تحفيز نمو أجنة بذور الليمون الحامض المحلي *Citrus limon* L. Brum. f. خارج الجسم الحي

عمار زكي قصاب باشي
قسم البستنة/ كلية الزراعة والغابات/ جامعة الموصل - العراق

الخلاصة

زرعت بذور الليمون الحامض المحلي في الوسط الغذائي MS الصلب لدراسة تأثير تداخلات Kin+BA (kinetin+benzyladenine) و بتراكيز مختلفة في نمو أجنة البذور منزوعة او غير منزوعة الغلاف , وتبين بعد مرور ستة أسابيع من الزراعة بان افضل النتائج كانت عند استخدام البذور المنزوعة الغلاف بالمقارنة مع البذور غير المنزوعة الغلاف إذ حدث نمو الأجنة من البذور المنزوعة الغلاف بدرجات مختلفة وكانت افضل النتائج في المعاملة التي احتوت على Kin لوحده بتركيز ٣ملغم/لتر وبلغ معدل عدد البادرات النامية من كل بذرة ٢.٦٠ في مقابل ١.٧٥ بادرة لمعاملة المقارنة التي خلى الوسط فيها من السايتوكاينينات تماما. وأدى زراعة البذور منزوعة الغلاف في الوسط الغذائي الحاوي BA أو Kin بشكل منفرد أو متداخل إلى زيادة طول ساق البادرات النامية من أجنة البذور في مقابل معاملة المقارنة في حين حصلت اكبر استطالة للجذر للأجزاء النباتية النامية في وسط غذائي احتوى Kin بتركيز / . BA Kin بتراكيز . + . /
عدد من البراعم الجانبية لسيقان البادرات النامية وبلغ ٢.٢٩ فرع/ساق في حين تكونت البراعم العرضية في اكبر عدد من البذور المنزوعة الغلاف وبنسبة ٪ في المعاملة التي احتوت Kin+BA بتركيز ١.٥ /لتر لكل منهم وهي نفس المعاملة التي حصول على اكبر عدد من البراعم العرضية والذي بلغ معدله . .

المقدمة

تتميز بذور معظم أنواع الحمضيات بظاهرة تعدد الأجنة والتي ينتج عنها نمو اكثر من نبات واحد وغالباً يفشل الجنين الجنسي في النمو وحتى في حالة نموه فيكون ضعيفاً واكثر تعرضاً للفشل والموت من الأجنة الخضرية المرافقة له في البذرة الواحدة ( ).

تستخدم عدة طرق لإكثار الحمضيات بزراعة الأنسجة والخلايا النباتية أكثرها نجاحا هي الحصول على الأجنة الجسمية بزراعة نسيج النيوسيلة أو أجزاء من الفلق والتي تعطي نباتات خالية من الأمراض الفيروسية (Navarro، ١٩٨٤و Obukosia و Watthaka، ٢٠٠٠و Ricci واخرون، ٢٠٠٢) وتساعد في الحصول على أشجار مشابهة للام وبشكل سريع وذات نمو اكبر حجماً مقارنة مع الأشجار الناتجة من عملية التطعيم ( ).

تشير بعض الدراسات المتعلقة باستحداث وتنمية الأجنة الجسمية للحمضيات إلى ضرورة إضافة مستخلصات طبيعية إلى الأوساط الزرعية لتحفيز مكونات البذور أو البذور نفسها و المأخوذة من ثمار صغيرة غير ناضجة بعمر - يوم (Ranga Swamy,) - (,)
تكوين الأجنة ونموها حيث ذكر Obukusia و Watthaka(٢٠٠٠) بان إضافة حليب جوز الهند بتركيز ١٠٪ أو الكازائين المتحلل Casein hydrolysate بتركيز ٠.٤ملغم/لتر الى وسط MS الاساسي ادى الى تحسين نمو الأجنة النيوسيلية للبرتقال *Citrus sinensis* والليمون الحامض *Citrus limon* وتطورها الى بادرات كاملة في حين فشلت هذه الاجنة في النمو والتطور عند زراعتها على وسط MS الاساس فقط .وتمكن Miah واخرون (٢٠٠٢) من الحصول على بادرات كاملة من زراعة نسيج النيوسيلة لنبات *Citrus macroptera* في وسط MS الحاوي على خلاصة الشعير malt extract بتركيز ٥٠٠ . /

من جهة اخرى تم الحصول على الاجنة الجسمية لنبات الجوز الاغريقي *Juglans regia* مباشر اما من زراعة الفلق (Tulecke ,McGranahan) او من زراعة (Tulecke ,) . , / . + + IBA + Kin + BA بتراكيز

تاريخ تسلم البحث / / وقبوله / /

توصي المصادر الحديثة الى ضرورة تحديد مكونات الوسط الزرعي بشكل دقيق واستبعاد المستخلصات الطبيعية المضافة اليه لان اضافتها قد يفقد السيطرة على طبيعة نمو الاجزاء النباتية المزروعة (, و الحديدي , ,) .

تهدف الدراسة الى معرفة امكانية استخدام تداخلات من منظمات النمو بتراكيز مختلفة في نمو وتطور اجنة الليمون الحامض المحلي بديلا عن المستخلصات الطبيعية .

مواد البحث وطرائقه

اجريت الدراسة في مختبر زراعة الانسجة والخلايا النباتية التابع لقسم البستنة/كلية الزراعة والغابات جامعة الموصل عام ٢٠٠٥. جمعت الثمار في ١ تموز/٢٠٠٥وهي في مرحلة عدم اكتمال النضج من اشجار الليمون الحامض الصنف محلي *Citrus limon L.* Brum. f. النامية تحت ظروف التلقيح الخلطي المفتوح, وبعمر ٧-١٠ أسابيع تقريبا . تم استخراج البذورثم عقمت بغمرها في الكحول الاثيلي بتركيز ٧٠٪ ولمدة خمس دقائق ومن ثم في هايبوكلورايت الصوديوم ٠.٦٪ ولمدة عشرين دقيقة وبعد ذلك غسلت بالماء المقطر والمعقم خمسة مرات متتالية تبقى البذور في كل منها لمدة خمس دقائق في الماء (Chandler Grosser).

استخدم وسط MS (Murashige Skoog) الصلب لزراعة الاجزاء النباتية في جميع مراحل الدراسة مع إضافة BA Kin بتراكيز مختلفة وفقا للمعاملات مو ع الدراسة , وقد احتوى الوسط على الكلوتامين و IBA (Indol 3- butyric acid + L-Glutamin) و بتراكيز ثابتة في كل ٠.٠ ملغم/لتر ، على التوالي . اضيف . -

حامضيته عند . - . , ثم قسم على قناني زجاجية حجم ٢٠٠ مل لكل قنينة وبعد ذلك عقم لمدة عشرين دقيقة على درجة حرارة .

المعاملات التجريبية : :

: طريقة اعداد البذور

. seed coat

. زراعة البذور بعد عمل شق طولي فقط في غلافها موازي لـ

. زراعة البذور بعد عمل شق عرضي حول المحور الطولي للبذرة قريبا من الكلازا

ثانيا : Kin+BA

استخدمت توليفات لتداخل Kin+BA وبتراكيز مختلفة شملت (. + . , . + . , . + . , . + . , . + . , . + . , . + . / . + . , . + . , . + . , . + . , . + . , . + .) .

ضمت التجربة ٢٤ معاملة تجريبية واستخدم في تنفيذ التجربة العاملية التصميم العشوائي الكامل CRD بعشرة مكررات لكل وحدة تجريبية وقورنت المتوسطات حسب اختبار دنكن متعدد الحدود على .

– م وتحت ظروف الظلام التام ولمدة يوما ومن بعدها نقلت الى دورة ضوء يومية من ساعات ظلام و قد سجلت القياسات التجريبية التالية بعد اسابيع من الزراعة والتي شملت:

. معدل عدد الاجنة النامية من كل بذرة .

. معدل طول ساق البادرات النامية من اجنة البذور.

. البادرات النامية من اجنة البذور.

. معدل عدد الاوراق النامية على ساق البادرة.

. معدل عدد الفروع النامية على ساق البادرة.

– اخذت فقط من البذور المنزوعة الغلاف بالكامل واستثنيت النتائج الخاصة بالبذور التي احتوت اغلفة مشقوقة لانخفاض قيم نتائجها مقارنة مع البذور المنزوعة الغلاف.

ولاجل تقسية واقلمة النبيتات الناتجة تم انتخاب بعضا منها التي احتوت سيقان وجذور بطول لا يقل

في الظروف العادية في وسط رمل البناء المعقم بالاسلوب نفسه الذي عقم فيه الوسط MS . غطيت اوعية الزراعة بالنايلون الزراعي الشفاف مع مراعاة رش النباتات برذاذ ناعم بين مدة واخرى وبعد مرور اسبوع من النقل الى رمل البناء تم ازالة الغطاء تدريجياً حتى ازيل بالكامل بعد مرور .

النتائج والمناقشة

تأثير طريقة تحضير البذور عند الزراعة وتداخلاتها مع السايتوكاينينات في عدد الأجنة النامية منها:

يلاحظ من الجدول (١) انه بعد مرور ستة أسابيع من الزراعة تم الحصول على اكبر القيم معنوية . جنين/بذرة عندما استخدم Kin لوحده بتركيز ٣ملغم/لتر وانخفضت هذه القيمة تدريجيا مع اضافة BA وزيادة تركيزه في الوسط الحاوي Kin حتى بلغت اقلها عند استخدام BA لوحده بتركيز ٣ملغم/لتر وبلا ٠.٤٥ جنين/بذرة .كذلك كان لطريقة تحضير البذور قبل الزراعة تأثيرا معنويا على عدد الأجنة النامية منها إذ أدى إزالة غلاف البذرة بشكل كامل إلى الحصول على اكبر القيم لعدد الأجنة وبلغ ١.٦٠ جنين مقارنة مع شق غلاف البذرة الطولي او العرضي والتي بلغت ٠.٩٧ و٠.٨٩ جنين ، على التوالي (الاشكال ١.٢.٣) وقد يعود السبب في ذلك إلى اختلاف درجة تماس محتويات البذرة مع الوسط الغذائي حيث كان التماس مباشر في المعاملة الأولى بسبب إزالة غلاف البذرة بالكامل وغير مباشر في الثانية والثالثة لوجود الغلاف أو قد يعود السبب إلى احتواء غلاف البذرة نفسه على مواد تعيق او تأخر نمو الأجنة (Hartmann واخرون، ٢٠٠٢) أو لكلا السببين. وانطلاقاً من البيانات المتحصل عليها تم دراسة الصفات الاخرى على البذور التي ازيلت اغلفتها بالكامل.

الجدول ( ): تأثير Kin BA MS الصلب على عدد الأجنة النامية من البذور بعد ستة أسابيع من الزراعة

تركيز Kin + BA /	معدل عدد الأجنة النامية /			Kin+BA
		طولياً	عرضياً	
. + .	. bc*	. be	. dg	. bc
. + .	. a	. b	. bc	. a
. + .	. b	. bd	. bd	. b
. + .	. bc	. cf	. gi	. c
. + .	. bcs	. gi	. gi	. d
. + .	. cf	. i	. eh	. d
. + .	. eh	. i	. hi	. e
. + .	. fi	. i	. i	. e
طريقة	. a	. b	. b	.

* الأرقام التي تحمل أحرف متشابه لا تختلف معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود على مستوى احتمال .
* كل قيمة في الجدول ء نباتية.

فيما يخص البذور المزالة الغلاف بالكامل، تشير البيانات إلى أن البذور المزروعة على وسط يحتوي ١ ملغم/لتر Kin قد أعطت افضل النتائج إذ بلغ عدد الأجنة النامية من كل بذرة ٢.٦٠ في مقابل ١.٧٥ لمعاملة المقارنة في حين أدى إضافة BA لوحده وعند التركيز ٣ /لتر إلى تثبيط نمو الأجنة بالمقارنة مع المعاملات الأخرى ، علما بان مثل هذا التأثير التثبيطي للـ BA على نمو الفروع والأوراق للحمضيات قد لوحظ من قبل Salman ( ) Al-Bahrany Al-Khayri ( )

استخدام التراكيز العالية من BA Kin BA بتراكيز أعلى من الأخير أدى إلى إعطاء نتائج افضل من معاملة المقارنة علما بان النتائج المشجعة لمعاملة المقارنة ربما يعود سببه إلى دور الكلوتامين المستخدم بشكل ثابت في جميع المعاملات حيث ان عدد من الدراسات تشير إلى ضرورة إضافته إلى الأوساط الغذائية لتحفيز تكوين الأجنة الجسمية للجوز *Juglans regia* وبشكل مباشر اما من (McGranahan Tulecke ,) (Tulecke ,) .( )

ذكروا بان الكلوتامين ينشط نمو الاجنة ويعتبر من افضل انواع مصادر النيتروجين العضوي للاجنة في بعض الانواع النباتية مثل *Reseda odorata* .

تأثير تداخل BA و Kin في نمو البادرات :تشير البيانات في الجدول (٢) إلى نمو أجنة البذور المنزوعة الغلاف وتكوينها بادرات اختلفت في صفاتها المدروسة حسب نوع المعاملة التي زرعت فيها حيث لوحظ بان البادرات النامية في المعاملات التي احتوت السايتوكاينينات أعطت سيقان اكبر طولاً من معاملة المقارنة التي خلت من السايتوكاينينات نهائياً. وكانت افضل المعاملات هي تلك التي احتوت التداخلات Kin + BA بالتراكيز + . . + . /لتر إذ بلغ طول الساق . . سم على التوالي، مقارنة مع معاملة المقارنة التي بلغ طول الساق فيها . (الشكلين ,).

الجدول ( ): تأثير تداخل BA Kin على صفات البادرات النامية من البذور المنزوعة الغلاف MS ستة أسابيع من الزراعة

تركيز Kin+BA /	± القياسي SD	± الانحراف القياسي SD	معدل عدد الأوراق النامية ± الانحراف القياسيSD	النامية على الساق ± القياسيSD
. + .	. ± .	. ± .	. ± .	. ± .
. + .	. ± .	. ± .	. ± .	. ± .
. + .	. ± .	. ± .	. ± .	. ± .
. + .	. ± .	. ± .	. ± .	. ± .
. + .	. ± .	. ± .	. ± .	. ± .
. + .	. ± .	. ± .	. ± .	. ± .
. + .	. ± .	. ± .	. ± .	. ± .
. + .	. ± .	. ± .	. ± .	. ± .

* كل قيمة في الجدول اجزء نباتية.

إن تأثير BA Kin أو متداخلين مع بعض في زيادة طول الساق يعود إلى الدور المهم الذي تلعبه السايتوكاينينات في زيادة تخليق RNA والبروتينات والأنزيمات داخل الخلية (والشوبكي،٢٠٠٢) و هذا يتفق مع ما وجده عدد من الباحثين من ان استخدام السايتوكاينينات بشكل مستقل او متداخل مع الاوكسينات عند إكثار الحمضيات خارج الجسم الحي يحسن النمو الخضري . فقد ذكر Al-Khayri و Al-Bahrany(٢٠٠١) في دراستهما على عقد ليمون البنزهير *Citurs aurantifolia* باستخدام BAP و Kinو IBA بشكل منفرد او مجتمع الى ان افضل استطالة للفروع حصلت باستخدام BAP و Kin مجتمعا و بتركيز ٠.٢٥ +١ملغم/لتر , على التوالي مقارنة مع استخدام كل منهم على حدة . كذلك أشار الحافظ (٢٠٠٤) إلى أن افضل استطالة للفروع النامية من عقد البرتقال حدثت باستخدام BA و Kin يز + . / Kin BA كل على حدة و بتركيز / .

يلاحظ من الجدول إن إضافة Kin إلى وسط الزراعة بتركيز /لتر أدى إلى الحصول على . سم وانحدرت هذه القيمة إلى ٠.٨٣ عند إضافة ٣ ، / ـ BA في حين سبب زيادة تركيز BA ونقصان تركيز Kin في الوسط إلى تقليل طول الجذور بشكل عام .ان ضعف تأثير السايتوكاينينات المدروسة على نمو وتطور الجذور قد يعود الى ان السايتوكاينينات تحفز النمو الخضري عموماً وهذا ما يدفع معظم الباحثين إلى استخدامها في مرحلة النشوء والتضاعف . واستبعادها في مرحلة التجذير لصالح الاوكسينات التي تلعب الدور الأكبر والأكثر أهمية في نشوء الجذور وتطورها اللاحق وهذا ما اعتمد مع الحمضيات من قبل الباحثين (Grinblat ١٩٧٢و Moore ١٩٨٦و Singh ١٩٩٤،و Al-Khayri Al-Bahrany).

وتشير البيانات إلى ان إضافة Kin لوحده إلى وسط زراعة البذورأو متداخل مع BA أوراق اكبر من معاملة المقارنة التي خلت من السايتوكاينين نهائياً والذي قد يعود سببه إلى دور السايتوكاينين في تحسين النمو الخضري والتضاعف للأجزاء النباتية المزروعة في حين سبب استخدامBA لوحده بتركيز

٣ ملغم/لتر الى تقليل عدد الاوراق المتكونة على الساق مقارنة مع معاملة المقارنة والذي ربما يعود سببه إلى ارتفاع تركيزه خاصة وان عدد من الباحثين أشاروا الى مثل هذا الدور التثبيطي للـ BA في نمو واستطالة الفروع والأوراق للحمضيات عند استخدامه بتراكيز عالية ٣.٥ ملغم/لتر (Salman واخرون ١٩٩٤) / (Al-Bahrany Al-Khayri).

كذلك اختلفت تداخلات BA و Kin في قدرتها على تحفيز نمو البراعم الابطية لسيقان البادرات حيث فشلت كل من معاملة المقارنة والمعاملة التي احتوت Kin لوحده بتركيز ٣ ملغم/لتر تماماً في تحفيز نمو البراعم الجانبية في حين ادت المعاملات الاخرى الى تكوين فروع اختلفت اعدادها حسب نوع المعاملة لكن كان افضلها تلك التي زاد فيها تركيز BA على Kin . وكانت افضل المعاملات هي التي احتوت BA + Kin بتركيز ٢.٥ + ٠.٥ ملغم/لتر ، اذ بلغ عدد الفروع النامية على الساق ٢.٢٩ فرع (الشكل٦) ومن ثم تلتها المعاملة التي احتوت ٣ ملغم/لتر BA لوحده وبلغ عدد الفروع فيها ٢.١٧ لكل ساق . ان النتائج التي تم الحصول عليها تبين بان BA اكثر فعالية من Kin في كسر السيادة القمية وتحفيز نمو البراعم الابطية والتضاعف وهو نفس السلوك الذي وجده Hosni واخرون (٢٠٠٠) على نبات الليمونيوم *Limonium sinmuatum* وسلمان والدباغ (٢٠٠٠) على نبات البشملة *Eriobtrya japonica* وحميد واخرون( ) على نبات الفستق *Pistacia vera* والذي ربما يعود سببه الى ان BA يحوي سلسل جانبية ذات ثلاث اواصر مزدوج في حين Kin يحوي اصرتين مزدوجتين حيث تزداد فعالية السايتوكانينات بزياده عدد الاواصر المزدوجه في السلسله الجانبية (Krishnamoorthy).

تاثير تداخل BA و Kin في نشوء البراعم العرضية: حدث تكوين براعم عرضية من البذور المنزوعة الغلاف المزروعة في جميع تداخلات BA و Kin وبدرجات متفاوته لكن كان افضلها في المعاملات التي Kin + BA بتركيز ١.٥ + ١.٥و ٢.٠+ ١.٠و ٢.٥ + ٠.٥ ملغم/لتر ، على التوالي ، اذ بلغت نسبة البذور التي حدث فيها نشوء براعم عرضية ٨٠٪ مقارنة مع عدم تكون اي براعم عرضية في معاملة Kin BA كل على انفراد وكان اكبر عدد للبراعم في المعاملة التي احتوت التداخل . + . ملغم/لتر من السايتوكاينينات حيث بلغ عددها . برعم/لكل بذرة كونت براعم عرضية ( ).

الجدول ( ) : تاثير تداخل BA Kin على نشوء البراعم العرضية اتجة من البذور MS ستة اسابيع من الزراع

تركيز Kin + BA /	عرضية	براعم عرضية	عدد البراعم العرضية/ براعم عرضية ± القياسيSD
. + .			. ± .
. + .			. ± .
. + .			. ± .
. + .			. ± .
. + .			. ± .
. + .			. ± .
. + .			. ± .
. + .			. ± .

ان فعالية السايتوكاينينات في احداث ونشوء البراعم وتضاعفها معروفة وقد استخدمت من قبل العديد من الباحثين مع الحمضيات عند اكثارها خارج الجسم الحي فقد ذكر Singh و اخرون (١٩٩٤) بانه استخدم NAA+Kin+BAP من اجل إحداث التضاعف لبراعم الليمون الحامض المحلي وحصل على افضل النتائج باستخدام التراكيز ١.٠+٠.٥+٠.٥ملغم/لتر , على التوالي كما ان Al-Khayri و Al-Bahrany (٢٠٠١) استخدموا Kin + BAP بتراكيز مختلفة من اجل احداث التضاعف في عقد ليمون البنزهير وتوصلوا إلى افضل النتائج باستخدام التراكيز ١.٠+٠.٥ ملغم/لتر , والذي أعطى ثمانية فروع لكل عقدة كذلك أشار الحافظ (٢) إلى ان متوسط نشوء التفرعات العرضية لعقد النارنج و البرتقال كان BA+Kin معا مقارنة مع استخدام كل منهم على حدة وكان افضل تداخل هو باستخدام . / . + .

بعد مرور ستة أسابيع من الزراعة لوحظ تكون أجنة صغيرة (مبادئ اجنة) وبدرجات مختلفة من النمو والتطور لكن جميعها خلت من الجذور في حينها وأحتوت إما فلق صغيرة أو فلق ورويشات لم يزد طولها عن ٢ ملم من البذور المنزوعة الغلاف (الشكل ٧) وفي بعض الأحيان تكونت الأجنة من الجزء الداخلي لأغلفة البذور المشقوقة الغلاف طوليا او عرضيا( ) .

سابيع من نقل النباتات الناتجة من نمو الاجنة الى وسط رمل البناء وازالة النايلون عنه ( ).

PROMOTION OF EMBRYOS GROWTH FOR IN VITRO CULTURED SEEDS OF LOCAL *Citrus limon* L. BRUM. F.

Ammar Zeki Kassab-Bashi
Hort. Dept., College of Agric. & Forestry, Mosul Univ., Iraq.

ABSTRACT

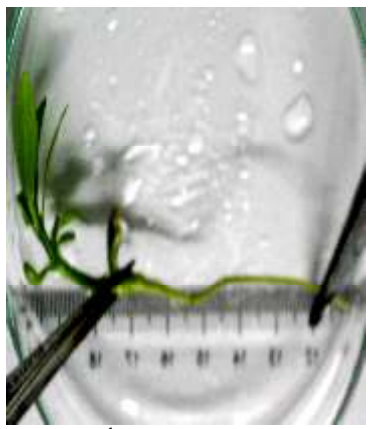
In this study seeds of local lemon were cultured in solidified Murashige and Skoog medium in order to examine the effect of combining Benzyladenine (BA) and Kinetin (Kin), in different concentration on the growth of embryos with / without seed coat. Favorable results were obtained after 6 weeks from seeds without seed coat comparably with seeds with seed coat, embryos growth from seeds without seed coat was in different degrees, were as, optimum results obtained in treatment containing Kin alone 3mg/L, average number of seedling from each seed 2.6 compared with 1.75 of control treatment (completely without cytokinins). The individual or combined use of BA and Kin caused increasing seedling steam length of seeds without seed coat compared with control treatment, while increasing root length when treated with Kin alone at concentration of 3mg/L .The subsequent use of BA and Kin at concentration of 2.5+0.5 mg/L caused elongation highest number of lateral buds of seedling which 2.29. When highest number of adventitious bud (80 %) occurred in treatment seeds without seed coat containing BA and Kin at concentration 1.5 mg/L for each one that was 2.13 buds from every seed.

الشكل (١) بذور منزوعة الغلاف بالكامل في وسط يحوي ٣ ملغم/لتر Kin

الشكل(٢) بذور مشقوقة الغلاف طوليا في وسط يحوي ٣ ملغم/لتر Kin

الشكل (٣) بذور مشقوقة الغلاف عرضياً في وسط يحوي ٣

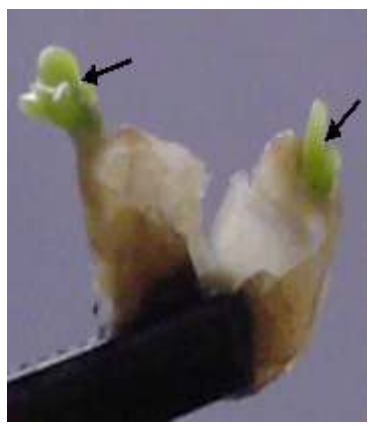
الشكل (٤) نمو وتطور الأجنة إلى بادرات في وسط خالي من السايتوكاينيات



الشكل (٥) نمو وتطور الأجنة إلى بادرات في وسط يحوي ٣ ملغم/لتر Kin

الشكل (٦) نمو البراعم الابطية لساق البادرات في وسط يحوي BA + Kin بتركيز ٢.٥+٠.٥ملغم/لتر

الشكل (٧) مبادئ أجنة في وسط يحوي Kin + BA بتركيز ١.٥ملغم/لتر لكل منهم



الشكل (٨) : نمو الأجنة من غلاف البذرة في وسط يحوي ٣ ملغم/لتر Kin

الشكل (٩) نجاح نمو النباتات بعد النقل إلى رمل البناء

* (-) أسابيع ومزروعة في الوسط الغذائي MS .

* ( ) أسابيع من النقل الى رمل البناء.

المصادر

( ) تحفيز نشوء التفرعات العرضية في عقد وسلاميات النارنج والبرتقال المزروعة خارج الجسم الحي باستعمال الكاينتين و البنزل ادنين. مجلة العلوم الزراعية العراقية ( ) : - .

الحديدي، محمد علي حسين ( ). تجارب في زراعة الانسجة النباتية. دار الفكر للطباعة والنشر والتوزيع. . .

حميد, , ( ) . *Pistacia vera* L خضريا باستخدام زراعة الانسجة . -انشاء الزروعات و التضاعف الخضري . الزراعية العراقية ( ): - .

الخفاجي، مكي علوان و فيصل عبد الهادي المختار ( ) .انتاج الفاكهة والخضر وزارة التعليم العالي و , . بيت الحكمة .

,خاشع محمود و عبد العزيز محمد خلف الله ( ) تصميم و تحليل التجارب الزراعية . . .

الرفاعي، محمد عبد الرحيم توفيق و سمير عبد الرزاق الشوبكي ( ). تقنيات القرن لتحسين النبات، . مدينة النصر. القاهرة.

الكناني، فيصل رشيد ناصر ( ). زراعة الانسجة والخلايا النباتية. لميم العالي والبحث . .

سلمان، محمد عباس ( ). اساسيات زراعة الخلايا والانسجة النباتية . وزارة التعليم العالي والبحث . . .

سلمان, محمد عباس و فرقد محمد الدباغ ( ) . الاكثار الخضري لأشجار البشملة *Eriobotrya japonica* Lindle باستخدام تقنية زراعة الانسجة ١- انشاء الزروعات . مجلة الزراعة العراقية ( ): - .

, محمد عباس، لمياء خليفة جواد ومبشر صالح عمر ( ). تاثير NAA BA الزروعات وتضاعف الافرع لنوعين من الحمضيات خارج الجسم الحي. مجلة العلوم الزراعية. ( ) : – .

Al-Khayri, J. M. and A. M. Al- Bahrany (2001). In vitro micropropagation of *Citrus aurantifolia* (lime). Plant Tissue Cult. 12 (2) : 167-172.

Grinblat, U. (1972). Differentiation of *Citrus* stem In vitro. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 97 (5) : 599 – 603.

Grosser , J.W. and J.L. Chandler (1986) . In vitro multiplication of *Swingle citrumelo* rootstock with coumarin . HortScience . 21(3): 518-520.

Hartmann ,H. T., D. E. Kester, F. T. Davies , Jr, R. L. Geneve(2002). Plant Propagation Principles and Practices . 7th edition prentice Hall , Upper Saddle , New Jersey 07458 .

Hosni,A. M. ,Y.A.Hosni and M.A.Ebrahim (2000) In vitro micropropagation of *Limonium sinnuatum* "Citron Mountain" A hybrid statice newly introduced in Egypt. Annls Agric. Sci. 45(1):327-339.

Krishnamoorthy, H. N. (1981). Plant Growth substances Including Application in Agriculture. Tata McGraw Hill, New Delhi P:214

Miah, M. N., S. Islam and S. Hadiuzzaman (2002). Regeneration of plantlets through somatic embryogenesis from nucleus tissue of *Citrus macroptera* Mont. Var. anammensis (Sat kara). Plant Tissue Cult,. 12 (2): 167 – 172.

Moore, G. A. (1986). In vitro propagation of citrus rootstocks. HortScience 21 (2): 300 – 301.

Murashige T.and F. Skoog (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay with tissue culture. Physiologia Plantarum 15: 473 – 497.

Navarro, L. (1984). *Citrus* tissue culture. In: Micropropagation of selected root Crops, Palms, *Citrus* and Ornamental species. FAO plant production and protection paper. 59 : 155 – 176.

Obukosia, S. D. and K. Watthaka (2000). Nucellar embryo culture of *Citrus sinensis* L. and *Citrus limon* L. African Crop Science J. 8 (2): 109 – 116.

Ranga Swamy, N.S. (1958). Culture of nucellar tissue of *Citrus* in vitro. Experieanta 14:11-12.

Ricci, A. P., F. A. Alves Mourao Filho, B. M. Januzzi mendes and S.M. Piedade (2002). Somatic embryogenesis in *Citrus sinensis*, *C. reticulata* and *C. nobilis* X *C. deliciosa*. Sci. Agric. (Piracicaba, Braz). 59 (1)

Salman, M. A., M. A. Hani. And S. M. Bader (1994). In vitro shoot multiplication of sour orange *Citrus aurantium* L. buds. The Iraqi J. of Agriculture Scinces 25 (1): 42 – 51.

Singh, S., B. K. Rays, S. Bhattacharyya, and P. C. Deka (1994). In vitro propagation of *Citrus reliculata* Blanco and *Citrus limon* Burm f.HortScience. 29(3):214-216.

Tulecke, W.and G. McGranahan (1985) .Somatic embryogenesis and plant regeneration from cotyledons of walnut, *Juglans regria* L. Plant Science, 40:57-63 .

Tulecke, W., G.McGranahan, H. Ahmade (1988) Regeneration by somatic embryogenesis of triploid plants from endosperm of walnut, *Juglans regia* L. cv Manregian. Plant Cell Reports 7:301-304 .