Ass. Univ. Bull. Environ. Res. Vol. 16 No. 1 March 2013

AUCES

اختبار الأوراق السليلوزية (أوراق الأسمنت) كبديل لوسط الأجار لإنبات وتنمية أجنة البازلاء معملياً

هدى شعبان القبى، مفتاح أحمد عظام، عبد الحميد باكير، أسماء برقوق

قسم النبات – كلية العلوم – جامعة مصراتة – ليبيا

الملخص:

تعتبر زراعة الخلايا والأجنة النباتية من طرق الحديثة والهامة والمفيدة في مجال علم النبات، وقد خرجت هذه الطريقة من دائرة الأبحاث إلى دائرة التطبيق العلمي فهذه التقنية تستخدم أساساً في الإكثار السريع للنباتات وذلك للحصول على أكبر عدد من النباتات الأمر الذي لا يمكن تحقيقه بأي طريقة من طرق التكاثر التقليدية وذلك في أي وقت من السنة و بأقل جهد وأقل حيز ممكن.

أجريت العديد من الأبحاث الأكاديمية التي أدت إلى معرفة كيفية تمييز وتكشف وتكوين الأعضاء أو الأجزاء النباتية المفصولة والمنماة في البيئات الصناعية فلكي ينمو الجزء النباتي يشترط أن يكون له القدرة على الانقسام الميتوزي حيث يعتبر اختبار الجزء النباتي المستعمل، وكذلك مرحلة نمو هذا الجزء ذات أهمية كبيرة في زراعة الأنسجة، وفي جميع الأحوال يجب تعقيم الجزء النباتي المستخدم قبل البدء في زراعة الأنسجة، ومن ثم توفير وسط نمو له، وتتم هذه الطريقة في ظروف على درجة عالية من التعقيم حيث أن البيئات المستخدمة تكون موطن خصب للكائنات الدقيقة في زراعة الأجنة النباتية يواجه الباحثون مشاكل عدة منها نوع البيئة المغذية ووسيلة التعقيم العالى التي تتطلبها هذه البيئات بالإضافة لتهيئة وتحفيز الأجنة للنمو.

أجرى هذا البحث بغرض دراسة إمكانية استبدال وسط النمو على بيئة الأجار، والذي يرتبط استخدامه بتوفير درجات عالية من التعقيم، وذلك بسبب القدرة السريعة للكائنات الدقيقة على النمو والتكاثر فيه, بوسط النمو مؤلف من ورق سليلوز (ورق الأسمنت) كوسط لنمو أجنة نبات البازلاء. نميت الأجنة على وسط الأجار ووسط الأوراق السليلوزية، وذلك لمقارنة النمو على الوسطين المستخدمين, عزلت الأجنة الناضجة من بذور نبات البازلاء وبعد تعقيمها تم تنميتها على وسط الورق السليلوزى وأخرى على وسط الأجار تركت لتنمو في حاضنات مظلمة عند درجة حرارة ٢٦°م لمدة أربعة أيام سجلت القراءات الخاصة بمقاييس النمو للنبات, ومن ثم عرضت الباردات النامية للتقسية، وذلك بنقلها في أصص صغيرة، وتركت لتنمو تحت ظروف متحكم بها معملياً, تم تسجيل القراءات الخاصة بمقاييس النمو بالإضافة لتقدير المحتوي اليخضوري.

بعد أربعة أيام من التقسية نقلت النباتات إلى ظروف البيئة الطبيعية، وتركت لتنمو لمدة أسبوع، وأيضاً تم تسجيل القراءات الخاصة بالأطوال والأوزان للنبات بالإضافة للمحتوى المائي وتقدير المحتوي اليخضوري للنباتات النامية, عوملت أجنة النباتات بتركيزي ١، ٥ جزء في المليون من حمض الجبريليك بغرض تحفيز نمو الأجنة، كما تركت بعض الأجنة

بدون معاملة حيث استخدمت هذه كشاهد.

بينت نتائج الدراسة أن الوسط المؤلف من ورق السليلوز يعتبر الأفضل لنمو الأجنة خاصة في الأيام الأربعة الأولى لنمو الأجنة حيث لوحظ الزيادات عالية المعنوية في الطول الكلي للنبات بالإضافة إلى تكون الأوراق في حين أن الأجنة النامية على وسط الأجار لم تبدي أي استجابة في زيادة الأطوال أو الأوزان. استخدام هرمون الجبريلين بتركيز (١) جزء في المليون للأجنة النامية على ورق السليلوز أدى للزيادة المعنوية للأطوال، وكذلك الوزن الرطب والمحتوى المائي، كما ظهرت كفاءة البادرات لتكوين الأوراق في حين استخدام هرمون الجبريلين للأجنة النامية على وسط الأجار لم يبد نفعاً خلال الأربعة أيام الأولى لنمو الأجنة. عند نقل البادرات إلى مرحلة التقسية لوحظ أن النباتات التي كانت تنمو على وسط الأوراق السليلوزية أظهرت استجابة في تحسين نمو النبات مقارنة بتلك النامية على وسط الأجار, تميل النباتات النامية على وسط الأوراق السليلوزية لإظهار تحسن في طول المجموع الجذري، كما وجد أن استخدام هرمون الجبريلين خلال مرحلة التقسية لا يجدي نفعاً حيث لم يتم ملاحظة أي فروقات معنوية بين نبات المقارنة والنبات المعاملة بالهرمون عليه فقد أوضحت نتائج الدراسة أن وسط الأوراق السليلوزية يمكن استخدامه كبديل عن وسط الأجار، وذلك يرجع لقدرة أجنة نبات البازلاء على النمو الجيد بداخله.

المقدمة:

علم زراعة الأنسجة والأعضاء يعتبر من العلوم المتطورة فهذه التقنية تقدم حلول للمشاكل التى تواجه الفسيولوجيين ومربى النبات. لوحظ من خلال البحث العلمى أن متابعة عمليتي النمو والتطور للنبات ومعرفة العوامل التي تتحكم بها تكون غير مجدية في الزراعة الحقلية فبالإضافة إلى العوامل الداخلية الخاصة بالنبات المرغوب إجراء الدراسة عليه والمراد زيادة إنتاجه هناك عوامل بيئية مثل الحرارة, الضوء والرطوبة يصعب التحكم بها, عليه فإن استخدام أجنة جسدية أو تنمية أعضاء نباتية في مزارع نسيجية وتحت ظروف متحكم بها يسهل بذلك متابعة نمو وتطور النبات والتوصل بالتحليل العلمي للمعوقات والأسباب التي قد تتسبب في فشل هذه العملية.

إن عملية انتخاب نباتات سليمة وذات صفات مرغوبة كقدرتها على مقاومة الجفاف والملوحة والممرضات النباتية تعتبر شاقة في الزراعة الحقلية، ويتطلب ذلك إجراء انتخاب لهذه النباتات من خلال إجراء ما يعرف بالمسح Screening لعدد كبير من النباتات فباستخدام تكنيك زراعة الأنسجة ومعلقات الخلايا يمكن لمربى النبات معملياً أن يتعامل مع عشيرة كبيرة جداً في طبق بتري فيسهل عليه مهمة الانتخاب.

للدراسة والبحث في مجال زراعة الأنسجة قيمة علمية، ولكن هذه الميزة ترتبط بالتوجه في التركيز على جانب معين فكما هو معلوم بأن هناك تنوع في فرص الزراعة النسيجية فمنهم من يستخدم الأجنة أو الخلايا أو البروتوبلاست ومنهم من يستخدم الأعضاء الكاملة.

استخدم في هذه الدراسة ما يعرف بزراعة الأجنة النباتية الناضجة, وهى عملية الفصل والزراعة المعقمة لجنين ناضج في مزارع الأنابيب بهدف الحصول على نبات حي فالجنين هو حلقة وصل بين جيلين من النبات يوفر استمرارية المادة الوراثية. يعتمد الجنين فى حصوله على الغذاء فى الأطوار الأولى على الفلقات أو الأندوسبيرم، وفيما بعد يصل الجنين مرحلة الاعتماد على نفسه (محمد ميلود خليفة ١٩٩٨، مالك ١٩٩٨)، مما يسمح بإتمام عملية النمو ودفع الجنين لعملية التكشف والتطور لتكوين الاعضاء (عبد الرحيم الرفاعي وسمير الشوبكي ٢٠٠٢، عمر ٢٠٠٠).

يواجه الباحثون خلال الزراعة ما يعرف بظاهرة العقم الأندوسبيرمى Somatoplastic sterility، والتي تنتج من

عدم التوازن الكروموسومى لأنسجة الإندوسبرم والجنين, فكما هو معروف أن الأجنة لا تتصل مباشرة بالأنسجة الوعائية لنبات الأم لكن يتم الاتصال عن طريق الإندوسبرم، والذي يستقبل المواد الغذائية ثم يقوم بإيصالها للجنين عن طريق الحبل السري وبالفحص السيتولوجى لمثل تلك الأجنة الهجينة ثبت أن الزيجوت ينقسم عدة انقسامات أولية كالمعتاد ثم يتكون في قاعدة البويضة أي بين الحبل السري والطرف الكلازى منطقة بها خلايا غير حية تمنع من وصول الغذاء للأندوسبرم، وعندئذ يموت نسيج الإندوسبرم، والذي يعقبه موت الجنين فإذا أمكن عزل الأجنة الجنسية في وقت مناسب وتنميتها على بيئة مناسبة فإنه يمكننا الحصول على تلك الأجنة سليمة، ويمكن تحقيق هذا الهدف بواسطة زراعة الأجنة Embryo culture معملياً.

أهمية زراعة الأجنة:

إن نجاح زراعة الأجنة أعطى أهمية لزراعات الزيجوتات، وكذلك قلل من مخاطر الإجهاض الذي يحدث للأجنة بعد حدوث عملية الإخصاب T هذه التقنية هامة حيث إنها تساعد في الحصول على أنسب الظروف الغذائية اللازمة لنمو وتطور الجنين، وكذلك التغلب على دور السكون الذي تدخل فيه بعض البذور لتقليل زمن برنامج التربية، كما تفيد في تقدير قدرة وحيوية الخلايا على الاستمرارية (عبد الرحيم الرفاعي وسمير الشوبكي ٢٠٠٢).

وصف نبات التجربة:

Description of experimental plant

الاسم العلمي: نبات البازلاء *Pisum sativum*

الوضع التصنيفى (Gadi *et al*., 1980):

Division : Magnoliophyta
Class : Magnaliopsida
Order : Fabales
Family : Fabaceae
Genus : *Pisum*
Spices : *Pisum sativum*

وصف النبات:

تندرج البازلاء أو البسلّة تحت الخضروات، وهي من الفصيلة الفراشية. يتألف النبات من الجذور, السيقان, الأوراق, الثمار، البذور، وتضم البذرة (الجنين, الأنسجة المخزنة وأغلفة البذرة). وتعتبر أجنة العائلة البقولية، كذلك العائلة الصليبية من أجود الخامات للزراعة الجنينية (عبد الرحيم الرفاعى وآخرون, ٢٠٠٢).

الهدف من الدراسة:

يهدف البحث بالدرجة الأولى للمساهمة في إيجاد بدائل لأوساط النمو والتغلب على وسائل التعقيم المعقدة والمكلفة التي تتطلبها زراعة الأنسجة، والتي تشكل عقبة حقيقية لمواصلة البحث العلمي. وتنمية أجنة بذور نبات البازلاء فى أوساط نمو رخيصة، ومتوفرة كورق الأسمنت مما يسهل عملية الزراعة.

مواد وطرق البحث:

١- تعقيم البذور:

نقعت البذور البازلاء المستخدمة في كلوركس لمدة خمس دقائق مع التحريك بصورة مستمرة تم غسلت بالماء المقطر والمعقم مرتين ثلاثة مرات متتالية. جهزت أطباق بتري لوضع البذور، وذلك بوضع ورقة ترشيح معقمة داخل الطبق مع إضافة ١٠ مل، ووضعت البذور بالتساوي داخل الأطباق بعد ذلك وضعت بالحاضنة المجهزة عند درجة حرارة ٢٥°م±٢.

٢- اختبار النسبة المئوية لإنبات البذور:

اختبرت النسبة المئوية للإنبات البذور، وقد سجل صنف البازلاء المستخدم فى التجربة نسبة إنبات ١٠٠٪.

٣- تحضير هرمون الجبريلين:

- ١ (جزء في المليون) من GA_3: أذيب ١ ملجم من GA_3 في ١ مل إيثانول ٨٠٪، وأكمل إلى لتر باستخدام الماء المقطر المعقم.

- ٥ (جزء في المليون) من GA_3: أذيب ٥ ملجم من GA_3 في ١ مل ايثانول ٨٠٪، وأكمل إلى لتر باستخدام الماء المقطر المعقم. حفظت المحاليل في دوارق في الثلاجة لحين الاستخدام.

٤- تجهيز البيئات المغذية:

أ- وسط تشابك دوكس أجار Czapek Dox Agar (CZ): مكونات الوسط المغذي: سكروز ٣٠ جم, نترات الصوديوم ٢ جم, فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين ١ جم, كبريتات الماغنسيوم ٠,٥ جم, كلوريد البوتاسيوم ٠,٥ جم, ٠,٠١ جم كبريتات الحديد, أجار ١٥ جم.

ب- طريقة التحضير الوسط: جهز الوسط المغذى من مسحوق الأجار Czapek Dox Agar وبعد تعقيم الوسط تم إضافة منظمات النمو على النحو التالي:

- الوسط المغذى (١) بتركيز ١ جزء في المليون: أذيب ١ ملجم من GA_3 في ١ مل من الكحول الايثيلى ٩٥٪ (الحجم الكلى للوسط المعقم بدون منظمات نمو ٩٩٩ مل).
- الوسط المغذى (٢) بتركيز ٥ جزء في المليون: أذيب ٥ ملجم من GA_3 في ١ مل من الكحول الايثيلى ٩٥٪ (الحجم الكلى للوسط بدون منظمات نمو ٩٩٩ مل).
- الوسط المغذى (٣): لا يحتوى وسط الأجار على منظمات نمو واستعمل هذا الوسط كشاهد.
- وسط الأوراق السليلوزية (ورق الأسمنت): أخذت القياسات للأوراق السليلوزية (الحاوية من طبقتين) بطول ١٥ سم وعرض ١٥ سم، كما حددت أماكن زراعة الأجنة على الورقة بمعدل ٢,٥ سم بين كل جنين وأخر. وضعت الأوراق في الفرن الحراري عند درجة حرارة ٧٠°م لمدة يوم لغرض تعقيمها قبل الزراعة.

٥- تهيئة الأجنة وفصلها عن البذور:

فصلت الأجنة مع قليل من الفلقات من البذرة باستخدام مشرط، وفي أجواء معقمة غمرت الأجنة المفصولة في إيثانول ٧٥٪ لمدة ٥ دقائق طبقاً لما وصفه (الرفاعي وآخرون, ٢٠٠٢) مع التحريك المستمر. غمرت الأجنة مباشرة في الماء المقطر المعقم مرتين بغرض التخلص من اثر الكحول ثم نقلت لمرحلة الزراعة (Mineo, 1990).

٦- زراعة الأجنة على أوساط النمو:

عقمت الأسطح والكابينة لمدة ١٥ دقيقة ووضع الأدوات المستخدمة في الزراعة في الكحول طيلة فترة الزراعة (Vyas, 2007) بعد تعقيم الأوراق بالكحول ٧٥٪ تم نقعها في إناء لتشرب المحاليل (١، ٥ جزء في المليون من GA_3) كلٍ على حده, بعد ذلك تم تثبيت الأجنة المفصولة في الأماكن المحددة لها سابقاً بمعدل ٥ أجنة في كل ورقة (عدد المكررات ٤ لكل تركيز)، ووضعت في الحاضنة لمدة ٤ أيام مع رش الأوراق بالماء المقطر في حالة الشاهد، أما في حالة الأجنة المعاملة فإنه يتم الرش من المحاليل المحضرة وفقاً للتركيزي ١، ٥ جزء في المليون من GA_3 كل على حده ثلاث مرات يومياً.

صب والتوزيع فى الوسط المغذى الأجار:

يتم توزيع الوسط المغذي على الأنابيب المراد الزراعة بها بحيث تكون الأنابيب في وضع المائل يتم صب الوسط في الأنابيب بالقرب من اللهب المباشر، ذلك لضمان عدم حدوث أي تلوث (ببريك, ٢٠٠٢) مع مرعاه إضافة GA_3 بتراكيز (١، ٥ جزء في المليون) على التوالي, يترك الوسط ليتصلب. تتم الزراعة بمعدل ٢ من الأجنة في كل أنبوبة.

تترك الأجنة لتنمو لمدة أربعة أيام داخل حضانة عند درجة حرارة ٢٥°م (فترة الحضانة).

٧- مقاييس النمو للبادرات النامية:

سجلت القراءات الخاصة بمقاييس النمو لكل من الأجنة النامية على وسط الأجار والأوراق السليلوزية، والتي تشمل (قياس طول المجموع الخضري, طول المجموع الجذري, الطول الكلى, الوزن الرطب والوزن الجاف, تقدير المحتوى المائي للأجنة فى مرحلة الحضانة).

٨- تقسية النبات:

عرضت الأجنة النامية للتقسية لمدة ٤ أيام حيث نقلت من أوساط نموها إلى تربة زراعية. زرعت البادرات في أصص قطرها ٣ ملم، وتركت لتنمو في حضانات بلاستيكية وتحت ظروف بيئية متحكم بها. رويت البادرات النامية بمحلول مغذى حيث استخدمت كشاهد بينما البادرات المعاملة بتركيزي ١، ٥ جزء في المليون من GA_3 روت بمحلول مغذي حاوي على نفس التركيز الهرمونية. سجلت مقاييس النمو للبادرات النامية التي تشمل: (قياس طول المجموع الخضري, طول المجموع الجذري, الطول الكلى, الوزن الرطب والوزن الجاف, تقدير المحتوى المائي للبادرات)، كما تم في هذه المرحلة تقدير المحتوى اليخضوري واختبار كفاءة النتح للنبات.

٩- تقدير المحتوى اليخضوري:

طحنت العينات في ١٠ مل من الإيثانول ٨٠٪ في مكان مظلم تم وضع المستخلص في أنابيب تركت العينات في الحمام المائي لمدة ٥ دقائق عند درجة حرارة ٧٠°م. نقلت بعد ذلك إلى جهاز الطرد المركزي لمدة ١٠ دقائق. تم التخلص من الراسب وقدر محتوى اليخضور باستخدام جهاز Spectrophotometer عند طول موجي ٦٦٥ و٦٤٥ لعدد أربعة مكررات.

١٠- زراعة النبات في الحقل:

بعد تعريض الأجنة النامية لعملية التقسية نقلت النباتات للحقل، وتركت لتنمو لمدة أسبوع مع مرعاة استمرار ريها بالهرمونات في حالة النباتات المعاملة بينما رويت النباتات غير المعاملة بالمحلول المغذى. سجلت القراءات الخاصة بمقاييس النمو (قياس طول المجموع الخضري, طول المجموع الجذري, الطول الكلى, الوزن الرطب والوزن الجاف, تقدير المحتوى المائي للنبات). كما قدر المحتوى اليخضوري ومعدل النتح للنباتات النامية، وأخذت القراءات لأربعة مكررات.

ملاحظة: تم متابعة مقياس النمو للأجنة النامية على وسطى الأجار وورق السليلوز حيث سجلت النتائج خلال المراحل الثلاثة من نمو الأجنة كالتالى:

أ- مرحلة الحضانة: أربعة أيام من بداية نمو الجنين.

ب- مرحلة التقسية: أربعة أيام نمو بعد فترة الحضانة حيث يصل عمر الجنين ثمانية أيام.

ج- مرحلة النمو فى الحقل: تستغرق أسبوع لينمو الجنين، ويصل عمر الجنين باكتمال هذه المرحلة ١٥ يوماً.

١١- التحليل الإحصائى:

من نوع Anova One Way (Tueky Test) للبيانات باستخدام برنامج SPSS.

شكل ١ : فصل وزراعة الاجنة الناضجة لبذور نبات البازلاء النامية على الاوراق السليلوزية

النتائج:

١- تقدير النسبة المئوية لإنبات أجنة البازلاء على وسطى نمو الأجار وورق السليلوز:

تبين نتائج الدراسة أن نسبة إنبات أجنة البازلاء قدرت بـ ١٠٠٪ على الوسطين الأجار وورق السليلوز (شكل ٢).

٢- مقاييس النمو :

أ- مقاييس النمو خلال أربعة أيام من التحضين (فترة الحضانة):

* طول المجموع الخضرى لأجنة نبات البازلاء النامية على وسطى الأجار والأوراق السليلوزية بعد فترة أربعة أيام من الحضانة: توضح النتائج المبينة فى شكل (٣) أن أجنة نبات البازلاء غير المعاملة (الشاهد) والمعاملة بتركيزي ١، ٥ جزء في المليون من حمض الجبريليك النامية على وسط الأوراق السليلوزية قد شهد تحسن فى طول المجموع الخضرى (رويشات) عند مقارنتها بالأجنة النامية على وسط الأجار.

ب- طول المجموع الجذري لأجنة نبات البازلاء النامية على وسطى الأجار والأوراق السليلوزية بعد فترة أربعة أيام من الحضانة:

يتبين من شكل (٤) أن الأجنة النامية على ورق السليلوز تظهر زيادة عالية المعنوية في طول المجموع الجذري مقارنة بتلك النامية على وسط الأجار. بصورة عامة معاملة الأجنة النامية على ورق السليلوز باستخدام حمض الجبريليك لا تجدي نفعا في تحفيز الزيادة في طول المجموع الجذري على العكس من ذلك تفضل الأجنة النامية على وسط الأجار وجود هرمون الجبريليك لتحفيز الزيادة في طول مجموعها الجذري.

*** الطول الكلى لأجنة نبات البازلاء النامية على وسطى الأجار والأوراق السليلوزية بعد فترة أربعة أيام من الحضانة**:

يتضح من شكل (٥) أن الأجنة النامية على ورق السليلوز تظهر زيادة عالية المعنوية في الطول الكلى مقارنة بتلك النامية على وسط الأجار. بصورة عامة معامله الأجنة النامية على ورق السليلوز باستخدام حمض الجبريليك لا قيمة لها في تحفيز الزيادة في الطول الكلى للأجنة النامية على العكس من ذلك تفضل الأجنة النامية على وسط الأجار وجود هرمون الجبريليك لتحفيز الزيادة في الطول الكلى للأجنة النامية.

*** عدد الأوراق المتكونة في الأجنة النامية لنبات البازلاء على وسطى الأجار والأوراق السليلوزية بعد فترة اربعة أيام من الحضانة:**

شوهد ظهور أوراق على أجنة نبات البازلاء النامية على وسط الأوراق السليلوزية, يبدو من النتائج المبينة في شكل (٦) أن استخدام حمض الجبريليك يلعب دوراً في تحفيز تكون الأوراق على البادرات. مما يجدر الإشارة إليه أن الأجنة النامية (المعاملة والغير معامل) على وسط الأجار لم يلاحظ بها تكون أوراق.

*** الوزن الرطب للأجنة النامية لنبات البازلاء على وسطى الأجار والأوراق السليلوزية بعد فترة أربعة أيام من الحضانة:**

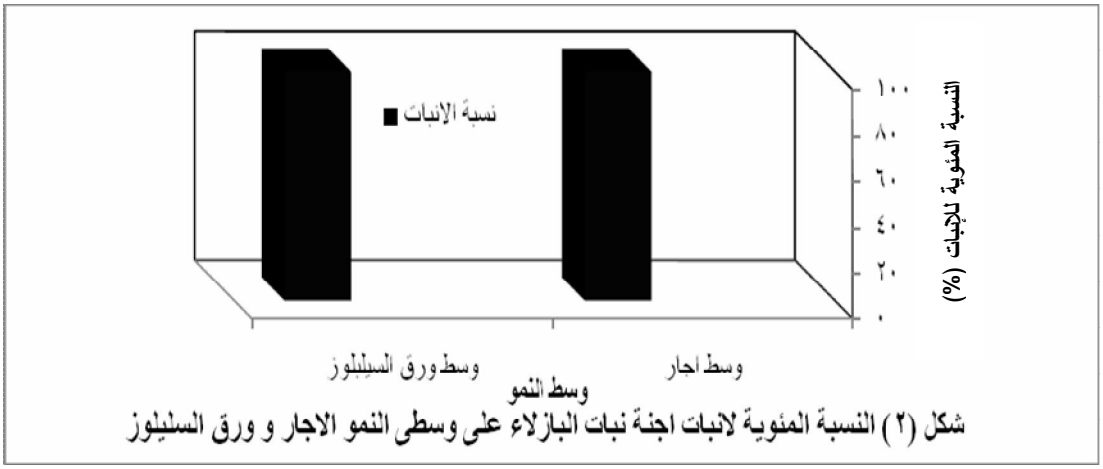
يتضح من شكل (٧) أن الأجنة النامية على ورق السليلوز شهدت زيادة في وزنها الرطب مقارنة بالأجنة النامية في وسط الأجار. كما تشير النتائج المتحصل عليها أن استخدام حمض الجبريليك في الوسط المؤلف من ورق السليلوز شجع زيادة الوزن الرطب للأجنة النامية حيث كانت الزيادة في الوزن عالية المعنوية ومعنوية فقط عند تركيزي ١، ٥ جزء في المليون من حمض جبريليك على التوالي، وذلك مقارنة بالأجنة النامية على وسط الأجار والمعاملة بنفس التراكيز من حمض الجبريليك.

*** الوزن الجاف للأجنة النامية لنبات البازلاء على وسطى الأجار والأوراق السليلوزية بعد فترة أربعة أيام من الحضانة:**

بالنظر للنتائج في شكل (٨) يتضح أنه لا توجد فروقات معنوية في الوزن الجاف للأجنة النامية على وسطى الأجار وورق السليلوز. كما لوحظ أيضاً أن استخدام حمض الجبريليك بتركيزين لم يشجع الزيادة فى الوزن الجاف.

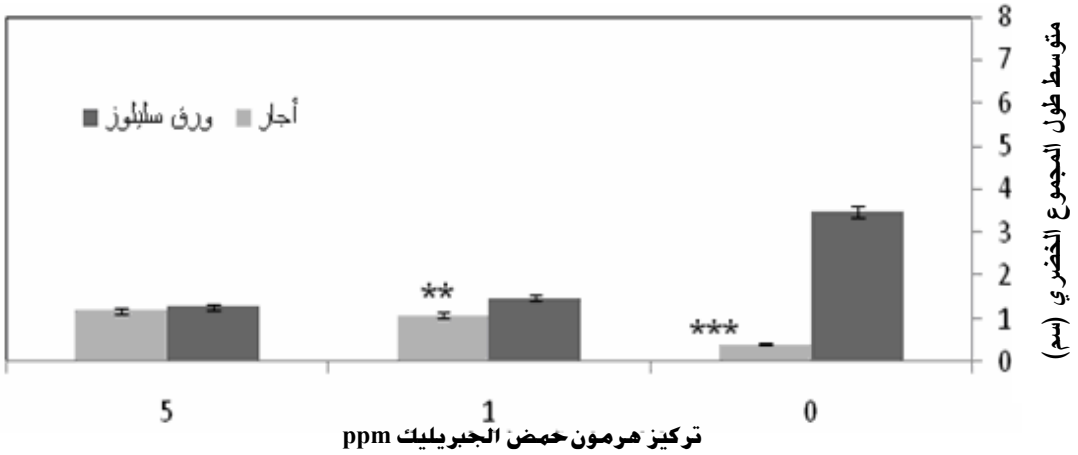
*** المحتوى المائي للأجنة النامية لنبات البازلاء على وسطى الاتجار والأوراق السليلوزية بعد فترة أربعة أيام من الحضانة:**

شهد المحتوى المائي للأجنة النامية على ورق سليلوز تحسن مقارنة بتلك الأجنة النامية على وسط الأجار. كما لوحظ إن المعاملة بحمض الجبريليك، وبالأخص تركيز ١ جزء في المليون شهد زيادة عالية المعنوية في المحتوى المائي للأجنة النامية (شكل٩).

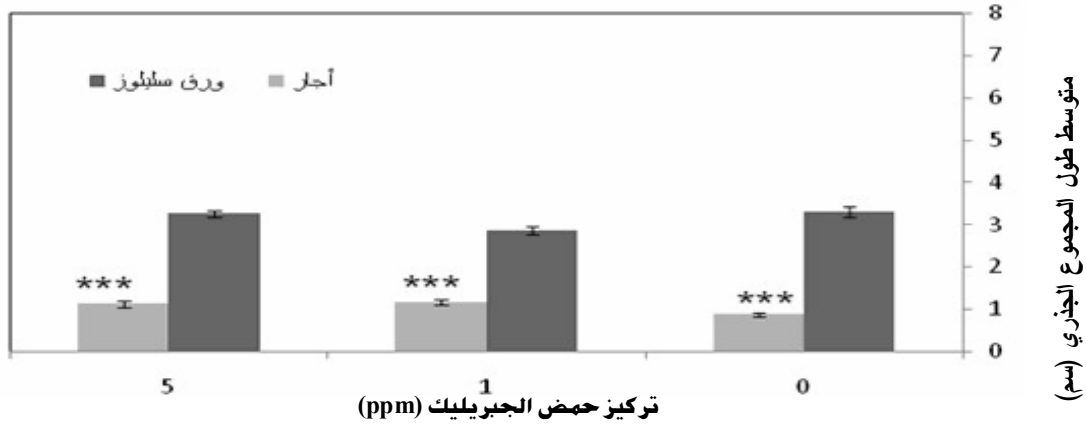


شكل (٢) النسبة المئوية لانبات اجنة نبات البازلاء على وسطى النمو الاجار و ورق السليلوز

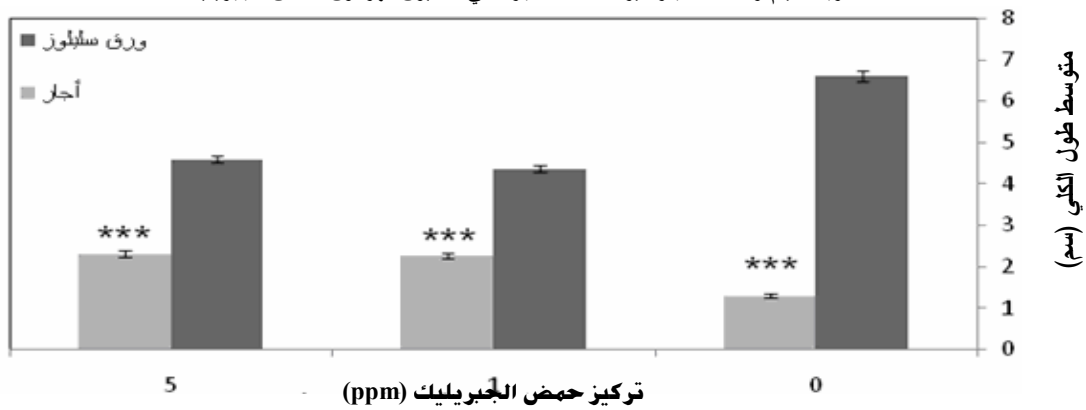
شكل ٢: النسبة المئوية لإنبات أجنة نبات البازلاء على وسطى النمو والأجار وورق السليلوز



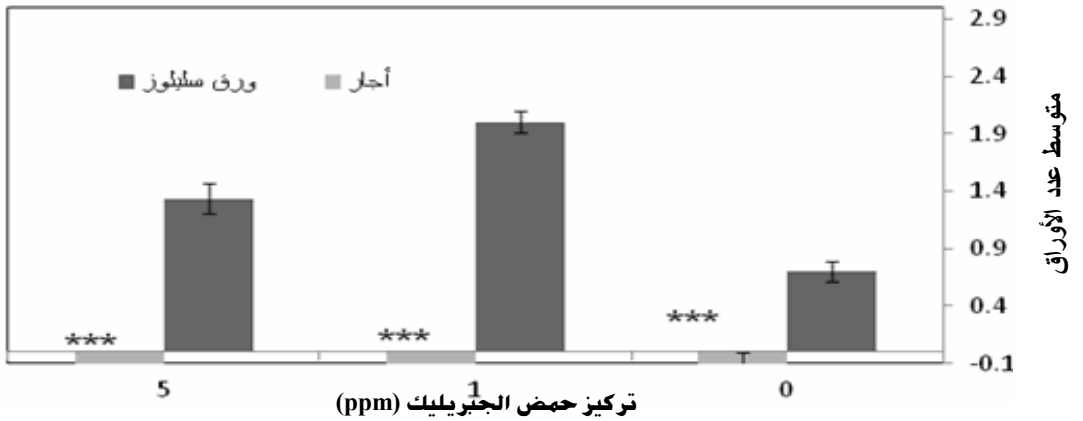
شكل ٣: مقارنة لمتوسط أطوال المجموع الخضري للأجنة النامية لنبات البازلاء على وسطى نمو ورق السليلوز والأجار لمدة أربعة أيام والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون حمض الجبريليك



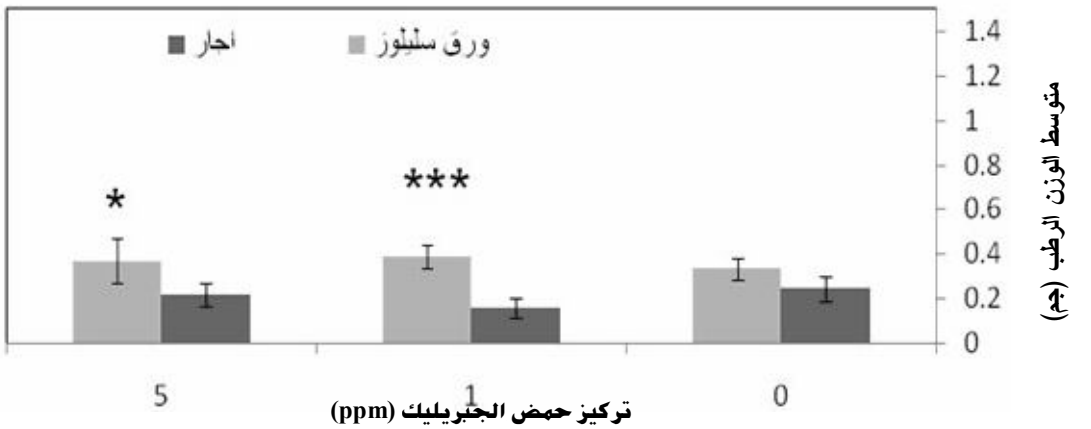
شكل ٤: مقارنة متوسط أطوال المجموع الجذري للأجنة النامية لنبات البازلاء على وسطى نمو ورق السليوز والأجار لمدة أربعة أيام والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون حمض الجبريليك



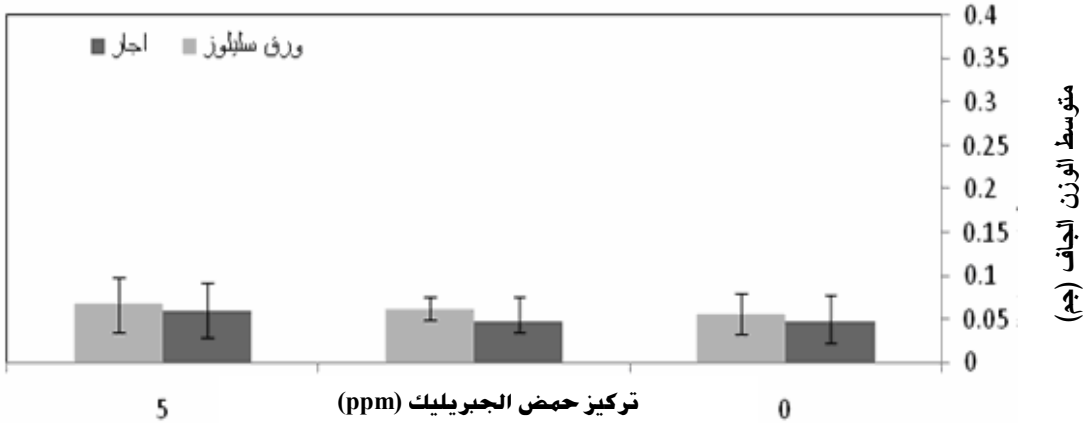
شكل ٥: مقارنة لمتوسط الطوال الكلي المجموع للأجنة النامية لنبات البازلاء على وسطى نمو ورق السليلوز والأجار لمدة أربعة أيام والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون حمض الجبريليك



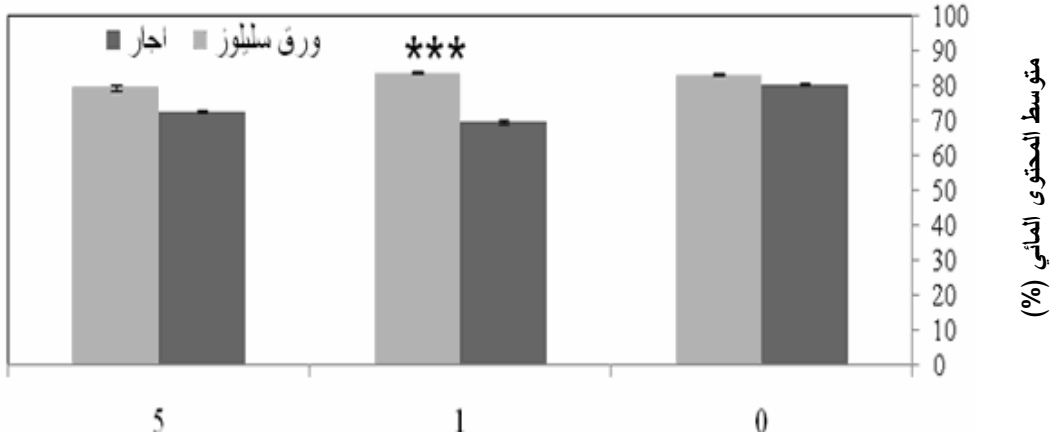
شكل ٦: مقارنة لمتوسط عدد الأوراق للأجنة النامية لنبات البازلاء على وسطى نمو ورق السليلوز والأجار لمدة أربعة أيام والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون حمض الجبريليك



شكل ٧: متوسط الوزن الرطب للأجنة النامية لنبات البازلاء النامية على وسطى نمو ورق السليلوز والأجار لمدة أربعة أيام والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون حمض الجبريليك



شكل ٨: متوسط الوزن الجاف للاجنه الناميه لنبات البازلاء المعامله بهرمون حمضى الجبريليك على وسطى نمو ورق السليلوز والأجار لمدة أربعة أيام والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون



شكل ٩: متوسط المحتوى المائي للأجنة النامية لنبات البازلاء المعاملة على وسطى نمو ورق السليلوز والأجار لمدة أربعة أيام والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون حمض الجبريليك

٢- مقاييس النمو خلال ثمانية أيام من النمو (فترة ما بعد التقسية):

نقلت النباتات (الأجنة النامية لنبات البازلاء) من مرحلة التحضين إلى مرحلة التقسية التي استمرت لمدة أربعة أيام بعدها تم قياس دلائل النمو للنباتات النامية وسجلت النتائج كالتالي:-

أ- طول المجموع الخضري لنباتات البازلاء النامية على وسطى الأجار والأوراق السليلوزية بعد فترة ثمانية أيام من النمو:

لوحظ تحسن ملحوظ في طول المجموع الخضري للنباتات النامية والمنقولة من وسط الأجار خلال فترة التقسية, كما هو مبين في شكل (١٠) أن الزيادة في طول المجموع الخضري في النباتات النامية والمنقولة من وسط الأجار كانت عالية المعنوية مقارنة بتلك المنقولة من ورق السليلوز. حفز تركيز ١ جزء في المليون من حمض الجبريليك الزيادة في طول مجموعها الخضري فى النباتات النامية والمنقولة من وسط الأجار بينما لم يعط ٥ جزء في المليون أى فروق معنوية.

ب- طول المجموع الجذري لنباتات البازلاء النامية على وسطى الأجار والأوراق السليلوزية بعد فترة ثمانية أيام من النمو:

لوحظ من نتائج البحث المبينة في شكل (١١) أن طول المجموع الجذري للنباتات المعاملة وغير المعاملة بحمض الجبريليك والنامية على وسط الأوراق السليلوزية قد شهدت زيادات معنوية جداً مقارنة بالنباتات النامية على وسط الأجار ($P<0.001$) بالعكس لوحظ أن معاملة النباتات النامية على وسط الأجار بحمض الجبريليك تركيزي ١، ٥ جزء في المليون أدى لنقص في طول مجموع الجذري مقارنة بالشاهد.

* الطول الكلى لنباتات البازلاء النامية على وسطى الأجار والأوراق السليلوزية بعد فترة ثمانية أيام من النمو:

لم تشر النتائج المبينة بالشكل (١٢) لوجود أى فروقات معنوية في الطول الكلى للنباتات النامية والمنقولة سوى من وسط الأجار أو وسط الأوراق السليلوزية باستثناء تلك النباتات المعاملة بتركيز ٥ جزء في المليون إذ تبين أن الطول الكلى للنباتات النامية والمنقولة من

وسط ورق السليلوز شهد زيادة عالية المعنوية مقارنة بالنباتات النامية على وسط الأجار.

*** عدد الأوراق المتكونة في نباتات البازلاء النامية على وسطى الأجار والأوراق السليلوزية بعد فترة ثمانية أيام من النمو:**

يتضح من شكل (١٣) أن عدد الأوراق المتكونة في النباتات المنقولة من وسط السليلوز أكثر من تلك المنقولة من وسط الأجار، كما تشير النتائج المبينة في شكل (١٣) أن تركيز ١ جزء في المليون من حمض الجبريليك المعامل به النباتات المنقولة من وسط الأوراق السليلوزية أدى إلى تحفيز الزيادة في عدد الأوراق المتكونة عند المقارنة بنبات الشاهد على العكس من ذلك لوحظ أن النباتات المعاملة بتركيز ٥ جزء في المليون قد حدث لها نقص في عدد الأوراق المتكونة عند مقارنتها بالشاهد. أما عن عدد الأوراق المتكونة في النباتات المنقولة من وسط الأجار لوحظ أن المعاملة بحمض الجبريليك بتركيز ١ جزء في المليون قد قلل من معدل تكوين الأوراق بينما تركيز ٥ جزء في المليون ثبط تكون الأوراق وذلك مقارنة بنبات الشاهد.

*** عدد بادئات الأوراق المتكونة فئ نباتات البازلاء النامية على وسطى الأجار والأوراق السليلوزية بعد فترة ثمانية أيام من النمو:**

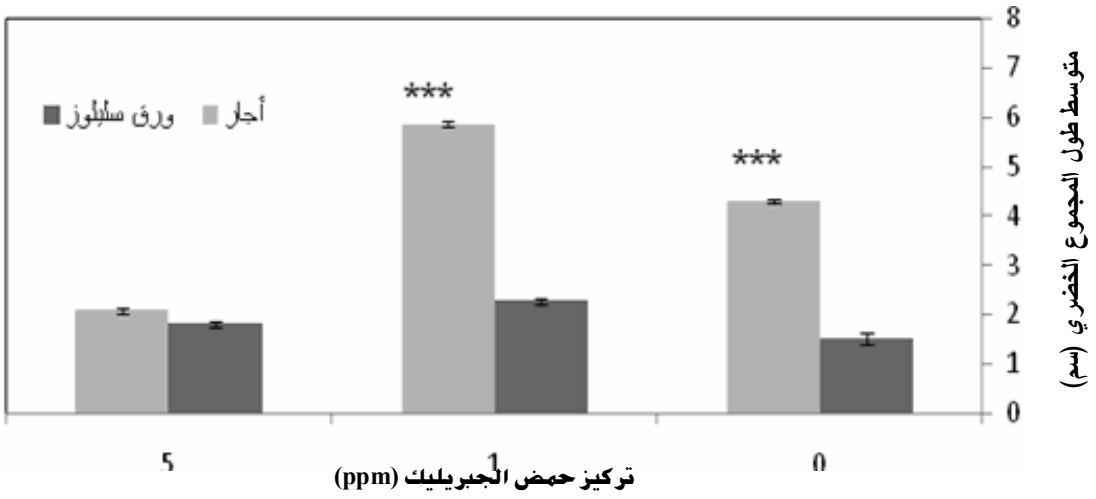
لوحظ أن نباتات البازلاء المنقولة من وسط الأجار، والتي عوملت بتركيز ١ جزء في المليون من حمض الجبريليك هى الوحيدة التى شهدت زيادة في عدد بادئات الأوراق حيث كانت الفروقات عالية المعنوية عن مقارنتها بتلك النباتات المنقولة من وسط الورق السليلوزى والمعاملة بنفس التركيز من حمض الجبريليك (شكل١٤).

*** عدد المحاليق المتكونة في نباتات البازلاء النامية على وسطى الأجار والأوراق السليلوزية بعد فترة ثمانية أيام من النمو:**

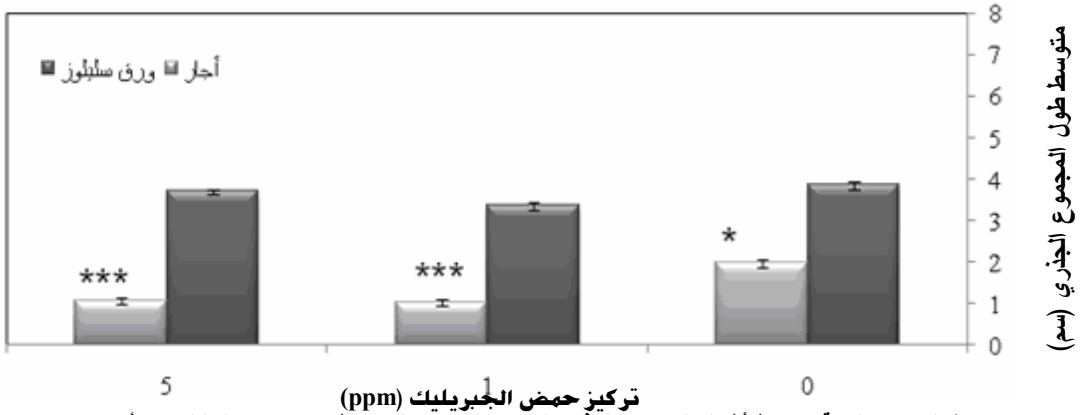
تبين نتائج الدراسة الموضحة بالشكل (١٥) أن المحاليق تكونت في نباتات البازلاء النامية (المعاملة وغير المعاملة بحمض الجبريليك)، والمنقولة من وسط ورق السليلوز فقط، كما أن معاملة النبات بهرمون حمض الجبريليك ١ جزء في المليون يشجع الزيادة في عدد المحاليق بينما التركيز ٥ جزء في المليون يقلل من عدد المحاليق المتكونة عند المقارنة بنبات الشاهد.

*** الوزن الرطب، الوزن الجاف والمحتوى المائى لنباتات البازلاء النامية على وسطى الأجار والأوراق السليلوزية بعد فترة ثمانية أيام من النمو:**

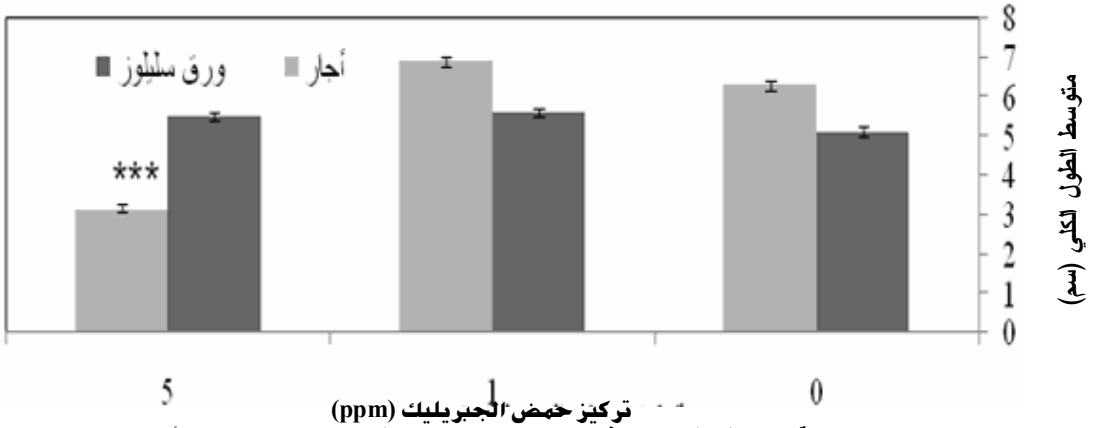
يتضح من الشكل (١٦) أن متوسط الوزن الرطب للنباتات البازلاء النامية لمدة ثمانية أيام والمنقولة من وسط السليلوز بأن الوزن الرطب شهد زيادة عالية المعنوية في نباتات الشاهد أما نباتات المعاملة بحمض الجبريليك بتركيز ١ جزء في المليون. فقد كانت الزيادة معنوية فقط بصورة عامة شهدت النباتات النامية والمنقولة من وسط الأوراق السليلوزية زيادة فى وزنها الرطب بصورة أفضل من تلك النامية على وسط الأشجار. تشير النتائج المبينة فى شكلي (١٦، ١٧) زيادة عالية المعنوية فى كل من الوزن الجاف والمحتوى المائى لنباتات الشاهد والمنقولة من ورق السليلوز، ولم تشجع المعاملة بحمض الجبريليك فى تشجيع زيادة الوزن الجاف وكذلك المحتوى المائى.



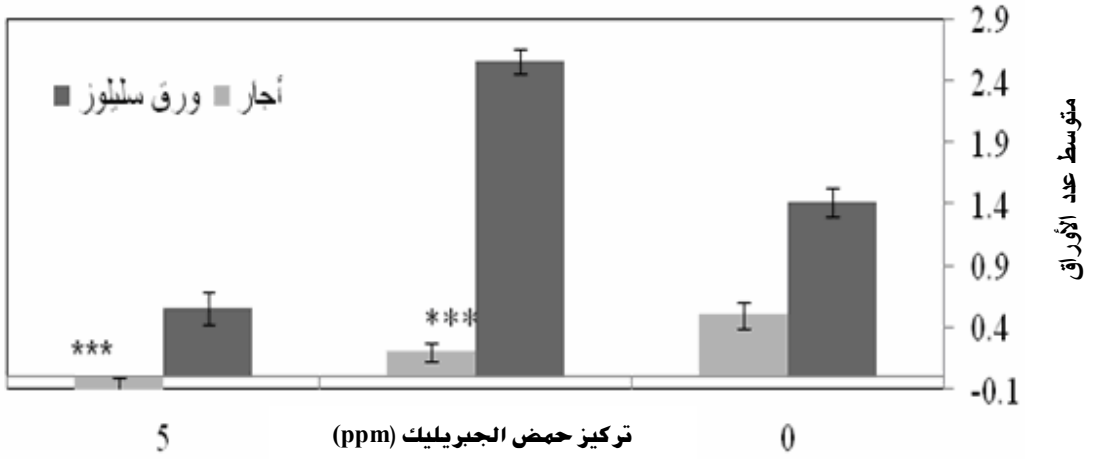
شكل ١٠: مقارنة لمتوسط أطوال المجموع الخضري لنباتات البازلاء النامية على وسطى نمو ورق السليلوز والأجار لمدة ثمانية أيام والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون الجبريليك



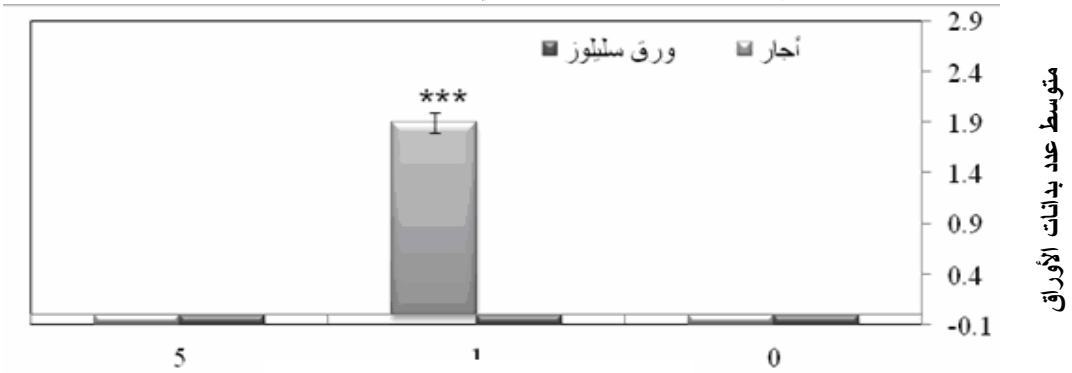
شكل ١١: مقارنة متوسط أطوال المجموع الجذري لنباتات البازلاء على وسطى نمو ورق السليلوز والأجار لمدة ثمانية أيام والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون حمض الجبريليك



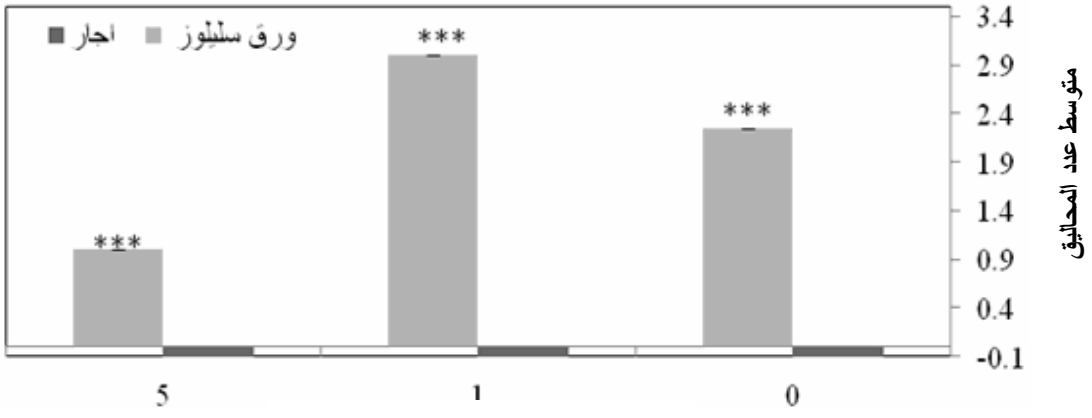
شكل ١٢: مقارنة لمتوسط الطول الكلي في نباتات البازلاء على وسطى نمو ورق السليلوز والأجار لمدة ثمانية أيام والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون حمض الجبريليك



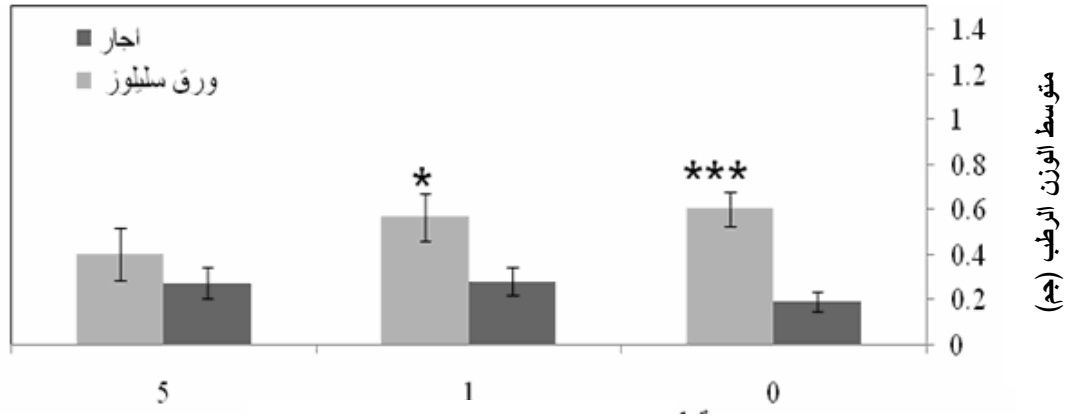
شكل ١٣: مقارنة لمتوسط عدد الأوراق للأجنة النامية لنبات البازلاء على وسطى نمو ورق السليلوز والأجار لمدة ثمانية أيام والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون حمض الجبريليك



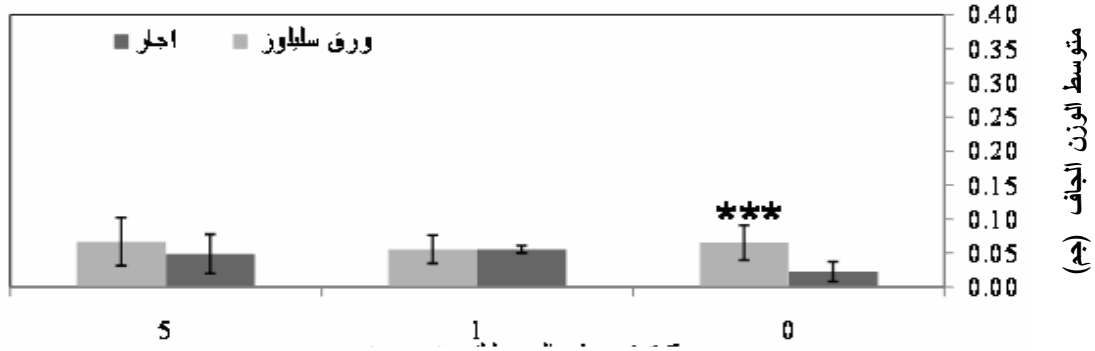
شكل ١٤: مقارنة لمتوسط عدد بدانات ورق السليلوز والأجار لمدة ثمانية أيام والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون حمض الجبريليك



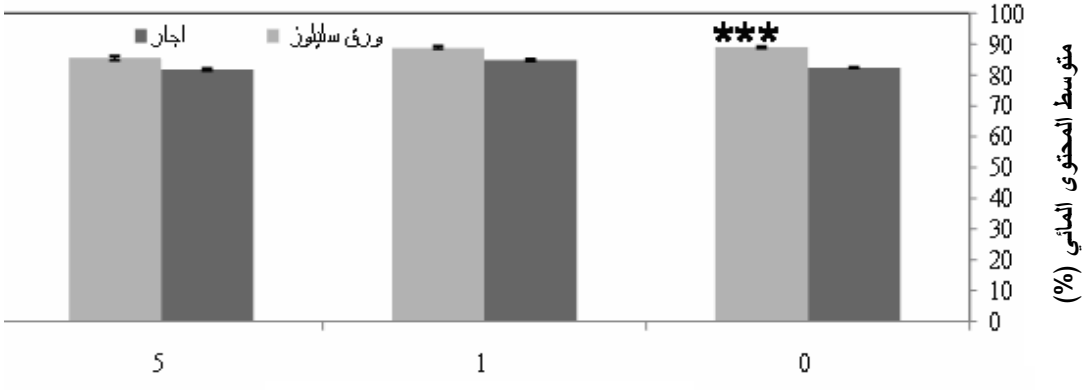
شكل ١٥: متوسط عدد المحاليق للأجنة النامية لنبات البازلاء على وسطى نمو ورق السليلوز والأجار لمدة ثمانية أيام والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون حمض الجبريليك



شكل ١٦: متوسط الوزن الرطب للاجنه النامية لنبات البازلاء على وسطى نمو ورق السليلوز والأجار لمدة ثمانية أيام والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون حمض الجبريليك



شكل ١٧: متوسط الوزن الجاف للنباتات البازلاء على وسطى نمو ورق السليلوز والأجار لمدة ثمانية أيام والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون حمض الجبريليك



شكل ١٨: متوسط المحتوى المائي للأجنة النامية لنبات البازلاء على وسطى نمو ورق السليلوز والأجار لمدة ثمانية أيام والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون حمض الجبريليك

٣- مقاييس النمو بعد خمسة عشر يوما من النمو (فترة نمو النبات ما بعد التقسية بأسبوع):

بعد إتمام مرحلة التقسية نقلت النباتات في تربة زراعية وتركت لتنمو في الظروف الطبيعية لمدة أسبوع ثم سجلت النتائج الخاصة بمقاييس النمو كالتالي:

*** طول المجموع الخضري لنباتات البازلاء النامية على وسطى الأجار والأوراق السليلوزية بعد فترة خمسة عشر يوما من النمو:**

يتضح من النتائج المبينة فى شكل (١٩) أن نباتات البازلاء غير المعاملة (الشاهد) والمعاملة بتركيزي ١، ٥ جزء في المليون من حمض الجبريليك النامية والمنقولة من وسط الأوراق السليلوزية قد شهدت زيادة عالية المعنوية ($P<0.001$) فى طول المجموع الخضرى عند مقارنتها بالنبات النامية على وسط الأجار.

*** طول المجموع الجذري والطول الكلى لنباتات البازلاء النامية على وسطى الأجار والأوراق السليلوزية بعد فترة خمسة عشر يوما من النمو:**

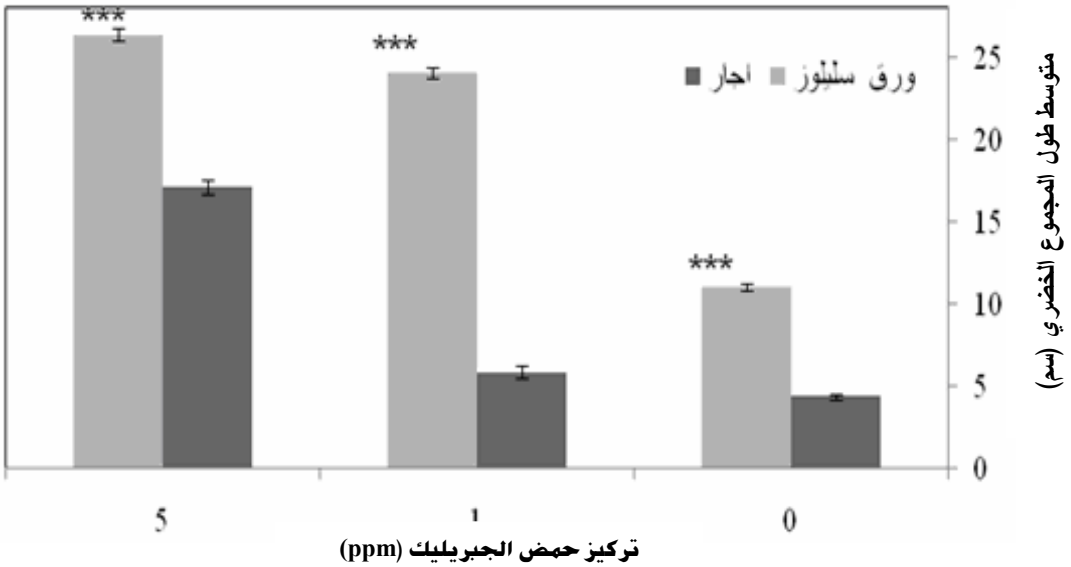
لوحظ من نتائج البحث المبينة في شكلي ٢٠، ٢١ أن طول المجموع الجذري والطول الكلى للنباتات غير المعاملة والمعاملة بحمض الجبريليك النامية والمنقولة من وسط الأوراق السليلوزية قد شهدت زيادات في طول مجموعها الجذري والطول الكلى مقارنة بالنباتات النامية على وسط الأجار بينما لم تشهد النباتات النامية والمنقولة من وسط الأجار والمعاملة بتركيزي ١، ٥ جزء في المليون من حمض الجبريليك، أى فروقات المعنوية عند مقارنتها بالشاهد.

*** عدد الأوراق المتكونة في نباتات البازلاء النامية والمنقولة من وسطى الأجار والأوراق السليلوزية بعد فترة خمسة عشر يوماً من النمو:**

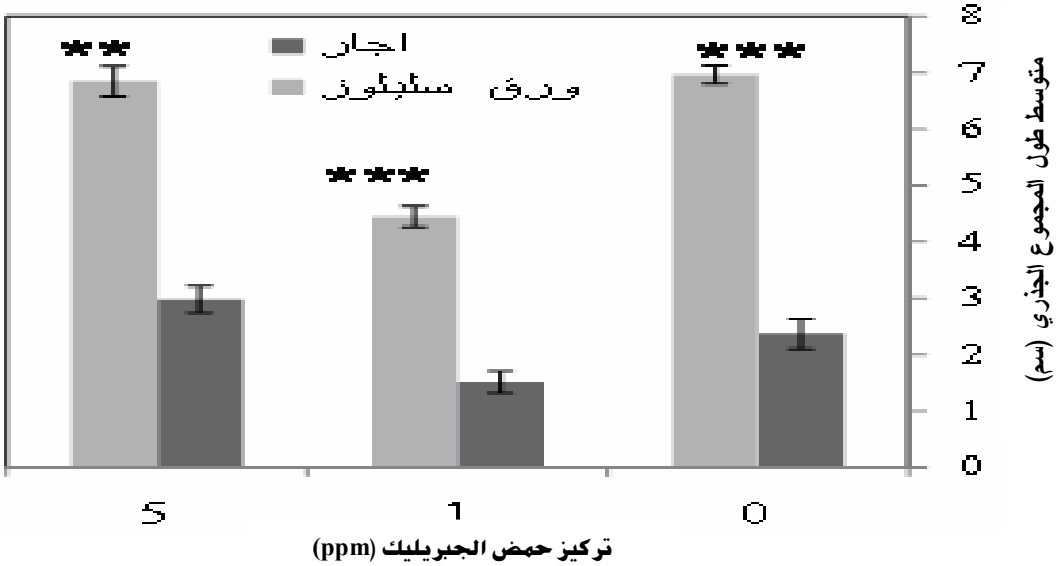
يتضح من شكل (٢٢) لا وجود لفروقات معنوية في عدد الأوراق المتكونة في النباتات النامية، والمنقولة من وسط السليلوز، وتلك المنقولة من وسط الأجار (الشاهد وعند تركيز ٥ جزء في المليون) باستثناء النباتات النامية والمنقولة من وسط السليلوز والمعاملة بتركيز ١ جزء في المليون من حمض جبريليك قد شهدت زيادة معنوية جداً مقارنة بالنباتات المنقولة من وسط الأجار والمعاملة بنفس التركيز لحمض الجبريليك.

*** عدد المحاليق المتكونة في نباتات البازلاء النامية على وسطى الأجار والأوراق السليلوزية بعد فترة خمسة عشر يوما من النمو:**

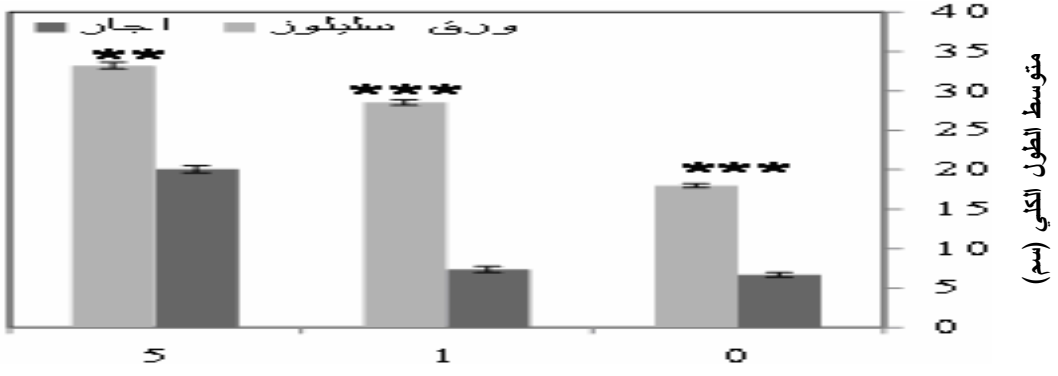
تبين نتائج الدراسة الموضحة بالشكل (٢٣) أن المحاليق ازداد عددها في نباتات البازلاء المنقولة من وسط ورق السليلوز والمعاملة بحمض الجبريليك عند تركيزي ١، ٥ جزء في المليون مقارنة بنباتات البازلاء المنقولة من وسط الأجار والمعاملة بنفس التركيز من حمض الجبريليك.



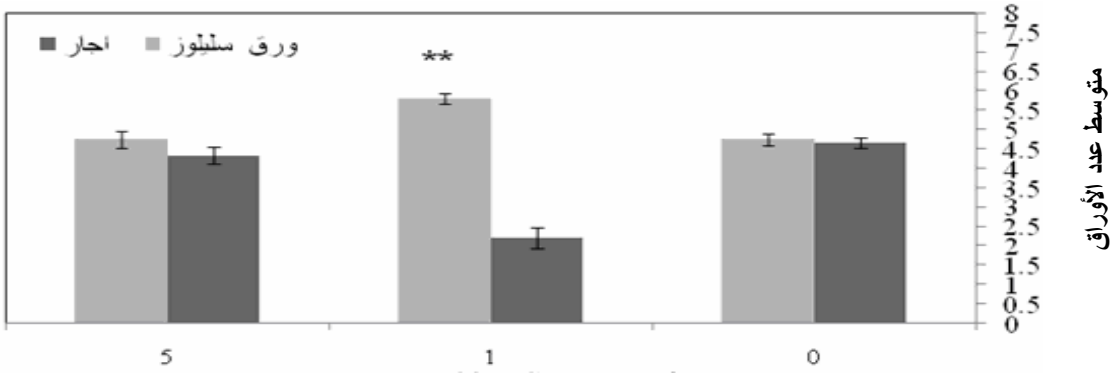
شكل ١٩: مقارنة لمتوسط أطوال المجموع الخضري للنباتات البازلاء على وسطى نمو ورق السليلوز والأجار لمدة خمسة عشر يوماً والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون حمض الجبريليك



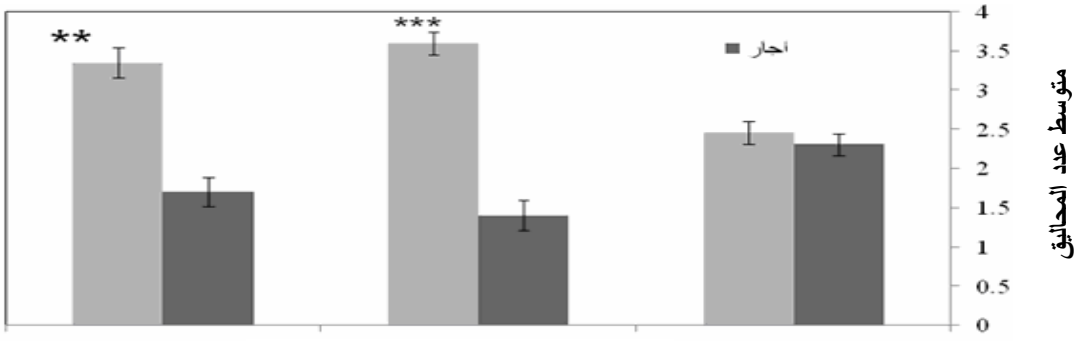
شكل ٢٠: مقارنة متوسط أطوال المجموع الجذري لأجنة النامية لنبات البازلاء النامية على وسطى نمو ورق السليلوز والأجار لمدة خمسة عشر يوماً والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون حمض الجبريليك



شكل ٢١: مقارنة لمتوسط أطوال الكلي للنباتات البازلاء على وسطى نمو ورق السليلوز والأجار لمدة خمسة عشرة يوماً والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون حمض الجبريليك



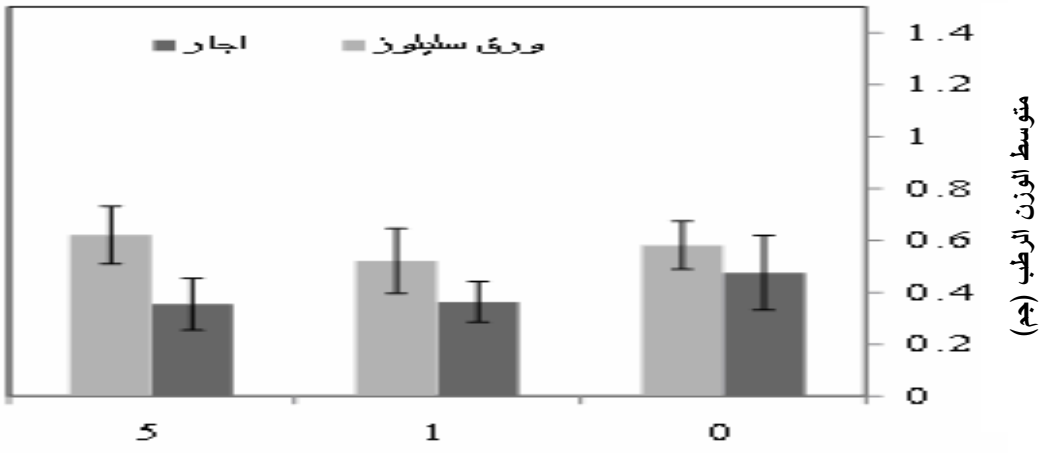
شكل ٢٢: مقارنة لمتوسط عدد الأوراق للأجنة النامية لنبات البازلاء على وسطى نمو ورق السليلوز والأجار لمدة خمسة عشر يوماً والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون حمض الجبريليك



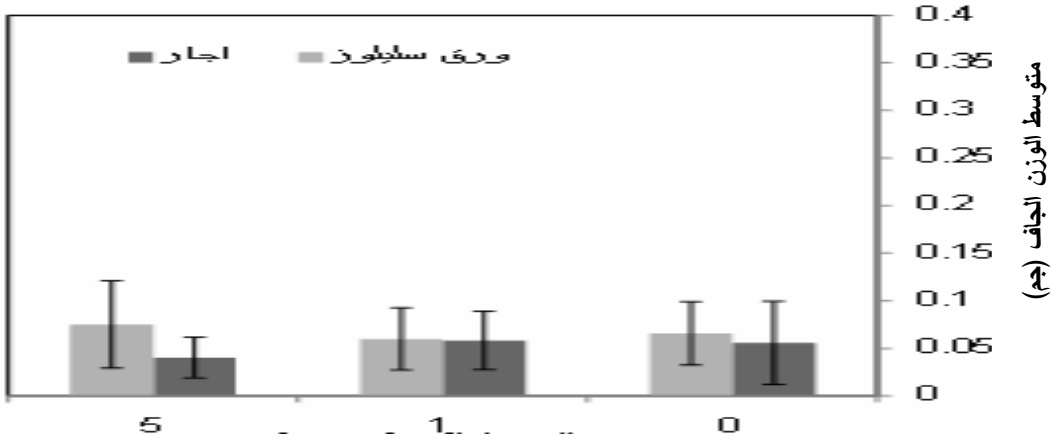
شكل ٢٣: متوسط عدد المحاليق لنباتات البازلاء النامية على وسطى نمو ورق السليلوز والأجار لمدة خمسة عشر يوماً والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون حمض الجبريليك

*** الـوزن الرطـب، الـوزن الجـاف والمحتـوى المـائى لنباتات البازلاء النامية على وسطى الأجار والأوراق السليلوزية بعد فترة خمسة عشر يوماً من النمو:**

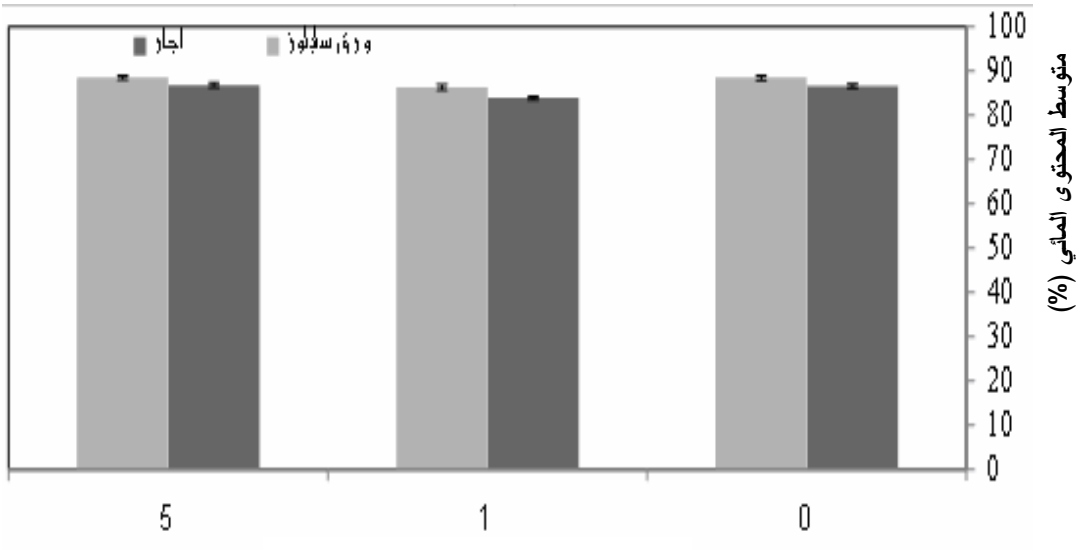
يتضح من الأشـكال (٢٤-٢٦) لمتوسـط الـوزن الرطب, الوزن الجاف والمحتوى المائي لنباتات البـازلاء النامية والمنقولة من وسطى الـسليلوز والأجـار بعمـر خمسة عشر يوماً (المعاملة وغير المعاملة) لم تظهر أى فروق معنوية.



شكل ٢٤: متوسط الوزن الرطب لـ... لسليلوز والأجار
لمدة خمسة عشر يوماً والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون حمض الجبريليك



شكل ٢٥: متوسط الوزن الجاف للأجنة النامية لنبات البازلاء على وسطى نمو ورق السليلوز والأجار
لمدة خمسة عشر يوماً والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون حمض الجبريليك



شكل ٢٦: متوسط المحتوى المائي لنبات البازلاء على وسطى نمو ورق السليلوز والأجار لمدة خمسة عشر يوماً والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون حمض الجبريليك

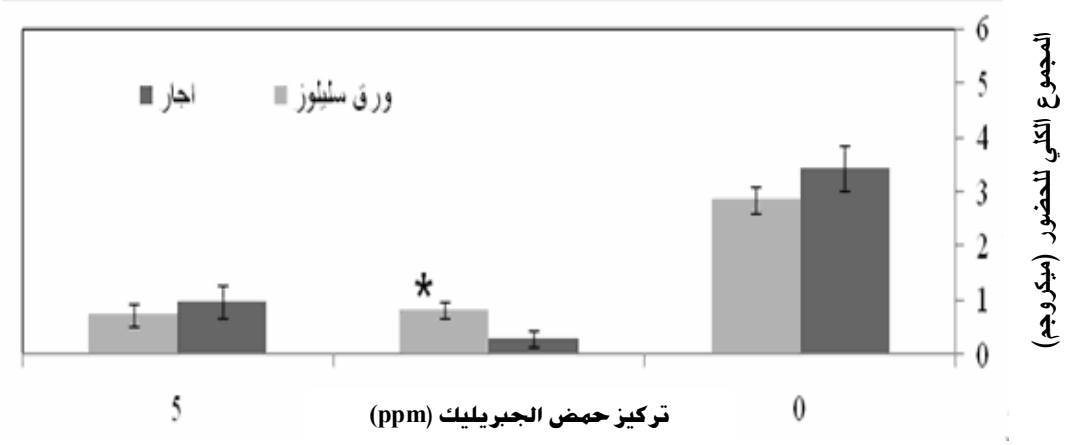
٣- تقدير كمية الكلوروفيل خلال مراحل نمو أجنة نباتات البازلاء :

أ- خلال فترة ثمانية أيام من نمو الأجنة (فترة تقسية النباتات):

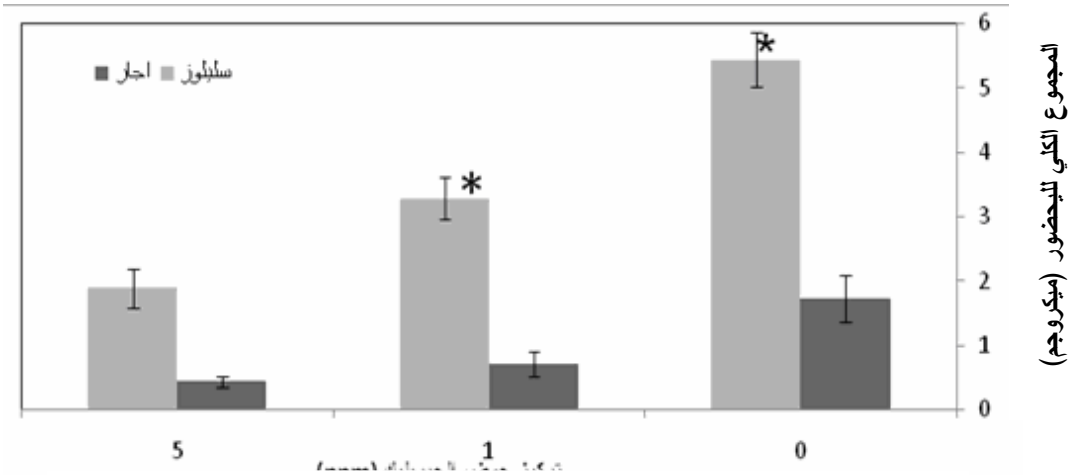
يلاحظ من الشكل (٢٧) أن كمية الكلوروفيل سجلت أكبر قيمة لها فى نباتات الشاهد سوى تلك النامية على وسط الأجار أو الورق السليلوزى، ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائى أي فروقات معنوية. بشكل عام يظهر أن كمية اليخضور تقل عند معاملة النباتات بحمض الجبريليك خلال مرحلة التقسية.

ب- خلال فترة خمسة عشر يوما من نمو الأجنة (فترة النمو الحقلى):

تبين النتائج فى شكل (٢٨) أن كمية اليخضور سجلت أعلى قيمة لها في نباتات الشاهد المنقولة من وسط الورق السليلوزى وظهر فرق معنوي في كمية اليخضور مقارنة بنباتات الشاهد النامية والمنقولة من وسط الأجار. كما تكشف النتائج أيضاً على أن معاملة النباتات بحمض الجبريليك تركيز ١ جزء في المليون بالرغم من خفضه لكمية اليخضور إلا أنه تسبب في ظهور فرق معنوي لكمية الكلوروفيل بين النباتات المنقولة من ورق السليلوز وتلك المنقولة من وسط الأجار.



شكل ٢٧: متوسط المجموع الكلي لكمية اليحضور في المجموع الخضري لأجنة نبات البازلاء على وسطى نمو ورق السليلوز والأجار لمدة ثمانية أيام (بعد التقصية) والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون حمض الجبريليك



شكل ٢٨: متوسط المجموع الكلي لكمية اليحضور في المجموع الخضري لأجنة النامية لنبات البازلاء على وسطى نمو ورق السليلوز والأجار لمدة خمسة عشر يوماً والمعاملة بتراكيز ٠، ١، ٥ جزء في المليون لهرمون حمض الجبريليك

المناقشـــة:

يتضح من نتائج الدراسة بأن استخدام الوسط المؤلف من ورق السليلوز لم يكن عائقا لنمو أجنة نبات البـــازلاء فمن خلال النتائج التى تم عرضها فى باب النتائج اتضح أن: نسبة إنبات الأجنة فى ورق السليلوز وصلت ١٠٠٪، وهذا مؤشر جيد للبدء باستخدامها فى الدراسة من خـــلال مراقبة مقاييس النمو خلال ثلاث فترات:

١- مرحلة التحضين التى استغرقت ٤ أيـــام مـــن نمـــو الجنين.

٢- فترة التقسية التى اســـتغرقت أيـــضاً ٤ أيـــام نمـــو للبادرات.

٣- فترة النمو فى الحقل واستغرقت مدة أسبوع.

تبين ما يلى :

١- طول المجموع الخضرى :

أ- وسط السليلوز: زيادة طبيعية لطول المجموع الخضري فى فترة الحضانة، التقسية، وفترة النمو بالحقل، وقد لوحظ نقصاً عالى المعنوية فى طول المجموع الخضري فى مرحلة التقسية عند استخدام الهرمون.

ب- وسط الأجار: حفزت الزيادة فى الطول للمجموع الخضرى، وبصورة خاصة باستخدام ١ جزء في المليون من حمض الجبريليك خلال فترة التقسية للنبات.

ملاحظة: لا ينصح بمعاملة النباتات النامية على أوراق السليلوز خلال فترة التقسية بحمض الجبريليك لأنه يعيق استطالة المجموع الخضرى. أما فى وسط الأجار فيفضل معاملة النباتات بحمض الجبريليك ١ جزء في المليون خلال مرحلة التقسية لما لها من تاثير على تحفيز الزيادة فى طول المجموع الخضرى، وهذا يتفق مع ما اوضحة أبوزيد (١٩٩٠) .

٢- طول المجموع الجذرى:

أ- وسط السليلوز: زيادة طبيعية لطول المجموع الجذرى فى فترة الحضانة والتقسية وفترة النمو بالحقل. لوحظ كذلك أن حمض الجبريليك بتركيزي ١، ٥ جزء في المليون حسن من طول المجموع الجذرى للنباتات النامية خلال مرحلة التحضين, التقسية وكذلك مرحلة النمو بالحقل.

ب- وسط الأجار: أعاق وسط الأجار استطالة الجذر فظهر النقص العالى المعنوية لطول الجذر خلال مراحل نمو وتطور الجنين، والتى تشمل فترة الحضانة, التقسية وفترة النمو بالحقل.

ملاحظة: يلاحظ أن استخدام حمض الجبريليك بتركيزي ١، ٥ جزء في المليون، أثر سلباً على نمو الجذر، ولم ينجح الهرمون فى تحفيز الزيادة فى طول المجموع الجذرى على وسط الأجار.

٣- الطول الكلى:

أ- وسط السليلوز: زيادة طبيعية فى الطول الكلى فى فترة الحضانة وفترة النمو بالحقل لنباتات المعاملة وغير المعاملة.

ب- وسط الأجار: لم يشهد تحسن فى الطول الكلى لأجنة البازلاء النامية فى وسط الأجار خلال فترة الحضانة، ولم ينجح استخدام حمض الجبريليك فى تحفيز الطول الكلى للأجنة النامية خلال مرحلتى الحضانة ومرحلة النمو بالحقل.

ملاحظة: يلاحظ أن استخدام حمض الجبريليك ٥ جزء في المليون لنباتات المنقولة من وسط السليلوز أثر إيجابيا على الطول الكلى للنباتات خلال مرحلة التقسية، كما لوحظ أن معاملة نباتات البازلاء بتركيز ١ جزء في المليون من حمض الجبريليك خلال مرحلة التقسية لم يحفز استطالة الطول الكلى للنباتات.

٤- عدد الأوراق:

أ- وسط السليلوز: تكون أوراق على النبات بداية من فترة الحضانة شجعت الزيادة فى عدد الأوراق باستخدام تركيزي ١، ٥ جزء في المليون من حمض الجبريليك فى فترة الحضانة والتقسية فى حين أن المعاملة بحمض الجبريليك بتركيز ٥ جزء في المليون أثر سلباً على عدد الأوراق خلال فترة النمو الحقلى.

ب- وسط الأجار: لوحظ أن الأجار يعيق تكون الأوراق، وحتى مع استخدام حمض الجبريليك بتركيز١ جزء في المليون، فإن الأوراق المتكونة خلال مرحلة النمو الحقلى كانت أقل بكثير من تلك المتكونة على النباتات النامية فى وسط السليلوز.

ملاحظة: لوحظ التأثير السلبى لحمض الجبريليك تركيز ٥ جزء في المليون على عدد الأوراق للنباتات المنقولة من وسط الأوراق السليلوزية خلال فترة النمو الحقلى. أما النباتات المنقولة من وسط الأجار، فيبدو التأثير المثبط لهذا التركيز من بداية النمو للأجنة أى من فترة الحضانة ويستمر التثبيط إلى فترة التقسية والنمو بالحقل.

٥- عدد بادئات الأوراق:

أ- وسط السليلوز: يتبين من النتائج أن أوراق السليلوز، لم يلاحظ بها تكون بادئات أوراق خلال مرحلة الحضانة والتقسية ومرحلة النمو الحقلى فى حالة نباتات غير المعاملة أو المعاملة بتركيزي ١، ٥ جزء في المليون.

ب- وسط الأجار: لم يلاحظ تكون بادئات أوراق فى النباتات النامية خلال فترة الحضانة والنمو الحقلى, لكن أظهرت النتائج أن النباتات المعاملة بتركيز ١ جزء في المليون خلال مرحلة التقسية قد شهدت تكون بادئات أوراق.

ملاحظة: لم يظهر من خلال النتائج أى تأثير لحمض الجبريليك بتركيز ٥ جزء في المليون على تشجيع تكوين بادئات أوراق على النباتات النامية والمنقولة من وسطى النمو الأجار والأوراق السليلوزية.

٦- عدد المحاليق:

أ- وسط السليلوز: لم تشهد أجنة النباتات أى تكون للمحاليق خلال مرحلة الحضانة، ويبدأ تكون المحاليق من مرحلة التقسية حيث لوحظ أن النباتات النامية (المعاملة بحمض الجبريليك وغير المعاملة) تتكون بها محاليق. أما فى مرحلة النمو الحقلى لوحظ أن تكون المحاليق لا يتم إلا بتشجيع حمض الجبريليك.

ب- وسط الأجار: لم تظهر نتائج الدراسة أى دليل لتكون المحاليق خلال مرحلة الحضانة ومرحلة التقسية فى حين أن تكون المحاليق شوهد لأول مرة فى النباتات المعاملة بحمض الجبريليك خلال مرحلة النمو الحقلى. يجدر الإشارة أن المحاليق المتكونة على النباتات المعاملة والمنقولة من وسط الأجار أقل بكثير من تلك المتكونة على النباتات النامية والمنقولة من وسط الورق السليلوزى.

٧- الوزن الرطب:

تبين النتائج أن الوزن الرطب لأجنة نبات البازلاء النامية خلال فترة الحضانة قد شهد زيادة عالية المعنوية ومعنوية فقط فى حالة النباتات المعاملة بتركيزي ١، ٥ جزء في المليون لحمض الجبريليك على التوالي. أما خلال فترة التقسية فالزيادة فى الوزن الرطب شوهدت فى نباتات الشاهد، وكان لحمض الجبريليك تأثير بسيط على الوزن الرطب خلال هذه المرحلة. يبدو أن النباتات النامية فى الحقل لم تشهد أى زيادة أى فروق معنوية بين النباتات المنقولة من وسط الأجار أو تلك المنقولة من وسط الورق السليلوزى.

٨- الوزن الجاف:

بصفة عامة لم يشاهد أى فروق معنوية فى الوزن الجاف بين النباتات غير المعاملة والمعاملة والنامية على وسطى الأجار وورق السيليوز خلال مراحل نمو الجنين (فترة الحضانة). الفرق الوحيد والبارز فى الوزن الجاف كان خلال فترة التقسية حيث لوحظ زيادة معنوية لنباتات الشاهد النامية على ورق السليلوز.

٩- المحتوى المائى:

بصفة عامة لم يشهد المحتوى المائى للأجنة النامية أى تحسن خلال فترات النمو باستثناء الأجنة النامية خلال فترة الحضانة على ورق السليلوز والمعاملة بتركيز ١ جزء في المليون، وكذلك شوهد الزيادة فى المحتوى المائى فى فترة التقسية فى نباتات الشاهد المنقولة من ورق السليلوز.

١٠- تقدير كمية اليخضور:

تشير كمية اليخضور للنبات على كفاءة النبات للقيام بعملية البناء الضوئى، ولذلك استخدمت كمؤشر على حالة الأجنة النامية خلال مرحلة التقسية شهدت الأجنة النامية المعاملة بحمض الجبريليك ١ جزء في المليون، والمنقولة من وسط ورق السليلوز زيادة معنوية فى كمية اليخضور، أما خلال مرحلة النمو الحقلى فإن كل من نباتات الشاهد والنباتات المعاملة بحمض الجبريليك ١ جزء في المليون والمنقولة من وسط ورق السليلوز لوحظ بهما الزيادة فى المحتوى اليخضورى.

ملاحظة: تركيز ٥ جزء في المليون لحمض الجبريليك لم يبدى أى اشارة لتحفيز الزيادة فى المحتوى اليخضورى، وبالتالى سيكون من غير المجدي الاستمرار فى استخدامه.

يستخلص من المناقشة أن استخدام الأوراق السليلوزية كوسط للنمو يعتبر أفضل من وسط الأجار فنلاحظ أن لوسط الأوراق السليلوزية مميزات حيث لوحظ أن الأجنة النامية عليه شهدت تطور سريع فى معدل النمو فقد لوحظت الزيادة في طول المجموع الخضرى والجدرى والطول الكلى للنباتات بداية من فترة الحضانة، كما لوحظ التكون السريع للأوراق والمحاليق. يشهد الوزن الرطب والجاف والمحتوى المائى فى النباتات النامية والمنقولة من وسط السليلوز زيادات عالية المعنوية. بالرغم من أن وسط الأجار يزداد فيه طول المجموع الخضرى خلال مرحلة التقسية إلا أن المجموع الجذري شهد تثبيط فى الطول (تتفق هذه النتيجة مع ما أوضحه الواصل, ٢٠٠٢) بالإضافة لعدم تكون أوراق ومحاليق حتى خلال مرحلة النمو الحقلى، والتى تستغرق خمسة عشر يوماً لنمو النبات.

يستفاد من معاملة الأجنة النامية بحمض الجبريليك تركيز ١ جزء في المليون مع استخدام ورق السليوز كوسط للنمو فتبين أن استخدام حمض الجبريليك مع وسط السليلوز يشجع عمليتى النمو والتطور لأجنة البازلاء حيث اتضح أن حمض الجبريليك يشجع الزيادة فى طول المجموع الخضرى والجذرى والطول الكلى للأجنة النامية. كما أنه يحفز تكون الأوراق بداية من فترة الحضانة للنبات فضلاً عن ذلك وجد أن لحمض الجبريليك تأثير على تحفيز تكون المحاليق وزيادة كمية الكلورفيل. ولم يثبت أن لحمض الجبريليك تأثير سلبى على الوزن الرطب, الجاف والمحتوى المائى للنبات.

يعتبر إضافة حمض الجبريليك بتركيز ١ جزء في المليون مع وسط الأجار غير ذات قيمة حيث ثبت أن استخدامه يؤثر سلباً على مقاييس النمو للنبات, كما أن النباتات النامية والمنقولة من وسط الأجار يقل فيها محتوى الكلوروفيل، وتبقى ميزة استخدام حمض تركيز ١ جزء في المليون فى قدرته على تحفيز الزيادة فى طول المجموع الخضرى وزيادة عدد الأوراق.

استخدام حمض الجبريليك بتركيز ٥ جزء في المليون مع وسط السليلوز ثبت أنه له تأثير مثبط على نمو الجذر (خلال فترة الحضانة)، أما ميزة إضافة حمض الجبريليك بتركيز ٥ جزء في المليون تحفيز استطالة وبالاخص المجموع الخضرى للنبات وتكون المحاليق وزيادة عدد الأوراق فى النبات (يشجع النمو الخضرى).

استخدام حمض الجبريليك تركيز ٥ جزء في المليون والمضاف لوسط الأجار ذو تأثير مثبط حيث ينعكس التأثير السلبى على تكون المحاليق والأوراق، كذلك النقص الواضح فى طول المجموع الجذري والخضري والطول الكلى للنبات.

المراجع:

١- أبوزيد, نصر, الشحات (١٩٩٠): الهرمونات النباتية وتطبيقاتها الزراعية, المركز القومي للبحوث.

٢- الرفاعي, توفيق, عبد الرحيم (٢٠٠٢): تقنيات القرن ٢١ لتحسين النبات باستخدام زراعة الأنسجة. دار الفكر العربي.

٣- خليفة, محمد, ميلود, (١٩٨٦): النمو والتمايز في النبات (مترجم) - دار الكتب الوطنية- بنغازي - ليبيا.

٤- مالك, شاندر (١٩٩٨): فيزيولوجيا النبات , معهد الإنماء العرب.

٥- عبد الرحيم الرفاعي وسمير الشوبكي (٢٠٠٢): تقنيات ٢١ لتحسين النباتات باستخدام زراعة الانسجة. دار الفكر العربى. ص٦٠١.

٦- عمر, بن محمد, وآخرون (٢٠٠٠): فسيولوجيا نبات العام. جامعة الملك سعود.

٧- الواصل, عبد الرحمن الصالح وعيد محمد قريش (٢٠٠٢): زراعة النباتات الراقية في أنابيب (مترجم)- جامعة الملك سعود-النشر العلمى والمطابع. ٤٩٦ ص.

8-Vyas, S.P. & Dixit, V. K. (2007): Pharma Ceutical Bio Technology. CBS Publishers & Distributors.

9-Gadi, A. El & Jafri, H. (1980): Flora of Libya – Al Faateh University, Faculty of Botany, Tripoli.

10-Mineo, L. (1990): Plant Tissue Cure Techniques. Biology Laboratory Education (ABLE). 151-174.

TESTING OF CELLULOSE PAPERS (CEMENT PAPERS) AS GROWTH MEDIA INSTEAD OF AGER TO GERMINATE AND GROWTH OF PEA EMBRYOS IN VITRO

H.S. ELGUBBI, M. A. ADAM*, A. BAKUER AND A. BRGOG**
Department of Botany, Faculty of Science, Misurata University, Misurata, Libya

ABSTRACT:

Cells and embryos culture are new, important and useful methods in plant science scope. This method moved out from research to application scientific circuit. The technique of tissue culture uses the rapid propagation to produce large number of plants this cannot be actualize by classical propagation method which needs to specific time in the year and effort. Large number of scientific researchers have done that leaded know how can parts of plant differentiate and develop to organisms in artificial media. In order to, grow part of the plant. It should be capable of mitosis division where testing of used part of the plant and the growth stage of this part are important. In any case, should sterilize the used plant part before agriculture start then provide it with growth media. This requires that all equipment used in creating a cell and embryos culture must be sterilized to ensure contamination does not occur. In plant tissue culture researchers faces many problems as kind of nutrition media, high quality of sterilization that the. In addition to stimulation of embryos growth and activation of embryos to grow. This study was conducted in order to study possibility for alteration ager media to cellulose media (cement papers) for germination and growth of peas plant embryos. The mature embryos separated, sterilized then germinated in ager and cellulose media, in order to compare their growth in both media. Embryos left to grow in dark incubator at 26◦C for four days. Growth parameters recorded then all seedlings exposed to hardness stage by transferring them to the small pots. Seedlings left to grow four days under controlled conditions. Results of this study revealed that cellulose papers media is the best for embryos growth especially during the first four days (Incubation stage) where highly significant increases in total plant length; leaves formation had noted. In contrast, embryos that germinated in ager media did not showed any response in their length and weight .Treatment of embryos that grown on cellulose papers media by Gebberelic acid concentration of 1ppm significantly increased their lengths; fresh weight and water content, while, treatment of embryos, that grown on ager media, with the same concentration of Gibberellic acid was useless during the first four days (Incubation stage). After transfer the seedling to hardness stage, it had noted that seedlings grown in cellulose papers media improved their growth when they compared with seedlings that grown on ager media, also, the seedling slants to show an increase especially in the length of root. Treatment of seedlings by Gibberellic acid during the stage of hardness was not usefulness because it did not note any significant increases between controlled plants and the treated plants. The result of this study revealed to that cellulose papers can be used instead of ager media because embryos of peas plants improved their growth parameters.