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

استجابة نبات الشليك للإكثار، ونشوء الكالس ، وإنتاج بعض المركبات الطبية 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

عماد خلف نجم العزاوي

بإشراف

أ.د وسام مالك داؤود　　م.د إياد عاصي عبيد

1433هـ　　2012م

إلى /

بلدي الغالي .....

إلى /

كل المؤمنين بلغة الحق والجلال

الرافضين نزعة الحقد والشر والقتال .....

إلى /

كل الصابرين من الجنوب إلى الشمال .....

إلى /

الأستاذ الدكتور وسام مالك والدكتور إياد عاصي

أحييكم بتحية الوفي لمن يستحق الوفاء .....

أهدي ثمرة جهدي هذه

بسم الله الرحمن الرحيم

((أَلَمْ تَرَ أَنَّ اللَّهَ أَنزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَسَلَكَهُ يَنَابِيعَ فِي الأَرْضِ ثُمَّ يُخْرِجُ بِهِ زَرْعًا مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ ثُمَّ يَهِيجُ فَتَرَاهُ مُصْفَرًّا ثُمَّ يَجْعَلُهُ حُطَامًا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَذِكْرَى لأُولِي الأَلْبَابِ))

صدق الله العظيم

الاية (21) سورة الزمر

قائمة المحتويات

الرقم	الموضوع	الصفحة
1	المقدمة	1
2	استعراض المراجع	4
1-2	زراعة الأنسجة النباتية	4
2-2	دور منظمات النمو النباتية في نمو وتضاعف نبات الشليك خارج الجسم الحي	5
2 - 3	دور منظمات النمو النباتية في نشوء الكالس	11
2 - 4	الاهمية الطبية والعلاجية للمركبات الفينولية	14
2 - 4 - 1	انتاج المركبات ذات الاستخدامات الطبية من النباتات النسيجية والنامية في الحقل	15
3	المواد وطرائق العمل	18
3 - 1	التجارب الحقلية وتهيئة الأمهات	18
3 - 1 - 1	زراعة بذور شليك *Fragaria vesca* L.	18
3 - 1 - 2	زراعة شتلات الشليك صنف Salwan	19
3 - 2	التجارب المختبرية (الزراعة خارج الجسم الحي)	19
3-2 - 1	تعقيم البذور	19
3-2 - 2	تحضير الوسط الغذائي	19
3-2 - 3	تعقيم الادوات	20
3 - 3	التجارب والمعاملات	21
3-3 - 1	تأثير الجبرلين في انبات البذور ونمو البادرات	21
3-3 - 2	تأثير تراكيز البنزيل ادنين في انبات البذور	22
3-3 - 3	تأثير تراكيز البنزيل ادنين في نمو الفروع وتضاعفها	22
3-3 - 4	تأثير الكاينتين في انبات البذور	22
3-3 - 5	تأثير تراكيز الكاينتين في نمو الفروع وتضاعفها	22

الرقم	الموضوع	الصفحة
3 - 4	تجارب نشوء الكالس ونموه للصنف Salwan	23
3-4 - 1	تأثير إضافة NAA	23
3-4 - 2	تأثير تداخل NAA مع BA	23
3-4 - 3	تأثير تداخل NAA مع .Kin	23
3-4 - 4	تأثير إضافة 2,4-D	23
3-4 - 5	تأثير تداخل 2,4-D مع .Kin	24
3-4 - 6	تأثير تداخل 2,4-D مع BA	24
3 - 5	تجربة نشوء الكالس للشليك *Fragaria vesca*	24
3 - 5 -1	تأثير تداخل NAA مع . Kin في نشوء الكالس ونموه	24
3 - 6	التقدير الكمي والنوعي للمركبات الفينولية	24
3 - 7	التصميم التجريبي والتحليل الاحصائي	25
4	النتائج والمناقشة	26
4 – 1	التجربة الحقلية	26
4 – 1 – 1	تأثير نقع بذور الشليك *Fragaria vesca* L في منظمات النمو النباتية	26
4 – 2	التجارب المختبرية	27
4 – 2 – 1	تأثير اضافة الجبرلين في انبات البذور ونمو بادرات الشليك *F. vesca* L.	27
4 – 2 – 2	تأثير تراكيز البنزيل ادنين في انبات بذور الشليك *F. vesca* L.	29
4 – 2 – 3	تأثير تراكيز البنزيل ادنين في تضاعف بادرات الشليك *F. vesca* L.	30
4 – 2 – 4	تأثير تراكيز البنزيل ادنين في تضاعف الفروع للشليك *F. vesca* L.	31
4 – 2 – 5	تأثير اضافة الكاينتين في انبات البذور للشليك *F. vesca* L.	32
4 - 2 – 6	تأثير اضافة الكاينتين في تضاعف الفروع للشليك *F. vesca* L.	33
4 – 2 – 7	تأثير تداخل IBA مع .Kin أو BA في تحفيز استطالة الفروع	35
4 – 3	تأثير منظمات النمو في نشوء الكالس ونموه للصنف Salwan	36

الرقم	الموضوع	الصفحة
4– 3–1	تأثير NAA	36
4– 3 – 2	تأثير إضافة NAA مع BA	38
4– 3 – 3	تأثير تداخل .Kin مع NAA	42
4– 3 – 4	تأثير 2,4-D	46
4 – 3 – 5	تأثير تداخل .Kin مع 2,4-D	48
4 – 3 – 6	تأثير تداخل BA مع 2,4-D	52
4– 4	تقدير المركبات الفينولية من النباتات النسيجية والنامية في الحقل للشليك *Fragaria vesca* L. والصنف Salwan (مايكروغرام /مل)	57
--	الاستنتاجات	63
--	التوصيات	63
--	الملاحق	75 -64
--	المصادر العربية	76
--	المصادر الاجنبية	79
--	الخلاصة الاجنبية	91

قائمة الجداول

الرقم	عنوان الجدول	الصفحة
1	مكونات الوسط الغذائي MS المحور (استبدل الحديد بالحديد المخلبي)	21 – 20
2	تأثير مستويات GA_3 في انبات البذور ونمو بادرات الشليك *Fragaria vesca* L. بعد مرور 8 اسابيع من الزراعة على وسط MS	28
3	تأثير تراكيز BA في نمو وتضاعف البادرات للشليك *Fragaria vesca* L. بعد مرور 4 اسابيع من الزراعة على وسط MS	30
4	تأتير تراكيز BA في نمو وتضاعف الفروع للشليك *Fragaria vesca* بعد مرور 8 اسابيع من الزراعة على وسط MS	31
5	تأثير تراكيز .Kin في نمو وتضاعف الفروع للشليك *Fragaria vesca* L. بعد مرور 4 اسابيع من الزراعة على وسط MS	34
6	تأثير NAA في نسبة تكون الكالس و وزنه الطري والجاف المستحث من الاوراق لنبات الشليك صنف Salwan بعد مرور 8 اسابيع من الزراعة على وسط MS	37
7	تاثير تداخل BA مع NAA في نسبة تكون الكالس المستحث من الاوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 اسابيع من الزراعة على وسط MS	38
8	تاثير تداخل BA مع NAA في الوزن الطري للكالس المستحث من الاوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 اسابيع من الزراعة على وسط MS	40
9	تاثير تداخل BA مع NAA في الوزن الجاف للكالس المستحث من الاوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 اسابيع من الزراعة على وسط MS	41

الرقم	عنوان الجدول	الصفحة
10	تأثير تداخل .Kin مع NAA في نسبة تكون الكالس من الأوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 اسابيع من الزراعة على وسط MS	43
11	تأثير تداخل .Kin مع NAA في الوزن الطري للكالس المستحث من الأوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS	44
12	تاثير تداخل .Kin مع NAA في الوزن الجاف للكالس المستحث من الاوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 اسابيع من الزراعة على وسط MS	45
13	تأثير مستويات 2,4-D في نسبة تكون الكالس ووزنه الطري والجاف للشليك صنف Salwan من الاوراق بعد مرور 8 اسابيع من الزراعة على وسط MS	47
14	تأثير تداخل.Kin مع 2,4-D في نسبة تكون الكالس من الأوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS	49
15	تاثير تداخل.Kin مع 2,4-D في الوزن الطري للكالس المستحث من الأوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS	50
16	تأثير تداخل.Kin مع 2,4-D في الوزن الجاف للكالس المستحث من الأوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS	51
17	تأثير تداخل BA مع 2,4-D في نسبة تكون الكالس من الأوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS	53

الرقم	عنوان الجدول	الصفحة
18	تأثير تداخل BA مع 2,4-D في الوزن الطري للكالس المستحث من الأوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS	54
19	تأثير تداخل BA مع 2,4-D في الوزن الجاف للكالس المستحث من الأوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS	55
20	الفينولات المفصولة بتقنية الكروموتوكرافيا مايكروغرام /مل من عينات الشليك *Fragaria Vesca* والصنف Salwan	62

قائمة الأشكال

الرقم	عنوان الشكل	الصفحة
1	تأثير نقع بذور الشليك *Fragaria vesca* L. بالبنزيل ادنين والكاينتين والجبرلين في انبات البذور في ظروف الحقل	26
2	تأثير مستويات الـ BA في انبات بذور الشليك *Fragaria vesca* L. بعد مرور 4 اسابيع من الزراعة على وسط MS	29
3	تأثير مستويات . Kin في انبات بذور الشليك *Fragaria vesca* L. بعد مرور 4 اسابيع من الزراعة على وسط MS	33
4	فروع للشليك *Fragaria vesca* بعد مرور 8 اسابيع من الزراعة ، **A** – عند اضافة 1 ملغم/ لتر .Kin الى الوسط الغذائي ، **B** – وسط مجهز بالتراكيز 0.5 ملغم/ لتر .Kin + 0.3 ملغم/ لتر IBA	35

قائمة الملاحق

الرقم	الموضوع	الصفحة
1	شتلات للشليك *Fragaria vesca* النامي في الحقل بعد مرور 7 اشهر من الزراعة	64
2	كالس شليك ناشئ على وسط غذائي MS بعد مرور 8 اسابيع من الزراعة ، **A-** *vesca* عند إضافة 0.3 ملغم/ لتر Kin + 1 ملغم/ لتر NAA ، **B** – Salwan عند إضافة 1 ملغم/ لتر .Kin + 1 ملغم/ لتر 2,4-D	65
3	الفينولات المقدرة بتقنية الكروماتوكرافيا من عينات نبات الشليك *Fragaria vesca* وSalwan القياسية	66
4	المساحة وزمن الاحتجاز لعينات الشليك *Fragaria vesca* وSalwan في جهاز HPLC القياسية	66
5	المساحة وزمن الاحتجاز في جهاز HPLC لعينة الكالس النامي على الوسط الغذائي المجهز بمنظم النمو 2,4-D	67
6	المركبات الفينولية المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من الكالس النامي على الوسط الغذائي المجهز بمنظم النمو 2,4-D	67
7	المساحة وزمن الاحتجاز في جهاز HPLC لعينة الكالس النامي على الوسط الغذائي المجهز بمنظمي النمو .2,4-D + Kin	68
8	المركبات الفينولية المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من الكالس النامي على الوسط الغذائي المجهز بمنظمي النمو .2,4-D +Kin	68
9	المساحة وزمن الاحتجاز في جهاز HPLC لعينة الكالس النامي على الوسط الغذائي المجهز بمنظمي النمو NAA + BA	69
10	المركبات الفينولية المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من الكالس النامي على الوسط الغذائي المجهز بمنظمي النمو NAA + BA .	69
11	المساحة وزمن الاحتجاز في جهاز HPLC لعينة الاوراق للنبات النامي في الحقل للصنف Salwan	70
12	المركبات الفينولية المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من أوراق الصنف Salwan النبات النامي في الحقل	70
13	المساحة وزمن الاحتجاز في جهاز HPLC لعينة الكالس النامي على الوسط الغذائي المجهز بمنظمي النمو .NAA + Kin للشليك *Fragaria Vesca*	71

الرقم	الموضوع	الصفحة
14	المركبات الفينولية المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من الكالس النامي على الوسط الغذائي المجهز بمنظمي النمو NAA+Kin. للشليك *Fragaria vesca* .	71
15	المساحة وزمن الاحتجاز في جهاز HPLC لعينة الاوراق للنبات النامي في الحقل للشليك *Fragaria Vesca*	72
16	المركبات الفينولية المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من أوراق النبات النامي في الحقل للشليك *Fragaria vesca*	72
17	المساحة وزمن الاحتجاز في جهاز HPLC لعينة الجذور للنبات النامي في الحقل للشليك *Fragaria Vesca*	73
18	المركبات الفينولية المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من جذور النبات النامي في الحقل للشليك *Fragaria vesca*	73
19	المساحة وزمن الاحتجاز في جهاز HPLC لعينة الأزهار للنبات النامي في الحقل للشليك *Fragaria Vesca*	74
20	المركبات الفينولية المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من أزهار النبات النامي في الحقل للشليك *Fragaria vesca*	74
21	مراحل النمو والاكثار وانتاج الكالس وتقدير المركبات الفينولية من الانسجة المختلفة للشليك	75

الشكر والتقدير

الحمد لله والشكر لله الذي علَم بالقلم، علم الإنسان ما لم يعلم على فضائله ونعمته والصلاة والسلام على نبينا محمد صلى الله عليه وسلم.

من دواعي سروري بعد الانتهاء من انجاز هذه الرسالة . بفضل الله تعالى . أن أتقدم بجزيل الشكر والتقدير إلى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة على جهودهم المبذولة في دعم البحث العلمي وإتاحتهم الفرصة لي لإكمال دراستي ، وشكري وتقديري إلى رئاسة قسم علوم الحياة ، وكل الشكر والتقدير والامتنان إلى عمادة كلية الزراعة /جامعة ديالى لإتاحة الفرصة لإكمال بحثي في مختبراتهم وأشكر الموظفين جميعاً والعاملين في كلية الزراعة لتعاونهم خلال فترة الدراسة .

ولايسعني إلا أن أتقدم بالشكر والتقدير والامتنان إلى مشرفيّ الأستاذ الفاضل الدكتور وسام مالك داؤود ، والدكتور الفاضل إياد عاصي عبيد على إشرافهما ومتابعتهما الدائمة ومساعدتي طيلة مدة دراستي اللذين كان لملاحظاتهما العلمية الرصينة أثر كبير في إظهار هذا البحث العلمي ، فجزاهما الله عني خير الجزاء .

شكري وتقديري إلى السادة رئيس وأعضاء لجنة المناقشة لقبولهم مناقشة رسالتي وإبداء الآراء العلمية البناءة والملاحظات القيّمة عند مناقشة الرسالة.

وتقف الكلمات عاجزة للتعبير عن الشكر والامتنان إلى والدَي الحبيبين اللذين طالما رددا لي دعوات النجاح أنعم الله عليهما بالصحة والعافية،وامتناني لأخواني وأخواتي لما قدموه من حنان وتشجيع ومساندة,ومن جانب الوفاء إن اشكر الأستاذ المساعد الدكتور عماد خلف عزيز الذي كان له الفضل الكبير في تقديم الدعم والمساندة لي واسأل الله أن يوفقه ويحفظه من كل سوء ، وفائق شكري وتقديري إلى المدرس المساعد باسم الماس عيسى الذي بذل جهوداً لا أنساها في مساعدته لي خلال مدة الدراسة والبحث .كما أتوجه بالشكر الجزيل إلى الست إسراء لمساعدتها لي في إثناء العمل المختبري، وأسأل الله أن يوفقهم جميعاً ويرعاهم ويسدد خطاهم لما فيه خير للعلم، وأدين بالفضل لكل من مد يد العون والمساعدة، وعذراً لمن فاتني ذكره، ومن الله التوفيق.

عماد خلف

الفصل الأول

المقدمة

الفصل الثاني

استعراض المراجع

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

الاستنتاجات والتوصيات

الملاحق

المصادر

الخلاصة

نُفذت الدراسة في البيت البلاستيكي والظلة الخشبية التابعة لكلية الزراعة جامعة ديالى ، أما التجارب النسيجية فقد أجريت في مختبر زراعة الأنسجة النباتية التابع لقسم البستنة وهندسة الحدائق / كلية الزراعة / جامعة ديالى للفترة من 1 / 10/ 2011 إلى 1/ 7/ 2012 .

وهدف البحث دراسة تأثير منظمات النمو النباتية في إنبات ونمو البادرات وتضاعف الفروع للشليك *Fragaria vesca* و*Fragaria ananassa* Duch صنف Salwan ونشوء الكالس وأنتاج المركبات الفينولية من الكالس ومقارنتها بالنباتات النامية في الحقل. بينت النتائج أن إضافة الجبرلين GA_3 الى الوسط الغذائي MS بالتراكيز 0 ، 0.5 ، 1 ، 2 و 3 ملغم/ لتر في نمو بادرات الشليك *Fragaria vesca* إن الوسط المجهز بتركيز 1 ملغم/ لتر كان الأفضل في زيادة طول الرويشة وعدد الأوراق وعدد الجذور إذ بلغت 8.08 ملم و 3.50 ورقة/ بادرة و 1.88 جذر/ بادرة على التوالي ، وحصلت أفضل استطالة للجذور في معاملة 2 ملغم/ لتر إذ بلغت 6.40 ملم .

وأظهرت النتائج وجود تأثير للبنزيل ادنين BA في تضاعف الفروع للشليك *F. vesca* بالتراكيز 0 ، 0.25 ، 0.5 و 1 ملغم/ لتر إن الوسط المجهز بتركيز 1 ملغم/ لتر أعطى متوسط لعدد الفروع بلغ 11.90 فرع/ بادرة بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة ، في حين أعطى الوسط الخالي من منظم النمو أعلى متوسطاً لطول الفروع بلغ 28.75 ملم . أما عند زراعة بادرات الشليك *F .vesca* على وسط مجهز بالكاينتين .Kin بالتراكيز 0 ، 1 ، 2 و 3 ملغم/ لتر وجد أن الوسط الغذائي المجهز بتركيز 1 ملغم/ لتر أدى إلى زيادة عدد الفروع بنسبة 100% قياساً بالوسط الخالي من الكاينتين ، في حين تفوق الوسط الخالي من منظم النمو في زيادة طول الفروع إذ بلغت 33.75 ملم .

بينت نتائج تأثير إضافة NAA إلى الوسط الغذائي بالتراكيز 0.5 ، 1 ، 2 و4 ملغم/ لتر في نشوء الكالس من القطع الورقية بمساحة 1 سم^2 أن الوسط المجهز بتركيز 0.5 ملغم/ لتر أظهر أعلى نسبة تكون للكالس بلغت 100% ومعدل ووزن طري بلغ 0.484 غم ، في حين أعطى الوسط الغذائي المجهز بتركيز 0.5 ملغم/ لتر متوسط وزن جاف بلغ 0.018 غم ، أما نتائج تأثير تداخل NAA بالتراكيز 1 ، 2 و 4 ملغم/ لتر مع BA أو .Kin بتركيزي 1 و 2 ملغم/ لتر وجد أن إضافة 1 ملغم/ لتر BA + 2 ملغم/ لتر NAA أعطى أعلى نسبة تكون للكالس بلغت 90% ، وأعطت معاملة 1.5 ملغم/ لتر .Kin + 1 ملغم/ لتر NAA أعلى متوسط للوزن الطري والجاف بلغ 2.107 و 0.127 غم على التوالي .

أما تأثير 2,4-D بالتراكيز 0.5 ، 1 ، 2 و 4 ملغم/ لتر في نشوء الكالس من أوراق الشليك صنف Salwan فقد بينت النتائج إن الوسط الحاوي على 0.5 ملغم/ لتر أعطى أعلى نسبة تكون للكالس بلغت70% وبلغ معدل ووزنه الجاف 0.039 غم ، في حين أعطت معاملة 4 ملغم/ لتر أعلى متوسط للوزن الطري بلغ

0.699 غم ،أما عن تأثير تداخل 2,4-D بالتراكيز 1 ، 2 و4 ملغم/ لتر مع .Kin أو BA بتركيزي 1 و 1.5 ملغم/ لتر، وجد إن أعلى نسبة تكون للكالس بلغت 100% في الوسط المجهز بـ 1.5 ملغم/ لتر BA + 4 ملغم/ لتر 2,4-D ، في حين أعطت الأوساط الغذائية المحتوية على 1 ملغم/ لتر .Kin + 1 أو 2 ملغم/ لتر 2,4-D أعلى متوسط للوزن الطري والجاف بلغ 2.560 و 0.146 غم على التوالي.

وفي تجارب تقدير الفينولات من الكالس والأنسجة المزروعة في الحقل ، بينت النتائج إن الأنسجة المتخصصة أعطت مستويات عالية في معظم المركبات الفينولية قياساً بأنسجة الكالس إذ أعطت أوراق الشليك vesca أعلى قيم في مركبات Meryctin و Caffic acid و Gallic acid وأعطت إزهار النوع نفسه أعلى قيم لمركبات Alpha penine و Comarins و Quercetin ، وأعطت جذور النوع نفسه أعلى كمية لمركبي P-hydroxy benzoic acid و Ferulic acid ، في حين أعطى كالس النوع نفسه أعلى كمية لمركب Camphene و Ellagic acid وأعطى كالس الشليك Salwan أعلى كمية لمركب Catachin .

الفصل الأول : المقدمة

الشليك نبات عشبي معمر يمتاز بشكله الجميل وطعم ثماره اللذيذ ويعد من الفواكه ذات الثمار الصغيرة المنتشرة في العالم لما يتمتع به من قيمة غذائية وعلاجية جيدة ، اشتق اسمه من الكلمة اللاتينية (*fragrant , fragrance*) واسمه الانكليزي Strawberry ويسمى في تركيا chilliak (الابراهيم ، 2002) ومنه اتت تسميته في العراق بالشليك وينتمي الشليك إلى رتبة Rosales والعائلة الوردية Rosaceae وتحت العائلة Rosaideae والى الجنس Fragaria (السعيدي ، 2000).

وتقسم أصناف الشليك وفق طبيعة التزهير والحمل إلى أصناف ذات نهار قصير أو ربيعية الحمل June Bearers or short-day varieties وتحتاج هذه النباتات إلى فترة ضوئية اقل من 14 ساعة من طوال اليوم أو عندما تكون درجة الحرارة اقل من 15مْ لنشوء الأزهار، وكما تدل التسمية إن الشليك يزهر مرة واحدة في السنة ، ويتركز الإثمار في الربيع وبعد الصيف و أصناف دائمة الحمل Ever bearing varieties وهذه الأصناف تزهر وتثمر بشكل رئيس مرتين في السنة الأولى في فصل الربيع ، والثانية في أشهر الخريف عندما تسمح الظروف بذلك (Izhar ، 1997 ; Taylor، 2002) .

تتميز ثمار الشليك بكونها غنية بالمواد الغذائية لاحتوائها على بعض العناصر المعدنية كالبوتاسيوم ، والكالسيوم والفسفور ، والصوديوم ، والمغنسيوم ، والنحاس ، والزنك و باحتوائها على الكثير من البروتينات ، والكاربوهيدرات ، فضلاً عن فيتامين C والثيامين والرايبوفلافين وحامض البانتوثيتيك (Shoemaker، 1975 ; Watt و Merriu ، 1964) .

تؤكل ثمار الشليك طازجة ، ويصنع منها العصير و الحلويات والمربى و الشراب وتستخدم أوراقها في خلطة الشاي، ويعتقد إن للأوراق والجذور خصائص طبية أو دوائية ، كما إن عصير الثمار يستخدم علاجاً للإنسان (Aprona، 2006) .

تنتشر زراعة الشليك في الوقت الحاضرً في أكثر من 64 دولة وبلغ الإنتاج العالمي منه (4.1) مليون طن وبلغت المساحات المزروعة به 255.000 هكتار (FAO ،2008)، يزرع الشليك في العديد من الدول العربية وخاصة في مصر وسوريا وفلسطين ولبنان وأقطار المغرب العربي (الخفاجي ، 2000) ، ولا تزال زراعة الشليك في العراق محدودة في بعض المناطق الشمالية (محافظتي نينوى واربيل) والزراعة مقتصرة على محطات التجارب العلمية وبعض الحدائق المنزلية ومساحات زراعية صغيرة (طه ، 2004) وفي السنتين الماضيتين بدأ يزرع في محطات البستنة في بغداد وديالى بإدخال أصناف تجارية جيدة .

يمكن إكثار نباتات الشليك بطريقتين أساسيتين هما الطريقة الجنسية وفيها يتم استخدام البذور لإنتاج شتلات بذرية لزراعتها في المكان المستديم أو لإنتاج النباتات الأم المنتجة للمدادات ، أما الطريقة الثانية من طرائق الإكثار فهي الطريقة غير الجنسية (التكاثر الخضري) , إذ تستخدم هذه الطريقة على نطاق واسع في إكثار معظم أصناف الشليك المرغوبة ذات الأهمية الاقتصادية أما بواسطة تقسيم النباتات السليمة بعمر سنة أو الإكثار بالمدادات والتي تعد من الطرائق الأكثر استعمالاً في إكثار نباتات الشليك على المستوى التجاري (الدجيلي ،1993 والسعيدي ،2000) وغالباً ما تواجه النباتات المكثرة بالطرائق الخضرية بعض المشاكل كإصابة هذه النباتات بواحد أو أكثر من المسببات المرضية وخاصة الفايروسية والتي تنتقل من الشتلات المصابة إلى السليمة عن طريق حشرات المن وان إصابة النباتات بالامراض الفايروسية يؤدي إلى اصفرار النبات وضعف النمو ومن ثم انخفاض إنتاجيته من الثمار كماً ونوعاً . تعد تقنية زراعة الأنسجة النباتية وسيلة مهمة لإكثار العديد من النباتات بإعداد كبيرة ومدة زمنية قصيرة إذ أن خلايا الجزء النباتي بإمكانها التضاعف إلى آلاف النباتات في اقل من سنة (George وآخرون ، 2008) .

تستخدم التقنيات الحياتية في المجالات الزراعية والصناعية والطبية وفي إنتاج مركبات مفيدة في ظل ظروف مسيطر عليها واستخراج مواد فعالة ذات استخدامات طبية من كالس النباتات طيلة أيام السنة دون التقيد بموسم النمو (Park وآخرون، 2008 ; Sree وآخرون ، 2010 ; Ramawat،2004). إن نجاح زراعة الخلية والنسيج يعتمد على تكوين مزارع الكالس الجيد للنبات (Khatun وآخرون، 2003) . أن

الحصول على المركبات الطبية في تقنية الزراعة النسيجية يتم من خلال التحكم في المسارات الايضية للخلايا النباتية في مزارع الأنسجة لإنتاج هذه المركبات ومن ضمنها الدوائية ، الذي يصعب أحداثه في النباتات النامية في بيئاتها الطبيعية (Purohit ، 1999 والزبيدي ،2004) ، فقد تم عزل أكثر من 200 مركباً من المركبات الاروماتية من مزارع المعلقات الخلوية للشليك فقد تمكن Hong وآخرون (1990) من الحصول على البيوتانول والالفاكيتوفالريت كأمثله أخرى على المركبات الاروماتية المستحصلة من المزارع الخلوية للشليك ، فضلاً عن الحصول على الاستيل الديهايد والايثانول المستحصلة من المزارع الخلوية للشليك (Drawert و Berger ،1983)

تعد المركبات الفينولية من المواد الطبية المهمة التي تستخدم في مجالات عديدة أهمها في مقاومة أورام السرطان(Mohan وآخرون ،2007) و تتضمن المركبات الفينولية (phenolic acid، anthocyanins، flavonols، ellagtannins and condensed tannis) والتي درست بشكل واسع من حيث تأثير الأنواع المفيدة منها على صحة الانسان (Hannum، 2004) فقد أمكن استخلاص المركبات الفينولية من ثمار الشليك من قبل(A haroni وآخرون ، 2002 و Maatta-Riihinen وآخرون، 2004 و Aaby وآخرون، 2007) ومن الأوراق Hukkanen وآخرون ، 2007) وتمكن Hanhineva واخرون، 2008) من استخلاصها من الأزهار .

يهدف البحث إلى دراسة تأثير كل من :

1- الجبرلين والبنزيل ادنين والكاينتين في إنبات البذور ونمو بادرات الشليك .

2- السايتوكاينينات BA و .Kin في تضاعف الفروع .

3- الاوكسينات 2,4-D و NAA وتداخلها مع السايتوكاينينات .Kin و BA في تحفيز نشوء الكالس .

4- إنتاج الفينولات من الكالس والأوراق والجذور والأزهار لنبات الشليك .

الفصل الثاني : استعراض المراجع

2 – 1 : زراعة الأنسجة النباتية plant tissue culture

تعرف تقنية زراعة الأنسجة النباتية بأنها عزل خلية أو نسيج أو عضو نباتي من النبات تحت ظروف خالية من المسببات المرضية وتعقيمه ومن ثم زراعته في أوساط غذائية صناعية معقمة أيضا وتحضين الجزء المزروع في ظروف بيئية محددة من حيث الحرارة ، والرطوبة ، والضوء بهدف توجيه الجزء النباتي المزروع بالاتجاه المطلوب زراعته (سلمان , 1988 ; George وآخرون, 2008).

ومن التطبيقات العلمية والعملية لزراعة الأنسجة النباتية هي تربية وتحسين النباتات وحفظ المصادر الوراثية (Brar و Jain ، 1998) وإنتاج بعض المركبات الكيمياوية ذات الفائدة في الصناعات الدوائية وإنتاج نباتات سليمة من الإصابة بالمسببات المرضية المختلفة سواء كانت المسببات هي من الفايروس أو من الفطريات أو البكتريا أو الديدان الثعبانية فضلا عن الإكثار السلالي السريع لنباتات الفاكهة والزينة وغيرها (Hartmann وآخرون، 2002).

بدأ تاريخ زراعة الأنسجة النباتية مع ظهور مفهوم الخلية بوصفها وحدة وظيفية مستقلة , التي اقترحها schwannو schliden عام 1839 واثبت Haberlandt ذلك عام 1902 إذ بدأ بزراعة خلايا النسيج المتوسط Mesophyll وخلايا البشرة لبعض النباتات ولاحظ بقاء الخلايا المزروعة حية لفترة (3– 4) أسابيع دون حصول انقسام خلوي ولكن حصلت زيادة في حجوم الخلايا(Ramawat ، 2004) ، و أصبحت تستخدم في حل الكثير من المشاكل الزراعية ، والصناعية ، والصحية وغيرها في عدد من دول العالم المتقدمة من خلال تطبيقاتها المختلفة في مجال العلوم الزراعية والصحية وفي إنتاج مركبات الايض الثانوي (Devi وSrinivasam، 2008 ; Chamandoosti ، 2007 ; Noman وآخرون , 2004)، يضاف إلى ذلك فان هنالك طريقة أخرى لإكثار النباتات خضريا بزراعة الأنسجة من خلال تكوين الكالس واستحداث الأجنة الخضرية منه ومن ثم إخلاف النباتات (Abo-Shady وآخرون , 1993) .

2 – 2: دور منظمات النمو النباتية في نمو وتضاعف نبات الشليك خارج الجسم الحي .

تعرف منظمات النمو النباتية على أنها مركبات عضوية غير غذائية يتم بناؤها طبيعيا في داخل النبات أو تصنع تجاريا في مختبرات أو مؤسسات متخصصة والتي بتراكيز قليلة تؤثر في عمليات النمو والتطور للنبات من خلال تحفيزها أو تثبيطها أو تحويرها للعمليات الحيوية الفسلجية في أنسجة النبات , يعد استعمال منظمات النمو النباتية من المتطلبات الأساسية لنجاح الزراعة خارج الجسم الحي .

ذكر pierik (1987) إن هنالك العديد من منظمات النمو النباتية منها الاوكسينات والسايتوكاينينات والجبرلينات وحامض الابسسك والاثيلين فضلاً عن الأمينات المتعددة poly amines والتي تم عدها منظمات نمو في المؤتمر العالمي لمنظمات النمو النباتية عام 1982(Davies , 1987) كذلك تم اعتماد مركبات أخرى بوصفها منظمات نمو منها Brassinosteriods و Salicylate و Jasmonats (Davies ، 1987 ; Maas ، 2002) ، تعد الاوكسينات من منظمات النمو المهمة التي تستعمل في زراعة الأنسجة النباتية وهي عبارة عن مجموعة من الأحماض العضوية ذات أوزان جزيئية عالية تستخدم بتراكيز قليلة جدا لتحدث تأثيراً كبيراً في الجزء المزروع وتؤدي إضافتها إلى أوساط الزراعة خارج الجسم الحي إلى تحفيز انقسام واستطالة الخلايا والأفرع ولتحفيز التمايز إلى أنسجة اللحاء ، والخشب وكذلك لنشوء الجذور العرضية وتكوين الكالس وهنالك العديد من الاوكسينات منها (2,4-D) Dichloro phenoxyacetic - 2,4 و Napthalene acetic acid (NAA) والاوكسين الطبيعي(IAA) Indol acetic acid - Indol butyric acid (IBA) (Davies , 1995).

تلعب الاوكسينات دوراً كبيراً في السيادة القمية وتكوين أو تطور الأعضاء (Kepinski و Layser , 2005) وإنبات البذور وتكوين الجذور والبراعم وبادئات الأزهار (Liang وSkinner , 2004) وان من أهم مراكز تخليق الاوكسينات هي الأنسجة الحديثة النمو التي تنمو بنشاط مثل المرستيمات القمية للساق والجذور والأوراق النامية بينما توجد بكميات اقل في الأنسجة الناضجة (حسونة , 2003) .

أما السايتوكاينينات فهي عبارة عن قواعد نتروجينية ذات أوزان جزئية عالية ولها تأثيرات فسيولوجية كثيرة وتستعمل عدة أنواع منها في تنشئة المزارع النسيجية للكثير من النباتات المختلفة مثل [الـ Zeatin و 6 − Furfury L − amino purine (Kinetin) والـ isopentenyl adenine (2ip) والـ Benzyl adenine (BA)] وتؤثر السايتوكاينينات تأثيراً كبيراً في زراعة الأنسجة حيث إنها تشجع انقسام الخلايا وتمايزها ونمو البراعم الابطية وتثبط من تكوين الجذور (George وآخرون ،2008) .

يعد التضاعف الخضري من المراحل المهمة التي يستمر فيها تحفيز ونمو البراعم الابطية عن طريق التخلي عن السيادة القمية للفروع المكثرة عند إعادة زراعتها على أوساط غذائية مجهزة بالسايتوكاينينات (Trigiano , Gray , 1996), وأشارت الكثير من المصادر إلى أن إضافة السايتوكاينينات للوسط الغذائي لها تأثير محفز في نمو وتضاعف الأفرع المزروعة ، أما بالنسبة إلى التداخل بين الأوكسين والسايتوكاينين فأشار Skoog و Miller (1957) إلى أهمية التوازن بينهما في تكوين الأعضاء وتطورها خارج الجسم الحي وذكر Kane (1996) أن أفضل فعالية للاوكسين في نمو الجزء النباتي يكون بتداخله مع السايتوكاينين على أن يكون تركيز كل منهما بالمستوى الذي يشجع النمو للأجزاء المزروعة دون المرور بمرحلة تكوين الكالس ، كما ذكر Chen وآخرون (1991) أن التداخل بين السايتوكاينينات والاوكسينات يحفز استطالة الفروع لبعض الأنواع والأصناف النباتية ويجعلها بالطول المناسب الذي يهيئها للانتقال إلى مرحلة التجذير .

ذكر Boxus (1974) إن سبب النتائج الضعيفة أو الفشل الذي واجهه العديد من الباحثين عند زراعتهم لأنسجة الشليك على أوساط مختلفة يعود بالدرجة الأساس إلى عدم إضافة السايتوكاينين (BAP) إلى الأوساط الغذائية التي استعملت في الزراعة .

ذكر Liu و Sanford(1988) إن الوسط الغذائي الحاوي على 2.5 ملغم /لتر BA مع 0.5 ملغم/لتر IBA كان الأفضل في زيادة عدد الفروع من أنسجة الأوراق لصنفي الشليك Allskar و Honeoye المزروعة خارج الجسم الحي، في حين تطلب رفع تركيز الـBA إلى 3 ملغم/لتر وخفض تركيز الـIBA إلى 0.1 ملغم/لتر

لحصول أفضل تضاعف عند اخذ أنسجة الورقة من نباتات نامية في البيت الزجاجي ولكلا صنفي الدراسة , أما استخدام المدادات فقد أعطت المعاملة 10ملغم/لتر من BA مع 2ملغم/لتر IAA و500 ملغم/لترمن Casine hydrolasate أعلى معدل لعدد الأفرع المتكونة .

وجد كل من Bostus و Alejandra (1993) إن أفضل تضاعف تم الحصول عليه عند زراعة قمم الفروع لصنف الشليك Selvas كان في الوسط الغذائي MS المجهز بـ 0.5ملغم/لتر BA حيث بلغ عدد الفروع 13 فرعا بمتوسط طول 1سم ، وتمكن Sorvari وآخرون (1993) من مضاعفة الفروع لصنفي الشليك Jansok و Hiku عند زراعتهما على الوسط MS الذي يحتوي على 0.5 ملغم /لتر BA حيث تم الحصول على أعلى معدل للتضاعف بلغ 9.9 و 12.8 فرعا لكل صنف على التوالي .

أوضح Monticelli وآخرون (1995) إن أفضل استجابة للاذينات الورقية المستأصلة من نباتات الشليك وتكوين الفروع كان على وسط MS الحاوي على 1ملغم/لتر BA ، وتوصل Devy و Hardiyanto (1997) إلى إمكانية تضاعف الفروع لصنفي الشليك California و Bali وذلك عند زراعتها على الوسط الغذائي MS مضافا إليه 1ملغم/لتر من BA أذ أعطى أعلى معدل للتضاعف بلغ 16 و 20 فرعا للصنفين على التوالي بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة .

أما Malodobry وآخرون (1997) فقد حصلوا على تضاعف بلغ 6 أفرع للشليك صنف Syrius عند زراعته على الوسط الغذائيMS مجهز بتركيز 0.5ملغم/لتر BA ، وتمكن Hind وآخرون (2003) من خلال دراستهم إكثار الشليك صنف Selva خارج الجسم الحي باستخدام القمة النامية من الحصول على معدل تضاعف بلغ 22 فرعا بعد مرور 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS الذي يحتوي 1ملغم/لتر IBA+1ملغم/لترBAP ، أما البياتي (2005) فقد وجد من خلال دراسته لصنفي الشليك الغابي و Erdpeeren ، عند إضافة BA إلى الوسط الغذائي بالتراكيز 0 , 0.5 ,1, 1.5 و 2 ملغم/لتر أن التركيز 2 ملغم/ لتر أعطى أعلى معدل لعدد الفروع بلغ 20 فرعاً وبمعدل طول 0.58 سم عند التركيز 2 ملغم/ لتر .

تمكن Sakila وآخرون (2007) عند دراستهم إكثار الشليك *Fragaria ananassa* من الحصول على أعلى معدل للتضاعف عند زراعة عقد نباتية على وسط MS المجهز بتراكيز مختلفة من BA و Kin و GA_3 إذ بلغ 10.1سم و 9.3سم في معاملة 1.5 ملغم /لتر BA + 0.5 + 0.1 ملغم /لتر Kin ،واستطاع البيسكي وبايرلي (2010) بزراعة الفروع لنبات الشليك صنف Osogrand من الحصول على اكبر عدد للبراعم إذ بلغ 17 برعما عند إضافة التركيز 0.1 ملغم/لتر IAA مع 3.5 ملغم/لتر BAP ، حين لوحظ إن اكبر عدد للأوراق بلغ 10.38 ورقة/ نبات واكبر طول للنموات 1.58 في معاملة المقارنة .

ذكر Hason وآخرون (2010) في دراستهم على الشليك *Fragaria ananassa* Duch باستخدام تراكيز مختلفة من BA مع NAA أو GA_3 أو سلفات الأدنين أو عصير جوز الهند إن أفضل تضاعف حصل عند استخدام التركيز 1 ملغم /لتر BA + 0.1 ملغم /لتر NAA إذ أعطى 13.4 فرعا، وأفضل طول للأفرع عند استخدام التركيز 2 ملغم /لتر BA + 0.2ملغم /لتر NAA + 120ملغم /لتر سلفات الأدنين إذ أعطى طول للفرع بلغ 2.4 سم، أما Moradi وآخرون (2011) فقد وجدوا من خلال دراسة أجروها على الشليك *Fragaria sarian* L وذلك بأخذهم أجزاء من العقد بطول 0.5 – 1 سم من نباتات ناتجة عن الزراعة النسيجية وزراعتها على وسط MS مضاف إليه تراكيز من BAP (0 ، 0.1 ، 0.5 و 1.5 ملغم /لتر) و .Kin بالتراكيز 0 ، 0.2 و 0.5 ملغم /لتر ، و وجدوا أن أفضل تضاعف تم الحصول عليه عند إضافة 0.5 ملغم /لتر BAP + 0.2 ملغم /لتر Kin إذ بلغ 3 ـ 5 فروع بعد مرور 4 - 5 أسابيع من الزراعة.

أما دور منظمات النمو في تضاعف فروع بعض أنواع نباتات الفاكهة الأخرى فقد تمكن Gutierrez وآخرون (1991) من خلال دراستهم لإكثار الأناناس خارج الجسم الحي من الحصول على معدل تضاعف بلغ 15 فرعا بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي الذي يحتوي على 2.5 ملغم /لتر BA .

وجد Gulsen, Gurel (1998) عند زراعة أطراف الأفرع لصنفين من اللوز Nonpareil,Texas على وسط MS مدعم بتراكيز مختلفة من BAP وهي 0 و 0.5 و 1 و2 و3 ملغم/لتر وبالتداخل مع IBA

بالتراكيز 0 , 0.1 , 0.5 ملغم/لتر أن التداخل 1ملغم/لتر BAP مع 0 أو 1.5 IBA حقق أعلى عدد للأفرع اذ بلغ 6.67 فرع لصنف Texas و 7.87 فرع لصنف Nonpareil وتفوقت المعاملة نفسها في معدل طول الفروع قياسا بباقي المعاملات ومعاملة المقارنة .

أشار حميد وآخرون (2001) إلى إن زراعة أطراف الفروع المأخوذة من أشجار بالغة وشتلات بعمر سنة واحدة من الفستق على وسط MS الصلب والمزود بتراكيز مختلفة من BA أو 2ip (0 و 0.5 و 1،2 و 4 ملغم/لتر) كل على انفراد , أن 2 ملغم/لتر BA أعطى 4.88 فرعاً للأجزاء المأخوذة من الأشجار البالغة و 5.4 فروع للأجزاء المأخوذة من الشتلات بعمر سنة , أما استخدام 2ip فلم يكن له أي تأثير في مرحلة التضاعف وقد أدت إضافته إلى الوسط الغذائي إلى تحفيز نشوء الكالس ،وفي دراسة قام بها Sudherson و Hussain (2003) حول تضاعف أطراف فروع السدر المزروعة على وسط MS المجهز بتراكيز من الـ BA حيث وجدوا إن الوسط الغذائي المجهز بـ 1.5ملغم /لترمن BA أعطى أعلى نسبة تضاعف ومعدل أطوال وعدد عقد بلغ 82% و 3.8سم و 5 عقدة على التوالي مقارنة بمعاملة 0.01 ملغم /لترمن BA والتي أعطت 6% و 6.8 سم و 8 عقدة على التوالي ، وأشار Al-chalabi وآخرون(2003) أن زراعة أطراف الفروع لأصل التفاح MM_{106} على وسط MS الحاوي BA بتركيز 1 ملغم/لتر متداخلا مع IBA بتركيز 1 ملغم/لتر أدى إلى تكوين 20-25 فرع بعد مرور 8أسابيع من الزراعة .

وجدت كل من الصالح وآخرون (2005) إن أفضل تضاعف تم الحصول عليه عند زراعتهم القمم النامية لنبات الكمثري *Pyrus communis* كان في الوسط الغذائي MS المجهز بالتركيز 10 ملغم /لتر BA مع 1 ملغم /لترIBA حيث تم الحصول على 22 فرعاً خضرياً بطول 20سم بعد 4 أسابيع من الزراعة، وتمكن Akbas وآخرون (2007) عند زراعتهم بذور الكيوي *Actinidia deliciosa* على وسط MS مجهز بتراكيز مختلفة من BAP (0.5 و 1 ، 2 و 4) ملغم/لتر و Kinetin بالتراكيز 0.5 و 1 ، 2 و 4 ملغم/لتر من الحصول على أعلى معدل لعدد الأفرع وبلغ 4.7 في معاملة 0.5 ملغم/لتر BAP.

أشار القضاة وآخرون (2009) في دراستهم على تأثير منظمات النمو المختلفة (BAP و TDZ و Kin.) بالتراكيز 0 ، 0.5 ، 1 و2 ملغم/لتر في إكثار المشمش الصنف العجمي من البراعم الزهرية والخضرية والزيادة في النموات والاستطالة إلى تفوق BAP على كل من TDZ و Kin. أذ أعطى أعلى معدل إكثار بلغ 5.4 عند التركيز 2 ملغم/لتر وأعلى معدل استطالة عند التركيز 0.5 ملغم/لتر والذي وصل إلى 3.9سم ، وفي دراسة لناصر (2012) حول تأثير الكاينتين Kin. على بذور اللالنكي عند زراعتها على وسط MS بالتراكيز 0 ، 1 ، 2 ، 3 و 4 ملغم/لتر فقد وجدت أن معاملة المقارنة تفوقت بإعطاء اكبر طول رويشة وبلغ 30 ملم , أما عند زراعة بذور الليمون المحلي على وسط مجهز بتراكيز 0 , 2 , 4 و 8 ملغم/لتر من Kin. كما وجدت أن تركيز 4 ملغم/لتر أدى إلى ازدياد متوسط طول الرويشة وعدد الأوراق المتفتحة وبلغت 16 ملم و 4.5 ورقة /بادرة على التوالي .

2- 3: دور منظمات النمو النباتية في نشوء الكالس.

الكالس callus عبارة عن نسيج غير متمايز يتألف من خلايا برنكيمية يمكن أن يستخدم في العديد من المجالات منها مجال الهندسة الوراثية ، وتكوين الأعضاء ، وتكوين الأجنة الجسمية واستخدامه في المفاعلات الحيوية ، وفي إنتاج المركبات ذات الاستخدامات الطبية والصيدلانية (Trigiano و Gray ، 1996) .

يتكون الكالس طبيعيا في النبات بوصفه استجابة إلى الجروح أو في منطقة التطعيم إلا انه أمكن حث الجزء النباتي المزروع خارج الجسم الحي على تكوين الكالس من خلال التحكم في مستويات منظمات النمو المضافة إلى الوسط الغذائي لا سيما الاوكسينات والسايتوكاينينات ، أذ ان للاوكسينات والسايتوكاينينات تأثيراً كبيراً في تحفيز تكوين الكالس ولكي يتم الحصول على الكالس خارج الجسم الحي يجب أن تضاف منظمات نمو نباتية إلى الأوساط الغذائية ، كما ويجب أن تكون هنالك نسبة متوازنة من الأوكسين والسايتوكاينين في الوسط . اعتماداً على التركيب الوراثي للنبات وعلى المحتوى الداخلي الهرموني للنسيج النباتي(Skoog و Miller , 1957) ويعد استحثاث الكالس من العمليات الأساس في الزراعة النسيجية ويمكن استحداثه من الأجزاء النباتية

المختلفة (السيقان و الأوراق و الأوراق الفلقية و القمم النامية للسيقان و المتوك و حبوب اللقاح ..... الخ) (Street ، 1977) ، وقام Biswas وآخرون (2010) بزراعة نصل الورقة والعقدة وقطع إلمدادات لثلاثة أنواع من الشليك *Fragaria sp.* على الوسط الغذائي MS المجهز بتراكيز مختلفة من BA + NAA (1+1 , 1+1.5 , 2+1 , 2+1.5 , 4+1 , 4+1.5ملغم/لتر) وتبين من خلال الدراسة ان أفضل تركيز لنشوء الكالس هو 4 ملغم/لتر NAA + 1.5 ملغم/لتر BA .

قام الباحث Sutan (2010) بزراعة سويق الورقة وجزء من الورقة لصنفي الشليك pink panda و serenata على الوسط الغذائي MS والمجهز بتراكيز مختلفة من BAP + IBA (0.5+3 , 1+3 , 3+1 , 3+5 ملغم/لتر على التوالي) وتبين إن أفضل تركيز لنشوء الكالس هو 1 ملغم /لتر IBA + 3 ملغم/ لتر BAP بعد مرور 6 أسابيع من الزراعة .

تمكن Sutan وآخرون (2010) من تحفيز نشوء الكالس من الشليك *Fragaria potentilla* للصنفين Pink panda و Serenata وذلك بزراعة أجزاء من الورقة والسويق على الوسط الغذائي MS المجهز بالتراكيز 0.5 و 0.9 ملغم/ لتر من IBA و 0.2 و 0.4 ملغم/ لتر من BAP ، وتبين من خلال الدراسة ان الوسط الغذائي المجهز بالتراكيز BAP 0.4 + IBA 0.9 حفز نشوء الكالس من الورقة والسويق للصنف Serenata ، في حين اظهر التركيز نفسه نشوء الكالس للصنف Pink panda من سويق الورقة فقط وذلك بعد مرور 3 أسابيع من الزراعة ، واستطاع Karim وآخرون (2011) من استحثاث الكالس للشليك Duch *ananassa F.* بزراعة الأجزاء الورقية على الوسط الغذائي MS المجهز بالتراكيز 1، 1.5، 2 و3 ملغم/ لتر لكل من 2,4-D و NAA وتداخلها مع BA بتركيزي 0.5 و1 ملغم/ لتر، وأثبتت التجارب أن الأوساط الغذائية المجهزة ب 1.5 ملغم/ لتر NAA و 3 + 0.5 ملغم/ لتر 2,4-D مع BA و 2 + 0.5 ملغم/ لتر NAA مع BA أعطت أعلى نسبة تكون للكالس بلغت 93.33% لكل منها بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة ، أما Truong وآخرون (2012) فقد تمكنوا وأجروا زراعة البراعم الزهرية للشليك Duch *F. ananassa* على الوسط الغذائي MS

المجهز بتراكيز مختلفة من BA ،IAA و2,4-D وذلك بهدف معرفة نسبة تكون الكالس والوزن الطري له ، حيث أعطى الوسط الغذائي المجهز بـ 0.4 ملغم/ لتر BA , 0.1 ملغم/ لتر IAA و2 ملغم/ لتر 2,4-D أعلى نسبة لتكون الكالس بلغت 70% و أعلى وزن طري بلغ 32.7 ملغم وذلك بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة .

ذكرت أحدى الدراسات المنفذة على أشجار الفستق(الصالح ، 1995) إن وسط MS الصلب الحاوي على مزيج من NAA و BA حفز استحثاث الكالس من نبات الفستق *pistacia vera* مستلزماً مده تراوحت مابين 9 . 12 يوماً ، ولوحظ تأخر استحثاثه عند إضافة الكاينتين بدلاً من BA في حين استغرق استحداثه 25 يوماً في وسط MS الصلب المضاف إليه 3 ملغم/لتر من 2,4 . D ، وأشار Takazwa وآخرون (2002) إلى إمكانية استحداث الكالس من ساق نبات الكيوي *Actinidia ceous* المزروع على وسط MS المجهز بـ 1 ملغم / لتر 2,4 . D و1 ملغم /لتر .Kin , أما Grzegorczyk وآخرون (2005) فقد حفزوا نشوء الكالس من نبات المريمية عند استعمال الوسط MS المجهز بـ 0.1 ملغم /لتر من NAA و 0.2 ملغم /لتر من BA و 0.5 ملغم /لتر من 2,4 –D ،وبين Chamandoosti (2007) إن إضافة 6 ملغم /لتر من 2,4 – D و 2 ملغم /لتر من NAA إلى وسط MS أدى إلى تحفيز نمو الكالس لنبات . *Brassica napus* L.

درس Taha وآخرون (2008) تأثير توليفات مختلفة من منظمات النمو Kin. + 2,4 _D وNAA و BA + NAA و 2,4 . D في الوسط الغذائي في استحثاث نسيج الكالس من زراعة القمة النامية وقطع من الأوراق والسيقان والجذور فضلاً عن البذور من نبات عين البزون ، و وجدوا ان الكتلة الحيوية للكالس المستحث من الزراعة في وسط MS المحتوي على 1ملغم / لتر 2,4 . D و .Kin معاً كانت الأكبر مقارنة مع المعاملات الأخرى .

قام عبيد (2009) بزراعة العقد لأشجار الخوخ صنف بيضاوي على الوسط الغذائي MS المجهز بتراكيز مختلفة من TDZ (0 ، 0.2 ،0.4، 0.6 و 0.8 ملغم /لتر) ، وأظهرت الدراسة تفوق المعاملة 0.6 ملغم /لتر في أعطاء اكبر حجم للكالس بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة .

قام حمد وآخرون (2010) بزراعة القمة النامية لنبات الخشخاش على الوسط الغذائي MS المجهز بالتراكيز 2 ملغم /لتر 2,4- D و 0.5 ملغم /لتر .Kin والمضاف إليه السكروز والتايروسين بتراكيز مختلفة بهدف معرفة الوزن الطري والجاف للكالس ، ووجدوا أن أعلى معدل للوزن الطري والجاف للكالس بلغ 688.0 و 67.5 ملغم على التوالي عند تجهيز الوسط بتركيز 30غم/ لتر سكروز و 30ملغم /لتر تايروسين.

وأوضح حمد وجاسم (2011) عند دراستهم استحثاث الكالس لنبات البلادونا وذلك بزراعة الأجزاء النباتية (القمة النامية و الأوراق الفلقية و السويقة الجنينية السفلى) على الوسط الغذائي MS المجهز بالتراكيز 0 ،1.5 ،3 و 4.5 ملغم / لتر لكل من 2,4-D و BA + NAA بتركيز قدره 0.4 ملغم /لتر أن الوسط الغذائي MS المجهز بالتراكيز 1.5 ملغم /لتر 2.4-D + 0.4 ملغم /لتر BA قد تفوق في إعطاء أعلى معدل وزن طري وجاف للكالس المستحث من القمة النامية بلغ 177.5 و 18.9 على التوالي بعد مرور 5 أسابيع من الزراعة ، وتوصل عبيد والحياني (2012) إلى أن إضافة الجبرلين إلى الوسط الغذائي MS بالتراكيز 0 ، 0.2 ، 1 و 3 ملغم /لتر ، حفز نشوء الكالس من بذور نبات الكيوي صنف Bruno ، كما وجدوا أن الكتلة الحيوية للكالس المستحث من الزراعة في وسط MS المحتوي على 0.2 و 1 ملغم /لتر كانت الأفضل مقارنة مع المعاملات الأخرى .

2- 4 الأهمية الطبية والعلاجية للمركبات الفينولية

الفينولات ($C6H_5OH$) مركبات عديمة اللون صلبة كرستالية تذوب في درجة حرارة 41 مْ وتغلي في درجة حرارة 182 مْ بعضها يذوب في المذيبات العضوية والبعض الآخر في الماء ، وتعد هذه المركبات كحولات عطرية تتفاعل مع القواعد القوية لتكون ملح يسمى Phenolats (Palaniappan ، 2006) .

الفينولات مشتقة من Pentose Phosphate والـ Phenyl propanoid والـ shikimate ذات الحلقات العطرية التي تحتوي على Bearing واحدة او أكثر من ايون الهيدروكسيل (Shahidi و Naczk ، 2003 و Taiz و Zeiger ،2002 و Bravo ،1998).

وتصنف المركبات الفينولية إلى المجاميع الثانوية الاتية :

Stilbenes و Lignans و Isofavonoids و Flavonoids و Phenolic acid و Complex phenolic polymers (Dewick ، 2001 ; Ramawat ، 2004) .

أثبتت العديد من الدراسات إن الحماية التي توفرها الفاكهة للإنسان من الإصابة ببعض الأمراض المميتة يعود بشكل كبير إلى المركبات الفينولية التي يطلق عليها لفظ كاسحات الجذور الحرة (free Radical Scavengers) ، لأنها تعمل على كبح فعالية هذه الجذور ومن ثم حماية جسم الإنسان من الأمراض الناتجة من تفاعلاتها ، إذ تعمل بوصفها مضادات أكسدة Antioxidant ومثبطة لنمو الأورام السرطانية Anticancer ومضادة لتخثر الدم (Mohan وآخرون ،2007)، وبينت الدراسات العلمية ان المركبات الفينولية المنتجة من النبات ومنها P- coumnaric acid ، ferulic acid ، 4- hydroxyl and salicylic acid benzoic acid ذات تأثير اليلوباثي Allelopathy اذ تمنع نمو بقية النباتات المجاورة لها وان هذه المركبات غير سامة إلى النبات الذي يصنعها أو ينتجها أذ أنها تغسل في التربة بمياه المطر كما أنها تتحلل أو تتأكسد بوساطة البكتريا التي تعيش في التربة (Verrmerris و Nicholson ،2006).

2 -4 -1:إنتاج المركبات ذات الاستخدامات الطبية من النباتات النسيجية و النامية في الحقل

أتاحت تقنية زراعة الأنسجة فرصا عديدة لإنتاج مركبات الايض الثانوي وبشكل مستمر وعلى مدار السنة اعتماداً على زراعة الأجزاء النباتية خارج الجسم الحي (Park وآخرون , 2008)، وذلك لإمكانية السيطرة على الظروف البيئية ومكونات الوسط الغذائي الذي يحتاجه الجزء النباتي المزروع (Collin , 2001)، إن من أهم العوامل المحددة لإنتاج العقاقير والمواد المهمة طبيا في مجال زراعة الأنسجة النباتية هو نوع وتركيز منظمات النمو المضافة إلى الوسط الغذائي المستخدم , وبشكل خاص الاوكسينات والسايتوكاينينات المؤثرة في نمو وتمايز المزرعة النسيجية وفي بناء النواتج الثانوية (Collin ، 1998 ; يونس , 1997) ، تنتج الخلايا النباتية نوعين من نواتج الايض هي نواتج الايض الأولي التي تشترك مباشرة في نمو النبات وايضهُ كالكاربوهيدرات ،

واللبيدات والبروتينات من خلال عملية التمثيل الضوئي والتنفس ، ونواتج الايض الثانوي التي يتأثر إنتاج مركباتها في أنسجة النباتات النامية خارج الجسم الحي بعوامل عديدة ويمكن رفع معدلات النمو وإنتاج مركبات الايض الثانوي الى أعلى مستوياتها عن طريق تنظيم العوامل الفيزيائية والكيميائية عند الزراعة النسيجية فضلاً عن استعمال وسط إنتاج مناسب (Ramawat, 2004) ، ويشير الباحثون الى وجود أكثر من 100000 نوع من مركبات الايض الثانوي ذات الأهمية الطبية التي تدخل في الصناعات الدوائية والعقاقير الطبية ، وان أكثر من ربع الأدوية المنتجة في العالم مشتقة من مركبات نباتية ثانوية (Harvy، 2000 ; Phillipson، 2003 ; Mclean و Duncan، 2006) وقسمت مركبات الايض الثانوي إلى ثلاث مجاميع أساسية هي المركبات الفينولية ، القلويدات ، التربينات ، تسعى المؤسسات العلمية البحثية ومختبرات صناعة الأدوية في العالم إلى استعمال التقنيات الحديثة ومنها زراعة الأنسجة النباتية في مجال تصنيع هذه المركبات وتحويلها إلى أدوية علاجية ، وقد أثبتت زراعة الأنسجة إنها وسيلة مفيدة وفعالة في إنتاج الكثير من المواد الطبيعية والعقاقير الطبية مثل المركبات الفينولية Phenols والقلويدية Alkaloids والكلايكوسيديه 'Glycosides من النباتات المختلفة (Mulabagali: 1990، phillipson و Tsay، 2004) .

هنا تبرز أهمية الزراعة النسيجية لإنتاج العقاقير والمواد الصيدلانية فهي تساعد في الإنتاج السريع لهذه المواد والمركبات على مدار السنة من دون التقيد بموسم الزراعة، و تقليل المساحات اللازمة للزراعة فضلاً عن النقاوة العالية للمواد المتكونة إذا ما قورنت بتلك المصنعة (Georgiev وآخرون ،2009) .

لاقت زراعة الأنسجة النباتية استعمالاً متزايداً بوصفها لإنتاج الأنزيمات والمنتجات الثانوية وإنتاج هذه المركبات يعد ركناً مهماً من أسرار تقانة زراعة الأنسجة (Dixon، 1985) ، تتجمع مركبات الايض الثانوي في خلايا وأنسجة نباتية خاصة في مراحل تطور محددة من زراعة الخلايا والأنسجة النباتية مقارنة بمركبات الايض الأولي التي تنتج بالنبات الكامل أو في عضو معين منه (Lila ، 2005) .

قام الباحث Marica وآخرون (2008) باستخلاص المركبات الفينولية (quercetin ، ellagic acid ، chlorogenic acid) لسبعة أصناف من الشليك (Dover ، Campdover ، Camarasa، sweet Charlie ، Toyonoka ، Piedade and Oso Grande) بأخذ 0.5 مل من عصير الفاكهة وخلطها مع 0.5 مل من كحول الايثانول بتركيز 95% + 5مل من الماء المقطر، ثم إضافة 0.5 مل من كاشف follin – ciocalteu وتم تقدير المركبات الفعالة في جهاز HPLC ، حيث قدر محتوى الفاكهة لكل الأصناف من ellagic acid بمعدل تراوح مابين 6 . 20 مايكروغرام / غم ، أما محتوى quercetin فتراوح مابين 16 . 55 مايكروغرام /غ وأخيرا chlorogenic acid فقد أعطى معدل تراوح مابين 19 . 54 مايكروغرام / غ ، وأعطى الصنفان Dover ، Campdover أعلى محتوى من quercetin and ellagic acid ، اما الصنفان Camarasa و Toyonoka فقد أعطيا أعلى محتوى من chlorogenicacid، أما Hegazi و EL-Lamey (2011) قاموا باستخلاص (Chorogenic acid، ratin، catechin، Coumaric acid and quercetin) من الكالس المستحث من قطع الساق لنبات *Ephedra alata* Decne النامي على وسط MS مجهز بتركيز 1 ملغم /لتر 2,4-D + 1ملغم /لتر .Kin وذلك باستخدام مذيب الميثانول بتركيز 70% ثم قدرت المواد الفعالة في جهاز HPLC .

وأشار المرسومي (2010) في دراسته باستخلاص Thujone و 1-8cineol من أوراق نبات المريمية واستخلاص المركبات الفعالة Camphor و Borneol إضافة إلى Thujone و 1-8cineol من الكالس وذلك بإضافة تراكيز مختلفة من السوربيتول ، المانيتول ، الكلوكوز، الفركتوز إلى الوسط الغذائي MS وذلك باستخدام المذيبات العضوية الايثانول ثم قدرت المواد الفعالة في جهاز HPLC , أما AL-Hatemy (2010) فقد تمكن من استخلاص المركب الفينولي procyanidin من زراعة البذور والكالس والبراعم الناتجة من الكالس لنبات العنب الأوربي .*Vitis vinifera* L على وسط MS مجهز بمنظم النمو 2,4-D بالتراكيز

(2،1 و3) ملغم/لتر وتبين من خلال الدراسة تفوق بذور العنب الأوربي باحتوائها على المركب procyanidin في معاملة 2 ملغم/لتر 2,4-D على الكالس والبراعم الناتجة من الكالس .

وتمكنت الموسوي (2011) من استخلاص المركبات الفينولية (Epicatechin، Cateichin ، M – psoralen ، Querctin، psoralen ، Luteolin، 8- M . psoralen ، Bergapten and psoralen) من أوراق نبات التين بعد معاملتها بمستويات مختلفة من الجبرلين GA_3 .

الفصل الثالث / المواد وطرائق العمل:

نفذت التجربة الحقلية في البيت البلاستيكي والظلة الخشبية التابعة لكلية الزراعة جامعة ديالى ,أما التجارب النسيجية فقد أجريت في مختبر زراعة الأنسجة النباتية العائد إلى قسم البستنة وهندسة الحدائق /كلية الزراعة /جامعة ديالى , على نبات الشليك *Fragaria ananassa* Duch. صنف Salwan وهو من الأصناف المعتمدة في مركز الزراعة العضوية / أبو غريب (مركز إباء للأبحاث الزراعية سابقا), والشليك نوع. *Fragaria vesca* L. المنتج من شركة Hortus الايطالية(www. hortus . org) .

3 – 1 : التجارب الحقلية وتهيئة الأمهات .

3– 1 – 1 : زراعة بذور شليك *Fragaria vesca* L.

أخذت البذور ونقعت في منظمات النمو النباتية وهي Kin. 20 ملغم/ لتر و BA 20 ملغم/ لتر و GA3 25 ملغم/ لتر ولمدة عشر ساعات لكل منظم نمو على حدة , وبعدها زرعت في سنادين تحتوي على خليط من التراب النهري + البتموس بنسبة 1:1 موزع على 80 سندانة وبمقدار كيلوغرام واحد وبواقع 2 بذرة لكل سندانة ووضعت داخل البيت البلاستيكي بهدف بيان اثر منظمات النمو النباتية في تحسين إنبات البذور , بتاريخ 1/7 / 2012 وتم حساب نسبة الإنبات بعد مرور 6 أسابيع من الزراعة وبتاريخ 22/ 2/ 2012 نقلت إلى الظلة الخشبية وجرى ري و تسميد الشتلات وحسب الحاجة .

3 – 1 –2 : زراعة شتلات الشليك صنف Salwan

تم جلب شتلات الشليك للصنف المذكور من مركز الزراعة العضوية /وزارة الزراعة العراقية , وأدخلت إلى البيت البلاستيكي وزرعت في تربة نهرية وتم ريها بنظام التنقيط بهدف نموها بوصفها مصدراً للأمهات وتم تسميدها حسب الحاجة لتكون مصدرا للأجزاء الورقية لإجراء تجارب نشوء الكالس في المختبر .

3 – 2 التجارب المختبرية (الزراعة خارج الجسم الحي)

3– 2 – 1 : تعقيم البذور

عقمت البذور باستعمال القاصر التجاري (الفاس) الذي يحتوي على5 % من هايبوكلورات الصوديوم وتم تخفيف القاصر إلى 0.05 % بالماء المقطر واستخدم الصابون السائل بوصفها مادةً ناشرة بتركيز0.1 % ووضعت البذور في المحلول المعقم ولمدة 15 دقيقة ثم غسلت أربع مرات بالماء المقطر المعقم لمدة 5 دقائق في كل مرة للتخلص من آثار مادة التعقيم , علما بان كافة خطوات التعقيم كانت تجري تحت ظروف معقمة في كابينة الزراعة Laminar air flow cabinet .

3 –2 –2: تحضير الوسط الغذائي

استعملت أملاح الوسط الغذائي MS (Murashige و Skoog, 1962)(الجدول 2) بعد إجراء بعض التعديلات في نوع الحديد المجهز للوسط الغذائي (عبيد, 2009).

وتم تعديل الدالة الهيدروجينية pH إلى 5.7 - 5.8 ثم وزع الوسط الغذائي بعد إضافة منظمات النمو النباتية وحسب التجارب في قناني زجاجية سعة 125 مل وبواقع 20 مل لكل قنينة ، بعدها غطيت القناني الزجاجية بورق الالمنيوم ثم عقمت على درجة حرارة 121 مْ ، وضغط 1.04 كغم /سم^2 وذلك باستخدام جهاز المؤصدة Autoclave ولمدة 15 دقيقة ثم أجريت بعض الإضافات الى مكونات الوسط الغذائي في بعض التجارب وحسب متطلبات الدراسة شملت منظمات النمو وكما سيرد لاحقاً (محمد وعمر , 1990).

3 – 2 – 3: تعقيم الأدوات

عقمت جميع الأدوات من ملاقط ومشارط وأطباق بتري ، وبيكرات ، والماء المقطر، وأوراق الترشيح باستخدام جهاز المؤصدة في درجة حرارة 121 مْ وضغط 1.04 كغم /سم^2 لمدة 30 دقيقة واستخدام الكحول الاثيلي بتركيز70% في تعقيم منضدة انسياب الهواء الطبقي وتعقيم الأيدي أثناء العمل (سلمان , 1988).

الجدول (1) مكونات الوسط الغذائي MS (المحور)

ت	اسم المادة	الرمز الكيميائي	الكمية (ملغم/لتر)
أ	العناصر الغذائية الكبرى		
1	نترات الأمونيوم	$NH_4 NO3$	1650
2	نترات البوتاسيوم	KNO3	1900
3	كلوريد الكالسيوم المائي	$CaCl_2 . 2H_2O$	440
4	كبريتات المغنيسيوم المائية	$MgSO_4 . 7H_2O$	370
5	فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين	$KH_2 PO_4$	170
ب	العناصر الغذائية الصغرى		
1	حامض البوريك	H_3BO_3	6.2
2	كبريتات 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 Thiamine – HCl (B1)		0.1
2	بايريدوكسين حامض الهيدروكلوريك – Pyridoxine HCl(B6)		0.5
3	حامض النيكوتينك Nicotinic acid (B3)		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

3 – 3 التجارب والمعاملات

3 – 3 – 1 : تأثير الجبرلين في إنبات البذور ونمو البادرات

أجريت التجربة لدراسة تأثير GA_3 في إنبات البذور ونمو بادرات الشليك إذ أضيف GA_3 إلى الوسط الغذائي بالتراكيز 0 ، 0.5 ، 1 ، 2 و 3 ملغم / لتر وبواقع 10 مكررات لكل معاملة و 20 بذرة لكل معاملة وزرعت بذرتان في كل مكرر على الوسط الغذائي الصلب MS ومن ثم وضعت في غرفة النمو على درجة حرارة 2 ± 23 مْ وشدة إضاءة 2000 لوكس ولمدة 16 ساعة ضوء و 8 ساعات ظلام / يوم (محمد وعمر ، 1990) وأخذت القراءات بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة لتحديد مدى استجابة البذور للنمو والتي تمثلت بنسبة الإنبات ,طول الجذير (ملم) ، طول الرويشة (ملم) ، عدد الأوراق وعدد الجذور.

3– 3 – 2: تأثير تراكيز البنزيل أدنين في إنبات البذور

أضيف BA إلى الوسط الغذائي بالتراكيز 0 ، 0.5 ، 1 ، 2 و 3 ملغم / لتر وبواقع 10 مكررات لكل معاملة و 20 بذرة لكل معاملة وزرعت بذرتان في كل مكرر على الوسط الغذائي الصلب MS, وأخذت القراءات بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة لتحديد نسبة الإنبات .

3- 3 - 3 : تأثير تراكيز البنزيل أدنين في نمو الفروع وتضاعفها

أجريت تجربتان لمعرفة تأثير BA في نمو الفروع وتضاعفها إذ تم اخذ بادرات نامية على وسط خالٍ من منظم النمو وزراعتها على وسط MS مجهز بالتراكيز 0، 0.5 ،1، 1.5 و 2 ملغم / لتر والتجربة الثانية أجريت بعد التجربة الأولى بالتراكيز 0 , 0.25, 0.5 و 1 ملغم/ لتر وبواقع 10 قناني لكل معاملة وبذرتان لكل قنينة ، وأخذت القراءات بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة لصفتي عدد الفروع وطولها .

3- 3- 4 : تأثير الكاينتين في إنبات البذور

أجريت التجربة لبيان تأثير .Kin في إنبات بذور الشليك بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة إذ أضيف .Kin إلى الوسط الغذائي MS بالتراكيز 0 ,1, 3 و 6 ملغم / لتر وبواقع10 قناني لكل معاملة وبذرتان في كل قنينة لتحديد نسبة الإنبات .

3- 3- 5 : تأثير تراكيز الكاينتين في نمو الفروع وتضاعفها

أجريت تجربة لبيان تأثير .Kin في نمو الفروع وتضاعفها إذ تم اخذ البادرات النامية على وسط خالٍ من منظم النمو وزراعتها على وسط مجهز بالتراكيز 0 ،1، 2 و3 ملغم /لتر .Kin وبواقع 10 مكررات لكل معاملة لبيان مدى تأثيرها في تضاعف الأفرع ، وأخذت القراءات بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة لصفتي عدد الأفرع وطولها ، وبهدف تحسين استطالة الأفرع زرعت النبيتات الناتجة من هذه التجربة على وسط Ms مضاف له IBA بتركيز 0.3 ملغم /لتر إلى .Kin أو BA بتركيز 0.5 ملغم /لتر.

3 - 4 تجارب نشوء الكالس للصنف Salwan

3- 4 - 1 : تأثير إضافة NAA في نشوء الكالس ونموه

أجريت التجربة لدراسة تأثير إضافة NAA إلى الوسط MS بالتراكيز 0.5 ، 1، 2 و 4 ملغم /لتر في نشوء الكالس من قطع أوراق النباتات الحقلية بمساحة 1سم^2 وبواقع 10 مكررات لكل معاملة لمعرفة تأثير NAA في نشوء الكالس و وزنه الطري والجاف وسجلت القراءات بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة .

3 – 4 – 2 : تأثير NAA و BA في نشوء الكالس ونموه

أجريت تجربة تداخل NAA مع BA وبتجربة عامليه لبيان قدرتهما في تحفيز نشوء الكالس ومتوسط وزنه الطري والجاف واستخدم NAA بالتراكيز 2،1 و 4 ملغم / لتر وأضيف BA بالتركيزين 1 و 1.5 ملغم / لتر وبواقع 10 مكررات لكل معاملة وقطعة ورقية واحدة بمساحة 1 سم^2 لكل مكرر ، وأخذت القراءات بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة .

3-4-3 : تأثير تداخل NAA مع .Kin في نشوء الكالس ونموه

أجريت التجربة لبيان تأثير تداخل NAA مع .Kin بتجربة عاملية إذ أضيف NAA بالتراكيز 2،1 و4 ملغم / لتر وأضيف .Kin بالتركيزين 1 و 1.5 ملغم / لتر وبواقع 10 مكررات لكل معاملة وبقطعة ورقية واحدة بمساحة 1 سم^2 في كل مكرر لمعرفة تأثيرهما في نسبة تكون الكالس و وزنه الطري والجاف وأخذت القراءات بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة.

3- 4 – 4 : تأثير إضافة D ـ 2,4 في نشوء الكالس ونموه

تم إضافة D ـ 2,4 بالتراكيز 0.5 ،2،1 و 4 ملغم /لتر إلى وسط الزراعة لبيان قدرته على تحفيز نشوء الكالس ووزنه الطري والجاف وأضيف إلى الوسط وبواقع 10 مكررات لكل معاملة وقطعة ورقية واحدة بمساحة 1سم^2 لكل مكرر وأخذت القراءات بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة.

3 – 4 – 5 : تأثير تداخل D ـ 2,4 مع .Kin في نشوء الكالس ونموه

أجريت التجربة لبيان تأثير تداخل D ــ 2,4 بالتراكيز 1 ، 2 و4 ملغم / لتر مع .Kin بالتركيزين 1 و 1.5 ملغم / لتر بتجربة عامليه في تحفيز نشوء الكالس ووزنه الطري والجاف وبواقع 10 مكررات لكل معاملة وقطعة ورقية واحدة بمساحة 1 سم^2 لكل مكرر ، وأخذت القراءات بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة .

3-4 – 6 : تأثير تداخل D ـ 2,4 مع BA في نشوء الكالس ونموه

أجريت التجربة لمعرفة تأثير تداخل D– 2,4 بالتراكيز 1 ، 2 و 4 ملغم / لتر مع BA بالتركيزين 1 و 1.5 ملغم / لتر بتجربة عامليه في قدرتهما على تحفيز نشوء الكالس و وزنه الطري والجاف وأخذت القراءات بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة .

3 – 5 تجربة نشوء الكالس للشليك *F. vesca*

3 – 5 –1 : تأثير تداخل NAA مع .Kin في نشوء الكالس ونموه

أجريت التجربة بناءً على نتائج التجارب السابقة ، إذ تم اختبار تداخل NAA بالتركيزين 0.5 و 1 ملغم / لتر مع .Kin بالتركيزين 0.3 و 1 ملغم / لتر لمعرفة قدرتهما على تحفيز نشوء الكالس وحجمه واستخدمت النموات الخضرية النسيجية في تحفيز نشوء الكالس وبواقع 10 مكررات لكل معاملة وأخذت القراءات بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة .

3 – 6 التقدير الكمي والنوعي للمركبات الفينولية .

قدرت المواد الفاعلة في الكالس وفي أوراق وجذور وأزهار النباتات المزروعة في البيت البلاستيكي في وزارة العلوم والتكنولوجيا العراقية ، جفف الكالس على درجة حرارة 60 مْ ولمدة 24 ساعة ثم طحن واخذ من المسحوق 1 غم وأضيف له 10 مل من كحول الميثانول وبنفس الطريقة للنباتات الحقلية ، و وضعت العينات على الجهاز الهزاز ذي الموجات فوق الصوتية لمدة 15 دقيقة ثم وضعت في عمود من النتروجين السائل و رشح المحلول باستخدام ورق ترشيح بقطر 0.2 ملم وحقن كل من المحلول القياسي والعينة في جهاز HpLC نوع Shimadzu LC -10A لتحديد زمن الاحتجاز Retention time وارتفاع حزمة العينة Area لكل من المحلول القياسي والعينة حيث حقن المستخلص في عمود (Column)من نوع 50 ×4.6 I.D mm وطور متحرك (mobile phase) يتكون من 0.1 % acetic acid in Dionized water: acetonitrile وبنسبة

80:20 v/v وكانت سرعة جريان الجهاز 1.5مل/دقيقة وقيست القراءات على طول موجي قدره 275nm وعلى درجة حرارة 30 مْ وحسب تركيز كل عينة باستخدام المعادلة الآتية :

$$\text{تركيز النموذج} = \frac{\text{مساحة حزمة النموذج}}{\text{مساحة حزمة القياس}} \times \text{تركيز المحلول القياسي} \times \text{عدد مرات التخفيف}$$

(Hadi 1999)

3 – 7 التصميم التجريبي والتحليل الإحصائي

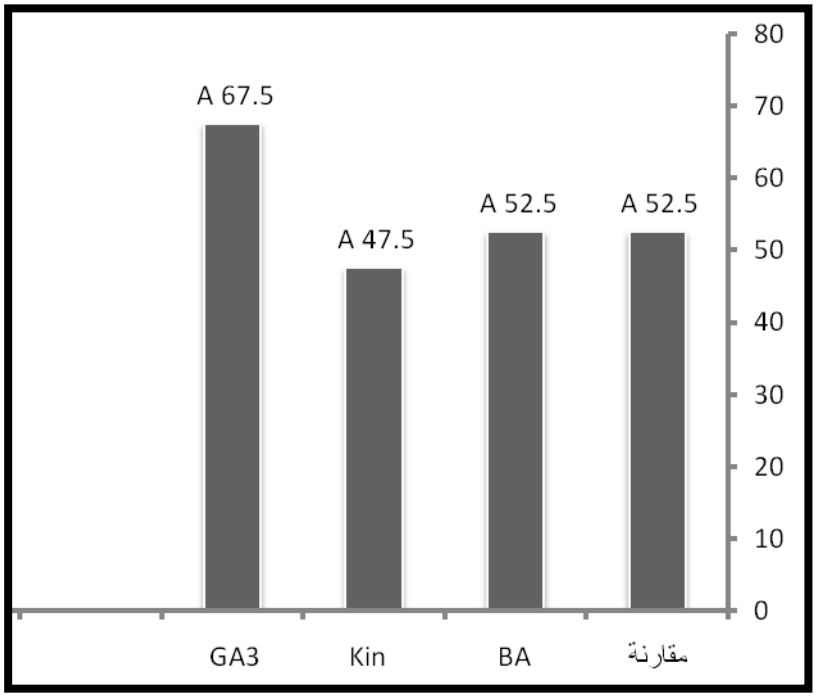
استخدم التصميم العشوائي الكامل (Completely Randomized Design CRD) واستعمل البرنامج الجاهز SAS(1996) لتحليل البيانات وتم المقارنة بين المتوسطات وفق اختبار دنكن متعدد الحدود , واستعمل اختبار T test لاستعمال تجارب استخلاص الفينولات وقورنت المتوسطات باستعمال اقل فرق معنوي لبيان الفروق الإحصائية بين المعاملات وعلى مستوى احتمال 0.05 (الساهوكي و وهيب , 1990).

الفصل الرابع: النتائج والمناقشة

4-1 التجربة الحقلية

4-1-1 :تأثير نقع بذور الشليك *Fragaria vesca* في منظمات النمو النباتية

تبين النتائج في الشكل (2) إن أعلى نسبة إنبات بلغت 67.5%عند نقع البذور بالجبرلين قياسا بنسبة إنبات بلغت 52.5% عند نقع البذور بالماء فقط , في حين بلغت نسبة الإنبات لمعاملتي النقع بالبنزيل أدنين والكاينتين , 52.5 و 47.5% على التوالي ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقا معنوية بين المعاملات.



الشكل (1) تأثير نقع بذور الشليك *Fragaria vesca* بالبنزيل أدنين والكاينتين والجبرلين في إنبات البذور في ظروف الحقل

4-2 التجارب المختبرية

4-2-1 : تأثير إضافة الجبرلين في إنبات البذور ونمو بادرات الشليك *Fragaria vesca*

4-2-1-1 : نسبة الإنبات %

يوضح الجدول (3) عدم ظهور فروقا معنوية بين المعاملات , إذ أعطت البذور المزروعة على وسط مجهز بتركيزي 1 و 2 ملغم / لتر من GA_3 أعلى نسبة إنبات بلغت 60 % ,في حين كانت اقل نسبة إنبات في كل من معاملات المقارنة و 0.5 و 3 ملغم/ لتر وبلغت 55% لكل منها .

4-2-1-2 : طول الرويشة (ملم)

يبين الجدول (3) في صفة طول الرويشة بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة , تفوق معاملة 1 ملغم/ لتر, إذ بلغ متوسط طول الرويشة فيها 8.08 ملم وبفارق معنوي عن بقية المعاملات ما عدا معاملتي المقارنة و 0.5 ملغم/لتر إذ أعطتا 6.73 و 8.00 ملم على التوالي , في حين بلغ اقل متوسط لطول الرويشة في معاملتي 2 و3 ملغم/ لتر واللتان أعطتا 6.20 و 6.42 ملم على التوالي .

4-2-1-3 : عدد الأوراق

تشير النتائج الموضحة في الجدول (3) لصفة عدد الأوراق , تفوق معاملة 1 ملغم /لتر في عدد الأوراق الحقيقية في البادرات بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة إذ أعطت 3.50 ورقة /بادرة وبفارق معنوي عن باقي المعاملات ما عدا معاملة 0.5 ملغم/لتر والتي أعطت متوسط عدد للأوراق بلغ 2.82 ورقة/ بادرة , في حين كان اقل عدد للأوراق في معاملة 2 ملغم/ لتر والتي أعطت 1.50 ورقة/ بادرة والتي اختلفت معنويا عن جميع المعاملات ومنها معاملتي المقارنة و 3 ملغم/ لتر اذ أعطتا متوسط لعدد الأوراق بلغ 2.50 ورقة/ بادرة لكليهما.

4-2-1-4 : عدد الجذور

يظهر الجدول (3) لصفة عدد الجذور بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة إن معاملة 1 ملغم/ لتر تفوقت معنويا على جميع المعاملات إذ بلغ متوسطها 1.88 جذر/ بادرة , في حين بلغ متوسط عدد الجذور 1.00 جذر/ بادرة في المعاملات الأخرى جميعاً .

4-2-1-5 : طول الجذور (ملم)

يشير الجدول (3) في صفة طول الجذور بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة , إن معاملة 2 ملغم/ لتر أعطت أعلى متوسط لطول الجذور وبلغ 6.40 والتي تفوقت معنوياً على معاملتي المقارنة و 0.5 ملغم /لتر إذ أعطتا متوسط لطول الجذور بلغ 4.00 و 4.72 ملم على التوالي , وأعطت معاملتي 1 و3 ملغم /لتر متوسط لطول الجذور بلغ 5.83 و 5.00 ملم على التوالي .

جدول (2) تأثير مستويات الجبرلين في إنبات البذور ونمو البادرات للشليك *Fragaria vesca* بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS.

الصفات المعاملات / ملغم/لتر	نسبة الإنبات%	طول الرويشة (ملم)	عدد الأوراق	عدد الجذور	طول الجذور (ملم)
المقارنة	A 55	ABC 6.73	B 2.50	B 1.00	B 4.00
0.5	A 55	AB 8.00	AB 2.82	B 1.00	B 4.72
1	A 60	A 8.08	A 3.50	A 1.88	A 5.83
2	A 60	C 6.20	C 1.50	B 1.00	A 6.40
3	A 55	BC 6.42	B 2.50	B 1.00	A 5.00

الأرقام التي تحمل أحرف متشابه لاتختلف فيما بينها معنوياً حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5% .

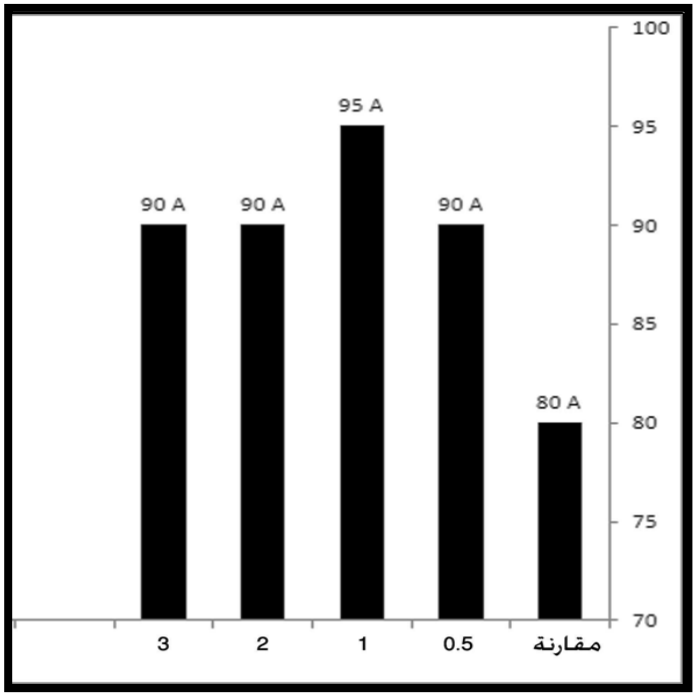
بينت النتائج إن الجبرلين حفز إنبات البذور بشكل ملحوظ ولاسيما في التجربة الحقلية وان تجهيز الوسط الغذائي بالجبرلين أدى إلى زيادة معدل النمو للبادرات مما زاد من طول الرويشة ، عدد الأوراق ، الجذور

ومتوسط طولها نتيجة الدور المهم للجبرلين في تحفيز انبات البذور وتحسين نموها (Hartmann و اخرون، 2002) .

والجبرلين من منظمات النمو المهمة التي تلعب دوراً مهماً في تنشيط إنزيمات الأكسدة والاختزال وزيادة فاعليتها مما يقلل من أثر المواد المثبطة للنمو فيزيد الإنبات ومعدل النمو (Davies ، 1995) ، وهذا يتفق مع ماتوصل إليه Arigita وآخرون (2005) إن إضافة الجبرلين والبنزيل ادنين إلى الوسط MS أدى إلى تفتح البراعم الجانبية وتكوين الفروع من نبات الكيوي .

4- 2- 2 :تأثير تراكيز البنزيل ادنين في إنبات بذور الشليك *Fragaria vesca*

تشير النتائج الموضحة في الشكل (3) إلى عدم ظهور فروق معنوية بين المعاملات في نسبة إنبات البذور بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة ، إذ أعطت البذور المزروعة على وسط يحتوي 1ملغم/لتر أعلى نسبة إنبات بلغت 95% ، في حين كانت اقل نسبة إنبات في معاملة المقارنة وبلغت 80% ، وأعطت معاملات 0.5 ، 2 و 3 ملغم / لتر نسبة إنبات بلغت 90% لكل منها .



شكل (2) تأثير مستويات البنزيل أدنين في انبات بذور الشليك *Fragaria vesca* بعد مرور 4 اسابيع من الزراعة على وسط MS .

4-2-3 تأثير تراكيز البنزيل أدنين في تضاعف بادرات الشليك *Fragaria vesca*

4-2-3-1 :عدد الفروع

تبين النتائج الموضحة في الجدول (4) أن البادرات التي كانت نامية على وسط خالي من الهرمون لمدة 4 أسابيع ثم نقلت إلى وسط التضاعف والمجهز بتراكيز مختلفة من BA ، شجع تفتح البراعم الجانبية وتكوين الفروع بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة ، إذ أعطت معاملة 1.5 ملغم/لتر أعلى متوسط لعدد الأفرع بلغ 3.25 فرع/بادرة والتي تفوقت معنوياً على معاملتي المقارنة و 1 ملغم /لتر إذ أعطتا 2.00 فرع/بادرة لكل منهما ، في حين أعطت معاملتي 0.5 و2ملغم/لتر متوسط لعدد الأفرع بلغ 2.50 و 2.67 فرع /بادرة على التوالي .

4-2-3-2 : طول أطول فرع (ملم)

تشير النتائج الموضحة في الجدول (4) إن أعلى متوسط لطول الفروع بلغ 30 ملم للأوساط الخالية من BA ، في حين بلغ اقل متوسط لطول الفروع 16.5 ملم لمعاملة 0.5 ملغم /لتر ، وأعطت معاملات 1 و 1.5 و 2 ملغم /لتر متوسط لطول الفروع بلغ 20.00 و22.50 و 26.67 و ملم على التوالي ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقاً معنوية بين المعاملات .

الجدول (3) تأثير تراكيز مختلفة من BA في نمو وتضاعف البادرات للشليك *Fragaria vesca* بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة على وسط MS .

الصفات المدروسة	تراكيز BA (ملغم/ لتر)				
	مقارنة	0.5	1	1.5	2
عدد الأفرع	B 2.00	AB 2.50	B 2.00	A 3.25	AB 2.67
طول أطول فرع(ملم)	A 30.00	A 16.50	A 20.00	A 22.50	A 26.67

الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

4-2-4 تأثير تراكيز البنزيل أدنين في تضاعف الفروع للشليك *Fragaria vesca*

4-2-4-1 : عدد الفروع

تظهر النتائج الموضحة في الجدول (5) إن إضافة 1 ملغم/ لتر BA إلى الوسط الغذائي MS كانت الأفضل في تشجيع تكوين الفروع بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة وبلغ عددها 11.90 فرعاً/ بادرة والتي تفوقت معنويا على معاملة المقارنة التي أعطت اقل متوسط لعدد الأفرع وبلغ 4.50 فرعاً/ بادرة ، في حين أعطت معاملتي 0.25 و 0.5 ملغم/ لتر متوسط لعدد الفروع بلغ 11.89 و 9.29 فرعاً/ بادرة .

4-2-4-2 : طول أطول فرع (ملم)

يشير الجدول (5) لصفة طول أطول فرع أن المعاملات لم تؤثر معنويا في هذه الصفة بعد 8 أسابيع من الزراعة ، وبلغ أعلى متوسط طول للأفرع في معاملة المقارنة ، إذ أعطت 28.75 ملم ، في حين بلغ اقل متوسط لطول الفروع 25.26 ملم في معاملة 0.25 ملغم/ لتر ، وأعطت معاملتي 0.5 و 1 ملغم/ لتر متوسط لطول الأفرع بلغ 28.57 و 26.00 ملم على التوالي .

الجدول (4) تأثير تراكيز BA في نمو وتضاعف الفروع للشليك *Fragaria vesca* بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS

الصفات المدروسة	تراكيز BA (ملغم/ لتر)			
	مقارنة	0.25	0.5	1
عدد الأفرع	B 4.50	A 11.89	AB 9.29	A 11.90
طول أطول فرع (ملم)	A 28.75	A 25.26	A 28.57	A 26.00

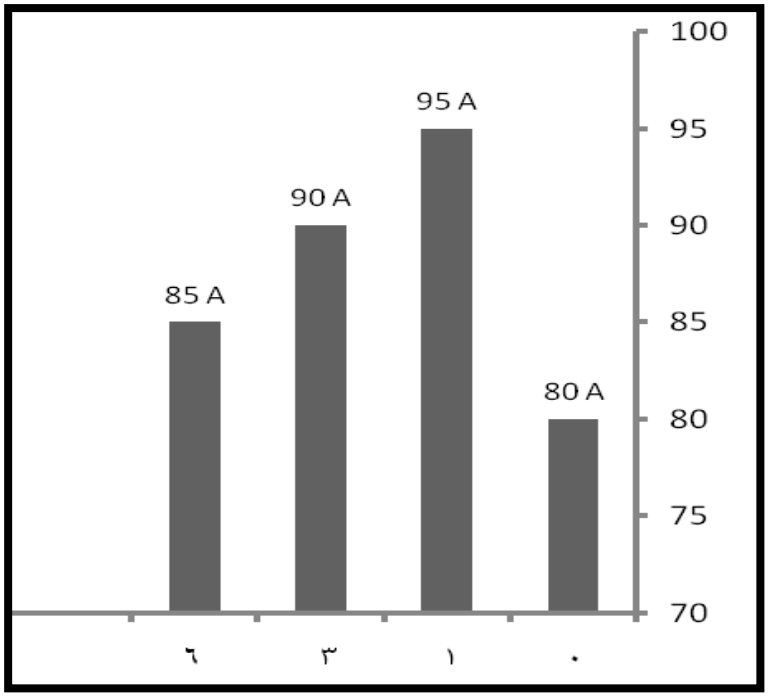
الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

إن سبب تفوق معاملتي 1 ، 1.5 و 2 ملغم/ لتر في كلا التجربتين في زيادة عدد الفروع يعود إلى التأثير الايجابي لـ BA في تشجيع تفتح البراعم الجانبية وتحفيز نمو الفروع فالسايتوكاينينات ولاسيما BA في مرحلة التضاعف يعمل على كسر السيادة القمية وتحفيز نمو البراعم الجانبية وزيادة التمايز الوعائي لهذه البراعم مما يسهل نموها وتفرعها (Davies،1995 ; جندية ، 2003) ، فضلا عن دور السايتوكاينين في إلية جذب وتجميع المواد الايضية عند موضع البراعم الجانبية وتحفيز انتقال المغذيات ومواد النمو الأخرى والعناصر المعدنية الضرورية لبدء نمو البراعم ونمو المجموع الخضري (Devlin وWitham ، 1983) .

وقد أشارت العديد من الدراسات إلى نجاح BA في تكوين الفروع منها دراسة Bustos و Alejandra (1993) على الشليك صنف Selvas وكذلك وجد Sorvari وآخرون (1993) في دراستهم على صنفي الشليك Hiku و Jansok وكذلك البياتي (2005) عند زراعته فروع الشليك لصنفي الغابي وErdpeeren .

4-2-5 :تأثير إضافة الكاينتين في انبات البذور للشليك *Fragaria vesca*

تبين النتائج في الشكل (4) أن أعلى نسبة إنبات بلغت 95% في معاملة 1 ملغم /لتر قياساً بنسبة إنبات 80% عند زراعة البذور على وسط خالٍ من الكاينتين بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة، في حين بلغت نسبة الإنبات لمعاملتي 3 و 6 ملغم /لتر 90 و 85 % على التوالي ، ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقاً معنوية بين المعاملات .



الشكل (3) تأثير مستويات الكاينتين في انبات بذور الشليك *Fragaria vesca* بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة على وسط MS .

4-2- 6 :تأثير إضافة الكاينتين في تضاعف الفروع للشليك *Fragaria vesca*

تشير النتائج الموضحة في الجدول (6) حول صفة عدد الفروع بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة ، أن معاملة 1 ملغم /لتر أعطت أعلى متوسط لعدد الفروع بلغ 4.50 فرع /بادرة ، في حين أعطت معاملة 2 ملغم/لتر اقل متوسط لعدد الفروع وبلغ 1.50 فرع/بادرة، وأعطت معاملتي المقارنة و 3 ملغم /لتر متوسط لعدد الأفرع بلغ 2.25 و 2.50 فرع/بادرة على التوالي ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقاً معنوية بين المعاملات .

أما بالنسبة لصفة طول الفروع فقد أظهرت النتائج في الجدول (6) أن معاملة المقارنة أعطت أعلى معدل لطول الفروع بلغ 33.75 ملم بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة ، في حين أعطت معاملة 2 ملغم /لتر اقل معدل لطول الفروع وبلغ 20.00 ملم ، وأعطت الأوساط المجهزة بالتراكيز 1 و 3 ملغم /لتر معدل لطول الفروع بلغ 33.13 و 25.00 ملم على التوالي ، ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقاً معنوية بين المعاملات .

جدول (5) تأثير مستويات الكاينتين في تضاعف الفروع للشليك *Fragaria vesca* بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS

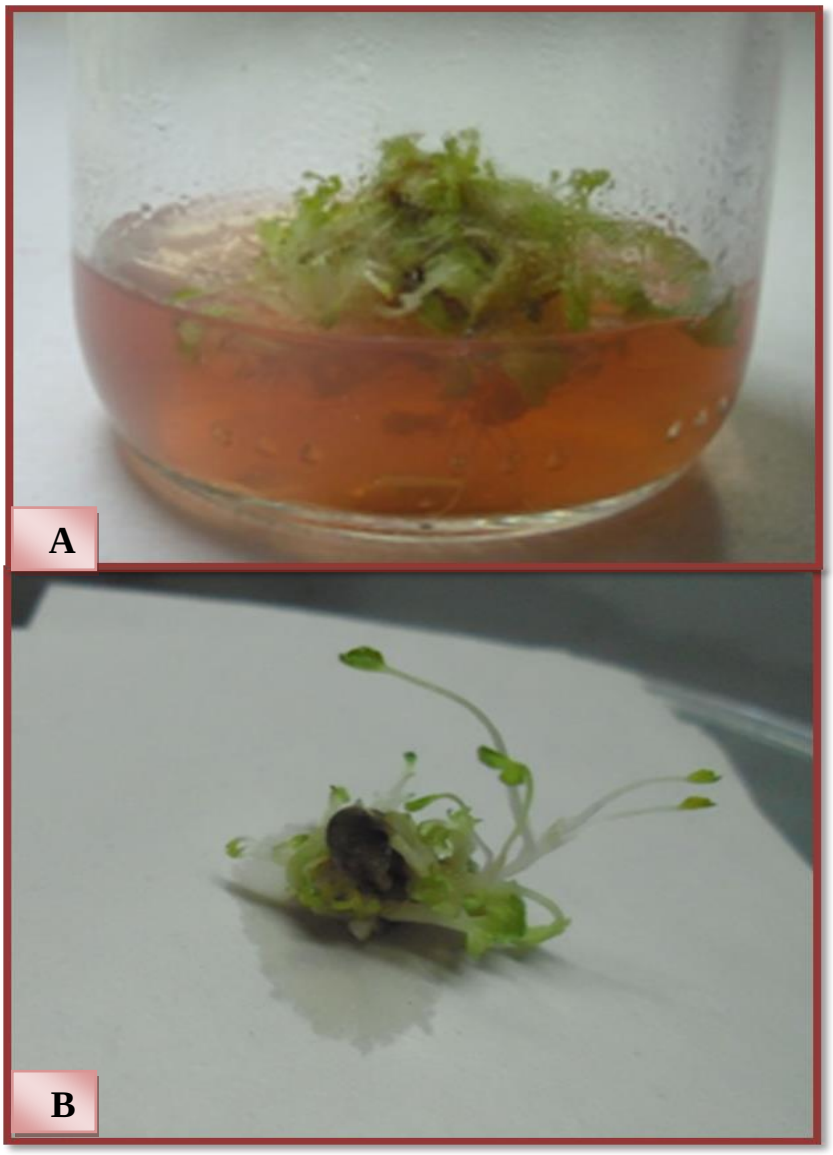
المعـــاملات ملغم / لتر	عدد الأفرع	طول أطول فرع (ملم)
المقارنة 0	A 2.25	A 33.75
1	A 4.50	A 33.13
2	A 1.50	A 20.00
3	A 2.50	A 25.00

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

أن إضافة الكاينتين بتركيز 1 ملغم /لتر أدى إلى زيادة في عدد الفروع وبنسبة 100 % قياساً بالأوساط الخالية من الكاينتين وهذا يعود إلى دور الكاينتين في تشجيع تفتح البراعم الجانبية وتكوين الأفرع في مرحلة التضاعف, ولقد فسر البياتي (2002) التأثير الايجابي لـ .Kin عند المستويات المنخفضة في زيادة عدد الفروع وأطوالها إلى دوره في إعاقة هدم البروتين والكلوروفيل فضلاً عن تحفيزه لأنزيمات البناء الضوئي والذي تنعكس آثاره في زيادة حجم الخلية وتشجيع عملية الانقسام والتمايز الشكلي خاصة عندما تصل حالة التوازن المثالية بين ما أضيف منه إلى الوسط الغذائي مع ما موجود في الجزء النباتي.وكذلك يعود سببه إلى اختلاف درجة نمو خلايا الأجزاء النباتية وبالتالي اختلاف محتواها الغذائي والهرموني والذي انعكس بدوره على حالة التوازن الهرموني النهائي للجزء النباتي بعد تداخله مع .Kin المضاف إلى الوسط الغذائي (Skoog و Miller ,1957) . ، وقد توصل Akbas وآخرون (2007) إلى إن إضافة البنزيل أدنين أو الكاينتين إلى الوسط الغذائي MS بالتراكيز 0.5 ، 1 و 2 ملغم /لتر شجع تفتح البراعم الجانبية والعرضية لنبات الكيوي المزروع خارج الجسم الحي .

4- 2 - 7 : تاثير تداخل IBA مع Kin. أو BA في تحفيز استطالة الفروع

تبين الصور الموضحة في الشكل (B 5) أن إضافة IBA بتركيز 0.3 ملغم/ لتر إلى Kin. أو BA بتركيز 0.5 ملغم/ لتر إلى الوسط الغذائي ونقلت إليه الفروع الناتجة من مرحلة التضاعف للكاينتين ، قد حفز استطالة فروع أضافية من كتلة الأنسجة المتضاعفة .



الشكل (4) فروع للشليك *Fragaria vesca* بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة ، A – عند إضافة 1 ملغم/ لتر Kin. إلى الوسط الغذائي ، B – وسط مجهز بالتراكيز 0.5 ملغم/ لتر Kin. + 0.3 ملغم/ لتر IBA .

4-3 تأثير منظمات النمو في نشوء الكالس للصنف Salwan

4-3-1 تأثير NAA في نشوء الكالس ونموه

4-3-1-1 : النسبة المئوية

تظهر النتائج الموضحة في الجدول (7) إن إضافة NAA إلى الوسط الغذائي نجح في تحفيز نشوء الكالس من الأوراق وأعطت المعاملة 0.5 ملغم/ لتر أعلى نسبة لتكون الكالس بلغت 100 % بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة ، في حين أعطت المعاملة 4 ملغم /لتر اقل نسبة لتكون الكالس بلغت 50% وأعطت معاملتي 1 و 2 ملغم /لتر نسبة لتكون الكالس بلغت 70 و 60% على التوالي ، ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقاً معنوية بين المعاملات .

4-3-1-2 : الوزن الطري (غم)

أما بالنسبة لصفة الوزن الطري للكالس فقد بينت النتائج الموضحة في الجدول (7) أن معاملة 0.5 ملغم/لتر أعطت أعلى معدل للوزن الطري للكالس المستحث من قطعة ورقية بمساحة 1سم^2 وبلغ 0.484 غم والتي تفوقت معنوياً على المعاملات الباقية ماعدا معاملة 1 ملغم /لتر التي أعطت 0.395 غم ، في حين أعطت معاملتي 2 و 4 ملغم /لتر اقل وزن للكالس بلغ 0.261 و 0.244 غم على التوالي .

4- 3 - 1 - 3 : الوزن الجاف (غم)

تشير النتائج المبينة في الجدول (7) لصفة الوزن الجاف للكالس إلى عدم ظهور فروقٍ معنوية بين المعاملات ، إذ أعطت الأوساط الغذائية المجهزة بتركيز0.5 ملغم /لتر أعلى وزن جاف للكالس بلغ 0.018 غم تلتها معاملة 1 ملغم /لتر التي أعطت 0.012 غم ، في حين أعطت معاملتا 2 و 4 ملغم/لتر اقل وزن للكالس بلغ 0.005 غم لكل منها .

جدول (6) تأثير NAA في نسبة تكون الكالس و وزنه الطري والجاف المستحث من الأوراق لنبات الشليك صنف Salwan بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS .

المعاملات (ملغم /لتر)	نسبة تكون الكالس %	الوزن الطري (غرام)	الوزن الجاف (غرام)
0.5	A 100	A 0.484	A 0.018
1	A 70	AB 0.395	A 0.012
2	A 60	B 0.261	A 0.005
4	A 50	B 0.244	A 0.005

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

إن سبب تفوق معاملة 0.5 ملغم/ لتر هو إن وزن الكالس يزداد عند ازدياد تركيز الأوكسين وصولا إلى التركيز المثالي ثم بعدها يبدأ الانخفاض التدريجي لاستحثاث الكالس بازدياد التركيز. كما أن تراكيز NAA وخاصة المنخفضة منها كانت الأكثر تأثيرا على نمو الكالس مقارنة بالا وكسينات الأخرى (فهمي ،2003).

أما التأثير السلبي لل NAA عند إضافته إلى الوسط الغذائي بتراكيز أعلى من المستوى المثالي فقد يرجع إلى أن التراكيز العالية تؤثر في عمل الإنزيمات المسؤولة عن بناء الجدار الخلوي وتحللها مما يؤثر في الخصائص الميكانيكة للجدار الخلوي والتأثير في انقسام الخلايا وتكوين الكالس (Taiz و Zeiger ،2002). وهذا ما أشار إليه Karim وآخرون (2011) عند زراعتهم الأجزاء الورقية للشليك أن NAA حفز نشوء الكالس بنسبة 93.33% .

4- 3 – 2: تأثير اضافة NAA مع BA في نشوء الكالس ونموه

4-3 - 2 – 1 : نسبة تكون الكالس

بينت نتائج التحليل الإحصائي في الجدول (8) وجود تداخلات معنوية بين NAA و BA في نسبة تكون الكالس بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة وتفوقت المعاملة 1 ملغم /لتر BA مع 2ملغم /لتر NAA في

أعطاء أعلى نسبة لتكون الكالس بلغت 90% وبفارق معنوي على معاملة 1.5 ملغم /لتر BA + 4 ملغم /لتر NAA والتي أعطت اقل نسبة لتكون الكالس بلغت 30% ، تلتها معاملة 1ملغم/لتر BA + 1 ملغم /لتر NAA نسبة تكون للكالس بلغت 80% ، وأعطت معاملات (BA 1 + NAA 4 ، BA 1.5 + NAA 1 و BA 1.5 + NAA 2) ملغم /لتر نسب لتكون الكالس بلغت 50 ، 60 و 70 % على التوالي .

أما تأثير مستويات NAA فقد أظهرت النتائج أن إضافة NAA بتركيزي 1 و 2 ملغم /لتر تفوقتا في زيادة نسبة تكون الكالس إذ أعطتا نسباً بلغت 70 و 80 % قياساً بالوسط المجهز بتركيز 4 ملغم /لتر والذي أعطى نسبة تكون للكالس بلغت 40 % ، أما بالنسبة لمستويات BA فقد أشارت النتائج إن معاملة 1 ملغم /لتر أعطت أعلى نسبة لتكون الكالس بلغت 73.33 % ، في حين أعطت معاملة 1.5 ملغم / لتر نسبة تكون للكالس بلغت 53.33 % ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقاً معنوية بين المعاملات .

جدول (7) تأثير تداخل BA مع NAA في نسبة تكون الكالس المستحث من الأوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS .

نسبة تكون الكالس %					
المعاملات		تراكيز NAA (ملغم / لتر)			المعدل
		1	2	4	
تراكيز BA (ملغم / لتر)	1	A 80	A 90	AB 50	A 73.33
	1.5	AB 60	AB 70	B 30	A 53.33
المعدل		A 70	A 80	B 40	

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

4- 3 - 2 - 2 الوزن الطري (غم)

تشير النتائج الموضحة في الجدول (9) أن معاملة 1.5 ملغم /لتر BA + 2 ملغم / لتر NAA أعطت أعلى وزن طري للكالس المستحث من الأوراق بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة وبلغ 1.131 غم ، تلتها الأوساط المجهزة بالتراكيز 1ملغم /لتر BA + 1 ملغم / لتر NAA التي أعطت متوسط وزن طري 1.127 غم ، في حين أعطت معاملة 1ملغم/لتر BA + 4 ملغم/لتر NAA اقل متوسط وزن طري للكالس بلغ 0.685 غم وأعطت معاملات NAA 2 + BA 1 ، NAA 1 + BA 1.5 و NAA 4 + BA 1.5 ملغم /لتر متوسط وزن طري للكالس بلغ 0.807 ، 0.773 و 0.733 غم على التوالي ، ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقاً معنوية بين المعاملات .

أما عن تأثير مستويات BA فقد أظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات إذ بلغ متوسط وزن الكالس الطري للوسط المجهز بتركيز 1.5 ملغم / لتر BA 0.879 غم ، في حين أعطت معاملة 1ملغم /لتر وزن طري بلغ 0.873 غم .

أما تأثير إضافة NAA فقد بينت النتائج (الجدول 9) أن إضافة NAA إلى الوسط الغذائي بتركيز 2 ملغم /لتر أعطت أعلى متوسط للوزن الطري بلغ 0.969 غم ، تلتها معاملة 1ملغم /لتر التي أعطت 0.950 غم ، في حين أعطت معاملة 4 ملغم /لتر اقل متوسط للوزن الطري بلغ 0.709 غم ، ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقاً معنوية بين المعاملات .

جدول (8) تأثير تداخلBA مع NAA في الوزن الطري للكالس المستحث من الأوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS .

الوزن الطري (غم)					
المعاملات		تراكيز NAA (ملغم / لتر)			المعدل
		1	2	4	
تراكيز BA (ملغم / لتر)	1	A 1.127	A 0.807	A 0.685	A 0.873
	1.5	A 0.773	A 1.131	A 0.733	A 0.879
المعدل		A 0.950	A 0.969	A 0.709	

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

4- 3 - 2 - 3 : الوزن الجاف (غم)

تبين نتائج تأثير التداخل بين BA و NAA في صفة الوزن الجاف للكالس (الجدول 10) أن معاملة 1 ملغم /لتر BA+ 1 ملغم /لتر NAA أعطت أعلى وزن للكالس المستحث من الأوراق بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة بلغ 0.089 غم ، تلتها معاملة 1 ملغم /لتر BA + 2ملغم /لتر NAA التي أعطت متوسط وزن جاف بلغ 0.085 غم ، في حين أعطت الأوساط المجهزة بتركيزي1ملغم /لتر BA + 4 ملغم /لتر NAA اقل وزن جاف للكالس بلغ 0.045 غم وأعطت معاملات 1.5 ملغم /لتر BA + 1 أو 2 أو 4 ملغم /لتر متوسط وزن جاف للكالس بلغ 0.071 ، 0.077 و 0.058 غم على التوالي ، ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقاً معنوية بين المعاملات.

أما تأثير إضافة NAA في الوزن الجاف للكالس فقد بينت النتائج الموضحة في الجدول (10) إن إضافة 2 ملغم /لتر إلى الوسط الغذائي أعطت أعلى وزن جاف بلغ 0.081 غم ، تلتها معاملة 1 ملغم /لتر إذ أعطت

0.080 م ، في حين أدت إضافة 4 ملغم /لتر إلى أعطاء اقل وزن جاف بلغ 0.052 غم ، ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقاً معنوية بين المعاملات.

أما عن تأثير إضافة BA فلم تظهر نتائج التحليل الإحصائي بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة فروقاً معنوية بين المعاملات فقد أعطت معاملة 1ملغم /لتر وزناً جافاً بلغ 0.072 غم وأعطى الوسط المجهز بتركيز 1.5 ملغم /لتر وزناً جافاً بلغ 0.069 غم .

جدول (9) تأثير تداخلBA مع NAA في الوزن الجاف للكالس المستحث من الأوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS .

الوزن الجاف (غم)					
المعاملات		تراكيز NAA (ملغم / لتر)			المعدل
		1	2	4	
تراكيز BA (ملغم / لتر)	1	A 0.089	A 0.085	A 0.045	A0.072
	1.5	A 0.071	A 0.077	A 0.058	A 0.069
المعدل		A 0.080	A 0.081	A 0.052	

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

إن النمو الجيد للكالس في وسط الزراعة يحصل بفعل التوازن الفسيولوجي لنسيج الكالس والمدعم بتركيز الأوكسين والسايتوكاينين، وان زيادة تركيز أي منهما على حساب الآخر سوف يؤثر سلبا في نمو الكالس (Mineo،1990). إن إضافة كلا منظمي النمو إلى وسط الزراعة ضروري لاستحثاث الكالس إذ يعمل السايتوكاينين بتوافر الأوكسين بوصفه مفتاحاً لبدء الانقسام الخلوي (Skoog و Miller ، 1957). إن اختلاف استجابة الأجزاء النباتية المزروعة إلى توليفات الاوكسينات و السايتوكاينين قد يعود إلى اختلاف

محتواها الداخلي من الهرمونات النباتية وهذه بدورها تؤثر على بلوغ التركيز المثالي في استحثاث الكالس من الأوكسين أو السايتوكاينين عند إضافتهما إلى الوسط الغذائي.

4- 3- 3 : تأثير تداخل .Kin مع NAA في نشوء الكالس ونموه

4- 3-3-1 : نسبة تكون الكالس

تظهر النتائج الموضحة في الجدول (11) تأثير تداخل .Kin و BA إن أعلى نسبة لتكون الكالس بلغت 60% في معاملة 1 ملغم /لتر .Kin + 1 ملغم /لتر NAA ، في حين بلغت اقل نسبة 20% في الأوساط المجهزة بتركيزي 1.5 ملغم /لتر .Kin + 1 ملغم /لتر NAA ،وبلغت نسبة تكون الكالس 50% لجميع المعاملات الأخرى ، ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقاً معنوية بين المعاملات .

أما تأثير إضافة .Kin فأظهرت النتائج أن إضافة 1 ملغم /لتر أعطت نسبة تكون للكالس بلغت 53.33 % ، في حين أعطت معاملة 1.5 ملغم /لتر اقل نسبة بلغت 40% ، ولم تختلف المعاملتان بينهما إحصائيا.

أما عن تأثير إضافة NAA فلم تظهر فروقاً إحصائية بين المعاملات إذ أشارت النتائج الى أن أعلى قيمة لمعدل تكون الكالس بلغت 50% لمعاملتي 2 و 4 ملغم / لتر ، في حين أعطى الوسط المجهز بتركيز 1 ملغم /لتر اقل نسبة تكون للكالس بلغت 40% .

جدول (10) تأثير تداخل .Kin مع NAA في نسبة تكون الكالس من الأوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS .

نسبة تكون الكالس %					
المعاملات		تراكيز NAA (ملغم / لتر)			المعدل
		1	2	4	
تراكيز Kin. (ملغم / لتر)	1	A 60	A 50	A 50	A 53.33
	1.5	A 20	A 50	A 50	A 40
المعدل		A 40	A 50	A 50	

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

4-3 -3-2 : الوزن الطري (غم)

تبين نتائج (الجدول12) تأثير تداخل .Kin مع NAA وجود فروقٍ معنوية بين المعاملات في صفة الوزن الطري للكالس بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة ، إذ تفوقت المعاملة 1.5 ملغم / لتر .Kin + 1 ملغم/ لتر NAA على المعاملات جميعاً وأعطت 2.107 غم / قطعة ورقية ، في حين بلغ اقل وزن طري للكالس المستحث 0.337 غم في الوسط الغذائي المجهز بتركيز 1.5 ملغم /لتر .Kin + 2 ملغم /لتر NAA وبفارق معنوي عن معاملتي 1 ملغم /لتر .Kin + 1 أو 2 ملغم /لتر NAA اللتين أعطتا وزناً طرياً بلغ 1.230 و 1.010 غم على التوالي ، في حين أعطت الأوساط المجهزة بتركيز 1 أو 1.5 ملغم/لتر .Kin + 4 ملغم /لتر NAA متوسط وزن طري للكالس بلغ 0.596 و 0.443 غم على التوالي .

أما تأثير إضافة .Kin إلى الوسط الغذائي فقد أظهرت النتائج (الجدول12) إن تجهيز الوسط الغذائي بتركيز 1 ملغم / لتر أعطى أعلى وزن طري للكالس بلغ 0.963 غم ، في حين أعطت معاملة 1.5 ملغم/ لتر معدلاً للوزن الطري بلغ 0.672 غم ، ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقا معنوية بين المعاملات .

أما عن تأثير إضافة NAA فقد بينت النتائج تفوقا معنويا للأوساط المجهزة بتركيز 1 ملغم/ لتر على تركيزي 2 و4 ملغم/ لتر إذ بلغت 1.669 غم ، في حين أعطت المعاملة 4 ملغم/ لتر اقل معدل للوزن الطري بلغ 0.520 غم ، وبلغ متوسط الوزن الطري 0.674 غم في الوسط المجهز بتركيز2 ملغم/ لتر .

جدول (11) تأثير تداخل .Kin مع NAA في الوزن الطري للكالس المستحث من الأوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS .

الوزن الطري (غم)					
المعدل	تراكيز NAA (ملغم / لتر)			المعاملات	
	4	2	1		
A 0.963	BCD 0.596	BC 1.010	B 1.230	1	تراكيز Kin. (ملغم / لتر)
A 0.672	CD 0.443	D 0.337	A 2.107	1.5	
	B 0.520	B 0.674	A 1.669	المعدل	

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

4-3-3-3 : الوزن الجاف (غم)

تشير النتائج (الجدول13) حول تأثير تداخل .Kin مع NAA إلى ظهور فروقٍ معنوية بين المعاملات في صفة الوزن الجاف للكالس بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة ، إذ تفوقت المعاملة 1.5 ملغم/ لتر Kin+ 1 ملغم/ لتر NAA في إعطاء أعلى قيمة للوزن الجاف بلغت 0.127 غم ،في حين بلغت اقل قيمة 0.035 غم

في الوسط المجهز بتركيز 1.5ملغم /لتر .Kin + 4 ملغم /لتر NAA وبفارق معنوي عن معاملتي 1 ملغم/لتر .Kin + 1 أو 2 ملغم /لتر NAA اللتين أعطتا متوسط وزن جاف للكالس بلغ 0.099 و 0.066 غم على التوالي ، وأعطت معاملتي 1 ملغم /لتر .Kin + 4 ملغم /لتر NAA و 1.5 ملغم / لتر .Kin + 2 ملغم / لتر NAA متوسطاً للوزن الجاف بلغ 0.049 و 0.039 غم على التوالي .

أما بالنسبة لتأثير مستويات .Kin فقد بينت النتائج إن أعلى متوسط وزن جاف للكالس بلغ 0.073 غم للأوساط المجهزة بتركيز 1 ملغم /لتر ، في حين أعطت معاملة 1.5 ملغم /لتر 0.052غم ،ولم تختلف المعاملتان بينهما إحصائيا ، أما عن تأثير مستويات NAA فقد أظهرت النتائج فروقاً معنوية بين مستويات NAA، إذ تفوقت الأوساط المجهزة بتركيز 1ملغم /لتر على باقي المعاملات الأخرى في أعطاء أعلى متوسط للوزن الجاف بلغ 0.113 غم ، في حين أعطت الأوساط المجهزة بتركيز 4 ملغم /لتر NAA اقل وزن جاف للكالس بلغ 0.042 غم ، وبلغ متوسط الوزن الجاف 0.053 غم في معاملة 2 ملغم /لتر.

جدول (12) تأثير تداخل .Kin مع NAA في الوزن الجاف للكالس المستحث من الأوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS .

المعاملات		الوزن الجاف (غم) تراكيز NAA (ملغم / لتر)			
		1	2	4	المعدل
تراكيز Kin. (ملغم / لتر)	1	B 0.099	C 0.066	CD 0.049	A 0.073
	1.5	A 0.127	CD 0.039	D 0.035	A 0.052
المعدل		A 0.113	B 0.053	B 0.042	

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

وقد يرجع السبب في تفوق تداخل الكاينتين مع NAA إلى حصول حالة التوازن بين السايتوكاينين والاوكسين التي أشار إليها (Skoog و Miller ،1957) إذ إن الاوكسينات والسايتوكاينينات تستخدم عادة في جميع تقنيات زراعة الأنسجة النباتية لما لها من اثر بارز وهام في استحثاث نسيج الكالس ونموه من جهة و نشوء وتضاعف الفروع الخضرية وتكوين الجذور عليها من جهة أخرى (George وآخرون ،2008) مما يؤكد أن منظمات النمو تعد من العوامل الأساسية لنجاح زراعة الأنسجة النباتية ، وقد أتفقت بعض الدراسات إلى دور تداخل السايتوكاينين والاوكسين في نشوء الكالس ونموه ومنها ما وجده Karim وآخرون (2011) عند زراعتهم الأجزاء الورقية للشليك أن تداخل NAA مع BA و 2,4-D مع BA أعطى نسبة تكون للكالس بلغت 93.33% ، وكذلك قام Biswas وآخرون (2010) إلى استحثاث الكالس من زراعة نصل الورقة والعقدة وقطع المدادات للشليك ، أما Truong وآخرون (2012) حفزوا نشوء الكالس من البراعم الزهرية للشليك .

4- 3-4 : تأثير 2,4- D في نشوء الكالس ونموه

4- 3- 4-1 : نسبة تكون الكالس

تبين النتائج الموضحة في الجدول (14) أن جميع مستويات 2,4 – D نجحت في تحفيز نشوء الكالس من الأوراق وان أعلى نسبة لتكون الكالس بلغت 70% عند تجهيز الوسط الغذائي MS بتركيزي 0.5 و 1 ملغم /لتر بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة ، في حين أعطت معاملتي 2 و 4 ملغم /لتر اقل نسبة بلغت 50 % لكل منهما ، ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقاً معنوية بين المعاملات .

4-3- 4-2 : الوزن الطري (غم)

تظهر نتائج التحليل الإحصائي (الجدول 14) وجود فروقٍ معنوية بين المعاملات بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة إذ أعطت الأوساط المجهزة بتركيز 4 ملغم /لتر أعلى وزن طري للكالس المستحث من الأوراق وبلغ 0.699 غم وبفارق معنوي عن معاملة 1 ملغم /لتر ، في حين بلغ اقل متوسط للوزن الطري 0.391 غم ، و

أعطى الوسط الغذائي المجهز بتركيزي 0.5 و 2 ملغم /لتر متوسط وزن طري بلغ 0.612 و 0.507 غم على التوالي .

4-3-4-3 : الوزن الجاف (غم)

توضح النتائج (الجدول 14) في صفة الوزن الجاف أن إضافة 0.5 ملغم/لتر 2,4- D إلى الوسط الغذائي MS أدى إلى إعطاء أعلى وزن جاف للكالس المستحث من الأوراق بلغ 0.039غم والتي تفوقت معنوياً على معاملة 1 ملغم /لتر التي أعطت اقل متوسط للوزن الجاف وبلغ 0.015غم ، وأعطت الأوساط المجهزة بتركيزي 2 و 4 ملغم /لتر متوسط وزناً جافاً بلغ 0.020 و 0.027 غم على التوالي .

جدول (13) تأثير مستويات 2,4-D في نسبة تكون الكالس ووزنه الطري والجاف للشليك صنف Salwan من الأوراق بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS .

المعاملات (ملغم / لتر)	نسبة تكون الكالس%	الوزن الطري (غرام)	الوزن الجاف (غرام)
0.5	A 70	AB 0.612	A 0.039
1	A 70	B 0.391	B 0.015
2	A 50	AB 0.507	AB 0.020
4	A 50	A 0.699	AB 0.027

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

وأظهرت النتائج أن التراكيز الواطئة من 2,4-D كانت الأكثر تأثيرا في استحثاث الكالس للأجزاء النباتية المزروعة وقد يعود سبب ذلك إلى أن التراكيز العالية أدت إلى تقليل معدل انقسام الخلايا (Trigiano وGray ،2000). ويعد الكثير من الباحثين أن الـ 2,4-D من الاوكسينات الأكثر نشاطا و تهيئة الخلايا للانقسام وتكوين الكالس (فهمي ،2003) .

4-3 -5 : تأثير تداخل.Kin مع 2,4-D في نشوء الكالس ونموه

4-3 - 5- 1 : نسبة تكون الكالس

تبين النتائج الموضحة في الجدول (15) ظهور فروق معنوية بين المعاملات في تأثير تداخل 2,4-D مع .Kin في نسبة تكون الكالس بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة , إذ تفوقت معاملتا 1 ملغم /لتر.Kin + 1 ملغم /لتر 2,4-D و 1.5 ملغم/لتر .Kin + 4 ملغم /لتر 2,4-D في أعطاء أعلى نسبة لتكون الكالس وبلغت 90% لكل منهما وبفارق معنوي عن معاملة 1 ملغم /لتر.Kin + 4 ملغم /لتر 2,4-D التي أعطت اقل نسبة لتكون الكالس بلغت 40% , في حين أعطت الأوساط المجهزة بالتراكيز 1 ملغم /لتر.Kin + 2 ملغم /لتر 2,4-D و 1.5 ملغم/لتر .Kin + 1 أو 2 ملغم /لتر نسبة لتكون الكالس بلغت 70 و 80 و 60 % على التوالي.

أما بالنسبة لتأثير تراكيز .Kin فقد بينت النتائج ان أعلى نسبة بلغت 76.67% في الأوساط المجهزة بتركيز 1.5 ملغم/لتر , في حين بلغت 66.67% في معاملة 1 ملغم/لتر , ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقا معنوية بين تركيزي الكاينتين ، أما عن تأثير مستويات 2,4-D فقد أظهرت النتائج ان معاملة 1 ملغم/لتر أعطت أعلى قيمة لمعدل تكون الكالس بلغت 85% , في حين بلغت اقل نسبة 65% لمعاملتي 2 و 4 ملغم/لتر , ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقاً معنوية بين المعاملات.

جدول (14) تأثير تداخل.Kin مع 2,4-D في نسبة تكون الكالس من الأوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS .

نسبة تكون الكالس %					
المعاملات		تراكيز 2,4-D (ملغم / لتر)			المعدل
		1	2	4	
تراكيز Kin. (ملغم / لتر)	1	A 90	AB 70	B 40	A 66.67
	1.5	AB 80	AB 60	A 90	A 76.67
المعدل		A 85	A 65	A 65	

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

4-3 – 5 –2 : الوزن الطري (غم)

تبين النتائج الموضحة في الجدول (16) إن تأثير تداخل .Kin مع 2,4-D نجح في زيادة الوزن الطري للكالس بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة وأدى ذلك إلى ظهور فروقٍ معنوية بين المعاملات إذ تفوق الوسط المجهز بتركيز 1 ملغم / لتر .Kin + 1 ملغم / لتر 2,4-D في إعطاء أعلى قيمة للوزن الطري بلغت 2. 560 غم تلتها معاملة 1.5 ملغم / لتر .Kin + 1 ملغم / لتر 2,4-D التي أعطت 2.137 غم إذ تفوقتا معنوياً على المعاملات الأخرى الباقية , في حين بلغت اقل قيمة للوزن الطري 0.496 غم عند إضافة 1 ملغم / لتر .Kin + 4 ملغم / لتر 2,4-D وبفارق معنوي عن معاملتي 1 أ و 1.5 ملغم / لتر .Kin + 2 ملغم / لتر 2,4-D اللتين أعطتا متوسط الوزن الطري بلغ 1.595 و1.324 غم على التوالي , وأعطت الأوساط المجهزة بتركيز 1.5 ملغم / لتر .Kin + 4 ملغم / لتر 2,4-D متوسط وزن طري بلغ 0.803 غم .

أما تأثير مستويات .Kin في معدل الوزن الطري فقد أظهرت النتائج أن الوزن الطري بلغ 1.550غم عند إضافة 1 ملغم / لتر إلى وسط MS , في حين أعطت معاملة 1.5 ملغم / لتر معدلاً للوزن الطري بلغ 1.421 غم , ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقا معنوية بين المعاملات.

في حين بينت نتائج تأثير مستويات 2, 4-D تفوق الوسط الغذائي المجهز بتركيز 1 ملغم / لتر على جميع المعاملات وأعطت أعلى معدل للوزن الطري بلغ 2.349 غم , في حين بلغت اقل قيمة للوزن الطري 0.649 غم للكالس الناشئ من الأوساط المجهزة بتركيز 4 ملغم / لتر وبفارق معنوي عن معاملة 2 ملغم/لتر التي أعطت متوسط للوزن الطري بلغ 1.459 غم .

جدول (15) تأثير تداخل.Kin مع 2,4-D في الوزن الطري للكالس المستحث من الأوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS .

الوزن الطري (غم)					
المعاملات		تراكيز 2,4-D (ملغم / لتر)			المعدل
		1	2	4	
تراكيز Kin. (ملغم / لتر)	1	A 2.560	B 1.595	C 0.496	A 1.550
	1.5	A 2.137	B 1.324	C 0.803	A 1.421
المعدل		A 2.349	B 1.459	C 0.649	

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

4- 3- 5 - 3 : الوزن الجاف (غم)

تشير النتائج الموضحة في الجدول (17) لتأثير تداخل 2,4-D مع .Kin في صفة الوزن الجاف إلى ظهور فروقٍ معنوية بين المعاملات وتفوقت معاملات 1 ملغم/لتر .Kin + 2 ملغم/لتر 2,4-D و أعطت أعلى قيمة للوزن الجاف بلغت 0.146 غم تلتها معاملتي 1 أو 1.5ملغم/لتر .Kin + 1 ملغم/لتر 2,4-D اللتين أعطتا 0.145 غم لكل منهما وبفارق معنوي عن باقي المعاملات الأخرى , في حين بلغت اقل قيمة للوزن الجاف للكالس 0.067 غم عند تجهيز الأوساط بالتراكيز 1.5 ملغم / لتر.Kin + 4 ملغم /لتر 2,4-D,

وأعطت معاملتي 1ملغم/لتر .Kin + 4 ملغم /لتر 2,4-D و 1.5 ملغم / لتر .Kin + 2 ملغم/لتر2,4-D وزناً جافاً بلغ0.075 و 0.083 غم على التوالي .

أما تأثير تراكيز .Kin فقد أشارت النتائج إلى ظهور فروقٍ معنوية بين مستويات .Kin إذ تفوقت الأوساط المجهزة بتركيز 1ملغم/لتر في إعطاء أعلى معدل للوزن الجاف بلغ 0.122 غم , في حين أعطت معاملة 1.5 ملغم/ لتر اقل متوسط للوزن الجاف بلغ 0.098 غم .

في حين تبين نتائج تأثير مستويات 2,4-D ظهور فروقٍ معنوية بين المعاملات في معدل الوزن الجاف وتفوق الأوساط الغذائية المجهزة بتركيز 1 ملغم/لتر وأعطت 0.145 غم , في حين أعطت معاملة 4 ملغم / لتر اقل معدل للوزن الجاف بلغ 0.071 غم وبفارق معنوي عن الوسط المجهز بتركيز 2 ملغم/لتر التي أعطت متوسطاً للوزن الجاف بلغ 0.114 غم .

جدول (16) تأثير تداخل.Kin مع 2,4-D في الوزن الجاف للكالس المستحث من الأوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS .

الوزن الجاف (غم)					
المعدل	تراكيز 2,4-D (ملغم / لتر)			المعاملات	
	4	2	1		
A 0.122	B 0.075	A 0.146	A 0.145	1	تراكيز Kin. (ملغم / لتر)
B 0.098	B 0.067	B 0.083	A 0.145	1.5	
	C 0.071	B 0.114	A 0.145	المعدل	

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

4- 3- 6 : تأثير تداخل BA مع 2,4- D في نشوء الكالس ونموه

4- 3 - 6- 1 : نسبة تكون الكالس

تبين النتائج الموضحة في الجدول (18) إن تأثير التداخل بين BA و 2,4-D كان معنوياً في نسبة تكون الكالس بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة وتفوقت المعاملة 1.5 ملغم / لتر BA + 4 ملغم /لتر 2,4-D في أعطاء أعلى نسبة لتكون الكالس بلغت 100% ، تلتها معاملة 1ملغم /لتر BA + 4 ملغم /لتر 2,4- D التي أعطت نسبة بلغت 90% إذ تفوقت معنوياً على الأوساط الغذائية المجهزة بتركيزي 1.5 ملغم /لتر BA + 1ملغم /لتر 2,4-D التي أعطت اقل نسبة لتكون الكالس وبلغت 40 % ، وأعطت معاملات 1 ملغم /لتر BA + 1 أو 2 ملغم /لتر 2,4-D نسبة 60 و 70% على التوالي ،في حين أعطت الأوساط المجهزة بتركيز 1.5 ملغم /لتر BA + 2 ملغم /لتر 2,4-D نسبة تكون للكالس بلغت 80 %.

أما تأثير تراكيز BA فقد أشارت النتائج أن الوسط الغذائي المجهز بتركيزي 1 و 1.5 ملغم /لتر أعطت نسبة لتكون الكالس بلغت 73.33 % لكل منهما .

أما عن تأثير مستويات 2,4- D في نسبة تكون الكالس فقد أظهرت النتائج فروقاً معنوية بين المعاملات إذ تفوقت معاملة 4 ملغم/لتر و أعطت 95% وبفارق معنوي عند إضافة التركيز 1 ملغم /لتر التي أعطت اقل نسبة لتكون الكالس بلغت 50 % ، في حين أعطت الأوساط الغذائية المجهزة بتركيز 2 ملغم /لتر نسبة 75%.

جدول (17) تأثير تداخل BA مع 2,4-D في نسبة تكون الكالس من الأوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS .

نسبة تكون الكالس %					
المعاملات		تراكيز 2,4-D (ملغم / لتر)			المعدل
		1	2	4	
تراكيز BA (ملغم / لتر)	1	AB 60	AB 70	A 90	A 73.33
	1.5	B 40	AB 80	A 100	A 73.33
المعدل		B 50	AB 75	A 95	

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

4- 3- 6-2 : الوزن الطري (غم)

تشير النتائج (الجدول 19) تفوق معاملة 1ملغم/لتر BA + 4ملغم /لتر 2,4-D التي أعطت 1.534غم وبفارق معنوي عن الوسط الغذائي المجهز بتركيز 1 ملغم/لتر BA + 1 ملغم /لتر 2,4-D التي حققت اقل قيمة للوزن الطري وبلغت 0.890غم ، في حين أعطت معاملات 1ملغم/لتر BA + 2 ملغم /لتر 2,4-D و 1.5ملغم /لتر BA + 1 أو 2 أو 4 ملغم /لتر متوسط للوزن الطري بلغ 1.140 و 1.257 و 1.135 و 0.986 غم على التوالي .

أما بالنسبة لتأثير مستويات BA فتبين النتائج أن متوسط الوزن الطري بلغ 1.188 غم عند إضافة التركيز 1ملغم /لتر ، في حين أعطت معاملة 1.5ملغم/لتر 1.126 غم ، ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقاً معنوية بين المعاملتين .

أما عن تأثير تراكيز 2,4-D فلم تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقاً معنوية بين المعاملات وأعطت معاملة 4 ملغم /لتر وزناً طرياً بلغ 1.260 غم ، في حين أعطت معاملتي 1 و 2 ملغم /لتر وزناً طرياً بلغ 1.073 و 1.137 غم على التوالي .

جدول (18) تأثير تداخل BA مع 2,4-D في الوزن الطري للكالس المستحث من الأوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS .

الوزن الطري (غم)					
المعاملات		تراكيز 2,4-D (ملغم / لتر)			المعدل
		1	2	4	
تراكيز BA (ملغم / لتر)	1	B 0.890	AB 1.140	A 1.534	A 1.188
	1.5	AB 1.257	AB 1.135	AB 0.986	A 1.126
المعدل		A 1.073	A 1.137	A 1.260	

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

4-3-6-3 : الوزن الجاف (غم)

تشير النتائج المبينة في الجدول (20) إلى ظهور فروقٍ معنوية في تداخلات تراكيز BA و 2,4-D فقد أعطت الأوساط الغذائية المحتوية على 1 ملغم/لتر BA + 4 ملغم /لتر 2,4-D أعلى قيمة للوزن الجاف بلغت 0.106 غم وبفارق معنوي عن معاملة 1 ملغم /لتر BA + 1ملغم/ لتر 2,4-D التي أعطت اقل وزن بلغ 0.070غم ، في حين أعطت الأوساط المجهزة بالتراكيز 1ملغم /لتر BA + 2ملغم /لتر 2,4-D و 1.5 ملغم /لتر BA + 1 أو 2 أو 4 متوسط وزن جاف بلغ 0.082 و 0.086 و 0.087 و 0.079 غم على التوالي .

أما تأثير مستويات BA فقد بينت نتائج التراكيز المستعملة أنها لم تؤثر معنوياً في هذه الصفة ، وان معاملة 1 ملغم /لتر أعطت وزناً جافاً بلغ 0.086 غم ، في حين بلغ متوسط وزن الكالس الجاف 0.084 غم في الوسط المجهز بتركيز 1.5 ملغم /لتر ، أما تأثير مستويات 2,4-D فتشير النتائج أن أعلى قيمة بلغت 0.093 غم عند إضافة التركيز 4 ملغم /لتر ، وأعطت معاملتا 1 و 2 ملغم /لتر معدلاً للوزن الجاف بلغ 0.078 و 0.085 غم على التوالي ، ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقاً معنوية بين المعاملات .

جدول (19) تأثير تداخل BA مع 2,4-D في الوزن الجاف للكالس المستحث من الأوراق للشليك صنف Salwan بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة على وسط MS .

الوزن الجاف (غم)					
المعاملات		تراكيز 2,4-D (ملغم / لتر)			المعدل
تراكيز BA (ملغم / لتر)		1	2	4	
	1	B 0.070	AB 0.082	A 0.106	A 0.086
	1.5	AB 0.086	AB 0.087	AB 0.079	A 0.084
المعدل		A 0.078	A 0.085	A 0.093	

*الأرقام التي تحمل أحرف متشابهة لاتختلف فيما بينها معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

وجد أن تداخل السايتوكاينينات مع الاوكسينات شجع على نحو كبير استحداث الكالس ونموه أفضل مما لو استخدم الأوكسين لوحده ، وربما يعزى ذلك إلى توافر مستوى معين من منظمات النمو الداخلية والتي تتداخل مع المركبات المضافة للوسط الغذائي ، ذلك أن الكالس ينشأ عادة عن انقسامات كثيرة في الخلايا لتغير من قطبيتها (فقدان التميز) لقسم منها ويمكن أن تستمر بالانقسام والتوسع مكونة نسيج الكالس كما أشار إليه (Dodds و Roberts،1985). إن الزيادة في الوزن الطري للكالس هي انعكاس للتغيرات في المحتويات

المختلفة لخلاياه معتمدة على نموه في الوسط الغذائي المستعمل ، والذي يعتمد بالدرجة الأساس على منظمات النمو المضافة.

يرافق عملية انقسام خلايا الكالس زيادة في المحتويات الهامة لإدامة الانقسام والنمو مثل البروتينات والأحماض الامينية مع تغيرات خاصة داخلية تؤدي إلى انقسام الخلايا تم تخصصها (Wiesman وأخرون ،1989). ويعتمد نمو الكالس في تقنيات زراعة الأنسجة على قابلية خلاياه على الانقسام وتكوين خلايا جديدة ويقدر ذلك بمقدار الزيادة الحاصلة بالوزن الطري ، والجاف ومكونات الخلايا (Mohammad و Abood،1989) ويؤثر الأوكسين عادة من خلال تأثيره في زيادة فعالية الخلايا لبناء المواد الأساس للنمو .

4- 4 تقدير المركبات الفينولية من النباتات النسيجية والنامية في الحقل للشليك *Fragaria vesca* والصنف Salwan (مايكروغرام/ مل)

1-4-4: Alpha penine

تظهر النتائج الموضحة في الجدول (21) أن أعلى كمية لمركب Alpha penine في عينات الشليك بلغت 130.34 مايكروغرام/ مل في إزهار الشليك *F. vesca* ، في حين بلغت اقل كمية للمركب 28.66 مايكروغرام/ مل في الكالس المستحث من الوسط الغذائي المجهز بـ 2,4-D للصنف Salwan ، وبلغت كميتة في الكالس للصنف Salwan المزروع على الوسط الغذائي المجهز ب .Kin + 2,4-D و NAA +BA و .Kin+ NAA ، 52.81 و42.51 و35.92 مايكروغرام/ مل على التوالي ، وبلغ محتوى المركب في أوراق النباتات النامية في الحقل للصنف Salwan 34.06 مايكروغرام/ مل ، في حين لم تظهر قراءة لمركب Alpha penine في أوراق وجذور الشليك vesca ، ولم تظهر نتائج اختبار t فروقا معنوية بين المعاملات .

2-4-4: P-hydroxy benzoic acid

تشير النتائج الموضحة في الجدول (21) إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات وفق اختبارt ، وتفوقت جذور الشليك *F. vesca* في أعطاء أعلى كمية لمركب P-hydroxy benzoic acid بلغت 124.90

مايكروغرام/ مل ، تلتها كميتة في الأوراق للصنف Salwan النامي في الحقل وأعطت 115.11 مايكروغرام/ مل ، وبلغت اقل كمية للمركب في الكالس المزروع على الأوساط المجهزة بمنظمات النمو 2,4-D + Kin. و NAA + Kin. ، 45.18 و42.66 مايكروغرام/ مل ، وبلغ محتوى المركب من الأوراق والإزهار للشليك vesca 86.22 و106.28 مايكروغرام/ مل ، في حين بلغت كميتة 59.63 مايكروغرام/ مل في الكالس النامي على الوسط الغذائي المجهز بـ 2,4-D .

Meryctin : 3-4-4

تظهر نتائج التحليل الإحصائي فروقا معنوية بين المعاملات في كمية مركب Meryctin المفصولة من العينات (الجدول21) ، إذ تفوقت الأوراق للنوع vesca في إعطاء أعلى كمية بلغت 163.56 مايكروغرام/ مل، تلتها كميتة في الجذور للشليك vesca وبلغت 127.05 مايكروغرام/ مل ، في حين بلغت اقل كمية 48.19 مايكروغرام/ مل في الكالس المزروع على الأوساط الغذائية المجهزة بمنظمي النمو NAA +BA ، وأعطت الأوراق للصنف Salwan وإزهار الشليك vesca كمية لمركب Meryctin بلغت 108.04 و 96.48 مايكروغرام/ مل على التوالي ، في حين أعطى الكالس المزروع على الأوساط الغذائية المجهزة بمنظمات النمو 2,4-D و 2,4-D + Kin. و NAA + Kin. محتوى لمركب Meryctin بلغت 87.90 و 50.66 و 106.82 مايكروغرام/ مل على التوالي .

Ellagic acid : 4-4-4

تبين النتائج الموضحة في الجدول (21) تفوق الكالس المجهز بـ.NAA + Kin وأعطت 67.55 مايكروغرام/ مل ، تلتها أوراق الشليك vesca التي أعطت 156.05 مايكروغرام/ مل ، في حين بلغت اقل كمية له في أزهار vesca وبلغت 84.54 مايكروغرام/ مل ، وأعطى الكالس المزروع على الأوساط الغذائية المجهزة بمنظمات النمو 2,4-D و 2,4-D + Kin. و أوراق الصنف Salwan وجذور الشليك vesca كمية لمركب Ellagic acid بلغت 106.95 و 131.68 و 118.23 و 130.46 مايكروغرام/ مل على التوالي ، في حين

لم تظهر أي قراءة للمركب في الكالس المزروع على الوسط الغذائي المجهز بـNAA + BA ، وبينت نتائج اختبار t فروقا معنوية بين المعاملات .

Camphene : 5-4-4

توضح النتائج (الجدول21) في كمية مركب Camphene المفصولة من الكالس فروقاً معنوية بين العينات وفق اختبار t ، وتفوق الكالس للشليك vesca المزروع على الوسط الغذائي المجهز بمنظمي النمو .Kin + NAA بكمية بلغت 230.51 مايكروغرام/ مل ، تلتها الأوراق والجذور للنوع vesca وأعطت 207.23 و 220.71 مايكروغرام/ مل على التوالي ، في حين بلغت اقل كمية 24.35 مايكروغرام/ مل في أزهار الشليك vesca ، وأعطى الكالس المزروع على الأوساط الغذائية المجهزة بمنظمات النمو 2,4-D و .2,4-D + Kin و وأوراق الصنف Salwan كمية لمركب Camphene بلغت 140.09 و 141.14 و68.43 مايكروغرام/ مل على التوالي ، في حين لم تظهر أي قراءة للمركب في عينة الكالس المزروع على الوسط الغذائي المجهز بـ NAA +BA .

Caffic acid : 6-4-4

توضح نتائج التحليل الإحصائي (الجدول21) فروقاً معنوية بين الاجزاء النباتية المختلفة وفق اختبار t في كميات مركب Caffic acid المفصولة من عينات الشليك ، وتفوقت الأوراق للنوع vesca في أعطاء أعلى كمية بلغت 277.53 مايكروغرام/ مل ، تلتها كميتة في كالس نفس النبات المزروع على الوسط الغذائي المجهز بمنظمي النمو .NAA + Kin وبلغت 206.24 مايكروغرام/ مل ، في حين بلغت اقل كمية للمركب 34.36 مايكروغرام/ مل في أزهار الشليك vesca ، وأعطى الكالس المزروع على الوسط المجهز بمنظمات النمو .Kin+ 2,4-D وNAA + BA و أوراق الصنف Salwan وجذور النبات الحقلي vesca كمية لمركب Caffic acid بلغت 133.60 و 134.75 و 98.48 و 141.49 مايكروغرام/ مل على التوالي ، في حين لم تظهر قراءة للمركب في الكالس المزروع على وسط مجهز بـ 2,4-D .

Ferulic acid : 7-4-4

تشير النتائج الموضحة في الجدول (21) تفوق الجذور للشليك vesca في أعطاء أعلى كمية لمركب Ferulic acid بلغت 135.60 مايكروغرام/ مل ، تلتها كميتة في الأوراق والأزهار للنوع vesca النامي في الحقل التي أعطت 104.22 و 118.36 مايكروغرام/ مل ، في حين بلغت اقل كمية للمركب 52.32 مايكروغرام/ مل في الكالس للنوع vesca المزروع على الوسط الغذائي المجهز بمنظمي النمو .NAA + Kin ، وأعطت عينات الكالس للشليك Salwan لكل من 2,4-D و .Kin + 2,4-D مايكروغرام/ مل على التوالي ، أما محتوى المركب في أوراق الصنف Salwan فقد بلغت 95.83 مايكروغرام/ مل ، وبينت نتائج اختبار t فروقاً معنوية بين المعاملات .

Gallic acid : 8-4-4

تبين النتائج الموضحة في الجدول (21) تفوق الأوراق للنوع vesca في محتواها من مركب Gallic acid وأعطت 134.21 مايكروغرام/ مل ، في حين بلغت اقل كمية للمركب في الكالس للصنف Salwan المزروع على الأوساط الغذائية المجهزة بمنظمات النمو 2,4-D و NAA + BA وبلغت 45.20 و 41.48 مايكروغرام/ مل على التوالي ، وأعطى الكالس للشليك Salwan المزروع على وسط .2,4-D + Kin وأوراق الصنف Salwan كمية لمركب Gallic acid بلغت 63.21 و 84.44 مايكروغرام/ مل على التوالي ، اما محتوى المركب في الكالس للنوع vesca المزروع على الوسط الغذائي المجهز بمنظمي النمو .NAA + Kin والجذور والأزهار للشليك vesca فقد بلغت 59.15 و 64.89 و 70.89 مايكروغرام/ مل على التوالي ،وبينت نتائج اختبار t وجود فروقاً معنوية بين المعاملات.

Comarins : 9-4-4

تظهر نتائج التحليل الإحصائي (الجدول21) وجود فروقاً معنوية بين العينات وفق اختبار t في كمية مركب Comarins ، تفوقت أزهار الشليك vesca في إعطاء أعلى كمية له بلغت 208.29 مايكروغرام/ مل وبفارق معنوي عن باقي العينات الأخرى ، في حين أعطى الكالس المزروع على الأوساط الغذائية المجهزة بمنظمات

النمو .Kin + 2,4-D و .Kin + NAA اقل كمية للمركب بلغت 38.15 و 17.54 مايكروغرام/ مل على التوالي للصنفين Salwan و vesca وأعطت أوراق الصنف Salwan و جذور الشليك vesca والكالس للنوع Salwan المزروع على الاوساط الغذائية المجهزة ب 2,4-D و NAA + BA كمية لمركب Comarins بلغت 83.04 و 93.82 و 51.87 و 58.18 مايكروغرام/ مل على التوالي .

Quercetin : 10-4-4

تشير النتائج الموضحة في الجدول (21) تفوق أزهار الشليك vesca وأعطت 213.70 مايكروغرام/ مل ، تلتها عينات الكالس للصنف Salwan المزروع على الوسط الغذائي المجهز بمنظمي النمو NAA + BA وأوراق النوع vesca آذ أعطت 191.99 و 118.89 مايكروغرام/ مل على التوالي ،وبفارق معنوي وفق اختبار t على باقي العينات الأخرى ، في حين بلغت اقل كمية لمركب Quercetin في الكالس المستحث من الوسط الغذائي المجهز بمنظمات النمو .Kin + 2,4-D و .Kin + NAA للصنفين Salwan و vesca والتي أعطت 29.91 و 22.51 مايكروغرام/ مل على التوالي ، أما محتوى المركب في الكالس للصنف Salwan المزروع على وسط 2,4-D و أوراق النباتات النامية في الحقل لنفس الصنف و جذور الشليك vesca بلغت 52.95 و 63.82 و 80.12 مايكروغرام/ مل على التوالي .

Catachin : 11-4-4

تظهر النتائج (الجدول21) تفوق الكالس للصنف Salwan المزروع على الوسط الغذائي المجهز بمنظم النمو 2,4-D في أعطاء أعلى كمية لمركب Catachin آذ بلغت 74.04 مايكروغرام/ مل ، تلتها عينات الكالس للصنف Salwan المزروع على الوسط الغذائي المجهز بمنظمي النمو NAA + BA و أوراق الشليك vesca التي أعطت كمية للمركب بلغت 62.07 و 64.26 مايكروغرام/ مل على التوالي ، وبلغ محتوى المركب في الكالس المزروع على وسط مجهز بـ .Kin + 2,4-D و الأوراق النامية في الحقل للصنف Salwan ، 48.90 و 48.43 مايكروغرام/ مل على التوالي ، في حين لم تظهر قراءة لمركب Catachin في معاملتي

الكالس النامي على وسط .Kin + NAA و جذور الشليك vesca ، وبينت نتائج اختبار t فروقاً معنوية بين المعاملات .

وبينت نتائج تقدير المركبات الفينولية من أنسجة الكالس والأنسجة النامية في الحقل إن تراكيز المواد المفصولة كانت بمستويات عالية في الأنسجة النامية في الحقل قياساً بكمياتها في أنسجة الكالس . وهذه النتيجة تعد طبيعية كون الأنسجة المتخصصة تنتج المركبات الثانوية بكميات أعلى من الأنسجة البرنكيمية غير المتخصصة كما أشار Ramawat (2004) . باستثناء مركب Ellagic acid و Camphene في كالس الشليك vesca ومركب Catachin في كالس الشليك Salwan . وبينت نتائج إضافة الاوكسينات 2,4-D و NAA مع السايتوكاينينات BA و .Kin ، إن إضافة الكاينتين إلى 2,4-D زاد مستويات معظم المركبات المفصولة وأدى إلى رفع تركيز Caffic acid الى 133.60 مايكروغرام/ مل ، في حين لم تظهر له قراءة عند إضافة 2,4-D منفرداً. أما الكالس المزروع على وسط مجهز بـ NAA مع BA فقد تبين ان مستويات المركبات المفصولة قد انخفضت في معظم المركبات المفصولة ولم تظهر قراءات لمركبات P-hydroxy benzoic acid و Ellagic acid و Camphene , في حين أن مركب Quercetin زاده تركيزه بنسبة تصل إلى 400% في هذه المعاملة . وهذه النتائج تشير إلى مستويات استجابة مختلفة تبعاً لنوع المركب وعلاقته بمنظمات النمو النباتية والتي تلعب دوراً مهماً في زيادة أو تقليل إنتاج الأنسجة النباتية للمركبات الثانوية (Ramawat،2004).

الجدول (20) الفينولات المفصولة بتقنية الكروماتوكرافيا مايكروغرام/ مل من عينات نبات الشليك *Fragaria vesca* و الصنف Salwan

المركبات الفينولية / العينات	Alpha penine	p-hydroxy benzoic acid	Merycti n	Ellagic acid	Camphene	Caffic acid	Ferulic acid	Gallic acid	comarins	quercetin	Catachin	قيمة اختبار T
كالس من تجربة 2,4-D Salwan	28.66	59.63	87.90	106.950	140.09	--	94.97	45.20	51.87	52.95	74.04	**6.998
كالس من تجربة 2,4-D+Kin Salwan	52.81	45.18	50.66	131.68	141.14	133.60	99.07	63.21	38.15	29.91	48.90	**5.962
كالس من تجربة NAA+BA Salwn	42.51	--	48.19	--	--	134.75	77.03	41.48	58.18	191.99	62.07	**4.315
اوراق Salwan	34.06	115.11	108.04	118.23	68.43	98.48	95.83	84.44	83.04	63.82	48.43	**10.118
كالسVesca NAA +Kin.	35.92	42.66	106.82	167.55	230.51	206.24	52.32	59.15	17.59	22.51	--	**3.748
اوراقVesca	--	86.22	163.56	156.05	207.23	277.53	104.22	134.21	122.51	118.89	64.26	**7.291
جذور Vesca	--	124.90	127.05	130.46	220.71	141.49	135.60	64.89	93.82	80.12	--	**8.292
ازهارVesca	130.34	106.28	96.48	84.54	24.35	34.36	118.36	70.89	208.29	213.70	32.27	**5.230
قيمة اختيار T	3.426 n.s	**6.405	**7.288	**11.922	**4.930	**4.995	**10.903	**6.785	**3.942	**3.770	**9.019	

الاستنتاجات :

1- إضافة السايتوكاينينات إلى الوسط الغذائي MS حفز تفتح البراعم الجانبية والعرضية وتكوين الفروع .

2- تداخل الأوكسين مع السايتوكاينين حسن استطالة الأفرع الناتجة من مرحلة التضاعف .

3- إضافة الاوكسينات إلى الوسط الغذائي حفز نشوء الكالس وتداخله مع السايتوكاينينات زاد من معدل نمو الكالس ووزنه الطري والجاف .

4- إنتاج المركبات الفينولية يتأثر بنوع النسيج النباتي وبنوع منظمات النمو النباتية المضافة الى الوسط الغذائي .

5- الأنسجة المتمايزة أكثر أنتاجاً لمعظم المركبات الفينولية المفصولة قياساً بأنسجة الكالس .

التوصيات :

1- دراسة تأثير إضافة السايتوكاينينات والاوكسينات في تضاعف الفروع للشليك Salwan .

2- دراسة تأثير تداخل السايتوكاينين مع الأوكسين في نشوء الأفرع من الكالس .

3- تقدير بعض المركبات ذات الاستخدامات الطبية الأخرى في كالس وأنسجة الشليك .

4- استخدام تقنية المفاعل الحيوي في إنتاج مركب Ellagic acid و Camphene من كالس الشليك *F. vesca* وإنتاج مركب Catachin من كالس الشليك Salwan .

5- دراسة أنتاج المركبات الفينولية من الكالس الناشئ من جذور الشليك ومقارنته مع الأنسجة البالغة .

المصادر العربية :

- القرآن الكريم .
- الابراهيم ، أنور (2002) . العزيز . نشرة إرشادية (45) . وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي الهيئة العامة للبحوث الزراعية . أدارة بحوث البساتين . سوريا. الإحيائية 4 (2) : 45-52.
- البكر ، رحاب عبد الجبار والصالح ، هناء سعيد (2005) . دورالتداخلات المشتركة من BA و2, 4 – D في نمو وتمايز كالس نبات الحبة السوداء.*Nigella sativas* L وعلاقتها بمحتوى المركبات الفعالة فيه ، مجلة علوم الرافدين ، 16 (8) :211 – 224.
- البياتي , ظاهر عباس إبراهيم (2005) . إكثار صنفين من الشليك *Fragaria x ananassa* خارج الجسم الحي , رسالة ماجستير , كلية الزراعة , جامعة بغداد .
- البياتي ، يحيى علي (2002). دراسة مقارنة لسلوكية نبات الداؤدي *Chrysanthemum morfolium* Var. Moon Light Spoon المكثرة خضريا بالزراعة النسيجية والتقليدية. أطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة والغابات/جامعة الموصل – العراق.
- البيسكي , فهد وبايرلي , رولا (2010) . الإكثار الخضري الدقيق لنبات الفريز صنف اوزوكرانر , مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية , مجلد (26) عدد (2) : 77-95 .
- جندية ، حسن (2003) . فسيولوجيا اشجار الفاكهة ، الدار العربية للنشر والتوزيع ، جمهورية مصر العربية .
- حسونة , محمد جمال الدين (2003) . أساسيات فسيولوجيا النبات , دار المطبوعات الجديدة , مصر.
- حمد ، محمد شهاب وجاسم ، نورا جبر (2011) . تأثير مكونات الوسط الغذائي والجزء النباتي في استحثاث الكالس لنبات البلادونا خارج الجسم الحي ، مجلة العلوم الزراعية العراقية مجلد (42) عدد (3): 59 - 70 .
- حمد، محمد شهاب وحمزة ، إبراهيم عبد الله والمختار ، سراب عبد الهادي (2010) . تأثير السكروز والثايروسين في استحثاث الكالس وإنتاج المورفين والكودائين من نبات الخشخاش *papaver somniferum* خارج الجسم الحي ، مركز بحوث التقنات الاحيائية 4 (2) : 45 - 52 .

- حميد , محمد خزعل ومحمد عباس ومبشر صالح عمر (2001) . اكثار الفستق *Pistacia vera* L . خضريا باستخدام تقنية زراعة الأنسجة , إنشاء الزروعات والتضاعف الخضري , مجلة العلوم الزراعية العراقية , 32 (5) : 63-70 .
- الخفاجي ، يحيى (2000) . الفراولة الذهب الأحمر في القرن الجديد . أيراك للنشر والتوزيع . الطبعة الأولى . مصر .
- الدجيلي ، جبار عباس حسن (1993) . إنتاج الفاكهة ذات الثمار الصغيرة . كلية الزراعة .جامعة بغداد . العراق .
- الزبيدي ، لمى ذنون صالح (2004) . التقدير الكمي لمركب الدايوسجنين في الكالس والمعلقات الخلوية والجذور الشعرية لنبات الحلبة .*Trigonella foenum graecum* بتقنية كروما توغرافيا السائل العالي الكفاءة . رسالة ماجستير، كلية التربية ، جامعة الموصل ، العراق .
- الساهوكي ، مدحت مجيد وكريمة وهيب (1990) . تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب ، دار الحكمة للطباعة والنشر ، الموصل .
- السعدي ، إبراهيم حسن (2000) . إنتاج الثمار الصغيرة . دار الكتب والنشر ، جامعة الموصل ، العراق .
- سلمان , محمد عباس (1988) . أساسيات زراعة الخلايا والأنسجة النباتية , وزارة التعليم العالي والبحث العلمي, جامعة بغداد , العراق .
- الصالح , هناء سعيد (1995) . دراسات فسلجية وكيماحياتية لتمايز كالس نبات الفستق *pistacia vera* L . , أطروحة دكتوراه , كلية العلوم , جامعة الموصل , العراق .
- الصالح , هناء سعيد والجلبي, طلال محمود وعمر , مبشر صالح (2005) . الإكثار الخضري لأصل الكمثري. *Pyrus communis* L بالزراعة النسيجية للقمم النامية , مجلة زراعة الرافدين , مجلد(33) عدد (2): (8-15) .
- طه ، بشير محمود (2004) . استجابة أربعة أصناف من الشليك للظروف البيئية في حقل كرده ره ش . اربيل . المجلة العراقية للعلوم الزراعية (زانكو) 16 (5) : 1`- 8 .
- عبدول , كريم صالح (1987) . منظمات النمو النباتية , الجزء الأول, وزارة التعليم العالي والبحث العلمي , جامعة صلاح الدين , العراق .
- عبيد ، إياد عاصي (2009) . تأثيرات الوسط الغذائي والمجال المغناطيسي في الإكثار والصفات التشريحية لأصل الخوخ *Prunus Persica* L . Batsch صنف محلي بيضاوي بالزراعة النسيجية ، أطروحة دكتوراه ، جامعة الموصل ، العراق .

- عبيد ، إياد عاصي والحياني ، علي محمد عبد (2012) . إنبات البذور والنمو والتبرعم العرضي لأفرع وكالس الكيوي *Actinidia deliciosa* خارج الجسم الحي ، مجلة ديالى للعلوم الزراعية ، 4 (1) : 285 – 296 .
- فهمي , فكري جلال محمد (2003) . زراعة الأنسجة , دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع , مصر .
- القضاة , عبدالمطلب والمعري , خليل وشبلي , رضا عبدالله (2009) . إكثار صنفي المشمش العجمي والبلدي بواسطة الإكثار الخضري الدقيق , مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية , مجلد(25) عدد (1): 275-294.
- محمد , عبدالعظيم كاظم واليونس , مؤيد احمد (1991) . أساسيات فسيولوجيا النبات , الجزء الثالث , كلية الزراعة , جامعة بغداد ,العراق .
- محمد , عبدالمطلب سيد وعمر , مبشر صالح (1990) . المفاهيم الرئيسية في زراعة الخلايا والأنسجة والأعضاء للنبات , وزارة التعليم العالي والبحث العلمي , جامعة الموصل, العراق .
- المرسومي ، حيدر عماد محمد (2010) . تأثير مكونات الوسط الغذائي والجزء النباتي المزروع في تكوين الكالس وإنتاج بعض المركبات ذات الاستعمالات الطبية في نبات المريمية *Salvia officinalis* رسالة ماجستير ، كلية الزراعة ، جامعة بغداد .
- الموسوي ، زينب جارالله نعمة (2011) . تأثير الرش بحامض الجبرلين GA_3 والمحلول المغذي Agro leaf في النمو الخضري لشتلات التين ومحتوى الأوراق من بعض المركبات الفينولية ، رسالة ماجستير ، كلية الزراعة ، جامعة بغداد.
- ناصر , نور صبري (2012). اثر المجال المغناطيسي ومنظمات النمو النباتية في نمو واستحثاث الكالس في نباتي اللالنكي (*citrus reticulate* L . Blanco) والليمون الحامض (*Citrus limon* L . Burm.F.) خارج الجسم الحي , رسالة ماجستير , كلية التربية للعلوم الصرفة , جامعة ديالى .
- يونس ، أواب وعد الله (1997) . محتوى القلويدات في الكالس والنباتات الناتجة منه في النبات البري الداتورة *Datura innoxia* Mill . رسالة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة الموصل ، العراق .

المصادر الاجنبية:

- Aaby K, Ekeberg D. and Skrede G. (2007). Characterization of phenolic compounds in Strawberry *(Fragaria × ananassa*) fruits by different HPLC detectors and contribution of individual to total antioxidant capacity. J Agric Food Chem 55: 4395–4406.
- Abo-Shady , A, Ghanem, S.A. El Bahr , M.K. Osman , M.E. and. Saker M.M. (1993) . Callus induction and plant regeneration from calli of .different explant of tomato .Egypt .J. Hort . 20 (2) : 355-371.
- Aharoni A. Devos CHR, Verhoeven HA, Maliepaard CA; Kruppa G, Bino R and Goodenowe DB(2002). Nontargeted metabolome analysis by use of Fourier transform ion cyclotron mass spectrometry. OMICS 6: 217–234.
- Akbas , F. A. , C. , Isikalan , S. NamLi and Basaran D. (2007) . Micropropagation of Kiwi fruit (*Actinidia deliciosa* L .) . J. Agri and Biology . (9) . (3) : 484 – 493.
- AL – Hatemy , Karem . T. K . (2010). Production procyanidin compound in seeds , callus and in regenerated plants form *vitis vinifera* L.J.of . Biotech .Res. Cen .4(2) :76- 84.
- Al-chalabi , T.M ., Al- saleh H.S . and M.S. Omar (2003) . *In Vitro* propagation of MM_{106} apple rootstocks. Raf . J. sci, 14 (3) :22-23 .
- Aprona P. (2006) . Micropropagation and field evaluation of Strawberry in bangladish , MSc Thesis , Department of Botany , University of Rajishahi , Bangladesh .

- Arigita , L . B. , Fernandez , A . Gonzalez and Tames R . S. (2005). Effect of the application of benzyladenine pulse on organogenesis. acclimatization and endogenous phytohormone content in kiwi explants cultured under autotrophic conditions . plant physiology and Biochemistry . 43 : 161- 167 .
- Bhalsing , S.R . and Maheshwari , V.L (1998) . Plant tissue culture . apotential source of Medical compounds . J. scient .Indust . Res . 27 :703- 708
- Biswas ,M. K. , Roy U. K. Rafiul, I. and Monzur H. (2010). Callus culture from leaf blade , nodal, and runner segments of three strawberry *(Fragaria* sp) clones . Turk . J. Biol . 34 : 75- 80.
- Boxus , P .(1974) . Production of strawberry plants by in vitro micropropagation . J . Hortscience 15 (4) : 509 – 510 .
- Brar , D.S. and Jain , S.M. (1998). Somaclonal variation : Mechanism and Application in Crop Improvement . In : Somaclonal variation and Induced Mutations in Crop Improvement. Kluwer Acadimic publisher , Dordrecht . U.K. p : 3-15 .
- Bravo , L. (1998). Poly phenols : chemistry , dietary sources, metabolism and Nutritional significance. Nut . Rev . 56: 317- 333.
- Bustos , O. and Monica, Alejandra (1993). Morphological description , Multiplication and *In Vitro* Conservation of four native ecotyes of strawberry *(Fragaria chiloensis*) and one hybrid (selva)Santiago. 76 . p.

- Chamandoosti .F.(2007). Effect of Sodium chloride on establishment of callus and organogenesis in *Brassica napus*L. pak .J.of Biological Sci.10 (12): 3880-3884 .
- Chen . Z. Q. , S. Q. Lin and Q. L. Liu (1991) . Loquat(*Eriobotrya japonica* L.). In Biotechnology in Agriculture and Forestry . 16: 63 – 75.
- Collin , H .A. (1998) . " Determinates of Yield of secondary products in plant Tissue cultures" . Academic press Inc . London , Ltd.
- Collin , H.A. (2001). Secondary prodaction formation in plant tissue culture . plant growth Regu . 34: 119 – 134.
- Davies , J . P . (1995). Plant Hormons . Cornell university , New York U.S.A .
- Davies; P.J.(1987) . Plant Harmones and their Role in plant Growth and Development Martins Nijhaff publishers Dardrecht .
- Devi , C.S. and Srinivasan V.M . (2008) . *In vitro* propagation of Gymnema sylvestre . Asian j.of plant sci . 7(7) : 660-665 .
- Devi , P. (2003). Principles and Methods in plant Molecular Biology , Biochemistry and Genetics . 3rded. Updesh purohit pub , Jodhpur , India .
- Devlin, R. M. and Witham F. H. (1983). Plant Physiology.4thed. Wadsworth publishing Company, Belmont Californi,U.S.A.
- Devy,N.F.and Hardiyanto (1997) . *In vitro* propagation of Strawberry plants *(Fragaria ananassa* Duch) Jenic, U.A.(et.a) (Eds) proceeding of the Indonesia Biotenology conference , volume (11) Bogar (Indonesia).
- Dewick .P.M (2001) . The biosynthesis of shikmate metabolites . Net . pord . Rep . 18 : 334 – 335.
- Dixon , R.A (1985) . Plant cell culture , practical Approach . IRL press . Oxford , U.K.

- Dodds, J.H. and Roberts, L.W. (1985). "Experiments in Plant Tissue Cultures". Cambridge University Press, UK.
- Drawert . F. and Berger , R . G . (1983) . Biogenesis of arema compound in Plant and fruits XVIII:Influence of particle size on aroma biosynthesis in fruit essence. Z. Lebensm Unters forsch . 176 : 275- 280 .
- Economou ,A.S ;and Read P . E. (1980) . Effect of benzyl adenine pretreatments on shoot prompetunia leaf segments cultural in vitro proc. Plant growth . Reg. Working Group 7: 96-103 .
- FAO . (2008) . FAOSTAT Agricultural statistics database http://www.FAO.org.
- George , E.F.: M.A.Hall and G.D Klerk .(2008). Plant propagation by \tissue culture 3rd edition . published by spring , pp: 1 - 479.
- Georgiev , M .I : Weber , J . and Maciuk , A. (2009). Bioprocessing of plant cell culture for mass production of targeted compounds . Appl. Microbiol . Biotechnol . 83 (5) : 23-809 .
- Goodwin, M.(1985). Introduction to plant biotechnology. Second edition pergamon press. New York .U.S.A.
- Grzegorczyk, I.; I.Bilichowski; Olasik E. and H. Wysokinsk .(2005). *In vitro* culture of *Salvia officinalis* as asource of antioxidant compounds. Acta. Societatis. Botanicorum Poloniae 74(1): 17-21.
- Gurel , S. and Gulsen Y. (1998) . The effect of IBA and BAP on *In Vitro* shoot production of almond *(Amygdalus communis* L.) J .of Botany , 22 : 375 -379 .
- Gutierrez , E . Ma . A. ; Angel , V . M. ; Jorge , R.A.; peralta ,L. and cristina , Ma .G. (1991) . Effect of benzyladenine ,

indolacetic acid , agar and activated carbon in pineapple micro propagation. Agrociencia (Mexico) . Serie fitociencia. V.2(2) p:125-135.

- Haberlandt , G. (1902). Kultinversuche mit .Isolierten pflanzellen . Sber . Akad . wiss . wien . (3) : 69 – 92 .
- Hadi , S.M. (1999). Production viblastin and vincristine from callusm tissue of catharnthus roseus using plants tissue culture technique . M.sc . Thesis collage of science , Baghdad university . Iraq.
- Hanhineva K, Rogachev I, Kokko H, Mintz-Oron S, Venger I, Karenlampi S and Aharoni A.(2008). Non-targeted analysis of spatial metabolite composition in strawberry (*Fragaria ×ananassa*) flowers. Phytochemistry 69: 2463–2481.
- Hannum SM. (2004). Potential impact of strawberries on human health: s review of the science. *Crit Rev Food Sci Nutr* 44: 1–17.
- Hartmman , H . T .D . E ; Kester , F . T . Davies and Geneve R . L. (1997) . Plant propagation principles and practices , sixth Edition .
- Hartman HT. , Kester DE. ,Davies ET. , Geneve RL. (2002) . Plant propagation principles and practices . seventh Edition prentice Hall Inc , Upper saddle River, NJ.
- Harvy , A . (2000).Strategies for discovering dugs from previously unexplored natural products Drug Discovery today, 5 (7) : 294-300.
- Hasan , M .N .; S . Nigar , M.A.K.Rabbi , Mizan S.B. and Rahman M .S. (2010). Micropropagation of strawberry (*Fragaria ananassa* Duch). Int .J .Sustain .Crop prod 5(4) : 36-41 .

- Hegazi Ghada Abd El-Moneim, and El-Lamey , T .M. (2011) . *In vitro* production of some phenolic compounds from *Ephedra alata* Decne. J. Apple . Environ. Biol . S.: 1(8) : 158- 163.
- Hind E.M. Elmana. , Anas A .El Hassan and Mustafa M.A. Elballa. (2003). *In vitro* propagation of strawberry (*Fragaria ananassa* Duch) Using shoot Tip Explants . U. of K . J . Agric . Sci . 11(3) : 349- 358.
- Hong , Y . C . A . ; Huang , L . C . ; Reineccius . G . A . ;Harlander S.K. and Labuza . T.P. (1990) . Production of aroma compounds from strawberry cell suspension cultures by addition of precursors . plant cell Tissue and organ cult. 21 : (3) : 245 -251 .
- Hukkanen AT, Kokko HI, Buchala AJ, McDougall GJ, Stewart D, Karenlampi SO and Karjalainen RO.(2007). Benzothiadiazole induces the accumulation of phenolics and improves resistance to powdery mildew in Strawberries. J Agric Food Chem 55: 1862–1870 .
- Izhar ,S. (1997) . Infrashort – day strawberry tupes .Acta Hort (ISHS) 439 :55- 160.
- Jesus , L.D (2003) . Effect of artifical polyploidy in trans formed roots of *Artemisia annua* L.A thesis submitted to the faculty of Worcester pdy technic in situte , Master of science in Biotechnology .
- Kane , M.E. (1996). Propagation from preexisting meristems. In : plant tissue culture . concept and Laboratory Exercises Editor Trigiano , R.N.and Gray , D.J . CRC press . Boca. Raton , New york, London , Tokyo , p: 61 – 72 .

- Karim , M.R. ; Abdul Aziz ,M. ,Roy ,U.K. , Hoque ,M.A. and Hossain, M.M. (2011). *In vitro* response of Strawberry (*Fragaria ananassa* Duch) for callus induction and shoot regeneration . Int. J. Agr. And Agri .Res. 1. (1) p.: 29-36.
- Kepinski . S.and Leyser O. (2005). Plant development :auxin in Loops . curr. Biol . 15: 208 – 210 .
- Khatun , M.M . ; Ali , M . H. and Desamero , N . V . (2003) . Effect of. genotype and culture media on callus formation and plant regeneration from mature seed scutella culture inrice . plant Tiss . Cult . B.:99-107.
- Liang . G.H.and D.Z. Skinner (2004) . Gentically modified crops, 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.
- Liu ,Z.R. and Sanford J.C.(1988). plant regeneration by organogenesis from Strawberry leaf and runner tissues . Hort. Science . 23 (6) : 1057 – 1059.
- Maas, K.(2002). Other growth regulating compounds web page created by kenmaas at Northern I llinois university .
- Maatta-Riihinen K.R., Kamal-Eldin A. and Trrnen R. (2004). Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus* species (Family Rosaceae). J. Agric Food Chem 52: 6178–6187.
- Malodobry , M.D.; Ziedzic E. and Lech W. (1997) . Shoot culture of Strawberry CV . syiusz . Folia . Horticulture (Poland) . P (1) : 105 -112 .

- Marica D.A. ; Silva P. , Young - In kwon , Emmanouil Apostolidis , Franco Maria Lajolo , Maria Ines Genovese and Kalidass Shetty (2008). Functionality of Bioactive compounds in Brazilian Strawberry (*Fragaria ananassa* Duch) cultivars: Evaluation of Hyperglycemia and Hypertension potential using in vitro models . J . Agric . food chem. . 56 : 4386-4392.
- Mclean , S. and Duncan A .J . (2006). Pharmacological on the Detoxification of plant second any metabolism Implicationsfor ingestive Behavior of Her bivores . J . chem. Ecol . 32:p : 1213 – 1228.
- Mineo, L. (1990). Plant tissue culture techniques. C.A. Goldman , Editor.,pp: 151-174.
- Mohammad, A. M. S. and Abood, S. A. (1989). Propagation of lettuce (Lactuca sativa.L. c.n. longiflora) by tissue culture. Agri. Biol. Chem., 51 :1320-1324 .
- Mohan , K . Ravikmar , Ramesh . M . S . Ven Katesh (2007) . Hepato protective activity of Ficus carica Linn . leaf extact against carbon tetrachide induced hepatotoxicity in rats. Archpharm . 15 (3) . pp : 162 -166.
- Monticelli ; S.C. Damiano , and Gallelli A. (1995) .Regeneration from Strawberry stipules Mededelingen-faculteif Land bouwk undigeen- Toegepaste. Biologisch .Weten - schappen universitiet Gent (Belgium) 60 (4) p.: 1679 -1682 .
- Moradi , K . , Otroshy , M. and Azimi , M .R . (2011). Microprpagation of Strawberry by multiple shoots regeneration tissue cultures . J . Agric .Technol . Vol . 7 (6) : 1755 – 1763 .
- Mulabagal , V. and Tsay H.S. (2004).Plant cell cultures : An Altternative and Efficient soure for the production of

Biologically Import secondary Metabolites . Int . J .Appl . Sci . Eng. , 2 (1) : 29-48.

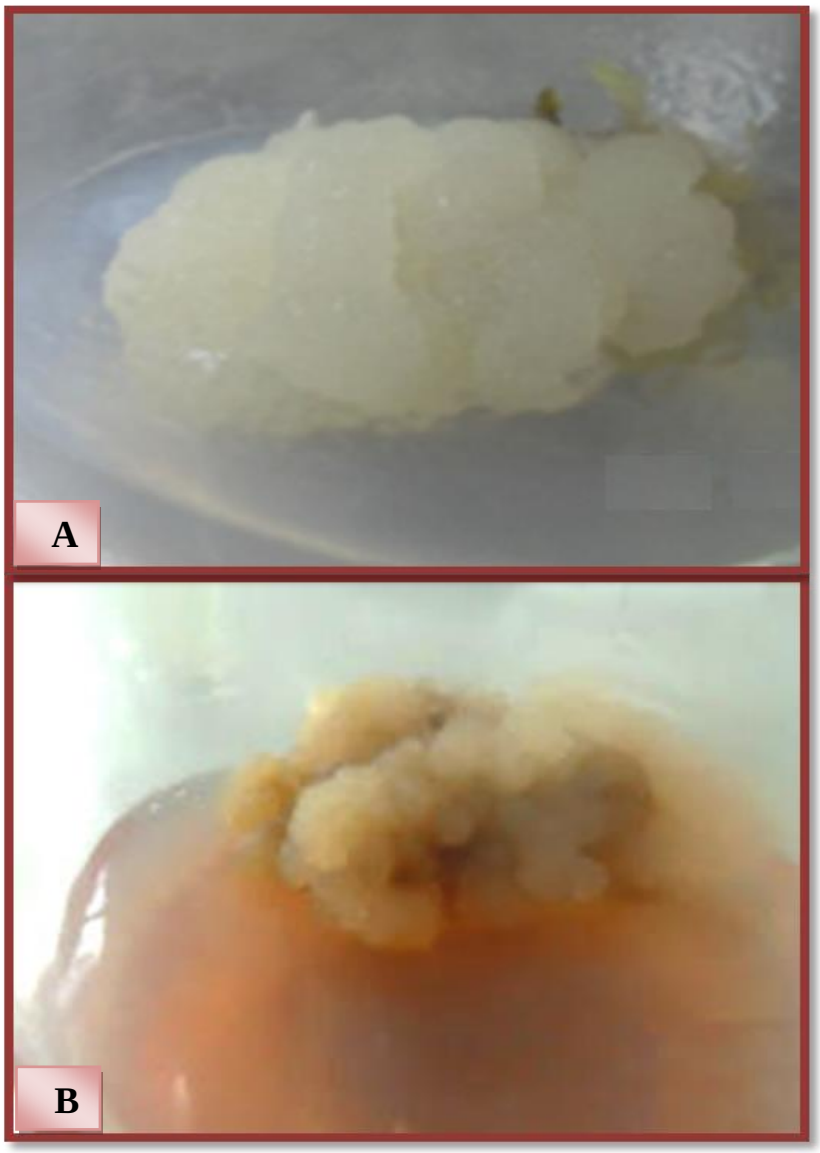
- Murashige , T. and Skooge F. (1962) . A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture . Physiol Plant . 15 : 473 -497.
- Noman .S.H. , Dlamis S ., El-sayed H.A and Eman S . (2004) .*In vitro* selection for water stress tolerant callus line of *Helianthus annus* L .C . V . Myak . int j.Agric . Biol.,1: 13-18 .
- Palaniappan , Y . (2006) . Degradation of phenol by catalytic ozonation , Athesis sumitted in fulfillment of the requirments for the award of the degree of master of engineering (chemical) . university Teknologi Malaysia .
- Park , S .V : Uddian M. R . ; 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.
- Phillipson , J . D. (1990) . Plants as source of Valuable products . In: secondary products from plant tissue culture . pp: 1-23 charwood , B.V. and M.J.C. Rhods (eds) oxford press , Newyork .U.S.A.
- Phillipson , J . D . (2003). Soyears of medicinal plant research every progress methodology is a progress in science . Plant Amedica , (6) : 491- 495.
- Pierik ; R.L.M .(1987) . *In vitro* culture of Higher plants Martinus Nijhoff publisher , Dordrecht .
- purohit , S .S . (1999). " Agricultural Biotechnology " . Agro Botanica, J . N V yas Nagger, Bikaner , India .
- Ramawt,K. G.(2004) . Plant Biotechnology . printed in india ; pp: 1-265.

- Read, P.E. (1987). Forcing solution anovel system for incorporation of hormones into tissues prior to in vitro culture . proc. 14th : In Bot . cong .P: 120 .
- Sakila , S., M.B.Ahmed ,U.K.Roy , M.K.Biswas ,R.Karim , M .A. Razvy,M.Hossain ,R.islam and A.Hoque(2007). Micro propagation of strawberry (*Fragaria ananassa* Dutch) A Newly Introduced crop in Bangladesh .American– Eurasian . J. OF Scientific .Research 2 (2) : 151 – 154 .
- SAS, . (1996) . Statistical Analysis System, Release7, SAS Institue Inc.Cary . N.C. USA .
- Shahidi . f. and M.Naczk (2003) . Phenolics in food and nutraceuticals . CRC . press LLc , Bocaearon , florida .
- Shoemaker .J.S.(1975). Small fruit culture . The Avi publishing co. inc. Westport connection cut company (U.S.A) .
- Shoji . T. , R . winz : T Lwase : K . Nakajima : Y . yamada and T. Hashimoto (2004) . Expression patterns of two tobacco isoflavone reductase – like genes and their possible roles in secondary metabolism . Plant Mol. Biol . 50 : 1426 -1440 .
- Skoog , F.and Miller , C.O.(1957). Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro symp . Soc . Exp.Biol. 11 : 118 – 148
- Sorvari ; Ulvinen , S. ; Hiet aranta , T ., and Hiir Salmi , H(1993) . Preculture medium promotes direct shoot regeneration from micropropagated strawberry leaf disks . Hort science (USA). V.28 (1) : 55- 57.
- Sree , N . Vijaya , Vdayasri P,V.V Aswani Kumar Y , Ravi Babu B, phaniKumar Y , Vijay Var ma M .(2010) . Adrancements in the production of secondary metabolites. Journal of Natural Products , 3 :112-123.

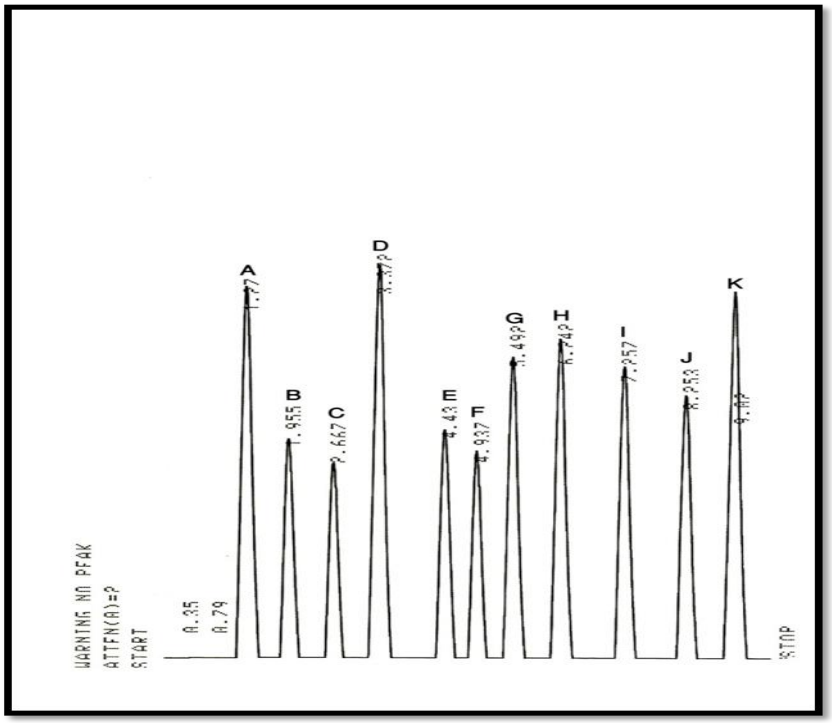
- Street , H.E. (1977). Plant tissue and cell culture . Black well , Scientific publication . Oxford , London , Edinburgh , Melbourne .
- Sudhersan, C. and Hussain, J.(2003). *In vitro* clonal propagation of a multipurpose tree, *Zizyphus spina-christi* (L.), desf. Turk. J. Bot. (27) 167-171.
- Sutan ,N.A. (2010) . The Regenerative capacity of the callus ,in two genotypes of ornamental Strawberry . Romanian . Biotech .L. 26 (1) p: 29-33.
- Sutan ,A.N. , Aurel ,P. and Valentina , I. (2010) *In vitro* culture medium and explant type effect on callogenesis and shoot regeneration in two genotypes of ornamentel strawberry . Romanian Biotech .L. vol . 15 (2) : 12- 18 .
- Sutter , E.G. (1996) . General Laboratory reguirements media and sterilization mathods . In: plant tissue culture concepts and Laboratory exercises , R.N. Trigiano and D . J . Gray (eds .) CRC press inc , p. : 11- 25.
- Taha , H.S., M.K . El – Bahr and M.M. seif ,El-Nasr (2008) . *In vitro* studies on Egyption catharanthus roseusll G. Don : 1- calli production, diret shootlets Regeneration and Alkaloids Determination . Journal of Applied Sciences Research , 4 (8) :1017 – 1022 .
- Taiz and Zeiger E. (2002). Planta physiology. Sinaure Assciates, Inc. Publishers. Sunderland.
- Takazwa . H ; Yoshimuram K. ; lkuta A . and Kawaguchi K. (2002) . Production of titerpenes from the callus tissue of *Actinidia Ceous* . Plant Biotechnology , 19(3) : 181 – 186 .
- Taylor , D . R .(2002) . The physiogy of flowering in Strawberry . Acta Hort 567 (1) : 245 – 251 .

- Trigiano , R.N. and , Gray D. J . (1996) . Plant tissue culture concepts and Laboratory Exercises.Boca Raton,Fl CRC Inc , p.:11-17.
- Trigiano, R. N. and Gray. D. J. (2000). Plant tissue culture concepts and laboratory exercises, CRC Press LLC. United States pp:3-437.
- Truong ,X.N. Susong ,Y and Sung , M.P.(2012) . Haploid plant production through anther culture in Day-Neutral Strawberry (*Fragaria ananassa* Duch) .J. ISSAN Vol .18(1) : 173-184.
- Verrmerris , W . and Nicholson R . (2006). Phenolic compounds Biochemistry . University of florida .Gainesville . and V.S . A . p: 237.
- Watt, B.K. and Merriu A.L. (1964) . Composition of food .U.S.A.
- Wiesman, Z.; Riov, J. and Epstein, E. (1989). Characterization and rooting ability of indol-3-butyric acid conjugates formed during rooting of mung bean cuttings. Plant Physiol. 91: 1080-1084 .

ملحق (1) شتلات للشليك *Fragaria vesca* النامي في الحقل بعد مرور 7 اشهر من الزراعة .



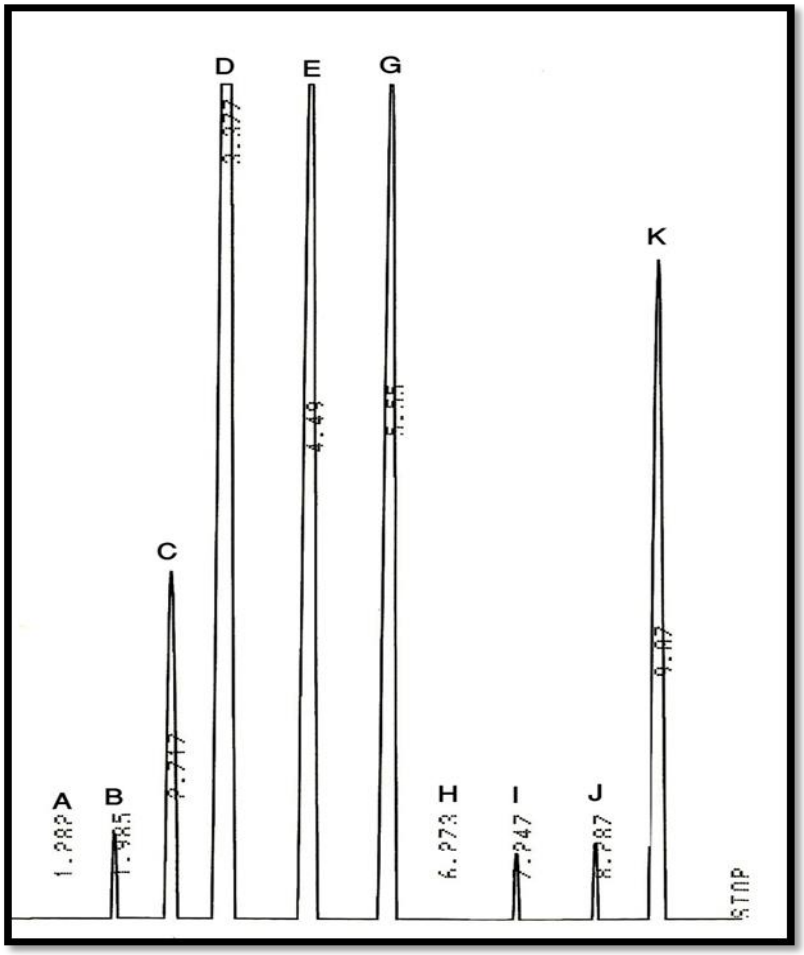
ملحق (2) كالس شليك ناشئ على وسط غذائي MS بعد مرور 8 أسابيع من الزراعة ، **A** – *vesca* عند إضافة 0.3 ملغم/ لتر Kin. + 1 ملغم/ لتر NAA ، **B**- Salwan عند إضافة 1 ملغم/ لتر Kin. + 1 ملغم/ لتر 2,4-D .



ملحق (3) الفينولات المقدرة بتقنية الكروماتوكرافيا من عينات نبات الشليك *Fragaria vesca* و Salwan القياسية .

الجدول (22) المساحة وزمن الاحتجاز القياسي لعينات الشليك *Fragaria vesca* و Salwan في جهاز HPLC

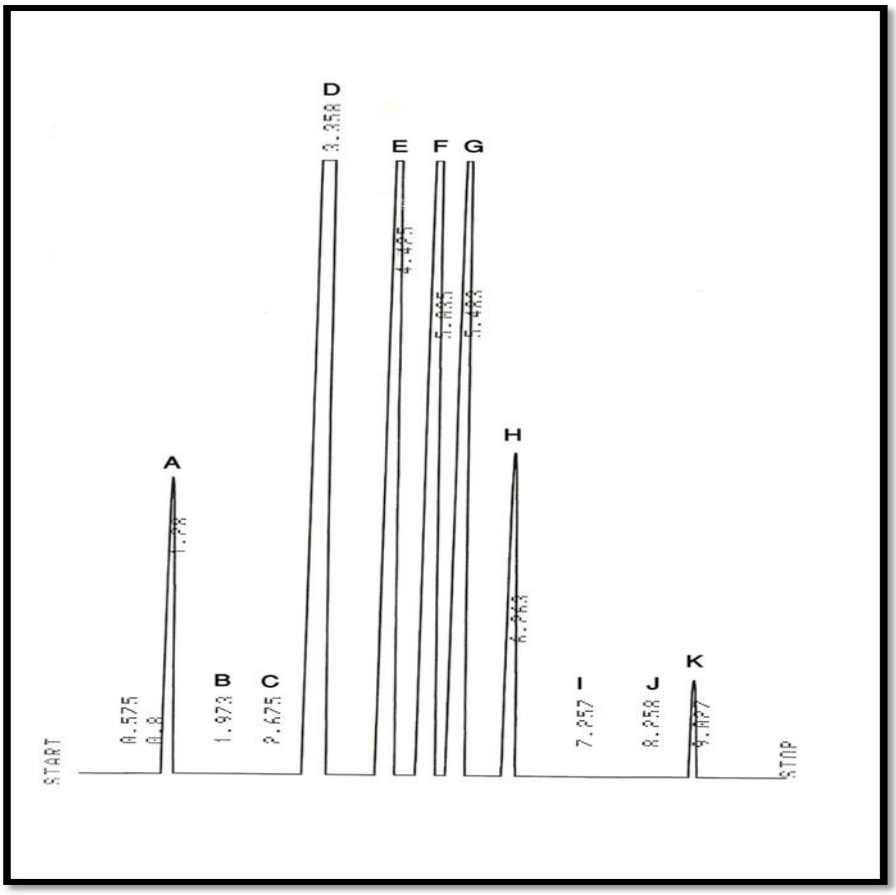
seq	Compound	Retention time minute	Area	Concentration µg/ml
A	Alpha penine	1.27	62325	25 µg/ml each
B	P-hydroxy benzoic acid	1.95	43758	
C	Merycetin	2.66	39463	
D	Ellagic acid	3.37	66255	
E	Camphene	4.43	41301	
F	Caffic acid	4.93	39581	
G	Ferulic acid	5.49	53208	
H	Gallic acid	6.24	54194	
I	Comarins	7.25	49483	
J	Quercetin	8.25	44776	
K	Catachin	9.02	56132	



ملحق (4) المركبات الفينولية المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من الكالس النامي على الوسط الغذائي المجهز بمنظم النمو 2,4-D.

الجدول (23) المساحة وزمن الاحتجاز في جهاز HPLC لعينة الكالس النامي على الوسط الغذائي المجهز بمنظم النمو2,4-D .

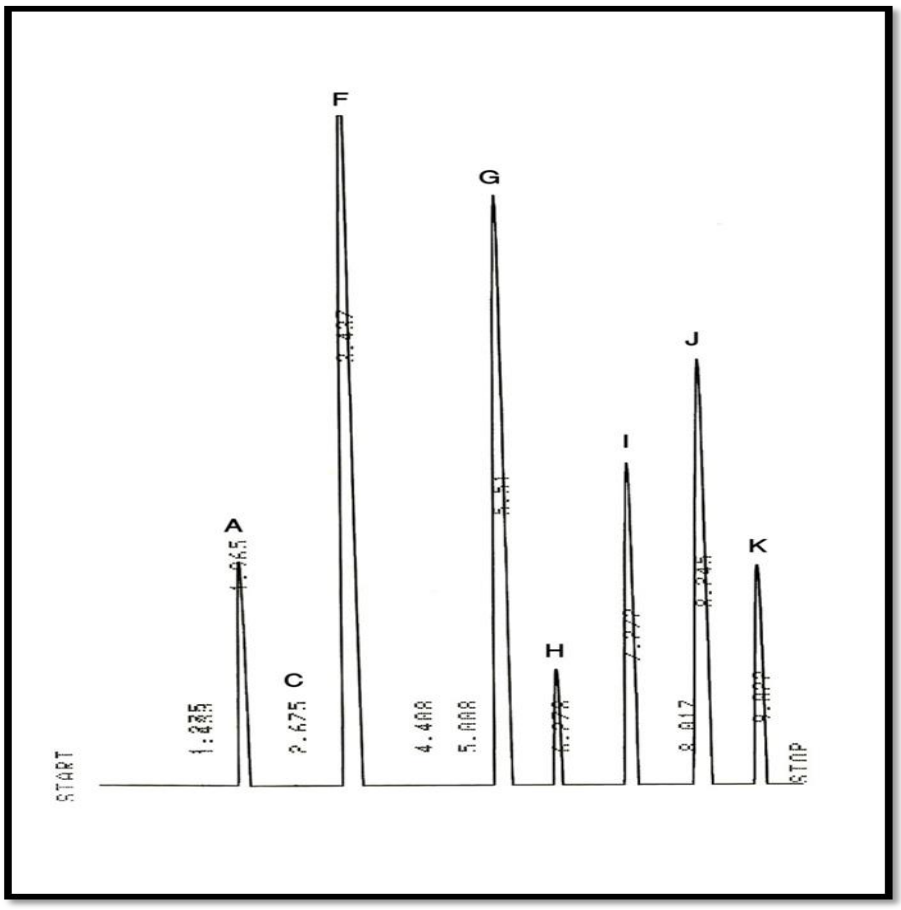
seq	Compound	Retention time minute	Area	Concentration µg/ml
A	Alpha penine	1.28	23822	25 µg/ml each
B	P-hydroxy benzoic acid	1.98	34796	
C	Merycetin	2.71	46255	
D	Ellagic acid	3.37	94440	
E	Camphene	4.49	77167	
G	Ferulic acid	5.55	67377	
H	Gallic acid	6.27	32662	
I	Comarins	7.24	34224	
J	Quercetin	8.28	31616	
K	Catachin	9.07	55415	



ملحق (5) المركبات الفينولية المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من الكالس النامي على الوسط الغذائي المجهز بمنظمي النمو .Kin+ 2,4-D .

الجدول (24) المساحة وزمن الاحتجاز في جهاز HPLC لعينة الكالس النامي على الوسط الغذائي المجهز بمنظمي النمو .Kin + 2,4-D .

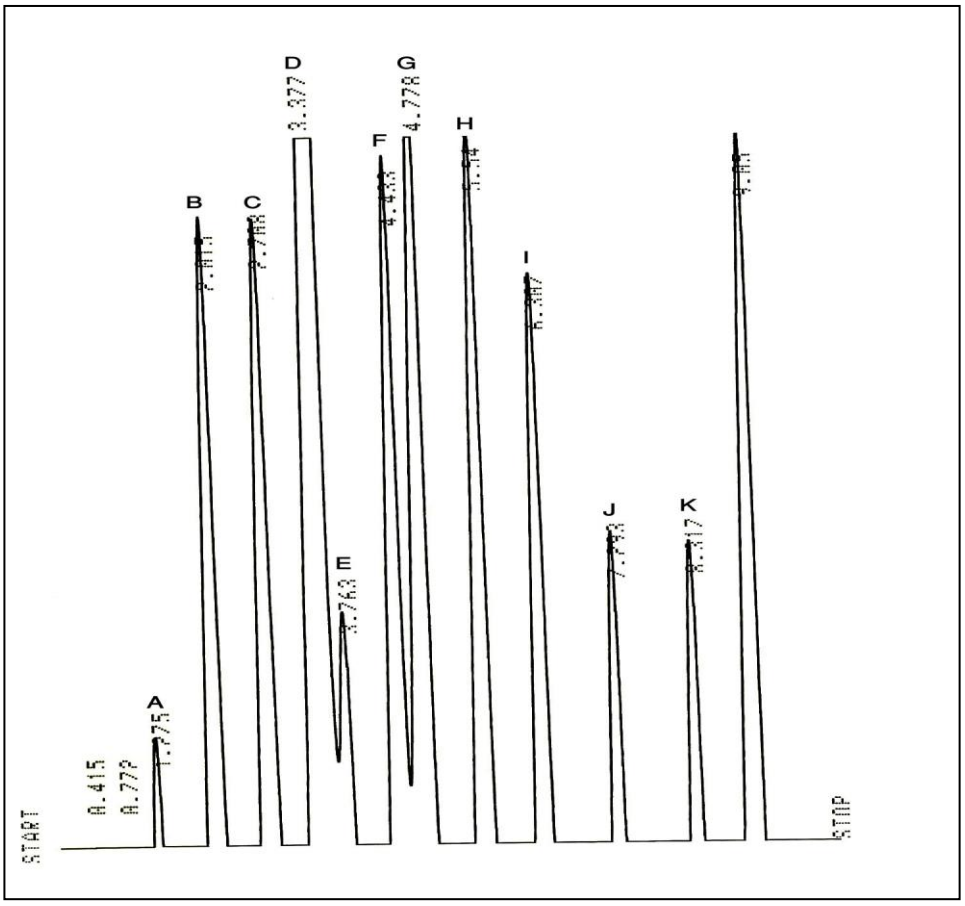
seq	Compound	Retention time minute	Area	Concentration µg/ml
A	Alpha penine	1.28	43886	25 µg/ml each
B	P-hydroxy benzoic acid	1.97	26366	
C	Merycetin	2.67	26660	
D	Ellagic acid	3.35	116331	
E	Camphene	4.42	77726	
F	Caffic acid	5.03	70510	
G	Ferulic acid	5.48	70286	
H	Gallic acid	6.26	45677	
I	Comarins	7.25	25176	
J	Quercetin	8.25	17862	
K	Catachin	9.02	30601	



ملحق (6) المركبات الفينولية المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من الكالس النامي على الوسط الغذائي المجهز بمنظمي النمو NAA + BA .

الجدول (25) المساحة وزمن الاحتجاز في جهاز HPLC لعينة الكالس النامي على الوسط الغذائي المجهز بمنظمي النمو NAA + BA .

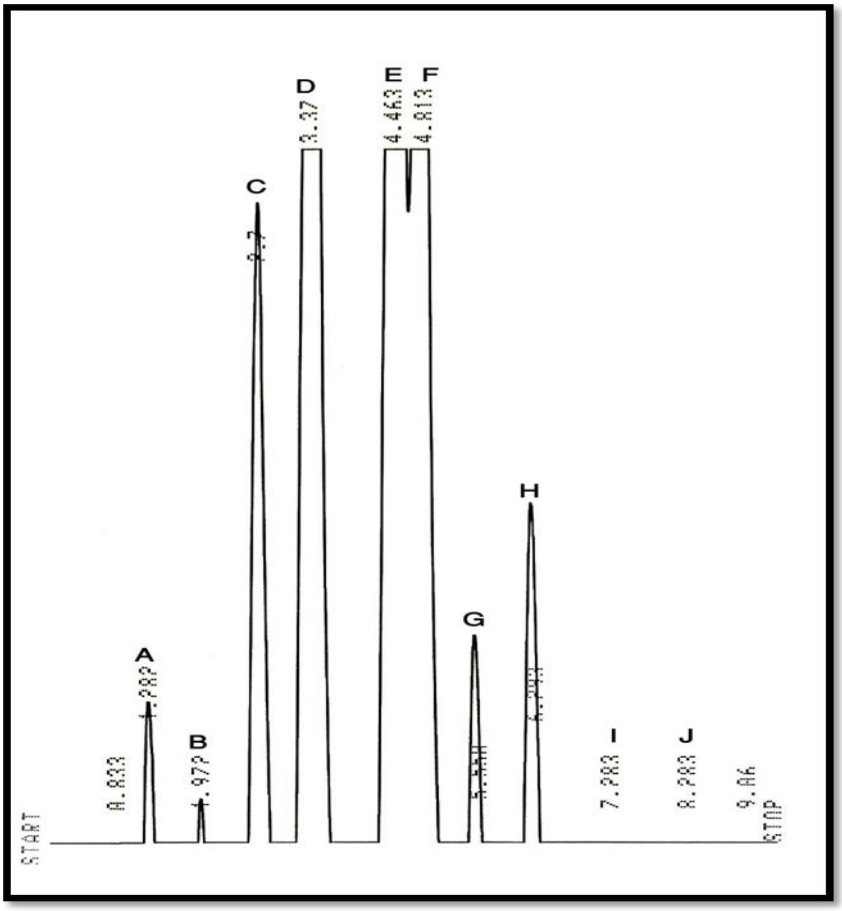
seq	Compound	Retention time minute	Area	Concentration µg/ml
A	Alpha penine	1.96	35326	25 µg/ml each
C	Merycetin	2.67	25359	
F	Caffic acid	3.43	71115	
G	Ferulic acid	5.51	54651	
H	Gallic acid	6.27	29975	
I	Comarins	7.27	38388	
J	Quercetin	8.24	14622	
K	Catachin	9.02	46458	



ملحق (7) المركبات الفينولية المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من أوراق النبات النامي في البيت البلاستيكي للصنف Salwan

الجدول (26) المساحة وزمن الاحتجاز في جهاز HPC لعينة الأوراق للنبات النامي في البيت البلاستيكي للصنف Salwan

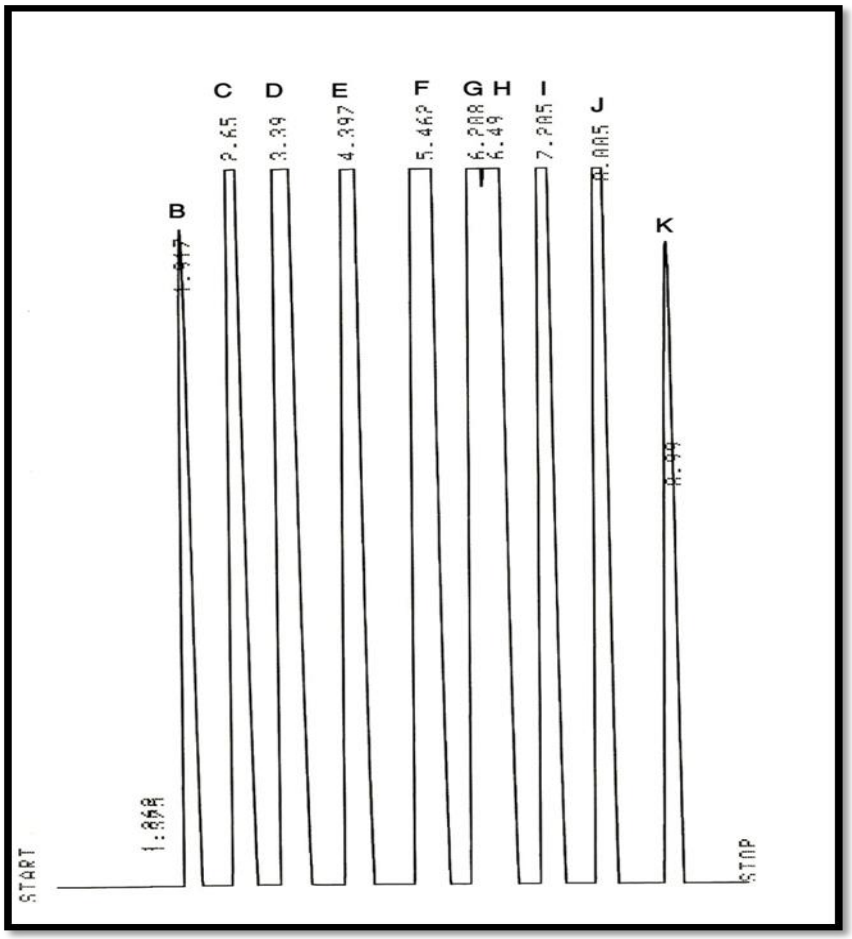
seq	Compound	Retention time minute	Area	Concentration µg/ml
A	Alpha penine	1.27	28312	25 µg/ml each
B	P-hydroxy benzoic acid	2.01	53348	
C	Merycetin	2.70	56848	
D	Ellagic acid	3.37	104449	
E	Camphene	3.76	37684	
F	Caffic acid	4.43	51977	
G	Ferulic acid	4.77	67990	
H	Gallic acid	5.54	61020	
I	Comarins	6.30	54794	
J	Quercetin	7.29	38104	
K	Catachin	8.31	36247	



ملحق (8) المركبات الفينولية المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من الكالس النامي على الوسط الغذائي المجهز بمنظمي النمو .NAA+Kin للشليك *Fragaria vesca* .

الجدول (27) المساحة وزمن الاحتجاز في جهاز HPLC لعينة الكالس النامي على الوسط الغذائي المجهز بمنظمي النمو .NAA + Kin للشليك *Fragaria vesca*.

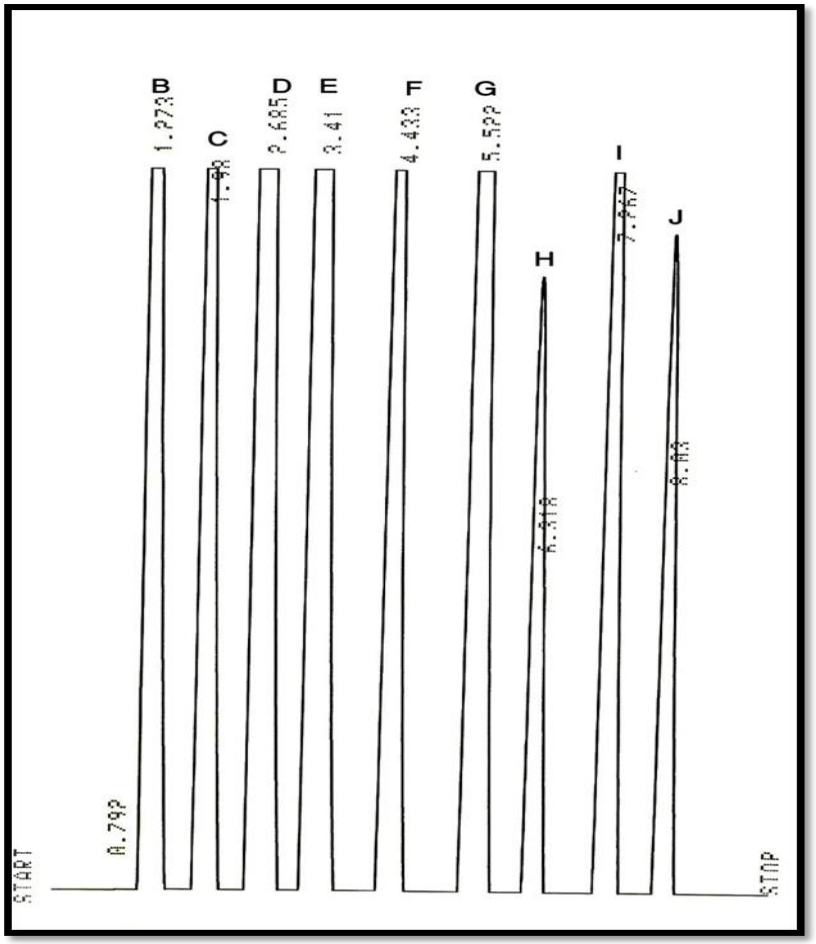
seq	Compound	Retention time minute	Area	Concentration µg/ml
A	Alpha penine	1.28	29853	25 µg/ml each
B	P-hydroxy benzoic acid	1.97	24891	
C	Merycetin	2.7	56208	
D	Ellagic acid	3.37	148016	
E	Camphene	4.46	126939	
F	Caffic acid	4.81	108847	
G	Ferulic acid	5.55	37119	
H	Gallic acid	6.29	42748	
I	Comarins	7.28	11606	
J	Quercetin	8.28	13442	



ملحق (9) المركبات الفينولية المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من أوراق النبات النامي في الظلة الخشبية للشليك *Fragaria vesca* .

الجدول (28) المساحة وزمن الاحتجاز في جهاز HPLC لعينة الأوراق للنبات النامي في الظلة الخشبية للشليك *Fragaria vesca*.

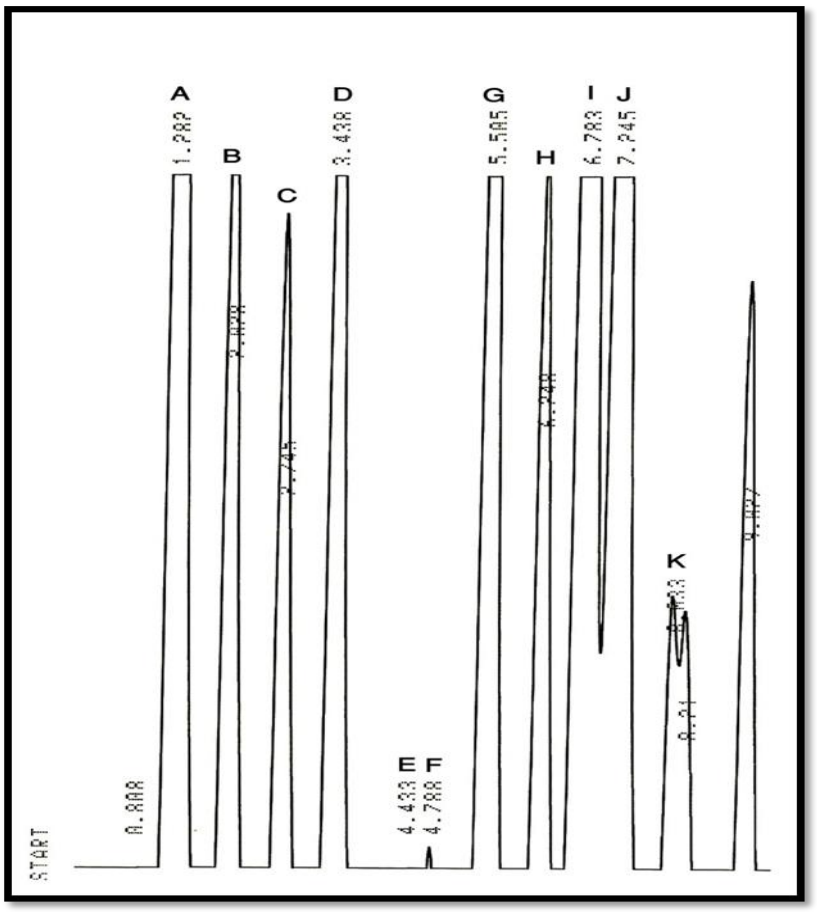
seq	Compound	Retention time minute	Area	Concentration µg/ml
B	P-hydroxy benzoic acid	1.91	50308	25 µg/ml each
C	Merycetin	2.65	86065	
D	Ellagic acid	3.39	137860	
E	Camphene	4.39	114122	
F	Caffic acid	5.49	146469	
G	Ferulic acid	6.20	73942	
H	Gallic acid	6.49	96980	
I	Comarins	7.20	80829	
J	Quercetin	8.00	70979	
K	Catachin	8.99	48097	



ملحق (10) المركبات الفينولية المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من جذور النبات النامي في الظلة الخشبية للشليك *Fragaria vesca* .

الجدول (29) المساحة وزمن الاحتجاز في جهاز HPLC لعينة جذور النبات النامي في الظلة الخشبية للشليك *Fragaria vesca*.

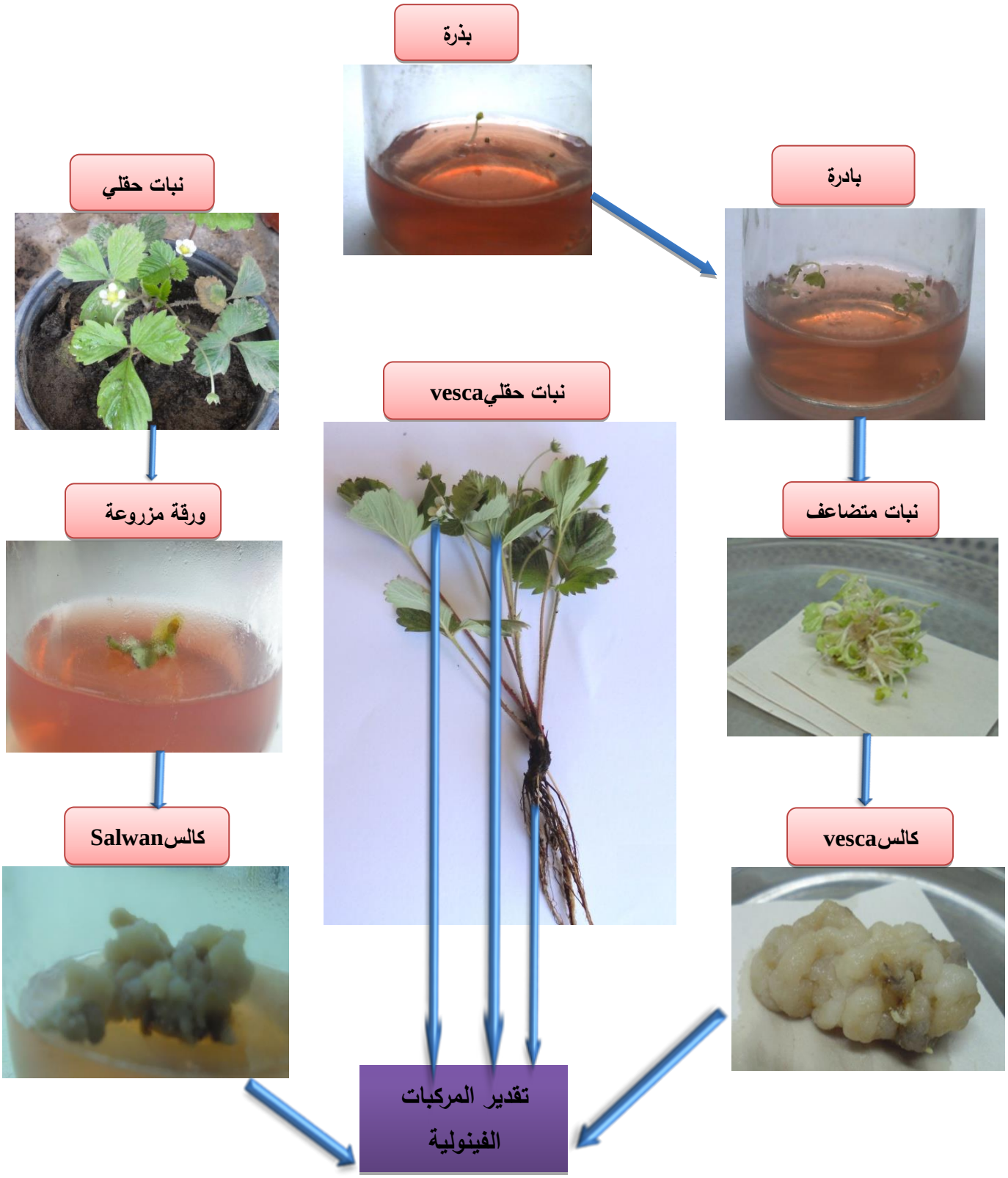
seq	Compound	Retention time minute	Area	Concentration µg/ml
B	P-hydroxy benzoic acid	1.27	72877	25 µg/ml each
C	Merycetin	1.98	66851	
D	Ellagic acid	2.68	115255	
E	Camphene	3.41	121545	
F	Caffic acid	4.43	74671	
G	Ferulic acid	5.52	96203	
H	Gallic acid	6.31	46894	
I	Comarins	7.26	61906	
J	Quercetin	8.03	47837	



ملحق (11) المركبات الفينولية المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من أزهار النبات النامي في الظلة الخشبية للشليك *Fragaria vesca* .

الجدول (30) المساحة وزمن الاحتجاز في جهاز HPLC لعينة أزهار النبات النامي في الظلة الخشبية للشليك *Fragaria vesca*.

seq	Compound	Retention time minute	Area	Concentration µg/ml
A	Alpha penine	1.28	108318	25 µg/ml each
B	P-hydroxy benzoic acid	2.02	62010	
C	Merycetin	2.74	50766	
D	Ellagic acid	3.43	74685	
E	Camphene	4.43	13414	
F	Caffic acid	4.78	18137	
G	Ferulic acid	5.50	83976	
H	Gallic acid	6.24	51229	
I	Comarins	6.78	137429	
J	Quercetin	7.24	127582	
K	Catachin	8.03	24159	



ملحق (12) مراحل النمو والإكثار وإنتاج الكالس وتقدير المركبات الفينولية من الأنسجة المختلفة للشليك .

Summary

This experiments was conducted in the plastic house and the Lath house /college of Agriculture / Diyala University while the tissue experiment were conducted in the plant tissue culture lab. Horticulture Dept / college of Agriculture / Diyala University from oct / 1st / 2011 to July / 1st / 2012 .

The aim of this research is to study the effect of plant growth regulators on germination, seedling growth, multiplication, initiation of callus and phenolic compound in callus and comparing them with the plants in the field . The application of GA_3 at concentrations (0, 0.5 , 1 ,2 and 3) mg/ L to (MS) media supplemented were at concentration (1) mg/L was the best in increased shoot number and seedling length and number of roots was 8.08 mm and 3.50 shoot/ seedling and 1.88 root/ seedling respectively and got the best root length in the treatment of (2) mg/L which was 6.40 mm.

When the medium is supplemented with BA at concentrations (0 , 0.25 , 0.5 ,and 1) mg/ L , the media which was supplemented with(1) mg/L increased shoots number to 11.90 shoot/ seedling , while the medium free from BA increase of shoots length to 28.75 mm.when the medium is supplemented with Kin. at concentration (0 , 1 , 2 and 3) mg/L, The shoot number increased by 100% when the medium is supplemented with (1) mg/L Kin. While medium free from Kintein increase of shoots length at 33.75 mm .

When the medium supplemented with NAA at concentrations (0.5 , 1 , 2 and 4) mg/ L , 0.5 mg / L NAA Improve callus intiation at 100% , callus fresh weight increase to 0.484g. While the media supplemented at concentration 0.5 mg/L gave dry weight was 0.018g. The results of the effect of interference NAA at concentrations was (1 , 2 and 4) mg / L with BA or Kin. at concentrations (1 and 1.5) mg/ L . The result showed when the medium supplemented with (1) mg/L BA + 2 mg/L NAA Improve callus initiation to 90% , while 1.5 mg/ L Kin. + 1 mg/ L NAA increase fresh and dry weight of callus to 2.107g and 0.127 g respectively .

The effect of 2,4-D on callus initiation from *Fragaria ananassa* leaves Salwan type at concentrations (0.5 , 1 , 2 and 4) mg/ L .The results showed when the medium provided with 0.5 mg/ L increase callus initiation percent to 70% and increase dry weight of callus to 0.039 g. While the medium supplemented with 4 mg/ L increase fresh weight of callus to 0.699 g . The effect of the interference 2,4-D at concentrations (1 , 2 and 4) mg/ L with Kin. Or BA at concentrations (1 and 1.5) mg/ L . The result showed when the medium supplemented with 1.5 mg/ L BA + 4 mg/ L 2,4-D Improve callus initiation at 100% , while 1 mg/L Kin. + 1 or 2 mg/ L 2,4-D increase fresh and dry weight of callus to 2.560 and 0.146 g respectively .

On the experiment of evaluating phenolices from the callus and the planted tissues in the field , the results showed that the particular tissues gave the high levels of phenolices compounds as compared to callus tissues . The leaf of Fragaria vesca gave high quantity of Merycitn compounds and Caffic acid and Gallic acid . The flowers of the same type gave the quantity of Alpha penine compounds , Comarine and Quercetin . The roots of the same type gave high quantity of P-hydroxy benzoic acid and Ferulic acid . The callus of the same type gave high quantity of Camphene compound and Ellagic acid ,while Salwan type gave high quantity of Catachin compound. .

University of Diyala

College of Education for pure sciences

Response of Strawberry plant for propagation ,callus initiation and production of some Medicine Metabolites *in vitro*

A Thesis Submitted by

Emad Khalaf Najim Al-azawy

TO

The Council of the College of Education for Pure Sciences University of Diyala

In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science

in

Biology / Botany

Supervised by

Dr.WESSAM MALEK DAWOOD — **Professor**

Dr. AYAD ASSI OBAID — **Lecturer**

2012 A.D

1433A.H