقد وتكون الكالس , اذ بلغ أكبر حجم للكالس في المعاملة المجهزة بـ ٠,٦ ملغم/لتر في حين لم يحفز الوسط الخالي من الـ TDZ الى نشوء الكالس.

٢-٣: نشوء الكالس:

الكالس Callusعبارة عن نسيج غير متمايز يتألف من خلايا برنكيمية ويمكن ان يستخدم في العديد من المجالات منها في مجال الهندسة الوراثية في تكوين الأعضاء وتكوين الأجنة الجسمية واستخدامه في المفاعلات الحيوية وفي انتاج المركبات الطبية والصيدلانية (Trigiano و Gray ، ١٩٩٦) ووصف Mineo (١٩٩٠) الكالس بأنه كتلة من الخلايا التي تنمو على وسط صلب وتتكون طبيعياً في النباتات كاستجابة الى الجروح أو في منطقة التطعيم,الا انه أمكن حث الجزء النباتي المزروع خارج الجسم الحي على تكوين الكالس من خلال التحكم في مستويات منظمات النمو المضافة الى الوسط الغذائي ولا سيما الاوكسينات والسايتوكاينينات .

واشارمحمد وعمر (١٩٩٠) الى ان عملية استحثاث الكالس على الجزء النباتي في زراعة الانسجة تمر بثلاث مراحل هي التحفيز والانقسام والتمايز. ففي مرحلة التحفيز تحصل تغيرات مهمة في الخلايا مثل بناء البروتينات والـ DNA لتكون مهيئة لعملية الانقسام, أما في المرحلة الثانية فان الخلايا تنقسم بصورة متتالية وتكون كتلة من خلايا الكالس التي تعطي الجزء النباتي ,وتليها مرحلة التمايز حيث يحدث فيها توسع لخلايا مرستيمية وتمايزها مكونة اجنة جسمية .

ان للاوكسينات والسايتوكاينينات تأثيراً كبيراً في تحفيز الكالس ونموه , ولكي يتم الحصول على الكالس خارج الجسم الحي لابد من اضافة منظمات النمو الى الاوساط الغذائية

ويجب ان تكون هناك نسبة متوازنة من منظمات النمو على الوسط , ويعتمد ذلك على التركيب الوراثي للنبات نفسه وكذلك على الجزء النباتي المزروع (Miller و Skoog ,١٩٥٧). لذا فان التوازن في نسب منظمات النمو في الوسط الغذائي يؤدي الى نسب مختلفة من استحداث الكالس وسرعة استحداثه تعتمد الى حد ما على نسبة منظمات النمو الداخلية في القطعة النباتية المزروعة وعليه فمن المحتمل استحداث الكالس دون الحاجة لاضافة منظمات النمو الى الوسط الغذائي لكن لفترة محدودة (محمد ، ١٩٨٢ ؛ الكناني , ١٩٨٧) .

يعد استحداث الكالس من العمليات الاساس في الزراعة النسيجية ويمكن استحداثه من الاجزاء النباتية المختلفة (السيقان ، الاوراق ، الاوراق الفلقية ، القمم النامية للسيقان ، المتوك ، حبوب اللقاح .... الخ) (Street ، ١٩٧٧). وذكر سلمان (١٩٨٨) ان الاجزاء النباتية لنباتات ذوات الفلقتين تكون مفضلة لنشوء الكالس وذلك لاستجابتها السريعة للمعاملات والعوامل المحفزة , اضافة الى كثرة الاجزاء والانواع النباتية التي تستجيب لتلك المعاملات .

اجريت العديد من الدراسات لبيان تأثير منظمات النمو في تكون الكالس, منها ما توصل اليه الشنطاوي واخرون (١٩٩٨) عند زراعتهم لأفرع قصيرة(Micro shoot) للنارنج *C.* (*aurantium* L.) بطول٥ سم لغرض التضاعف على وسط MS مجهز بـ 2,4-D بتراكيز ٠,٥ ، ١ ، ١,٥ و٢ ملغم / لتر، وجدوا ان 2,4 – D شجعت على تكون الكالس ولم تؤد الى تضاعف الأفرع . ووجد Bordon وآخرون (٢٠٠٠) ان زراعة السويقة الجنينية العليا لبادرات اللالنكي كليوباترا Cleopatra mandarin و Troyer Citrange بطول ١ سم على وسط MS مضاف اليه NAA مع BA بتركيز ١ ملغم/لتر لكل منهما , كانت نسبة تكون الكالس ٨٠٪ للـ Cleopatra mandarin, أما Troyer Citrange فكانت نسبة تكون الكالس ٩٤٪. وتمكن Ali و Merza (٢٠٠٦) من استحداث الكالس من أجزاء نباتية مختلفة ناتجة من الزراعة النسيجية لليمون المخرفش ,اذ استخدم الساق بطول ٠,٥–١ سم٢ وتم زراعتها على وسط MS مجهزبـ2,4–D بتراكيز ٠,٢ , ٠,٥ , ١ ,١,٥و٢ ملغم/ لتر, وكان أفضل وسط لتكون الكالس لكل الاجزاء النباتية هو تركيز ١,٥ ملغم / لتر, إذ كانت نسبة تكون الكالس في الساق ٩٢٪ والورقة

٨٣٪ والسويقة الجنينية العليا٨٠٪ ,أما بالنسبة للجذر فكان ٣٢٪. وبين Sharma وآخرون(٢٠٠٩) عند زراعتهم أطراف فروع وعقد لليمون المخرفش Rough lemon واللالنكي Cleopatra mandrin على وسط MS مجهز بتركيز٠,٥ ملغم / لتر .Kin و٢و٥ ملغم/لتر NAA و ٢و٥ ملغم / لتر 2,4-D بشكل متداخل ومستقل, وكان أفضل وسط لتكون الكالس لكلا النوعين هو المجهز بـ ٠,٥ ملغم/لتر.kin و٢ ملغم/لتر لكل من NAA و 2,4-D ,اذ بلغت نسبة تكون الكالس ٢٦٪ لأطراف الفروع و ٢٠٪ للعقد بالنسبة لليمون المخرفش,أماللالنكي فبلغت النسبة ٤٦٪ لاطراف الفروع و٣٣٪ للعقد .

ووجد Laskar وآخرون (٢٠٠٩) ان زراعة أوراق مفصولة من نباتات *Citrus indeca* Tanka ناتجة من الزراعة النسيجية على وسط MS مضاف اليه TDZ و NAA بتراكيز مختلفة ,وجد ان أفضل نسبة لتكون الكالس بلغت ٨٦٪ , والكالس الناتج ذو قوام هش عند تجهيز الأوساط الغذائية بتراكيز ٠,٠١ ملغم / لتر TDZ + ٠,١ ملغم /لترNAA . وتمكن Kumar وآخرون (٢٠١١) من استحثاث الكالس من السويقة الجنينية العليا لنباتات ناتجة من الزراعة النسيجية لليمون المخرفش *(Citrus jambhiri*)مزروع على وسط MS مضافاً اليه BA وNAA و2,4-D بتراكيز مختلفة وبتداخلات مختلفة ,كما وجدوا ان افضل نسبة لتكون الكالس بلغت ٩٢٪ , وذات قوام متماسك وذو لون كريمي مخضر عند استخدام وسط مجهزبـ١ملغم/ لتر BA+١٠ملغم/لتر NAA.

٢-٤ المجال المغناطيسي :

المجال المغناطيسي كمية اتجاهية ويمكن تمثيله بخطوط وهمية تسمى خطوط التدفق المغناطيسي (Line of magnetic flux) وان عدد الخطوط المغناطيسية العمودية على وحدة المساحة تسمى شدة التدفق المغناطيسي (magnetic flux density) , ويرمز له بالحرف (B) ويسمى كل خط تدفق بالنظام العالمي بالويبر (Weber) لذلك فان وحدات B هي ويبر م$^{-2}$. أما في النظام العلمي والكهرومغناطيسي فتقاس وحدة التدفق بالماكسويل وتكون وحدة B

ماكسويل سم$^{-2}$ويطلق على هذه الوحدة بالكاوس (gauss) اذ ان كاوس واحد = ماكسويل سم $^{-2}$، ويبر م $^{-2}$ = ١٠^{4} كاوس = ا تسلا (الكتل وآخرون ، ١٩٨٦) .

وتعرف المنطقة المحيطة بمغناطيس دائم اوموصل يمر به تيار كهربائي بمنطقة المجال المغناطيسي والمقصود بكلمة مجال هو تأثير فيزيائي ياخذ قيماً مختلفة في الفراغ. ويمكن تمثيل المجال المغناطيسي بخطوط القوى المغناطيسية وان خط المجال المغناطيسي هو خط وهمي يمثل مسار حركة وحدة الأقطاب الشمالية الافتراضية حيث تبدو خارجة من القطب الشمالي وداخلة الى القطب الجنوبي خارج المغناطيس وداخلة من الجنوبي الى الشمالي (Sears و آخرون ، ١٩٨٢) .

وتصنف المواد حسب علاقتها بالمجال المغناطيسي الى ثلاثة أقسام هي :-

١- مواد لا تتأثر بالمجال المغناطيسي كالخشب والزجاج ومختلف المواد العازلة .
٢- مواد تنجذب الى المجال المغناطيسي وتسمى بارا مغناطيسية كالحديد والمنغنيز والكوبلت .
٣- مواد تتنافر مع المجال المغناطيسي وتسمى (دايا مغناطيسية) كالماء والتي تتنافر تنافراً ضعيفاً مع المجال المغناطيسي وتتعامد مع خطوط فيضه (خضر والنعمة ١٩٧٧) .

٢-٤-١:تأثيرات المجال المغناطيسي في نمو النباتات النسيجية

تعد المغناطيسية هي الخاصية الفعالة على كوكب الارض الذي يعيش فيه الانسان والحيوان والنبات ، فكوكب الارض عبارة عن مغناطيس كبير يكسب كل المواد الموجودة عليه خواص مغناطيسية مختلفة حسب تركيبها الذري الداخلي ، حتى الكائنات الحية تترتب جزيئاتها

الداخلية على حسب هذا المجال المغناطيسي لكوكب الارض (خوجلي ، ١٩٩٨) . وتبلغ شدة المجال المغناطيسي الارضي حوالي ٠,٥ كاوس (Marshall و Skitek ,١٩٨٧).

ان للمجال المغناطيسي الارضي دوراً مهماً في نمو النبات وتطوره وان النباتات تستجيب لهذا المجال ، لذلك اجريت العديد من الدراسات لبيان التأثير والتي بينت ان خلايا بعض النباتات والحيوانات تستجيب للتغايرات التي تحصل في المجال المغناطيسي الارضي (Presman ، ١٩٦٨) .

اجريت دراسات حول استخدام المغنطة في الزراعة النسيجية ومدى تأثيرها في انبات البذور اذ بينت هذه الدراسات بأن المجال المغناطيسي القوي يغير خصائص الغشاء الخلوي والتمثيل الخلوي وتكاثر الخلية والعديد من الوظائف الخلوية الاخرى مثل كمية mRNA والتعبير الجيني وبناء البروتين والنشاط الانزيمي،كذلك أوضحت الدراسات بأن المجال المغناطيسي يؤثر في خصائص نمو النبات على مستوى العضو والنسيج في البذور والبادرات الحديثة وفي النبات ككل (Atak، و آخرون ، ٢٠٠٣) .وقد وجد Celestion وآخرون (٢٠٠٠) ان تعريض بذور البلوط المزروعة خارج الجسم الحي الى مجال كهرومغناطيسي بشدة ١٠ مايكروتسلا وبترددية ٥٠ هرتز لمدة ١٣ اسبوعاً أدت الى زيادة طول البادرات وعدد البراعم العرضية المتكونة والوزن الرطب والجاف للنباتات ، أما نسبة انبات البذور فلم تتأثر بالمعاملة ، وذكر Atak وآخرون (٢٠٠٣) ان زراعة أجزاء نباتية من بادرات فول الصويا بعمر٥ أيام على وسط حاوي على مغذيات غير عضوية مثل وسط Gamborg وفيتامينات وتعريضها الى مجال مغناطيسي باستخدام مغانط معدنية بشدة ٢,٩ – ٤,٦ ملي تسلا ولثلاث مدد تعريض ٢,٢ ، ٦,٦ ، ١٩,٨ ثانية وجدوا ان التعريض للمجال المغناطيسي ادى الى زيادة تكوين الأفرع قياساً بالأجزاء غير المعرضة و ان أقل مدة تعريض (٢,٢) ثانية كانت هي الأفضل في نسبة تكوين الافرع بلغت 86,96 % قياساً مع 61,9 % للأجزاء غير المعرضة للمجال المغناطيسي ، أما الوزن الرطب وتركيز الكلوروفيل للأفرع الناتجة فلوحظ ان معاملة ٢,٢ ثانية كانت متفوقة على

معاملة المقارنة في حين ان مدة تعريض ١٩,٨ ثانية سببت انخفاض في الوزن الطري قياساً بمعاملة المقارنة .

وذكر Lenuta وآخرون (٢٠٠٥) ان تعريض اطراف الافرع من نبات البطاطا المزروعة خارج الجسم الحي الى مجال مغناطيسي باستخدام مغانط معدنية لمدة تعريض ١٤ أو ٢٨ يوماً ، ان المعاملة أدت الى تحسين حالة النمو الخضري وزيادة كمية الكلوروفيل a ، b والكاروتينات . وقام Atak وآخرون (٢٠٠٧) بتعريض أطراف الافرع لبادارات فول الصويا الى شدة مجال مغناطيسي (٢,٩ – ٤,٦) ملي تسلا ولمدة (٠ ، ٢,٢ ، ١٩,٨) ثانية ، لاحظوا ان مدة التعريض ٢,٢ ثانية سببت رفع نسبة استجابة الاجزاء النباتية في تكوين الأفرع الى ٩٤,٣٪ قياساً بنسبة ٢٨,٥٪ للأجزاء غير المعرضة الى المجال المغناطيسي . في حين ذكر AliKamanoglu وآخرون (٢٠٠٧) ان زراعة العقد لنبات البولفنية الوبرية *Paulownia tomentosa* على وسط MS وتعريضها الى مجال مغناطيسي بشدة (٢,٩ – ٤,٦) ملي تسلا ولمدة (٠ ، ١٩,٨) ثانية حسن اخلاف الفروع والوزن الرطب وعدد الأوراق والكلوروفيل الكلي . في حين وجد Celik وآخرون (٢٠٠٨) عند تعريض نبات *P. tomentosa* الى شدة التعريض ٢,٩ – ٤,٦ ملي تسلا ولمدة٠ ، ٢,٢ ، ١٩,٨ ثانية ، ان مدة التعريض لمدة ١٩,٨ ثانية كان سلبياً في تأثيره على اخلاف الفروع مقارنة مع مدة تعريض ٢,٢ ثانية الذي كان ايجابياً .

ووجد عبيد (٢٠٠٩) عند تعريض النباتات في مرحلة التضاعف والتجذير الى مجال مغناطيسي شمالي أو جنوبي بشدة ٢٠٠ ملي تسلا, ان تعريض النباتات الى القطب الشمالي للمغناطيس المعدني زاد من عدد الجذور وأطوالها وكمية الكلوروفيل قياساً بالقطب الجنوبي للمغناطيس, ووجد الباحث نفسه عند استخدام القطب الشمالي لمغناطيس معدني باستخدام ٠ ، ١ ، ٢ ، ٣ قطعة مغناطيس معدنية ولثلاث مدد تعريض (١٠ ، ٢٠ ، ٢٨ يوماً)أظهرت النتائج ان استخدام مغناطيس واحد لمدة ١٠ ايام زاد من أطوال الجذور وكمية الكلوروفيل والوزن

الطري والوزن الجاف للأفرع في حين ان استخدام ٢ مغناطيس لمدة ١٠ ايام زاد عدد الجذور الى ٥,٤ جذر / فرع مجذر قياساً بـ ٣,٤ جذر لمعاملة المقارنة .

٢-٥ مركبات الأيض الثانوي : Secondary Metabolite Compounds

تنتج الخلايا النباتية نوعين من نواتج الأيض هي نواتج الايض الأولي التي تشترك مباشرة في نموالنبات وأيضه كالكاربوهيدرات واللبيدات والبروتينات من خلال عملية التمثيل الضوئي والتنفس . ونواتج الايض الثانوي التي هي نواتج وسطية للأيض الأولي مثل القلويدات وغيرها (Ramawat,٢٠٠٤) .تتجمع مركبات الأيض الثانوي في خلايا وأنسجة نباتية خاصة في مراحل تطور محددة من زراعة الخلايا والانسجة النباتية مقارنة بمركبات الايض الاولي التي تنتج بالنبات الكامل أو في عضو معين (Lila ، ٢٠٠٥) . ويقدر الباحثون وجود ١٠٠,٠٠٠ نوع من مركبات الأيض الثانوي ذات أهمية علاجية حيث انها تدخل في الصناعات الدوائية والعقاقير الطبية (Vanisree وآخرون ، ٢٠٠٤) . وقد أشارت منظمة الصحة الدوائية الى ان ٨٠٪ من سكان العالم يعتمدون على الأدوية من مصادر نباتية في العلاج الطبي (Hartman ، ٢٠٠٤).

تعتبر مركبات الايض الثانوي مهمة اقتصادياً حيث تستخدم علاجاً وعطوراً وصبغات وإضافات غذائية وتستخدم كمبيدات (Khan وآخرون ، ٢٠٠٩) .

قسم Jessus (٢٠٠٣) مركبات الايض الثانوي الى ثلاث مجاميع أساسية وهي المركبات القلويدية والفينولية والتربينات .

٢-٥-١ القلويدات ALKaloids

تعد القلويدات من المركبات الكيميائية الثانوية المتواجدة في النبات إذ تدخل في عالم الدواء والعلاج ، كون معظمها ذا تأثير فسيولوجي على الكائنات الحية حتى وان وجدت في النباتات بكميات ضئيلة ، توجد القلويدات أما حرة أو على شكل أملاح لبعض الأحماض النباتية مثل حامض الستريك (Citric acid) أوحامض الترتريك (Tartaric acid) وهي مركبات عضوية تحتوي جزيئاتها على ذرة واحدة أو أكثر من ذرات النتروجين ، وتقسم الى مجاميع عدة اعتماداً على التركيب الكيميائي للنواة الاساسية من جزيء القلويد ، ويختلف تأثيرها الفسيولوجي باختلاف طبيعتها وكمياتها (Harborne ، ١٩٨٤) .

تتصف القلويدات بأنها مركبات بلورية عديمة اللون والرائحة وحساسة لدرجات الحرارة العالية ، سامة ، مرة المذاق ، اضافة الى خواصها الصيدلانية (Facchini وآخرون ، ٢٠٠٤) ، يوجد حوالي ٥٠٠٠ مركب قلويدي من كل الأنواع في ١٥٪ من نباتات الارض وفي أكثر من ١٠٠ عائلة نباتية أهمها , Rubiaceae , Papilionaceae , Papaveravceae Apocynaceae , Solanaceae , Rutaceae , Rununculaceae ، وأقل تواجد في النباتات الواطئة والفطريات . وتتواجد المركبات القلويدية في نباتات ثنائية الفلقة أكثر من تواجدها في نباتات احادية الفلقة (Ramawat، ٢٠٠٤) . وبين الحمداني وأيوب (١٩٩٠) ان القلويدات ذات فوائد عديدة للنبات حيث تعد مواد دفاعية لحماية النبات لان معظمها ذو مذاق مرلاذع , وتعد كذلك مواد خازنة للنتروجين أو يستفاد منها عند الحاجة . وتبين ان القلويدات عبارة عن مجاميع علاجية تدخل في الصناعات الدوائية ذات تأثير فسلجي على الانسان فيما لو تناولت جرعات ضئيلة ,الا انها تتحول الى تأثيرات سمية قاتلة فيما لو اخذت بجرعات كبيرة (السعيد وآخرون ، ٢٠٠٣) .

تصنف القلويدات اعتماداً على تركيبها الكيميائي الى مجاميع هي :-

١- Phenylethylamine : Hordenine, pseudpephdrine , Ephedrine .

٢- Pyrrolidines , Piperidines and Pyridines : مثل Coniceine , Coniine .

٣- Tropane alkabids : مثل Hyocyamine , Scspolamine .

٤- Quinolizidene and Pyrrolizidine: مثل Lupanine و Sparteine .

٥- Quinoline: مثل Arcine , Quinine , Quinidine .

٦- Indole alkaloids وتشمل هذه ثلاث مجاميع :-

أ- مجموعة الـ Corynanthe :- مثل Quinamine , Ellipticine .

ب- مجموعة الـ Aspidospema :- مثل Minovicine , Tabersonine .

جـ- مجموعة الـ Iboga :- مثل Vinblastine , Conoflorine .

٧- Purine alkaloids :- مثل Libertine , Caffine .

٨- Tropolone alkaloids :- مثل Colchicines .

٩- Isoprenoid alkaloids :- مثل Solanine , Solasodine .

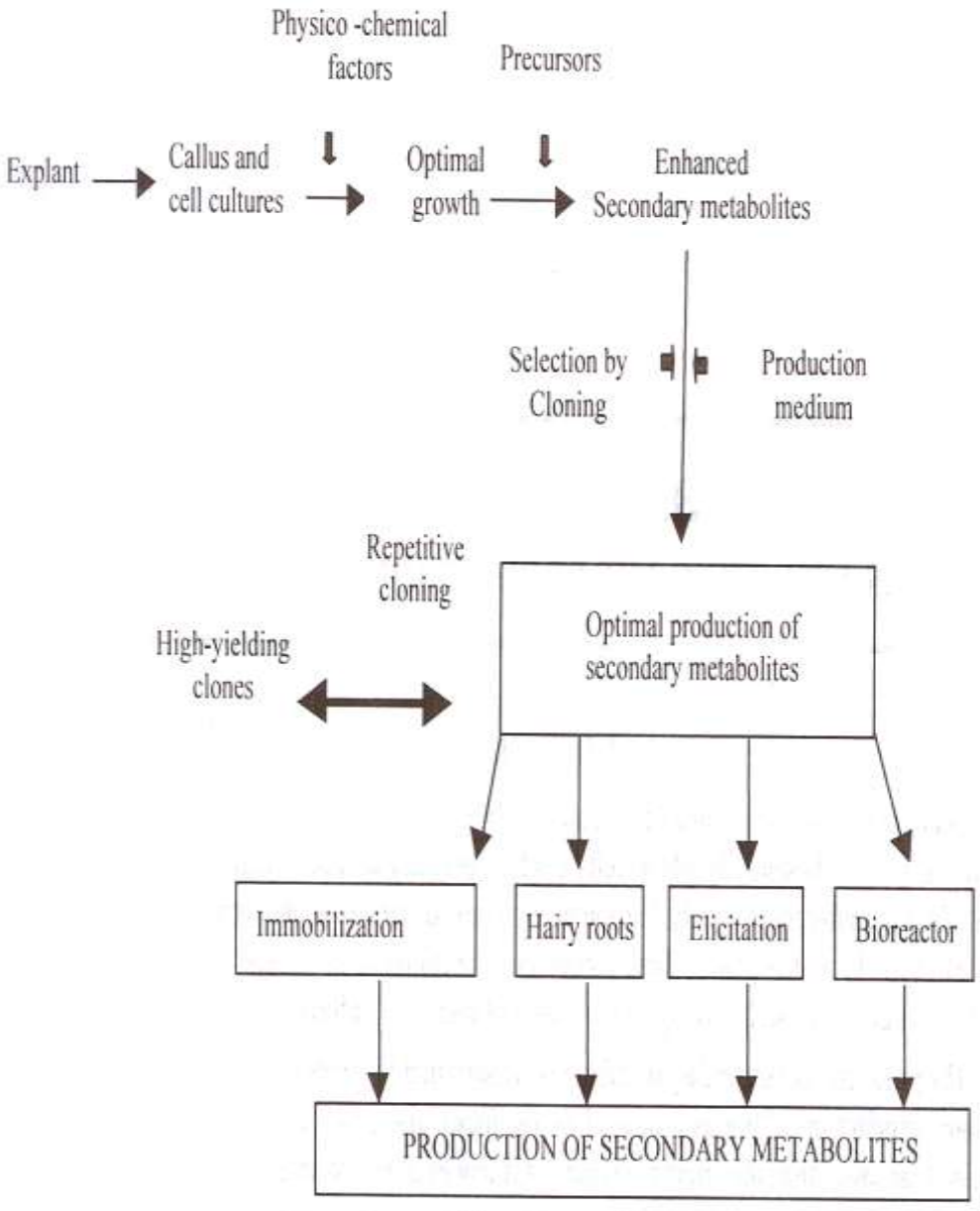
١٠- Diterpenoid alkaloids :- مثل acnitine (Ramawat ، ٢٠٠٤)

اجريت دراسات عديدة لاستخلاص القلويدات من الحمضيات اذ فصل Stewart وآخرون (١٩٦٤) قلويد Synephrine لأول مرة من أوراق اللالنكي . اما Pellati وآخرون (٢٠٠٤) فتمكنوا من عزل قلويد Synephrine , Octapamine , Tyramine من النارنج (*C. aurantium* L. Var . amara) . ووجد Teng وآخرون (٢٠٠٥) قلويد acridone من خلايا جذعية لساق كريب فروت *Citrus maxima* . وتمكن Dragull وآخرون (٢٠٠٨) من عزل قلويد Synephrine من عصيراللالنكي اليوسفي.ان القلويدات الموجودة في الحمضيات لها دور مهم في علاج العديد من الأمراض مثل امراض الجهاز الهضمي, والأرق, وأوجاع الراس ,وامراض القلب والأوعية الدموية , والسرطان (Suryawanshi ، ٢٠١١). وتستعمل مانعاً للاكسدة، ولعلاج السمنة (Ding وآخرون ,٢٠٠٧).

٢-٥-٢ انتاج القلويدات خارج الجسم الحي :

أتاحت تقنية زراعة الانسجة فرصاً عديدة لانتاج مركبات الايض الثانوي وبشكل مستمر وعلى مدار السنة اعتماداً على زراعة الاجزاء النباتية خارج الجسم الحي (Park وآخرون ، ٢٠٠٨) . ان الاكثار الدقيق للنباتات الطبية بواسطة زراعة الانسجة تزود بكميات أفضل وأسرع من مادة المصدر ، اذ نتمكن من خلال تقنية زراعة الانسجة النباتية انتاج مركبات ايضية مختلفة من مركبات الايض الثانوية مثل القلويدات والفينولات والتربينات والفيتامينات ومختلف المواد ذات القيمة الطبية (Shengwei and Jinagsam، ٢٠٠٠) . وذلك لامكانية السيطرة على الظروف البيئية ومكونات الوسط الغذائي الذي يحتاجه الجزء النباتي المزروع (Collin ، ٢٠٠١) . ويتأثر انتاج مركبات الايض الثانوي في انسجة النباتات النامية خارج الجسم الحي بعدة عوامل موضحة في الشكل ١, ويمكن رفع معدلات النمو وانتاج مركبات الايض الثانوي الى اعلى مستوياتها, عن طريق تنظيم العوامل الفيزيائية والكيميائية عند الزراعة النسيجية وانتخاب خلايا عالية الانتاجية, بالاضافة الى استعمال وسط انتاج مناسب (Ramawat ، ٢٠٠٤) . تشير الدراسات السابقة الى امكانية زيادة كمية المركبات الفعالة ذات الاستخدامات الطبية التي تنتجها انسجة الكالس المستحثة من الاجزاء النباتية المفصولة والمزروعة خارج الجسم الحي . فقد قام Parsaeimehr وآخرون (٢٠١٠) باستخلاص قلويد Psudoephedrine , ephedrine من كالس نبات *Ephedr procera* المستحث من الساق باستعمال وسط MS مجهز بتركيز ١ ملغم / لتر .Kin + ٢ ملغم / لتر NAA . فيما تمكن حمد وآخرون (٢٠١٠) من استخلاص قلويد المورفين والكودائين من كالس نبات الخشخاش *Papaver somniferum* المستحث من القمة النامية لبادرات الخشخاش المزروع على وسط MS مضاف اليه تركيز ٢ ملغم / لتر 2,4 – D + ٠,٥ ملغم / لتر .Kin + ٩٠ غم / لتر سكروز و ٣٠ غم / لتر تايروسين . اما الحجيمي (٢٠١٠) فقد تمكن من استخلاص المركبين القلويديين الفنكرستين والفنبلاستين من كالس نبات عين البزون *Catharanthus roseus* L. المستحث من الأفرع الناتجة من الزراعة النسيجية باستخدام وسط MS مضاف اليه ٠,٥ NAA + ١ ملغم / لتر BA

. وتوصل Mousavi وآخرون (٢٠١١) الى امكانية استخلاص Psudoephedrine و ephedrine من كالس نبات *Ephedra strobiliceae* المستحث من جنين ناضج مزروع على وسط MS مضاف اليه ١ملغم/لتر NAA + ١ ملغم/ لتر .Kin وتمكن EL – Lamey , Hegazi (٢٠١١) من استخلاص ephedrine من كالس نبات *Ephedra alata* Decne المستحث من الساق باستعمال وسط MS مضاف اليه ١ ملغم / لتر لكل من 2,4 – D و.Kin ، وأشار Kaur وآخرون (٢٠١١) الى امكانية استخلاص Tylophorine من كالس نبات *Tylophora indica* المستحث من الاوراق باستخدام وسط MS مجهز بتركيز ١,٥ ملغم / لتر NAA + ١ ملغم / لتر .Kin .



الشكل(١) طرائق مختلفة تستعمل لتحقيق انتاج مثالي لمركبات الايض الثانوية (Ramawat,2004)

الفصل الثالث:المواد وطرائق العمل

٣-١ : مصدر البذور وتعقيمها :

نفذت الدراسة في مختبرات زراعة الانسجة النباتية التابعة لقسم البستنة وهندسة الحدائق كلية الزراعة / جامعة ديالى .

جلبت ثمار اللالنكي من احدى بساتين قضاء الطارمية من أشجار اللالنكي كليمنتاين المطعمة على أصل النارنج وجمعت في شهر تشرين الاول / ٢٠١٠ واختيرت الثمار متساوية الحجم وخالية من الاصابات المرضية وغسلت بالماء لازالة الاتربة والمواد العالقة وحفظت في الثلاجة لحين استخدامها .

استخرجت البذور من الثمار وتم غسلها عدة مرات بماء الحنفية الجاري للتخلص من بقايا الاكياس العصيرية العالقة بها واستبعدت البذور الضامرة والضعيفة التي تطفو على سطح الماء ثم نقلت البذور الى منضدة انسياب الهواء الطبقي للمباشرة بعملية التعقيم السطحي الذي تم بغمر البذور في محلول هايبوكلورات الصوديوم المجهز بمحلول القاصر التجاري (فاس) الحاوي ٦٪(NaOCl) وتم تخفيف القاصر الى ٥٪ بالماء المقطر واستخدم الصابون السائل بتركيز ٠,١٪ كمادة ناشرة ووضعت البذور في المحلول المعقم ولمدة ٢٥ دقيقة ثم غسلت البذور اربع مرات بماء مقطر معقم لمدة ٥ دقائق في كل مرة للتخلص من آثار مادة التعقيم ، ثم ازيل

الغلاف الخارجي للبذور بتقشيرها للتخلص من القشرة الخارجية والداخلية للبذور لتسريع انبات البذور (قصاب باشي ، ٢٠٠٦).

٣-٢: تحضير الوسط الغذائي :

استعملت أملاح الوسط الغذائي MS المحور (Murashige و Skoog ، ١٩٦٢) (الجدول ١) وتم تعديل رقم الدالة الهيدروجينية pH (٥,٧ – ٥,٨) ثم وزع الوسط الغذائي

في قناني زجاجية سعة ١٢٥ مل وبواقع ٢٠ مل لكل قنينة ، بعدها غطيت القناني الزجاجية بورق الألمنيوم ثم عقمت على درجة حرارة ١٢١م° ، وضغط ١,٠٤ كغم / سم٢ وذلك باستخدام جهاز المؤصدة Autoclave ولمدة ٢٠ دقيقة .اجريت بعض الاضافات الى مكونات الوسط الغذائي في بعض التجارب وحسب متطلبات الدراسة شملت منظمات النمو وكما سيرد لاحقاً (الجدول ١) .كما تم إستبدال الحديد Fe- EDTA بالحديد المخلبي Fe- EDDHA (عبيد ,٢٠٠٩)

٣-٣ :تعقيم الادوات :

عقمت جميع الادوات من ملاقط ومشارط واطباق بتري والماء المقطر وأوراق الترشيح باستخدام جهاز المؤصدة في درجة حرارة ١٢١م° وضغط ١,٠٤ كغم / سم٢ لمدة ٣٠ دقيقة فضلاً عن استخدام الكحول الاثيلي بتركيز ٩٥٪ في تعقيم منضدة انسياب الهواء الطبقي و ٧٠٪ لتعقيم الأيدي أثناء العمل (سلمان ، ١٩٨٨) .

الجدول (١) مكونات الوسط الغذائي MS المحوراذ استبدل الحديد بالحديد المخلبي

ت	اسم المادة	الرمز الكيميائي	الكمية

			(ملغم.لتر$^{-1}$)
أ	العناصر الغذائية الكبرى		
1	نترات الأمونيوم	NH_4NO_3	1650
2	نترات البوتاسيوم	KNO_3	1900
3	كلوريد الكالسيوم المائي	$CaCl_2 . 2H_2O$	440
4	كبريتات المغنيسيوم المائية	$MgSO_4 . 7H_2O$	370
5	فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين	KH_2PO_4	170
ب	العناصر الغذائية الصغرى		
1	حامض البوريك	H_3BO_3	6.2
2	كبريتت المنغنيز المائية	$MnSO_4 . 4H_2O$	22.3
3	كبربيتات الخارصين المائية	$ZnSO_4 . 7H_2O$	8.6
4	مولبيدات الصوديوم المائية	$Na_2MOO_4 . 2H_2O$	0.25
5	ايوديد البوتاسيوم	KI	0.83
6	كبريتات النحاس المائية	$CuSO_4 . 5H_2O$	0.025
7	كلوريد الكوبلت المائي	$COCl_2 . 6H_2O$	0.025
8	الحديد المخلبي	Fe-EDDHA	27.9
ج	الفيتامينات والأحماض الأمينية		
1	ثايمين حامض الهيدروكلوريك (B1) Thiamine – HCl		0.1
2	بايريدوكسين حامض الهيدروكلوريك Pyridoxine – HCl(B6)		0.5

3	حامض النيكوتينك Nicotinic (B3) acid		0.5
4	مايوانوسيتول Myo – Inositol		100
5	الكلايسين Glycine		2
6	سكروز Sucrose		30000
7	اكار Agar,Agar		6000
8	الرقم الهيدروجيني pH		5.8 – 5.7

٣-٤: التجارب والمعاملات

٣-٤-١: تأثير البنزيل ادنين في إنبات البذور ونمو البادرات

اجريت هذه التجربة لدراسة تأثير BA في انبات البذور ونمو بادرات اللالنكي اذ اضيف BA الى الوسط الغذائي قبل التعقيم بالتراكيز ٠ ، ٠.٥ ، ١ ، ٢ ، ٣ ملغم / لتر وبواقع ١٠ مكررات لكل معاملة وزرعت بذرة واحدة في كل مكرر، اذ زرعت البذور على الوسط الغذائي MS الصلب ومن ثم حفظت في غرفة النمو على درجة حرارة ٢٣ – ٢٥م° وشدة اضاءة ٣٠٠٠ لوكس لمدة ١٦ ساعة ضوء و٨ ساعات ظلام / يوم (محمد وعمر ، ١٩٩٠).وأخذت القراءات بعد مرور ٨ أسابيع من الزراعة لتحديد مدى استجابة البذور للنمو والتي تمثلت بنسبة الانبات , وطول الجذير (ملم) ,وطول الرويشة (ملم) .

٣-٤-٢: تأثير تراكيز البنزيل أدنين في نمو أطراف الفروع وتضاعفها

اجريت التجربة لمعرفة تأثير BA في نمو وتضاعف أطراف الفروع اذ تم قطع أطراف البادرات النامية بطول ٠,٥ ملم وزراعتها على وسط MS مجهز بالتراكيز ٠,٥ ، ١ ، ١,٥ ، ٢

ملغم/ لتر وبواقع ١٠ مكررات لكل معاملة لبيان مدى تأثير تضاعف الأفرع.وأخذت القراءات بعد مرور ٢و٣ أسابيع من الزراعة.

٣-٤-٣: تأثير الكاينتين في انبات البذور ونمو البادرات

اجريت تجربتان الاولى لبيان تأثير .Kin في انبات بذور اللالنكي ونمو بادراته بعد مرور ٤ و ٨ اسابيع من الزراعة اذ اضيفت .Kin الى الوسط الغذائي قبل التعقيم بالتراكيز ٠ ، ١ ، ٢ ، ٣ ، ٤ ملغم / لتر. أما التجربة الثانية اجريت لبيان تأثير .Kin في انبات بذور ونمو بادرات الليمون الحامض المحلي بالتراكيز ٠ ، ٢ ، ٤ ، ٨ ملغم / لتر , وبواقع ١٠ مكررات لكل معاملة وبواقع بذرة واحدة في كل مكرر, واخذت القراءات بعد مرور ٤و٨ اسابيع من الزراعة لتحديد نسبة الانبات ، طول الجذير (ملم) ، طول الرويشة (ملم) ، عدد الأوراق الحقيقية المتفتحة وعدد الأفرع .

٣-٤-٤ : تأثير المجال المغناطيسي في انبات البذور ونمو بادرات اللالنكي والليمون الحامض المحلي

اجريت هذه التجربة لبيان تأثير التعريض للمجال المغناطيسي في نمو بادرات اللالنكي والليمون الحامض من خلال استخدام مغانط معدنية بيضوية الشكل بشدة ٢٠٠٠ كاوس / قطعة مغناطيس الشكل (٢) .

اذ اجريت تجربتان التجربة الاولى زرعت البذور على وسط غذائي MS خالي من الهرمون ثم عرضت البذور للقطب الشمالي والجنوبي للمجال المغناطيسي باستخدام مغناطيس واحد لكل مكرر ولمدة تعريض مختلفة هي (٠ ، ٢ ، ٦ ، ١١ ، ١٤و١٨ يوماً) لتجربة اللالنكي. أما الثانية فكانت لليمون الحامض المحلي فقد استخدمت المغانط نفسها وعرضت البذور لمدة ٠ ،

٣ ، ٧ ، ١٣ و١٨ يوماً. وثبتت القطع المغناطيسية على السطح الخارجي للقناني الزجاجية بواسطة الشريط اللاصق الشفاف وعلى بعد ٣سم عن البذرة . اخذت القراءات بعد مرور ٤ أسابيع من الزراعة لتحديد نسبة الاستجابة وطول الرويشة (ملم) وطول الجذير (ملم) والوزن الطري للبادرات و عدد الأوراق المتفتحة .

٣-٥: نشوء الكالس

٣-٥-١ :تأثير اضافة TDZ في انبات البذور ونشوء الكالس

اجريت التجربة لدراسة تأثير منظم النمو TDZ في وسط الزراعة بالتراكيز ٠ ، ٠.٥ ، ١ ، ٢ و ٣ ملغم / لتر وأثرهما في نمو البادرات ونشوء الكالس واضيف الى الوسط قبل تعقيمه وبواقع ١٠ مكررات لكل معاملة وبواقع بذرة واحدة في كل مكرر, لمعرفة تأثير استخدام TDZ في طول الرويشة (ملم) وطول الجذير (ملم) ونسبة تكون الكالس وحجم الكالس ولون الكالس وقوامه . وسجلت القراءات بعد مرور ٤ أسابيع من الزراعة .

٣-٥-٢: تأثير اضافة NAA مع 2,4 – D في نشوء الكالس ونموه

تمت دراسة تأثيرأضافة نوعين من الاوكسينات في هذه المرحلة هما NAA و 2,4– D في قدرتهما على تحفيز نشوء الكالس ونموه واستخدمت التراكيز ٠,٥ ، ١ ، ٢ ملغم / لتر من 2,4 – D و ١ ، ٢ ، ٣ ملغم / لتر من NAA بتجربة واحدة وبمعاملات مستقلة دون تداخل وبواقع ١٠ مكررات لكل معاملة وبذرة واحدة لكل مكرر, واخذت القراءات بعد مرور ٤ اسابيع من الزراعة لبيان تأثيرهما في طول الرويشة (ملم) وطول الجذير (ملم) وعدد الأوراق المتفتحة ونسبة تكون الكالس وحجم الكالس ولونه وقوامه.

٣-٥-٣: تأثير تداخل TDZ و 2,4 – D في نشوء الكالس

اجريت هذه التجربة بناءً على نتائج التجارب السابقة (تجربة NAA وD – 2,4).
تم اختبار تداخل TDZ و D – 2,4 في نمو الكالس ونشوئه اذ اضيفت TDZ بالتراكيز (٠,٥ ، ١) ملغم / لترمتداخلا مع D – 2,4 بالتراكيز (٠.٥ ، ١ ، ٢) ملغم / لتر لبيان تأثيرهما في نمو الكالس وحجمه والوزن الطري للكالس المتكون بعد مرور ٤ أسابيع من الزراعة .

٣-٦: تأثيرالمجال المغناطيسي في انتاج الهرمونات النباتية والقلويدات

اجريت التجربة لبيان تأثير كثافة الفيض للمجال المغناطيسي في كمية بعض الهرمونات والقلويدات المنتج من كالس اللالنكي المزروع على وسط MS مجهزة بتركيز ٢ملغم/لتر D – 2,4 (التركيز الأمثل لتكون الكالس ونموه). عرض الكالس الى المجال المغناطيسي للقطب الشمالي والجنوبي من خلال استخدام المغانط المعدنية المستخدمة في التجارب السابقة وبشدة ٢٠٠٠ كاوس/ قطعة مغناطيس لمدة ١٠ أيام وشملت المعاملات مقارنة (بدون تعريض) ، ١مغناطيس ، ٢ مغناطيس ، ٣ مغناطيس وقد ثبتت القطع المغناطيسية على السطح الخارجي للقناني الزجاجية بوساطة الشريط اللاصق الشفاف على بعد ٣سم عن البذرة, الشكل(٣). اخذت عينة متجانسة ممثلة للمكررات جميعاً لكل معاملة لتقديرالهرمونات والقلويدات باستخدام جهاز(HPLC) High Performance liquid

. Chromatography



الشكل (٢) بادرات لالنكي كليمنتاين معرضة الى مجال مغناطيسي



الشكل(٣) كالس اللالنكي كليمنتاين معرض الى كثافة فيض مغناطيسي

٣-٦-١:طريقة الاستخلاص

قدرت المواد الفعالة والهرمونات النباتية في عينة من الكالس الطري لنبات اللالنكي اذ وزن ١٠ غم من العينة الرطب وتم سحقها بمدقة (هاون) واضيف لها ٦٠ مل من مزيج الاستخلاص الذي يتكون من ميثانول : أمونيا : ومحلول كلوروفورم بنسبة ١٢ : ٥ :٣ v/v/vثم نبذ هذا المزيج بجهاز الطرد المركزي على ٦٠٠٠ دورة خلال ١٥ دقيقة ثم عومل المزيج بـ ٢٥ مل من Deionized water وطرح الكلوروفورم وتبخر ماء الميثانول حتى الجفاف عن طريق جهاز التبخير على درجة حرارة ٣٠م° وتم تعديل pH ٢ – ٢,٥ وحقنت بجهاز HPLC .

٣-٦-٢:طريقة التقدير الكمي والنوعي للهرمونات النباتية

حقن كل من المحلول القياسي والعينة في جهاز HPLC نوع LC10A Shimadza لتحديد زمن الاحتجاز Retention time وارتفاع حزمة العينة Area لكل من المحلول القياسي والعينة حيث حقن المستخلص في عمود (Column) من نوع (50 X 2.1 mm l.D) وطور متحرك (Mobile Phase) يتكون منacetonitrile يذوب acetic acid methanol ١٪ في (pH =3.0) tryethylamin 400 mL+١mM tetea butylamonum phosphate جريان الجهاز ١مل/دقيقة وقيست القراءات على طول موجي ٢٨٠nm وبدرجة حرارة ٣٠م° . وحسب تركيز كل عينة من خلال المعادلة التالية

مساحة حزمة النموذج

تركيز النموذج= _____× تركيز المحلول القياسي × عدد مرات التخفيف

مساحة حزمة القياس

(Hadi ، ١٩٩٩)

٣-٦-٣:التقدير الكمي والنوعي للقلويدات:

حقن كل من المحلول القياسي والعينة في جهاز HPLC نوع LC – 10A shimadza لتحديد زمن الاحتجاز Retention time وارتفاع حزمة العينة Area لكل من المحلول القياسي والعينة حيث حقن المستخلص في عمود (Column) من نوع (4.6 mm x 50 mm) وطور متحرك (Mobile Phase) يتكون من acetonirile : 0.01 m sodium dodecyl sulphate acetonitrile وبنسبة 40 : 60 v/v وكانت سرعة جريان الجهاز ١,٢ مل/ دقيقة وقيست القراءات على طول موجي قدره ٢٥٤ nm وعلى درجة حرارة ٣٠° م . وحسب تركيز كل عينة باستخدام نفس المعادلة في التجربة السابقة.

٣-٧-: التحضيرات المجهرية المؤقتة للمقاطع التشريحية

٣-٧-١:مصدر العينات النباتية وعمل المقاطع

اجريت تحضيرات الشرائح المجهرية لمقاطع التشريحية للسيقان لنباتات ناتجة من الزراعة النسيجية باستخدام مكررات اعدت مسبقا لاجراء تجارب التشريح واجريت عملية التقطيع لاخذ النماذج التشريحية باليد الحرة free hand sectioning بواسطة شفرة الحلاقة العادية وبعدها تم اجراء عملية التصبيغ عليها ودرس

١- تأثير المجال المغناطيسي في تطورانسجة الساق الناتجة من مرحلة النمو للافرع المعرضة للقطب الشمالي والجنوبي للمجال المغناطيسي بشدة ٢٠٠ ملي تسلا باستخدام مغناطيس معدني لمدة تعريض ١٨ يوم ومقارنتها بالساق غير المعرضة .

٢- صفات الكالس.

٣-٧-٢ :التصبيغ:

استخدمت طريقة التصبيغ المزدوج باستخدام صبغتي السفرانين safranin والاخضر السريع fast green بتركيز ١٪ لكل منهما وتم تحضير محلول مخفف من كلا الصبغتين ووضع الانموذج لغرض التصوير على الشريحة الزجاجية بعد اكتمال التصبيغ ومن ثم وضع غطاء الشريحة ,واستخدمت كاميرا المجهر لغرض التصوير.

٣-٨ :التصميم التجريبي والتحليل الاحصائي:

استخدم التصميم العشوائي الكامل (CRD، Completely Randomized Design) واستعمل البرنامج الجاهز SAS (١٩٩٦) لتحليل البيانات وتم المقارنة بين المتوسطات وفق اختبار دنكن متعدد الحدود,واستعمل اختبار T test لاستعمال تجارب استخلاص القلويدات والهرمونات وقورنت المتوسطات باستعمال اقل فرق معنوي لبيان الفروق الاحصائية بين المعاملات وعلى مستوى احتمال 0.05 و0.01 (الساهوكي ووهيب ،١٩٩٠).

الفصل الرابع :النتائج والمناقشة

٤-١ :تأثير السايتوكاينينات في نمو البادرات

٤-١-١ :تأثير البنزيل ادنين في انبات البذور ونمو بادرات اللالنكي كليمنتاين

١- نسبة الانبات (%)

يبين جدول ٢ عدم ظهور فروقاً معنوية بين المعاملات ، اذ بلغت اعلى نسبة انبات ٨٠٪ في معاملة ٠.٥ ملغم / لتر في حين بلغت اقل نسبة انبات ٣٠٪ في معاملة ٣ملغم / لتر واعطت معاملة المقارنة نسبة انبات ٦٠٪ .

٣- طول الرويشة (ملم)

يظهر جدول ٢ لصفة طول الرويشة وجود اختلافات معنوية بين المعاملات لهذه الصفة بعد مرور ٤ أسابيع من الزراعة. اذ بلغ أعلى متوسط لطول الرويشة ٨,٢ ملم في معاملة المقارنة التي تفوقت معنوياً على معاملتي على باقي المعاملات .

أما بعد مرور ٨ أسابيع من الزراعة فقد بينت النتائج ان معاملة المقارنة تفوقت أيضاً اذبلغ متوسط الطول ٨,٨ ملم وبفارق معنوي عن جميع المعاملات ماعدا معامة ٢ ملغم /لتر اذ أعطت ٦,٧ ملم في حين بلغ اقل متوسط لطول الرويشة في معاملة ١و ٣ ملغم/لتر اذ بلغت ١ ملم .

٤- طول الجذير(ملم)

توضح النتائج في صفة طول الجذير (الجدول ٢) ان المعاملات لم تؤثر معنوياً في هذه الصفة بعد مرور ٤ اسابيع من الزراعة وبلغ اعلى متوسط لطول الجذور ١٠,٨ ملم للبادرات المزروعة على وسط خالي من BA (المقارنة), في حين بلغ اقل متوسط لطول الجذور ٤,٥ ملم لمعاملة ١ ملغم / لتر .

اما بعد مرور ٨ أسابيع من الزراعة فقد بينت النتائج ان الاوساط الخالية من BA (المقارنة) أعطت أعلى معدل للجذور وبلغ ٢٢ملم وبفارق معنوي عن المعاملات جميعاً باستثناء معاملة ٢ ملغم / لتر التي أعطت ١٤,٢ ملم, في حين بلغ أقل متوسط لطول الجذور ٤,٥ ملم لمعاملة ١ ملغم / لتر تليها معاملة ٠,٥ ملغم/لتر التي أعطت ٥ ملم وقد اختلف معنوياً عن جميع المعاملات الاخرى باستثناء معاملة ٣ ملغم/لتر والتي بلغ متوسط طولها ٦,٠ملم .

٤- عدد الاوراق المتفتحة

لم تظهر نتائج التحليل الاحصائي فروقا" معنوية بين المعاملات اذ بلغ أكبر عدد للأوراق المتفتحة ٠.٨٣ورقة /بادرة في معاملة ٢ ملغم / لتر أما عدد الاوراق في معاملة المقارنة بلغ ٠,٤٠ورقة/بادرة أما باقي المعاملات فلم يحصل فيها تفتح للأوراق فوق الأوراق الفلقية .

ان سبب تفوق معاملة المقارنة في زيادة طول الجذير والرويشة قد يعود الى ان الهرمونات الداخلية المصنعة من قبل النبات كانت بتركيز مثالي للنمو وان اضافة السايتوكاينين فانه يسبب تناقصاً في معدلات النمو بسبب ارتفاع مستويات الهرمون داخل النبات نتيجة امتصاص كميات أضافية من الوسط والى مستويات غير مثالية للنمو، الامر الذي يؤدي الى انخفاض معدلات النمو للاجزاء النباتية (Skoog و Miller ، ١٩٥٧) . اذ قام العديد من الباحثين بزراعة بذور على وسط MS خالٍ من الهرمون لغرض النمو ومنها ما قام به (Niedz , ٢٠٠٨) بزراعة بذور البرتقال منزوعة الغلاف على وسط خالي من الهرمون لغرض النمو, وماوجده (Mendes وآخرون ,٢٠٠٨) عند زراعتهم بذور من Citrumelo(*C.paradisi*× *Poncirus trifoliata*) منزوعة الغلاف وغير منزوعة الغلاف على وسط MS خالي من الهرمون ان بذورمنزوعة الغلاف هو الا فضل للنمو .

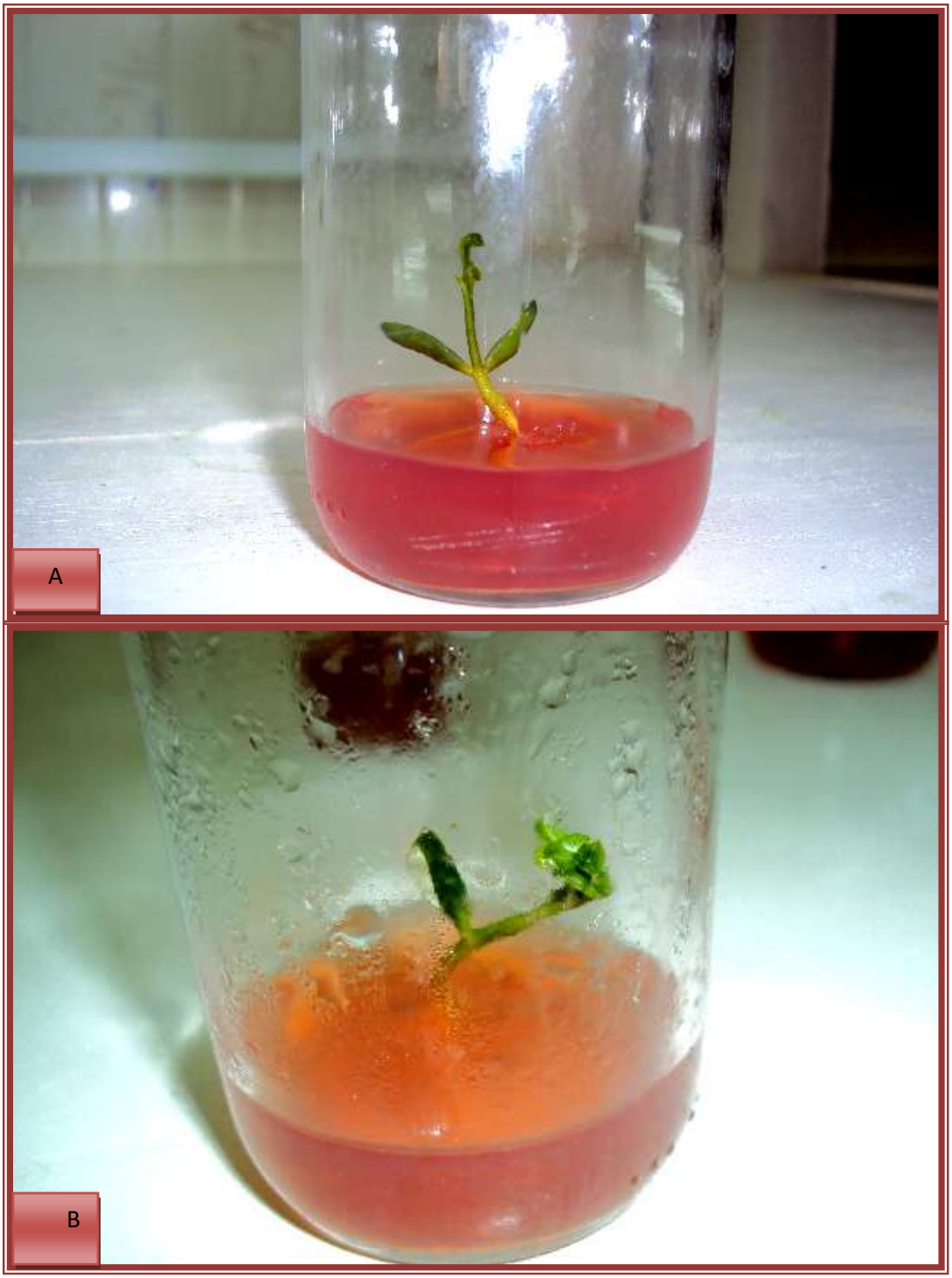
في حين أختلفت النتيجة مع ماتوصل اليه (قصاب باشي ,٢٠٠٦) عند زراعة بذور من الليمون الحامض المحلي اذ وجد ان اضافة السيتوكاينينات زادت من معدل النمو والتضاعف.

جدول (٢) تأثير تراكيز BA في نسبة انبات البذور ونمو البادرات اللالنكي كليمنتاين بعد مرور ٤و٨ اسابيع من زراعة البذور على وسط MS .

	بعد مرور ٤أسابيع من الزراعة	بعد مرور ٨ أسابيع من الزراعة

الصفات / BA ملغم /لتر	نسبة الانبات	طول الرويشة (ملم)	طول الجذير (ملم)	طول الرويشة (ملم)	طول الجذير (ملم)	عدد الاوراق المتفتحة
المقارنة	٦٠ أ	٨,٢ أ	١٠,٨ أ	٨,٨ أ	٢٢,٠ أ	٠,٤٠ أ
٠,٥	٨٠ أ	٣,٠ ب ج	٥,٠ أ	٣,٠ ب ج	٥,٠ ج	٠,٠٠ أ
١	٤٠ أ	١,٠ج	٤,٥ أ	١,٠ ج	٤,٥ ج	٠,٠٠ أ
٢	٦٠ أ	٣,٣ أ ب	٩,٧ أ	٦,٧ أب	١٤,٢ أ ب	٠,٨٣ أ
٣	٣٠ أ	١,٠ ج	٦,٠ أ	١,٠ ج	٦,٠ ب ج	٠,٠٠ أ

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال ٥٪ (ضمن العمود الواحد) .



الشكل(٤) بادرات اللالنكي كليمنتاين بعد مرور ٨ اسابيع من الزراعة عند A, المقارنة(بدون إضافة),B . أضافة تركيز ٢ ملغم/لتر BA .

٤-١-٢ :تأثيرالبنزيل أدنين في تضاعف اطراف الفروع

بينت نتائج هذه التجربة أن زراعة أطراف البادرات بطول ٠,٥ سم وزراعتها على وسط MS مضاف له مستويات من BA (٠,٥ ,١, ١,٥ ,٢) ملغم/لتر وجد أن الاجزاء النباتية بقيت على قيد الحياة لمدة اسبوع وفي الاسبوع الثاني ظهرت عليها أعراض إصفرار للأوراق التي تفتحت بشكل جيد وفي الاسبوع الثالث بعد الزراعة هلكت جميع الاجزاء النباتية.

٤-١-٣: تأثير الكاينتين في انبات البذور ونمو لبادرات اللالنكي كليمنتاين

١-نسبة الانبات(%)

يوضح جدول ٣ ان هناك فروقا" معنوية في نسبة الانبات بين المعاملات اذ تفوقت البذور المزروعة على وسط الخالي من .Kin أو مضاف له ١ ملغم / لتر .Kin في نسبة الانبات والتي بلغت ٨٠٪ و ٦٠٪ على التوالي . في حين كانت أقل نسبة انبات في معاملة ٢ ملغم / لتر وبلغت ٢٠٪ . وبلغت نسبة الانبات ٣٠٪ و٤٠٪ لكل من معاملتي ٣ و ٤ ملغم / لتر على التوالي والتي لم تختلف بينها معنويا".

٢- طول الرويشة

يبين جدول ٣ في صفة طول الرويشة ان معاملة المقارنة الخالية من منظم النمو الكاينتين , هي الأفضل بعد مرور ٤ أسابيع من الزراعة , اذ بلغ متوسط طول الرويشة ١٨ ملم

وبفارق معنوي عن المعاملات جميعاً , في حين بلغ أقل متوسط لطول الرويشة ٦,٥ ملم في معاملة ٢ ملغم / لتر .

أما بعد مرور ٨ أسابيع من الزراعة فقد بينت النتائج انه لا توجد هناك فروق معنوية بين المعاملات اذ بلغ أعلى متوسط لطول ١٩ ملم في المعاملة الخالية من الهرمون , تلتها معاملة ٢ ملغم/لتر وبلغت ١٥ ملم , في حين بلغ أقل متوسط لطول الرويشة ١١,٧٥ملم في معاملة ١ ملغم/لتر .

٣- طول الجذير

يبين جدول ٣ في صفة طول الجذير ان هناك فروقاً معنوية بين المعاملات اذ بلغ أعلى متوسط لطول الجذير ٢٧ ملم في معاملة المقارنة , تلتها معاملة ١ ملغم/ لتر اذ بلغ متوسط طول جذورها ١٣,٥ ملم , وبفارق معنوي عن معاملتي٢و٣ ملغم /لتر اذ بلغت ٤ و٩ ملم على التوالي . أما بعد مرور ٨ أسابيع أكدت النتائج تفوق الأوساط الخالية من Kin في زيادة طول الجذير اذ بلغ متوسطها ٣٠ ملم وبفارق معنوي عن باقي المعاملات الاخرى. وبلغ أقل متوسط لطول الجذير ٩ ملم في معاملة ٣ ملغم / لتر, في حين بلغ معدل طول الجذير ١٤ و ٩,٣ و ١٢ ملم في معاملات ١ و٣ و٤ ملغم / لتر على التوالي والتي لم تختلف فيما بينها معنويا" .

٤- عدد الأوراق المتفتحة

توضح النتائج (جدول ٣) بالنسبة لعدد الأوراق المتفتحة ان المعاملات لم تؤثر معنوياً في متوسطات هذه الصفة بعد مرور ٤ أسابيع من الزراعة , وبلغ أعلى عدد للأوراق المتفتحة في معاملة المقارنة , اذ كان متوسطها ٤,٦ ورقة / بادرة ,في حين بلغ أقل متوسط لعدد الأوراق ٢,٥ ورقة في معاملة ٢ ملغم / لتر . أما بعد مرور ٨ أسابيع من الزراعة فقد بينت النتائج انه لا توجد هناك فروق معنوية بين المعاملات, وبلغ أعلى متوسط للاوراق ٧,٢ ورقة / نبات في معاملة المقارنة , تلتها معاملة ٢ ملغم / لتر اذ بلغت ٧ ورقة /بادرة , في حين بلغ أقل متوسط لعدد الاوراق ٣,٨ في معاملة ١ ملغم / لتر .

٥- عدد الأفرع .

تبين النتائج (جدول ٣) ان اضافة الكاينتين الى الوسط الغذائي بتركيزي ٣و٤ ملغم/لتر يشجع تفتح البراعم الجانبية وتكوين الفروع بعد مرور ٨ أسابيع من الزراعة , اذ أعطتا ١,٥ و١,٧ فرع / بادرة على التوالي , في حين لم تنجح معاملات المقارنة و١و٢ ملغم/لتر في تحفيز تفتح البراعم الجانبية للفروع , ولم تظهر نتائج التحليل الاحصائي فروقا معنوية بين المعاملات .

يلاحظ من نتائج التجربة تفوق الأوساط الخالية من .Kin أو المضاف لها تركيز قليل منها (١ ملغم / لتر) وهذا قد يعود الى تأثير استجابة الجزء النباتي بالمستوى الداخلي من منظمات النمو وكذلك بكمية منظمات النمو المضافة الى الوسط الغذائي (محمد وعمر ، ١٩٩٠). وربما يعزى أيضا الى ان تركيز الهرمونات المصنعة داخل البذور بتركيز مثالي للانبات وان اضافة السايتوكاينين أدى الى رفع تركيزه داخل البذرة الى مستوً عالٍ أدى الى تثبيط معدل النمو مما أثر في نسبة الاستجابة .

أما بالنسبة لصفة طول الجذير فان معاملة المقارنة الخالية من الهرمون هي التي تفوقت على باقي المعاملات, وهذا قد يعزى الى دور السايتوكاينينات في تثبيط نمو الجذور عند اضافتها الى الوسط الغذائي لانه يحفز النمو الخضري .

جدول (٣) تأثير تراكيز الكاينتين في أنبات البذور ونمو بادرات اللالنكي كليمنتاين بعد مرور ٤و٨ أسابيع

من الزراعة على وسط MS الصلب

	بعد مرور ٤ أسابيع				بعد مرور ٨ أسابيع			
الصفات / المعاملات ملغم/لتر	**نسبة الانبات**	**طول الرويشة (ملم)**	**طول الجذير (ملم)**	**عدد الأوراق المتفتحة**	**طول الرويشة (ملم)**	**طول الجذير (ملم)**	**عدد الأوراق المتفتحة**	**عدد الأفرع (ملم)**
المقارنة	٨٠ أ	١٨,٠ أ	٢٧,٠ أ	٤,٦ أ	١٩ أ	٣٠,٠٠ أ	٧,٢٠ أ	أ١

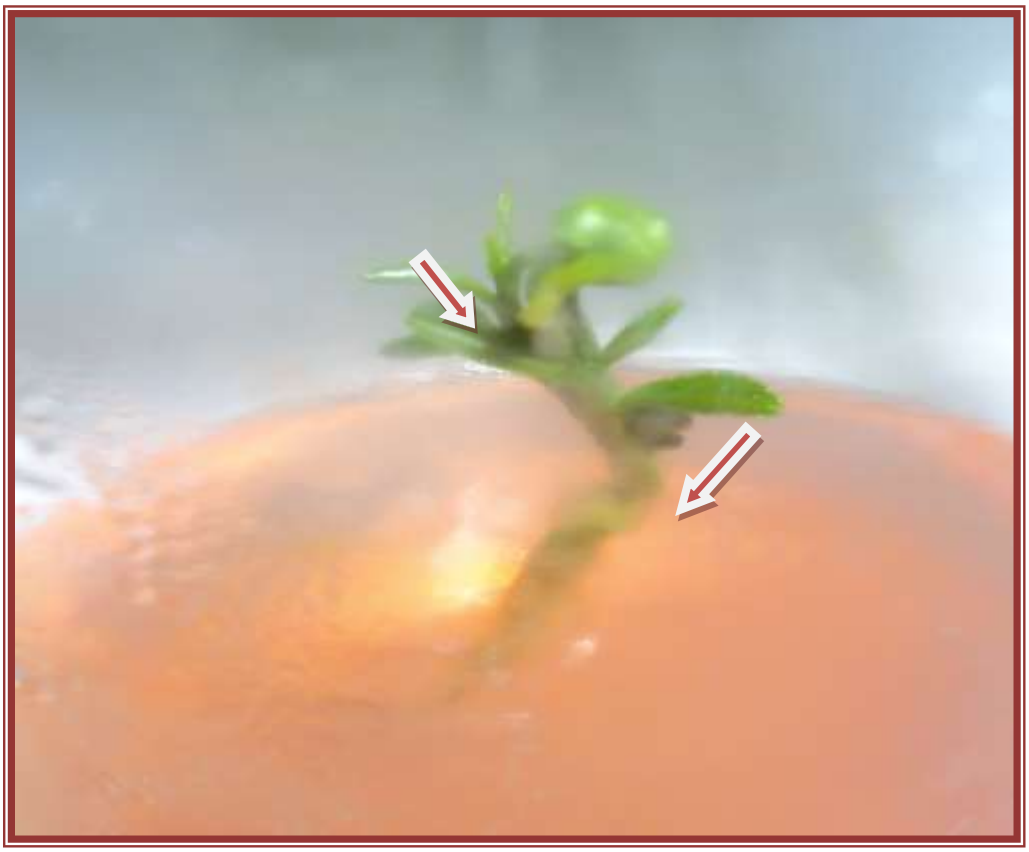
١	٦٠ أ	٨,٥ ب	١٣,٥ أ	٣ أ	١١,٧٥أ	١٤,٠٠ ب	٣,٨٠ أ	١ أ
٢	٢٠ ب	٦,٥ ب	٤,٠ ب	٢,٥ أ	١٥,٠٠ أ	٦,٠٠ ب	٧,٠٠ أ	١ أ
٣	٣٠ ب	١٠,٠ ب	٩,٠ ب	٢,٧ أ	١٤,٣٣ أ	٩,٣٣ ب	٦,٣٣ أ	١,٥ أ
٤	٤٠ ب	١٠,٥ ب	١١,٨أ ب	٣,٨ أ	١٤,٣٣ أ	١٢,٠٠ ب	٤,٦٧ أ	١,٧ أ

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال ٥٪

(ضمن العمود الواحد) .



A



B

الشكل (٥) بادرة لالنكي نامية على وسط الغذائي MS بعد مرور ٨ اسابيع من الزراعة ,A . المقارنة (بدون اضافة),B . اضافة كاينتين بتركيز ٤ ملغم/لتر (الاسهم تمثل التفرعات).

٤-١-٤: تأثير الكاينتين في نمو بادرات الليمون الحامض المحلي

١- نسبة الانبات

تبين النتائج في الجدول ٤ ان اضافة الكاينتين أدت الى أنخفاض نسبة الانبات وبفارق معنوي عن بقية المعاملات , اذ بلغت اعلى نسبة إنبات ٨٠٪ في معاملة المقارنة , في حين بلغت أقل نسبة انبات في معاملة ٨ ملغم / لتر , اذ أعطت ١٠٪ أما معاملة ٢ و ٤ ملغم / لتر فقد أعطتا نسبة انبات ٢٠٪ لكل منهما .

٢- طول الرويشة :

توضح النتائج في صفة طول الرويشة (الجدول ٤) ان هناك فروقاً معنوية بين المعاملات ,اذ بلغ أعلى متوسط لطول الرويشة ٧ ملم في معاملة ٤ ملغم / لتر بعد مرور ٤ أسابيع من الزراعة وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة ومعاملة ٢ ملغم / لتر اذ أعطتا ٣,١و٣ ملم على التوالي. أما بعد مرور ٨ اسابيع من الزراعة فقد تفوقت معاملة ٤ ملغم/ لتر ايضا اذ أعطت أعلى متوسط لطول الرويشة وبلغ ١٦ ملم , وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة والذي بلغ متوسط طول الرويشة لها ٣,٦ ملم , في حين أعطت معاملة ٢ ملغم/ لتر طول رويشة بلغ ٩,٥ ملم , وان البادرات المزروعة على تركيز ٨ ملغم / لتر تغير لونها الى اللون البني ثم ماتت في نهاية التجربة .

٣- طول الجذير

تظهرالنتائج (جدول٤) في صفة طول الجذيرانه لا توجد فروقاً معنوية بين المعاملات بعد مرور٤أسابيع من الزراعة , اذ بلغ أعلى متوسط لطول الجذير ٦,٥ ملم في معاملة المقارنة ومعاملة ٤ ملغم/لتر, في حين بلغ أقل متوسط للطول ١ ملم في معاملة ٨ ملغم/لتر . وبعد

مرور ٨ أسابيع من الزراعة بينت النتائج عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات اذ بلغ أعلى معدل لطول الجذير ٨,٧ ملم في معاملة المقارنة تلتها معاملة ٤ ملغم/لتر اذ اعطت ٧,٥ ملم في حين بلغ أقل معدل لطول الجذير ٤,٥ ملم في معاملة ٢ ملغم / لتر .

٤- عدد الأوراق المتفتحة

توضح النتائج (جدول ٤) ان هناك فروقاً معنوية بين المعاملات بعد مرور **٤** أسابيع من الزراعة , اذ بلغ أكبرعدد للاوراق المتفتحة ٣ ورقة /بادرة في معاملة ٤ ملغم/ لتر وبفارق معنوي عن جميع المعاملات, ولم تتفتح الأوراق الحقيقية للبادرات المزروعة على وسط خالي من الكاينتين (المقارنة) في حين أعطت معاملتي ٢و٨ ملغم/لتر ١و٢ ورقة /بادرة على التوالي .

أمابعد مرور ٨ أسابيع من الزراعة فقد تفوقت أيضاً معاملة ٤ ملغم/لتر في عدد الأوراق المتفتحة اذ بلغ معدل عدد الأوراق **٤,٥** ورقة /بادرة وبفارق معنوي عن جميع المعاملات تلتها معاملة **٢** ملغم / لتر اذ أعطت **٢** ورقة /بادرة أما أقل معدل لعدد الأوراق فبلغ **٠,٢** ورقة /بادرة في وسط خالٍ من الكاينتين (المقارنة).

جدول (٤) تأثير تراكيز الكاينتين في انبات البذور ونمو بادرات الليمون الحامض المحلي بعد مرور ٤و٨ أسابيع من زراعة البذور على وسط MS

	بعد مرور ٤اسابيع من الزراعة				بعد مرور ٨ أسابيع من الزراعة		
الصفات / Kin. (ملغم/لتر)	نسبة الانبات	طول الرويشة (ملم)	طول الجذير (ملم)	عدد الأوراق المتفتحة	طول الرويشة (ملم)	طول الجذير (ملم)	عدد الأوراق المتفتحة
مقارنة (صفر)	٨٠ أ	٣,١ ب	٦,٥ أ	٠,٠ د	٣,٦ ب	٨,٧ أ	٠,٢ ب
٢	٢٠ ب	٣,٠ ب	٤,٥ أ	١,٠ جـ	٩,٥ أب	٤,٥ أ	٢,٠ ب

٤	٢٠ب	٧,٠ أ	٦,٥ أ	٣,٠ أ	١٦ أ	٧,٥ أ	٤,٥ أ
٨	١٠ ب	٥,٠ أ	١,٠ ب	٢,٠ ب	* –	* –	

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال ٥%

* – موت النباتات

قد يعود سبب تفوق معاملة المقارنة في نسبة الاستجابة والنمو الى ان الهرمونات الداخلية المصنعة من قبل البذور كانت بتركيز مثالي للانبات وان اضافة السايتوكاينين أدى الى رفع تركيزه داخل البذرة الى مستوى عالٍ أدى الى تثبيط معدل النمو مما أثر في نسبة الانبات كما ذكرسابقا" في التجارب .

أما عن دور الكاينتين في زيادة طول الرويشة وعدد الأوراق المتفتحة للبادرات النامية قد يعود الى ان الكاينتين هو احد السايتوكاينينات التي تلعب دوراً مهماً في تحفيز انقسام الخلايا ودورها في نقل المغذيات الى الانسجة الفعالة (Devlin ، ١٩٧٣) مما أدى ذلك الى زيادة عدد الافرع وبالتالي زيادة عدد الاوراق المتفتحة. وهذه النتيجة مشابهة لما توصل اليه (قصاب باشي ، ٢٠٠٦) عند زراعة بذور الليمون الحامض المحلي عند استخدام .Kin بتركيز ٣ ملغم / لتر .

٤-٢:تأثير المجال المغناطيسي في نمو بادرات اللالنكي .

١- نسبة الانبات(%)

تظهرالنتائج في جدول ٥ ان تعريض بادرات اللالنكي كليمنتاين الى مجال مغناطيسي لم يسبب زيادة معنوية في نسبة الانبات اذ بلغ أعلى متوسط لنسبة الانبات ٨٠٪ في معاملة

المقارنة في حين بلغ أقل متوسط لها في معاملتي ١١ و ١٤ يوم مدة تعريض اذ أعطتا نسبة ٤٠٪ لكل منهما .

٢- طول الرويشة (ملم)

توضح النتائج (جدول ٥) لصفة طول الرويشة ان هناك فروقا" معنوية بين المعاملات اذ أعطت معاملة ١٨ يوم مدة تعريض اعلى متوسط لطول الرويشة بلغ ٢٢,٤ ملم, بفارق معنوي على معاملة ١١ يوم تعريض والتي أعطت أقل متوسط لطول الرويشة وبلغت ١٦ملم, في حين بلغ متوسط طول الرويشة للبادرات غير المعرضة للمجال المغناطيسي ١٩ ملم. أعطت المعاملات ٢و٦و١٤ يوم مدة تعريض متوسط طول الرويشة بلغ ١٧,٨ و١٦ و١٨ ملم .

٣- طول الجذير (ملم)

تظهر نتائج التحليل الاحصائي (جدول ٥) عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات بالنسبة لصفة طول الجذير اذ بلغ أعلى متوسط لطول الجذير ٣٥,٥ ملم في معاملة ٦ يوم مدة تعريض في حين أعطت المعاملة ١١ يوم مدة تعريض أقل متوسط لطول الجذير وبلغت ١٨,٨ ملم وأعطت معاملة المقارنة (بدون تعريض) ٣٠,٥ ملم .

٤- عدد الأوراق المتفتحة

يلاحظ من الجدول (٥) عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات بالنسبة لصفة عدد الاوراق المتفتحة اذ بلغ أكبر معدل للأوراق ٥,٤ ورقة /بادرة في معاملة ١٨ يوم مدة تعريض بيد ان أقل متوسط للأوراق ٣,٨ ورقة /بادرة كان لكل من معاملات المقارنة و٢ و٦ يوم مدة تعريض.

٥- الوزن الطري للبادرات (ملغم)

تبين النتائج (جدول ٥) انه لا توجد فروق معنوية بين المعاملات لصفة الوزن الرطب اذ بلغ اعلى متوسط للوزن الرطب ٢٠٠ ملغم لكل من معاملات المقارنة و ٢ يوم و ٦ يوم و ١٤

يوم و ١٨ يوم مدة تعريض بيد ان الوزن الرطب بلغ ١٠٠ ملغم في معاملة ١١ يوم مدة تعريض.

٦- التغايرات التشريحية للساق

تبين المقاطع العرضية لساق اللالنكي بعد مرور ٤ اسابيع من الزراعة ان التعريض للمجال المغناطيسي بشدة ٢٠٠٠ كاوس لمدة ١٨ يوم أدى الى زيادة الحزم الوعائية للساق من خلال تحفيز انقسام الخلايا لنسيج الخشب طوليا" وعرضيا" وكذلك الحال مع نسيج اللحاء مما يشير الى تسارع معدل انقسام الخلايا وزيادة النمو لهذه الانسجة نتيجة التعرض لظروف الاجهاد للمجال المغناطيسي والتي قد تكون ناتجة عن دور المجال المغناطيسي في تحفيز انتاج الكاينتين كما موضح في (الشكل ١١ ص٦٦) .

وقد اشارت بعض الدراسات الى ان التعريض للمجال المغناطيسي يحفز تطور انسجة النبات اذ وجد عبيد (٢٠٠٩) في دراسة تشريحية لأفرع خوخ محلي بيضاوي المعرض الى كثافة عالية من خطوط المجال المغناطيسي ان التعريض الى المجال المغناطيسي زاد من معدل انقسام الخلايا من خلال زيادة طبقات نسيج الخشب مع زيادة مدة

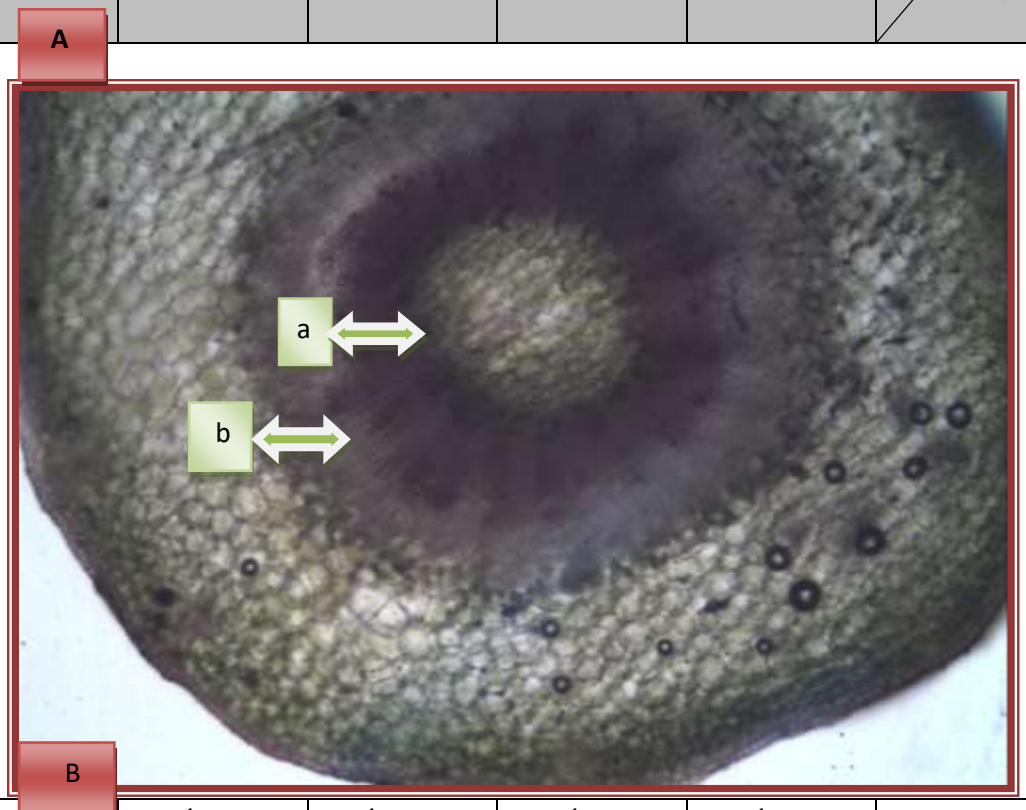
وشدة التعريض اضافة الى زيادة سمك طبقة القشرة بنسبة ٢٥٪ .



الشكل (٦)مقطع عرضي في انسجة ساق اللالنكي,A- المقارنة بدون تعريض,B- تعريض الى مجال مغناطيسي لمدة ١٨ يوم,(a-الحزم الوعائية للخشب,b- الحزم الوعائية للحاء).

جدول رقم (٥) تأثير المجال المغناطيسي في انبات البذور ونمو بادرات اللنكي كليمنتاين بعد مرور ٤ أسابيع من الزراعة على وسط MS

الصفات / المعاملات / مدة التعريض(يوم)	نسبة الانبات	طول الرويشة (ملم)	طول الجذير (ملم)	[illegible]راق	الوزن الرطب للبادرات (ملغم)
المقارنة (بدون تعريض)	٨٠ أ	١٩,٠ أ ب	٣٠,٥ أ	٣,٨ أ	٢٠٠ أ
٢	٦٠ أ	١٧,٨ أ ب	٢٩,٨ أ	٣,٨ أ	٢٠٠ أ



٦	٦٠ أ	١٦,٠ أ ب	٣٥,٥ أ	٣,٨ أ	٢٠٠ أ
١١	٤٠ أ	١٣,٨ ب	١٨,٨ أ	٤,٨ أ	١٠٠ أ
١٤	٤٠ أ	١٨,٠ أ ب	٢٦,٨ أ	٥,٠ أ	٢٠٠ أ
١٨	٧٠ أ	٢٢,٤ أ	٣٠,٤ أ	٥,٤ أ	٢٠٠ أ

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال ٥٪ ضمن العمود الواحد .

٤- ٣: تأثير المجال المغناطيسي في نمو بادرات الليمون الحامض المحلي

١- نسبة الانبات (%)

ان تعريض البادرات الى المجال المغناطيسي لم يؤثر معنوياً في نسبة الانبات (جدول ٦) اذ اعطت معاملة المقارنة أعلى نسبة انبات (٧٠٪) , في حين أقل نسبة انبات بلغت ٤٠٪ في معاملة ١٨ يوم .

٣- طول الرويشة

تظهرالنتائج (جدول ٦) بالنسبة لصفة طول الرويشة تفوق معاملة ٣ يوم على باقي المعاملات اذ أعطت أعلى متوسط لطول الرويشة وبلغ ١٢,٨ ملم والتي اختلفت معنوياً عن

معاملتي ١٣ ، ١٨ يوم اذ أعطتا (٤,٦ ، ١,٦) ملم على التوالي ، في حين أعطت البادرات الغير معرضة للمجال المغناطيسي (المقارنة) ٧,٣ ملم.

٢- طول الجذير

توضح نتائج التحليل الاحصائي في جدول (٦) ان هناك فروق معنوية بين المعاملات بالنسبة لصفة طول الجذير اذ بلغ أعلى متوسط لطول الجذير ١٣ ملم في معاملة ٣ يوم مدة تعريض وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة (بدون تعريض) و ١٣ يوم و١٨ يوم مدة تعريض اذ أعطوا متوسط لطول الجذير ٦ ، ٣,٥ ، ٣ ملم على التوالي .

٤- عدد الأوراق المتفتحة

تظهر النتائج انه لا توجد هناك فروقاً معنوية بين المعاملات بالنسبة لصفة عدد الأوراق المتفتحة , اذ أعطت معاملتا ٣ و ٧ يوم أعلى معدل لعدد الأوراق وبلغت ٢,٥ و ٢,٧ ورقة /بادرة على التوالي والتي لم تختلف معنوياً عن معاملة المقارنة التي بلغت ١,٦ ورقة / بادرة, بيد ان معاملتي ١٣ و ١٨ يوم لم تؤديا الى تفتح الأوراق الحقيقية.

٥- الوزن الطري

توضح النتائج (جدول ٦) تفوق معاملة ٧ يوم في زيادة الوزن الطري والذي بلغ ١٣٠ ملغم , وبفارق معنوي عن معاملتي ١٣ و ١٨ يوم اذ اعطتا ٨٠ و ٧٠ ملغم على التوالي , بيد ان الوزن الطري بلغ ١١٠ ملغم في معاملة المقارنة .

جدول (٦) تأثير مدة التعريض المجال المغناطيسي في انبات البذور ونمو بادرات الليمون الحامض المحلي بعد مرور ٤ أسابيع من الزراعة على وسط MS

الصفات / المعاملات مدة تعريض (يوم)	نسبة الانبات	طول الرويشة (ملم)	طول الجذير (ملم)	عدد الاوراق المتفتحة	الوزن الرطب للبادرات (ملغم)
المقارنة (بدون تعريض)	٧٠ أ	٧,٣ أب جـ	٦,٠ ب	١,٦ أ	١١٠ أب
٣	٦٠ أ	١٢,٨ أ	١٣,٠ أ	٢,٧ أ	١٠٠ أب
٧	٦٠ أ	٨,٨ أب	٨,٢ أب	٢,٥ أ	١٣٠ أ
١٣	٥٠ أ	٤,٨ ب جـ	٣,٥ ب	٠,٠ ب	٨٠ ب
١٨	٤٠ أ	١,٦ جـ	٣,٠ ب	٠,٠ ب	٧٠ ب

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال ٥٪ ضمن العمود الواحد.



الشكل (٧) بادرات لالنكي كليمنتاين بعد مرور ٤ أسابيع عند تعريضها الى مجال مغناطيسي ولمدد مختلفة A–المقارنة (بدون تعريض),B . مدة تعريض ٢يوم, C. مدة تعريض ٦ يوم, D. مدة تعريض ١١يوم ,E . مدة تعريض١٤ يوم,F . مدة تعريض ١٨ يوم.

A B C D E F

A



الشكل (٨) بادرات الليمون الحامض المحلي بعد مرور ٤ أسابيع عند تعريضها ا لى مجال المغناطيسي ولمدد مختلفة-
A,المقارنة بدون تعريض,B . مدة تعريض ٣يوم,C . مدة تعريض ٧يوم,D– مدة تعريض ١٣يوم,E . مدة تعريض ١٨ يوم.

تبين النتائج في جدولي ٥ و ٦ ان تعريض الأجزاء النباتية الى مجال مغناطيسي قد زاد من طول الرويشة وطول الجذير, وهذا يمكن ان يعزى الى الدور الذي يلعبه المجال المغناطيسي في خفض مقاومة الجدران الخلوية لاستطالة الخلايا خلال عملية النمو (MC-Qeen و Cosgrove ، ١٩٩٤) . من خلال تسهيل حركة الماء داخل الخلايا الملامسة للوسط الغذائي وتحسين نفاذية الأغشية الخلوية وزيادة التبادل الأيوني عبرها والناتج عن تغير الضغط الازموزي داخل الخلية وخارجها(Nigishi وآخرون ، ١٩٩٩؛ Reina و Fascual ، ٢٠٠١). فضلاً عن دور المجال المغناطيسي في زيادة امتصاص العناصر المعدنية وزيادة تركيزها في الأوراق (Estiken و Turan ، ٢٠٠٤) وزيادة كمية RNA والكلوروفيل داخل النبات (Atak وآخرون ، ٢٠٠٧) , وكذلك بينت المقاطع العرضية ان المجال المغناطيسي حفز الانقسام الخلوي للحزم الوعائية بالاتجاه الطولي والعرضي مما ساهم في زيادة امتصاص مكونات الوسط الغذائي مما أدى الى٢ زيادة معدل النمو.

وقد اتفقت العديد من الدراسات على ان تعريض الاجزاء المزروعة خارج الجسم الحي الى المجال المغناطيسي الذي كان فعالاً في تحسين حالة النمو الخضري, ومنها ما وجده Ruzic وآخرون (١٩٩٣) عندما عرضوا اجزاء نباتية من الكستناء الى شدة مجال مغناطيسي ٢٥ ملي تسلا ولمدة ساعة واحدة فحصلو على افضل تاثير للنمو , بيد ان Criveanu و Taralunga (٢٠٠٦) وجدا ان التعريض للمجال المغناطيسي بشدة ٠,٠٤ و ٠,٣ ملي تسلا لمدة ٩٦ ساعة أدى الى انخفاض معدل النمو الخضري لثلاثة أصناف من النعناع (*Mintha spicata* و *M. villosa* و *M. xpiperita*) عند اكثارهم خارج الجسم الحي. وقد توصل Atak وآخرون (٢٠٠٣) عندما عرضوا اجزاء من بادرات فول الصويا الى شدة مجال مغناطيسي (٢,٩ – ٤,٦ملي تسلا) ورفع مدة التعريض من ٢,٢ الى ١٩,٨ ثانية ، انه أدى الى انخفاض الوزن الرطب للأفرع الناتجة قياساً بمعاملة ٢,٤ ثانية أوالمقارنة.

٤-٤:تأثير الـTDZ و NAA و 2,4-D في نشوء الكالس ونموه

٤-٤-١ : تأثيرTDZ في نشوء الكالس

تظهرالنتائج في جدول (٧) ان أضافة TDZ الى الوسط الغذائي أدى الى تحفيز نشوء الكالس من الفلقات ولم يؤد الى انبات البذور فقد أعطت معاملة ١ ملغم/لتر اعلى نسبة لتكون الكالس بلغت ٧٠٪ تلتها معاملة ٢و٣ ملغم /لتر اذ أعطتا نسبة ٦٠٪ في حين ان المعاملة الخالية من الهرمون لم تؤدِ الى نشوء كالس اذ ان ٧٠٪ من البذور حصل فيها انبات وكونت بادرات .

أمابالنسبة لحجم الكالس المتكون فان معاملة ٢ ملغم / لتر كونت كالس بحجم متوسط أما باقي المعاملات التي نجحت في تحفيز نشوء الكالس فأدت الى تكون كالس قليل وان قوام الكالس نصف هش ذو لون أصفر مخضر.

ان تركيز القليل من TDZ يحفز نمو البراعم الابطية والجانبية , اما التراكيز العالية منه يثبط النمو ويحفز نشوء الكالس (Hutteman و Preece ، ١٩٩٣) . وقد اتفقت دراسات عدة على ان اضافة الثيادازرون الى الوسط الحاوي على الجزء النباتي يحفز في نشوء الكالس. ومنها ما وجده عبيد (٢٠٠٩) ان اضافة TDZ الى الوسط الغذائي أدى الى تكون كالس متوسط الحجم لعقد خوخ صنف بيضاوي عند تركيز ١ ملغم/لتر وكالس ذي حجم كبير عند استخدام تركيز ٠,٦ ملغم / لتر .

جدول (٧) تأثير الثيادازورون TDZ في انبات البذور ونشوء كالس اللالنكي كلينمتاين بعد مرور ٤ أسابيع من الزراعة على وسط MS

الصفات / المعاملات (ملغم/لتر)	نسبة الانبات	نسبة تكون الكالس	* حجم الكالس

المقارنة (صفر)	**٧٠ أ**	**صفر**	–
٠,٥	**صفر**	٤٠ أ	+
١	**صفر**	٧٠ أ	+
٢	**صفر**	٦٠ أ	++
٣	**صفر**	٦٠ أ	+

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال ٥٪.

* (– عدم تكون كالس ، + قليل " بحجم حبة العدس " ، ++ متوسط " بحجم حبة الحمص ")

٤ – ٤–٢: تأثير NAA و 2,4-D في انبات البذور ونمو البادرات ونشوء كالس اللالنكي كليمنتاين

١ – نسبة الاستجابة للانبات

تظهر نتائج التحليل الاحصائي في الجدول ٨ وجود فروق معنوية في نسبة الانبات بين المعاملات , اذ اعطت معاملة ١ ملغم / لتر NAA أعلى نسبة للانبات وبلغت ٨٠٪, وبفارق معنوي عن معاملتي ١ ملغم / لتر 2,4-D التي أعطت نسبة انبات ٢٠٪ ومعاملة ٢ ملغم / لتر 2,4-D التي أدت الى نشوء الكالس من البذور دون انباتها, في حين أعطت معاملات ٢ و ٣ ملغم / لتر NAA و ٠,٥ ملغم / لتر 2,4-D نسبة انبات للبذور ٦٠٪ ،٥٠٪ و٤٠ % على التوالي .

٢- طول الرويشة

توضح النتائج في جدول ٨ ان أعلى متوسط لطول الرويشة بلغ ٤,٨ ملم في معاملة ١ ملغم/لتر NAA , تلتها معاملة ٢ ملغم/لتر NAA اذ أعطت متوسط طول رويشة ٣,٨ ملم في حين بلغ أقل متوسط لطول الرويشة ٢ ملم في معاملة ١ ملغم/لتر 2,4-D, ولم تظهر نتائج التحليل الاحصائي فروقا"معنوية بين المعاملات.

٣- طول الجذير

تبين نتائج جدول ٨ ان أعلى متوسط لطول الجذير بلغ ٧,١ ملم في معاملة ١ ملغم/لتر NAA في حين بلغ أقل متوسط لطول الجذير ٤,٥ ملم في معاملة ١ملغم/لتر 2,4-D وأعطت معاملات ٢و٣ ملغم/لتر NAA و٠,٥ و١ملغم/لتر 2,4-D متوسط طول جذير ٤,٨(, ٤,٨, ٥, ٤,٥ ملم على التوالي) ولم تظهر نتائج التحليل الاحصائي فروقا معنوية بين المعاملات .

٤- عدد الأوراق المتفتحة

تبين نتائج التحليل الاحصائي(جدول ٨) ان هناك فروق معنوية بين المعاملات اذ بلغ أكبر متوسط للأوراق المتفتحة ١,٥ ورقة /بادرة في معاملة ٢ ملغم / لتر NAA, وتلتها معاملة ٣ ملغم / لتر NAA اذ بلغ متوسط عدد الاوراق المتفتحة ٠,٨ ورقة في حين فشلت باقي المعاملات في تحفيز تفتح الأوراق .

٥- النسبة المئوية لتكون الكالس

تبين النتائج (جدول ٨) تفوق معاملة ٢ ملغم / لتر 2,4-D على باقي المعاملات اذ أعطت أعلى نسبة لتكون الكالس وبلغت ٨٠٪ , تلتها معاملة ١ ملغم / لتر 2,4-D اذ بلغت نسبة تكون الكالس ٦٠٪ وبفارق معنوي عن معاملة ٣ ملغم / لتر NAA , التي أعطت نسبة ١٠٪ في حين فشلت معاملات ١ و ٢ ملغم / لتر NAA و ٠,٥ ملغم / لتر 2,4-D في تحفيز نشوء الكالس.

٦- حجم الكالس

توضح النتائج الموضحة في جدول (٨) ان معاملة ٢ ملغم / لتر 2,4-D كونت كالس بحجم جيدجداً قياساً بمعاملات ١ ملغم / لتر 2,4-D و ٣ ملغم / لتر NAA واللتان أعطتا كالس متوسط وصغير الحجم على التوالي .

٧- قوام الكالس ولونه:

يتميز كالس اللالنكي انه نصف هش ولونه أصفر فاتح ولم تلاحظ فروقات تشريحية بين المعاملات المختلفة والتي نجحت في تحفيزتكون الكالس (الشكل ٩) .



الشكل(٩) مقطع تشريحي للكالس مزروع على وسط مجهز بالـ٢ ملغم /لترD-2,4 بعد مرور ٤ أسابيع من الزراعة.

جدول (٨) تأثير NAA و 2,4-D في انبات البذور ونمو البادرات ونشوء كالس أللالنكي كليمنتاين بعد مرور ٤ أسابيع من الزراعة على وسط MS .

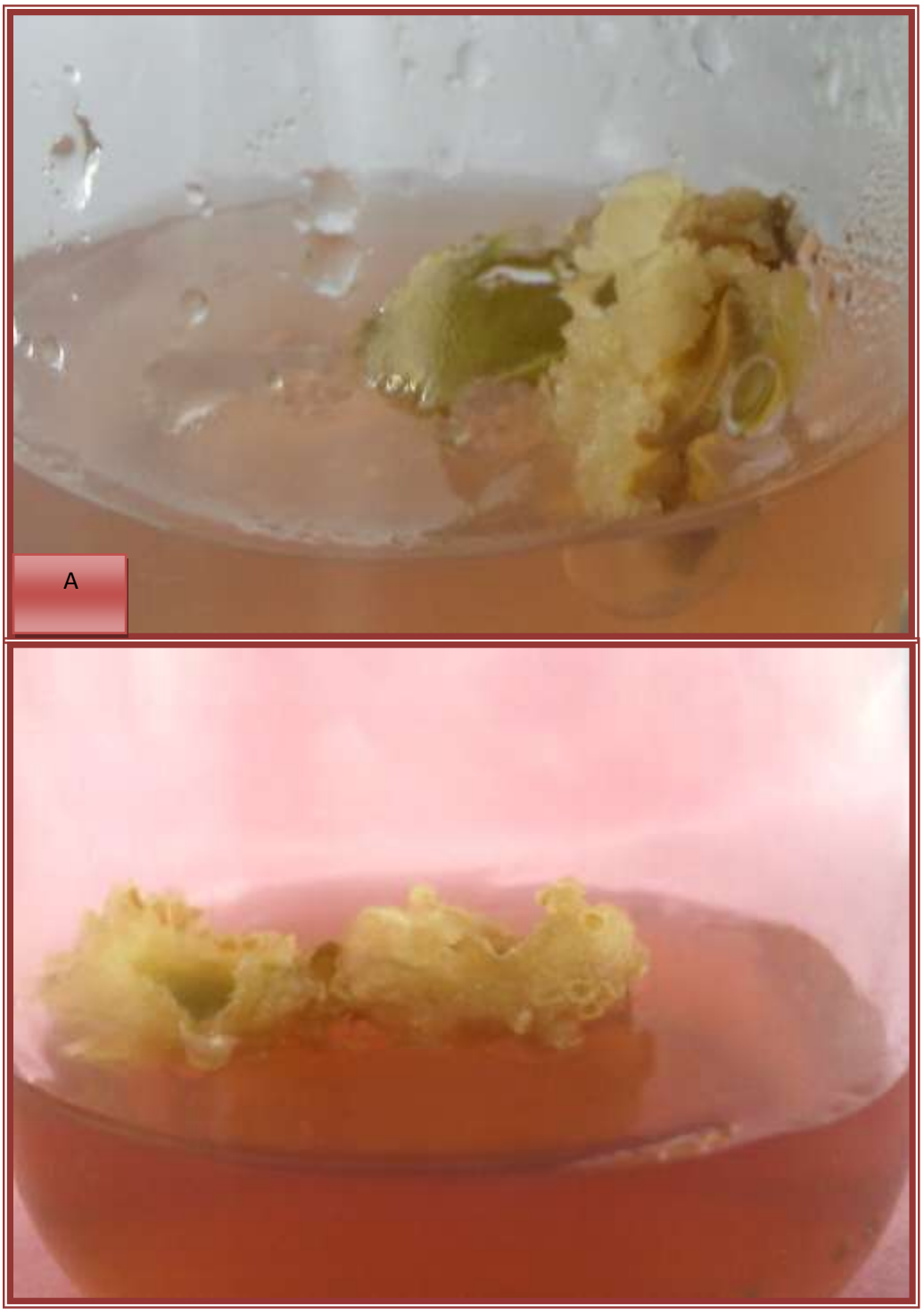
الصفات / المعاملات (ملغم/لتر)	نسبة الانبات	طول الرويشة (ملم)	طول الجذير (ملم)	عدد الأوراق المتفتحة	نسبة تكون كالس	* حجم كالس
١ NAA	٨٠ أ	٤,٨ أ	٧,١ أ	صفر ب	صفر جـ	–
٢ NAA	٦٠ أب	٣,٨ أ	٤,٨ أ	١,٥ أ	صفر جـ	–
٣ NAA	٥٠ أب	٣,٤ أ	٤,٨ أ	٠,٨ أ	١٠ ب	+
٠,٥ 2,4-D	٤٠ أب	٣,٥ أ	٥,٠ أ	صفر ب	صفر جـ	–
١ 2,4-D	٢٠ ب	٢,٠ أ	٤,٥ أ	صفر ب	٦٠ أ	++

٢ 2,4-D	صفر جـ	صفر ب	صفر ب	صفر ب	٨٠ أ	++++

* حجم الكالس (– عدم تكون كالس ، + قليل ، ++ متوسط ، +++ جيد ,++++ جيد جدا").

أوضحت النتائج ان هناك اختلافاً في نسبة الانبات بين المعاملات ,وهذا قد يعود الى اختلاف المستوى الداخلي من منظمات النمو داخل الجزء النباتي وكذلك بكمية منظمات النمو المضافة الى الوسط الغذائي.إذ ان التركيز العالي من الاوكسين يمكن ان يكون مثبطاً للنمو اذا زاد عن الحد الأقصى لحاجة القطعة النباتية (العاني ، ١٩٩٠).فضلا عن دور الاوكسين في تحفيز الخلايا على الانقسام غير المنتظم والذي يؤدي الى تكون كتل من الخلايا غير المتخصصة (محمد وعمر ، ١٩٩٠) اذ ان معظم الاوكسينات ولا سيما 2,4-D ضروري لحث الكالس (Thomas وCutervedi ، ٢٠٠٨) .

توصل العديد من الباحثين الى ان أضافة 2,4-D الى الوسط الغذائي يحث على تحفيز نشوء الكالس في الحمضيات منها ما وجده الشنطاوي وآخرون (١٩٩٨) عند زراعتهم لأفرع من النارنج على وسط MS مجهز بتراكيز من 2,4-D .



الشكل (١٠) كالس اللالنكي ناشىء من البذرة عند أضافة A- ٢ ملغم/لتر TDZ الى الوسط الغذائي MS, B -٢ملغم/لتر 2,4-D الى وسط الغذائي MS , بعد مرور ٤ أسابيع من الزراعة.

٤-٤-٣: تأثير تداخل TDZ و 2,4-D في انتاج الكالس بعد مرور ٤ أسابع من زراعة البذور على وسط MS

١- نسبة تكون الكالس

تبين النتائج في الجدول ٩ ان أعلى نسبة لتكون الكالس بلغت ٤٠٪ في معاملة ٢ ملغم / لتر 2,4-D + ٠,٥ ملغم / لتر TDZ , تلتها معاملة ١ ملغم / لتر 2,4-D + ٠,٥ ملغم / لتر TDZ اذ بلغت ٣٠٪ في حين بلغت أقل نسبة ١٠٪ في معاملات ٠,٥ ملغم / لتر 2,4-D + ٠,٥ ملغم / لتر TDZ و ٠,٥ ملغم / لتر 2,4-D + ١ ملغم / لتر TDZ و١ملغم/لتر 2,4-D + ١ ملغم/لتر TDZ ولم تظهر نتائج التحليل الاحصائي فروقاً معنوية بين المعاملات .

٢- الوزن الطري للكالس

توضح النتائج (جدول ٩) ان هناك فروقاً معنوية بين المعاملات في صفة الوزن الطري للكالس اذ بلغت أعلى وزن طري ٣٥٠ ملغم في معاملة ٢ ملغم / لتر 2,4-D + ٠,٥ ملغم / لتر TDZ تلتها معاملة ٢ ملغم / لتر 2,4-D + ١ ملغم / لتر TDZ , التي أعطت وزناً رطباً بلغ ٢٧٠ ملغم وبفارق معنوي عن معاملتي ٠,٥ ملغم / لتر 2,4-D + ٠,٥ ملغم / لتر TDZ و ١ملغم/لتر 2,4-D و١ملغم/لتر TDZ اذ أعطتا ٩٠ ملغم و ٤٠ ملغم على التوالي .

٣- حجم الكالس

تظهر النتائج (جدول ٩) ان حجم الكالس كان جيداً في معاملة ٢ ملغم / لتر 2,4-D + ٠,٥ ملغم / لتر TDZ ومتوسط الحجم في معاملة ٢ ملغم / لتر 2,4-D + ١ ملغم / لتر TDZ في حين كان حجم الكالس قليل في جميع المعاملات الاخرى .

TDZ من منظمات النمو التي تستخدم في الزراعة النسيجية لتحفيز نشوء الكالس ، وقد أشارت العديد من الدراسات التي ذكرت سابقاً الى دوره في تحفيز نشوء الكالس ، ومنها ماوجده

(عبيد ، ٢٠٠٩) كما ذكر سابقاً. وأشارت أيضاً العديد من الدراسات الى دور 2,4-D في تحفيز نشوء الكالس ومنها ما وجده (الشنطاوي وآخرون ١٩٩٨) و (Ali و Merza ، ٢٠٠٦) .

أما الدراسات التي أشارت الى دور التداخل TDZ مع 2,4-D في تحفيز نشوء الكالس ونموه فتعد قليلة وتشير نتائج الدراسة الى ان تداخلها لم يكن مثالياً في نشوء الكالس وتطوره قياساً باستخدامها منفرداً نتيجة عدم توافر الحالة الهرمونية المثالية لنشوء الكالس ونموه .

جدول (٩) تأثير تداخل TDZ و 2,4-D في انتاج الكالس من بذور اللالنكي كليمنتاين بعد من مرور ٤ أسابيع زراعة البذور على وسط MS .

الصفات / المعاملات (ملغم/لتر)		نسبة تكون الكالس	الوزن الطري (ملغم)	حجم الكالس
2,4-D	TDZ			
٠,٥	٠,٥	١٠ أ	٩٠ ب جـ	+
١	٠,٥	٣٠ أ	٢٥٠ أب	++
٢	٠,٥	٤٠ أ	٣٥٠ أ	+++
٠,٥	١	١٠ أ	١٧٠ أب جـ	+
١	١	١٠ أ	٤٠ جـ	+

٢	١	٣٠ أ	٢٧٠ أ	++

*+ قليل ، ++ متوسط ، +++ جيد

٤-٥: تأثير كثافة خطوط الفيض المغناطيسي في محتوى كالس اللالنكي من الكاينتين و وحامض أندول أستيك والجبرلين حامض الابسيسك

١- الكاينتين Kinetin

بينت النتائج الموضحة في الشكل١٢ الجدول ١٠ ان تعريض الكالس الى المجال المغناطيسي أدى الى زيادة كمية .Kin اذ بلغت أعلى كمية (١٢٥,٤٥ مايكرو غرام / غرام وزن طري من كالس) عند تعريض الكالس الى ٣ مغانط وبفارق معنوي عن باقي المعاملات في حين بلغت كميته ٩٥,٩٩ مايكرو غرام / غرام وزن طري عند عدم التعريض للمجال المغناطيسي (المقارنة) .بينما وبلغت كميته ١٢٤,٠٥و٦٨,٧ مايكروغرام /غرام في معاملتى ١و٢ مغناطيس.

٢- أندول حامض الخليك Indole acetic acid

تبين النتائج ان تعريض الكالس الى المجال المغناطيسي أدى الى انخفاض في كمية IAA وبفارق معنوي مع زيادة عدد المغانط اذ بلغت كميته ٩١,٦١ مايكرو غرام ج في الكالس غير المعرض للمجال المغناطيسي تلتها معاملة ٣ مغناطيس اذ بلغت كمية ٨٩,١٥ في حين أقل قيمة بلغت ٦٦,٤٤و٦٥,١١ مايكرو غرام / غرام في معاملة ١و٢ مغناطيس على التوالي.

٣- الجبرلين Gibbrellic acid

يلاحظ من النتائج ان كمية GA_3 انخفضت عند زيادة كثافة الفيض المغناطيسي بزيادة عدد المغانط وبشكل معنوي اذ بلغت كميته ٧٦,٢٥ مايكرو غرام / غرام في الكالس غير

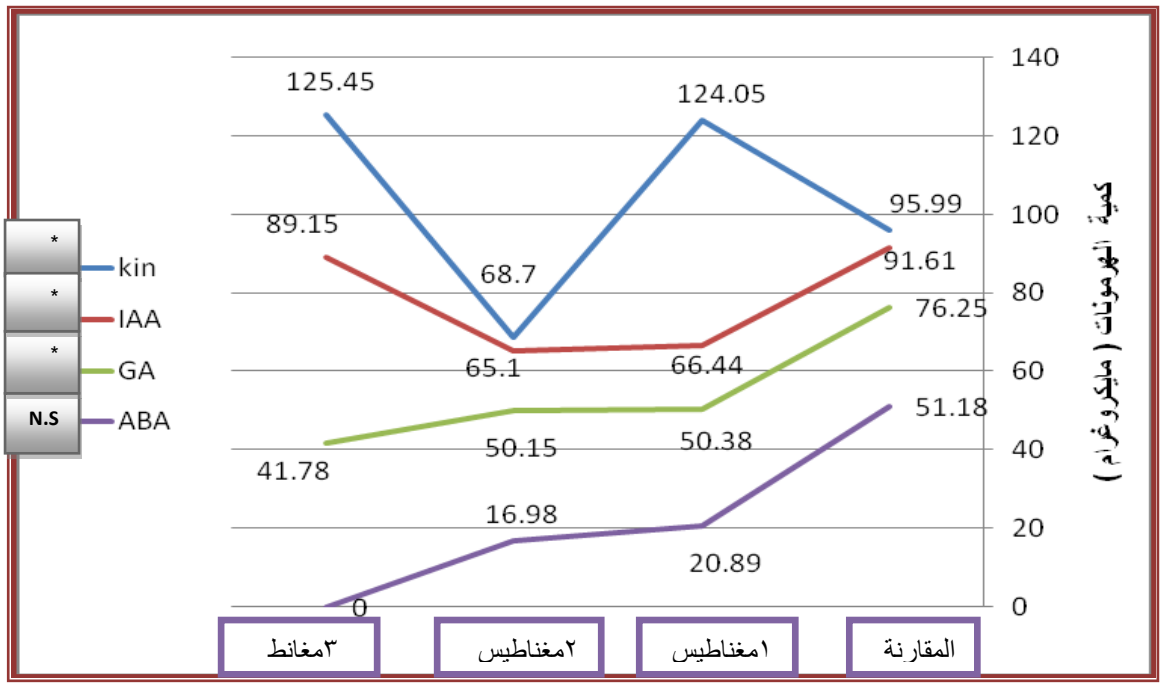
المعرض الى المجال المغناطيسي, في حين بلغت أقل قيمة ٤١,٧٨ مايكرو غرام / غرام في معاملة ٣ مغناطيس وبلغت كميتها في معاملتي ١و٢ مغناطيس ٥٠,٣٨ و٥٠,١٥ على التوالي.

٤- حامض الابسيسك Abscisic acid

أدى تعريض الكالس للمجال المغناطيسي الى خفض كمية ABA اذ بلغت أعلى كمية في معاملة المقارنة (٥١,١٨ مايكروغرام /غرام), تلتها معاملة تعريض الى ١ مغناطيس اذ أعطت ٢٠,٨٩ مايكرو غرام / غرام , في حين لم يظهر هرمون ABA في كالس معرض الى ٣ مغانط بينما بلغت كميتها ١٦,٩٨ مايكروغرام/غرام عند التعريض الى ٢ مغناطيس.



الشكل (١١) كالس اللالنكي كليمنتاين معرض الى مجال مغناطيسي لتقدير الهرمونات والقلويدات



الشكل (١٢) تأثير كثافة خطوط المجال المغناطيسي في محتوى كالس اللالنكي كليمنتاين من Kinو IAA و GA_3و ABA(–* مستوى احتمال ٥٪, ** مستوى أحتمال ١٪).(L.S.D : Kin. =7.69 ,IAA =10.94 ,GA = 7.30, ABA = 2.74)

٤-٦: تأثير كثافة خطوط الفيض المغناطيسي في انتاج القلويدات من كالس اللالنكي كليمنتاين

١- Octapamine

تبين النتائج في الشكل ١٤ والجدول ١٢ ان الكالس غير المعرض للمجال المغناطيسي لم تظهر له قراءة لمركب Octapamine نتيجة انخفاض تركيزه دون المستويات المفصولة في جهاز HPLC ولوحظ ان هناك فروقاً معنوية بين المعاملات وبلغت أعلى قيمة

لقلويد octapamine ٧٣,٧٤ مايكروغرام/غرام وزن طري في معاملة ٣ مغناطيس وبلغت قيمته ٥٤,٠٨ و ٣٥,٦٨ مايكروغرام/غرام في معاملة ١ مغناطيس و ٢ مغناطيس على التوالي .

٢- Synephrine

توضح النتائج (الشكل ١٤ والجدول ١٢) انه لاتوجد هناك فروق معنوية بين المعاملات اذ وجد ان اعلى قيمة لقلويد Synephrine بلغت ٣٣٦,٩٩ مايكرو غرام / غرام عند تعريض كالس الى ٣ مغناطيس في حين بلغ كميته ١٥١,٦٠ في الكالس غير المعرض للمجال المغناطيسي وبلغ كميته ٢٣٦,١٢ و ٢٨,٧٦ مايكرو غرام / غرام في معاملة ١ و ٢ مغناطيس على التوالي.

٣-Ephedrine

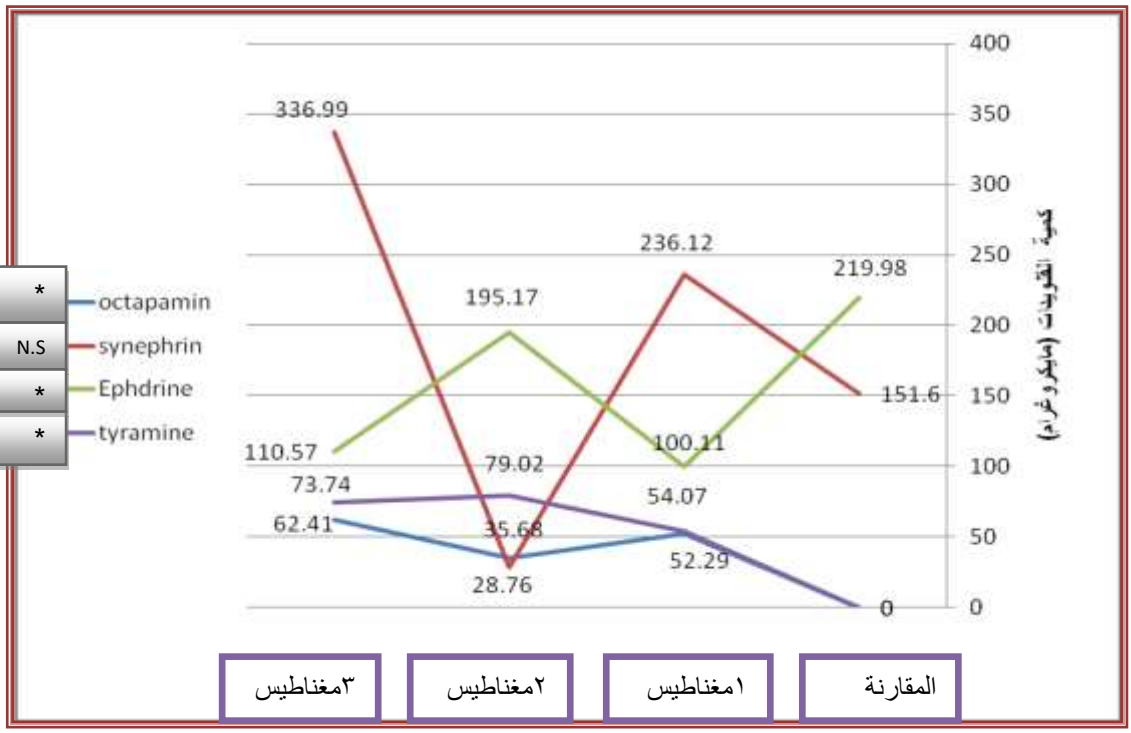
أدى تعريض الكالس الى المجال المغناطيسي الى خفض محتوى الكالس من ephedrine (الشكل ١٤ والجدول ١٢) وبفارق معنوي اذ بلغت كميته ٢١٩,٩٨ مايكروغرام / غرام وزن طري في كالس غير المعرض للمجال المغناطيسي في حين انخفض في معاملات ١ ، ٢ ، ٣ مغناطيس اذ بلغت قيمته ١٠٠,١١ و ١٩٥,١٧ و ١١٠,٥٧ مايكرو غرام / غرام على التوالي .

٤- Tyramine:

وجد ان الكالس غير المعرض للمجال المغناطيسي لم تظهر له قراءة لمركب tyramine وذلك لانخفاض تركيزه في الكالس في حين بلغت أعلى كمية له ٧٩,٠٢ مايكروغرام / غرام وزن طري في معاملة ٢ مغناطيس وبفارق معنوي عن بقية المعاملات تلتها معاملة ٣ مغناطيس اذ بلغت كميته ٦٢,٤١ مايكروغرام / غرام (الشكل ١٤والجدول

.(١٢

قــد يعــود ســبب زيــادة تركيــز القلويــدات (octapamine و synephrine و tyramine) الــى انهـا مـن أنـواع القلويـدات التـي يفرزهـا النبـات كوسـيلة دفاعيـة فـي ظـروف الاجهاد (Ramawat ، ٢٠٠٤) الناجمة عن تعريض الكالس لكثافة فيض مغناطيسي عالية والتــي أدت الــى انخفــاض كميــة GA3 و IAAو ABA شــكل (١٢) وذكــر Ramawat (٢٠٠٤) وجود علاقة عكسية بين مستويات الاوكسين داخل النبات وتركيز القلويدات اذ ان العوامل التي تؤدي الى خفض الاوكسين تؤدي الى زيادة القلويد داخل انسجة النبات



الشكل (١٣) تأثيركثافة خطوط الفيض المغناطيسي في محتوى الكالس اللالنكي من قلويدات octapamine و synephrine و ephedrine و tyramine(–* مستوى احتمال ٥٪,-N.S غير معنوي)(L.S.D :Octapamine = 4.96 , Synephrine = 2.88, Ephedrine =5.21, Tyramine =8.28).



بذرة منزوعة الغلاف



TDZ



تفتح الفلقات

كالس على وسط مجهزبTDZ أو 2,4-D أو NAA







وسط خالي من الهرمون وسط MS مجهزبـ.Kin

وسط مجهز بـ ٢ ملغم/لتر 2,4-D

استخلاص القلويدات والهرمونات

الشكل(١٥) انبات البذرة وتطور البادرات ونشوء الكالس ونموه

الخلاصة

نُفذ البحث في مختبر زراعة الأنسجة النباتية التابع لقسم البستنة ,كلية الزراعة ,جامعة ديالى.وهدفت الدراسة الى بيان تأثير بعض منظمات النمو النباتية والتعريض للقطب الشمالي والجنوبي للمجال المغناطيسي في نمو البادرات ونشوء كالس اللالنكي كليمنتاين *Citrus reticulata* L. Blanco والليمون الحامض المحلي *Citrus limon* L. Brum.F. زرعت البذور على وسط (Murashige and skoog ,١٩٦٢)MS الصلب ودرس تأثير زيادة كثافة فيض المجال المغناطيسي في إنتاج بعض منظمات النموالنباتية والقلويدات من كالس اللالنكي .

بينت نتائج تاثير البنزيل ادنين (BA) في نمو بادرات اللالنكي بالتراكيز ٠, ٠,٥, ١, ٢, ٣ ملغم/لترأن معاملة المقارنة الخالية من الهرمون هي الأفضل في زيادة طول الرويشة إذ بلغت ٨,٨ ملم , وحصلت أفضل استطالة للجذر في معاملة المقارنة اذ بلغت ٢٢ ملم .

أما عند زراعة بذور اللالنكي على وسط مجهز بالكاينتين Kin. بتراكيز ٠, ١, ٢, ٣, ٤ ملغم/لتر فقد وجد , أن معاملة المقارنة تفوقت باعطاء أكبر طول رويشة وبلغ ٣٠ ملم, في حين أدت المعاملة المجهزة بـ .kin الى ازدياد عدد الفروع اذ بلغ اعلى متوسط للفروع ١,٧ فرع/ بادرة عند تركيز ٤ ملغم/لتر. وعند زراعة بذور الليمون الحامض المحلي على وسط مجهز بتراكيز ٠, ٢, ٤, ٨ ملغم/لتر من .Kin كما وجد أن تركيز ٤ ملغم/لتر Kin ادى إلى ازدياد متوسط طول الرويشة وعدد الأوراق المتفتحة اذ بلغت ١٦ ملم و٤,٥ ورقة /بادرة على التوالي.

ودرس تاثيرتعريض البذورللقطب الشمالي والجنوبي للمجال المغناطيسي بشدة ٢٠٠٠ كاوس في نمو بادرات اللالنكي والليمون الحامض المحلي اذ عرضت بادرات اللالنكي لمدة٠, ٢, ٦, ١١, ١٤, ١٨ يوماً , وعرضت بذوراليمون الحامض المحلي لمدة ٠, ٣, ٧, ١٣, ١٨ يوماً وبعد مرور ٤ أسابيع من الزراعة , وجد أن بادرات اللالنكي المعرضة لمدة ١٨ يوم تفوقت معنويا على معاملة ١١و ١٤يوم في ازدياد طول الرويشة إذ بلغت ٢٢ ملم وبلغ متوسط طول الرويشة ١٩ ملم , في معاملة المقارنة في حين أن بادرات الليمون الحامض المعرضة لمدة ٣ يوم تفوقت على باقي المعاملات, وبفارق معنوي عن معاملة ١٣و١٨ يوم في صفات طول الرويشة والجذير

وعدد الأوراق المتفتحة إذ بلغت ١٢.٨ ملم و١٣ ملم و٢.٧ ورقة/نبات على التوالي .وتفوقت معاملة ٧ يوم بازدياد متوسط الوزن الطري اذ بلغت ١٣٠ ملغم.

وبينت الدراسة التشريحية لساق اللالنكي المعرض للمجال المغناطيسي لمدة ١٨ يوم ان ازدياد الحزم الوعائية للخشب واللحاء في نموها قياساً بالافرع غير المعرضة. وبينت نتائج نشوء الكالس أن معاملة ٢ ملغم/لتر 2,4-D هي الأفضل لنشوء الكالس ونموه , في حين وجد ان تداخل 2,4-D وTDZ قلل من معدل نشوء الكالس ونموه.

وفي تجارب تقديرالهرمونات النباتية والقلويدات من كالس اللالنكي فقد عرض الكالس المزروع على وسط MS مجهز بـ٢ ملغم/لتر2,4-D إلى (١, ٢, ٣) مغناطيس, وجد أن كمية الـ Kin. ازدادت بازدياد عدد المغانط إذ بلغت ١٢٥.٤٥مايكروغرام/ غرام في معاملة ٣مغناطيس قياسا" بالكالس غيرالمعرض للمجال المغناطيسي الذي بلغت كميته ٩٥,٩٩ مايكروغرام/غرام , في حين بلغت أفضل كمية للهرمونات (ABA,GA_3, IAA) في كالس غير المعرض, اذ بلغت كمية IAA ٩١.٦١ مايكروغرام/غرام في حين بلغت اقل كمية له ٦٥,٠٥ في معاملة ٢ مغناطيس , وبلغت كمية GA_3 ٧٦.٢٥ مايكروغرام/غرام في حين بلغ ٤١,٧٨ مايكروغرام/غرام عند معاملة ٣ مغناطيس , اما كمية ABA فقد بلغت ٥١.١٨ مايكروغرام/غرام في حين لم تسجل له قراءة عند تعريض الى ٣ مغناطيس . أما نتائج القلويدات فان كمية الـ Octapamine ازدادت بازدياد عدد المغانط إذ بلغت ٧٣.٧٤ مايكروغرام /غرام في معاملة ٣ مغناطيس, في حين لم يسجل له قراءة في كالس غير المعرض وبلغت أعلى كمية للـ Synephrine ٣٦٦.٩٩ مايكروغرام/غرام في معاملة ٣مغناطيس , في حين بلغت كميته ١٥١,٦٠ مايكروغرام/غرام في معاملة المقارنة وبلغت كمية الـ Tyramine ٧٩.٠٢ مايكروغرام /غرام في معاملة ٢ مغناطيس في حين لم تسجل له قراءة في الكالس غير المعرض. بيد ان كمية Ephedrine انخفضت عند تعريض الكالس الى مجال مغناطيسي إذ بلغت أعلى كمية لها في معاملة الكالس غير المعرض وكانت ٢١٩.٩٩ مايكروغرام/ غرام في حين بلغت اقل كمية له ١٠٠,١١ مايكروغرام/غرام عند التعريض الى ١ مغناطيس.

الجدول(١٠) يوضح المساحة وزمن الاحتجاز للهرمونات في جهاز الـHPLC

Peak table of standard

seq	Compound	Retention time minute	Area	Concentration µg/ml
1	Kinetin	1.45	443111	25 µg/ml each
2	Indole acetic acid	2.45	35423	
3	Gibbrelic acid	3.61	40532	
4	Abscisic acid	4.45	56191	

Peak table of control

seq	Compound	Retention time minute	Area
1	Kinetin	1.503	40591
2	Indole acetic acid	2.482	30724
3	Gibbrilic acid	3.63	21700
4	Abscisic acid	4.468	12725

Peak taple of 1 magnetic

seq	Compound	Retention time minute	Area
1	Kinetin	1.467	24541
2	Indole acetic acid	2.472	34492
3	Gibbrelic acid	3.625	32304
4	Abscisic acid	4.475	45675

Peak taple of 2 magnetis

seq	Compound	Retention time minute	Area
1	Kinetin	1.457	44311
2	Indole acetic acid	2.452	35423
3	Gibbrellic acid	3.61	40532
4	Abscisic acid	4.455	56191

Peak taple of 3 magnetis

seq	Compound	Retention time minute	Area
1	Kinetin	1.333	24267
2	Indole acetic acid	2.373	25848
3	Gibbrellic acid	3.403	38950

الجدول(١١) يوضح المساحة وزمن الاحتجاز للقلويدات في جهاز الـ HPLC

Peak table of standard

seq	Compound	Retention time minute	Area	Concentration µg/ml
1	octapamine	1.24	16487	25 µg/ml each
2	Synephrine	2.55	13408	
3	Ephdrine	3.38	15059	

4	Tyramine	4.04	13363	

Peak table of control

seq	Compound	Retention time minute	Area
1	Octapamine		
2	Synephrine	2.642	40654
3	Ephedrine	3.158	66253
4	Tyramine		

Peak table of 1 magnets

seq	Compound	Retention time minute	Area
1	octapamine	1.232	11888
2	Synephrine	2.632	51906
3	Ephdrine	3.447	20100
4	Tyramine	4.07	9317

Peak table of 2 magnets

seq	Compound	Retention time minute	Area
1	octapamine	1.242	7844
2	Synephrine	1.548	5142
3	Ephedrine	2.62	39187
4	Tyramine	3.54	14080

Peak table of 3 magnets

seq	Compound	Retention time (minute)	Area
1	octapamine	1.223	16210
2	synephrine	2.647	60245
3	Ephdrine	3.508	22201
4	Tyramine	4.138	20551

قائمة الاشكال

الرقم	عنوان الشكل	الصفحة
١	طرائق مختلفة تستعمل لتحقيق انتاج مثالي لمركبات الايض الثانوي	٢٢
٢	بادرات لالنكي كليمنتاين معرضة الى مجال مغناطيسي	٣٠
٣	كالس اللالنكي كليمنتاين معرض الى كثافة فيض مغناطيسي	٣٠
٤	بادرات اللالنكي كليمنتاين بعد مرور ٨ اسابيع من الزراعة عند A, المقارنة(بدون إضافة),B . أضافة تركيز ٢ ملغم/لتر BA	٣٨
٥	بادرة لالنكي نامية على وسط الغذائي MS بعد مرور ٨ اسابيع من الزراعة ,A . المقارنة (بدون اضافة),B . اضافة كاينتين بتركيز	٤٣

	٤ ملغم/لتر (الاسهم تمثل التفرعات).	
٦	مقطع عرضي في انسجة ساق اللالنكي,A- المقارنة بدون تعريض,B- تعريض الى مجال مغناطيسي لمدة ١٨ يوم,(a-الحزم الوعائية للخشب,b- الحزم الوعائية للحاء)	٤٩
٧	بادرات لالنكي كليمنتاين بعد مرور ٤ أسابيع عند تعريضها الى مجال مغناطيسي ولمدد مختلفة A-المقارنة (بدون تعريض),B . مدة تعريض ٢يوم, C. مدة تعريض ٦ يوم, D. مدة تعريض ١١يوم ,E . مدة تعريض١٤ يوم,F . مدة تعريض ١٨ يوم	٥٣
٨	بادرات الليمون الحامض المحلي بعد مرور ٤ أسابيع عند تعريضها ا لى مجال المغناطيسي ولمدد مختلفة ,A- المقارنة بدون تعريض,B . مدة تعريض ٣يوم,C . مدة تعريض ٧يوم,D- مدة تعريض ١٣يوم,E . مدة تعريض ١٨ يو .	٥٣
٩	مقطع تشريحي للكالس مزروع على وسط مجهز بالـ٢ ملغم /لتر 2,4-D بعد مرور ٤ أسابيع من الزراعة.	٥٨
الرقم	عنوان الشكل	الصفحة
١٠	كالس اللالنكي ناشيء من البذرة عند أضافة A- ٢ ملغم/لتر TDZالى الوسط الغذائي B, MS -٢ملغم/لتر 2,4-D الى وسط الغذائي MS , بعد مرور ٤ أسابيع من الزراعة.	٦١
	كالس اللالنكي كليمنتاين معرض الى مجال مغناطيسي لتقدير	

١١	الهرمونات والقلويدات	٦٥
١٢	تأثير كثافة خطوط المجال المغناطيسي في محتوى كالس اللالنكي كليمنتاين من Kinو IAA و GAو ABA	٦٦
١٣	تأثير كثافة خطوط الفيض المغناطيسي في انتاج الهرمونات النباتية من كالس اللالنكي كليمنتاين المزروع على وسط MS مجهز بتركيز ٢ملغم/لتر 2,4-D (a- Kin. -b,IAA –c,GA_3 -d-ABA)	٦٨
١٤	تأثيركثافة خطوط الفيض المغناطيسي في محتوى الكالس اللالنكي من قلويدات octapamine و synephrine و ephedrine و tyramine	٧١
١٥	تأثير كثافة خطوط الفيض المغناطيسي في انتاج القلويدات من كالس اللالنكي كليمنتاين المزروع على وسط MS مجهزبتركيز ٢ملغم/لتر2,4-D(Octapamineوsynephrineو tyramineو ephedrine)	٧٢
١٦	انبات البذرة وتطور البادرات ونشوء الكالس ونموه	٧٤

قائمة الجداول

الرقم	عنوان الجدول	الصفحة

١	مكونات الوسط الغذائي MS المحوراذ استبدل الحديد بالحديد المخلبي	٢٥
٢	تأثير تراكيز BA في نسبة انبات البذور ونمو البادرات اللالنكي كليمنتاين بعد مرور ٤و٨ اسابيع من زراعة البذور على وسط MS	٣٧
٣	تأثير تراكيز الكاينتين في أنبات البذور ونمو بادرات اللالنكي كليمنتاين بعد مرور ٤و٨ أسابيع من زراعة البذور على وسط MS	٤٢
٤	تأثير تراكيز الكاينتين في انبات البذور ونمو بادرات الليمون الحامض المحلي بعد مرور ٤و٨ أسابيع من زراعة البذور على وسط MS	٤٦
٥	تأثير المجال المغناطيسي في نمو بادرات اللالنكي كليمنتاين بعد مرور ٤ اسابيع من الزراعة على وسط MS الصلب	٥٠
٦	تأثير مدة التعريض المجال المغناطيسي في انبات البذور ونمو بادرات الليمون الحامض المحلي بعد مرور ٤ أسابيع من الزراعة على وسط MS	٥٢
٧	تأثير الثيادازورون TDZ في انبات البذور ونشوء كالس اللالنكي كلينمتاين بعد مرور ٤ أسابيع من الزراعة على وسط MS	٥٦
٨	تأثير NAA و 2,4-D في انبات البذور ونمو البادرات ونشوء كالس أللالنكي كليمنتاين بعد مرور ٤ أسابيع من الزراعة على وسط MS	٥٩

٩	تأثير تداخل TDZ و 2,4-D في انتاج الكالس من بذور اللالنكي كليمنتاين بعد من مرور ٤ أسابيع زراعة البذور على وسط MS	٦٣
١٠	المساحة وزمن الاحتجاز للهرمونات في جهاز HPLC	٦٨
الرقم	عنوان الجدول	الصفحة
١١	جدول المساحة وزمن الاحتجاز للقلويدات في جهاز HPLC	٧٣

جدول المختصرات

BA	6-benzyl adenine
BAP	Benzyl adenine purine
2ip	2-isopentenyl amino purine

TDZ	Thiadiazuron
NAA	Naphthaline acetic acid
2,4-D	2,4-dichlorophenoxy acetic acid
Kin.	Kinetin
MS	Murashige and skoog
MT	Murashige and tucker
NaOCl	Sodium Hypochlorite
HPLC	High Performance Liquid Chromatography

الاستنتاجات :

١- يزيد الكاينتين من نمو البادرات وتفتح البراعم الجانبية بعد مرور ٨ أسابيع من الزراعة .
٢- إن التعريض للمجال المغناطيسي يشجع نمو بادرات لليمون الحامض المحلي وزاد من تطور الحزم الوعائية للساق .
٣- اضافة TDZ و 2,4-D و NAA حفز نشوء الكالس وإن ٢ملغم/لتر من 2,4-D اعطى اعلى معدل نمو للكالس .
٤- إن زيادة كثافة خطوط الفيض المغناطيسي يزيد إنتاج الكاينتين ويقلل من IAA و GA_3و ABA
٥- ان زيادة كثافة خطوط الفيض يؤد الى تقليل إنتاج القلويد الـ Ephedrine ويزيد من إنتاج قلويدات Octapamine و Synephrine و Tyramine

التوصيات :

١- زراعة البذور على اوساط غذائية خالية من منظمات النمولتحفيز انبات البذور .
٢- دراسة تداخل .Kin و BA والاوكسينات في تضاعف البادرات النامية .
٣- دراسة تداخل السايتوكاينينات والاوكسينات في تضاعف الفروع ونشوء الكالس ونموه.
٤- دراسة تأثير زيادة شدة المجال المغناطيسي في انبات بذور الحمضيات ونمو البادرات وبيان اثرها في نمو الكالس ومحتواه من المركبات الايضية الثإنوية المختلفة والزيوت العطرية وحامض الستريك .
٥- دراسة تأثير بعض مكونات الوسط الغذائي (منظمات نمو, سكريات, فيتامينات) في محتوى الكالس من القلويدات ومركبات الايض الثانوي المختلفة .

. بدر , صالح محسن وفادية هشام طه ومحمد شهاب حمد .٢٠٠٩. أكثار الليمون المخرفش خارج الجسم الحي .مجلة الزراعة العراقية .مجلد ١٤- العدد ٦ :٢١-٣٠.

. الجميلي، علاء عبد الرزاق و جبار عباس حسن . ١٩٨٩. انتاج الفاكهة.وزارة التعليم العالي . جامعة بغداد . العراق .

. االجهاز المركزي للاحصاء وتكنولوجيا المعلومات .٢٠١١. المجموعة الاحصائية السنوية. بغداد ,العراق.

. حسونة ، محمد جمال الدين. ٢٠٠٣ . اساسيات فسيولوجيا النبات ، دار المطبوعات الجديدة. مصر.

. حمد ,محمد شهاب وابراهيم عبدالله حمزة وسراب عبد الهادي المختار .٢٠١٠. تأثير السكروز والتايروسين في استحثاث الكالس وانتاج المورفين والكودائين في نبات الخشخاش *Papaver Somniferum* خارج الجسم الحي .مركز بحوث التقنيات الاحيائية المجلد الرابع– العدد الثاني :٤٥–٥٣.

. الحمداني ,رعد اسماعيل ومقداد أيوب .١٩٩٠.الكيمياء العضوية المتقدمة ,جامعة الموصل. العراق .

. الحسين, زياد .١٩٩٧. اكثار التفاح (الاصل S3) باستخدام الزراعة المختبرية .مجلة البحوث .جامعة حلب,٢٩: ١٣١–١٥٠.

. الحجيمي,احسان جالي اذبيب .٢٠١٠. استعمال تقنية زراعة الانسجة في انتاج الفنكرستين والفنبلاستين في في كالس نبات عين البزون *Catharanthus roseus(*L.)G.Don المتحمل الاجهاد الملحي .رسالة المجستير ,كلية الزراعة , جامعة الكوفة, العراق.

. خضر , محمد زكي محمد ومظفر انور النعمة .١٩٧٧. علم الهندسة الكهربائية الاساسي (مترجم) مطبعة جامعة الموصل , وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ,العراق.

. خوجلي , أحمد .١٩٩٨. فيزياء الجوامد .عزة للنشر والتوزيع ,الخرطوم ,السودان.

. الخفاجي ,مكي علوان وفيصل عبد الهادي المختار .١٩٨٩. انتاج الفاكهة والخضر .وزارة التعليم والبحث العلمي,جامعة بغداد .بيت الحكمة .

. الرفاعي ,عبد الرحيم توفيق وسمير عبد الرزاق الشوبكي .٢٠٠٧. زراعة الانسجة والاكثار الدقيق ,المكتبة المصرية في الاسكندرية.

. سلمان ,محمد عباس .١٩٨٨. اساسيات زراعة الخلايا والانسجة النباتية .وزارة التعليم العالي والبحث العلمي , دار الكتب للطباعة والنشر,جامعة الموصل.

. سلمان ,محمد عباس ولمياء خليفة جواد ومبشر صالح عمر .٢٠٠٣. تاثير BA و NAA في نشوء الزروعات وتضاعف الافرع لنوعين من الحمضيات خارج الجسم الحي. مجلة العلوم الزراعية,٢٤(٢):٥٥- ٦٦.

. الساهوكي ، مدحت مجيد وكريمة وهيب. 1990. تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب. دار الحكمة للطباعة والنشر . الموصل.

. السعيد ,منصور بن سليمان ومحمد بن عبد العزيز اليحيى ومحمد عصام حسن الاغا و عبد الناصر عمر .٢٠٠٣. علم العقاقير (مترجم).المركز العربي للتعريف والترجمة والتاليف والنشر بدمشق .ص .ب ٣٧٥٢ – دمشق – جمهورية العربية السورية.

. الشنطاوي ,محمد ورضا شبلي وعماد عبيدات ومحمد عجلوني .١٩٩٨. اكثار البرتقال الحامض بواسطة زراعة الانسجة و اقلمته خارج الانابيب .مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية , ١٤: ١٢٠-١٣٤.

- العاني ، طارق علي (١٩٩٠) . فسلجة نمو النبات وتكوينه . دار الحكمة للطباعة والنشر ، بغداد ، العراق .

. عبيد ، أياد عاصي .٢٠٠٩. تاثيرات الوسط الغذائي والمجال المغناطيسي في الاكثار

والصفات بالزراعة النسيجية.التشريحية لاصل الخوخ *Prunus Persica* L.Batsch صنف محلي بيضاوي.رسالة دكتوراه جامعة الموصل.

. قصاب باشي ,عمار زكي .٢٠٠٦. تحفيز نمو اجنة بذور الليمون الحامض المحلي *Limon Citrus* L. Brumf. خارج الجسم الحي .مجلة زراعة الرافدين ٣٤(٢) :١٣-٢١.

. القضاة ,عبد المطلب وخليل المعري ورضا عبدالله الشبلي .٢٠٠٨. الاكثار خارج الجسم الحي لصنفي المشمش العجمي والبلدي بواسطة البراعم الزهرية والخضرية. المجلة الاردنية في العلوم الزراعية ٤(٢): ١٧٧-١٧٩.

. الكتل ,رحيم عبد وعبد السلام عبد الامير وطالب ناهي وفياض عبد اللطيف .١٩٨٦. الفيزياء الجامعية (الكهربائية والمغناطيسية).مطبعة الجامعة التكنولوجية .

. الكناني ,فيصل رشيد ناصر.١٩٨٧. زراعة الانسجة الخلايا النباتية .مطبعة جامعة الموصل,جامعة الموصل ,العراق.

. محمد ، عبد المطلب و مبشر صالح عمر .١٩٩٠. المفاهيم الرئيسة في زراعة الخلايا والأنسجة والأعضاء للنبات . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، مطبعة جامعة الموصل ، العراق .

. محمد ,عبد المطلب سيد .١٩٨٢. الهرمونات النباتية ,فسلجتها وكمياؤها الحيوية (ترجمة). مطبعة جامعة الموصل,العراق.

. وصفي ,عماد الدين .١٩٩٨. عماد فسيولوجيا النبات .المكتبة الاكاديمية ,القاهرة ,مصر.

. يوسف ,يوسف حنا وسلوم عبد الجبار حسن .١٩٨٧. انتاج الفاكهة النفضية (٢).مديرية

الكتب للطباعة والنشر ,جامعة الموصل ,العراق.

-Ali,Shawkat and Bushra Mirza .2006.Micropropagation of rough lemon(Citrus jambhiri Lush.):effect of explant type and hormone concentration.Acta Bot.Croat.65(2),137-146

- Alikamanoglu, S., O. Yacili, C. Atak and A. Rzakoulieva . 2007. Effectof magnetic field and gamma radiation on

Paulowia tomentosa tissue culture. Biotechnol. and Biotechnol .EQ. 21/2007/1,:49- 53.(www.diagnosisp.com)

-AL-Khayri,J.m. and A.M.AL-Bahrany.2001.*In vitro* micropropagation of Citrus aurantifolia (lime).plant tissue cult.12(2):167-172.

- Atak, C., O. Emiroglu, S. Alikamanoglu, and A. Rzakoulieva

(2003). Stimulation of regerenation by magnetic field in

soybean (*Glycine max* L. Merrill) tissue cultures, J. of

Cell and Molecultar Biology , 2: 113-119.

-Atak ,C., O.Celik, A. Olgun, S. Alikamanoglu and A. Rzakoulieva (2007).Effect of magnetic field on peroxidase activities of

Soybean tissue culture . Biotechnol and Biotechnol. EQ.

21/2007/2,:61-71.(www.diagnosisp.com).

-Altaf, Nafees ,Abdul Rehmane Khan,Liaqat Ali .2009. *in vitro* culture of kinnow explants .Pak.j.Bot .,41(2):597-602 .

-Beachy , R.N. and Murakishi,H.H. .1973. Effect of cycloheximide tobacco virus synthesis in callus frome hypersensitve tobacco. virology.55:230-328.

-Bordon ,Y.,J.L.Gnardiola,A.Gracia –Luis.2000.Genotybe effects the morphogenic response in vitro of epicotyl segments of citrus

rootstocks .Annals of botany.68:159-166.

-Canli , F.A. and L.Tian .2008. Regeneration of adventitious shoots from mature stored cotyldons of japanese plum

(*prunus Salicina* Lind 1). Scientia Hort.3098,:1-6.

- Celestino, C., M. L. Picazo and M. Toribio .2000. Influence of growth chronic exposure to an electromagnetic field on germination and earlyof quercus suber seeds. Preliminary study electro-and magnetobiology , 19(1): 115-120.

-Celik,O. , C. Atak and A. Rzakulieva .2008. Stimulation of rapid regeneration by amagnetic Field in paulownia node cultures. J.of Central European Agriculture, 9(2): 297-303.

-Chang , C.; Chen, Tsai, Y.C. and Chang, W.C. 1999. A tissue culture protocol for propagation of rare plant, *Lilium speciosum* thumb. Vargloriosoides. Bot. Bull. Acad. Sci. 41: 267-273 .

-Collin , H. A. 2001 .Secondary production formation in plant tissue cultures . plant growth Regu., 34: 119-134.

-Criveanu, H. R. and G. Tralunga .2006. Influence of magnetic fields of variable intensity on behaviour of some medicinal plants . J. of Central European Ageiculture,7(4): 643- 648.

-Davies, J. P. 1995. Plant Hormones . Carnell University, New York U. S. A.

- Devi, P. 2003. Principles and Methods in Plant Molecular Biology, Biochemistry and Genetics. 3rd ed. Updesh Purohit Pub., Jodhpur, India.

-Devlin , R.M . .1973. Plant Physiology. Affiliated eastwest press PVT. New Delhi.

- Delloloio, R. 2007. Cytokininus determine *Arabidopsis* root-Meristem size by controlling cell differentiation. Curr. Biol., 17: 678-682.

- Ding, Li., Xubiao Luob, Fei Tang, Jinbin Yuan, Qian Liu, Shouzhuo Yao .2007. Simultaneous determination of flavonoid and alkaloid compounds inCitrus herbs by high-performance liquid chromatography–photodiode array detection–electrospray mass spectrometry, Journal of Chromatography B, 857 (2007) 202–209.

-Dragull,Klaus ,Andrew P.Breksa III and Brian Cain .2008. Synephrine Content of Juice from Satsuma Mandarins (*Citrus unshiu* Marcovitch J.Agric .food chem.(510):559-589.

-Estiken , A. and M. Turan .2004. Alternating magnetic field effects on yield and plant nutrient element composition of strawberry (*Fragaria ananassa* CV. Camarosa). Acta Agri. Scandinavica section B-soil and plant Sci. 54(3): 135-139.

- Facchin i, P. J.; A. D. Brid and B. St-pierre.2004. Can Arabidopsis make complex alkaloids. Trends Plant Sci.,9(3) : 112-116.

- Germana, M.A. 1997. Haploidy in *Citrus*. In: *In Vitro* Haploid Production in Higher Plants. Kluwer Academic Pub. Netherlands. Vol. 5, pp: 195-217.

-Hadi, S. M. .1999. Production viblastin and vincristine from callusm tissue Of catharnthus roseus using plants tissue culture technique .M.sc.Thesiscollege of sceince ,Baghdad university .

-Hartman , t . .2004. Plant –derived secondary metabolites chemicals herbivorous insect :acase study in asdehenesiv chmical ecology. Blanta 219:1-4.

-Harborne,J.B. 1984. Phytochemical methods.Aguid to modern Techniques of plant analysis .2nd.ed.London ,Nowyork ,Chapman and Hal.

- Haq, N. 2007. *In vitro* production of bioactive compounds from medical and aromatic plants. *Agriculture,* 38(1): 112-119.

-Hegazi ,Ghada Abd EL-Moneim and Taghried Mohammed EL - Lamey . 2011.Callus induction and extraction of ephedrine from Ephedra Alata Decne. cultures.American –Eurasian J.Agric.&Environ.Sci. ,11(1):19-25.

-Hopkins , W. G. 1999. Introduction To Plant Physiology. 2nd .ed.

John Wiley and sons , Inc. USA.

-Huetteman ,A. and E .J.Preece .1993.Thidiazuron: Apotent cytokinin for woody plant –tissue culture.Pant Cell.Tiss.Org.Cult.,33(2):105 -119.

-Jesus, L.D .2003. Effect of artifical polyploidy in transformed roots of artemisia annua L.A thesis submitted to the faculty of worcester Polytechnic in stitute ,Master of scince in Biotechnology.

-Kaur, Harmanjit ,Manju Adnand and Dinesh Goyal .2011. Extraction of tylophorine from in vitro raised plants of Tylophrin indica. Journal of Medicinal plants Research.,5(5):pp.729-734.

-Khan, Mohammad Yassen,Saleh Aliabbas,Vimal Kumar and Shalini Rajkumar .2009.Recent advaneces in medicinal plant Biotechnology.India Journal of Biotechnology.pp:9-22.

-Kepinski. S and O. Layser. 2005. Plant development : auxin in loops. Curr. Biol., 15: 208-210. .

-Kogl, F.A.; Haggan-smith, A.J. and Erxleben, H. .1934. Uberein neves auxin Aus Harn. Z. Physiol. Chem. 228: 90-103.

- Krishnamurthy , K. V. ; D. A. Godbole and A. F. Mascarenthas .1984. Studies on a drought resistant legume: the moth bean vigna acouitifoliu- 1- protoplast culture and organogenesis. Plant Cell Rep., 3: 30-32.

-Kumar , Krishan ,H Kaur,Mis Gill,H S Rattanpal,Kanika and S S Gpsal .2011. An efficient regeneration protocol from callus culture in Rough lemon (*Citrus jambihiri).* Indian Journal of Agricultural Scinences.81(4):9-324

- Lasker , M Hynniewta ,Cs Rao .2009. *In vitro* propagation of Citrus indeca Tanka-An endangered progenitor species.Indian Journal of Biotechnology.8,pp:36-311 .

-Lenuta , R.,C.M.,Aurori and V.V Morariu .2005. Influence of near null magnetic field on in vitro growth of potato and wild Solanum Species.Bioelectromagnetics,26(7):548-557.

- Liang, G. H. and D. Z. Skinner. 2004 . Gentically modifiecrops, their development, uses and risks. New York.london-oxford.

- Lila , M. .2005. Secondary Production From In Vitro Culture chapter 24.secondary production from in vitro .CRC.press ,LLC.

-Lineberger , R.D. 2001. The many dimension of plant tissue Culture . Hort. Sci. Tx. 77: 1-4.

- Lucchesini, M. , A. M. Sabatini, C. Vitagliano and P. Dario .1992 . The pulsed electro-magnetic field stimulation effect on

development of *Prunus cerasifera in vitro* derived plantlets. Acta Horti.,1(39):131-136.

-Marshall , S.V. and G.G. Skitek .1987. Electromagnetic concepts and Application .2nd edition.englewood.cliffs,N.J. prentice-Hall, Inc.

- Martinez, E., M. V. Carbonell and J. M. Amaya .2000. A static magnetic field of 125 mT stimulates the initial growth stages of barley Electromagnetic Biology and Medicine, 19(3):271-277.

- Mc –Queen , M. and S. Cosgrove .1994 .Disruption of hydrogen bonding between plant cell polymers by proteins that induce wall extension. Proc. Natt. Aead. Sci., USA., 91 : 6574 –6578.

-Mendes , Ritade cassia ,Marcio Antonio Rochade Oliveira , Sergio Yoshimitsu Motoike ,Rodrigo Sobreira Alexandre and Dalmo Lopes Siqueira .2008. Effect of mechanical treatment on in vitro Germination of citrus seeds.ISNN 003473x; 55(5) : 445-449.

- Messmer, M. and Berger, K. 2004. Development of gametic embryogenesis for enhanced breeding progress in the medical plant *Hypericum perforatum* L. and *Valeriana officinalis* L. *Pharm. Biol.,* 50: 254-261.

-Miller, C.O.; Skoog, F.; Vonstaltza, M.H. and Strong, F.M. (1955). Kinetin a cell division factor from deoxyribonucleic acid. J. Am. Chem. Soc. 77: 1392.

- Miller ,C. and Skooge .1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. Symp. Soc. Exp. Biol. 11: 118–131.

- Mineo , L. 1990. Plant tissue culture techniques. C.A. Goldman , Editor.,pp: 151-174.

-Mousavi,Badrossadat, Ali Parsaeimehr and Neda Irvani .2011 . Influennces of growth regulators on callus induction ephedrine and Pseudoephedrine contents and chemical analysis of mature embryo of *Ephedra strobilacea* Bunge.AAB 3 Bioflux,volum Issue1. 39 - 45.

-Mukhtar,Rashid,M. Mumtaz Khan,B. Fatima,M. Abbas and Adnan Shahid .2005.in vitro regeneration and multiple shoot induction in *citrus riticulata* (Blanco).international journal of Agriculture &Biology.7(3):414-416 .

-Mukhtar ,Rashid,M. Mumtaze Khan,Ramzan Rafiq,Adnan Shahid, and Farooq Ahmed Khan .2005. In vitro regeneration an Somatic embryogenisis (*Citrus aurantifolia* and *Citrus Sinensis*) International Journal of agriculture &Bioogy.

1560-8530,7(3):518-520.

-Murashige, T. and F. Skoog .1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. physiol. Plant.15:473-497.

-Murashige, T. and D. P. Tucker .1969.Growth factor requirements of citrus tissue culture. Proc. First. Int. citrus Symp., 3: 1155- 1161.

-Navarro ,L. .1984. citrus tissue culture . In micro propagation of select root crops , palms, Citrus and Ornamental species. FAO plant production paper . 59 :155-176.

-Negishi, Y., A. Hashimoto, M. Tsushima and C. Dobrota .1999. Growth of Pea epicotyl in low magnetic field .Adv. Space Res., 23(12): 29- 32.

- Niedz , Randall P. .2008.*In vitro* germination of citrus seed. Pro. Fla. state Hort.Soc .121:148-151.

-Park , S. U.; M. R. Uddian; H. xu ; y. k. kim and s. y. lee. 2008 . Biotechnological applications for rosmarinic acid production in plant. Afr. J. of biot., 7(25): 4954-4965.

-Parsaeimehr , Ali,Elmira Sargsyan and Katayoun Javidnia

.2010. Influence of plant growth regulators on callus induction, growth,chlorophyll,ephedrine and psudoephedrine contents in *Ephedra procera*.Journal of medicinal plant research vol.4(3),P:1308-1317.

-Paudyal , K. P. and N. Haq .2000.*In vitro* propagation of pummelo (*Citrus grandis* L. osbeck).In vitro cell.Dev. Bio1.plant, 36:511-516.

-Pellati ,Federica,Stefania Benventi,Michle Melegari .2004. High- performance liquid chromatogrraphy methods for the analysis of adrenergic amines and flavanodes in *Citrus auratium* L. var.amara, Phytochemical Analysis, 15: 220–225. doi: 10.1002/pca.771 .

-Presman ,A.S. .1968. The Electromagnetic Field and living Nature Moscow.Nauka.

-Ramawat ,K. G. 2004. Plant Biotechnology.printed in india .,pp:1-265.

-Reina, F. G. And Fascual L. A. .2001. Influence of astationary magnetic field on water relations in lettuce seeds . part I Theoretical considerations. Bioelectro magnetics, 22:589-595.

-Ruzic R., I. , A. Jeglic and D. Fefer .1993. Various effects of pulsed and static magnetic fields on the development of *Castanea sativa*

Mill. in tissue culture. Electro and Magnetobiol.12(2):165-177

-Sajid ,Zahoor Ahmad ,Faheem Aftap .2009. Effect of thidiazuron (TDZ) on in vitro micropropagation of *Solanum tuberosum* L.cvs.desiree and cardinal. Pak .J.Bot.,41(4):1811-1815.

-Santos,C. and Caldeira,G. 1998. Callus formation and plant regeneration from protoplants of Sunflower Call. and. hypocotyls.Acta.Soc.Bot.Pol.67:31-36.

-SAS, . 1996 . Statistical Analysis System, Release7, SAS . Institute . Inc.Cary . N.C. USA.

-Sativa ,Vijay ,G.S. Virk and Avinash Nagpal .2010. Effect of explant type and different plant growth regulators on callus induction and plantlet regeneration in *Citrus jambhiri Lush*. Environ We Int.J.Sci.Tech. ,5(2010) 97-106.

-Sears ,F.W. ,M. W. zemansky and H.D.young .1982. University physics . 6thed. Addission .wesley Publishing company Inc.

-Sharma ,Sunel,Atam Prakash,Ajinath Tele .2009. *In vitro* propagation of Citrus rootstocks.Not.Bot.Hort.Agrobot.cluj 37(1),pp:84-88.

-Shengwei, Z and Jingsman S.2000. Rapid plant Regenration from cotton(*Gossypium hirsutum* L.).Chin. Sci. Bulletin

45(19) 1772-1773.

-Sree,N. Vijaya,Udayasri P,V.V Aswani Kumar Y,Ravi Babu B, Phani Kumar Y,Vijay Varma M .2010. Advancements in

The production of secondary metabolites.Journal of

Natural products,3:112-123.

-Stewart,Ivan,William F. Newhall,George J.Edwards .1964.The Isolation and identification of L-synephrine in the leaves

and Fruit of Citrus.The Journal of Biological Chemistry,

239(3):9309-932 .

- Street , H.E. .1977 .Plant Tissue and Cell Culture. Black well. scientific publication.oxford,London,Edinburgh, Melbourne .

-Suryawanshi,J .yotsna A. Saonere .2011.An overview of citrus

aurantium used in treatment of various disease. African Journal

- : of Pant Science Vol.5(7),pp: 390-395 .

Taiz and E. Zeiger. 2002. Planta physiology.Sinaure Assciates, Inc.Publishers.sunderland. ,

-Teng , Wen-Yuh ,Yu-Ling Huang,Chien –Chang Shen,Ray-

Ling Hung,Ren Shin Chung and Chien-Chih Chen .2005.

Cytotoxic Acridone alkaliods from the stem bark of *Citrus*

maxima .Journal of Chines Chemical Society,52(6):1253

1255.

-Thomas , T.D. and R. Chutervedi. 2008. Endosperm culture: a novel

method for triploid plant production. *Plant Cell Tiss. Org .*

Cult., 93: 1-14.

-Trigiano, R. N. and, D. J. Gray .1996.Plant Tissue Culture

Concepts and Laboratory Exercises. Boca Raton, FL : CRC

Press Inc, p:11-17.

-Usman , Muhammad,Sana Muhammad, B.Fatma .2005. *In vitro* multiple shoot induction from nodal explant of Citrus Cultivars

.Journal of Central European Agriculture.4:435 -442.

- Unyayar S,Faith totcuogh and a AL- unyayar .1996. amodified method extraction &identification of IAA,GA,ABA, & Zeatin producer

by chryoprium ,J plant physiol , 22, (3-4), 4105 – 110.

- Vanisree , M. ; L. Chen-Yue; S.-F. Lo; S. M. Nalawade; C. Y. Lin and H.-S. Tasay. 2004 . Studies on the production of some important secondary metabolites from medicinal plant by plant tissue culture. Bot. Bul. Acad. Sin., 45:1-22.

-Yoshida ,T. .1995. Relationship between callus size and Plant

regeneration in rice Oryz sativa L.anther culture Japan .Agr.Res.Quaerly.29:143-147.

-Zeng, Lihui,Haifeng Xu.,Yunqi Zeng, Aiye Luan and Huiquang Wang .2009. High efficiency in vitro plant regeneration From epicotyl explants of ponkan Mandarin in *(Citrus reticulata* L. Blanco).in vitro cell.Der. Bio1.plant .45: 559-564.