------ مجلة علوم الرافدين، المجلد16، العدد8، خاص بعلوم الحياة، ص 100-112، 2005-----

تكثير نبات اللوز (*Amygdalus communis* L.) بطريقة زراعة الأنسجة النباتية

ساجدة عزيز عبود
قسم علوم الحياة
كلية العلوم
جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 2004/11/28 ، تاريخ القبول 2005/3/20)

الملخص

تضمنت الدراسة بيان دور بعض منظمات النمو لاستحداث ونمـو وتمـايز كـالس نبـات اللـوز (*Amygdalus communis* L.) واستخدم Benzyladenine (BA) كنموذج للـسايتوكايتينات وبـالتراكيز (3.0, 2.0, 1.0, 0.5, 0.0) ملغـم/لتـر و Dichlorophenoxy acetic acid (2.4-D و Naphthalene acetic acid) (NAA) و Indolebutyric acid (IBA) كنماذج للأوكسينات وبالتراكيز (0.5, 0.1, 0.0) ملغم/لتر. تشير النتائج بأن أفضل وسط حقق أعلى نمو للكالس من قطع سيقان بادرات نبات اللـوز هـو وسط مورا شيج وسكوك (MS) المضاف إليه BA و NAA بتركيز 0.5 ملغم/لتر لكل منهما، بلغ معـدل الوزن للكالس 2.555 غرام في عمر 90 يوم. أظهرت النتائج أن BA بتركيز 1 ملغم/لتر و IBA بتركيز 0.1 ملغم/لتر كانت مشجعة لنمو الفروع الخضرية، من حيث عدد الفروع المتكونة وأطوالها، مـن قطـع سيقان بادرات نبات اللوز، بينما التراكيز العالية من BA (2 ملغم/لتر) و IBA (0.5 ملغم/لتر) أدت إلـى تكون كالس أسود اللون عند قواعد الفروع الخضرية. إضافة إلى ذلك، أدى نقل الكالس المتكـون علـى الأوساط الغذائية إلى أوساط أخرى حاوية على BA (2 ملغم/لتر) لوحده إلى تمايز الكالس الى عدد مـن الفروع الخضرية بعد 30 يوم من نقله إلى تلك الأوساط.

كما أشارت النتائج أيضاً إلى أن إضافة السكروز بتركيز 4% إلى وسط MS حفز استحداث الكالس بدرجة جيدة، بينما إضافة السكروز بتركيز 5% إلى الوسط الغذائي أدى إلى زيادة عدد الفروع الخضرية النامية من قطع سيقان بادرات نبات اللوز والتي وصلت إلى 8 فروع.

وجد أيضاً أن إضافة BA بتركيز (2 ملغم/لتر) لوحده إلى الوسط الغذائي المحفز لنـشوء الفـروع الخضرية، أدى إلى تحفيز نشوء الجذور عند قواعد تلك الفروع الخضرية، ثم نقلت النباتات المتكونة على هذا الوسط الغذائي إلى الحقل بعد عملية التقسية.

Propagation of Almond *(Amygdalus communis* L.) Plant by Tissue Culture

Sajida A. Abood
Department of Biology
College of Science
Mousl University

ABSTRACT

The Study demonstrated the role of some growth regulators in the induction of growth and differentiation of almond (*Amygdalus communis* L.) callus. Benzyladenine (BA) was used as cyokinine at concentrations (0.0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0) mg/L. While dichlorophenoxy acetic acid (2.4-D), Naphthalene acetic acid (NAA) and Indolebutyric acid (IBA) for each were used as auxin at various concentrations (0.0, 0.1, 0.5) mg/L.

The results indicated that the best medium sustaining maximum callus growth was the MS medium containing 0.5 mg/L BA and NAA as it increases the fresh weight as 2.555 g during 90 days of growth.

The result showed that BA at 1.0 mg/L and IBA at 0.1 mg/L were the most effective in shoot proliferation and elongation from almond stem explants, since these shoots developed at higher concentrations (0.5 mg/L IBA and 2 mg/L BA) showed a small amount of black callus at the base of the shoots.

Moreover, shoots development from callus when it was transferred to MS medium supplemented with 2mg/L of BA, after 30 days. Also addition of 4% of sucrose to MS medium stimulated the initiation of callus rather well. However, the addition of 5% of sucrose to MS medium enhanced the number of shoots formation from stem expants of almond, reaching 8 shoots.

The result indicated also that the addition of 2 mg/L BA only to regeneration medium stimulated roots formation at the base of shoots, when these shoots were cultured on that medium. The plant developed on this medium can be readily transferred to the soil after hardening.

المقدمة

يعد نبـات اللـوز almond (*Amygdalus communis* L.) المعـروف أيـضاً بـ *Prunus amygdalus*، من الأشجار الخشبية المعمرة المهمة اقتصادياً لاحتواء لب بذوره على نـسبة عاليـة مـن الدهون والبروتينات (Soler and Canellas, 1988). إن الموطن الأصلي للنبات هو تركيا حيـث ينمـو بصورة رئيسية على طول ساحل بحر ايجة والبحر المتوسط (Gurel and Gulsen, 1998).

أما في العراق فتعد زراعته محدودة في المناطق الشمالية منه فقط، بسبب احتياجه إلـى متطلبـات مناخية ورطوبة خاصة (Gradziel and Weinbaum, 1999). وتشير الدراسات في السنين الأخيرة الـى أن استبدال الدهن الحيواني بزيت اللوز يختزل مستوى الكولـسترول الخبيـث الكلـي (Ainsley et al., 2000) على الرغم من نجاح زراعة اللوز بالطرق التقليدية لعدة سنين إما بواسطة البـذور أو خـضرياً بالبراعم ، بأخذ البادرات كمصدر للأصول root stocks (Sedgley and Collins, 2002; Marino and Ventura, 1997). إلا أن هناك مشاكل عديدة تتعلق بزراعته بهذه الطرق منها عدم إمكانية حفظ المصادر الوراثية بصورة نقية، لأن الأشجار الناضجة تحتاج إلى مساحات واسعة من الأرض والى جهد جـسدي

كبير (Sakai and Nishiyama, 1978)، إضافة إلى احتمال إصابتها بالحشرات والأوبئة (Sedgley and Collins, 2002; Mckenry and Kretsch, 1987) وحفظها كبذور يقلل من حيويتهـا (Kartha et al., 1979). والطرق الزراعية التقليدية للنبات لا تتمكن من التغلب على تلك المشاكل و إنتاج نبات اللـوز ذو مواصفات جيدة، لذا يتطلب تكثير نبات اللوز بتقانات زراعية أخرى للتغلب على تلك المشاكل، وتعد تقنية زراعة الأنسجة النباتية أفضل طريقة لتكثير نبات اللوز خضرياً (Elleuch et al., 1998; Stephonkus, 1985) سواء لأغراض التحسين أو الإنتاج (Kester et al., 1977). وأشارت عدد مـن البحـوث إلـى إمكانية إكثار نبات اللوز خضرياً بطريقة زراعة الأنسجة النباتية وذلك عن طريق أما زراعة المرسـتيم القمي (Gurel and Gulsen, 1998)، أو تكوين الفروع الخضرية من الفلق غير الناضجة (Ainsley et al., 2001) وقطع السيقان لبادرات اللوز (Menon and Methera, 1974) وقطع الأوراق (Ainsley et al, 2000).

المواد وطرق العمل

زراعة البذور وتنمية البادرات:

مصدر البذور:

استخدمت بذور نبات اللوز ذو الصنف الحلو *Amygdalus communis* L. في هذه الدراسـة، وتـم الحصول عليها من الأسواق المحلية وصنفت في المعشب النباتي التابع لقسم علوم الحياة، كليـة العلـوم، جامعة الموصل.

اختبار حيوية البذور:

تم اختبار حيوية بذور اللوز بزراعتها في أطباق بتري حاوية على أوراق ترشـيح وحفظـت فـي الحاضنة بدرجة حرارة 18 ± 2 °م لحين حصول الإنبات فيها مع مراعاة ترطيبها بصورة مستمرة وثـم حساب نسبة الإنبات للتأكد من حيوية البذور.

تعقيم البذور وزراعتها:

بعد التأكد من حيوية البذور نزعت القشور الخارجية الصلبة للبذور، ثم استخدمت عدة طرق للتعقيم واستعمل الكحول الاثيلي بتركيز 96% ولمدة دقيقتين ومحلول هايبوكلورايت الصوديوم (القاصر) المخفف مع الماء المقطر من المحلول الرئيسي المركز 6.4% وبنسبة 2:1 (قاصر:ماء) ولفترات زمنيـة تتـراوح بين (2-10) دقيقة لبيان أفضل وقت لمعاملة البذور بالمعقمات المستخدمة، وبعد انتهاء فترة التعقيم غسلت البذور بالماء المقطر المعقم عدة مرات لإزالة آثار المعقمات المستعملة التي ربما تؤثر على إنبات البذور وعلى نمو البادرات واستحداث الكالس. بعد ذلك زرعت البذور في دوارق زجاجية حاوية علـى الوسـط الغذائي المعقم. واستعمل وسط Arnon و Hoagland (Arnon and Hoagland, 1940, 1944) بتركيـز 1/5 من التركيز الرئيسي لإنبات البذور وتنمية البادرات المعقمة. وحفظت الدوارق المزروعة في حاضنة النمو في الظلام وبدرجة حرارة 18 ± 2 °م لحين بزوغ الجذير فيها، وذلك بعد مرور 8-10 أيـام مـن الزراعة، بعدها نقلت إلى الضوء وبتواقت ضوئي 16 ساعة إضاءة و 8 ساعات ظلام. وتم حساب النسبة المئوية للإنبات لتحديد أفضل فترة للتعقيم بالقاصر.

استحداث كالس نبات اللوز:

الوسط الغذائي لاستحداث الكالس:

استخدم الوسط الغـذائي MS (Murashige and Skoog, 1962) فـي زراعـة القطـع النباتيـة واستحداث الكالس، المجهز بمستويات مختلفة مـن منظمـات النمـو، حيـث اسـتخدمت الاوكـسينات 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) وNaphaleneacetic acid (NAA) و Indolebutyric acid(IBA) بتراكيز (0.0, 0.1, 0.5) ملغم/لتر ومن السايتوكاينينات استخدم Benzyladenine (BA) بتراكيز (0.0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0) ملغم/لتر، واستخدم السكروز في التجارب الأولية بتركيز 3%، وثبتت الدالة الحامضية (pH) للوسط الغذائي ما بين (5.3-5.5).

استحداث الكالس من الأجزاء النباتية المختلفة لنبات اللوز:

استخدمت البادرات بعمر 30 يوماً والنامية في ظروف معقمة مصدراً للأجزاء النباتيـة المختلفـة لاستحداث الكالس قطعت البادرات إلى أجزاءها (الجذور والأوراق والسيقان) وبمعدل 1.0 سم تقريباً فـي الطول للسيقان والجذور، أما قطع الأوراق بمساحة 2سم^2 تقريباً، ثم زرعت الأجزاء النباتية لنبات اللـوز على الأوساط الغذائية المعقمة والحاوية على BA و NAA بتركيز 1.0 ملغم/لتر لكل منهما، ثـم نقلـت الأوساط الغذائية الحاوية على الأجزاء النباتية إلى حاضنة النمو بدرجة حرارة 18 ± 2 ^{o}م وبشدة إضـاءة 2000 لوكس بتواقت ضوئي لمدة 16 ساعة إضاءة و 8 ساعات ظلام.

تمايز كالس نبات اللوز إلى الفروع الخضرية:

نقل الكالس بعمر 90 يوماً والنامي على الوسط الغذائي الحاوي علـى BA و NAA بتركيـز 0.5 ملغم/لتر لكل منهما الى أوساط غذائية أخرى حاوية على BA فقط وبتراكيز (1.0, 2.0, 3.0) ملغم/لتـر. بعد ذلك حفظت الأوساط الغذائية الحاوية على الكالس في حاضنة النمو بدرجة حرارة 18 ± 2 ^{o}م وبشدة إضاءة 2000 لوكس بتعاقب يومي لمدة 16 ساعة إضاءة و 8 ساعات ظلام.

تجذير الفروع الخضرية:

نقلت الفروع الخضرية المتكونة من قطع سيقان البادرات النامية على وسط MS الحاوي على 1.0 ملغم/لتر من BA و 0.1 ملغم/لتر من IBA، إلى أوساط غذائية أخرى حاوية على IBA فقط وبتراكيـز (0.1, 1.0, 2.0, 3.0) ملغم/لتر، ثم نقلت النباتات المتكونة إلى الحقل بعد عملية التقسية.

تأثير تراكيز متعددة من السكروز:

استخدمت تراكيز متعددة من السكروز تراوحت من % (1-10) لبيان تأثيرهـا علـى اسـتحداث الكالس وتكوين الفروع الخضرية.

النتائج

تعقيم البذور:

أظهرت النتائج أن نسبة الإنبات لبذور اللوز بلغت % 100 عند معاملتها بالكحول الاثيلـي % 96 ولمدة دقيقتين ومن ثم معاملتها بالمحلول القاصر لفترة 8.0 دقائق، إضافة إلى ذلك أعطت هـذه المعاملـة بادرات حية غير ملوثة ونامية بشكل جيد. وان إطالة فترة التعقيم بالمحلول القاصر أو تقليلهـا أدت إلـى انخفاض نسبة إنبات البذور (الجدول 1)، لذلك اعتمدت الفترة 8.0 دقائق لتعقيم البذور في جميع التجارب اللاحقة.

الجدول 1: تأثير فترة التعقيم لمادة هايبوكلورايت الصوديوم (القاصـر) علـى نـسبة الانبـات والتلوث في بذور اللوز. كل قيمة تمثل معدل عشرة مكررات.

فترة التعقيم (دقيقة)	نسبة الإنبات (%)	نسبة التلوث (%)
2	82	40
4	95	30
6	97	12
8	100	0
10	90	0

$$\text{نسبة الإنبات (\%)} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{عدد البذور المزروعة}} \times 100$$

$$\text{نسبة التلوث (\%)} = \frac{\text{عدد البذور الملوثة}}{\text{عدد البذور المزروعة}} \times 100$$

استحداث الكالس من الأجزاء النباتية المختلفة:

يشير الجدول (2) إلى أن نسبة استحداث ونشوء الكالس اختلفت باختلاف مصدر القطعـة النباتيـة المزروعة على أوساط غذائية حاوية على BA و NAA بتركيز 1.0 ملغم/لتر لكل منهما. وكانت قطـع سيقان بادرات اللوز من افضل المصادر المستخدمة لاستحداث الكالس، حيث أعطت نسبة استحداث عالية بلغت 90% في فترة زمنية 14 يوم مقارنة بباقي القطع النباتية من الجذور والأوراق، لذا اعتمدت قطـع السيقان لبادرات اللوز في استحداث ونشوء الكالس وتكوين الفروع الخضرية في هذه الدراسة.

الجدول 2: استجابة الأجزاء النباتية لتحفيز نشوء الكالس من الأجزاء النباتية المختلفة لنبات اللوز والنامية على وسط MS المدعم بـ BA و NAA بتركيز 1.0 ملغم/لتر لكل منهما . قيمة تمثل معـدل عشرة مكررات.

مصدر القطع النباتية	نسبة استحداث الكالس (%)	الفترة الزمنية اللازمة لاستحداث الكالس (يوم)
قطع الجذور	20	25
قطع السيقان	90	14
قطع الأوراق	60	18

$$\text{نسبة استحداث الكالس (\%)} = \frac{\text{عدد القطع التي كونت كالس}}{\text{عدد القطع المزروعة}} \times 100$$

تأثير منظمات النمو المستخدمة على استحداث ونمو وتمايز كالس نبات اللوز:

تأثير إضافة BA و 2,4-D:

حدد الوزن الطري للكالس النامي على الأوساط الغذائية الحاوية على BA و 2,4-D بتراكيز مختلفة بعد مرور فترة نمو 90 يوماً، يشير الجدول (3) إلى أن معدل الوزن الطـري للكـالس ازداد بـصورة ملحوظة بعد نموه على وسط MS الحاوي على BA بتركيـز 1.0 ملغـم/لتـر و 2,4-D بتركيـز 0.1 ملغم/لتر، بلغ الوزن الطري 1.55 غرام بعد 90 يوماً من النمو على ذلك الوسط.

الجدول 3: معدل الوزن الطري لكالس نبات اللوز النامي على الوسط الغذائي MS المدعم بتراكيز مختلفة من BA و 2,4-D بعد فترة نمو 90 يوماً . كل قيمة تمثل معدل عشرة مكررات.

منظمات النمو	التراكيز (ملغم/لتر)									
	معدل الوزن الطري (غرام)									
BA / 2,4-D	0.0	الخطأ القياسي	0.5	الخطأ القياسي	1.0	الخطأ القياسي	2.0	الخطأ القياسي	3.0	الخطأ القياسي
0.0	0.050	± 0.025	0.331	± 0.081	0.221	± 0.151	0.341	± 0.031	*	
0.1	0.252	± 0.020	0.652	± 0.111	1.550	± 0.022	0.425	± 0.121	0.331	± 0.021
0.5	0.350	± 0.111	0.825	± 0.141	0.722	± 0.011	± 0.364	± 0.111	0.312	± 0.015

*عدم استحداث الكالس.

تأثير إضافة BA و NAA:

تشير النتائج في الجدول (4) بأن أفضل الأوساط المشجعة لاستحداث ونمو الكالس هـي الأوسـاط الغذائية الحاوية على تراكيز مختلفة من BA و NAA مقارنة باستخدام BA و 2,4-D (الجدول 3) بـدلاً من NAA. ويبدو واضحاً بأن إضافة BA و NAA بتركيز 0.5 ملغم/لتر لكل منهما أعطى أعلـى مـا يمكن من الوزن الطري بعد مرور فترة نمو 90 يوماً على ذلك الوسط الغذائي. بلغ الوزن الطري مقـدار 2.555 غرام، وتميز الكالس على هذا الوسط بتوامه المتماسك ولونه الأخضر الداكن (الصورة 1).

الجدول 4: معدل الوزن الطري لكالس نبات اللوز النامي على الوسط الغذائي MS المدعم بتراكيز مختلفـة من BA و NAA بعد فترة نمو 90 يوماً. كل قيمة تمثل معدل عشرة مكررات.

منظمات النمو	التراكيز (ملغم/لتر)									
	معدل الوزن الطري (غرام)									
BA / NAA	0.0	الخطأ القياسي	0.5	الخطأ القياسي	1.0	الخطأ القياسي	2.0	الخطأ القياسي	3.0	الخطأ القياسي
0.0	*	± 0.021	0.421	± 0.121	0.221	± 0.041	0.044	± 0.018	*	
0.1	0.285	± 0.043	0.778	± 0.098	0.891	± 0.121	0.121	± 0.011	0.111	± 0.011
0.5	0.152	± 0.081	2.555	± 0.131	0.662	± 0.231	± 0.251	± 0.020	*	

*عدم استحداث الكالس.

تأثير إضافة BA و IBA:

إن استخدام BA بتركيز 2.0 ملغم/لتر لوحده أو مع IBA بتركيز 0.1 ملغم/لتر أدى إلى استحداث وتكوين الكالس من القطع المزروعة بدرجة ضعيفة جدا (الجدول 5) مقارنة باستخدام 2,4-D و NAA بدلاً من IBA (الجدول 3 و 4 على التوالي). أما التراكيز الأخرى من BA و IBA فلم يحصل فيها استجابة لاستحداث الكالس نهائياً، حيث شجع وجودها، في الأوساط الغذائية، تكوين الفروع الخضرية من قطع سيقان بادرات اللوز المزروعة على تلك الأوساط بعد فترة نمو 90 يوماً. وكان أفضل التراكيز المشجعة لنمو الفروع الخضرية من حيث عددها وأطولها هو 1.0 ملغم/لتر من BA و 0.1 ملغم/لتر من IBA، بلغ عدد الفروع الخضرية 5.0 فروع، وبمعدل طول 6.5 سم بعد 90 يوماً من بدء الزراعة (الصورة 2) و أعطى التركيز 2.0 ملغم/لتر من BA و 0.5 ملغم/لتر من IBA عدد من الفروع الخضرية الضعيفة النمو مع تكوين كمية قليلة من الكالس عند قواعد تلك الفروع الخضرية (الصورة 3).

الجدول 5: عدد الفروع الخضرية النامية من قطع سيقان بادرات نبات اللوز بعد زراعتها على وسط MS المدعم بتراكيز مختلفة من BA و IBA وبعد فترة نمو90 يوما. كل قيمة تمثل معدل عشرة مكررات.

منظمات النمو	التراكيز (ملغم / لتر)				
BA / IBA	عدد الفروع الخضرية / قطعة نباتية				
	0.0	0.5	1.0	2.0	3.0
0.0	**	2	3	*	**
0.1	**	3	5	*	**
0.5	**	2	2	***	**

*استحداث كالس ضعيف

** عدم استحداث الكالس أو نشوء فروع خضرية

***فروع خضرية مع كالس

تمايز الكالس إلى الفروع الخضرية:

أدى نقل الكالس النامي على وسط MS الحاوي على BA و NAA بتركيز 0.5 ملغم/لتر لكل منهما (أفضل وسط لاستحداث الكالس في جدول 4) وبعمر 90 يوماً إلى أوساط غذائية أخرى حاوية على BA فقط وبتراكيز (1.0, 2.0, 3.0) ملغم/لتر، إلى تمايز الكالس إلى عدد من الفروع الخضرية بعد فترة نمو 30 يوماً من نقله إلى تلك الأوساط الغذائية. وتوضح الصورة (4) تمايز الكالس إلى عدد من الفروع الخضرية (3 فروع) مع اسوداد لون الكالس النامي على وسط MS الحاوي على 2.0 ملغم/لتر من BA بعد فترة نمو 30 يوماً من نقله إلى ذلك الوسط ، ويعد 2.0 ملغم/لتر من BA أفضل وسط لتمايز الكالس إلى الفروع الخضرية مقارنة بتركيز 1.0 و 3.0 ملغم/لتر من BA.

تأثير إضافة السكروز على استحداث ونشوء الكالس وتكوين الفروع الخضرية:

تشير النتائج إن إضافة السكروز بتراكيز متعددة % (1-10) إلى وسط MS الحاوي على BA و NAA بتركيز 0.5 ملغم/لتر لكل منهما (أفضل وسط لاستحداث الكالس في الجدول (4)، أدت إلى

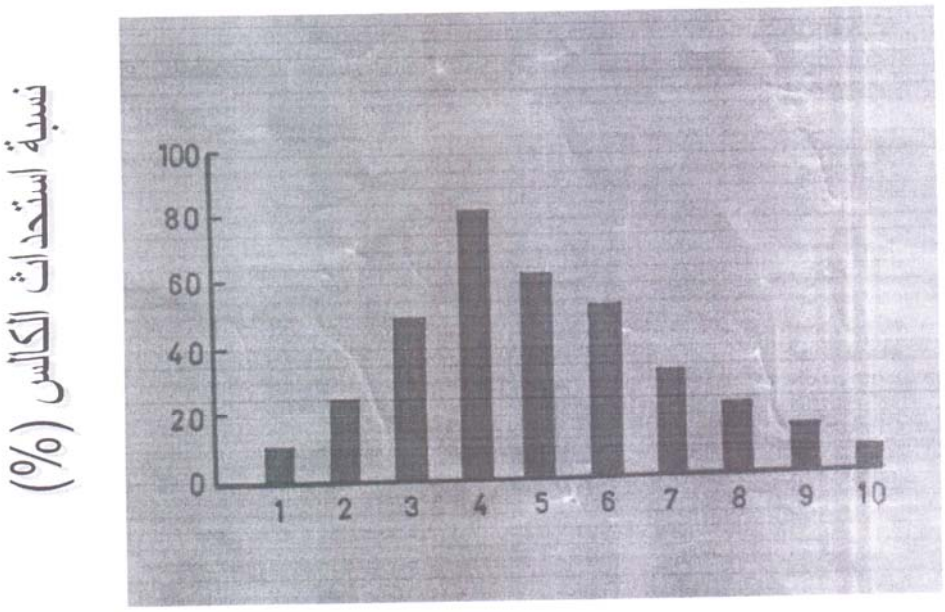
استحداث الكالس من قطع السيقان المزروعة على تلك الأوساط بمستويات مختلفة، ويشير الشكل (1) إلى أن افضل استجابة لقطع سيقان بادرات اللوز لاستحداث الكالس بعد مرور 30 يوماً من النمو في وسط MS المضاف إليه السكروز بتركيز 4% ، حيث بلغت نسبة استحداث الكالس 8%، أما باقي الأوساط فتباينت فيها نسبة الاستجابة اعتماداً على تركيز السكروز المضاف وتراوحت النسبة من (18-60) %. وأشارت النتائج أيضاً بأن إضافة السكروز بتراكيز مختلفة إلى وسط MS المضاف إليه BA بتركيز 1.0 ملغم/لتر

صورة 1: كالس نبات اللوز يعمر 90يوما النامي على وسط MS المدعم بتركيز 0.5 ملغم / لتر من BA و NAA

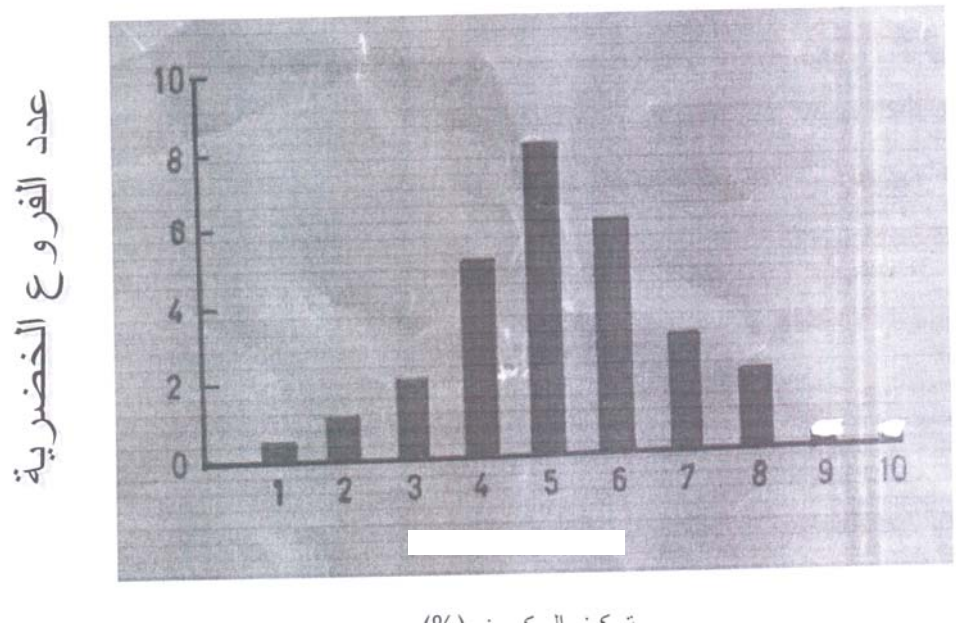
صورة 2 : نشوء الفروع الخضرية من قطع سيقان بادرات اللوز النامية على وسط MS المدعم بتركيز 1.0 ملغم /لتر من BA و0.1 ملغم / لتر من IBA

صورة 3: نشوء الكالس عند قواعد الفروع الخضرية النامية من قطع سيقان بادرات اللوز المزروعة على وسط MS المدعم بتركيز 2.0 ملغم /لتر من BA و 0.5 ملغم /لتر من IBA

صورة 4 : تمايز كالس نبات اللوز الى الفروع الخضرية بعد فترة 30 يوما من نقله الى وسط MS المدعم بـ 2.0 ملغم /لتر من BA



الشكل 1 : تأثير تراكيز متعددة من السكروز على استحداث الكالس من قطع سيقان بادرات اللوز الناميـة على وسط MS المدعم بتركيز 0.5 ملغم / لتر من BA و NAA بعد مرور 30 يومـاً مـن الزراعة، كل قيمة تمثل معدل عشرة مكررات



الشكل 2 : تأثير تراكيز متعددة من السكروز على نشوء الفروع الخضرية من قطع سيقان بادرات اللـوز النامية على وسط MS المدعم بتركيز 1.0 ملغم / لتر من BA و 0.1 ملغم / لتر من IBA بعد مرور 90 يوماً من الزراعة، كل قيمة تمثل معدل 10 مكررات.

و IBA بتركيز 0.1 ملغم/لتر (أفضل وسط لنشوء وتكوين الفروع الخضرية في جدول 5)، أثرت على عدد الفروع الخضرية النامية من القطع المزروعة ولكن لم يؤثر على أطوالها، بلغ عـدد الفـروع الخضرية (الشكل 2). ولم يحصل تمايز للقطع المزروعة إلى الفروع الخضرية في الأوساط الحاوية على تراكيز عالية من السكروز % 9.0 و % 10.

نقل النباتات إلى التربة بعد تجذيرها:

تم نقل الفروع الخضرية النامية من قطع السيقان المزروعة على وسط MS الحـاوي علـى BA بتركيز 1.0 ملغم/لتر و IBA بتركيز 0.1 ملغم/لتر إلى أوساط غذائية أخرى حاوية علـى IBA لوحـده وبتراكيز (3.0, 2.0, 1.0, 0.1) ملغم/لتر. وأدى التركيز 2.0 ملغم/لتر من IBA إلى تحفيز تكوين الجذور بعد فترة نمو 50 يوماً عند نهايات الفروع الخضرية ، وبعد عملية التقسية تم نقل النباتـات الناميـة إلـى الحقل.

المناقشة

تعد الاوكسينات والسايتوكاينينات من الهرمونات النباتية التي لها دور مهم جداً في السيطرة علـى عملية نمو النبات. واستخدمت هذه الهرمونات بشكل واسع في تقانة زراعة الأنـسجة النباتيـة، وأشـار (Skoog and Miller, 1957) بوجود علاقة بين تركيز الاوكسينات والسايتوكاينينات في الوسط الغـذائي من جهة وبين طبيعة نمو وتخصص الجزء النباتي المزروع في ذلك الوسط من جهة أخرى. إذ وجـد أن زيادة نسبة الاوكسينات إلى السايتوكاينينات تؤدي إلى جعل ذلك الوسط محفزاً لتكوين المجموع الجـذري للأجزاء النباتية المزروعة فيه، في حين أن زيادة نسبة السايتوكاينينات إلى الاوكسينات يجعـل الوسـط الغذائي مهيئاً لتحفيز الأجزاء النباتية على النمو وتكوين فروع جديدة. إلا أنه لا توجد نسبة معينة لكل من الاوكسينات والسايتوكاينينات فيما يخص كل نوع من النباتات وكل جزء نباتي ضمن النوع النباتي الواحد، وعلى هذا فإن تحديد هذه النسب يكون مختلفاً باختلاف الأنواع النباتية ويتم معرفتها من خـلال البحـث والتجربة.

أشارت النتائج إلى أن افضل فترة لتعقيم بذور اللوز بمحلول القاصر كانت 8 دقـائق، وان نـسبة الإنبات والتلوث قد تأثرت بإطالة أو تقليل مدة التعقيم (الجدول 1) فالوقت اللازم للتعقيم والقـضاء علـى الملوثات مع الحفاظ على حيوية البذور مهم جداً ويختلف حسب نوع النبات (محمد وعمر، 1990).

اعتمد في هذه الدراسة استحداث الكالس من أجزاء نباتية مختلفة لبادرات اللـوز المعقمـة (قطـع السيقان والجذور والأوراق). وأشارت النتائج إلى أن قطع السيقان كانت أسرع من حيث الوقـت الـلازم لاستحداث الكالس من بقية الأجزاء الأخرى وهي الأوراق والجذور (الجدول 2). وهذا ربما يعزى إلـى حيوية الجزء النباتي وملاءمته للوسط الغذائي المستخدم (Murashige, 1974).

تبين من نتائج هذه الدراسة وباستعمال تراكيز مختلفة من الاوكسينات 2,4-D و NAA و IBA مع تراكيز مختلفة من BA، إن افضل الأوساط المشجعة لاستحداث ونمو الكالس هو الوسط الغذائي الحـاوي على BA و NAA بتركيز 0.5 ملغم/لتر لكل منهما ، بلغ معدل الوزن الطري أعلى ما يمكـن بعـد 90 يوماً من النمو (2.555 غم) مقارنة بباقي الاوكسينات المستخدمة في البحث (2,4-D و IBA)، ووجـد أن

بعض التراكيز من IBA مع BA حفزت استحداث الكالس ولكن بدرجة قليلة جداً ، ويعزى ذلك إلى أن إضافة IBA ربما لم يصل إلى التركيز الأمثل لتحفيز الكالس، حيث يتطلب تكوين الكالس وجود الاوكسين والسايتوكاينين بنسبة معينة تتلائم مع نوع النبات (Street, 1977).

إن هذا الاختلاف في تأثير الاوكسينات على استحداث وتكوين الكالس جاء مطابق لما وجد في الدراسات السابقة على نبات اللوز (Ainsley et al., 2000; Gurel.and.Gulsen,.1998)،

وكذلك على نباتات أخرى مثل زهرة الشمس (Mohammed et al., 1986) ونبات الخس (Mohammed and Abood, 1990)، أما باقي الأوساط الغذائية الحاوية على IBA و BA شجعت تكوين الفروع الخضرية من قطع سيقان البادرات من دون تكوين الكالس، بدرجات متفاوتة معتمدة بذلك على التراكيز المستخدمة من BA و IBA. وأشارت النتائج إلى أن زيادة تركيز BA (1.0 ملغم/لتر) وقلة تركيز IBA (0.1 ملغم/لتر) في الوسط الغذائي أدى إلى زيادة في عدد الفروع الخضرية مقارنة ببقي الأوساط الغذائية المستخدمة، بينما التراكيز العالية من BA (2.0 و 3.0 ملغم/لتر) لم تشجع تكوين الفروع الخضرية، لذا فان النسبة بين الاوكسينات والسايتوكاينيات ضرورية جداً من اجل تحديد اتجاه النمو والتمايز (Gurel and Gulsen, 1998; Mohammad and Abood, 1990).

وأشارت النتائج أيضا إلى تكوين الكالس عند قواعد الفروع الخضرية عند إضافة BA بتركيز 2.0 ملغم/لتر و IBA بتركيز 0.5 ملغم/لتر مما سبب ضعف في نمو الفروع الخضرية، وربما يعود سبب ذلك إلى تأثير المركبات الفينولية التي تفرزها خلايا الكالس والتي تتراكم عند قاعدة الفروع الخضرية أو بسبب تنافس خلايا الكالس مع الفروع الخضرية على المواد الغذائية في الوسط الغذائي (Gurel and Gulsen, 1998). إن تمايز الكالس إلى فروع خضرية مع تغير لون الكالس من الأخضر إلى الأسود عند نقله من أوساط غذائية حاوية على BA و NAA إلى أوساط أخرى حاوية على BA فقط، يفسر أن الاوكسين NAA يمتلك فعالية في استحداث ونمو الكالس ويخمد وبقوة تكوين الأعضاء في مزارع الكالس (سلمان، 1988)، بينما تميز الكالس النامي على الأوساط المجهزة بـ 2,4-D و NAA و IBA مع BA بعدم قدرته على التمايز لتكوين الجذور وربما يعود السبب إلى عدم التوصل إلى التركيز الأمثل من ألاوكسينات والذي يتلائم مع المستوى الداخلي له في خلايا الكالس (Scott, 1972) أو بسبب احتياج الكالس لفترة أطول لظهور الجذور كما وجد في نباتات أخرى (الرمضاني، 1985 ; البكر، 2002).

يعد السكروز من المكونات الأساسية للوسط الذي لايمكن الاستغناء عنه مطلقاً, ويستخدم مصدراً للطاقة, حيث يتم تحلله إلى مركبات بسيطة محرراً (ATP) الذي يستخدمه الجزء المزروع في فعاليته الحيوية (محمد وعمر، 1990) وأشارت النتائج في هذا المضمار إلى أن نسبة استحداث الكاس من القطع النباتية لنبات اللوز تأثر بصورة واضحة بتراكيز السكروز المستعملة, فبلغت أعلى نسبة للاستحداث0% 8 عند استخدام السكروز بتركيز % 4. أن نشوء الفروع الخضرية أيضا تأثر بتراكيز السكروز المضافة الى الوسط الغذائي, وافضل تركيز محفز لنشؤ الفروع الخضرية هي 5% , بينما التراكيز العالية من السكروز كانت مثبطة لتكوين الفروع الخضرية, أما التراكيز الواطئة من السكروز أدت إلى تحفز نشوء الفروع ايضا ولكن بدرجة اقل وجاءت هذه النتيجة مقاربة لما وجد في بحوث سابقة على نبات اللوز (Gurel, and Gulsen, 1998).

أشارت العديد من الدراسات إلى صعوبة تجذ ير النباتات الخشبية بصورة عامة (Al-Barazi and Schwabe, 1985) إلا ان نتائج هذه الدراسات أشارت إلى إمكانية تجذ ير الفروع الخضرية النامية مـن قطع سيقان بادرات اللوز باستخدام تركيز عالي من IBA (2 ملغم/لتر) وهذا يعـود إلـى أن ألاوكـسين إضافة إلى دوره في تحفيز الكاس في تراكيز معينة, له دور أيضا في تطور وتخصص الخلايـا لتكـوين الجذور عند استخدامه بتراكيز أخرى (Murashige, 1974).

بصورة عامة يمكن القول بان نتائج هذه الدراسة قد أوضحت لحد مـا دور منظمـات النمـو فـي استحداث ونمو الكالس وتحفيز الفروع الخضرية من قطع سيقان البادرات ومن ثم تجـذيرها والحـصول على نباتات جاهزة نقلت إلى الحقل.

المصادر العربية

البكر، رحاب عبد الجبار، حامد عبد الله, 2002. دور بعض منظمات النمو القياسية والمصنعة حديثاً فـي استحداث ونمو وتمايز الكالس من نبات الحبة السوداء *Nigella sative* L. ومـستوى المركبـات الفعالة فيها. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

الرمضاني، روضة محمد أمين، 1985. تأثير بعض منظمات النمو على استحداث ونمو الكـالس نبـات الفستق *Pistacia vera* L. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

سلمان، محمد عباس، 1988. إكثار النباتات البستنية. جامعة بغداد، العراق.

محمد، عبد المطلب سيد وعمر، مبشر صالح، 1990. المفاهيم الرئيسية في زراعـة الخلايـا والأنـسجة والأعضاء للنبات. مطبعة جامعة الموصل، العراق.

المصادر الأجنبية

Al-Barazi, Z. and Schwab, W., 1985. Studies on possible internal factors involved in determing ease of rooting in cutting of *Pistacia vera* L. and *Pruns avium*, evs colt and F 1211. J. Hort. Sci., Vol.60(4), pp.439:445.

Ainsely, P.J., Collins, G.G. and Sedgley, M., 2000. Adventitious shoot regeneration from leaf explants of almond (*Prunus dulcis* Mill.). Development Biol. Plant, Vol.36, pp.470-470.

Ainsley, P.J., Hammers Chlag, F.A., Collius, G.G. and Sedgley, M., 2001. Regeneration of Almond (*Prunus dulcis* Mill.) from immature seed cotyledons. Plant Cell. Tissue and Organ Culture, pp.221-226.

Arnon, D.I and Hoagland, D.R., 1940. Crop production in artifical culture solutions and in soil with special reference to factors influencing yields and absorption of organic nutrients. Soil Sci., Vol.50, 463 p..

Arnon, D.I and Hoagland, D.R., 1944. The investigation of plant nutrition by artificial culture methods. Biol. Rev., Vol.19, pp.55-67.

Elleuch, H., Gazeau, C., David, H. and David, A. 1998. Cryopresevation does not affect the expression of a foreign Sam gene in transonic papaver somniferous cells. Plant Cell Rep., Vol.18, pp.94-98.

Gradziel, T.M. and Weinbaum, S.A., 1999. High humidity reduces anther dehiscence in apricot peach and almond. Hort. Science, Vol.34, pp.322-325.

Gurel, S. and Gulsen, 1998. The effects of IBA and BAP on *In vitro* shoot production of almond (*Amygdalus communis*). Turk. J. Bot., Vol.22, pp.375-380.

Kartha, K.K., Leung, N.L. and Gamborg, O.L., 1979. Freeze-Preservating of pea meristems in liquid nitrogen and subsequent plant regeneration. Plant Sci. Bot. Lett., Vol.15, pp.7-15.

Kester, D.E., Tabachnik. L. Negureoles, J., 1977. Use of micropropagation and tissue culture to investigation genetic disorders in almond cultivars. Acta Horticul., Vol.78, pp.95-110.

Marino, G. and Ventura, M., 1997. The influence of ethylene *In vitro* rooting of GF 677 (*Prunus persica*, *Prunus amygdalus*)_hybrid peach rootstock. *In vitro* Cell Development Biol. Plant, Vol.33, pp.26-29.

Mckenry, M.V. and Kretsch, J., 1987. Survey of nematodes associated with almond production in California (USA). Plant Disease, Vol.71(1), pp.71-73.

Menon, A. and Methera, P.N., 1974. Organogenesis and plantlet formation *In vitro* in almond. Bot. Gaz., Vol.135, pp.61-73.

Mohammed, A.M.S., Al-Barhawi, R.K. and Abood, S.A., 1986. Effect of some growth regulators on the initiation and growth of sunflower callus. J. Univ. Kuwait (Sci.), Vol.13, pp.199-207.

Mohammed, A.M.S. and Abood, S.A., 1990. Propagation of lettuce (*Lactuca sativa* c.v. longiflora) by tissue culture. E/E. SCWA, ID, 89, Conf. 1110.

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

Murashige, T., 1974. Plant Propagation through tissue culture. Ann. Rev. Plant, Physiol., Vol.25, pp.135-166.

Sakai, A. and Nishiyama, Y., 1978. Cryopreservation of witer vegetative buds of hardly fruit trees in liquid nitrogen. Hort. Sci., Vol.13, pp.225-227.

Sedgley, M. and Collins, G., 2002. Almond improvement in Australia-Fruit, Vol.57, pp.129-134.

Scott, T.K., 1972. Auxins and roots Ann. Rev. Plant Physiol, Vol.23, pp.235-258.

Skoog, F. and Miller, C.O., 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *In vitro* . Symp. Soc. Exp. Biol., Vol.11, pp.148-130.

Soler, L. and Canellas, L., 1988. Oil content and fatty acid composition of developing almond seeds. J. Agr. Food Chemist., Vol.36(4), pp.695-697.

Stephonkus, P.L., 1985. Fundamental aspects of cryoinjury as related to crypop-reserration of plant cells and organs. Biotectnol Plant Sci., pp.145-159.

Street, H.E., 1977. Plant Tissue and Cell Culture. Blackwell Scientific publication Oxford, London, Edinburgh, Melbourne.