مجلة جامعة كركوك للعلوم الزراعية ... المجلد (9) العدد (4) 2018
Journal of kirkuk University for Agricultural Sciences ...Vol (9) No. (4) 2018

أنتاج البذور الصناعية لنبات اللوز *Prunus amygdalus* صنف محلي خارج الجسم الحي

وسام خزعل خالد[1] عمار زكي قصاب باشي[1]

- [1] جامعة الموصل – كلية الزراعة والغابات
- تاريخ تسلم البحث 2014/11/26 وقبوله 2017/10/3

الخلاصة

درست أمكانية إنتاج بذور صناعية من نبات اللوز Prunus amygdalus L، صنف محلي باستخدام أطراف الأفرع والعقد المفردة (2-4) ملم وذلك من خلال تغليفها بتراكيز مختلفة (1 و 2 و 3 و 4 و5٪) من الجينات الصوديوم Sodium alginate ومن ثم تقييم قدرتها على التحول الى نبيتات بعد خزنها في الظلام على درجة 4 أو25 م° لمدة 1 و 2 و3 شهر، بينت النتائج بعد مرور أربعة أسابيع من زراعة البذور المخزنة على وسط MS صلب خالٍ من منظمات النمو، تفوق البذور المغلفة بتركيز 4% ألجينات الصوديوم معنوياً في النسبة المئوية لتحول البذور الى نبيتات على البذور المغلفة بالتراكيز الأخرى المدروسة أذ أعطت نسب تحول بلغت 67،46% و 67،36% لكل من أطراف الأفرع والعقد المفردة على التوالي، من جهة أخرى تفوقت البذور المخزنة عند 4 م° على مثيلاتها المخزنة في حرارة الغرفة (25 م°) أذ أعطت نسب تحول بلغت 35% و5،22% للبذور المنتجة من أطراف الأفرع و5،27% و 17،19% للبذور المنتجة من العقد المفردة، كذلك بينت الدراسة انخفاض النسبة المئوية لتحول البذور مع طول مدة التخزين أذ بلغت أعلاها 25،36% و5،32% لكل من بذور أطراف الأفرع والعقد المخزنة لمدة شهر وأدناها 25،21 لبذور أطراف الأفرع المخزنة لمدة شهرين و5،17 لبذور العقد المخزنة لمدة 3 أشهر، أما فيما يخص معاملات التداخل مابين العوامل المدروسة، أظهرت الدراسة بأن البذور المجهزة من تغليف أطراف الأفرع بـ 4% الجينات الصوديوم أعطت أعلى نسبة تحول 80% وذلك عند خزنها على 4 م° لمدة 3 أشهر.
الكلمات المفتاحية : نبات اللوز، البذور الصناعية، الجسم الحي،

Production of synthetic seeds in almond plan *Prunus amygdalus* (local type) *In Vitro*

Wisam Khazaal Khalid[1] Ammar Zeki Ameen Kassab[1]

- [1] **University of Mosul - College of Agriculture**
- Date of research received 26/11/2014 and accepted 3/10/2017

Abstract

A study was conducted to investigate the possibility of producing synthetic seeds of almond *Prunus amygdalus* L, plant (local type) by encapsulated shoot tips and single node (2-4 mm) as explants with different concentrations (1, 2, 3, 4 and 5%) of sodium alginate (SA) and then evaluate its ability to conversion to plantlets after stored in the dark at 4 ° or 25 ° C for 1, 2 and 3 months, The results showed after four weeks of planting stored seeds on MS solid medium free of growth regulators, seeds coated with concentration of 4% sodium alginate was moral superiority in the percentage of seeds conversion into plantlets comparing with other coated seeds and other different concentrations studied which gave conversion ratios reached to 46,67% and 36,67% for each of the shoot tips and single node respectively, On the other hand outperformed seeds stored at 4 ° C to those stored at room temperature (25 m °) which gave conversion ratios reached to 35% and 22,5% of the seeds produced by the shoot tips and to 27,5% and 19,17% of the seeds produced from the single node، The study also showed decrease of the conversion percentage of seeds with the length of the storage period، reaching the highest 36,25% and 32,5% for each of the seeds produced from the shoot tips and single node which stored for a month and the lowest 21,25 to the seeds produced from the shoot tips which stored for two months، and 17,5 for the seeds which produced from single node stored for a period of 3 months With regard to the interaction treatments between the studied factors, the study showed that the seeds which produced by encapsulated shoot tips with 4% sodium alginate gave the highest percentage of 80% and conversion when stored at 4 ° for 3 months،
Key word: Almond, Synthetic seeds, In Vitro.

المقدمة

يعد نبات اللوز *Prunus amygdalus* Batsch أحد نباتات العائلة الوردية Rosaceae ضمن الجنس *Prunus*، واحداً من أهم نباتات الفاكهة أذ تحتل زراعته مراتب متقدمة عالمياً مابين أشجار الفاكهة وذلك لطبيعة حمله الغزير وإمكانية تصنيع ثماره فضلاً عن قيمته الغذائية العالية (Ladizinsky ، 1999)، يعد إنتاج البذور الصناعية Synthetic (Artificial) seeds أحد التقانات المهمة للزراعة النسيجية كونها تجمع بين فوائد الأكثار السلالي السريع من جهة وفوائد الأكثار بالبذور من جهة أخرى كسهولة الخزن والتداول والنقل والتسويق والوقاية من الأمراض والحشرات، (Lambardi وآخرون ، 2006)، هناك عدة عوامل تؤثر بشكل كبير في أنتاج البذور الصناعية وتحولها (Conversion) اللاحق الى نبيتات كاملة منها نوع المادة المغلفة وتركيزها المستخدم في تغليف الجزء النباتي ففي دراسة أجريت من قبل Soneji وآخرون (2002) لتغليف القمم النامية لنبات الأناناس (*Ananas comosus* L.، Merr) باستخدام تركيزين (3 و 4) ٪ من الجينات الصوديوم الى تفوق البذور المغلفة بتركيز 3 ٪ في نسبة الأنبات (100٪) مقابل 33،33٪ للبذور المغلفة بتركيز 4٪ ، أما Mondal وآخرون (2002) بينوا في دراستهم لتغليف عقد نبات الشاي (*Camellia sinensis* L.) باستخدام عدة تراكيز (2، 3 ، 4 ، 5 أو 6) ٪ من الجينات الصوديوم بأنّ التركيز 4٪ كان الأفضل، وساعد في الحصول على تماثل كبير بين البذور المنتجة مقارنة مع بقية التراكيز المدروسة

من جهة أخرى بينت الدراسات السابقة إمكانية استخدام اجزاء نباتية مختلفة لأنتاج البذور الصناعية أذ نجحت العديد من الدراسات في انتاج البذور الصناعية لنبات التفاح من البراعم الطرفية والجانبية (Piccioni و Standardi ، 1998 ; Piccioni ، 1997 ; Capuano وآخرون 1998 ; Sicurani وآخرون 2001 ; Brischia وآخرون 2002) أما Naik و Chand فنجحا في أنتاجها لنبات الرمان من العقد (Naik و Chand ، 2006) في حين أستخدم Onay الاجنة الجسمية لأنتاجها من نبات الفستق (Onay ، 1996) وهنالك دراسات اشارت الى امكانية انتاجها من أطراف الأفرع لنبات الكمثرى *Pyrus communis* (Nower وآخرون 2007) ، وفي مقارنة أجراها Hung و Trueman (2012) مابين القمم النامية والعقد لإنتاج بذور صناعية لأشجار اليوكالبتوس أوضحت النتائج تفوق البذور المجهزة من القمم النامية على مثيلاتها المجهزة من العقد

تهدف الدراسة الى توضيح التركيز الأفضل من الجينات الصوديوم في انتاج البذور الصناعية لنبات اللوز صنف محلي من أطراف الأفرع أو العقد المفردة ومن ثم تقييم قدرة البذور المنتجة على التحول بعد خزنها على درجة 4 أو 25 م ° ولمدد تخزين مختلفة.

المواد وطرائق البحث

أجريت الدراسة في مختبر زراعة الأنسجة والخلايا النباتية - قسم البستنة وهندسة الحدائق - كلية الزراعة والغابات - جامعة الموصل على شتلات لوز (*Prunus amygdalus* L.) صنف محلي بعمر ثلاث سنوات نامية في الظلة الخشبية التابعة لقسم البستنة وهندسة الحدائق، جمعت فروع غضة حديثة النمو بطول 4-5 سم من شتلات جيدة النمو خالية من الأصابات المرضية والحشرية، نقلت الى المختبر، ثم أزيلت منها جميع الأوراق المتفتحة، وتركت تحت الماء الجاري لمدة 15 دقيقة للتخلص من الأتربة والمواد العالقة بها، بعدها نقلت الى منضدة انسياب الهواء الطبقي لأجراء عملية التعقيم السطحي، ثم وضعت الأجزاء النباتية في بيكر سعة 1 لتر، ثم تم غمرها في محلول كلوريد الزئبق $HgCl_2$ بنسبة 0،35٪ لمدة 2،5 دقيقة مع التحريك المستمر بأستخدام جهاز الدوارن المغناطيسي plat magnetic stirrer ، وبعد الانتهاء من عملية التعقيم غسلت الأجزاء النباتية بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات ولمدة 5 دقائق لكل مرة، لإزالة التأثير الضار للمادة المعقمة (العنزي ، 2005)، بعدها نقلت الى أطباق بتري معقمة، وأزيلت نهاياتها المجروحة التي كانت ملامسة لمادة التعقيم، ثم قطعَ الجزء الباقي من الفروع الى عقل عقدة مفردة Single node cutting بطول (1-2،1) زرعت العقل على وسط MS مجهز بـ 1 ملغم / لتر BA و 0،01 ملغم / لتر IAA (تجارب أولية غير منشورة) بعدها حضنت الزروعات في غرفة النمو عند درجة 25±1 م° وشدة أضاءة 2000 لوكس لمدة 16 ساعة ضوء و8 ساعة ظلام / يوم ولمدة ثمانية أسابيع أعيدت خلالها زراعة النبيتات الى وسط جديد بعد مرور أربعة أسابيع من بدء الزراعة وذلك للحصول على مزارع أمهات نسيجية كافية لتنفيذ تجارب أنتاج البذور الصناعية ودراسة أمكانية تخزينها على درجات حرارة مختلفة ولمدد مختلفة في نسبة تحولها الى نبيتات كاملة بعد التخزين وذلك من خلال زراعتها على وسط MS الصلب الخالي من منظمات النمو.

شملت التجارب دراسة مايلي :

1- تأثير الجزء النباتي (طرف فرع بطول 2-3 ملم أو عقدة مفردة بطول 3-4 ملم)،
2- تأثير تراكيز مختلفة (1 و 2 و 3 و 4 و5٪) من مادة الجينات الصوديوم Sodium alginate (SA)،
3- تأثير درجة حرارة الخزن 4 أو25 م° ،
4- تأثير مدة الخزن (1 و 2 و 3) شهر ،

تم إنتاج البذور الصناعية تبعاً للخطوات الآتية (شكل 1) :

1- تحضير محاليل من مادة ألجينات الصوديوم (SA) بتراكيز (1 ، 2 ، 3 ، 4 ، 5) ٪ عن طريق إذابة (10 ، 20 ، 30 ، 40 ، 50) غم من هذه المادة في دوارق سعة 1000 مل، ثم إكمال حجمها الى لتر واحد من وسط MS السائل (خالي من مادة

كلوريد الكالسيوم المائي ($CaCl2،2H_2O$) ومجهز بـ 30 غم / لتر سكروز مع التحريك المستمر باستخدام جهاز الدوارن المغناطيسي ذي الصفيحة الساخنة Hot plat magnetic stirrer ، تم تعديل الدالة الهيدروجينية للمحاليل (PH) عند 7،5 ± 1،0 ثم عقمت بواسطة جهاز التعقيم (المؤصدة) على درجة حرارة 121مْ وضغط 1،04 كغم / سم2 لمدة 20 دقيقة بعدها حفظت المحاليل في الثلاجة لحين الاستعمال

2- تحضير 100 ملي مولار من كلوريد الكالسيوم المائي $2H_2O$،CaCl2 ذي الوزن الجزيئي (147،01) غم/ مول ، لاستخدامه لاحقاً كعامل تصليب للبذور الصناعية بعد تغليفها بمادة الجينات الصوديوم (Asmah وآخرون ، 2011 ; Siong وآخرون ، 2012)، تم تحضيره بإذابة 7،14 غم من المادة في دورق سعة 1000 مل، ثم أكمال الحجم الى لتر واحد بإضافة وسط MS السائل مجهز بالسكروز تركيز 30 غم / لتر مع التحريك المستمر باستخدام جهاز الدوارن المغناطيسي ذي الصفيحة الساخنة، بعدها عدلت الدالة الهيدروجينية (PH) للمحلول 7،5 ± 1،0 ثم عقم المحلول بواسطة جهاز التعقيم (المؤصدة) على درجة حرارة 121مْ وضغط 1،04 كغم / سم2 لمدة 20 دقيقة، ثم حفظت المحاليل في الثلاجة لحين الأستعمال

3- استئصال القمم النامية والعقد النباتية من نباتات الأمهات النسيجية باستخدام ملاقط دقيقة وشفرات جراحية تحت المجهر الضوئي (Binocular Microscope)، إذ أزيلت الأوراق المحيطة بالقمة النامية وبالتعاقب، ثم استؤصلت أطراف أفرع بطول (2-3) ملم تحوي على 3-4 أزواج من بادئات الأوراق والعقد المفردة بطول (3-4) ملم، ثم نقلت القمم والعقد المستأصلة الى أطباق بتري مجهزة بوسط MS الصلب خالي من منظمات النمو

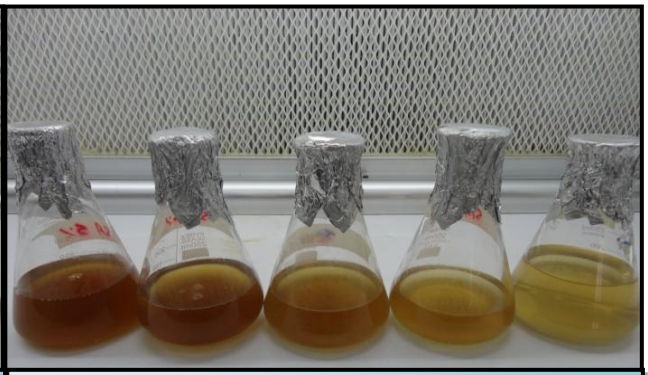
4- غلفت الأجزاء النباتية بموجب طريقة (Lambardi وآخرون ، 2006) إذ تم تعقيم الأدوات المستخدمة في عملية التغليف (الملاقط والبيكرات والمناخل واطباق بتري وورق نشاف والنهايات الطرفية للماصة الدقيقة Micropipette (الرأس البلاستيكية Tip) في جهاز التعقيم المؤصدة، وأجريت جميع العمليات داخل منضدة أنسياب الهواء الطبقي وذلك بإضافة 50 مل من محاليل الجينات الصوديوم (1، 2، 3، 4 و5)٪ الى بيكر سعة 150 مل (كل على حدى)، ثم تم نقل الأجزاء النباتية (القمم النامية ، العقد المفردة) كلاً على أنفراد الى محاليل الجينات الصوديوم وبعد ضمان تجانس الخلط بين المحاليل والأجزاء النباتية، تم سحب الأجزاء النباتية بواسطة ماصة دقيقة (Micropipette)، والتي قطعت فيها الرأس البلاستيكية Tip ليكون حجم قطرها الداخلي (5-6) ملم لضمان سحب الجزء النباتي بدون ضرر، تم سحب 200 مايكروليتر من خليط محلول ألجينات الصوديوم والأجزاء النباتية بحيث احتوت الكمية المسحوبة على جزء نباتي واحد (قمة أو عقدة)، أسقطت قطرات الجينات الصوديوم وبداخلها الجزء النباتي الى بيكر يحتوي 75 مل من محلول كلوريد الكالسيوم المائي $2H_2O$،CaCl2 (مجهز مسبقاً خطوة 2) لغرض تصليبها وبقيت فيه لمدة 20 دقيقة مع التحريك المستمر بواسطة الخلاط المغناطيسي، ثم أخرجت ووضعت في منخل معدني وغسلت بماء مقطر معقم 3 مرات لإزالة متبقيات $2H_2O$،CaCl2 العالقة، بعد ذلك نقلت البذور الى ورق نشاف في أطباق بتري داخل كابينة أنسياب الهواء الطبقي وتركت لمدة 10 دقائق من أجل تنشيفها، بعدها نقلت البذور الى أطباق بتري معقمة وأغلقت الأطباق بواسطة شريط البارافيلم، خزنت البذور الناتجة لمدة (1 ، 2 أو3) شهر في الظلام على درجتي حرارة (4 أو 25) مْ ، إذ وضعت أطباق المجموعة الأولى في ثلاجة ضبطت درجة الحرارة فيها على 4 مْ ، في حين وضعت أطباق المجموعة الثانية في غرفة النمو عند درجة حرارة 25±1 مْ ، أجريت التجربة باستخدام 10 مكررات لكل معاملة وجزء نباتي واحد لكل مكرر بعد انتهاء مدد الخزن (1، 2 و3) شهر، زرعت البذور الصناعية على وسط MS خالي من منظمات النمو لمدة شهر بعدها احتسبت النسبة المئوية للتحول Conversion (تحول البذور الى نبيتات) على أساس تشقق الغلاف ونمو فرع خضري واحد على الأقل من كل بذرة

النتائج والمناقشة

البذور الصناعية المجهزة من أطراف الأفرع :

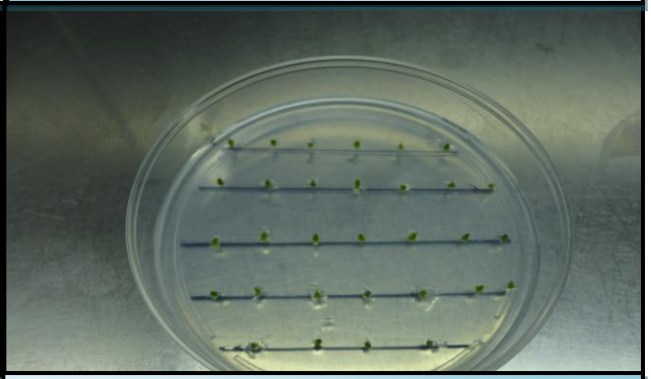
تأثير تراكيز الجينات الصوديوم في النسبة المئوية لتحول البذور:

أوضحت نتائج تحضير البذور الصناعية اختلاف تأثير تراكيز الجينات الصوديوم المدروسة في قدرتها على تجهيز البذور المثالية، إذ لم ينجح التركيز 1٪ في إعطاء بذور متماسكة، في حين أعطى التركيز 5٪ بذور غير منتظمة الشكل، من جهة أخرى أعطت التراكيز (2-4)٪ أشكالاً أفضل للبذور المصنعة (الشكل 2)

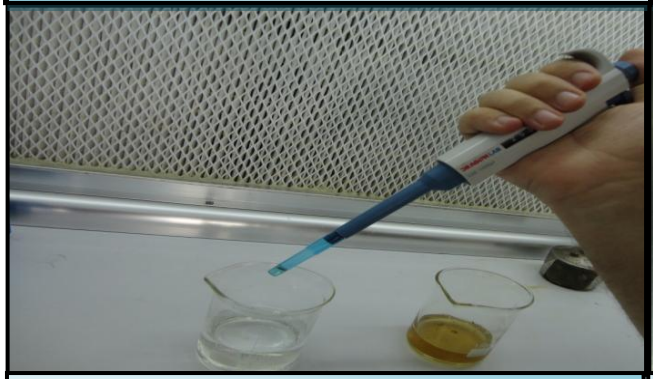


أ : تحضير محاليل الجينات الصوديوم بتراكيز مختلفة 1-5 ٪ .

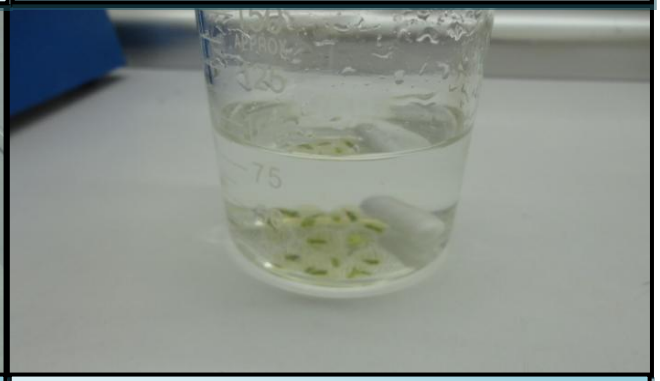
ب : تحضير محلول التصليب ($CaCl_2.2H_2O$) .



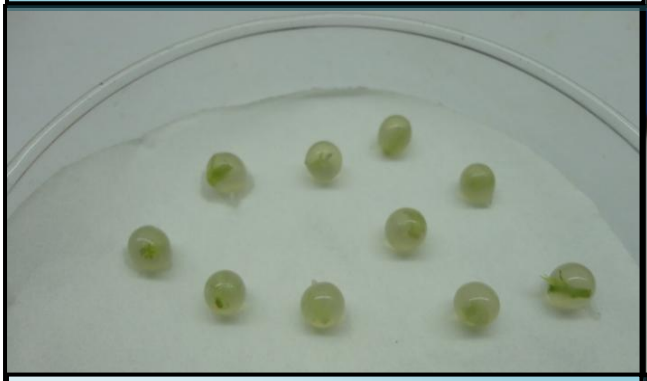
ج : تحضير الأجزاء النباتية .



د : غمر الأجزاء النباتية في محاليل الجينات الصوديوم.



ه: تصليب البذور الصناعية في محلول ($CaCl_2.2H_2O$) .

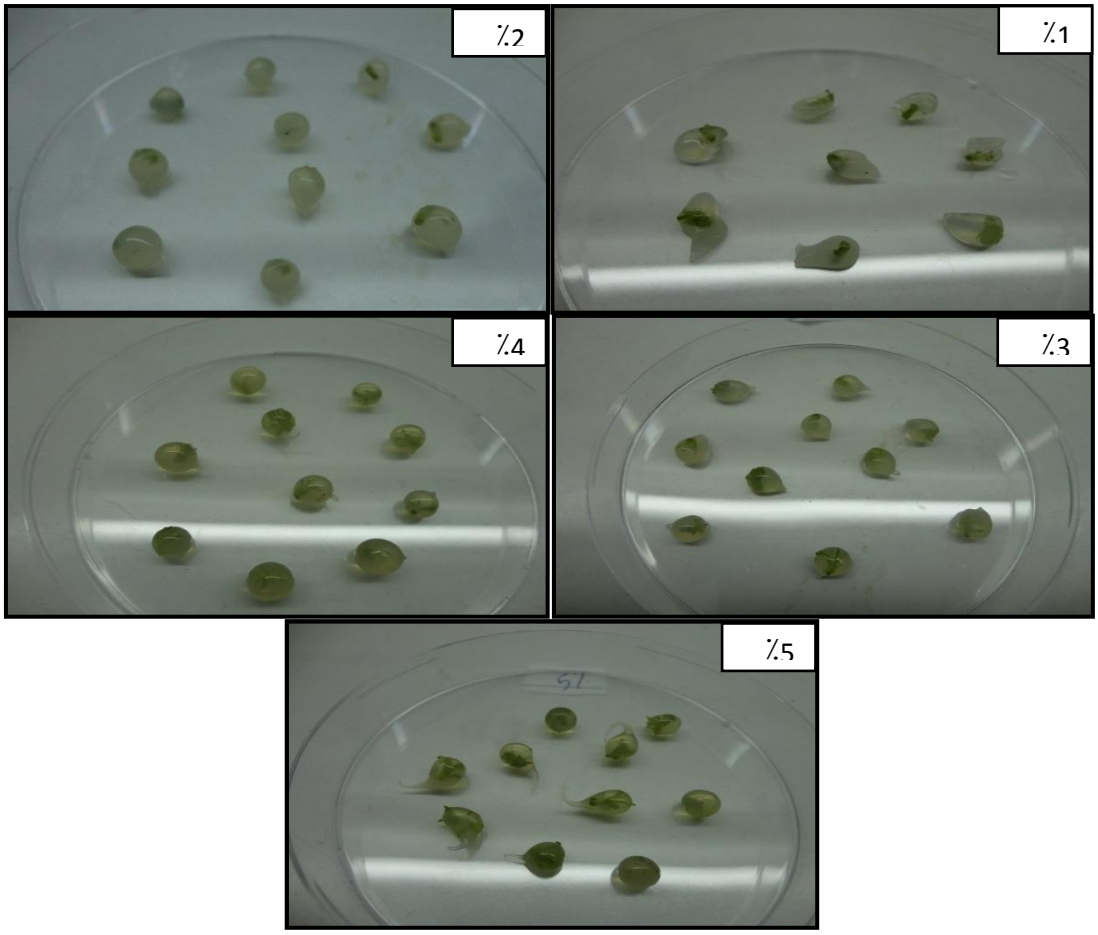


و: تنشيف البذور الصناعية على ورق نشاف .

ز: بذرة مصنعة من طرف فرع .

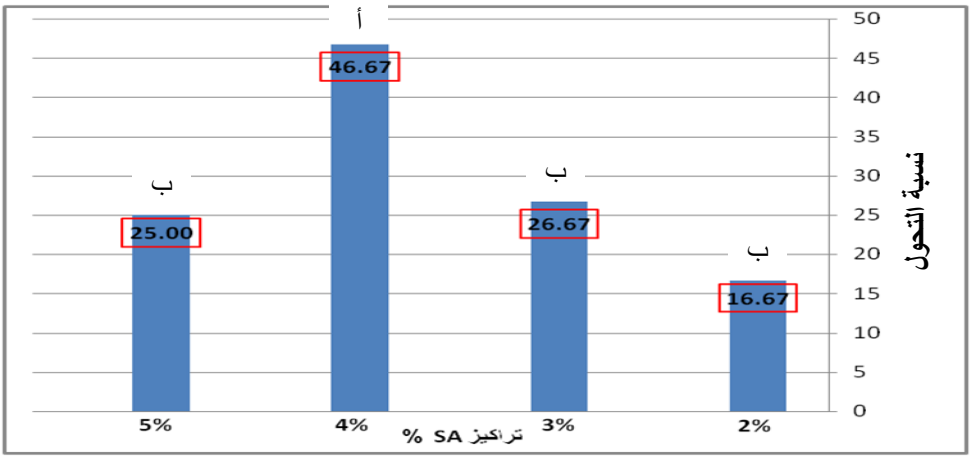
ح : بذرة مصنعة من عقدة مفردة .

الشكل (1) : خطوات أعداد البذور الصناعية .

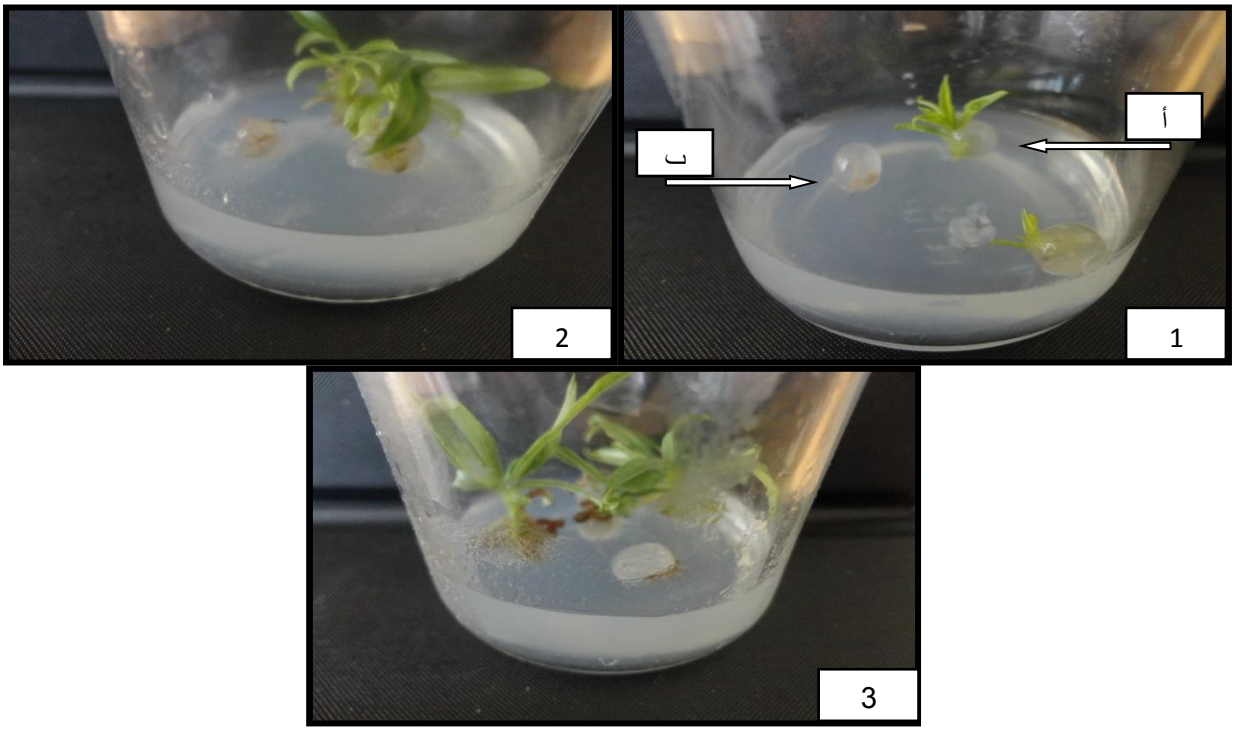


الشكل (2) تأثير تراكيز الجينات الصوديوم (SA) في شكل البذور الصناعية المنتجة .

تشير نتائج الشكل (3) الى وجود تأثير معنوي لتركيز الجينات الصوديوم (SA) المستخدمة لتغليف أطراف الأفرع في النسبة المئوية لتحول البذور الصناعية الى نبيتات بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة على وسط MS خالي من منظمات النمو، إذ يلاحظ تفوق التركيز 4٪ معنوياً على بقية التراكيز المدروسة من حيث النسبة المئوية لتحول البذور (67،46 ٪)، في حين لم تختلف بقية التراكيز عن بعضها معنوياً، من جهة أخرى تم الحصول على أقل نسبة تحول للبذور من استخدام الجينات الصوديوم بتركيز 2٪ وبلغت 67،16٪.



الشكل (3) تأثير تراكيز ألجينات الصوديوم في النسبة المئوية لتحول البذور الصناعية لأطراف أفرع نبات اللوز *Prunus amygdalus* صنف محلي الى نبيتات بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة على وسط MS.



الشكل (4) أنبات البذور الصناعية المجهزة من 4٪ الجينات الصوديوم على وسط MS الخالي من منظمات النمو وتطورها اللاحق الى نبيتات .

أ : بذور متحولة

ب : بذور غير متحولة .

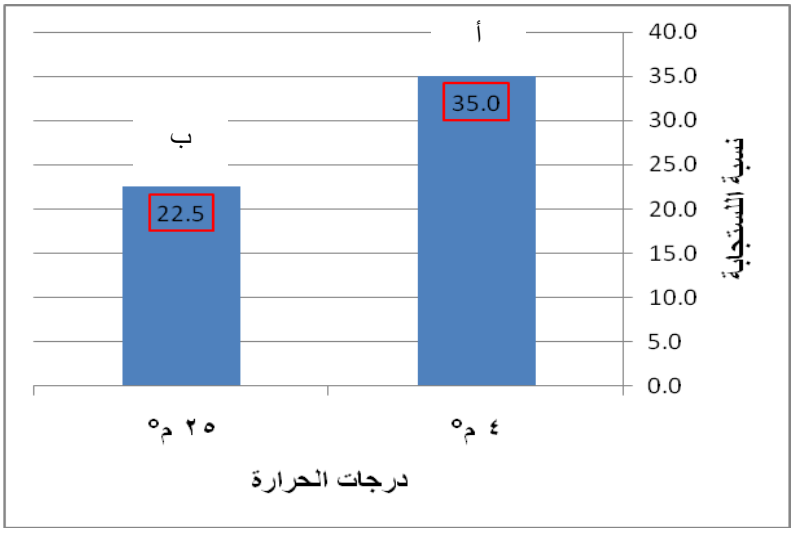
1: بعد 10 أيام من الزراعة على وسط MS الخالي من منظمات النمو .

2: بعد 20 يوم من الزراعة على وسط MS الخالي من منظمات النمو .

3: بعد 30 يوم من الزراعة على وسط MS الخالي من منظمات النمو .

تأثير درجة حرارة الخزن في النسبة المئوية لتحول البذور:

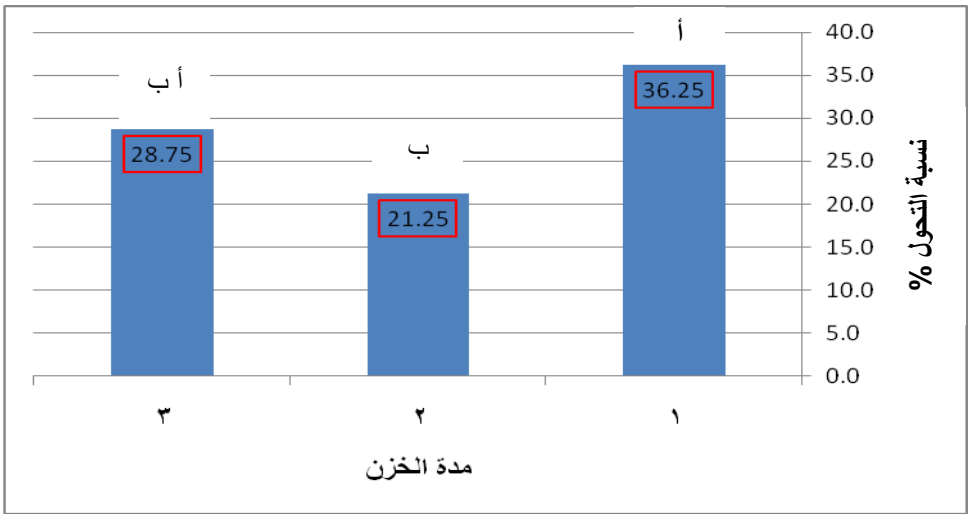
الشكل (5) يوضح تأثير درجات حرارة خزن البذور الصناعية لأطراف الأفرع (4 و25) م° في النسبة المئوية لتحولها الى نبيتات بعد مرور 4 أسابيع من زراعتها على وسط MS الخالي من منظمات النمو ، إذ يلاحظ تفوق البذور المخزنة على درجة 4 م° في النسبة المئوية للتحول الى نبيتات معنوياً على البذور المخزنة على 24 م° ، إذ أعطيتا نسب تحول بلغت معدلاتها 0،35 ٪ و 5،22٪ على التوالي ،



الشكل (5) تأثير درجة حرارة الخزن في النسبة المئوية لتحول البذور الصناعية لأطراف أفرع نبات اللوز *Prunus amygdalus* صنف محلى الى نبيتات بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة على وسط MS.

تأثير مدة الخزن في النسبة المئوية لتحول البذور:

بيانات الشكل (6) تشير الى تأثير مدة خزن البذور الصناعية (1 ، 2 و3) شهر في النسبة المئوية لتحولها الى نبيتات بعد مرور 4 أسابيع من زراعتها على وسط MS الخالي من منظمات النمو، أذ يلاحظ تفوق البذور المخزنة لمدة شهر معنوياً (25،36 ٪) على البذور المخزنة لمدة شهرين (25،21٪)، لكنها لم تختلف معنوياً عن النسبة المئوية لتحول البذور المخزنة لمدة 3 أشهر (75،28٪) والتي بدورها لم تختلف معنوياً عن معاملة التخزين لمدة شهر،



الشكل (6) تأثير مدة الخزن (شهر) في النسبة المئوية لتحول البذور الصناعية لأطراف أفرع نبات اللوز *Prunus amygdalus* صنف محلي الى نبيتات بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة على وسط MS.

تأثير تداخل تراكيز الجينات الصوديوم ودرجة حرارة الخزن في النسبة المئوية لتحول البذور:

تشير بيانات الجدول (1) إلى أن معاملة التداخل بين التركيز 4٪ من مادة الجينات الصوديوم مع درجة حرارة تخزين 4 م° سجلت أعلى النسب لتحول البذور الصناعية وبقيمة بلغت (6،56 ٪) متفوقاً معنوياً على باقي معاملات التداخل باستثناء معاملة التداخل بين نفس التركيز الجينات الصوديوم مع درجة حرارة تخزين 25م° (6،36٪)، في حين سجلت معاملة التداخل بين التركيز 2٪ الجينات الصوديوم مع التخزين عند درجة حرارة 25 م° أدنى نسب التحول (0،10٪)، ولم تختلف معنوياً عن معاملات التداخل الأخرى

الجدول (1) تأثير تداخل تراكيز الجينات الصوديوم ودرجات حرارة الخزن في النسبة المئوية لتحول البذور الصناعية لأطراف أفرع نبات اللوز *Prunus amygdalus* صنف محلي الى نبيتات بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة على وسط MS

درجة الحرارة (م°)	تراكيز SA ٪			
	2	3	4	5
	٪ للتحول			
4	3،23 ب ج	0،30 ب ج	6،56 أ	0،30 ب ج
25	0،10 ج	3،23 ب ج	6،36 أ ب	0،20 ب ج

* الأرقام ذوات الأحرف المتشابهة لتأثير كل عامل أو لتأثير التداخل لاتختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5 %.

تأثير تداخل تراكيز الجينات الصوديوم ومدة الخزن في النسبة المئوية لتحول البذور:

تشير بيانات الجدول (2) الى وجود اختلافات معنوية بين معاملات التداخل المختلفة في النسبة المئوية لتحول البذور الى نبيتات بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة على وسط MS خالي من منظمات النمو، إذ تم الحصول على أعلى نسبة مئوية لتحول البذور (55٪) من معاملة تداخل الجينات الصوديوم بتركيز 4٪ مع خزن البذور لمدة شهر والتي تفوقت معنوياً على عدد غير قليل من معاملات التداخل، لكنها لم تختلف معنوياً عن معاملات تداخل الجينات الصوديوم بتركيز 3٪ و5٪ مع شهر واحد تخزين، 4٪ الجينات الصوديوم مع 2 أو 3 شهر تخزين و2٪ الجينات الصوديوم مع 3 أشهر تخزين، علماً بأن أقل نسبة مئوية لتحول البذور (0،5٪) حصلت في معاملة تداخل 2٪ الجينات الصوديوم مع شهرين تخزين

الجدول (2) تأثير تداخل تراكيز الجينات الصوديوم ومدة الخزن (شهر) في النسبة المئوية لتحول البذور الصناعية لأطراف أفرع نبات اللوز *Prunus amygdalus* صنف محلي الى نبيتات بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة على وسط MS

مدة الخزن (شهر)	٪ للتحول			
	تراكيز SA ٪			
	2	3	4	5
1	0،15 ب ج	0،45 أ ب	0،55 أ	0،30 أ – ج
2	0،5 ج	0،15 ب ج	0،45 أ ب	0،20 ب ج
3	0،30 أ - ج	0،20 ب ج	0،40 أ ب	0،25 ب ج

* الأرقام ذوات الأحرف المتشابهة لتأثير كل عامل أو لتأثير التداخل لاتختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5 % ،

تأثير تداخل درجات حرارة الخزن ومدة الخزن في النسبة المئوية لتحول البذور:

تشير بيانات الجدول (3) الى وجود اختلافات معنوية بين معاملات التداخل بين مدد الخزن ودرجات حرارة الخزن، إذ يلاحظ ارتفاع النسبة المئوية لتحول البذور في معاملة التداخل 4 م° مع 3 أشهر خزن (5،57٪) متفوقة معنوياً على باقي معاملات التداخل باستثناء معاملة تداخل 25 م° مع شهر تخزين (5،42٪) ، في حين لم يلاحظ حدوث أي تحول لبذور معاملة تداخل 25 م° مع 3 أشهر تخزين

الجدول (3) تأثير تداخل درجات حرارة الخزن ومدة الخزن في النسبة المئوية لتحول البذور الصناعية لأطراف أفرع نبات اللوز *Prunus amygdalus* صنف محلي الى نبيتات بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة على وسط MS

مدة الخزن (شهر)	درجة الحرارة (م°)	
	4	25
	٪ للتحول	
1	0،30 ب ج	5،42 أ ب
2	5،17 ج د	0،25 ب ج
3	5،57 أ	0،0 د

* الأرقام ذوات الأحرف المتشابهة لتأثير كل عامل أو لتأثير التداخل لاتختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5 %.

تأثير تداخل تراكيز الجينات الصوديوم ، درجات حرارة الخزن و مدة الخزن في النسبة المئوية لتحول البذور:

من بيانات الجدول (4) يتضح بأن معاملة التداخل الثلاثي بين الجينات الصوديوم بتركيز 4٪ مع 4 م° لمدة خزن 3 أشهر نجحت في تسجيل أعلى نسبة مئوية لتحول البذور (80٪)، واختلفت معنوياً عن عدد غير قليل من معاملات التداخل الثلاثي، في حين لم تسجل معاملة التداخل بين جميع تراكيز الجينات الصوديوم مع 3 أشهر تخزين عند درجة حرارة 25 م° أية نسبة تحول للبذور

الجدول (4) تأثير تداخل تراكيز الجينات الصوديوم ، درجات حرارة الخزن ومدة الخزن في النسبة المئوية لتحول البذور الصناعية لأطراف أفرع نبات اللوز *Prunus amygdalus* صنف محلي الى نبيتات بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة على وسط MS

مدة الخزن (شهر)	درجة الحرارة (م°)	تراكيز SA (٪)			
		2	3	4	5
		التحول (٪)			
1	4	10،0 ج د	40،0 أ- د	50،0 أ- ج	20،0 ب- د
	25	20،0 ب- د	50،0 أ- ج	60،0 أ ب	40،0 أ- د
2	4	0،0 د	10،0 ج د	40،0 أ- د	20،0 ب- د
	25	10،0 ج د	20،0 ب- د	50،0 أ- ج	20،0 ب- د
3	4	60،0 أ ب	40،0 أ- د	80،0 أ	50،0 أ- ج
	25	0،0 د	0،0 د	0،0 د	0،0 د

* الأرقام ذوات الأحرف المتشابهة لتأثير كل عامل أو لتأثير التداخل لاتختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5 % ،

البذور الصناعية المجهزة من العقد :

تأثير تراكيز الجينات الصوديوم في النسبة المئوية لتحول البذور:

تشير نتائج الشكل (7) الى وجود تأثير معنوي لتركيز الجينات الصوديوم (SA) المستخدمة لتغليف العقد في النسبة المئوية لتحول البذور الصناعية الى نبيتات بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة على وسط MS خالي من منظمات النمو، إذ يلاحظ تفوق التركيز 4٪ معنوياً على بقية التراكيز المدروسة من حيث النسبة المئوية للبذور المتحولة (67،36 ٪)، في حين لم تختلف بقية التراكيز عن بعضها معنوياً، وتم الحصول على أقل نسبة تحول للبذور من المعاملة التي غلفت فيها العقد بـ2٪ من الجينات الصوديوم (0،15٪)

الشكل (7) تأثير تراكيز الجينات الصوديوم في النسبة المئوية لتحول البذور الصناعية لعقد نبات اللوز *Prunus amygdalus* صنف محلي الى نبيتات بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة على وسط MS.

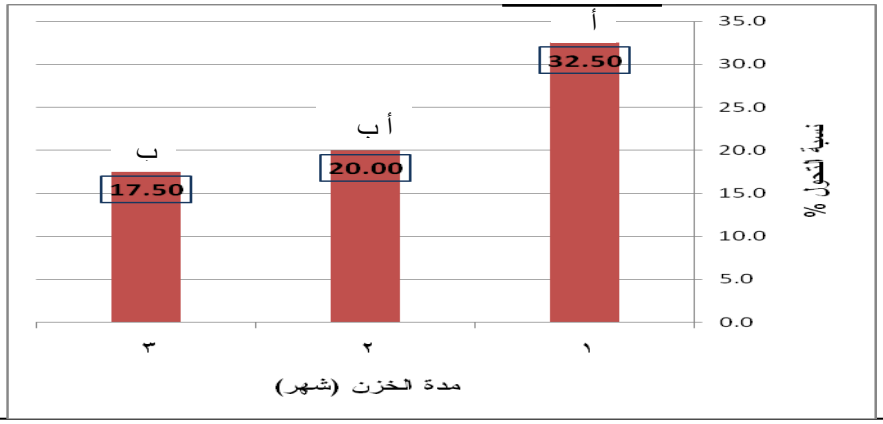
تأثير درجة حرارة الخزن في النسبة المئوية لتحول البذور:

يتضح من نتائج الشكل (8) عدم وجود فروقات معنوية بين درجات حرارة التخزين المدروسة (4 و25) م° في النسبة المئوية لتحول البذور الصناعية لعقد نبات اللوز صنف محلي الى نبيتات بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة على وسط MS الخالي من منظمات النمو، إذ بلغت نسبة التحول لهذه المعاملات 50،27 ٪ و17،19٪ على التوالي

الشكل (8) تأثير درجة حرارة الخزن في النسبة المئوية لتحول البذور الصناعية لعقد نبات اللوز *Prunus amygdalus* صنف محلي الى نبيتات بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة على وسط MS.

تأثير مدة الخزن في النسبة المئوية لتحول البذور:

بيانات الشكل (9) تشير الى تأثير مدة الخزن (1 ، 2 و3) شهر في النسبة المئوية لتحول البذور الصناعية لعقد نبات اللوز صنف محلي الى نبيتات بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة على وسط MS خالي من منظمات النمو، إذ سجلت معاملة الخزن لشهر واحد أعلى نسبة تحول (50،32 ٪)، ولم تختلف معنوياً عن معاملة الخزن لمدة شهرين 0،20٪، لكنها أختلفت معنوياً عن معاملة مدة الخزن 3 أشهر والتي سجلت أدنى نسب لتحول البذور (50،17٪) ولم تختلف بدورها معنوياً عن معاملة الخزن لمدة شهرين.



الشكل (9) تأثير مدة الخزن (شهر) في النسبة المئوية لتحول البذور الصناعية لعقد نبات اللوز *Prunus amygdalus* صنف محلي الى نبيتات بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة على وسط MS.

تأثير تداخل تراكيز الجينات الصوديوم ودرجة حرارة الخزن في النسبة المئوية لتحول البذور:

تشير بيانات الجدول (5) إلى أن معاملة التداخل بين التركيز 4٪ الجينات الصوديوم مع درجة 4 م° سجلت أعلى النسب لتحول البذور الصناعية (6،46 ٪)، وتفوقت معنوياً عن باقي معاملات التداخل باستثناء معاملة التداخل بين نفس التركيز مع درجة 25م°(6،26٪)، في حين أدت معاملة التداخل بين التركيز 2٪ مع درجة 25 م° الى تسجيل أدنى النسب (0،10٪) لقيم التحول ولم تختلف معنوياً عن باقي معاملات التداخل

الجدول (5) تأثير تداخل تراكيز الجينات الصوديوم ودرجات حرارة الخزن في النسبة المئوية لتحول البذور الصناعية لعقد نبات اللوز *Prunus amygdalus* صنف محلي الى نبيتات بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة على وسط MS

درجة الحرارة (م°)	تراكيز SA ٪			
	2	3	4	5
	٪ للتحول			
4	0،20 ب	0،20 ب	6،46 أ	3،23 ب
25	0،10 ب	3،23 ب	6،26 أ ب	6،16 ب

* الأرقام ذوات الأحرف المتشابهة لتأثير كل عامل أو لتأثير التداخل لاتختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5 %.

تأثير تداخل تراكيز الجينات الصوديوم ومدة الخزن في النسبة المئوية لتحول البذور:

يتضح من بيانات الجدول (6) تفوق معاملة التداخل الثنائي بين تركيز 4٪ الجينات الصوديوم مع مدة الخزن (1) شهر في تسجيل أعلى نسبة تحول للبذور بلغت 0،45٪، ولم تختلف معنوياً عن باقي معاملات التداخل باستثناء معاملتي التداخل بين التركيز 2٪ ومدة الخزن 2 شهر والتداخل بين التركيز 3٪ ومدة الخزن 3 أشهر، التي أعطت نسب تحول بلغت (صفراً و 10)٪ على التوالي ،

الجدول (6) تأثير تداخل تراكيز الجينات الصوديوم ومدة الخزن في النسبة المئوية لتحول البذور الصناعية لعقد نبات اللوز *Prunus amygdalus* صنف محلي الى نبيتات بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة على وسط MS

مدة الخزن (شهر)	٪ للتحول			
	تراكيز SA ٪			
	2	3	4	5
1	0،25 أ- ج	0،35 أ ب	0،45 أ	0،25 أ- ج
2	0،0 ج	0،20 أ- ج	0،40 أ ب	0،20 أ- ج
3	0،20 أ- ج	0،10 ب ج	0،25 أ- ج	0،15 أ- ج

* الأرقام ذوات الأحرف المتشابهة لتأثير كل عامل أو لتأثير التداخل لا تختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5 %.

تأثير تداخل درجات حرارة الخزن ومدة الخزن في النسبة المئوية لتحول البذور:

من بيانات الجدول (7) يتضح بأنّ معاملة التداخل بين درجة حرارة التخزين 25 م° مع مدة الخزن لمدة (1) شهر سجلت أعلى نسبة تحول للبذور بلغت 40٪، ولم تختلف معنوياً عن معاملات التداخل بين درجة حرارة التخزين 4 م° مع جميع مدد الخزن المدروسة ،من جهة أخرى لم تسجل معاملة التداخل بين مدة الخزن لمدة 3 أشهر مع درجة حرارة التخزين 25 م° أية نسبة تحول للبذور

الجدول (7) تأثير تداخل درجات حرارة الخزن ومدة الخزن في النسبة المئوية لتحول البذور الصناعية لعقد نبات اللوز *Prunus amygdalus* صنف محلي الى نبيتات بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة على وسط MS

مدة الخزن (شهر)	درجة الحرارة (م°)	
	4	25
	٪ للتحول	
1	0،25 أ ب	0،40 أ
2	5،22 أ ب	5،17 ب ج
3	0،35 أ ب	0،0 ج

* الأرقام ذوات الأحرف المتشابهة لتأثير كل عامل أو لتأثير التداخل لاتختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5 % ،

تأثير تداخل تراكيز الجينات الصوديوم ودرجات حرارة الخزن ومدة الخزن في النسبة المئوية لتحول البذور:

بيانات الجدول (8) تشير إلى أن أعلى نسبة تحول للبذور الصناعية لعقد نبات اللوز بلغت (50٪)، وأمكن الحصول عليها من معاملات تداخل 4٪ الجينات الصوديوم مع درجة حرارة 4م° ولمدد خزن 2 و3 أشهر، ومعاملات تداخل 3٪ أو4٪ الجينات الصوديوم مع درجة حرارة 25م° لمدة شهر تخزين ولم تختلف معنوياً عن بقية التداخلات باستثناء معاملات تداخل 25م° لمدة 3 أشهر تخزين مع جميع تراكيز الجينات الصوديوم المدروسة ومعاملات تداخل 2٪ الجينات الصوديوم مع درجة حرارة 4م° و 25م° لمدة شهرين تخزين ، إذ لم تسجل هذه المعاملات أية نسبة تحول للبذور.

الجدول (8) تأثير تداخل تراكيز الجينات الصوديوم ، درجات حرارة الخزن ومدة الخزن في النسبة المئوية لتحول البذور الصناعية لعقد نبات اللوز *Prunus amygdalus* صنف محلي الى نبيتات بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة على وسط MS

مدة الخزن (شهر)	درجة الحرارة (م°)	تراكيز SA (٪)			
		2	3	4	5
		التحول (٪)			
1	4	0،20 أ ب	0،20 أ ب	0،40 أ ب	0،20 أ ب
	25	0،30 أ ب	0،50 أ	0،50 أ	0،30 أ ب
2	4	0،0 ب	0،20 أ ب	0،50 أ	0،20 أ ب
	25	0،0 ب	0،20 أ ب	0،30 أ ب	0،20 أ ب
3	4	0،40 أ ب	0،20 أ ب	0،50 أ	0،30 أ ب
	25	0،0 ب	0،0 ب	0،0 ب	0،0 ب

* الأرقام ذوات الأحرف المتشابهة لتأثير كل عامل أو لتأثير التداخل لاتختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5 % ،

تأثير تداخل الجزء النباتي ومدة الخزن في النسبة المئوية لتحول البذور:

يتضح من الجدول (9) عدم وجود اختلافات معنوية بين البذور الصناعية المنتجة من أطراف الأفرع أو العقد لنبات اللوز صنف محلي في النسبة المئوية للتحول الى نبيتات بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة على وسط MS الخالي من منظمات النمو، إذ أعطيتا نسب تحول بلغت 75،28٪ و33،23٪ على التوالي، أما فيما يخص تأثير مدد الخزن فيلاحظ من نفس الجدول بأنّ أعلى نسبة تحول (37،34٪) تم الحصول عليها من خزن البذور لمدة شهر واحد، واختلفت معنوياً عن تلك التي تم الحصول عليها من خزن البذور لمدة 2و3 أشهر، واللتان لم تختلفا معنوياً عن بعضهما، وأعطيتا نسب تحول 62،20٪ و 12،23 ٪ على التوالي

الجدول (9) تأثير تداخل الجزء النباتي ومدة الخزن في النسبة المئوية لتحول البذور الصناعية لنبات اللوز *Prunus amygdalus* صنف محلي الى نبيتات بعد مرور 4 أسابيع من الزراعة على وسط MS

الجزء النباتي	مدة الخزن (شهر)			تأثير الجزء النباتي
	1	2	3	
	نسبة التحول (٪)			
طرف فرع	36،25 أ	21،25 ب	28،75 أ ب	28،75 أ
عقدة	32،50 أ ب	20،0 ب	17،50 ب	23،33 أ
تأثير مدة الخزن	34،37 أ	20،62 ب	23،12 ب	

* الأرقام ذوات الأحرف المتشابهة لتأثير كل عامل أو لتأثير التداخل لاتختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى أحتمال 5 % ،

من جهة أخرى بينت معاملات التداخل بين نوع الجزء النباتي ومدد الخزن وجود اختلافات معنوية بين المعاملات، إذ سجلت معاملة التداخل بين أطراف الأفرع ومدة شهر واحد تخزين أعلى نسبة تحول للبذور (25،36٪)، ولم تختلف معنوياً عن معاملات تداخل العقد مع شهر واحد تخزين وأطراف الأفرع مع 3 أشهر تخزين ، لكنها اختلفت معنوياً عن باقي المعاملات، علماً بأنّ أقل نسبة تحول حصلت في معاملة تداخل العقد مع 3 أشهر تخزين (5،17٪) إن اختلاف مقدرة التراكيز المدروسة من الجينات الصوديوم في إعطاء أغلفة نظامية للبذور الصناعية ربما يعود الى قلة قابلية هذه المادة على تكوين هلام متماسك حول الأجزاء النباتية المكبسلة عند تعرضها الى درجات حرارية عالية اثناء مرحلة التعقيم (Larkin وآخرون ، 1988)، هذا ماأكدته نتائج الدراسة إذ أن رفع تركيز الجينات الصوديوم الى 4٪ أعطى كبسولات بمواصفات انتفاخية ملائمة تحمي المواد الأساسية للبذرة المنتجة من الأضرار الميكانيكية التي قد تتعرض لها فضلاً عن حمايتها من النقص الرطوبي،

كما إن تفوق البذور المخزنة عند 4م° على نظيراتها المخزنة في حرارة الغرفة من حيث النسبة المئوية للتحول ربما يعود الى نشاط الفعاليات الحيوية والأيضية في البذور المخزنة على حرارة الغرفة وخاصة التنفس وأمتصاص الماء والمواد الغذائية، انقسام الخلايا واستطالتها مما أدى الى استنزاف جزء كبير من المواد الغذائية لهذه البذور اثناء مدة التخزين وموت بعضها في المقابل أسهم في قلة نشاط العمليات الحيوية أعلاه في البذور المخزنة على 4م° في الحفاظ على حيويتها اثناء مدة الخزن وارتفاع نسبة تحولها عند نقلها الى الظروف الملائمة للنمو (Nieves وآخرون ، 2001)، تتماشى هذه النتائج مع ماذكره (Ikhlaq وآخرون ، 2010 ; Faisal و Anis ، 2007 ; Mondal وآخرون ، 2002) على نباتات (*Olea europaea* ، *Tylophora indica* و L *Camellia sinensis*،) على التوالي من حيث تفوق نسبة التحول للبذور المخزنة على 4م° بالمقارنة مع البذور المخزنة على حرارة الغرفة، إن انخفاض نسبة التحول في البذور الصناعية مع زيادة مدة الخزن قد يرجع الى حصول خلل في التبادل الغازي لخلايا الجزء النباتي داخل الكبسولة، إذ تنخفض نسبة الأوكسجين مع طول مدة الخزن نتيجة لقيام الجزء النباتي بعملية التنفس، يقابل ذلك زيادة نسبة ثاني أوكسيد الكاربون هذا مايعمل على انخفاض نسبة التحول للبذور الصناعية بسبب عدم توفر الطاقة الكافية لقيام الجزء النباتي بالعمليات الحيوية كالتنفس وأنقسام الخلايا وأستطالة الخلايا وتصنيع بروتين وغيرها من العمليات الحيوية المهمة التي تؤهله للتحول، هذا ماأكده (Iklaq وآخرون ، 2010) عند تغليفه أطراف أفرع الزيتون (*Olea europaea* L)، بمادة الجينات الصوديوم، إذ اشار الى أنّ طول مدة خزن البذور الصناعية تؤدي الى قلة جاهزية الأوكسجين في البذور بسبب أحلال ثاني أوكسيد الكاربون محل الأوكسجين في المسافات البينية للجزء النباتي مع طول مدة الخزن، هذا مايؤدي الى تثبيط عملية التنفس وعدم توفير الطاقة اللازمة لتحول البذور وتتماشى هذه النتائج مع (Sharma وShahzad ، 2012 ; Nassar ، 2003 ; Thiruvengadam ، 2012) الذين أشاروا إلى انخفاض نسبة التحول بازدياد مدة خزن البذور الصناعية لنباتات (*Decalepis hamiltonii* ، *Coffia Arabica* ، *Momordica dioica*) على التوالي، أما فيما يخص انخفاض نسبة التحول في البذور المخزنة على درجة حرارة الغرفة مع طول مدة الخزن (3 أشهر) وصولاً الى فقدان المعاملات بالكامل فربما يعود إلى قلة الأوكسجين أو قلة الرطوبة ضمن حيز التخزين (أطباق بتري) مع مرور الوقت أو الى تزامنهما معاً، إذ لوحظ جفاف غلاف البذور بالكامل وصولاً الى الجزء النباتي في هذه المعاملات

وعلى الرغم من عدم حدوث فروقات معنوية في نسب التحول للبذور الصناعية المنتجة من أطراف الأفرع أو العقد إلاّ أنه يلاحظ تفوق نسبة التحول في بذور أطراف الأفرع، وهذا قد يعود الى ارتفاع نسبة الأوكسين الطبيعي (أندول حامض الخليك) فيها مقارنة مع ماموجود في العقد كونها تمثل الموقع الرئيس لصناعة الأوكسين في النبات، ومالهذا من تأثير على ارتفاع نشاط الخلايا المرستيمية المكونة لها (Ballester وآخرون ، 1997 ; Verma وآخرون ، 2010)، هذا بالإضافة الى تفوق أطراف الأفرع على العقد من حيث محتواها من البراعم الأبطية في أباط مبادئ الأوراق، وتتماشى هذه النتائج مع (Bach وآخرين ، 2004 ; Ganshan وآخرين، 1992 ; Refouvelet وآخرين ، 1998) على نباتات (*Gentiana pneumonanthe* ، L *Vitis vinifera*، *Syringa vulgaris*) على التوالي من حيث تفوق البذور الصناعية لأطراف الأفرع على البذور الصناعية للعقد في النسبة المئوية للتحول، أما فيما يخص التأثيرات الأيجابية للتداخلات الثنائية والثلاثية لمعاملات خزن البذور الصناعية من حيث تراكيز الجينات الصوديوم، مدة الخزن ودرجة حرارة الخزن، فيمكن إعزاؤها الى تداخل التأثيرات الأيجابية للعوامل المفردة مع بعضها

المصادر

1. العنزي، أمجد عبد الهادي محمد (2005)، دور بعض منظمات النمو القياسية مع مركب السلفانيل أمايد في أستحداث كالس سيقان نبات اللوز *Prunus amygdalus* Batsch، ، رسالة ماجستير، كلية العلوم ، جامعة الموصل ، العراق،
2. Asmah، N، H، ; N، H، Hasnida ; N، N، A، Zaimah ; A، Noraliza and N، N، Salmi (2011)، Synthetic seed technology for encapsulation and regrowth of In Vitro- derived *Acacia hyrid* shoot and axillary buds، African Journal of Biotechnology، 10: 7820-7824،
3. Bach، A، ; B، Pawłowska and M، Malik (2004)، Plantlets from encapsulated meristems of *Gentiana pneumonanthe* L، Acta Physiologiae Plantarum، 26(1):53-57،
4. Ballester، A، ; L، V، Janeiro and A، M، Vieitez (1997)، Storage of shoot cultures and alginate encapsulation of shoot tips of *Camellia japonica* and *C، reticulata* Lindley، Scientia Horticulturae، 71: 67-78،

5. Brischia، R، ; E، Piccioni and A، Standardi (2002)، Micropropagation and synthetic seed in M،26 apple rootstock (II): a new protocol for production of encapsulated differentiating propagules، Plant Cell Tissue Organ Cult;68:137–41،
6. Capuano، C، ; E، Piccioni and A، Standardi (1998)، Effect of different treatments on the conversion of M،2 apple rootstock Synthetic seeds obtained from encapsulated apical and axillary micropropagated buds، The Journal of Horticultural Sciences and Biotechnology ، 73(3): 299-305،
7. Faisal، M، and M، Anis (2007)، Regeneration of plants from alginate-encapsulated shoots of *Tylophora indica* (Burm، f،) Merrill، an endangered medicinal plant، Journal of Horticultural Science and Biotechnology، 82 (3)، 351-354،
8. Ganshan، S، ; R، Dore Swamy and D،G، Krishnappa (1992) ، Freeze preservation of alginate encapsulated callus induced from ovary explants of Day Lily morphogensis and regeneration of vitroplants ، Acta Horticulturae، 300 : 417-418 ،
9. Hung، C، D، and S، J، Trueman (2012)، Alginate encapsulation of shoot tips and nodal segments for short-term storage and distribution of the eucalypt *Corymbia torelliana* × *C، citriodora* ، Acta Physiologiae Plantarum، 34 : 117- 128
10. Ikhlaq، M، ; I، A، Hafiz ; M، Micheli ; T، Ahmad ; N، A، Abbasi and A، Standardi (2010)، In Vitro storage of synthetic seeds : effect of different storage conditions and intervals on their conversion ability، African Journal Biotechnology، 9:5712–5721،
11. Ladizinsky، G ، (1999)، On the origin of almond، Genetic Resources and Crop Evolution، 46(2) : 143-147،
12. Lambardi، M، ; C، Benelli ; E، A، Ozudogru and Y، Ozden-Tokatli (2006)، Synthetic seed technology in ornamental plants، In:Teixeira da Silva J، (Ed،)، Floriculture، Ornamental and Plant Biotechnology، vol II، Global Science Books، UK: 347-354،
13. Larkin، P، J، ; P، A، Davies and G، J، Tanner (1988)، Nurse culture of low number of Medicago and *Nicotiana* protoplast using calcium alginate beads، Plant Science، 58: 203-210،
14. Mondal، T، K، ; A، Bhattacharya ; A، Sood and P،S، Ahyja (2002)، Propagation of tea (*Camella sinensis* L،) O،Kuntze by shoot proliferation of alginate-encapsulated axillary bud stored at 4 ºC، Current Science ، 83: 941-944،
15. Naik، S، K، and P، K، Chand (2006)، Nutrient-alginate encapsulation of in vitro nodal segments of pomegranate (*Punica granatum* L،) for germplasm distribution and exchange، Sci Hortic 108:247–252،
16. Nassar، A، H، (2003)، Slow Growth Storage of Encapsulated Germplasm of *Coffea arabica* L، International Journal of Agriculture & Biology ، 5 (4): 517–520 ،
17. Nieves، N، ; M، E، Martínez ; R، Castillo ; M، A، Blanco and J، L، González-Olmedo (2001)، Effect of abscisic acid and jasmonic acid on partial desiccation of encapsulated somatic embryos of sugarcane، Plant Cell Tissue and Organ Culture ، 65(1) : 15–21،
18. Nower، A، A، ; E، A، M، Ali and A، A، Rizkalla (2007)، Synthetic seeds of pear (*Pyrus communis* L،) rootstock storage in vitro، Aust J، Basic Appl Sci;1:262–70،
19. Onay، A،; C، E، Jeffree and M، M، Yeoman (1996)، Plant regeneration from encapsulated embryoids and embryogenic mass of pistachio، *Pistacia vera* L، Plant Cell Reports 15، 723-726،
20. Piccioni، E، (1997) ، Plantlets from encapsulated micropropagated buds of M،26 apple rootstock Plant Cell، Tissue and Organ Culture 47: 255-260
21. Refouvelet، E، ; S، L، Nours ; C، Tallon and F، Daguin (1998)، A new method for In Vitro propagation of lilac (*Syringa vulgaris* L،): Regrowth and storage conditions for axillary buds encapsulated in alginate beads، development of a pre-acclimatisation stage، Scientia Horticulturae ،74:233-241،
22. Sharma، S، and A، Shahzad (2012) ، Encapsulation technology for short-term storage and conservation of a woody climber، *Decalepis hamiltonii* Wight and Arn، Plant Cell Tissue and Organ Culture، 111(2): 191-198،

23. Sicurani، M، ; E، Piccioni and A، Standardi (2001)، Micropropogation and preperation of synthetic seed in M 26 apple rootstock: Attempts towards saving labor in the production of adventitious shoot tips suitable for encapsulation، Plant Cell Tiss، Org، Cult، 66:207-216،
24. Siong، P، K، ; S، Mohajer and R، M، Taha (2012) ، Production of Artificial seeds derived from encapsulated In Vitro micro shoots of cauliflower، *Brassica oleracea* var، botrytis، Romanian Biotechnological Letters، 17(4): 7549-7556،
25. Soneji، J، R ، ; P، S، Rao and M، Mhatre (2002)، Germination of synthetic seeds of pineapple (*Ananas comosus* L، Merr،) ، Plant Cell Reports،، 20: 891-894،
26. Standardi، A، and E، Piccioni (1998)، Recent perspectives on the synthetic seed technology using non-embryogenic In Vitro derived explants، International Journal of Plant Sciences، 159(6): 968-978،
27. Thiruvengadam، M، ; N، Praveen and I، Chung (2012)، Plant regeneration from alginate-encapsulated shoot tips of *Momordica dioica* for short term storage and germplasm exchange and distribution ، Plant Omics Journal، 5(3):266-270 ،
28. Verma، S، K، ; M، K، Rai ; P، Asthana ; V، S، Jaiswal and U، Jaiswal (2010)، In Vitro plantlets from alginate-encapsulated shoot tips of *Solanum nigrum* L، ،Scientia Horticulturae، 124: 517-52 .