

تأثير منظمات النمو النباتية في تحفيز إنتاج مضادات الأكسدة النباتية من كالس نبات الحنطة السوداء

عادل يوسف نصرالله* حسام سعد الدين محمد خيرالله* شامل إسماعيل نعمة**

* كلية الزراعة-جامعة بغداد

** مركز دراسات الصحراء-جامعة الأنبار

shamil7899@yahoo.com

المستخلص

نُفذت التجربة في مختبر وحدة أبحاث النخيل والتمور في كلية الزراعة-جامعة بغداد خلال العامين 2012 و 2013، بهدف دراسة تأثير منظمات النمو النباتية في تحفيز إنتاج مضادات الأكسدة النباتية من كالس نبات الحنطة السوداء *Fagopyrum esculentum* M. بينت النتائج أن أفضل تركيز من NaOCl لتعقيم بذور الحنطة السوداء هو 4.5% ولمدة 20 دقيقة بلغ 90% وأفضل توليفة من 2,4-D و Kin. لإستحث الكالس من السويقة تحت الفلجية لبادرات نبات الحنطة السوداء هو وسط MS مجهز بالتركيزين 3.0 و 1.0 ملغم.لتر⁻¹ لمنظمي النمو آنفي الذكر بالتتابع، إذ بلغ الوزن الطري والجاف للكالس (433.2 و 34.61 ملغم) لكلا الوزنين وبالتتابع، وحقق منظم النمو حامض الساليسيليك عند التركيز 1.0 ملغم.لتر⁻¹ أعلى وزن طري وجاف للكالس المستحث من السويقة تحت الفلجية بلغ 349.4 و 27.7 ملغم لكلا الوزنين وبالتتابع. أظهرت نتائج تحليل الكالس تفوق منظم النمو البراسينولايد بالتركيز 0.050 ملغم.لتر⁻¹ بتحقيقه لأعلى إنتاج لمركبات Caffeic acid و Vanillic acid في حين كانت معاملة البراسينولايد بالتركيز 0.10 ملغم.لتر⁻¹ هي من أظهرت أعلى القيم في إنتاج مركبات Chlorogenic acid و Orientin و Vitexin و Rutin، أما منظم النمو حامض الساليسيليك فقد أظهرت المعاملة بالتركيز 2.0 ملغم.لتر⁻¹ أعلى قيم إنتاج مركبات Gentisic acid و Isovitexin و Quercetin و Coumaric acid.

الكلمات المفتاحية: الحنطة السوداء، زراعة الأنسجة النباتية، مضادات الأكسدة النباتية، منظمات النمو النباتية.
* البحث مستل من أطروحة دكتوراه للباحث الثالث.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences – 46(6): 922-933, 2015 NASRALLA & et.al

THE EFFECT OF PLANT GROWTH REGULATORS ON PLANT ANTI-OXIDANT PRODUCTION FROM CALLUS OF BUCKWHEAT

ADEL Y.NASRALLA* HUSSAM S. M. KHIERALLAH* SHAMIL I. NEAMAH**

* College of Agriculture- University of Baghdad

** Center of Desert Studies- University of Anbar

ABSTRACT

This experiment was conducted during 2012 and 2013 at the tissue culture Laboratory, Date Palm Research Unite, College of Agriculture, University of Baghdad. The objectives of this study effect of plant growth regulators in the production of anti-oxidants in callus of buckwheat *Fagopyrum esculentum* M. It was found that the best concentration of NaOCl was 4.5% for seeds sterilization for 20 minutes (90%). The best plant growth regulator combination for callus induction from hypocotyl of Buckwheat seedling was 2,4-D and Kinetin at 3.0 and 1.0 mg.L⁻¹ respectively, was 433.2 and 34.61 mg. respectively. The highest values of fresh and dry weights of callus was achieved at 1.0 mg.L⁻¹ of salicylic acid was 349.4 and 27.7 mg respectively. Results indicated the concentration of Brassinolide 0.050 mg.L⁻¹ increased Caffeic acid and Vanillic acid. While 0.10 mg.L⁻¹ of Brassinolide increased Chlorogenic acid, Orientin, Vitexin and Rutin. Also 2.0 mg.L⁻¹ of salicylic acid increased Gentisic acid, Isovitexin, Quercetin and Coumaric acid.

Key words: Buckwheat, plant tissue culture, plant anti-oxidants, plant growth regulators
Part of Ph.D thesis of third author.

المقدمة

تعد الحنطة السوداء *Fagopyrum esculentum* M. إحدى أهم النباتات الطبية، فهي غير معروفة في العراق وحديثة العهد في عالمنا العربي، وتزرع بشكل واسع في انحاء العالم كافة ولكن بشكل اساسي في النصف الشمالي من الكرة الأرضية، ولأهميتها البالغة بدأت السياسات الزراعية لكثير من الدول إدخالها، من خلال زراعتها والإستفادة منها في مجالي التغذية والصناعة الدوائية على حدٍ سواء، ومن تلك الدول سويسرا وبريطانيا وإيطاليا وفرنسا. للحنطة السوداء قيمة غذائية عالية من خلال نسبة البروتين الحاوية عليها ونوعيته إذ تتراوح نسبته من 11-15%، أما عن نوعيته فتمتاز بإحتوائها على الأحماض الأمينية الثمانية الأساسية التي يحتاجها الجسم البشري لاسيما الأحماض الأمينية الثلاثة Lysine و Arginine و Aspartic acid وهذا مايميز بروتين الحنطة السوداء من ماسواه من بروتينات الحبوب. كما تتميز بذور الحنطة السوداء بمحتواها من الحوامض الدهنية غير المشبعة مثل Oleinic acid و Linolenic acid، فضلاً عن محتواها العالي من الفيتامينات مثل: B₁ و B₂ و B₆ و P (7). فضلاً عن احتوائها على كثير من المركبات الطبيعية التي تمتاز بفعاليتها العلاجية المهمة منها: flavones و flavonoids و phytosterols و Inositol و myo-inositol. والتي يعزى لها الأثر الكبير في علاج كثير من الأمراض المزمنة (25). أكتسبت زراعة الأنسجة النباتية وعلوم التقانات الإحيائية المرتبطة بها أبعاداً كبيرة، وظفت في كثير من المجالات الحيوية ومنها إنتاج المركبات الثانوية، وذلك بالنظر لعدم قدرة الزراعة التقليدية في مواجهة الطلب المتزايد على تلك المركبات، فضلاً عن الصعوبات التي تواجهها عملية إنتاج الكثير من المواد الطبيعية بالطرق التقليدية، نتيجة لإختلاف العوامل البيئية أو لوجود محددات أخرى تتعلق بالنبات نفسه، كما أن قسماً من هذه المركبات لايمكن تحضيره مختبرياً، لذا لابد من إستخلاصه من مصادره النباتية. وهنا تبرز أهمية زراعة الانسجة النباتية لإدامة إنتاج تلك المركبات مع إمكانية إجراء كثير من التحولات البيولوجية في مسارات تصنيع تلك المركبات بإتجاه زيادتها (20). تساعد تلك التقانة في الإنتاج السريع لهذه المركبات على مدار السنة دون التقيد بموسم الزراعة، فضلاً

عن تقليل المساحات اللازمة للزراعة، علاوة على النقاوة العالية للمواد المتكونة إذا ما قورنت بتلك المستخلصة من النبات الأم (16). لذا تهدف هذه الدراسة إلى إمكانية إنتاج الكالس من نباتات الحنطة السوداء فضلاً عن تحديد إمكانية إنتاج مضادات الاكسدة النباتية ذات الفعالية الطبية من كالس نبات الحنطة السوداء بإستخدام تقانة زراعة الأنسجة النباتية وإختبار تأثير ثلاثة أنواع مختلفة من منظمات النمو النباتية لتحديد مدى فعاليتها في زيادة إنتاج وتراكم تلك المركبات في نسيج كالس نبات الحنطة السوداء.

المواد وطرائق

نُفذت هذه التجربة في مختبر زراعة الأنسجة النباتية في وحدة أبحاث النخيل والتمر العائدة لكلية الزراعة-جامعة بغداد للمدة من 5-12-2012 ولغاية 15-9-2013، أستعمل الوسط الغذائي MS المقدم من قبل Murashige و Skoog (18) أستخدمت الخلطة الجاهزة وضيف السكروز بمقدار 30 غم.لتر⁻¹، أستخدم الوسط MS الخالي من منظمات النمو في إنبات البذور فيما أضيف 2,4-D بتركيز 0، 1، 2، 3 أو 4 ملغم. لتر⁻¹، بالتداخل مع الكاينتين بالتركيز 0، 0.5، 1.0 أو 1.5 ملغم. لتر⁻¹، لإيجاد التركيز المناسب لاستحثاث الكالس من الجزء النباتي (السويقة تحت الفلقية) لبادرات الحنطة السوداء. غسلت البذور المعدة للزراعة جيداً بالماء والصابون السائل وتركت البذور تحت الماء الجاري لمدة 30 دقيقة بعدها نُقلت إلى كابينه الزراعة لتجري هناك عملية التعقيم السطحي للبذور بإستخدام الكحول الايثيلي تركيز 70% ولمدة دقيقة واحدة، ثم نقلت إلى محلول هابيوكلورات الصوديوم NaOCl وبأربعة تراكيز 1.5، 3.0، 4.5 أو 6.0% ولمدد زمنية مختلفة هي: 10، 20 أو 30 دقيقة مع التحريك المستمر، وأخيراً تم غسل البذور بالماء المقطر المعقم لثلاث مرات لإزالة آثار مادة التعقيم. وتمت عملية الزراعة بوضع بذرة واحدة في كل قنينة أبعادها 2.5×5 سم وبواقع عشرة مكررات لكل معاملة في تجربة الأنبات، وضعت تحت الإضاءة بشدة 1000 لوكس بتعاقب يومي 16 ساعة إضاءة و8 ساعات ظلام وعلى درجة حرارة 25±2م، بدأ الإنبات بعد 5 أيام من الزراعة وتم تسجيل البيانات على اوقات متعاقبة ولغاية 14 يوماً من الزراعة لقيم في النهاية الحصول على بادرات حاوية على 1-2 ورقة

±2 لمدة أربعة أسابيع. تم بعدها قياس الوزن الطري لنسيج الكالس الناتج من المعاملات بعدها جرت عملية تجفيف الكالس لقياس الوزن الجاف بإستعمال الفرن الكهربائي على درجة حرارة 40° م ولحين ثبات الوزن.

إستخلاص مضادات الأكسدة النباتية من نسيج الكالس لنبات الحنطة السوداء

أجري هذا الجزء من التجربة في مختبرات شركة الحقول البيضاء للإستشارات البيئية والهندسية، إذ تم إستخلاص مضادات الأكسدة بحسب طريقة Hohmann وآخرين (11) في استخلاص المركبات الفينولية، فيعد الحصول على كالس نبات الحنطة السوداء المنمأة نسيجياً على وسط غذائي MS حاوي على المواد نفسها المذكورة انفاً. أخذت عينة مجففة وزنها 100 ملغم وأضيف إليها 10 مل ماء مقطر معقم ومحمض بحامض الهيدروكلوريك 1.0 N HCl بحيث يكون pH = 2.5 وضعت العينة في حمام مائي هزاز ذو الموجات فوق الصوتية Ultrasonic Shaker Water Bath على درجة حرارة 25° م رُشح المحلول من خلال أوراق الترشيح Whatman No.1 بقطر 9 سم. رُكز الراشح في جهاز المبخر التقريغي الدوار (Rotavapor)، إلى حين وصول حجم الراشح النهائي إلى 1 مل وأصبح جاهزاً للتحليل.

التشخيص النوعي والكمي لمضادات الأكسدة النباتية بإستخدام جهاز كروموتوكرافيا السائل ذي الأداء العالي HPLC

تم قياس العينة بإستخدام جهاز كروموتوكرافيا السائل ذي الأداء العالي HPLC نوع Shimadzu LC-10 ATVP، نظراً لقابلية هذه المنظومة على فصل المكونات الكيميائية لمستخلص خلايا الكالس ومقارنتها بالعينات القياسية. حققت العينات في العمود Column نوع C18 بوجود مكونات الطور المتحرك (جدول 1) مزج المحلول بإستخدام جهاز الأمواج فوق الصوتية للحصول على محلول كامل التجانس وكان معدل الجريان 1.4 مليلتر/دقيقة. قدرت العينات على الطول الموجي 330 نانوميتر، إذ تم قياس زمن الإحتجاز ومساحة الحزمة للمركب الناتج من حقن العينة مع زمن الإحتجاز ومساحة الحزمة للمحلول القياسي. وكانت عدد مرات التخفيف لمرة واحدة فقط. تحت الظروف نفسها وحساب

فلقية. وضعت البادرات السليمة في طبق زجاجي معقم وقُسمت السويقة تحت الفلقية إلى قطع صغيرة بطول 0.5 سم وزرعت أفقياً على الوسط الغذائي الخاص بإستحثات الكالس وبقوع 10 مكررات لكل تركيز من 2,4-D والكابنتين وحضنت في الظلام بدرجة حرارة 25° م ±2 لمدة 5 أسابيع. تم قياس الوزنين الطري والجاف للكالس بإستخدام ميزان حساس، جُففت قطع الكالس في الفرن الكهربائي Oven على درجة حرارة 40° م لحين ثبوت الوزن. وقد اعتمد الوزن الطري الناتج من أفضل توليفه لمنظمات النمو في اختيار الوسط الغذائي الملائم لإستحثات أنسجة الكالس من الجزء النباتي. بعد تحديد أفضل توليفة من منظمي النمو 2,4-D و الكابنتين نُقل الكالس المستحث من السويقة تحت الفلقية إلى وسط غذائي مجهز بمكونات وسط MS نفسها المجهز في مرحلة الاستحثات مضافاً إليه أفضل توليفة من منظمي النمو أنفي الذكر وهما 3.0 ملغم. لتر⁻¹ و 1.0 ملغم. لتر⁻¹ لمنظمي النمو أنفي الذكر وبالتتابع. والتي أعطت أعلى معدل وزن طري للكالس، وكررت عملية إعادة الزراعة كل خمسة أسابيع لحين الوصول إلى الكمية المطلوبة لأجراء التجارب اللاحقة بعد الحصول على كمية كافية من الكالس تم تحضير وسط غذائي ممثل بوسط الإدامة وأضيف إليه منظمات النمو لإختبار تأثيرها على إنتاج المركبات الفينولية في نسيج الكالس المستحث من السويقة تحت الفلقية لنبات الحنطة السوداء. فيعد إعداد وسط الإدامة تم تضمينه بمنظم النمو حامض السالسليك بالتراكيز (1.0 و 2.0 و 3.0 ملغم. لتر⁻¹) ومنظم النمو البراسينولايد بالتراكيز (0.025 و 0.050 و 0.10 ملغم. لتر⁻¹) وذلك لإمكانية إجراء التعقيم الحار بالمؤصدة دون حدوث أي ضرر لهما، في حين تم تعقيم وسط الإدامة فقط لمعاملات جاسمونات المثل والتي أشتملت على التراكيز (0.025 و 0.050 و 0.075 ملغم. لتر⁻¹) واجريت بعدها عملية التعقيم البارد لها داخل كابينة تعقيم الهواء الطبقي قبل توزيع الاوساط في انابيب الزراعة المعقمة وبمقدار 10 مل. أنبوية⁻¹، فضلاً عن وجود معاملة المقارنة (دون إضافة أي تركيز من منظمات النمو الداخلة في الدراسة) تمت عملية الزراعة بنقل 150 ملغم من نسيج الكالس وبعشرة مكررات لكل معاملة من المعاملات الداخلة في الدراسة، ثم حُضنت الزروع على درجة حرارة 25° م

بذور نباتات الحنطة السوداء، فقد حقق التركيز 4.5% أعلى معدل للصفة بلغ 76.70% مختلفاً بذلك معنوياً عن التركيزين 1.5 و 6.0% اللذين حققا معدلاً أقل للصفة بلغ 46.70 و 43.30% بالتتابع. فيما لم يختلف ذلك التركيز معنوياً قياساً بالمعاملة بالتركيز 3.0% الذي حقق معدلاً للصفة بلغ 60%. ويشير الجدول نفسه إلى عدم وجود فرق في تأثير مدة المعاملة بمحلول هايبيوكلورات الصوديوم في نسبة البقاء والحصول على بادرات سليمة من نباتات الحنطة السوداء. كما أدى التداخل بين تراكيز محلول هايبيوكلورات الصوديوم والمدة الزمنية للمعاملة إلى زيادة نسبة الحصول

مساحة حزمة المركب

تركيز المركب في العينة = $\frac{\text{تركيز النموذج القياسي} \times \text{مساحة حزمة النموذج القياسي}}{\text{مساحة حزمة المركب}}$ (مايكروغرام. مل⁻¹).

جدول 1. بعض مواصفات جهاز كروماتوغرافيا السائل ذي الأداء العالي (HPLC) المُستعمل في عملية التشخيص الكمي والنوعي للمركبات الفينولية.

HPLC	نوع العمود
Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan (50× 4.6 mm I.D) C-18 column Solvent A:0.1% phosphoric acid in deionized water, Solvent B: 50:50 V/v, 0.1% phosphoric acid in deionized water: acetonitrile HPLC grade, linear gradients 0%b-100%B Particle size 3µm 1.4 ml./min. Binary delivery pump model LC-10ATVP shimadzu	الشركة و الموديل
	أبعاد العمود
	الطور المتحرك
	حجم الجزيئات
	سرعة الجريان
	نوع وعدد المضخات

جدول 2. تأثير تراكيز مختلفة من هايبيوكلورات الصوديوم (NaOCl) ومدة التعقيم والتداخل بينهما في النسبة المئوية لبقاء بذور الحنطة السوداء بعد 14 يوم من الزراعة على وسط MS.

المتوسط	تركيز هايبيوكلورات الصوديوم (NaOCl) (%)				مدة التعقيم (دقيقة)
	6.0	4.5	3.0	1.5	
50.00	60.00	80.00	30.00	30.00	10
60.00	40.00	90.00	70.00	40.00	20
60.00	30.00	60.00	80.00	70.00	30
	43.30	76.70	60.00	46.70	المتوسط
	التراكيز = 24.23**			المدة = n.s	L.S.D
	التداخل = 41.96*				0.05

بالتتابع (جدول 2). هذه النتيجة تؤكد مدى الفعالية التي يتميز بها محلول هايبيوكلورات الصوديوم NaOCl في القضاء على أغلب الأحياء المجهرية التي يمكن أن تؤثر على نمو الجزء النباتي المزروع وبالتالي منع تلك الكائنات من منافسة ذلك الجزء المزروع على المواد الغذائية أو إفراز المواد السامة التي من الممكن أن تؤثر في الجزء النباتي

تركيز مضاد الأكسدة النباتي المعني في كالس نبات الحنطة السوداء على وفق المعادلة الأتية:

التصميم التجريبي والتحليل الإحصائي

وزعت المعاملات بإستخدام التصميم العشوائي الكامل (C.R.D) وب عشرة مكررات، وأستعمل إختبار اقل فرق معنوي (LSD) للمقارنة بين المتوسطات الحسابية عند مستوى احتمال 0.05 من خلال استخدام برنامج GenState .Discovery Edition 4.

النتائج والمناقشة

تعقيم بذور الحنطة السوداء

أظهرت نتائج الجدول 2 وجود فروق معنوية بين التراكيز المختلفة بمحلول هايبيوكلورات الصوديوم NaOCl في النسبة المئوية للبقاء والحصول على بادرات سليمة غير ملوثة من

جدول 1. بعض مواصفات جهاز كروماتوغرافيا السائل ذي الأداء العالي (HPLC) المُستعمل في عملية التشخيص الكمي والنوعي للمركبات الفينولية.

التأثير في الخصائص الميكانيكية لذلك الجدار وفي مقدمتها زيادة نفاذيته (21). بشأن تأثير تراكيز إضافة منظم النمو الكاينتين لإستحثات نسيج الكالس من السوقة تحت الفلجية لنبات الحنطة السوداء فقد لوحظ وجود فروقات معنوية في معدل الوزن الطري لنسيج الكالس عند التركيز 1.0 ملغم. لتر⁻¹ قياساً بباقي التراكيز وهي: 0 و 0.5 أو 1.5 ملغم. لتر⁻¹، والتي حققت معدلاً أقل للصفة بلغ 113.8 و 218.6 أو 257.1 ملغم بالتتابع. وهذه النتيجة تؤكد جدوى زيادة تركيز السايبتوكينينات لما له من دور كبير في زيادة إنقسام الخلايا البرنكيميية التي فقدت تخصصها وتحولت إلى خلايا مرستيمية مما تؤدي إلى زيادة حجم الأنسجة المختلفة بعد عدة أيام من الزراعة (2 و 4). بينت النتائج في الجدول 3 أن لتداخل كل عاملي الدراسة كليهما تأثيراً معنوياً في زيادة الوزن الطري لنسيج الكالس المستحث من السوقة تحت الفلجية لنبات الحنطة السوداء، إذ حققت التوليفة 3.0 ملغم 2,4-D. لتر⁻¹ مع 1.0 ملغم كاينتين. لتر⁻¹ أعلى معدل للصفة بلغ 433.2 ملغم، متفوقة بذلك معنوياً على معظم التداخلات الثنائية بين تراكيز إضافة منظمي النمو 2,4-D والكاينتين، إذ لم تطرأ أي استجابة لتكوين الكالس من الجزء النباتي المستخدم في الدراسة عند غياب منظمي النمو 2,4-D و الكاينتين عن الوسط الغذائي المُعد لتتمة لإستحثات الكالس فيه. أن من المهم خلق حالة من التوازن الدقيق بين تركيزي الأوكسينات والسايبتوكاينينات في الوسط الغذائي لأن الزيادة الحاصلة في السايبتوكاينينات نسبة إلى الاوكسين تحفز تكوين الافرع الخضرية (12) في حين أن النسب العالية من الأوكسين إلى السايبتوكاينين تشجع تكوين الجذور العرضية والمستويات المتوازنة منهما تؤدي إلى إستمرار الكالس بالنمو (23).

وتسبب فشل عملية الزراعة النسيجية (11). أن معنوية التداخل للصفة أنفة الذكر تشير إلى تباين تأثير التراكيز المختلفة من محلول هايبوكلورات الصوديوم باختلاف مدة المعاملة، وبذلك يمكن الإعتماد على نتيجة التوليفة التي تم بموجبها الحصول على أعلى معدل معنوي للصفة انفة الذكر لغرض إستنبات البذور للحصول على السوقة تحت الفلجية بوصفها الجزء النباتي المستخدم في الدراسة للحصول على نسيج الكالس من نباتات الحنطة السوداء. جاءت هذه النتيجة متفقة مع ما أشارت اليه كثير من الدراسات حول فعالية مادة هايبوكلورات الصوديوم في إنتاج بادرات سليمة خالية من التلوث (1 و 2 و 6).

تأثير تراكيز مختلفة من منظمي النمو 2,4-D و Kinetin والتداخل بينهما في الوزن الطري للكالس: أشارت نتائج الجدول 3 إلى وجود تأثير معنوي لإضافة منظم النمو 2,4-D وتراكيز مختلفة في زيادة الوزن الطري للكالس المستحث من السوقة تحت الفلجية لنبات الحنطة السوداء، إذ حققت الإضافة بالتركيز 2.0 ملغم. لتر⁻¹ أعلى معدل للصفة (306.1 ملغم)، ومع أن ذلك التفوق لم يصل حدود المعنوية مقارنةً بالتركيز 3.0 ملغم. لتر⁻¹ والذي حقق معدلاً للصفة بلغ 282.9 ملغم، إلا أن ذلك التفوق قد تجاوز حدود المعنوية قياساً بباقي التراكيز: 0 و 1.0 أو 4.0 ملغم. لتر⁻¹ وينسب زيادة معنوية عنها بلغت 955.5 و 21.5 أو 21.7% بالتتابع. وقد يعزى السبب إلى دور الأوكسينات ومنها منظم النمو 2,4-D في تحفيز إستطالة الخلايا النباتية من خلال دوره الفعال في تحفيز ليونة الجدار الخلوي، إذ يتسبب في كسر روابط ذلك الجدار وإعادتها إلى مواقع جديدة تحت تأثير الضغط الإنتفاخي مما يساهم في زيادة حجم الخلية وإتساعها، هذا بالإضافة إلى تأثيرها في الإنزيمات المسؤولة عن بناء مكونات الجدار الخلوي وتحللها وبالتالي

جدول 3. تأثير تراكيز مختلفة من منظمي النمو 2,4-D و Kinetin والتداخل بينهما في متوسط الوزن الطري (ملغم) للكالس المستحث من زراعة السوقة تحت الفلجية بعد خمسة أسابيع من الزراعة على وسط MS.

المتوسط	Kintin (ملغم.لتر ⁻¹)				2,4-D (ملغم.لتر ⁻¹)
	1.5	1.0	0.5	0	
29.0	58.1	41.3	16.6	000.0	0
252.0	339.2	325.1	249.1	94.5	1.0
306.1	352.2	376.9	312.9	182.6	2.0
282.9	268.0	433.2	254.3	176.0	3.0
251.6	268.0	362.2	260.3	115.8	4.0
	257.1	307.7	218.6	113.8	المتوسط
	Kin.= 34.62**		2,4-D= 38.71**		L.S.D
	2,4-D×Kin.=77.42**				0.05

الكابنتين المضافة إلى الوسط الغذائي المُعد لتنمية نسيج الكالس المستحث من نباتات الحنطة السوداء ، فقد أظهرت النتائج في الجدول 4 وجود تأثير معنوي في هذا التداخل، إذ حققت التوليفة 3.0 و 1.0 ملغم.لتر⁻¹ لكل من منظمي النمو 2,4-D والكابنتين بالتتابع معدلاً للوزن الجاف لنسج الكالس بلغ 34.61 ملغم متوقفاً بذلك على جميع التوليفات الداخلة في الدراسة بغض النظر عن معنويتها من عدمه وبينما لم نلاحظ بأن هذا التفوق قد وصل لحدود المعنوية مقارنة ببعض توليفات كلاً من منظمي النمو 2,4-D والكابنتين لكننا نجد بأن هذه التوليفة قد تجاوزت حدود المعنوية قياساً بأغلب التوليفات لمنظمي النمو 2,4-D والكابنتين قيد الدراسة، كما نجد عدم حدوث أي نشوء للكالس من الجزء النباتي المستعمل في الدراسة والنمى في وسط MS خالٍ من منظمي النمو انفي الذكر. وهذا ما أشارت إليه الكثير من الدراسات من خلال تأكيدها ضرورة التوازن بين السايبتوكابنين والأوكسين للمحافظة على ديمومة نمو وتطور الجزء النباتي، إذ يعمل السايبتوكابنين من خلال إحتوائه على الأدينين كمفتاح للبدء بعملية الإنقسام الخلوي (9). في حين يؤثر منظم النمو 2,4-D على أيض النبات عن طريق تصنيع البروتينات بالتالي التأثير في فعالية الإنزيمات و التنفس وانقسام الخلية (2).

جدول 4. تأثير تراكيز مختلفة من منظمي النمو 2,4-D و Kinetin والتداخل بينهما في متوسط الوزن الجاف (ملغم) للكالس المستحث من زراعة السويقة تحت الفلجية بعد خمسة أسابيع من الزراعة على وسط MS.

المتوسط	Kinetin (ملغم.لتر ⁻¹)				2,4-D (ملغم.لتر ⁻¹)
	1.5	1.0	0.5	0	
3.18	4.60	6.74	1.36	0.00	0
20.10	27.01	25.99	19.76	7.66	1.0
24.35	28.11	30.23	24.57	14.49	2.0
22.33	20.90	34.61	19.84	13.97	3.0
20.08	21.63	28.81	20.73	9.17	4.0
	20.45	25.28	17.25	9.06	المتوسط
	Kin.= 2.942**		2,4-D=3.289**		L.S.D
	2,4-D×Kin.=6.578**				0.05

للكالس المستحث من زراعة السويقة تحت الفلجية لنبات الحنطة السوداء عند إضافتها بتراكيز مختلفة إلى الوسط الغذائي MS. كما يلاحظ من الجدول 5 أن منظم النمو حامض السالسيك قد حقق أعلى معدل للوزن الطري للكالس عند المعاملة بالتركيز 1.0 ملغم.لتر⁻¹ بلغ 349.4 ملغم تفوق من خلاله على كافة التراكيز الداخلة في الدراسة، ومع

تأثير تراكيز مختلفة من منظمي النمو 2,4-D و Kinetin والتداخل بينهما في الوزن الجاف للكالس

يتضح من الجدول 4 وجود تأثير معنوي لإضافة التراكيز المختلفة من منظم النمو 2,4-D في الوزن الجاف لنسج الكالس المستحث من السويقة تحت الفلجية لنبات الحنطة السوداء فقد حقق التركيز 2.0 ملغم. لتر⁻¹ أعلى معدل بلغ 24.35 ملغم تفوق من خلالها معنوياً على اغلب معاملات إضافة منظم النمو 2,4-D وهي 0 ، 1.0 أو 4.0 ملغم.لتر⁻¹ والتي حققت معدلاً للصفة بلغ 3.18 ، 20.10 أو 20.08 ملغم بالتتابع في حين لم يصل ذلك التفوق حدود المعنوية قياساً بمعاملات إضافة منظم النمو 2,4-D بالتركيز 3.0 ملغم.لتر⁻¹ والتي أعطت وزناً جافاً بلغ 22.33 ملغم. تجدر الإشارة هنا إلى أن المعاملة ذاتها هي من حققت أعلى معدل للوزن الطري لنسج الكالس المستحث من السويقة تحت الفلجية لنبات الحنطة السوداء وتفوقها هنا ربما يكون إمتداداً لذلك التفوق (جدول 4). حققت الزيادة في إضافة تركيز منظم النمو الكابنتين تأثيراً معنوياً في هذه الصفة، فقد حقق التركيز 1.0 ملغم. لتر⁻¹ أعلى معدل للوزن الجاف للكالس نبات الحنطة السوداء بلغ 25.28 ملغم تفوق من خلاله معنوياً على باقي تراكيز الكابنتين المضافة. أما بالنسبة للتداخل بين تراكيز كل من منظمي النمو 2,4-D و

تأثير حامض السالسيك والبراسينولايد وجاسمونات المثيل في الوزن الطري والجاف (ملغم) للكالس المستحث من السويقة تحت الفلجية لنباتات الحنطة السوداء:

أظهرت النتائج في الجدول (5) وجود فروقات معنوية في التأثير على كل من منظمات النمو حامض السالسيك والبراسينولايد وجاسمونات المثيل في الوزن الطري والجاف

0.10 ملغم.لتر⁻¹ إنخفاضاً معنوياً للوزن الجاف للكالس قياساً بمعاملة المقارنة وبنسبة إنخفاض عنها بلغت 14.29 و 15.28 و 14.78% بالتتابع. أيضاً أختلفت الأوزان الجافة للكالس المنمى بالتراكيز المختلفة من جاسمونات المثل، إذ أعطت تلك التراكيز أدنى معدلات الوزن الجاف للكالس واختلفت بذلك معنوياً عن معاملة المقارنة وباقي المعاملات الداخلة في الدراسة.

تأثير حامض السالسيليك والبراسينولايد وجاسمونات المثل في إنتاج مضادات الأكسدة من كالس نبات الحنطة السوداء.

أظهرت النتائج في الجدول 6 وجود تأثير لمعاملات إضافة منظم النمو حامض السالسيليك في رفع إنتاج مركب Caffeic acid فقد حقق التركيز 3.0 ملغم.لتر⁻¹ أعلى إنتاج له بلغ 21.534 مايكروغرام.100ملغم⁻¹ في حين أعطت المعاملة بالتراكيز 1.0 و 2.0 ملغم.لتر⁻¹ قيمة أدنى لهذا المركب بلغ 14.727 و 14.620 مايكروغرام.100ملغم⁻¹ بالتتابع، وكلاهما كان قد أظهر تفوقاً ملحوظاً قياساً بمعاملة المقارنة التي أعطت قيمة أقل لهذا المركب بلغ 9.214 مايكروغرام.100ملغم⁻¹. أما بالنسبة لمنظم النمو البراسينولايد فقد حققت المعاملة بالتراكيز 0.10 و 0.050 ملغم.لتر⁻¹ أعلى قيم إنتاج هذا المركب بلغت 28.189 و 28.519 مايكروغرام.100ملغم⁻¹ بالتتابع تفوقت بذلك على كافة التراكيز الداخلة بالدراسة في ذات الوقت التي تفوقت به على إضافة منظم النمو البراسينولايد بالتركيز 0.025 ملغم.لتر⁻¹ الذي اعطى قيمة لإنتاج المركب بلغ 15.785 مايكروغرام.100ملغم⁻¹. كما أظهرت النتائج وجود تأثير إيجابي لمنظم النمو جاسمونات المثل في رفع إنتاج مركب Caffeic acid من خلال تضمينه للوسط الغذائي المُعد للزراعة بالتركيز 0.075 ملغم.لتر⁻¹ والذي حقق إنتاجاً للمركب بلغ 26.817 مايكروغرام.100 ملغم⁻¹ بينما حققت التراكيز 0.025 و 0.050 ملغم.لتر⁻¹ قيمةً أدنى لإنتاجه بلغ 14.319 و 9.122 مايكروغرام.100ملغم⁻¹ بالتتابع. ربما يعزى سبب التباين في إنتاج هذا المركب إلى اختلاف آلية عمل منظمات النمو النباتية الداخلة في الدراسة فضلاً إلى اختلاف قيم الإنتاج لهذا المركب باختلاف التركيز المستخدم. يُظهرالجدول 6 عدم وجود أي تأثير واضح

أنه لم يختلف معنوياً عن معاملة المقارنة والتي أعطت معدلاً للوزن الطري للكالس بلغ 317.7 ملغم، إلا ان كلاهما قد اختلفا معنوياً عن باقي تركيزي السالسيليك 2.0 و 3.0 ملغم. لتر⁻¹ اللذان سببا إنخفاضاً معنوياً للوزن الطري للكالس 289.1 و 292.9 ملغم بالتتابع.

جدول 5. تأثير تراكيز مختلفة من بعض منظمات النمو النباتية في الوزن الطري والجاف (ملغم) للكالس المستحث من الحنطة السوداء في وسط غذائي MS حاوي على 3.0 ملغم.لتر⁻¹ من 2,4-D و 1.0 ملغم.لتر⁻¹ من الكاينتين بعد أربعة أسابيع من النمو على وسط MS.

الوزن الجاف	الوزن الطري	منظمات النمو النباتية	
		التركيز (ملغم.لتر ⁻¹)	المنظم
26.4	317.7	0	Salicylic acid
27.7	349.4	1.0	
22.2	289.1	2.0	
23.5	292.9	3.0	
23.1	300.4	0.025	Brassinolide
22.9	285.3	0.050	
23.0	296.7	0.10	
8.7	149.9	0.025	Methyl Jasmonate
7.4	114.9	0.050	
6.9	96.3	0.075	
2.68**	32.02*	L.S.D 0.05	

كما حققت معاملة البراسينولايد للكالس المستحث من السويقة تحت الفلقية لنبات الحنطة السوداء بالتركيز 0.050 ملغم.لتر⁻¹ إنخفاضاً معنوياً في الوزن الطري للكالس وبنسبة بلغت 11.36% قياساً بمعاملة المقارنة، فيما لم يصل الإنخفاض في الوزن الطري للكالس حدود المعنوية عند باقي تركيزي البراسينولايد. أما المعاملة بمثبط النمو جاسمونات المثل فقد سببت تراكيزه الثلاث إنخفاضاً معنوياً في الوزن الطري للكالس قياساً بمعاملة المقارنة وباقي المعاملات قيد الدراسة، إذ حققت معدلاً للصفة بلغ 149.9 و 114.9 و 96.3 ملغم بالتتابع. أما بخصوص الوزن الجاف للكالس المستحث من السويقة تحت الفلقية لنبات الحنطة السوداء فقد استمر تفوق المعاملة بالسالسيليك أسيد وبالتركيز 1.0 ملغم.لتر⁻¹ بتحقيقه أعلى معدل للوزن الجاف بلغ 27.7 ملغم متفوقاً بذلك معنوياً عن الكالس المعامل بالتركيزين 2.0 و 3.0 ملغم.لتر⁻¹ اللذان اعطيا معدلاً للوزن الجاف للكالس بلغ 22.2 و 23.5 ملغم بالتتابع. كما سببت معاملة الكالس بمنشط النمو البراسينولايد بالتركيز 0.025 ، 0.050 أو

المقارنة والتركيز 3.0 ملغم.لتر⁻¹ اللذان حققا قيمة لإنتاج المركب بلغ 16.690 و 16.001 مايكروغرام. 100ملغم⁻¹ بالتتابع. أما البراسينولايد فقد حققت التراكيز 0.050 و 0.10 ملغم.لتر⁻¹ قيماً لإنتاج المركب بلغ 24.025 و 23.797 مايكروغرام. 100ملغم⁻¹ بالتتابع وكلاهما قد اختلف عن التركيز 0.025 ملغم.لتر⁻¹ الذي أعطى قيمة لإنتاج المركب بلغ 16.552 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹. وبنفس الطريقة كان لجاسمونات المثل دوراً بالغ الأهمية في تحسين إنتاج نسيج الكالس لهذا المركب وحققت تراكيزه الثلاث 0.025 و 0.050 و 0.075 ملغم.لتر⁻¹ قيماً لإنتاج المركب بلغ 23.905 و 19.390 و 23.671 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ بالتتابع. أن تفوق معاملة حامض الساليسيليك ربما يعود لقدرته على الحفاظ على ثباتية الأغشية الخلوية وزيادة تمثيل CO₂ وتراكم المادة الجافة وزيادة إمتصاص الماء والعناصر الغذائية والمعدنية تحت ظروف الإجهاد(19 و 24) وذلك من خلال إمتلاكه لألية المقاومة المكتسبة الجهازية للنبات (SAR) التي تعمل على صيانة الكيمياء العضوية للخلية النباتية من اثر الأفرزات السمية (10 و 14). يوضح الجدول 6 إمكانية تحفيز إنتاج مركب Chlorogenic acid عند استخدام بعض منظمات النمو النباتية وبتراكيز مختلفة، إذ حقق منظم النمو حامض الساليسيليك زيادة في إنتاج المركب عند إضافته للوسط الغذائي المُعد لتحفيز الكالس ومع أن تراكيز الإضافة الثلاث 1.0 و 2.0 و 3.0 ملغم.لتر⁻¹ لم تختلف كثيراً فيما بينها في كمية المنتج لهذا المركب وحققت قيمة لإنتاجه بلغ 14.978 و 14.230 و 14.62 مايكروغرام. 100ملغم⁻¹ بالتتابع، إلا أن التراكيز الثلاثة قد اختلفت وبشكل واضح عن معاملة المقارنة التي أعطت قيمة لإنتاج المركب بلغ 12.642 مايكروغرام. 100ملغم⁻¹. ومع هذا نجد بأن البراسينولايد هو من حقق أعلى قيم الإنتاج لهذا المركب على الإطلاق إذ أظهرت النتائج زيادة في الإنتاج بزيادة تركيز إضافة البراسينولايد لتصل عند التركيز 0.10 ملغم.لتر⁻¹ أعلى قيمة للمركب بلغ 23.749 مايكروغرام. 100ملغم⁻¹ في حين حقق التركيز 0.050 ملغم.لتر⁻¹ قيمة للإنتاج بلغت 15.919 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ واختلفت بدورها عن المعاملة بالتركيز 0.025 ملغم. لتر⁻¹ وما حققته لإنتاج هذا المركب بلغ 12.850

لحامض الساليسيليك في تحسين إنتاج مركب Vanillic acid قياساً بمعاملة المقارنة والتي اعطت قيمة لإنتاجه مقارنة لتلك القيم التي حققها حامض الساليسيليك على مدى تراكيزه الثلاث الداخلة في الدراسة. بينما نجد بان منظم النمو البراسينولايد هو من اعطى أعلى قيم الإنتاج لهذا المركب على الإطلاق والمتمثلة بالتراكيز 0.050 و 0.10 ملغم.لتر⁻¹ اللذان حققا إنتاجاً للمركب بلغ 19.774 و 19.491 مايكروغرام. 100ملغم⁻¹ بالتتابع ومع إنهما لم يختلفا فيما بينهما بشكل كبير إلا ان كلاهما قد تفوق على التركيز 0.025 ملغم.لتر⁻¹ الذي أعطى قيمة لإنتاج المركب بلغت 14.718 مايكروغرام. 100ملغم⁻¹. بينما سببت معاملة الكالس بجاسمونات المثل في خفض تركيز مركب Vanillic acid بزيادة تركيز الإضافة، إذ أعطت التراكيز الثلاثة لجاسمونات المثل 0.025 و 0.050 و 0.075 ملغم.لتر⁻¹ قيماً لإنتاج المركب بلغ 14.839 و 4.025 و 3.580 مايكروغرام. 100ملغم⁻¹ بالتتابع. ان تفوق أغلب معاملات تقنية زراعة الانسجة النباتية في زيادة إنتاج هذا المركب هو أمر طبيعي لما لهذه التقنية من دور كبير في توفير الظروف المثالية لنمو الخلايا النباتية المكونه لنسيج الكالس فضلاً عن دورها في توفير كمية كبيرة من الطاقة يمكن ان تُستغل من قبل الخلايا النباتية في زيادة بناء وتراكم كثير من المركبات المهمة (22). اما تفوق معاملة البراسينولايد في إنتاج مركب Vanillic acid فقد يعزى إلى الدور الكبير الذي يؤديه منشط النمو البراسينولايد في زيادة تمثيل الأحماض النووية والبروتينات وتنظيم التعبير الجيني للخلية النباتية من خلال رفع القدرة الإمتصاصية للماء من قبل الخلية النباتية وتحسين معظم العمليات الفسيولوجية داخلها مما يؤدي بالتالي إلى إحداث عمليتي الإنقسام والإستطالة للخلية النباتية (2). بينت النتائج إمكانية زيادة إنتاج مركب Gentisic acid عند استخدام بعض منظمات النمو النباتية وبتراكيز معينة (جدول 6) فقد حققت معاملة نسيج الكالس بحامض الساليسيليك بالتركيز 2.0 ملغم.لتر⁻¹ أعلى قيم إنتاج المركب بصورة عامة بلغ 24.808 مايكروغرام. 100ملغم⁻¹ في حين أعطى التركيز 1.0 ملغم.لتر⁻¹ قيمة أقل لإنتاج المركب بلغت 23.182 مايكروغرام. 100ملغم⁻¹ وكلاهما قد تفوق على معاملتي

لإنتاج ذات المركب بلغ 11.112 و 6.717 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ بالتتابع. وأن هذا الاختلاف في إنتاج مركب Orientin باختلاف منظمات النمو النباتية ربما يعود إلى الاختلاف في آلية الانتقال والاستجابة لتلك المنظمات من قبل الخلية النباتية باختلاف تراكيزها. يُلاحظ في الجدول 6 تحقيق التراكيز المختلفة لمنظمات النمو النباتية تأثيراً واضحاً في مدى تحسن إنتاج مركب Vitexin من كالس نبات الحنطة السوداء، إذ أظهرت النتائج وجود تأثير لإضافة حامض الساليسليك بالتراكيز 1.0 ملغم. لتر⁻¹ زيادة في قدرة نسيج الكالس على تحفيز بناء هذا المركب وأعطى قيمة لإنتاجه بلغت 9.825 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ تفوق من خلالها على باقي تراكيز المعاملة بهذا المنظم (2.0 و 3.0 ملغم. لتر⁻¹) اللذان أعطى قيمة لإنتاج المركب بلغت 6.669 و 4.584 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ بالتتابع في حين أعطت معاملة المقارنة قيمة لإنتاج المركب بلغت 4.742 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹. كما حققت تراكيز منظم النمو البراسينولايد زيادة في كمية المنتج من هذا المركب وأظهرت النتائج تحقيق التركيز العالي لهذا المنظم (0.10 ملغم. لتر⁻¹) أعلى القيم في إنتاجه وبصوره عامة بلغ 10.639 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ تفوق بها على التركيز (0.050 ملغم. لتر⁻¹) الذي أعطى قيمة بلغت 5.903 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ ولم يختلف بشكل كبير عن ما حققه التركيز (0.025 ملغم. لتر⁻¹) بإعطائه قيمة لإنتاج هذا المركب بلغ 5.272 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹. كما أظهرت تراكيز المعاملة بمنظم النمو جاسمونات المثل زيادة كمية إنتاج المركب بزيادة تلك التراكيز وحقق التركيز 0.075 ملغم. لتر⁻¹ قيمة عالية لإنتاج المركب بلغ 9.458 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ إختلف بذلك وبشكل كبير عن ما أنتجته التراكيز (0.025 و 0.075 ملغم. لتر⁻¹) والذي بلغ 5.828 و 4.405 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ بالتتابع. نجد هنا بأن التراكيز العالية من منظمي النمو البراسينولايد وجاسمونات المثل قد تفوقت على التراكيز الأدنى في إنتاج هذا المركب. ربما يعزى السبب إلى تحقيق تلك التراكيز أعلى مستوى من الإجهاد للخلايا النباتية أثر سلباً في مسالك إنتاج المركبات الأولية باتجاه تراكم المركبات الثانوية ومنه مركب Vitexin. أثبتت منظمات النمو النباتية بأنها طريقة فعالة

مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹. أما جاسمونات المثل فقد حقق التركيز 0.025 ملغم. لتر⁻¹ قيمة لإنتاج هذا المركب بلغ 15.701 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ تفوق من خلالها على باقي تراكيز المعاملة به: 0.050 و 0.075 ملغم. لتر⁻¹ اللذان حققا قيمة لإنتاج المركب بلغ 10.676 و 14.367 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ بالتتابع. أن تفوق البراسينولايد له دليل على القدرة العالية التي يتمتع بها هذا المركب من خلال صيانة الأجزاء الخلوية وإدامة فعاليتها الحيوية إذ يؤدي إلى إزالة التأثيرات السمية التي تسببها بعض المركبات المنتجة داخل الخلية ومنها بيروكسيد الهيدروجين وبالتالي زيادة نفاذية غشاء الخلية وزيادة القدرة على القيام بعملية التمثيل الضوئي والتخفيف من ضرر الإجهاد التأكسدي (17). بينت النتائج في الجدول 6 وجود تباين في مدى إنتاج مركب Orientin باختلاف منظمات النمو النباتية وتراكيزها، إذ سببت إضافة حامض الساليسليك تحفيزاً لنسيج الكالس في إنتاج هذا المركب وحقق التركيز 3.0 ملغم. لتر⁻¹ قيمة لإنتاجه بلغ 10.995 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ تفوق من خلالها على باقي تراكيز الإضافة 1.0 و 2.0 ملغم. لتر⁻¹ اللذان أعطى قيمة لإنتاج المركب بلغت 11.744 و 11.477 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ بالتتابع ومع هذا فقد تفوقت جميع تراكيز حامض الساليسليك في إنتاج المركب قياساً بمعاملة المقارنة التي أعطت أدنى قيم الإنتاج لهذا المركب بلغ 7.412 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹. وبنفس الأسلوب زادت تراكيز إضافة منظم النمو البراسينولايد من قيم إنتاج المركب وحقق التركيز العالي 0.10 ملغم. لتر⁻¹ أعلى قيمة لإنتاج هذا المركب على الإطلاق بلغ 19.651 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ تفوق من خلالها على التركيز 0.050 ملغم. لتر⁻¹ الذي أعطى قيمة لإنتاج المركب بلغت 15.517 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ واختلف بدوره عن التركيز 0.025 ملغم. لتر⁻¹ الذي أظهرت النتائج إعطائه قيمة لإنتاج المركب بلغت 7.550 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ أيضاً ساهمت تراكيز جاسمونات المثل في رفع وتحسين إنتاج هذا المركب وحقق التركيز 0.025 ملغم. لتر⁻¹ قيمة لإنتاج المركب بلغ 12.018 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ تفوق من خلالها على باقي تراكيز المعاملة بمنظم النمو جاسمونات المثل (0.050 و 0.075 ملغم. لتر⁻¹) اللذان أعطى قيمة

التركيز أنفة الذكر قد تفوقت على معاملة المقارنة والتركيز 3.0 ملغم. لتر⁻¹ اللذان حققا قيمة منخفضة لإنتاج هذا المركب بلغ 9.024 و 8.841 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ بالتتابع. أيضاً ساهمت تراكيز البراسينولايد في رفع إنتاج هذا المركب وحقق التركيز 0.025 ملغم. لتر⁻¹ إنتاجاً للمركب بلغ 13.433 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ تفوق من خلاله على باقي التراكيز المعاملة بهذا المنظم (0.050 و 0.10 ملغم. لتر⁻¹) التي خففت من كمية المنتج لهذا المركب قياساً بالتركيز آنف الذكر إذ أعطت قيمة بلغ 12.772 و 9.387 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ بالتتابع. كما حسنت تراكيز منظم النمو جاسمونات المثل وبشكل ملحوظ من إنتاج هذا المركب الحيوي بزيادة تركيز المعاملة، إذ حقق التركيز 0.075 ملغم. لتر⁻¹ قيمة بلغ 14.562 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ تفوق من خلالها على التركيز 0.050 ملغم. لتر⁻¹ الذي اعطى إنتاجاً لهذا المركب بلغ 11.743 وتفق بدوره عن التركيز 0.025 ملغم. لتر⁻¹ الذي أعطى أدنى قيم الإنتاج لهذا المركب على الإطلاق بلغ 8.804 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹. يتضح من الجدول 6 الدور الكبير والفعال الذي ساهمت به منظمات النمو النباتية في رفع إنتاج مركب Rutin من كالس نباتات الحنطة السوداء، إذ أظهر الشكل آنف الذكر الفرق الكبير بين إنتاج هذا المركب باستخدام التراكيز المختلفة لتلك المنظمات. فقد حقق حامض السالسليك تحسناً واضحاً في قدرة إنتاج نسيج الكالس لهذا المركب وكانت التراكيز (2.0 و 3.0 ملغم. لتر⁻¹) قد حققت إنتاجاً لهذا المركب بلغ 52.902 و 53.336 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ بالتتابع تفوقت من خلاله على ما أنتجته معاملة المقارنة والتركيز 1.0 ملغم. لتر⁻¹ اللذان اعطى أدنى قيمة أقل لإنتاج هذا المركب بلغ 39.081 و 39.604 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ بالتتابع. أما البراسينولايد فتحسينه لإنتاج هذا المركب واضح وفعال من خلال ماحقه التركيز 0.10 ملغم. لتر⁻¹ من قيمة لإنتاج هذا المركب بلغ 87.584 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ تفوق من خلاله على التركيز 0.050 ملغم. لتر⁻¹ الذي أعطى قيمة أقل للمركب بلغ 61.510 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ ومع هذا نجد بأنه قد تفوق على التركيز 0.025 ملغم. لتر⁻¹ الذي أظهرت النتائج تحقيقه لإنتاج بلغ 56.544 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹. كذلك حسنت

في رفع إنتاج مركب Isovitexin خارج الجسم الحي لنباتات الحنطة السوداء، كما أظهرت التراكيز المختلفة من منظمات النمو النباتية إختلافاً في إنتاج هذا المركب (جدول 6). مع هذا تفوقت معاملة إضافة منظم النمو السالسليك أسيد بالتركيز 2.0 ملغم. لتر⁻¹ في تحفيز نسيج الكالس لإنتاج المركب عن باقي المعاملات الداخلة في الدراسة وحقق أعلى قيم الإنتاج على الإطلاق بلغ 21.888 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ تفوق من خلالها على معاملة المقارنة ومعاملة الكالس بالتركيز (1.0 و 3.0 ملغم. لتر⁻¹) والتي اعطت قيمة لإنتاج المركب بلغ 16.600 و 15.421 و 16.155 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ بالتتابع. أما منظم النمو البراسينولايد فلم تُظهر النتائج وجود تحسن واضح له في إنتاج هذا المركب بل بالعكس ساهمت بعض تراكيزه في خفض إنتاج هذا المركب. في حين ساهمت تراكيز جاسمونات المثل في رفع إنتاج هذا المركب وكان التركيز 0.025 ملغم. لتر⁻¹ هو من تفوق عن باقي تراكيز جاسمونات المثل في قيمة ما أنتجته من هذا المركب إذ بلغ 20.121 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ تفوق من خلالها على التركيز 0.050 ملغم. لتر⁻¹ الذي أعطى قيمة لإنتاج المركب بلغ 18.175 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ وكلاهما قد تفوق على التركيز 0.075 ملغم. لتر⁻¹ الذي أعطى قيمة لإنتاج المركب بلغ 17.152 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹. وهذه النتيجة جاءت منطقية قياساً مع ما يتمتع به السالسليك أسيد من دور بارز في تحفيز جينات الأنزيمات المضادة للأكسدة ليساهم بذلك في إزالة سمية الجذور الحرة ليحمي النبات من ضرر الإجهاد التأكسدي وبالطبع مركب Isovitexin هو واحد من أهم مضادات الأكسدة النباتية (5 و 13 و 15). كما نلاحظ من الجدول 6 بأن كلا منظمات النمو النباتية تراكيزها المختلفة قد أثرت في مدى إنتاج هذا مركب Quercetin الحيوي، إذ أثر منظم النمو حامض السالسليك وبشكل كبير في رفع القدرة البنائية لهذا المركب من نسيج الكالس لنباتات الحنطة السوداء وحقق التركيز 2.0 ملغم. لتر⁻¹ إنتاجاً للمركب بلغ 17.112 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ تفوق من خلاله على كافة المعاملات قيد الدراسة ومنها المعاملة بحامض السالسليك بالتركيز 1.0 ملغم. لتر⁻¹ والتي اعطت إنتاجاً للمركب بلغ 11.00 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ وكلا

أعلى إنتاج لمركب Coumaric acid بلغ 29.551 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ وتفوق على باقي معاملات حامض الساليسليك (1.0 و 3.0 ملغم. لتر⁻¹) اللذان أعطى قيماً لإنتاج هذا المركب بلغ 18.651 و 22.741 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ بالتتابع وكلاهما قد تفوق على معاملة المقارنة التي اعطت إنتاجاً للمركب بلغ 17.299 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹. وساهم منظم النمو البراسينولايد في رفع إنتاج المركب وحقق التركيز 0.10 ملغم. لتر⁻¹ قيمة لإنتاج المركب بلغ 28.666 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ تفوق من خلالها على ماحققة التركيز 0.050 ملغم. لتر⁻¹ من قيمة لإنتاج المركب بلغ 22.339 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹ فيما أعطى التركيز 0.025 ملغم. لتر⁻¹ أدنى قيم الإنتاج لهذا المركب على الإطلاق بلغ 6.968 مايكروغرام. 100 ملغم⁻¹. كم حسنت تراكيز جاسمونات المثل في قيمة المنتج من هذا المركب وحققت تراكيزها الثلاث (0.025 و 0.050 و 0.075 ملغم. لتر⁻¹).

جدول 6. تأثير المعاملة بالتراكيز المختلفة من حامض الساليسليك والبراسينولايد وجاسمونات المثل في إنتاج بعض مضادات الأكسدة من كاس نبات الحنطة السوداء.

Methyl Jasmonate (ملغم. لتر ⁻¹)			Brassinolide (ملغم. لتر ⁻¹)			Salicylic acid (ملغم. لتر ⁻¹)				المركب (مايكروغرام. 100 ملغم ⁻¹)
0.075	0.050	0.025	0.10	0.050	0.025	3.0	2.0	1.0	C ₀	
26.817	9.122	14.319	28.189	28.519	15.785	21.534	14.620	14.727	9.214	Caffeic acid
3.580	4.025	14.839	19.491	19.774	14.718	12.968	13.388	12.478	13.022	Vanillic acid
23.671	19.390	23.905	23.797	24.025	16.552	16.001	24.808	23.182	16.690	Gentistic acid
14.367	10.676	15.701	23.749	15.919	12.850	14.620	14.230	14.978	12.642	Chlorogenic acid
6.717	11.112	12.018	19.651	15.517	7.550	10.995	11.477	11.744	7.412	Orientin total
9.458	4.405	5.828	10.639	5.903	5.272	4.584	6.669	9.825	4.742	Vitexin
17.152	18.175	20.121	15.706	16.747	13.677	16.155	21.888	15.421	16.600	Isovitexin
14.562	11.743	8.804	9.387	12.772	13.433	8.841	17.112	11.000	9.024	Quercetin
53.581	77.414	37.696	87.584	61.510	56.544	53.336	52.902	39.604	39.081	Rutin
24.442	16.691	18.974	28.666	22.339	6.968	22.741	29.551	18.651	17.299	Coumaric acid

REFERENCES

1. Abdala, B. A. 2013. *in vitro* and *in vivo* Production of Thymol and Its Derivatives in Black Seed *Nigella sativa* L. Ph.D Dissertation, Department of Field Crops, College of Agriculture, University of Baghdad pp: 135.
2. Abu Zaid, A. N. 2003. Plant Hormones and Agricultural Applications. Third Edition. Arab House of Publishing and Distribution. Arab Republic of Egypt. In Arabic. pp: 351.
3. Al-Aubaidi, G. S. 2009. Employment of Plant Tissue Culture to Increase Secondary Product (rosmarinic acid RA) in *Coleus blumei* Benth. Department. of Biology, College of Science for women, University of Baghdad.
4. Dellololoio, R. 2007. Cytokinin determine *Arabidopsis* root meristem size by control - ling cell differentiation. *Current Biology*. 17:678.
5. Ervin, E. H. ; X. Zhang and R. E. Schmidt. 2005. Exogenous salicylic acid enhances post-transplant success of heated Kentucky bluegrass and tall fescue. *Crop Science*. 45:240-244.
6. Gaber, A. M. M.; S. Oksana; R. A. Ahmed and I. Smetanska. 2012. Production of phenolic acid and antioxidant activity in transformation hairy root cultures of common

- buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.). Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 6(7):577-586.
7. Gang, Zhao; T. Yu; W. Anhu and H. Zhu. 2004. China's Buckwheat Resources and Their Medicinal Values. Proceedings of the 9th International Symposium on Buckwheat. pp:630- 632
8. George, E. F.; M. A. Hall and G. D. Klerk. 2008 . Plant propagation by Tissue Culture 3rd Edition. Published by Springer. pp:479.
9. Goodwin, M. 1985. Introduction to Plant Biochemistry. 2nd (ed.), pergamon press. New York.
10. Hayat, S.; A. Masood; M. Yusuf; Q. Fariduddin and A. Ahmed. 2009. Growth of Indian mustard (*Brassica juncea* L.) in response to salicylic acid under high-temperature stress. Brazilian Journal of Plant Physiology. 21(3):187-195.
11. Hohmann, J.; I. Zupko. ; D. Redi. ; M. Csanyi.; G. Falkay.; I. Mathe and G. Janicsak. 1999. Protective effects of the aerial parts of *Salvia officinalis*, *Melissa officinalis* and *Lavandula angustifolia* and their constituents against enzyme-dependent and enzyme-independent lipid peroxidation. Planta Medica. 65:576-578.
12. Huan, L.V.T.; T. Takamura and M. Tanaka. 2004. Callus formation and Plant regeneration from callus through somatic embryo structures in *Cymbidium orchid*, Plant Science. 166 (6):1443-1449.
13. Iqbal, M. and M. Ashraf. 2006. Wheat seed priming in relation to salt tolerance : growth yield and levels of free salicylic acid and polyamines. Annales Botanici Fennici. 43:250-259 .
14. Kolupaev, Y. Y.; T. O. Yastrep; Y. V. Karpets and N. N. Mirochenko. 2011. Influence of salicylic acid and succinic acid on antioxidant enzymes activity, heat resistance and productivity of *Panicum miliaceum* L. Journal of Stress Physiology and Biochemistry. 7(2):154-163.
15. Lee, S. C. and B. K. Hwang. 2003. Identification of the papper SAR 8.2 gene as molecular marker for pathogen infection, abiotic elicitors and environmental stresses in *Caspicum annum*. Planta. 216:387-396.
16. Lila, M. 2005. Valuable secondary products from *In vitro* culture. Chapter 24. Secondary products *in vitro*, CRC press, LLC.
17. Lu, Xiaomin and W. Yang. 2013. Alleviation effects of brassinolide on cucumber seedlings under NaCl stress. Yingyong Shengtai Xuebao. 24(5): 1409-1414.
18. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. Physiologia Plantarum. 15: 473-497.
19. Najafian, S.; M. Khoshkui; V. Tavallali and M. J. Shaharkhiz. 2009. Effect of salicylic acid and salinity in Thyme (*Thymus vulgaris* L.) investigation on changes in gas Exchange, water relations and membrane stabilization and biomass accumulation. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 3(3):2620-2626 .
20. Sarfaraj, Md.; S. H. F. Sheeba; A. Saba; A. M. A. Rahman; I. Z. Ahmeed and M. Saeed. 2012. Current approaches toward secondary plant metabolites. Journal of pharmacy and Bio Allied sciences. 4(1):10-20.
21. Taiz, L. and E. Zeiger. 2002. Plant physiology, 3rd Edition. Sinauer Associates, Inc. pp: 690.
22. Taiz, L. and Zeiger, E. 2010. Plant physiology, 5rd Edition. Sinauer Associates, Inc . pp: 782.
23. Xie, D. and Y. Hong. 2001. *In vitro* regeneration of Acacia Mangium Via organogenesis. Plant Cell Tissue and Organ Culture. 66: 167-173.
24. Yordanova, R. and L. Popova. 2007. Effect of exogenous treatment with salicylic acid on photosynthetic activity and antioxidant capacity of chilled wheat plant. General and Applied Plant physiology. 33(3-4):155-170 .
25. Zhang, Z.; M. Zhou; Y. Tang; F. Li; Yi-X. Tang; J. Shao; W. Xue and Y. Wu. 2012. Bioactive compounds in functional buckwheat food . Food Research international. 49: 389-395.