تاثير التداخل بين تقنيتي الزراعة النسيجية والاشعاعية على محتوى البروتين والاحماض النووية لكالس سيقان البقدونس *Petroselinum crispum* L والنباتات الناتجة منه.

عبدالله نجم النعيمي و رغد نواف الزيدي

قسم علوم الحياة ، كلية التربية ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق

(تاريخ الاستلام: / /٢٠٠٧ ، تاريخ القبول: / / ٢٠٠٧)

الملخص

تمكنت هذه الدراسة من التعرف على افضل وسط لاستحداث كالس سيقان نباتات البقدونس *Petrocelinum crispum* L تحت ظروف الزراعة الحالية وهو وسط MS الصلب الحاوي على (١,٠NAA ملغم / لتر+١,٥BA ملغم / لتر) ، وعلى افضل وسط تحفيز نشوء الافرع الخضرية وهو وسط MS الصلب الحاوي على (١,٠NAA ملغم / لتر+٣,٠BA ملغم / لتر) .

ومن النتائج البارزة في هذه الدراسة تحفيز التشعيع بنوعيه كاما و UV كل على حدى زيادة نسبة الاستحداث وخفض المدة الزمنية له وزيادة الوزن الطري مع تكوين اعداد مضاعفة من الافرع الخضرية الناتجة من البذور والكالس المشعع ، فضلاً عن الحصول على نباتات متغايرة وراثياً .

كما حققت هذه الدراسة زيادة معنوية في المحتوى البروتيني والاحماض النووية في كل من السيقان والكالس والنباتات الناتجة منه .

المقدمة

اصبحت تقنية زراعة الانسجة النباتية من الوسائل التي اسهمت وبشكل كبير في زيادة فهم الباحثين للعديد من المعلومات الاساسية المتعلقة بأنقسام الخلايا وتخصصها وتمايزها [١٢] .

ومنذ عام ١٩٨٥ ارتبطت هذه التقنية بالهندسة الوراثية لاحداث الطفرات في النبات والوصول الى صفات محددة ومرغوبة واستخدام ذلك في احداث الطفرات التي تنشأ تلقائياً في المزارع ، كما يمكن زيادة معدل تكرارها بمعاملة مزارع الانسجة بالعوامل المطفرة [١٣] .في بعض الحالات تعتبر زراعة الانسجة النباتية مطفراً وراثياً بحد ذاتها بسبب إعادة زراعة الكالس لمرات عدة ، فالنباتات المتكونة من مستنبت خلية او نسيج لا تشابه النبات المأخوذ منه النسيج الام، ومثل هذا المستنبت الذي يحث على التغاير يدعى بتغاير الكلونة الجسمية (Somaclonal variation) او التغايرات الوراثية الحاصلة نتيجة زراعة الانسجة اذ يمكنه ان يندمج مع التطفير المستحث كمصدر اضافي لتوسيع الدائرة الجينية [١٤] .

ومن المطفرات الفيزياوية المستخدمة اشعة كاما والاشعة فوق البنفسجية [١] ، ولاشعة كاما تأثيرات واضحة فقد لاحظت المولاوي [٧] تأثير هذه الاشعة على انبات البذور ، وان الجرعات الواطئة من اشعة كاما عملت في انبات بذور *Avena fatual* عن طريق كسر الكمون في تلك البذور [٣٠] وأن ألجرع ألعالية منها ثبطت انبات البذور ، كما لوحظ ايضاً ان محتوى البذور من الزيت والبروتين ازداد في اصناف من القطن المصري عند تعريضها للجرع المختلفة من اشعة كاما [15] .

تناولت بعض الدراسات تأثيرات تعريض النبات لاشعة UV لاجل زيادة المكونات الفعالة فيها . اذ لوحظ زيادة نشاط الانزيم Phenylalanin Ammonialyase في زراعة الخلايا المعلقة [18] وعلى نبات المسج *Xanthium* ادى الى خفض الكلوروفيل الكلي وبعض محتويات البروتين عند تعريضها (UV-C) [٢١] وفي نبات الخس Lettuce حصلت زيادة في محتوى حامض الاسكوربيك Ascorbic acid [34]. اجريت بعض الدراسات على نباتات العائلة الخيمية لمعرفة مدى استجابة نبات البقدونس *Petroselinum hortens* للزراعة النسيجية [40] . كما استطاع الباحث Schumacher وجماعته [٣٧] من عزل انزيم (Ec 2.7,7.8) من مزارع الخلايا المعلقة لجذور البقدونس والطماطة وعزل انزيم Ribonuclease من كالس البقدونس [32] ، كذلك لوحظ تاثير استخدام الضوء الازرق واشعة UV في بروتوبلاست البقدونس لتحفيز الجين المسؤول عن تصنيع الفلافونيدات [31].

مواد وطرائق العمل

اولاً : الزراعة النسيجية

استخدم وسط MS [33] في زراعة بذور البقدونس *Petroselinum crispum* L التي مصدرها السوق المحلية (مكتب كلية الزراعة والغابات – قسم البستنة) والمعقمة مختبرياً وكذلك في تنمية البادرات واستحداث وادامة الكالس واعادة تكوين النباتات من الكالس . استخدمت قطع سيقان النباتات السليمة الاعتيادية والناتجة من البذور المشعة بأشعتي كاما وUV (كل على انفراد) بعمر (٣٠) يوماً وبمعدل طول (١) سم ، اذ وضعت في دوارق او قناني زجاجية حجم (١٠٠-٢٠٠) مل ، حاوية كل منها على ٢٥-٥٠ مل وسط MS المدعم بتراكيز مختلفة من منظمات النمو لاستحداث الكالس الذي تمت ادامته دورياً كل (٣-٤) اسابيع تقريباً ، علماً ان جميع عينات الدراسة الغير المشعة اعتمدت كمعاملات للمقارنة. وحدد الوزن الطري للكالس بعمر(٤٥)يوماً الناتج من زراعة (١) غم كالس ونشوء الافرع بأستخدام الاوساط المنتخبةMS1,MS2 والمدعمة بتراكيز مختلفة من BA(0.0,1.0,1.5) والمتداخلة مع NAA (0.0,0.5,1.0 .)، تم اختبار تحفيز نشوء الجذور في النباتات الناتجة من الزراعة النسيجية للسيقان بأستخدام وسط MS بنصف قوته التركيبية والمدعم بتركيز ١,٠ملغم /لتر من NAA [٤] .

وبعد تكوين النباتات الكاملة غسلت الجذور بالماء للتخلص من بقايا الوسط الغذائي ، ثم نقلت الى سنادين حاوية على تربة معقمة (تربة مزيجية + تربة رملية بنسبة حجمية (١:٣) + قليل من البتموس) ثم اخذت السنادين وغطيت بالاغطية البلاستيكية المثقبة وتركت لفترة (٣-٤) ايام في ظروف غرفة النمو ثم ازيلت الاغطية ونقلت بعد ذلك الى ظروف البيت الزجاجي .

ثانياً : التشعيع

أ- استخدمت اشعة كاما المنبعثة من مصدر كوبلت Co^{60} الموجودة في جهاز Gamma cell-220-Na187 الكندي المنشأ . كلية العلوم – جامعةالموصل

ب- استخدم جهاز الاشعة فوق البنفسجية (شركة- Desaga الالمانية / رقم ٨٠٢٨٨٨) ، والمسافة بين مصدر الاشعاع والعينات (١٢) سم وتمت عمليات التشعيع بالظلام داخل كابينة الزرع بجو تام التعقيم [٤].

ت- تشعيع العينات

١.شععت العينات المستخدمة في البحث(البذور، قطع السيقان والكالس) بخمسة جرع من اشعة كاما (0.15 , 0.3 , 0.45 , 0.70 , 0.90) كيلوراد وبمعدل ٥/ قطع / معاملة وبثلاث مكررات .

٢.شععت العينات المستخدمة في البحث بأشعة UV بالجرع (40,30,20,10) دقيقة ، اذا عرضت العينات المختلفة المزروعة على اوساط MS المنتخبة لمصدر الاشعة بعد رفع اغطيتها (عند التشعيع) ثم تركت في الظلام لمدة ساعتين [٤] واعيدت بعدها الى غرفة النمو تحت الظروف الاعتيادية

ثالثاً : استخلاص وتقدير كميات البروتين والاحماض النووية

قدرت كميات البروتين في جميع العينات المستخدمة غير المعرضة و المعرضة لاشعة كاما او الاشعة فوق البنفسجية وبحسب طريقة Lowry [٢٩] والمحورة من قبل Schacterle & Pollack [٣٦]. كما قدرت الاحماض النووية باتباع طريقة Cherry [٢٠] وجرى قياس محتوى الحامض النووي الرايبوزي المختزل (DNA) وفق طريقة Giles & Mayer[٢٣] ، [٢٤] ، ثم طرح محتوى DNA من المحتوى الكلي للاحماض النووية لتقدير الحامض النووي الرايبوزي RNA ، ورسمت المنحنيات القياسية لكل من البروتين وDNA و RNA بنفس الطرق اعلاه بأستخدام مصل Bovin serum albumin والحوامض النووية للخميرة Yeast nucleic acid والاحماض النووية للغدة الصعترية للعجل Galf thymus DNA.

رابعاً: تقدير العدد الكروموسومي

قدر العدد الكروموسومي في قمم جذور النباتات الناتجة من المعاملات المختلفة بأستخدام طريقة Arcioni [١٧] ، وتم حساب عدد الكروموسومات بأستعمال المجهر الضوئي الاعتيادي عند قوة تكبير(١٠٠X) .

النتائج والمناقشة

استحداث كالس السيقان وتكوين لافرع الخضرية

اوضحت نتائج الجدول (١) ان نسبة استحداث كالس السيقان بلغت ٩٠ % وبعد ٣٣ يوماً من الزراعة على وسط MS الحاوي (1.0 و١,٥ ملغم / لتر من NAA و BA) على التوالي ورمز له MS1 وكذلك اعطى هذا الوسط اعلى معدل للوزن الطري (٢,٧) غم وقد تباين استحداث الكالس حسب التراكيز المستخدمة من NAAو BA ودورهما المؤثر في استحداث الكالس ونموه والذي جاء متفقاً مع بعض الدراسات [٨] ، [١٩]. لوحظت افضل استجابة لنشوء الافرع الخضرية في وسط MS الحاوي (NAA ١,٠ملغم/لتر + BA ٣,٠ ملغم/ لتر) ورمز له MS2، وقد اعتمدت هذه النتائج للمقارنة في هذه الدراسة ، وربما يعزى ذلك الى التوافق بين المحتوى الداخلي من الهرمونات النباتية والمضاف من منظمات النمو [٩] ، [٢٢] .

جدول رقم (١) معدل الاستجابة لاستحداث كالس السيقان في وسط MS الحاوي على متظمات النمو NAA,BA

منظمات النمو BA-NAA	نسبة الاستحداث	المدة(يوم)	منظمات النمو BA-NAA	نسبة الاستحداث	المدة (يوم)
0.0-0.0	—	—	٢,٠-١,٠	٤٥	٥٨
١,٠-٠,٥	٦٠	٣٨	٢,٠-١,٥	٧٥	٤٢
١,٠-١,٠	٥٥	٣٦	٣,٠-٠,٥	٦٨	٤٣
١,٠-١,٥	—	—	٣,٠-١,٠	٨٥	٤٠
١,٥-١,٠	٩٠	٣٣	٣,٥-٠,٥	٥٨	٥٥
١,٥-١,٥	٦٥	٤٠	٣,٥-١,٠	٨٠	٤٦
٢,٠-٠,٥	٧٠	٤٠	٤,٠-٠,٥	—	—

تأثير التشعيع على عملية الاستحداث

اظهرت نتائج الجدول (٢) ان اشعة UV رفعت نسبة استحداث الكالس الى ١٠٠% وخفضت المدة الزمنية للاستحداث عند جميع الجرع الاشعاعية ، وربما يرجع السبب الى ان الاشعة حفزت الخلايا المرستيمية على الانقسام السريع [16] او شجعت عملية الانقسام الخيطي [١٠] وكذلك شجعت الجرع الواطئة من اشعة كاما (٠,١٥،٠,٣)كيلوراد قطع السيقان الناتجة من البذور المشعة ، وعند الجرعة (٠,٩)كيلوراد للسيقان المشعة استناداً الى معاملة المقارنة ، وربما يعزى هذا التباين الى نوع النسيج النباتي ، ومدى تحمل كل قطعة للجرع الاشعاعية [٢] .

جدول رقم (٢) استحداث كالس السيقان (المشعة والناتجة من البذور المشعة) المعرضة مصادره لاشعة كاما اوUV

التقنية الاشعاعية	البذور المشعة	السيقان المشعة

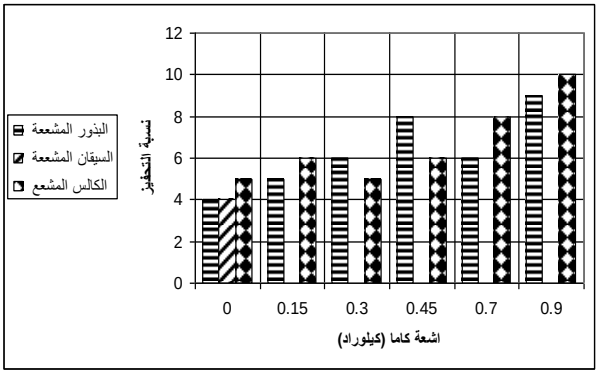
نوعها /الجرعة		نسبة الاستحداث %	المدة (يوم)	نسبة الاستحداث %	المدة (يوم)
اشعة كاما (كيلوراد)	٠,١٥	١٠٠	٢٥	٨٠	٣٠
	٠,٣	١٠٠	٢٧	٧٠	٣٨
	٠,٤٥	٨٣	٣٠	٧٥	٣٦
	٠,٧	٩٥	٢٨	٩٠	٢٩
	٠,٩	٩٠	٣٢	١٠٠	٣١
اشعة UV(دقيقة)	١٠	١٠٠	٣١	١٠٠	٢٣
	٢٠	١٠٠	٣١	١٠٠	٢٩
	٣٠	١٠٠	٣٠	١٠٠	٢٨
	٤٠	١٠٠	٢٧	١٠٠	٣١
٠,٠(معاملة المقارنة)		٩٠	٣٣	٩٠	٣٣

تقديرالوزن الطري للكالس المشعع

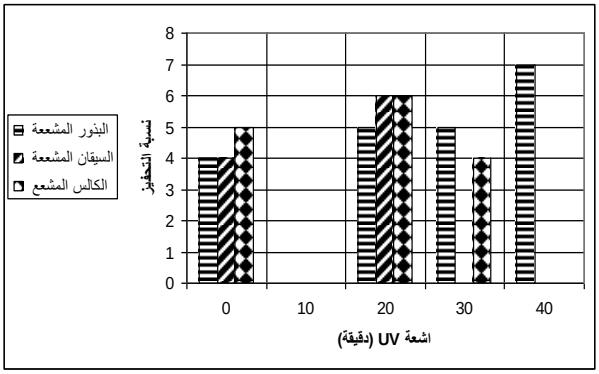
لوحظ من نتائج هذه الدراسة ان الوزن الطري للكالس ازداد عند الجرع الاشعاعية (30,20) دقيقة من اشعة UV و(٠,٣) كيلوراد من اشعة كاما وكانت افضل زيادة ٠,٥ غم كالس عند الجرعة (٢٠) دقيقة استناداً الى معاملة المقارنة (٢,٧) غم كالس في وسط MS١ المنتخب ، في حين انخفض عند الجرع الاخرى وخاصة العالية من اشعة كاما ، وربما يرجع سبب انخفاض الوزن الطري للكالس الى ان زيادة الجرع الاشعاعية ادى الى تدهور السايتوبلازم وانخفاض معدل نمو وانقسام الخلايا نتيجة التأثير المباشر والضار الذي يسببه الاشعاع عند بعض الجرع على المستوى الجزيئي، اما زيادة الوزن الطري عند الجرع الواطئة نسبياً فربما يعود الى التأثير التحفيزي لهذه الجرع في نمو وتطور خلايا الكالس فضلاً عن التباين في نوع الاشعة [٣] ، [٢٦] .

تأثير التشعيع على نشوء الافرع الخضرية

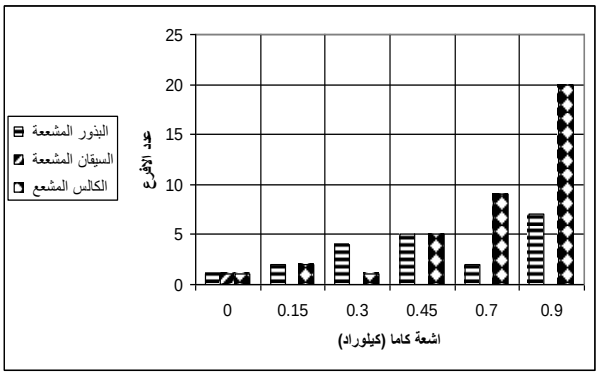
شجعت الجرع الاشعاعية زيادة اعداد الافرع الخضرية المتكونة من كالس السيقان وتميز الوسط (NAA+MS ١,٠ملغم/لتر + BA ٣,٠ ملغم/لتر) كأفضل وسط في تحفيز نشوء الافرع الخضرية (٢٠) فرعاً خضرياً من كالس السيقان هذا بالاضافة الى زيادة نسبة التحفيز عند غالبية الجرع الاشعاعية (شكل١،A) وخفض المدة الزمنية (شكل١،C).



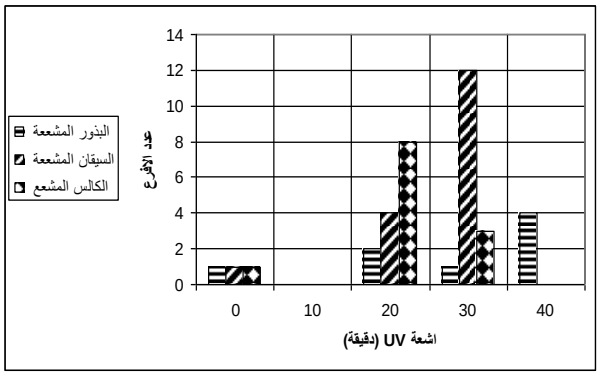
شكل (١-A) تاثير اشعة كاما على نسبة التحفيز للافرع الخضرية



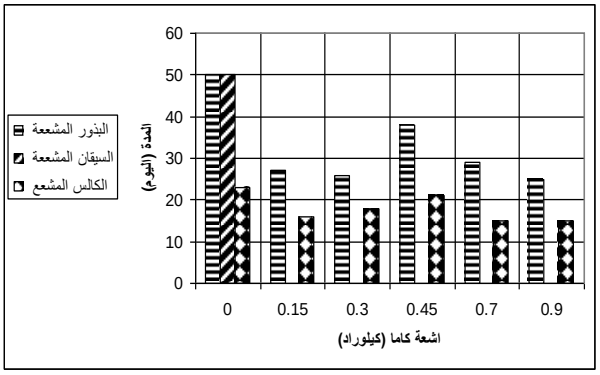
شكل (٢-A) تأثير اشعة UV على نسبة التحفيز للافرع الخضرية



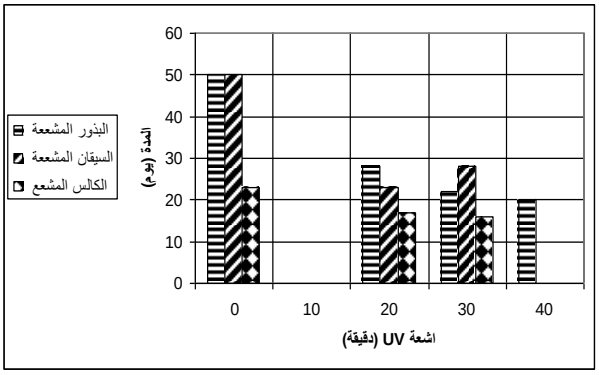
شكل (١-B) تاثير اشعة كاما على عدد الافرع الخضرية



شكل (٢-B) تأثير اشعة UV على عدد الافرع الخضرية



شكل (١-C) تاثير اشعة كاما على المدة الزمنية



شكل (٢-C) تأثير اشعة UV على المدة الزمنية

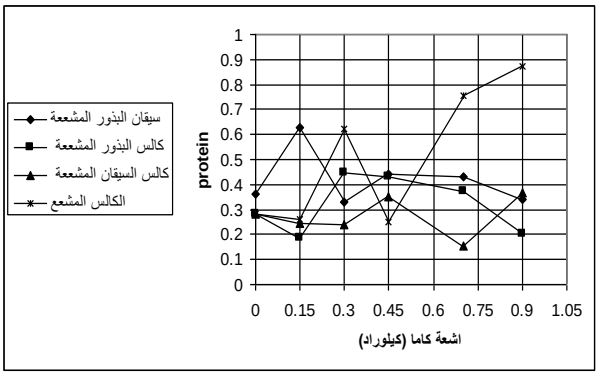
كذلك تكونت نباتات بمرحلة واحدة وربما يعزى سبب ذلك الى ان للجرع العالية من اشعة كاما اثراً كبيراً في زيادة عدد الافرع الخضرية [٤] ، [٣٥] ، مع زيادة نسبة التحفيز وخاصة عند الجرعتين (٢٠،٤٠) بشكل كبير عن معاملة المقارنة (شكل ٢، A) وخفض المدة الزمنية بفارق معنوي كبير عن معاملة المقارنة (شكل ٢،C) نتيجة التعرض لاشعة UV التي ربما شجعت على تكوين اكثر من انزيم واحد اذ ربما نشط عمل السايتوكاينينات من خلال تأثير الاشعة على الجينات المسؤولة عن عملية التمايز [٤].

تجذير واقلمة الافرع الخضرية

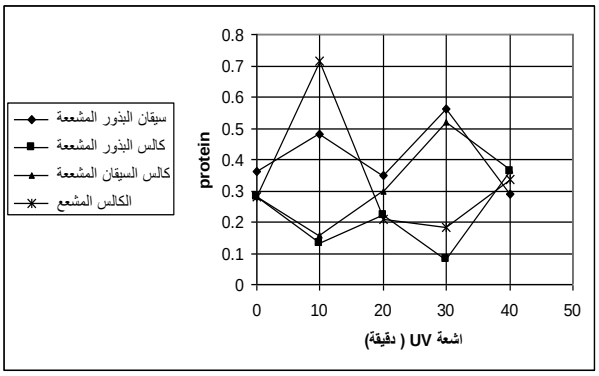
اظهرت نتائج البحث استجابة عالية لتجذير النباتات الناتجة من الزراعة النسيجية للسيقان في وسط MS بنصف قوته التركيبية والمدعم بتركيز ١,٠ ملغم / لتر NAA ، اذ بلغت نسبة التجذير ٨٠% وبمدة ١٣ يوماً .

تقدير كميات البروتين والاحماض النووية

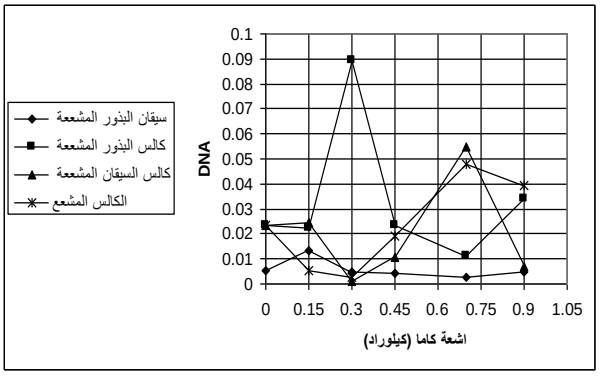
اظهرت نتائج هذه الدراسة (شكل A-3) زيادة محتوى البروتين في كل من السيقان الناتجة من البذور المشعة وخاصة عند الجرعة (٠,٣) كيلوراد اذ بلغ ٠,٦٣ ملغم /غم وكان افضلها في الكالس المشعع عند الجرعة ٠,٩ كيلوراد (٠,٨٧٣) ملغم / غم ولوحظ اقلها في كالس قطع السيقان المشعة . وكذلك لوحظت اعلى قيمة DNA (٠,٨٩١) ملغم/ غم في الكالس الناتج من سيقان البذور المشعة عند الجرعة ٠,٣ كيلوراد (شكل B-3) تليها في كالس قطع السيقان المشعة عند الجرعة ٠,٧ كيلوراد . كما بينت النتائج (شكل C-3) ان كالس قطع السيقان المشعة اعطى اعلى قيمة RNA (٠,٠٨٧٩) عند الجرعة ٠,٤٥ كيلوراد ، في حين انخفض محتوى RNA في الكالس المشعع عند الجرعة ٠,٩ كيلوراد وربما يرجع السبب في تغير محتوى البروتين الى ان عملية بنائه تعتمد على محتوى RNA ، وان الاشعاع يؤثر بدرجة كبيرة على الحوامض النووية وخاصة في انسجة الكالس ، وجاءت الزيادة في محتوى البروتين عند الجرع العالية والواطئة متفقة مع ما توصل اليه [٦] في ان استخدام الجرع المختلفة من اشعة كاما يعمل على زيادة المحتوى البروتيني ، او ربما يعود الى عامل وراثي بالدرجة الاساس او ربما نتيجة استخدام الجرع العالية من اشعة كاما [٤] ، وكذلك الحال عند استخدام اشعة الليزر [١١] واعطى الكالس الناتج من السيقان المشعة افضل كميات للبروتين عند الجرعة ٣٠دقيقة من اشعة UV(شكل ٤-A) وDNA عند الجرعة ٤٠ دقيقة(شكل ٤-B) وRNA عند الجرعتين ٣٠ثم ٢٠دقيقة(شكل ٤-C)، فضلاً عن الزيادة في الكالس المشعع للسيقان عند الجرعة ١٠ دقيقة (٠,٧١٥) ملغم / غم للبروتين وعند الجرعة ١٠دقيقة (٠,٨٢١) للDNA ، وجاءت نتائج الزيادة في محتوى البروتين والاحماض النووية للكالس المعامل بأشعة UV متفقة مع ما اشارت اليه احدى الدراسات في زيادة محتوى كالس الطماطة من البروتين والاحماض النووية عند التشعيع بأشعة UV [٢٥] ، كما ان التباين في محتوى RNA وDNA ربما يعزى سببه الى اختلاف سرعة البناء والهدم [39].



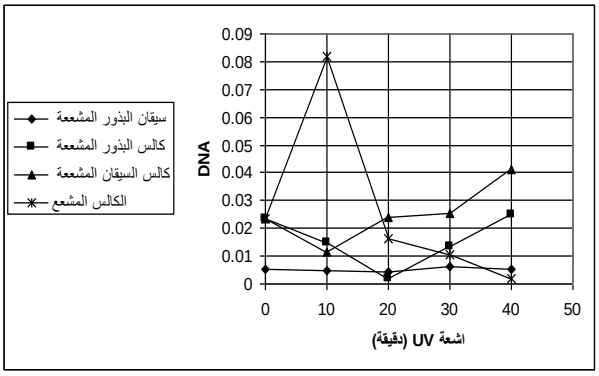
شكل (٣-A) تأثير اشعة كاما على محتوى البروتين



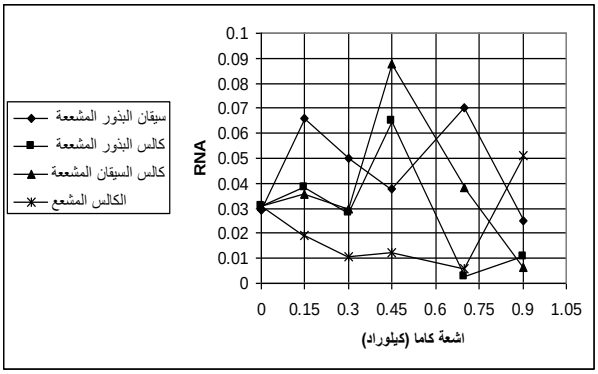
شكل (٤-A) تأثير اشعة UV على محتوى البروتين



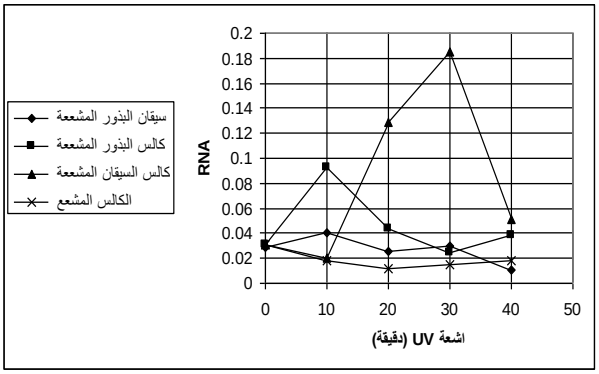
شكل (٣-B) تأثير اشعة كاما على محتوى DNA



شكل (٤-B) تأثير اشعة UV على محتوى DNA



شكل (٣-C) تأثير اشعة كاما على محتوى RNA



شكل (٤-C) تأثير اشعة UV على محتوى RNA

تقدير كميات البروتين والاحماض النووية في سيقان نباتات البقدونس *Petroselinum crispum* L. **المتغايرة وراثياً**

اشارت نتائج الجدول (٣) بشكل عام حصول زيادة واضحة في كميات البروتين والاحماض النووية في نباتات البقدونس *Petroselinum crispum L* المتغايرة وراثياً بسبب التعرض للاشعاع والناتجة من الزراعة النسيجية قياساً بالنباتات البذرية (معاملة المقارنة) ، اذ سجلت افضل نتائج البروتين و DNA في عينات كالس السيقان المشعع بالجرعة ٢٠ دقيقة و RNA في كالس قطع السيقان المشعة للجرعة نفسها ،وكذلك لوحظ زيادة كميات البروتين و DNA و RNA في النباتات الناتجة من كالس سيقان عينات البذور المشعة بالجرعتين (٠,٩،٠,١٥)كيلوراد استناداً الى النباتات البذرية (المقارنة) ، وكذلك بينت النتائج تفوق DNA كالس السيقان المشعع بالجرعتين (٠,٩ ،٠,١٥) من اشعة كاما وكالس السيقان الناتجة من البذور المشعة بالجرعة (٢٠) دقيقة من اشعة UV ، فضلاً عن تفوق هذا الكالس ايضاً بمحتواه من RNA (٠,٠٨٣) ملغم /غم استناداً الى معاملات المقارنة ، وجاءت هذه الزيادات متفقة مع ما اشارت اليه [٤] في زيادة محتوى البروتين والاحماض النووية في العينات الناتجة من الكالس المعرض لاشعة كاما ، في حين يعزى سبب هذه الزيادات ايضاً ان اشعة UV تعمل على تحفيز بناء البروتين والاحماض النووية كما اشارت اليه دراسة الخلايا المعلقة لكالس البقدونس [28] ، [٣٨] فضلاً عن الزيادة الحاصلة في بقية المعاملات ، وهذا يبرهن على ان التغيرات المظهرية للنباتات المتغايرة وراثياً ربما ترجع بالاساس الى تأثير وتغير محتواها من البروتين والاحماض النووية .

جدول رقم (٣) كميات البروتين والاحماض النووية في سيقان النباتات الناتجة من كالس السيقان الاعتيادي والمعامل بأشعتي كاما و UV

مصدر السيقان	كميات البروتين والاحماض النووية		
	البروتين	DNA	RNA
النباتات البذرية (المقارنة)	٠,٣٦	٠,٠٠٥٤	٠,٠٢٩
النباتات الناتجة من كالس سيقان البذور المشعة بالجرعة (٠,١٥)كيلوراد	٠,٥٨٧	٠,٠٠٩٥	٠,٠٧٥
النباتات الناتجة من كالس سيقان البذور المشعة بالجرعة (٠,٩) كيلوراد	٠,٤٧	٠,٠٠٥٧	٠,٠٣٤
كالس السيقان المشعع بالجرعة (٠,١٥)كيلوراد	٠,٣٨٥	٠,٠٠٦٤	٠,٠٣٧١
كالس السيقان المشعع بالجرعة (٠,٩)كيلوراد	٠,٨٢	٠,٠١٢٤	٠,٠٦٣
كالس السيقان الناتجة من البذور المشعة بالجرعة (٢٠)دقيقة	٠,٧٨	٠,٠١٠٧	٠,٠٨٣
كالس السيقان المشعة بالجرعة (٢٠) دقيقة	٠,٦٢٣	٠,٠٠٨٦	٠,١٢٤
كالس السيقان المشعع بالجرعة ٢٠دقيقة	٠,٩٦	٠,٠٤٠٥	٠,٠٣٧٥
كالس السيقان الاعتيادي	٠,٨٦٢	٠,٠٠٧٤	٠,٠٦٣

تقدير العدد الكروموسومي :

بينت نتائج الفحص المجهري للتحضيرات المؤقتة للعدد الكروموسومي في قمم جذور نباتات البقدونس المعاملة بأشعتي كاما ، UV ان اعداد الكروموسومات في قمم الجذور لهذه النباتات تماثل اعداد الكروموسومات في قمم جذور النباتات الاعتيادية (2n=22) وهذا يؤكد ما جاء في دراسات لنباتات اخرى من ثبات عدد الكروموسومات مثل زهرة الشمس *Helianthus annuus* [٥] وهذا يعني ان التغايرات الوراثية الحاصلة في هذه الدراسة ربما تعزى الى الاختلاف في اعادة انتظام الكروموسومات وتدعى بالتغايرات الجسمية (Somaclonal Variation) [٢٧] .

المصادر

١. الاحمد، خالد عبير (١٩٩٣) . مقدمة في التربية الصحية . دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل

٢. البياتي، فراس عباس يونس الياس (٢٠٠٢). إحداث التغايرات الوراثية في بذور ونباتات وكالس فول الصويا*Glycine max* (صنف إباء) باستخدام أشعة كاما وتأثيراتها على المحتوى ألبروتيني ونسبة الزيت. رسالة ماجستير. كلية التربية . جامعة الموصل / العراق – الموصل .

٣. الجبوري، عبد الجاسم محيسن، علي عبدالامير مهدي، هاشم كاظم، إخلاص عبد الكريم ومحمد احمد و قاسم محمد زامل (٢٠٠١). تربية الحنطة .*Triticum aestivum* L لتحمل الملوحة باستخدام تقنية زراعة الأنسجة وأشعة كاما. مجلة أبحاث الثقافة الحيوية. .3.(2) 765

٤. الزيدي، رغد نواف جرجيس (٢٠٠٥)، تأثيرات اشعة كاما وفوق البنفسجية في المزارع النسيجية ومحتوى البروتين، الاحماض النووية والزيت الطيار لنباتات البقدونس *Petroselinum crispum* L .رسالة ماجستير، كلية التربية ، جامعة الموصل / العراق – الموصل .

٥. العقيدي ، تغريد نواف احمد (٢٠٠٤) ، تأثير اشعة كاما في احداث التغايرات في محتوى البروتين والزيت والاحماض الدهنية من كالس نبات زهرة الشمس .*Helianthus annus* L وتمايزه. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل / العراق – الموصل.

٦. المهداوي، حسين عبيد خضير، المشهداني، سعد محمود، الدليمي، نصر حامد عبود. (١٩٩٨). تقييم محتوى البروتين والزيت في بذور ثماني طفرات من فول الصويا، دراسات العلوم الزراعية. ٢٥: ١١٣-١١٥ .

٧. المولاوي، إقبال محمد جواد (١٩٨٠). تأثير أشعة كاما (الأشعة المؤينة) على تحمل الحنطة والشعير والعصفر للملوحة.رسالة ماجستير. كلية العلوم.جامعة الموصل / العراق– الموصل .

٨. النعيمي عبدالله نجم ومحمود ،سهام احمد (٢٠٠٥)، الزراعة النسيجية لنبات اليانسون.*pimpinella anisum* L خارج الجسم الحي ، مجلة التربية والعلم المجلد (١٧) العدد : ١-١٣

٩. سلمان، محمد عباس (١٩٨٨) أساسيات زراعة الخلايا والأنسجة النباتية.جامعة بغداد.دار الكتب للطباعة والنشر.جامعة الموصل / العراق– الموصل .

١٠. صادق، محمد علي، حسن أمين محمد، ضياء أيوب(١٩٨٨) . التأثيرالمشترك لأشعة كاما والسايكوهكسيمايد على بعض خصائص النمو والمحتوى الكلوروفيلي لنبات الطماطة.وقائع الموتمر العلمي الأول للتعلم التقني للفترة٢١-٢٢ أيلول ١٩٨٨.

١١. صادق، محمد علي محمد، إحسان، بسمة.(٢٠٠١) تأثير نقع البذور بالماء المقطر وتشعيعها بالليزر على بعض الصفات الكيميائية لنبات التبغNicotine. مجلة التربية والعلم.(٥٠) : ٣٧-٤٢ .

١٢. محمـد، عبـد المطلـب سـيد،عمر مبشـر صـالح (١٩٩٠) . المفـاهيم الرئيسـية فـي زراعـة الخلايـا والأنسـجة والاعظـاء للنبـات.دار الكتـب للطباعـة والنشـر.جامعة الموصـل/ العـراق– الموصل .

١٣. مصـطفى، رأفـت أنـور كمـال. (١٩٩٥). الطفـرات ودورهـا فـي تربية النبات. مجلة الذرة والتنمية. (7) : ٣٠–٤١ .

١٤. مهـاوش، نـور الـدين محمـد.(٢٠٠١).التقنيـات الاشـعاعية فـي تربية المحاصيل والنباتات . مجلة الذرة والتنمية ١٣(٢): ١٦– ٢٢ .

15. Abo-Heyazi, A.M.T.;shaheen,A. M.; el-agamy, A. L. and okaz , A. M. A. (1990).use of mutation to improve cotton plant as an oil and prtein source with out effecting the seed cotton yield LAEA - SM-311 / 78.
16. Al – Safadi, B. and Simon, P.W. (1996). Gamma irradiation-induced variation in carrots (*Daucus carota*). J. Amer. Soci. Hort. Sci. 121(4):599-603.
17. Arcioni, S, Pezzotti, M. and Damiani, F. (1987). Invitro selection of alfalfa Plants resistant to (*Fusarium oxysporum* f.) sp. Medicaginins. Theor. Appl. Genets. 74:700-705.
18. Berdint ,J.;boll ,M.and Messner ,B. (1991).L-phenylalanine ammonia lyase in suspension culture cells of spurce(picea abies) induction by UV-light and fungal elicitor .Plant cell , tissue and organ culture .27: 267-274.
19. Chand,S.;sharawat AK,and parkash D.(1997).1n vitro culture of pimpinella anisum L.(anise).plant biochemistry and biotechnology .6(2):91-95.
20. Cherry, J. H., (1962). Nucleic aciddetererimation in storage tissue of higher plants. Plant physiol. 37(5): 670- 678.
21. El-mancy ,H.I.and Salisbury ,F.B.(1971) .bichemical responses of xanthium leaves to ultraviolet radiation . Radiation Botany . 11:325-328.
22. Gbolade, A.A. and Lockwood, G.B. (1991). Growth and production of volatile substances by melissa of Ficinalis and (*Petroselinum crispum* L.) cultures. Fitoterapia 62 (3): 237- 242.
23. Giles K.W., and Mayer, A., (1965). An improved diphenyl amin reagent for estimation of DNA concentration. Nature (Lond) 20:93.
24. Giles K.W., and Mayer, A., (1967). Determination of DNA concentration with diphenyl amine reagent. Method of Enzymol. Academic press. Inc. New York.
25. Holley, S.R. Yalamanchili, R.D. Moura, D.S. Ryan, C.A. and Stratmann, J.W. (2003). Convergence of signaling pathways induced by System in oligosaccharide elicitors, and ultraviolet-B radiation at the level of mitogen-activated protein Kinases in Lycopersicon peruvianum suspension-cultured cells. Plant Physiology 132: 1728- 1738.
26. Laila, M.H. and Gad, N. (2002). Effect of cobalt fertilization on the yield, quality and the essential oil composition of parsley leaves. Arab Universities Journal of Agricultural Sciences 10(3): 803- 829.
27. Larkin, P. J. and Scowcroft, W. R. (1981). Somaclonal variatins a novel source of variability from cell cultures for plant improvement Theor. Appl. Genet. 60:197 –214.
28. Lefert, S.P. Dangl, J.L., Becker, M. and Hahlbrock, K. (1989). Inducible *Invivio* DNA foot prints define sequences necessary for UV light activation of the parsley chalcone synthase gene. EMB-Journal. 8 (3) 651- 656.
29. Lowry, O. H., Roisebrough, N. J., Farr, A. L. and Randad, R. J. (1951). Protein measurement with folin phenol reagent. J Biol. Chem. 193: 265- 257.
30. Maherchandai,N. (1975) .Effects of gamma radiation on the dormant seeds of *Avena fatual* Radiat. Bot. 15:439-443.
31. Merkle, T., Frohnmeyer, H., Schulze, P., Dangl, J. L., Hahlbrock, K. and Schafer, E. (1994). Analysis of the parsley chalcon. synthase promoter in response to different light qualities. Planta. 193(2): 275- 282.
32. Moiseyer, G.P., Beintema, J.J., Fedoreyeva, L.I. and Yakorler, G.I. (1994). High Seqence Similarity between aribonuclease from ginseng calluses and fungus elicitsd proteins from parsley indicates that intra cellular pathogenesis related proteins a ribonucleas. Planta. 193 (3), 470- 472.
33. Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth bioassay whith toabaco tissue culture, physiol. Plant. 15: 473-497.
34. Nakabayashi, K. and Asai, T. (2001).effect of supplementary stroboscope and UV lighting and addition of coral sand to nutrient yield and quality. J.shita .13(3):183-191.
35. Prakash, A., Intha jak, P., Hulbregtse, H. and Caporaso, F. (2000). Effects of low-dose gamma irradiation and conventional treatments on self life and quality characteristics of diced celery. Journal of Food Science. 65(6): 1070-1075.
36. Schacterle, G.R., and Pollack, R.L., (1973). Asimpified method for the quantitative assay of small amounts of protein in biological material. Anal. Biochem. 51:654-655.
37. Schumacher, E.R., Richter, G., and Schulze, S., (1984). Polynucleotide phosphorylase from plant cells. Plant Cell Reports 3 (3) : 81-84 .
38. Strid, A. Chow, W.S. and Anderson, J.M.(1994). UV-B damage and protection at the molecular level in plants. Photosynthesis Research. 39 (3) : 475 - 489.
39. Trompt. and ovaa, J. C. (1971). spring mobilization of storage nitrogen-in-isolated shoot sections of apple . physiol. plant: 25:16:22.

Comptes Rendus De-1 Academie des Sciences. 309 (16): 653- 659.

40. Watine, C. and Bigot, C. (1989). Regeneration of fertile plants from embryogenic Calluses of common parsley (*petroselinum hortens*).

(Received / / 2007, Accepted / / 2008)

Abstract

This study found that the best media (MS+NAA1.0 mg/l+BA1.5mg/l) for initiateing the callus from stems of *Petroselinum crispum* is (MS+NAA1.0mg/l +BA3.0mg/l) median for shoots products from the callus.

The omit results obtained from this study showed that the doses of gamma and UV radiation each increased the initiate of callus in short period , also incrsased the fresh weight of callus and produced multi numbers of shoots from the radiation seeds and callus the study also affirmed that it is possible to get genetically varied plants , Also increased protein and nucleic acids in stems segments , callus and their regeneration plants is seen .