



جامعة الزاوية

كلية العلوم

قسم علم النبات

استخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية لإكثار نبات الكبار

(*Capparis spinosa* L) بطريقة الإكثار المباشر وغير المباشر

**The using of plant tissue culture technology to propagate the caper  
plant (*Capparis spinosa* L) by direct and indirect method**

إعداد الباحثة: غادة الطاهر محمد النعاس

رقم القيد: 016201199

إشراف: أ. د عادل مختار المغربي

قدمت هذه الرسالة استكمالا لمتطلبات الاجازة العليا (الماجستير) في علم النبات

بتاريخ 12 صفر 1448هـ الموافق 2026/07/27م

## الإقرار

أقر أنا - الطالبة غادة الطاهر محمد النعاس - بأن هذه الرسالة هي نتاج جهدي، ولم يسبق تقديمها لنيل درجة علمية في أية جامعة أو مؤسسة علمية أخرى، وأن جميع المصادر والمراجع التي تمت الاستعانة بها قد تم توثيقها وفق الأصول العلمية المتعارف عليها.

التوقيع:.....

التاريخ: 2026/07/27م

الاعتماد

أعوذ بالله من الشيطان الرجيم

بسم الله الرحمن الرحيم

(قَالُوا سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ)

صدق الله العظيم

سورة البقرة الآية 32

## الإهداء

أهدي ثمرة هذا الجهد المتواضع:

إلى كل من قال: تستطيعين، وكان صادقاً في قوله.

إلى التي كان دعاؤها يسبق خطاي (أمي الغالية).

إلى الذي غاب جسده وبقي أثره حيًا في قلبي (أبي الغالي) رحمه الله

سائلةً الله عز وجل أن يجعل بحثي هذا في ميزان حسناته.

إلى شريك الدرب والداعم الأول بصبره وثقته كان هذا النجاح (زوجي العزيز).

الباحثة

## شكر وتقدير

الحمد لله العلي القدير الذي أفاض عليّ من نعمه وجميل عطائه بأن هداني لأسلك طريق العلم، أحمدته وأثني عليه كما ينبغي لجلال وجهه وعظيم سلطانه.

يسرني أن أتقدم بالشكر الجزيل والعرفان بالجميل إلى كل من:

المشرف الأكاديمي الأستاذ الدكتور (عادل مختار المغربي)، ومشرف العملي الأستاذ (المنذر عبد الحميد أبو غنّيه) لما قدماه من إشراف كريم وتوجيه علمي بّناء، وتشجيع متواصل كان له بالغ الأثر في إنجاز هذا البحث.

كما أتقدم بخالص الشكر والتقدير لكل من ساهم وساعد في إنجاز هذه الدراسة وأخص بالذكر المركز الليبي لبحوث التقنيات الحيوية وعلى رأسه سيادة الأستاذ الدكتور (آدم إبراهيم الزغيد).

وفي الختام اللهم إني أسألك السداد والفلاح، وأن يكون هذا العمل خالصاً لوجه الله تعالى.

الباحثة

## فهرس المحتويات

| الموضوع                                                       | الصفحة |
|---------------------------------------------------------------|--------|
| الإهداء                                                       | أ      |
| الشكر والتقدير                                                | ب      |
| فهرس المحتويات                                                | ج-د    |
| قائمة الجداول                                                 | هـ     |
| قائمة الأشكال                                                 | و      |
| قائمة الملاحق                                                 | ز      |
| قائمة الاختصارات                                              | ح      |
| الملخص                                                        | ط      |
| 1- المقدمة                                                    | 1      |
| أهداف الدراسة                                                 | 3      |
| 2- الدراسات السابقة                                           | 4      |
| 1.2- تقنية زراعة الأنسجة النباتية                             | 4      |
| 1.1.2- الإكثار المباشر للأنسجة النباتية                       | 4      |
| 2.1.2- الإكثار غير المباشر للأنسجة النباتية                   | 6      |
| 3- مواد وطرائق البحث                                          | 7      |
| 1.3- المواد والأجهزة والمعدات اللازمة                         | 7      |
| 1.1.3- الأجهزة والمعدات اللازمة                               | 7      |
| 2.1.3- المواد                                                 | 8      |
| 1.2.1.3- الوسط الغذائي                                        | 8      |
| 2.2.1.3- مصادر جمع العينات                                    | 11     |
| 3.2.1.3- تحضير العينات داخل المعمل                            | 12     |
| 3.1.3- تحضير الأوساط الغذائية على حساب كل مرحلة من التجربة    | 13     |
| 1.3.1.3- المرحلة الأولى (تأسيس مزرعة نسيجية خالية من التلوث). | 13     |

|    |                                                           |
|----|-----------------------------------------------------------|
| 13 | 2.3.1.3- المرحلة الثانية (توالد النموات الخضرية)          |
| 13 | 3.3.1.3- المرحلة الثالثة (تجذير النموات الخضرية الناتجة). |
| 13 | 2.3- عملية الزراعة                                        |
| 14 | 1.2.3- المرحلة الأولى                                     |
| 14 | 2.2.3- المرحلة الثانية                                    |
| 15 | 3.2.3- زراعة العينات النباتية (الأوراق)                   |
| 16 | 4- النتائج والمناقشة                                      |
| 16 | 1.4- الكشف الظاهري للعينات                                |
| 16 | 2.4- دراسة توالد النموات الخضرية                          |
| 16 | 1.2.4- دراسة صفة عدد الأوراق                              |
| 18 | 2.2.4- دراسة صفة عدد الفروع                               |
| 19 | 3.2.4- دراسة صفة طول النبات                               |
| 20 | 3.4- دراسة توالد النموات الجذرية                          |
| 20 | 1.3.4- دراسة تأثير منظمات النمو على صفة متوسط طول الجذور  |
| 22 | 2.3.4- دراسة تأثير منظمات النمو على صفة متوسط عدد الجذور  |
| 24 | 4.4- دراسة تأثير الإكثار غير المباشر للمستأصلات النباتية  |
| 26 | 5.4- أقلمة النبيتات                                       |
| 27 | مخطط توضيحي للإكثار والدقيق لنبات الكبار                  |
| 28 | تصميم التجربة وتحليل النتائج إحصائياً                     |
| 29 | 5- الاستنتاج                                              |
| 30 | 6- التوصيات                                               |
| 31 | 7- المراجع                                                |
| 31 | 1.7- المراجع العربية                                      |
| 32 | 2.7- المراجع الإنجليزية                                   |
| 37 | 8- الملاحق                                                |

## قائمة الجداول

| الصفحة | عنوان الجدول                                                                                       | رقم<br>الجدول |
|--------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| 9      | مكونات الوسط الغذائي (MS) العناصر الكبرى والصغرى .....                                             | 1             |
| 20     | تركيز المعاملات المختلفة من منظمات النمو (السيٲوكينينات) على الصفات<br>الخاصة بالنموٲ الخضرية..... | 2             |
| 23     | تركيز المعاملات المختلفة منظمات النمو (الأكسنيات) على الصفات الخاصة<br>بالنموٲ الجذرية.....        | 3             |
| 25     | تأثير التركيزات المختلفة لمنظم النمو (2,4-D) على إنتاج نموٲ الكالس<br>في نبات الكبار .....         | 4             |
| 28     | المدة الزمنية بالشهر لكل مرحلة من الدراسة التي استمرت لمدة 12 شهراً                                | 5             |

## قائمة الأشكال

| رقم الشكل | عنوان الشكل                                                                                                                              | الصفحة |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 1         | توضح صورة الشكل الخارجي لنبات الكبار .....                                                                                               | 1      |
| 2         | المعدات الخاصة بالزراعة والتعقيم داخل كابينة العزل .....                                                                                 | 8      |
| 3         | الكيماويات الخاصة بتحضير العناصر الكبرى .....                                                                                            | 10     |
| 4         | الكيماويات الخاصة بتحضير العناصر الصغرى .....                                                                                            | 10     |
| 5         | صورة جوية لموقع تجميع المستأصلات النباتية لنبات الكبار .....                                                                             | 11     |
| 6         | صورة نبات الكبار في بيئته الطبيعية .....                                                                                                 | 11     |
| 7         | شكل بياني لتوضيح النسبة المئوية للمستأصلات النباتية الخالية من التلوث تحت تركيزات مختلفة من محلول هيبوكلوريت الصوديوم لنبات الكبار ..... | 12     |
| 8         | مستأصلات نباتية نامية من عقد مفردة داخل وعاء منفرد (برطمان) .....                                                                        | 14     |
| 9         | شكل بياني يوضح تأثير تركيز منظمات النمو على صفة عدد الأوراق .....                                                                        | 16     |
| 10        | صورة توضح نمو الأوراق داخل الأوعية .....                                                                                                 | 17     |
| 11        | شكل بياني يوضح تأثير تركيز منظمات النمو على صفة عدد الفروع .....                                                                         | 18     |
| 12        | شكل بياني يوضح تأثير تركيز منظمات النمو على صفة طول النبات .....                                                                         | 19     |
| 13        | شكل بياني يوضح تأثير تركيز منظمات النمو على صفة طول الجذور .....                                                                         | 21     |
| 14        | شكل بياني يوضح تأثير تركيز منظمات النمو على صفة عدد الجذور .....                                                                         | 22     |
| 15        | صورة توضح نموات الكالس .....                                                                                                             | 24     |
| 16        | شكل بياني يوضح تأثير منظم النمو 2,4-D على إنتاج نموات الكالس لنبات الكبار .....                                                          | 25     |
| 17        | صورة موضحة لمراحل أقلمة النبيتات .....                                                                                                   | 26     |
| 18        | مخطط توضيحي للإكثار الدقيق لنبات الكبار <i>Capparis Spinosa L</i> .....                                                                  | 27     |

## قائمة الملاحق

| الصفحة | عنوان الملحق                                  | الملحق |
|--------|-----------------------------------------------|--------|
| 37     | ..... جهاز التعقيم البخار                     | 1      |
| 37     | ..... جهاز التقطير الثنائي                    | 2      |
| 38     | ..... جهاز الميزان الحساس                     | 3      |
| 38     | ..... المسخن الحراري الدوار                   | 4      |
| 39     | ..... جزء من العينات المزروعة داخل غرفة العزل | 5      |
| 39     | ..... المؤقت                                  | 6      |
| 40     | ..... صورة من داخل غرفة النمو                 | 7      |
| 40     | ..... جهاز قياس الأس الهيدروجيني              | 8      |
| 41     | ..... جهاز تقطير الماء الثنائي                | 9      |
| 41     | ..... صورة لأقلمة النبات داخل الصوبة          | 10     |

## قائمة الاختصارات

| الاختصار | الترجمة                           | الاسم                            |
|----------|-----------------------------------|----------------------------------|
| TDZ      | ثيد يازورون                       | Thidiazuron                      |
| IBA      | حمض الإندول-3-بيوثيرك             | Indole-3- butyricacid            |
| NAA      | حمض النفثالين أسيتيك              | Naphthalene acetic acid          |
| BA       | بنزيل أدنين                       | Benzyl adenine                   |
| Kin      | كينيتين                           | Kinetin                          |
| 2,4-D    | حمض 2,4 ثنائي كلوروفينوكسى أسيتيك | 2,4-Dichloro phenoxy acetic acid |
| 2ip      | إيزوبنتينيل أدنين                 | 2- Isopentenyl adenine           |
| BAP      | بنزيل أمينوبورين                  | 6- Benzyl amino purine           |
| IAA      | حمض الأنندول-3-أسيتيك             | Indole-3- acetic acid            |
| MS       | الوسط الغذائي                     | murashige, Skoog                 |
| PH       | الرقم أو الأس الهيدروجيني         | Potential of Hydrogen            |

## الملخص

أجريت هذه الدراسة بهدف الحصول على أفضل نموات خضرية وجذرية خالية من التلوث، وذلك باستخدام أفضل تركيز لمحلول التعقيم للحصول على مزارع نسيجية غير ملوثة وتحديد أفضل معاملة لمنظمات النمو المدروسة من خلال الإكثار المباشر وإنتاج نموات الكالس للنبات عن طريق الإكثار غير المباشر.

بالإضافة إلى أقلمة النبيتات الناتجة من الزراعة النسيجية واختيار أنسب وسط غذائي للأقلمة، وللحصول على نموات خضرية خالية من التلوث تم إجراء التعقيم السطحي للمستأصلات النباتية وأوضحت النتائج أن أفضل معاملة للتعقيم هي غمر الأجزاء النباتية في محلول الكلوروكس هيبوكلوريت صوديوم تركيز 2% لمدة 15 دقيقة، ومن حيث استخدام منظمات النمو فإن تركيز 0.5 ملجم / لتر من منظم النمو الثيد يازورون (TDZ) Thidiazuron قد تفوق معنوياً في كل الصفات المدروسة من حيث توالد النموات الخضرية في عدد الأوراق وعدد الفروع وطول النبات بتسجيله لمتوسطات (36.6، 8، 2.38) على التوالي، أما بخصوص دراسة النموات الجذرية فقد بينت النتائج أن وجود توليفة من منظم النمو (IBA) Indolw-3-butyric acid بتركيز 1 ملجم / لتر مضاف إليه (0.1 أو 0.5) من منظم النمو (NAA) Naphthalene acetic acid.

أفضل معاملة للحصول على نموات جذرية حيث سجلت بمتوسط (4.7 سم) لصفة طول الجذور بالتوليفة (1: 0.1) (NAA:IBA) على التوالي وسجلت أفضل معاملة لصفة عدد الجذور بمتوسط (13 جذر) بالتوليفة (2: 0.5) (NAA:IBA) على التوالي، أما بالنسبة للإكثار غير المباشر لإكثار خلايا الكالس كانت المعاملة (0.5 ملجم / لتر) 2.4-dichloro phenoxyacetic acid (2.4-D) هي أفضل المعاملات وقد تفوقت معنوياً على باقي المعاملات المدروسة وسجلت (544 ملجم) من إكثار مستأصل نباتي واحد وقد أثبتت الدراسة إمكانية أقلمة (80%) من النبيتات في البيئة المعقمة من تربة مع بيتموس بنسبة (1:1 حجم/ حجم) قبل نقلها إلى الصوبة بسبب الخصائص الفيزيائية والكيميائية المتوازنة في الخليط

الكلمات الدالة: نبات الكبار *Capparis spinosa L*، تقنية زراعة الأنسجة النباتية، الإكثار المباشر وغير المباشر.

## 1. المقدمة

تعد ليبيا موطناً للعديد من الأنواع النباتية، وذلك بسبب موقعها الجغرافي ومساحتها الشاسعة وكثرت التضاريس الطبيعية بها، والتي تعيش وتنتشر بها نباتات نباتية مختلفة، ومعظم هذه النباتات لها أهمية كبيرة منها الاقتصادية وأخرى طبية مهمة جداً.

ومن هذه النباتات نبات الكبار *Capparis spinosa L* حيث تعرض هذا النبات في الآونة الأخيرة لخطر التناقص وانخفاض في أعداده أو ربما الانقراض، وذلك لعدة أسباب منها طبيعية نتيجة لنقص الأمطار والجفاف والرعي الجائر واستعمال أخشابه كوقود والتوسع في إنشاء المزارع الحديثة؛ مما ساهم في تفاقم مشكلة عدم الاهتمام بقيمة هذه النباتات وما تمثله من تنوع حيوي وقيمة غذائية واقتصادية (Abughnia et al., 2020).

ونبات الكبار *Capparis spinosa L* يتبع الفصيلة الكبارية (Capparaceae) والتي تضم أكثر من 250 نوعاً، أما النبات فهو نبات شجري موطنه منطقة البحر الأبيض المتوسط (Fici, 2001). حيث إن نبات الكبار ينمو متدلياً على الصخور الشاهقة والأسوار القديمة في المناطق الجبلية، كما أنه له القدرة الجيدة على التكيف مع ارتفاع درجات الحرارة وأشعة الشمس الشديدة والمناخات المتقلبة (Faran, 2014, Rhimi et al., 2017). كما موضح في شكل (1).

النبات ساقه قصيرة، له عدة فروع، الساق القديمة لونها أبيض والساق الحديثة لونها بين الأخضر والبني والبنفسجي، أما الأوراق فهي معنقة، متبادلة بسيطة وجلدية، حوافها متكاملة، أما أزهاره فهي جذابة لونها أبيض يشوبها اللون الوردي (Inocencio et al., 2006)



شكل (1) نبات الكبار نامياً في بيئته الطبيعية

أما عن أهميته فيعتبر نبات الكبار من النباتات الطبيعية المهمة جداً، ويستخدم في علاج المغص الكلوي والإصابات المعدية التي تكون مصحوبة بكثرة القيء والإصابات الشرجية بالبواسير، وعلاج روماتيزم المفاصل وعلاج ضربات الشمس ولتسكين ألم الأسنان عن طريق مضغها أو وضعها مباشرة على السن، بالإضافة لاستخدام مستخلصاته في علاج أمراض الكبد وفقر الدم ويعمل مدر للبول مما يساعد على طرد الحصوات من الكلى والمثانة، كما يستخدم بشكل عام في أغراض الزينة والطهي ومستحضرات التجميل ويدخل في صناعة بعض الأدوية (Gristina et al., 2014; Jiang et al., 2007). وجاءت هذه الأهمية الكبيرة نظراً لأن نبات الكبار *Capparis spinosa L* يعتبر غنياً بالمواد الفعالة ومنها:

جليكو سيد الروتين (Rutinyglycoside)

أنزيم هيالورونيداز (Hyaluronidase)

حمض الكابر (الكابرليك) (octanoic acid)

حمض البيكتين (Pecticacid)

قلويد الستاكيدرين (stachydrine)

سكر ومركبات طيارة (AL- Qadi, 1988)

كما أنه يحتوي على كميات كبيرة من مضادات الأكسدة مثل (روتين بيوفلافونويد) وهي تجعل النبات طبيئاً جداً لأنها تستخدم خصوصاً لمعالجة انتفاخ المعدة. ونظراً للطلب المتزايد على نبات الكبار من قبل مجمعي النباتات الطبية المحلية والتناقص المستمر له وعدم توفر الأجزاء الخضرية منه إلا في موسم النمو فقط؛ وعليه تم التوجه إلى استخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية للحصول على الأجزاء الخضرية من نبات الكبار بصورة مستمرة طول السنة في المعمل، وبالإضافة إلى إكثار هذه النباتات كذلك معرفة العوامل والمواد المؤثرة على استجابتها النسيجية وتكون نسيج الكالس ونموه بصورة جيدة.

كما تهدف هذه التجربة إلى دراسة تأثير إضافة التراكيز المختلفة من السيتوكاينتين (BA) Benzyl Adenine والكايينتين (kin) kinetin والأوكسين حمض إندول بوتيريك (IBA) في الإكثار المباشر، أما في الإكثار غير المباشر فذلك باستخدام معاملات مختلفة من منظم النمو (2,4-D).

## أهداف الدراسة:

1. إيجاد الطريقة الملائمة لتأسيس مزارع نسيجية خالية من الملوثات.
2. تحديد تركيز منظم النمو والوسط الغذائي الأفضل لتوالد ونمو النموات الخضرية والجذرية.
3. تحديد تركيز منظم النمو الأفضل لإنتاج نموات الكالس.
4. تحديد أفضل طريقة لحفظ النبيتات الناتجة من زراعة الأنسجة.
5. تحديد الطريقة المناسبة لأقلمة النبيتات الناتجة من الزراعة النسيجية.

## 2. الدراسات السابقة

### 1.2. تقنية زراعة الأنسجة النباتية

هذا النوع من التجارب أو التقنية في زراعة الأنسجة النباتية لا يعتبر إلى حد ما قديماً بل هو تقنيات حديثة في مجال الزراعة، ولهذا السبب فإن الدراسات السابقة ليست بالكثيرة والمنتشرة، وفيما يلي بعض الدراسات بالخصوص.

#### 1.1.2. الإكثار المباشر للأنسجة النباتية

يُعد نبات الكبار من النباتات الطبية في ليبيا وحوض البحر الأبيض المتوسط، وقد كشفت نتائج الدراسات عن الخصائص الدوائية والعلاجية المختلفة التي تلعب دوراً مهماً في صحة الإنسان (Hammud et al., 2013).

تلعب النظم وطريقة الزراعة دوراً مهماً في إكثار النبات، ويُعتبر استخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية من النظم التي من شأنها الحصول على نباتات مماثلة للنبات الأم أي أنها متماثلة وراثياً عوضاً عن إكثار النبات بواسطة البذور والتي من شأنها الحصول على نباتات لا تشبه النبات الأم تماماً.

(Ramezani, Gask et al., 2008)

وأوضحت بعض الدراسات إمكانية حث نبات *Capparis Spinosa L* على التضاعف الخضري وتكوين الأوراق والبراعم باستخدام نوعين من منظمات النمو (kin,BA) مع استخدام الوسط الغذائي (MS) (Murashige, Skoog.,1962) حيث كان التركيز الأفضل هو (1 ملجم/ لتر) لكل منظمات النمو بالإضافة إلى إمكانية الإكثار غير المباشر للنبات باستخدام منظم النمو (2,4-D) بتركيز (1 ملجم/ لتر) (Basheir et al., 2018)

كما بينت بعض الدراسات التي أجريت على عدة أنواع من منظمات النمو من ضمنها (BA) Benzyl Adenine و (Kin) kintin (2ip) 2- إيزوبنتيل أدينين التي بينت أن أفضل منظم نمو هو منظم (2ip) وبتراكيزات 2,1 ملجم/ لتر (Abughnia et al., 2020)

أظهرت الدراسات أن استخدام منظم النمو (TDZ) في الوسط الغذائي يشجع على تكوين الأفرع بمعدلات عالية (Mohamed et al., 2021).

كما أن استخدام الوسط الغذائي السائل (Temporary immersion system) باستخدام نظام الغمر المؤقت، يُعد أكثر فاعلية مقارنة بالأوساط شبه الصلبة، حيث شجع على تحسين النمو وزيادة عدد الأفرع (Carra et al., 2020)

وأيضاً فإن استخدام تقنية (البذور الصناعية) Encapsulation باستخدام منظم النمو (BAP) Benzyl amino purine بتركيز 2.0 ملجم/ لتر أدى إلى الحصول على نسبة مرتفعة من الإنبات بلغت (100%) مما يزيد فرص حفظ الأصول الوراثية لنبات الكبار (Tavanaei et al., 2020) أما بالنسبة للنموات الجذرية فإن إضافة منظمات النمو (NAA, IBA) أدت إلى تحسين تكوين المجموع الجذري بنسبة (67%) في بعض الأصناف عند تركيز 1.0 ملجم/ لتر و 0.5 ملجم/ لتر على التوالي (Carra et al., 2020)

منظم النمو Indole-3- Butyric Acid (IBA) من أكثر الأوكسينات استخداماً في مجال زراعة الأنسجة النباتية، ويستخدم بشكل أساسي في تحفيز تكوين نموات الجذور، يعمل (IBA) على تنشيط انقسام خلايا الجذور مما يؤدي إلى تجذير أكثر فاعلية واستقراراً. (Ludwig- Muller, 2000)

أما فيما يتعلق بمنظم النمو (NAA) وهو أكسين يستخدم على نطاق واسع في زراعة الأنسجة النباتية وذلك لدوره في تحفيز تكوين المجموع الجذري وتمايز الخلايا النسيجية، كما يستخدم لكفائه في تحفيز نموات الكالس عند وجوده مع منظم النمو (BA) (George et al., 2008) يُعدّ منظم النمو (TDZ) من أكثر منظمات النمو فاعلية وخاصة في تحفيز تكوين الفروع العرضية والعديد من الانقسامات الخلوية في العقد النسيجية، وهو ينتمي إلى مجموعة (phenyl urea) الفينيل يوريا الذي يمتاز بتأثير سيتوكيني، كما يجعله ممتازاً لتضاعف البراعم والإكثار الدقيق في العديد من الأنواع النباتية خاصة الطبية منها (Gupta & Durzan, 1985)

### 2.1.2. الإكثار غير المباشر للأنسجة النباتية:

يُعدّ الإكثار غير المباشر لنبات الكبار *Capparis Spinosa L* بواسطة الحصول على نموات الكالس Callus من أهم التقنيات الخاصة بزراعة الأنسجة النباتية المستخدمة لتجاوز مشاكل ضعف إنبات البذور وصعوبة الإكثار بالعقل، حيث تتيح هذه الطريقة إنتاج أعداد كبيرة من النباتات المتطابقة وراثياً في فترة زمنية قصيرة. (koufan, Belk Oura & Marzi, 2022).

حيث يتم الحصول على نموات الكالس من زراعة أوراق أو سيقان مزروعة على وسط (MS) مضاف إليه منظمات النمو مثل 2,4-D / ملجم 1.0 – 2.0 ومواد كربوهيدراتية كالمالتوز بنسبة نجاح قد تصل إلى (95%) (Abugnia, Elmaghrabi & Hammud, 2017).

وبعد ذلك العمل على كشف تكون البراعم والسوق باستخدام منظم النمو (BAP) أو منظم النمو (Kin) مع الأكسين (IAA) وهو حمض الأندول -3- الأسيتيك Indole-3- Acetic acid أو منظم النمو Indole-3- Butric Acid (IBA) للحصول على نموات جذرية ومنها أقلمة النموات لإنتاج شتلات، حيث حققت نسب التأقلم في البيوت البلاستيكية معدلات تتراوح بين (66-95%) (koufan et al., 2022)

كما أظهرت التحاليل الجينية بواسطة دراسة التباين الوراثي الثبات الوراثي للنباتات الناتجة مما يفيد أهمية التقنية المذكورة في حفظ الموارد الوراثية وتطوير الأصناف المحسنة (Goda,2017)

### 3. مواد وطرائق البحث

تهدف هذه الدراسة إلى إكثار وحفظ نبات الكبار *Capparis spinosa L* حيث أجريت هذه الدراسة بمختبر زراعة الأنسجة النباتية التابع للمركز الليبي لبحوث التقنيات الحيوية بمنطقة الفرناج – طرابلس- ليبيا، وذلك لغرض الحصول على أفضل طريقة لإكثار نبات الكبار باستخدام زراعة الأنسجة النباتية ومدى إمكانية حفظها.

#### 1.3. المواد والأجهزة والمعدات اللازمة

##### 1.1.3 الأجهزة والمعدات اللازمة

بعض المعدات الخاصة بالزراعة والتعقيم داخل طاولة العزل ومنها:

1. جهاز تعقيم الأدوات.
2. مقاصص.
3. ملاقط.
4. موقد.
5. مؤقت زمني.
6. كحول بتركيز 70% لتعقيم المستأصلات النباتية.
7. كلوركس للتعقيم.
8. بخاخ يحتوي كحولا بتركيز 70% لتعقيم الأسطح والأيدي.
9. موقدة لإشعال نار الموقد.
10. أوعية زجاجية صغيرة (داخلها الوسط الغذائي).
11. معقمة.

بعض الأدوات والمعدات موضحة في شكل (2) كما هناك بعض الأجهزة اللازمة لإتمام العملية بنجاح ومنها:

1. جهاز قياس الأس الهيدروجيني.
2. جهاز التقطير الثنائي.
3. جهاز التعقيم بالبخار.
4. الميزان الحساس.



شكل (2) المعدات الخاصة بالزراعة والتعقيم داخل كابينة العزل (جهاز تعقيم الأدوات، مقاص، ملاقط، موقد، مؤقت زمني، كحول بتركيز 70% لتعقيم المستأصلات النباتية، كلوركس للتعقيم، بخاخ يحتوي كحولا بتركيز 70% لتعقيم الأسطح والأيدي، موقدة لإشعال نار الموقد

### 2.1.3. المواد

#### 1.2.1.3. الوسط الغذائي

الوسط الغذائي عادة يستخدم لتوفير احتياجات النبات الضرورية من العناصر الغذائية الكبرى والصغرى ومصدر الكربون والفيتامينات ومنظمات النمو المناسبة حسب الغرض من الدراسة، وعليه تم استخدام عدة أوساط على حسب كل مرحلة من مراحل الدراسة.

ويُعدّ الوسط الغذائي (MS) هو الأنسب لعملية الزراعة والذي يعتمد أو يتكون من بعض منظمات النمو بنسب مختلفة وكذلك السكر (سكروز بنسبة 3%) وأجار (أغار بنسبة 0.7%). وقبل البدء في تحضير الوسط الغذائي المدعم بمنظمات النمو والهormونات لكل مرحلة تم تحضير الوسط الغذائي (MS) الأساسي داخل المعمل بإضافة العناصر الصغرى والكبرى اللازمة وبالمقاييس والمعايير المضبوطة لتكوين الوسط الغذائي (MS)-Murashige&Skookg

### جدول (1) العناصر الكبرى والصغرى لتكوين الوسط الغذائي

#### العناصر الكبرى (Macro- elements)

| Salts                                 | Mg/L | For stocks   | solution 10x |
|---------------------------------------|------|--------------|--------------|
| NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>       | 1650 | 16500 mg     | 16.5g        |
| KNO <sub>3</sub>                      | 1900 | 19000 mg     | 19.0g        |
| CaCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O | 440  | 4400 mg      | 4.4g         |
| MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O | 370  | 3700 mg      | 3.7g         |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>       | 170  | 1700 mg      | 1.7g         |
| fe                                    | 40   | 4000 mg 100x | 4g           |

#### العناصر الصغرى (Micro- elements)

| Salts                                 | Mg/L  | For stocks | solution 100x |
|---------------------------------------|-------|------------|---------------|
| H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>        | 6.2   | 620 mg     | 0.620g        |
| MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O  | 16.9  | 1690 mg    | 1.690g        |
| ZnSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O | 8.6   | 860 mg     | 0.860g        |
| KI                                    | 0.83  | 83 mg      | 0.083g        |
| NaMoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O | 0.25  | 25 mg      | 0.025g        |
| CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O  | 0.025 | 2.5 mg     | 0.0025g       |
| COCL <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O  | 0.025 | 2.5 mg     | 0.0025g       |

|                |          |
|----------------|----------|
| Myo- inositol  | 100 mg/L |
| Nicotin acid   | 0.5 mg/L |
| Thiamine- Itcl | 0.1 mg/L |
| Pyridoxine     | 0.5 mg/L |
| Agar           | 7 g/L    |
| Sucrose        | 30 g/L   |
| PH             | 5.7-5.8  |

حيث يتم تحضير الأملاح وإذابتها إذابة كاملة في الماء المقطر مرتين في دورق حجمي سعته (1لتر) ويكمل الحجم إلى الحجم النهائي تم ينقل المحلول إلى الحافظة (القنينة) بعض الصور للكيماويات الخاصة بتحضير الوسط الغذائي شكل (3-4) ، كما تمت مراعاة استخدام المخبر المدرج كمقياس حجمي عياري دقيق ومراعاة سطح الماء المقعر أثناء استكمال الحجم.



شكل (3) الكيماويات الخاصة بتحضير العناصر الكبرى



شكل (4) الكيماويات الخاصة بتحضير العناصر الصغرى

### 2.2.1.3. مصادر جمع العينات:

جمعت الأجزاء الخضرية لنبات الكبار خلال شهر (فبراير لسنة 2025م) من محمية الشعافيين بمدينة مسلاتة والتي تقع بين خط  $32^{\circ}36'036''$  شمالاً و  $13^{\circ}50'0729''$  شرقاً كما هو موضح في الصور الجوية من خلال الشكل (5-6).  
والتي تبعد عن مدينة طرابلس 90 كم حيث يوجد بها النبات بصورة طبيعية (الصور الجوية + صور النبات في بيئته الطبيعية).



شكل (5) صورة جوية لموقع تجميع المستأصلات النباتية لنبات الكبار والتي تقع بين خط  $32^{\circ}36'036''$  شمالاً و  $13^{\circ}50'0729''$  شرقاً



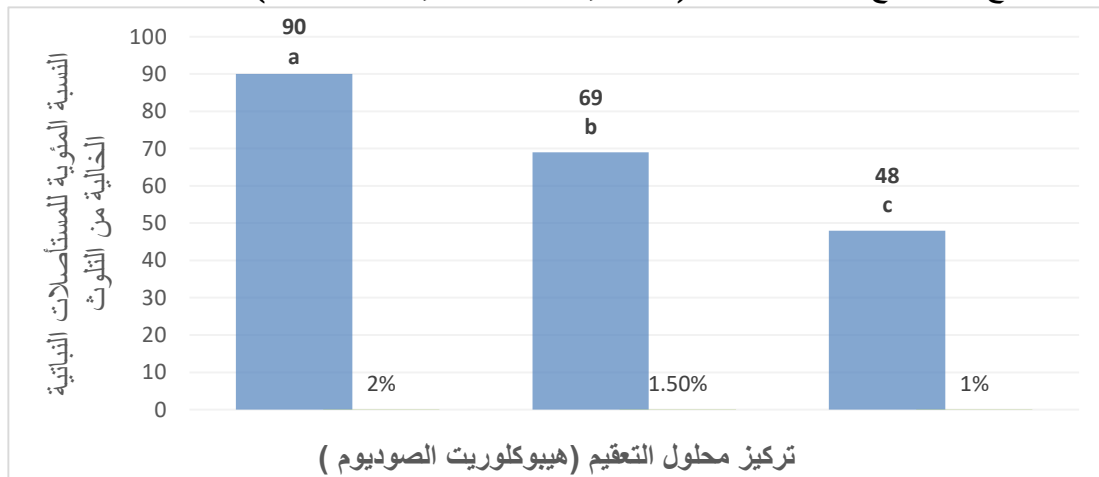
شكل (6) صورة النبات في بيئته الجبلية

### 3.2.1.3. تحضير العينات داخل المعمل:

بعد الفرز الجيد للعينات وأخذ النباتات الجيدة والخالية من العيوب والأمراض أو أية إصابة بأجزائها، بحيث تقطع إلى أجزاء بأطوال مناسبة يتم وضعها في الماء الجاري لمدة 30 دقيقة لغرض إزالة الملوثات السطحية من تربة ومخلفات الحشرات، نقلت الأجزاء الخضرية إلى غرفة العزل المعقمة **Laminar air flow cabinet** لتعقيمها وذلك بغمرها في الكحول الإيثيلي (Ethanol) بتركيز 70% لمدة دقيقتين، ثم غمرت في محلول هيبوكلوريت الصوديوم **Sodium Hypo Chlorite** وهو الكلوركس الصناعي **Clorox** بتركيزات (1%، 1.5%، 2%) لمدة 15 دقيقة مع التحريك المستمر للأجزاء النباتية وذلك لتعقيمها سطحياً من البكتيريا والفطريات، ثم غسلت العينات بالماء المقطر والمعقم ثلاث مرات لمدة 5 دقائق في كل مرة لإزالة التأثير السام لمحلول هيبوكلوريت الصوديوم كما هو مبين في شكل (7).

وبعد هذه الخطوة تم تقسيم العينات إلى ثلاث مجموعات على حسب نسبة تركيز المحلول المعقم ثم البدء في عملية زراعة الانسجة على الفور، ومن خلال ملاحظة مؤشرات النمو والتطور الخضرى لجميع المجموعات المزروعة لوحظ انه قد تفوقت المجموعة المعاملة بمحلول تعقيم نسبته (2%) وحيث وصلت نسبة الحصول على نباتات خالية من التلوث إلى (90%) وفيما يليها المجموعة المعاملة بتركيز (1.5%) فكانت خالية من التلوث بنسبة (69%) أما في المجموعة الثالثة أدى استخدام التركيز المنخفض (1%) إلى ارتفاع ملحوظ في نسبة التلوث وعدم فاعلية التعقيم. كما أن تأثير نسبة النقاوة من التلوث لا تؤثر فقط على مؤشر النمو والتطور الخضرى بل تؤثر أيضا في سرعة بدء النمو وانتظام تطور الأجزاء النباتية بصفة علمة.

وهذه النتائج تتوافق مع ما وجدته كلٌّ من (Chiancone, Germana., 2009).



شكل (7) النسبة المئوية للمستأصلات النباتية الخالية من التلوث تحت تركيزات مختلفة من محلول هيبوكلوريت الصوديوم لنبات الكبار

### 3.1.3. تحضير الأوساط الغذائية على حسب كل مرحلة من التجربة

#### 1.3.1.1. المرحلة الأولى: تأسيس مزرعة نسيجية خالية من التلوث

تم تحضير وسط غذائي (MS) يحتوي على 3% سكروز و 0.7% أجار وتم ضبط درجة حموضة الوسط الغذائي (PH) على درجة (5.7-5.8) لتنمية العقد المفردة لغرض الحصول على مزرعة نسيجية خالية من الملوثات، وزعت (25 مل) من الوسط الغذائي في أوعية زجاجية معقمة سعة 200 مل بعد تعقيم الوسط الغذائي في جهاز التعقيم بالبخار (Autoclave) على درجة 121°C وضغط جوي 1.02 بار مربع لمدة 15 دقيقة.

#### 2.3.1.3. المرحلة الثانية: توالد النموات الخضرية

بعد الحصول على عدد مناسب من المستنبات والمزارع النسيجية الخالية من التلوث الناتجة من المرحلة الأولى تم تحضير الوسط الغذائي (MS) مدعوم بتركيز من منظمات النمو وهي (Kin) بتركيزات (1، 2 و 4 ملجم/ لتر) و (BA) بتركيزات (1، 2 و 3 ملجم/ لتر) و (TDZ) بتركيزات (0.5، 1 و 2 ملجم / لتر) و (2IP) بتركيزات (1، 2 و 3 ملجم/ لتر) على تضاعف العقد المفردة مع الشاهد وضبط درجة حموضة الوسط الغذائي (PH) وتعقيمه وتوزيعه بنفس الطريقة في المرحلة السابقة.

#### 3.3.1.3. المرحلة الثالثة: تجذير النموات الخضرية الناتجة

في هذه المرحلة يتم تحضير الوسط الغذائي (MS) بنفس الطريقة في المرحلة الأولى مع إضافة تركيزات مختلفة من منظم النمو حمض النفثالين الأسيتيك (Naphthalene Acetic Acid (NAA) بتركيزات (0.1، 0.5، 1، 2 ملجم/ لتر) وتركيزات من منظم النمو أندول حمض ليبوتانويك (IBA) مدعوم بتركيز (2، 4، 6، 8 ملجم/ لتر).

#### 2.3. عملية الزراعة

تعدّ هذه المرحلة هي المرحلة الأساسية والأهم من التجربة حيث يتم تمييز ومعرفة الأوساط الأفضل وتراكيز المنظمات المضبوطة للوصول لأفضل النتائج وأسرعها لزراعة الأنسجة والتي تتم على النحو التالي:

### 1.2.3. المرحلة الأولى

بعد تجميع العينات النباتية (الأغصان) وتعقيمها بالطريقة السالف ذكرها قطعت النبيتات إلى عُقد مفردة (تحتوى على برعم واحد) تم زرعت في أوعية تحتوى على وسط (MS) محضّر مسبقاً لغرض الحصول على مستنبتات خالية من مسببات المرضية، ثم حضنت الأوعية في غرفة النمو عند (16 ساعة ضوء شدته 2000 لوكس Lux على مستوى النبيتات باستخدام مصابيح الفلورسنت البيضاء ودرجة حرارة  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  ونسبة الرطوبة 60%).

### 2.2.3. المرحلة الثانية

بعد نمو العقد المفردة تم نقل المستأصلات النباتية النامية والخالية من مسببات المرضية إلى وسط غذائي يحتوى على معاملات مختلفة من منظمات النمو (kin) وبتريزات (1، 2، 4 ملجم/ لتر) و(BA) بتركيزات (1، 2، 3 ملجم/ لتر) و(TDZ) بتركيزات (0.5، 1، 2 ملجم/ لتر) و(2ip) وبتريزات (1، 2، 3 ملجم/ لتر)، كما هو واضح بالشكل (8)، حيث زرع مستأصل نباتي واحد في كل وعاء منفرد (برطمان).



شكل (8) مستأصلات نباتية لنبات الكبار نامية في الوسط الغذائي (MS) خالية من التلوث

**3.2.3. زراعة العينات النباتية (أوراق)** حيث تم التعقيم السطحي المذكور مسبقاً، وتم نقل المستأصلات النباتية إلى الوسط الغذائي (MS) مضافاً إليه تراكيز مختلفة من منظم النمو (2,4D) بتركيزات (0.5، 1، 2 ملجم/ لتر) وذلك لدراسة الإكثار غير المباشر لنبات الكبار.

#### 4. النتائج والمناقشة

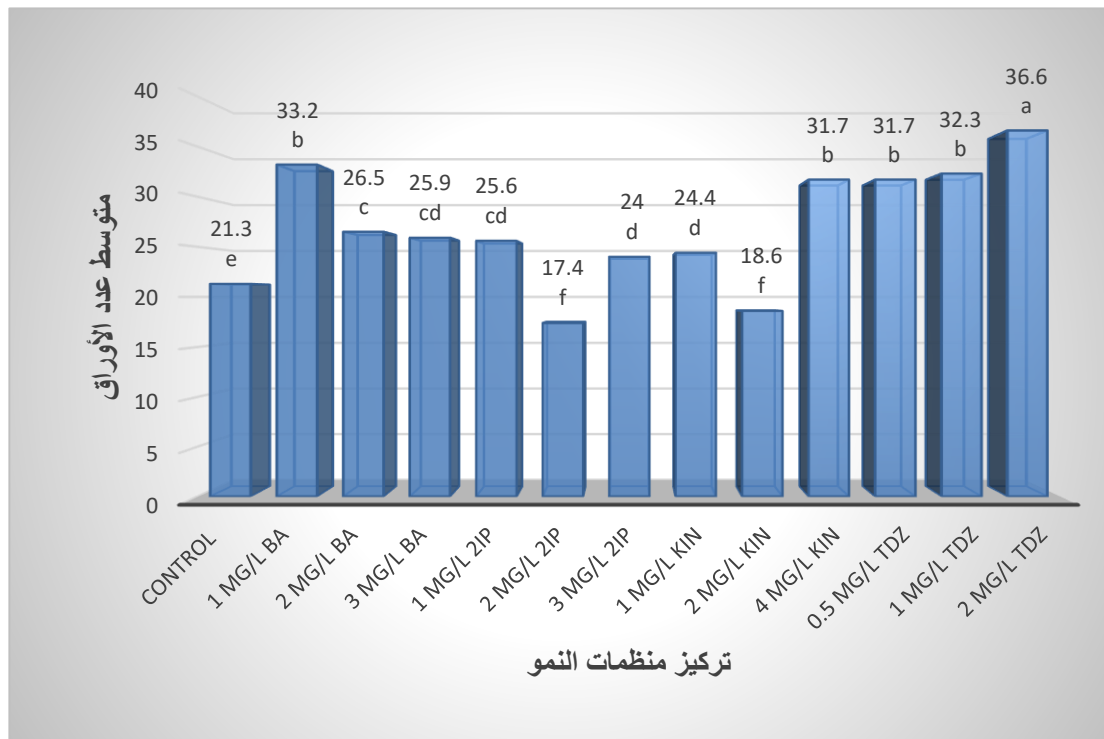
##### 1.4. الكشف الظاهري للعينات

أثبت الكشف الظاهري لعينات الدراسة (أي المستأصلات النباتية النامية) أنها عينات جيدة وصحية ونامية بشكل جيد، وخالية من أية عيوب أو شوائب أو تلوث داخل الغرفة الخاصة بها، وهذا ما يتفق مع المواصفات والاشتراطات اللازمة لدراسة العينات.

##### 2.4. دراسة توالد النموات الخضرية

##### 1.2.4. صفة عدد الأوراق

أظهرت النتائج تأثيراً واضحاً لمنظمات النمو المختلفة على صفة عدد الأوراق حيث وجدت فروق معنوية بين المعاملات المختلفة مقارنة بالشاهد (الكنترول) بمتوسط (21.3) وقد سجلت أعلى قيمة وهي بمتوسط (36.6) ورقة لمنظم النمو TDZ بتركيز (2 ملجم / لتر) حيث تفوقت هذه المعاملة معنوياً على باقي المعاملات الأخرى، وتلتها كل من المعاملة بمتوسط (33.2) لمنظم النمو BA بتركيز 1 ملجم/ لتر ثم (32.3) لمنظم النمو TDZ بتركيز 1 ملجم/لتر كما هو مبين الشكل (9)، مما يدل على فعالية منظم النمو (TDZ) العالية في تحفيز الانقسام الخلوي وإنتاج المجموع الخضري متمثلاً في عدد الأوراق، كما أكدته دراسات سابقة على نبات الكبار. (Carra et al.,2020)



شكل (9) تأثير منظمات النمو المختلفة على صفة عدد الأوراق

وكذلك أظهرت النتائج أن المعاملة (0.5 ملجم / لتر TDZ) و (4 ملجم/ لتر Kin) لهما نتائج مرتفعة نسبياً (31.7 و 31.7 على التوالي)، وهذا يدل على ما تم ذكره حول كفاءة kin عند التركيزات المرتفعة (George et al., 2008)، ومن جهة أخرى كانت أقل النتائج القيم المتمثلة في معاملة (2ip) بتركيز 2 ملجم / لتر بمتوسط (17.4) و (Kin) بتركيز 2 ملجم/ لتر بمتوسط (18.6) مما يدل على استجابة ضعيفة عند هذه التركيزات وهو ما يتفق مع دراسة (mok & mok, 2001)، أما بالنسبة لمنظم النمو (BA) فقد أظهر فعالية معتدلة عند تركيز 3 ملجم/ لتر بقيمة (25.9) و 2 ملجم/ لتر هي الأفضل بقيمة (26.5) بينما كانت معاملة 1 ملجم/ لتر هي الأفضل ضمن هذا النوع من المنظمات بقيمة (33.2)، وهذا ما يتفق مع أبحاث سابقة أكدت أن (BA) بتركيز متوسط غالباً ما يعطي نتائج عالية في تحفيز النمو الخضرية (Mohamed et al., 2021, carimi et al., 1999) وبالتالي أوضحت هذه النتائج أن منظم النمو (TDZ) بتركيز (2 ملجم/ لتر) يعد أفضل فاعلية في تحفيز النمو وإنتاج الأوراق، ويمكن التوصية باستخدامه في عمليات الإكثار الدقيق لنبات الكبار شكل (10) نمو الأوراق داخل الأوعية.



شكل (10) تأثير منظم النمو TDZ على صفة الأوراق لنبات الكبار

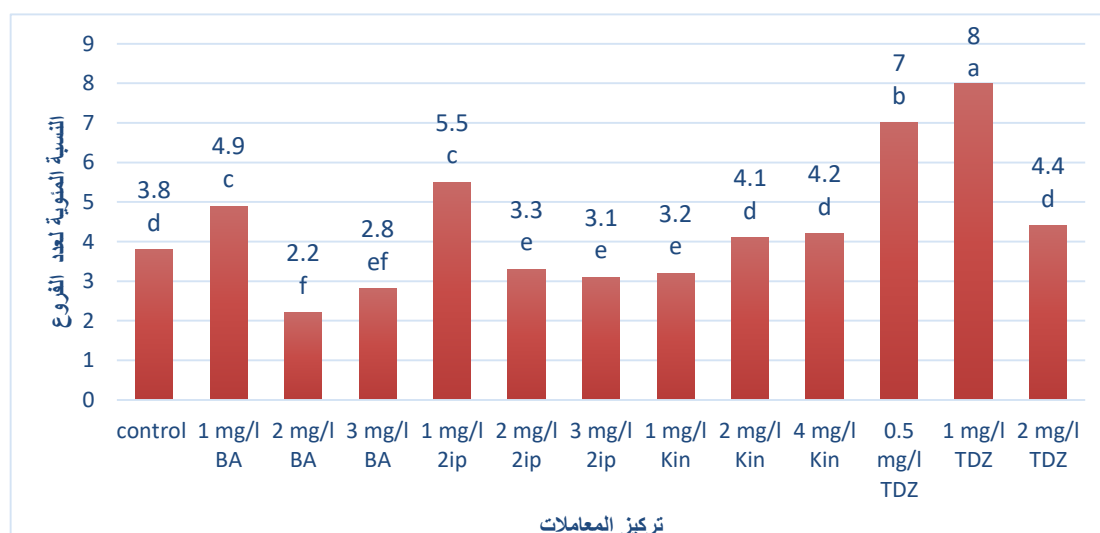
#### 2.2.4. دراسة صفة عدد الفروع

بينت النتائج الخاصة بصفة عدد الفروع كما في الشكل (11) تفوقاً معنوياً لمنظم النمو (TDZ) في تحفيز عدد الأفرع حيث سجلت معاملة (1 ملجم/ لتر) منه أعلى قيمة بنسبة (8) وتلتها معاملة (0.5 ملجم/ لتر TDZ) بنسبة (7)، مما يثبت فعاليته العالية حتى عند التركيز المنخفض، وهو ما يتوافق مع ما أورده

(Mohamed *et al.*, 2021) حول كفاءة (TDZ) في تحفيز عدد الأفرع في نبات الكبار.

أما منظّمات النمو الأخرى فقد حققت نتائج معتدلة إلى منخفضة، حيث أعطت معاملة 1 ملجم/ لتر من منظم النمو 2ip نتيجة بنسبة (5.5)، بينما سجلت معاملات (BA) نتائج متذبذبة، حيث كانت أعلى قيمة عند (1 ملجم/ لتر) من منظم النمو (BA) بنسبة (4.9) وانخفضت بشكل واضح عند (2 ملجم/ لتر BA) بنسبة (2.2) وهذا يتفق مع ما وجدته (mok & mok, 2001) كما أظهرت معاملات (kinetin) استجابة معتدلة حيث كانت القيم قريبة من بعضها (3.2، 4.1، 4.2)، وأفضل استجابة عند (4 ملجم/ لتر kin) هي بنسبة (4.2) وهذا ما يتفق مع دراسة سابقة (George *et al.*, 2008) وهذا مبين في الشكل (11).

وهذه النتائج تدعم أنّ استخدام منظم النمو (TDZ) هو الخيار الأنسب لتحفيز النمو لصفة عدد الفروع عند تركيز 1 ملجم/ لتر.



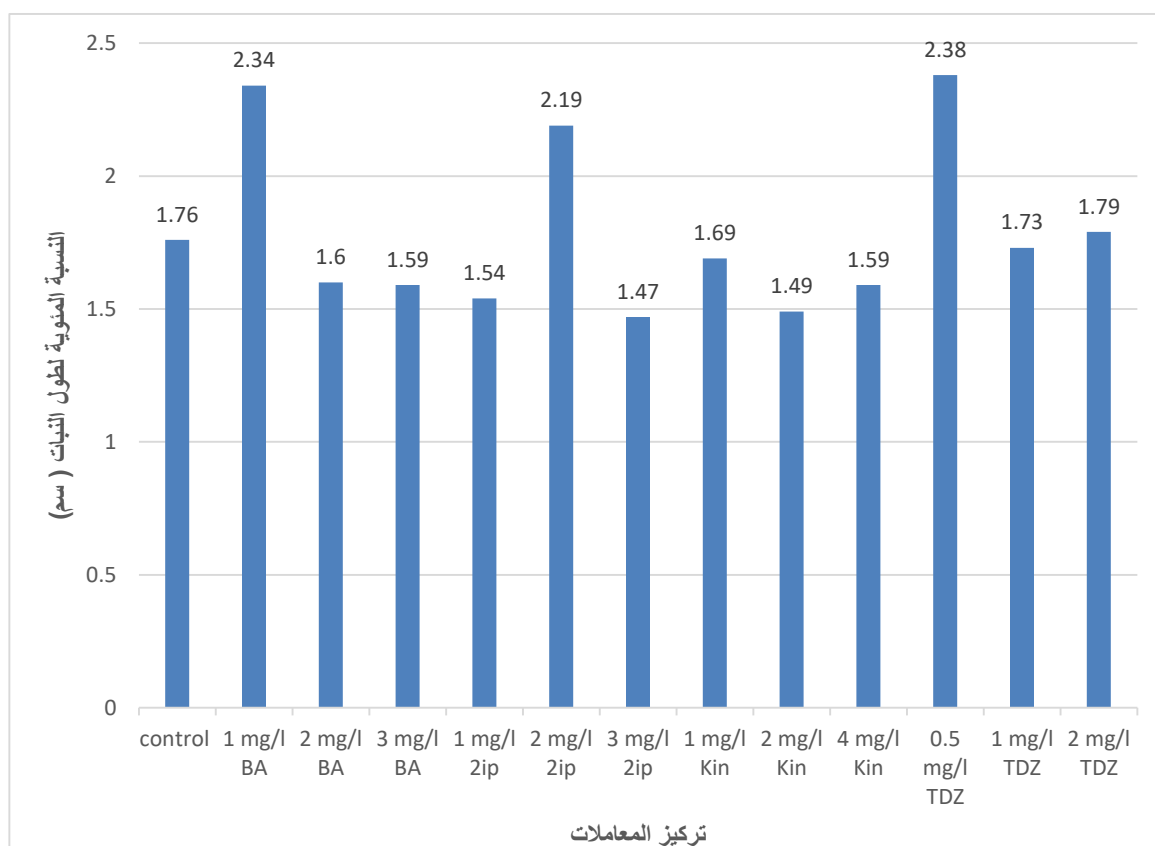
شكل (11) يبين تأثير منظّمات النمو المختلفة لصفة عدد الفروع

### 3.2.4. دراسة صفة طول النبات

تشير النتائج عند دراسة صفة الطول للنباتات النامية إلى أن منظمات النمو المختلفة كان لها تأثيرات جيدة ولكنها لم تكن متباينة بشكل كبير حيث أوضح التحليل الإحصائي لهذه الصفة أنه لا يوجد فروق معنوية بينها كما في الشكل (12).

ومقارنة بقيمة الشاهد (1.76) أن التركيز المنخفض لمنظم النمو (TDZ) هو الذي أعطى القيم العالية لصفة الطول للنبات وهو ما يتوافق مع ما أشار إليه (Mohamed et al.,2021) الذي أشار إلى التأثير الفعال في تحفيز الانقسام الخلوي والأنشطة المرستيمية لنبات الكبار.

أما منظم النمو BA فقد أظهر استجابة متوسطة حيث أعطى التركيز (3 ملجم / لتر) أقل قيمة وهي (1.59) بينما كانت أفضل قيمة له عند (1 ملجم / لتر) بقيمة (2.34)، وأن التركيزات العالية من BA نتج عنها تأثيرات سلبية كما بينه (mok& mok,2001) ومن ناحية أخرى كانت استجابة الصفة لمنظم النمو (KIN) ضعيفة نسبياً.



شكل (12) تأثير منظمات النمو المختلفة على صفة الطول لنبات الكبار

جدول (2) تركيز المعاملات المختلفة من منظمات النمو (السييتوكينات) على الصفات الخاصة بالنمو الخضري:

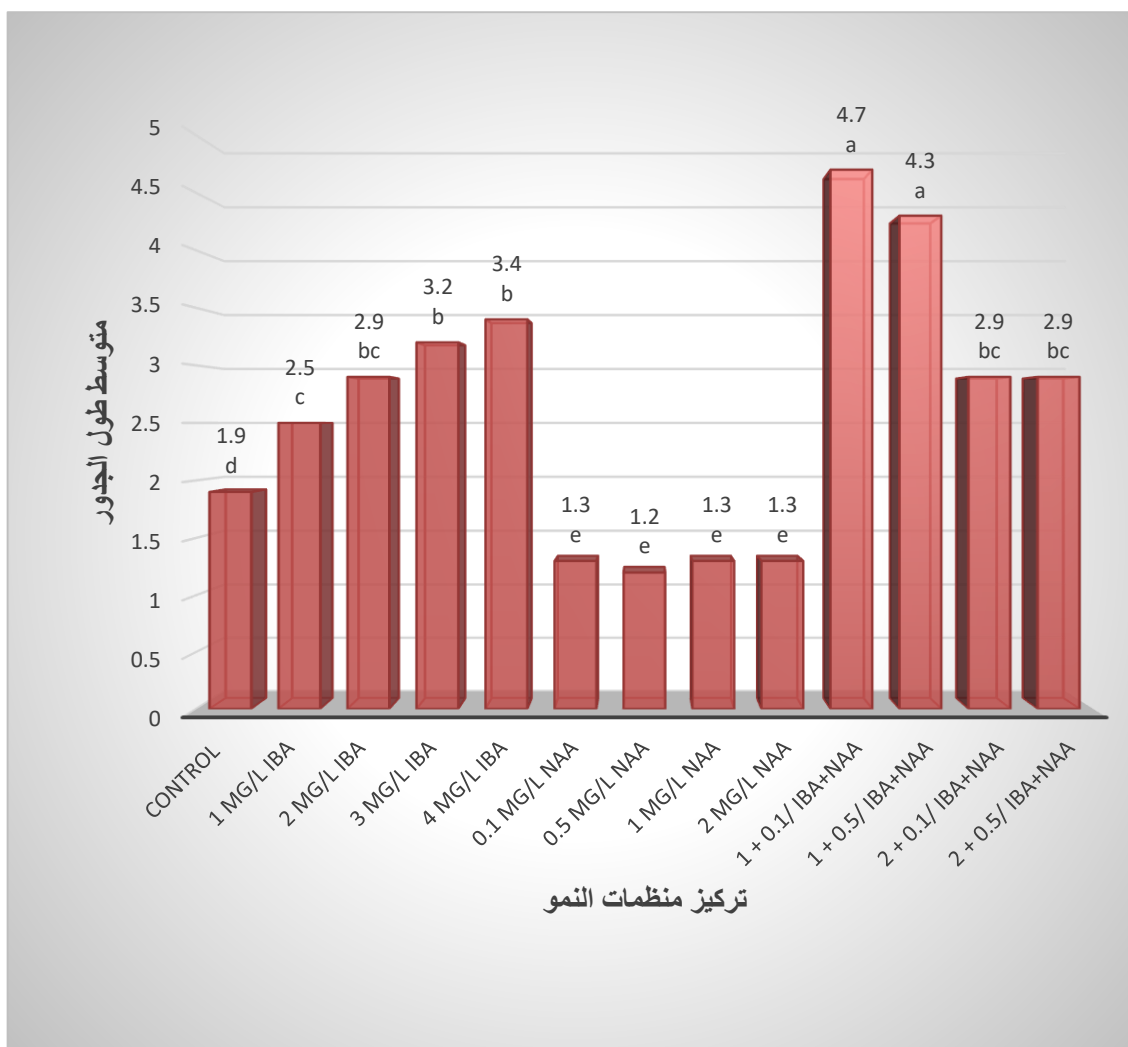
| تركيز منظمات النمو | صفة عدد الأوراق | صفة طول النبات | صفة عدد الفروع |
|--------------------|-----------------|----------------|----------------|
| الشاهد             | 21.3e           | 1.76           | 3.8 d          |
| MS+ 1BA            | 33.2b           | 2.34           | 4.9c           |
| MS+ 2BA            | 26.5c           | 1.6            | 2.2 f          |
| MS+ 3BA            | 25.9cd          | 1.59           | 2.8 ef         |
| MS+1ZIP            | 25.6cd          | 1.54           | 5.5 c          |
| MS+2ZIP            | 17.4f           | 2.19           | 3.3 e          |
| MS+3ZIP            | 24 d            | 1.47           | 3.1 e          |
| MS+ 1kin           | 24.4 d          | 1.69           | 3.2 e          |
| MS+ 2kin           | 18.6 f          | 1.49           | 4.1d           |
| MS+ 4kin           | 31.7 b          | 1.59           | 4.2d           |
| MS+0.5TDZ          | 31.7 b          | 2.38           | 7 b            |
| MS+1TDZ            | 32.3 b          | 1.73           | 8 a            |
| MS+2TDZ            | 36.6 a          | 1.79           | 4.4 d          |

### 3.4. دراسة توالد النموات الجذرية

#### 1.3.4. دراسة تأثير منظمات النمو على صفة متوسط طول الجذور

أوضحت نتائج التجربة لصفة متوسط طول الجذور حيث يبين الشكل (13) أن استخدام منظمات النمو **IBA** بتركيز 1 ملجم / لتر مضافا إليه منظم النمو **NAA** بتركيز 0.1 ملجم/ لتر أدى إلى تحفيز واضح في صفة طول الجذور حيث تفوق معنوياً على باقي المعاملات الأخرى ورفقة المعاملة **IBA** بتركيز 1ملجم/ لتر مضافا إليه منظم النمو **NAA** بتركيز 0.5 ملجم/ لتر مما يتفق مع ما ذكره (Deklerk *et al.*, 1999) حيث إنه يعد **IBA** من أكثر الأوكسينات فعالية في تحفيز تكوين المجموع الجذري.

أما فيما يخص منظم النمو (NAA) فقد أظهرت النتائج تأثيره الفعال عند وجوده أو إضافته مع منظم النمو IBA (Davies., 2010).

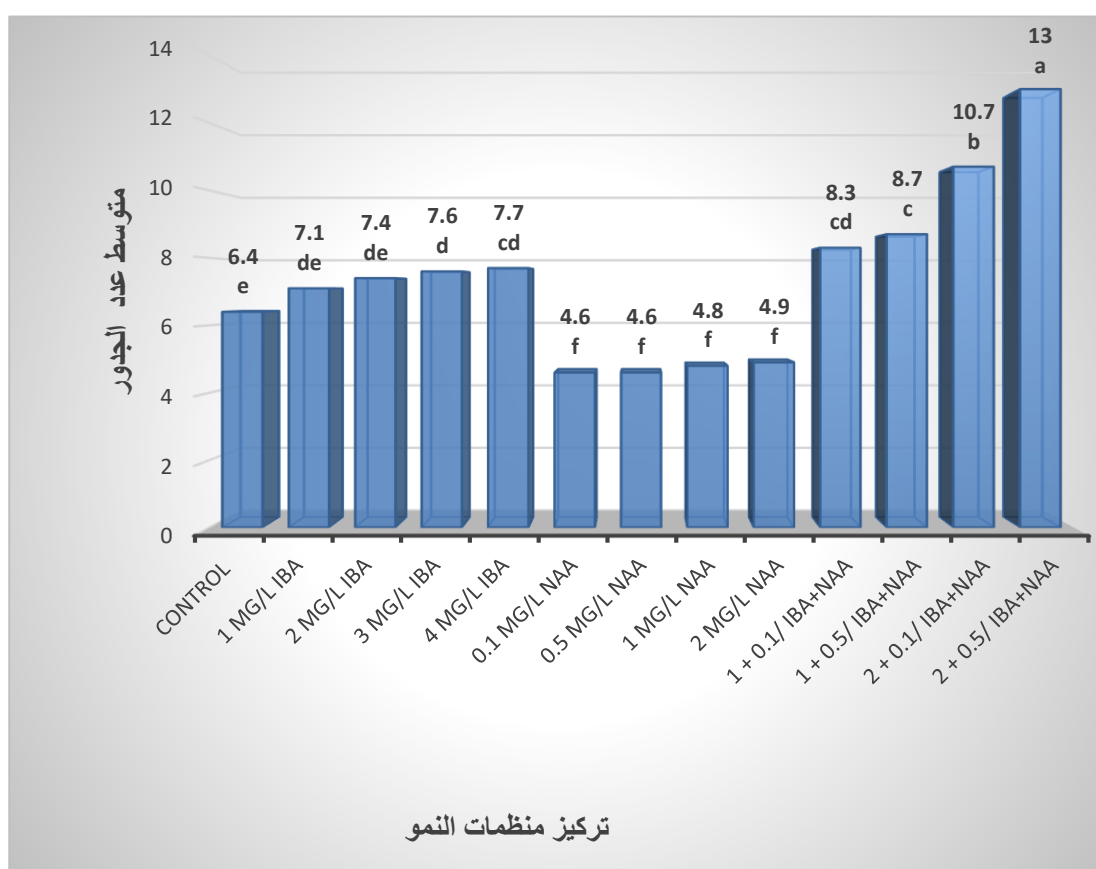


شكل (13) تأثير منظمات النمو المختلفة على صفة متوسط طول الجذور

### 2.3.4. دراسة تأثير منظمات النمو على صفة متوسط عدد الجذور

أظهرت النتائج في هذه الدراسة خاصة أن استخدام منظمات النمو مثل **NAA, IBA** كل على حدة أو مفردة ليس لها أي تأثير إيجابي بل بالعكس من ذلك فعند خلط المنظمين أعطت أداءً مميزاً وجيداً خاصة عند معاملة **IBA** بتركيز 2 ملجم/لتر مع **NAA** بتركيز 0.5 ملجم/لتر سجل أعلى متوسط لعدد الجذور ويليها الخليط (2+0.1 IBA, NAA) لتر (شكل 14) يوضح تأثير منظمات النمو على متوسط عدد الجذور.

وهذا ما يتفق مع النتائج التي وجدها (Davies, 2010) حيث إن الجمع بين نوعين من الأوكسينات يؤدي إلى تحفيز هرموني مما يؤدي إلى تحسين نمو وعدد الجذور.



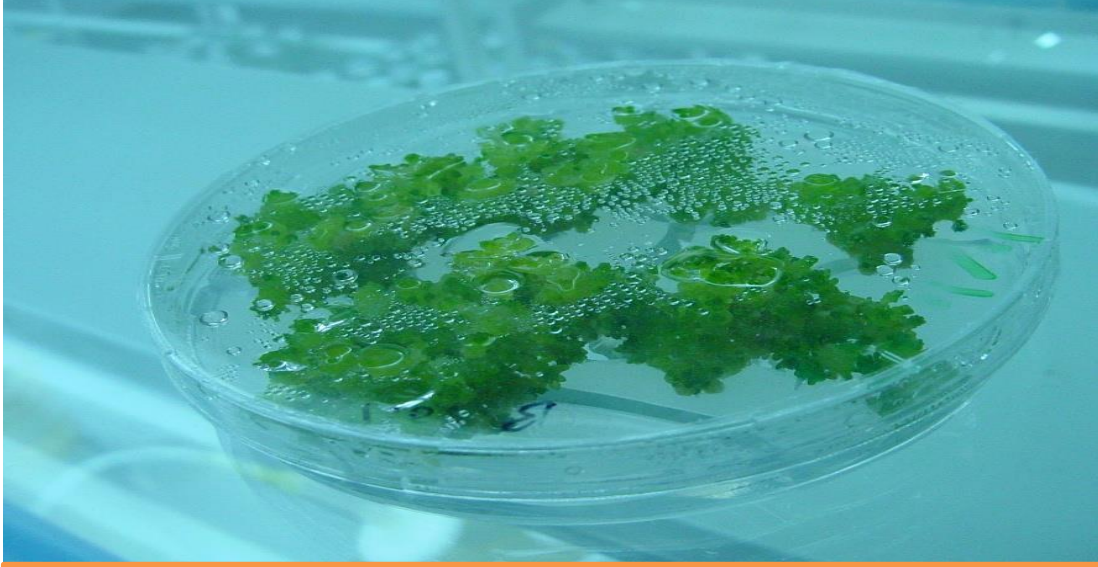
شكل (14) تأثير منظمات النمو على صفة متوسط عدد الجذور

جدول (3) تركيز المعاملات المختلفة من منظمات النمو (الأكسينات) على الصفات الخاصة بالنموات الجذرية:

| تركيز الأكسين         | صفة طول الجذور | صفة عدد الجذور |
|-----------------------|----------------|----------------|
| الشاهد                | 1.9 d          | 6.4 e          |
| MS+ 1 IBA             | 2.5 c          | 7.1 de         |
| MS+ 2 IBA             | 2.9 bc         | 7.4 de         |
| MS+ 3 IBA             | 3.2b           | 7.6 de         |
| MS+ 4 IBA             | 3.4 b          | 7.7 cd         |
| MS+ 0.1 NAA           | 1.3e           | 4.6 f          |
| MS+ 0.5 NAA           | 1.2e           | 4.6 f          |
| MS+ 1 NAA             | 1.3e           | 4.8 f          |
| MS+ 2 NAA             | 1.3e           | 4.9 f          |
| MS+ (IBA+NAA) (1+0.1) | 4.7a           | 8.3 cd         |
| MS+ (IBA+NAA) (1+0.5) | 4.3a           | 8.7 c          |
| MS+ (IBA+NAA) (2+0.1) | 2.9 bc         | 10.7 b         |
| MS+ (IBA+NAA) (2+0.5) | 2.9 bc         | 13 a           |

#### 4.4. دراسة تأثير الإكثار غير المباشر للمستأصلات النباتية

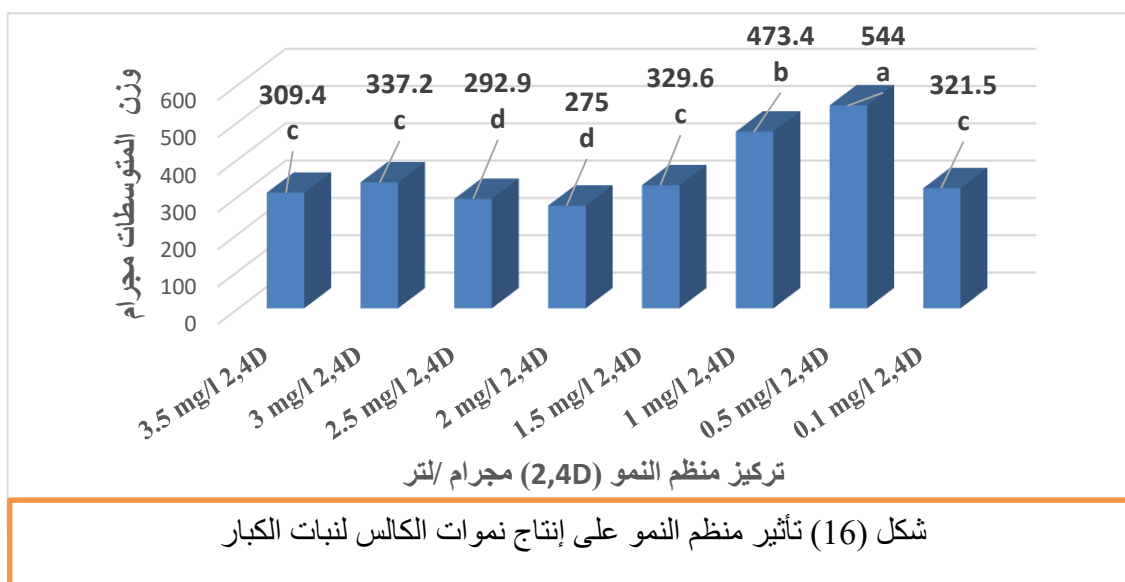
تم أخذ عينات نباتية من الأوراق التي تم إجراء التعقيم السطحي لها بالطريقة المذكورة في بداية عملية الزراعة، ثم وضعها في وسط غذائي (MS) مضافاً إليه تراكيز مختلفة من منظم النمو 2,4-D كما في الشكل (15) وبهذه الطريقة يتم الحصول على نموات الكالس.



شكل (15) الإكثار غير المباشر والحصول على نموات الكالس لنبات الكبار

كما أنّ لهذه النموات أهمية كبيرة حيث تُعدّ مصدراً مهماً لإنتاج مركبات ثانوية ذات قيمة طبية مثل الفلافونويدات، حيث يتم إكثار نموات الكالس داخل المعمل مع استخدام أفضل تركيز لمنظم النمو 2,4-D للتحفيز على النمو الجيد والسريع، وتأثيره على وزن الكالس الناتج ونقاؤه، ومن خلال هذه التجربة يبين الشكل (16) أنّ التركيز 0.5 ملجم/ لتر 2,4-D سجّل أعلى استجابة بمتوسط 544 ملجم لوزن الكالس، والذي تفوق معنوياً على باقي المعاملات المدروسة ويليهِ التركيز 1 ملجم / لتر بقيمة (473.4 ملجم) مما يوضح أن التراكيز المنخفضة إلى المتوسطة كانت الأكثر فاعلية في تحفيز تكوّن الكالس وهذه النتيجة تتوافق مع ما وجدته (George et al., 2008).

والذين أكدوا أن 2,4-D يعد من أقوى الأوكسنات الاصطناعية في تحفيز التكاثر الخلوي وتكوين الكالس خاصة عند استخدامه بتركيزات معتدلة وليست عالية، وذلك لتفادي التثبيط أو التأثيرات السمية.



جدول (4) يوضح تأثير التركيزات المختلفة لمنظم النمو (2,4-D) على إنتاج نموات الكالس لنبات الكبار:

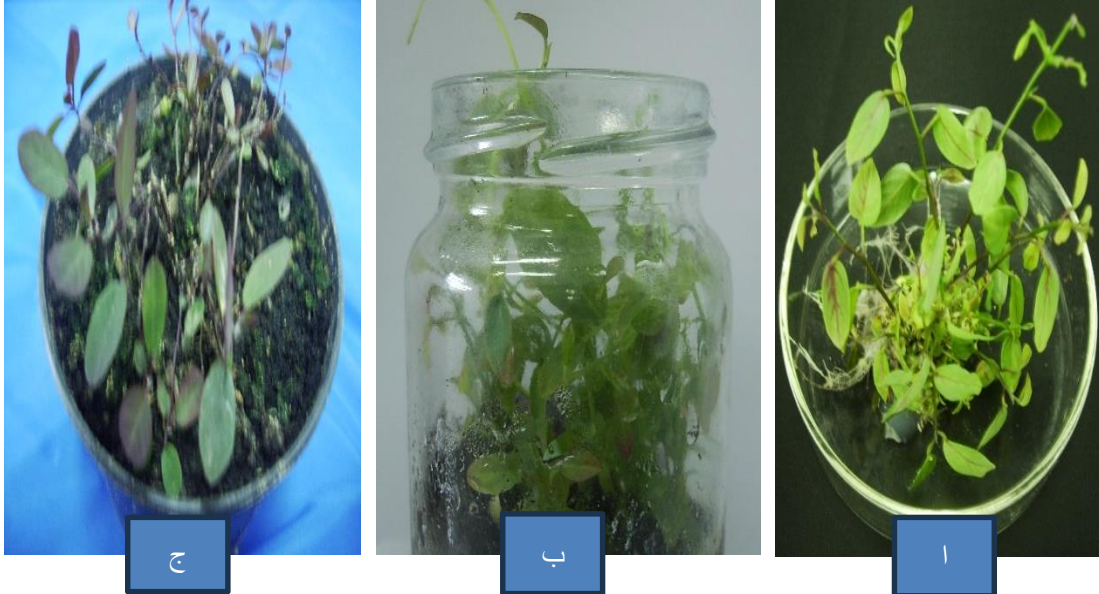
| تركيز منظم النمو (2,4-D) بالمجرام / لتر | الوزن المتوسط بالمجرام الكالس |
|-----------------------------------------|-------------------------------|
| 3.5mg/L (2,4-D)                         | 309.4 c                       |
| 3mg/L (2,4-D)                           | 337.2 c                       |
| 2.5mg/L (2,4-D)                         | 292.9 d                       |
| 2mg/L (2,4-D)                           | 275 d                         |
| 1.5mg/L (2,4-D)                         | 329.6 c                       |
| 1mg/L (2,4-D)                           | 473.4 b                       |
| 0.5mg/L (2,4-D)                         | 544 a                         |
| 0.1mg/L (2,4-D)                         | 321.5 c                       |

#### 5.4. أقلمة النبيتات

وصولاً إلى هذه المرحلة تُعدّ مرحلة زراعة الأنسجة النباتية قاربت على الانتهاء؛ ففي هذه المرحلة نقلت النموات الخضرية التي تم تحفيزها على تكوين مجموع جذري من الوعاء وغسل المجموع الجذري بالماء للتخلص من بقايا الوسط الغذائي إلى الأصص التي تحتوي على بيئة معقمة من تربة مع بيتموس بنسبة 1:1 و 1:2 حجم/حجم على التوالي، وتمت تغطية أواني الزراعة (الأصص) بغطاء بلاستيكي به عدد من الثقوب المحدودة للمحافظة على نسبة الرطوبة ولفترة من 4-5 أسابيع، بعد ذلك تمت زيادة عدد الثقوب في الغطاء البلاستيكي تدريجياً لخفض الرطوبة قبل نزع الغطاء بالكامل؛ لكي تتأقلم النبيتات على المحيط الخارجي، مع ريّ الأصص بمحلول معدني معقم خلال الأسبوعين الأولين من عملية الأقلمة، وعند وصول النبيتات إلى الحجم المناسب نقلت إلى الصوبة لحساب عدد النباتات الحية .

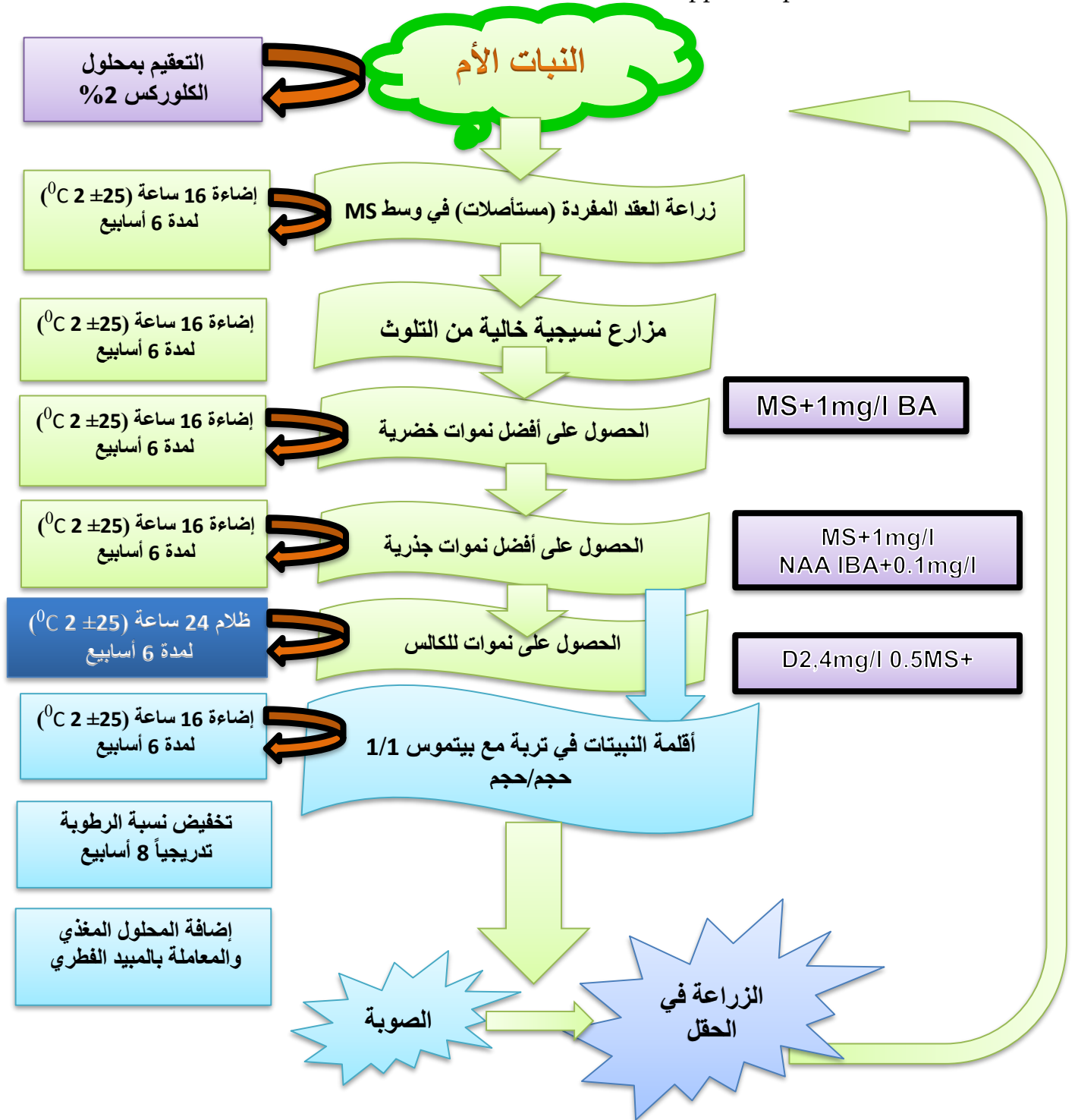
بينت نتائج التجربة السابقة أن البيئة المكونة بنسبة (1:1) حجم/ حجم من التربة والبيتموس قد تفوقت على باقي البيئات، وكانت نسبة النباتات الحية قد وصلت إلى 80% وقد سجلت هذه البيئة أعلى متوسط في نجاح النمو الخضري والجذور وكذلك عدد الأوراق، مقارنة باستخدام التراب منفرداً أو البيتومس فقط كما هو موضح في الصورة رقم (17).

ويرجع هذا التفوق إلى الخصائص الفيزيائية والكيميائية المتوازنة في الخليط، حيث يوفر البيتومس رطوبة جيدة وتهوية ممتازة، بينما تساهم التربة في دعم النبات بالعناصر المعدنية الضرورية (khodadadi et al., 2021).



شكل (17) يبين نبيتات الكبار جاهزة لعملية الأقلمة (أ) وبداية أقلمة النبيتات (ب) ونباتات الكبار متأقلمة في بيئة من بيتموس وتربة (ج)

مخطط توضيحي للإكثار الدقيق لنبات الكبار الشكل (18)  
*Capparis Spinosa L*



شكل (18) المخطط التوضيحي للإكثار الدقيق لنبات الكبار *Capparis spinosa L*

## تصميم التجربة وتحليل النتائج إحصائياً

تم تسجيل طول النبيتات وعدد الفروع وعدد الأوراق للنموات الخضرية، وطول الجذور وعدد الجذور للنموات الجذرية ووزن المستأصلات النباتية (الكالس) بالملجم عند استخدام الإكثار غير المباشر للنبيتات حيث تم تصميم التجربة وتحليل النتائج إحصائياً باستخدام التصميم العشوائي الكامل **Completely Randomized Design (CRD)**، وهي تجربة عملية بحيث تحتوي كل معاملة على 10 مكررات في كل مرحلة من مراحل التجربة، وحيث سيتم تحليل النتائج إحصائياً باستخدام تطبيق

Version 4.03 R Core Team, 2020 (R)

الجدول (5) الزمني بالشهر لكل مرحلة من الدراسة التي تستمر لمدة 12 شهراً

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |                                                                               |
|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|-------------------------------------------------------------------------------|
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  | المدة الزمنية بالشهر                                                          |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  | تجربة التعقيم السطحي للأجزاء النباتية للحصول على مزرعة نسيجية خالية من التلوث |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  | تجربة الحصول على أفضل نموات خضرية                                             |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  | تجربة الحصول على أفضل نموات خضرية                                             |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  | الإكثار غير المباشر (نموات الكالس)                                            |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  | أقلمة النموات الناتجة من الزراعة النسيجية                                     |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  | إجراء التحليل الإحصائي                                                        |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  | استكمال كتابة الرسالة                                                         |

## 5. الاستنتاج

1. أفضل طريقة لتعقيم السطحي للمستأصلات النباتية لنبات الكبار *Capparis Spinosa L* هي استخدام محلول الكلوركس التجاري بتركيز المادة الفعالة هيبوكلوريت الصوديوم 2% لمدة 15 دقيقة الذي أعطى أعلى نسبة من المزارع النسيجية الخالية من التلوث تصل إلى 90%.
2. أفضل النتائج التي تم الحصول عليها من حيث توالد النموات الخضرية كانت كما يلي: من حيث عدد الأوراق وذلك بزراعة العقد المفردة في وسط غذائي (MS) مدعم بمنظم النمو (TDZ) بتركيز (2 ملجم / لتر)، أما عن صفة عدد الفروع فهي تعطي أعلى نسبة في وسط غذائي (MS) مدعم بمنظم النمو TDZ بتركيز 1 ملجم/ لتر، وصفة طول النبات كانت أعلى النتائج في وسط غذائي مدعم بمنظم النمو TDZ بتركيز 0.5 ملجم/ لتر.
3. أما من حيث توالد النموات الجذرية فكانت أفضل النتائج عند استخدام الوسط الغذائي MS مدعماً بمنظمي النمو (NNA+IBA) وبتركيز (1 ملجم/ لتر + 0.1 ملجم/ لتر) وذلك لصفة طول الجذور، أما لصفة عدد الجذور فكانت أفضل نتيجة لزراعة الأنسجة في وسط غذائي مدعم بمنظم نمو عبارة عن توليفه بين (NAA+IBA) (2 ملجم/ لتر + 0.5 ملجم/ لتر).
4. إمكانية الحصول على أفضل النتائج لنجاح عملية الإكثار غير المباشر باستخدام منظم النمو 2,4-D بتركيز 0.5 ملجم / لتر.
5. الحصول على أقلية 80% من النبيتات التي وصلت إلى حالة الأقلية التامة وكانت البيئة المناسبة للنمو هي بيئة معقمة من تربة مع بيتموس بنسبة 1:1 حجم/ حجم هي الأفضل لأقلية النبيتات قبل نقلها إلى الصوبة.

## 6. التوصيات

1. توفير المواد والمعدات المستخدمة في عملية الزراعة النسيجية لتسهيل إجراء البحوث على الطلبة والباحث في هذا المجال.
  2. تدريب الكوادر البحثية والفنية على تقنيات زراعة الأنسجة النباتية لتعميم استخدامها في برامج الإكثار التجاري للنباتات الطبية والعطرية.
  3. تشجيع البحوث التطبيقية التي تربط بين نتائج المختبر والتطبيق الحقل لضمن نجاح عمليات الأقامة وزيادة نسب بقاء النباتات بعد النقل إلى التربة.
  4. يوصى بالاعتماد على الزراعة النسيجية كوسيلة فعالة لإنتاج أعداد كبيرة من النباتات المتجانسة والخالية من الأمراض، مع العمل على تطوير بروتوكولات محلية تتناسب مع الظروف البيئية المتاحة.
  5. تشجيع الطلاب والباحثين على متابعة الأبحاث في مجال الإكثار النباتي للنباتات الطبية المهمة وذلك بالاستفادة من التجارب الناجحة على نبات الكبار.
  6. تعزيز التعاون بين الجامعات والمراكز البحثية والقطاع الزراعي المختص؛ وذلك للاستفادة من نتائج البحوث في برامج التنمية الزراعية والمحافظة على النبات من الاندثار، وكذلك استصلاح الأراضي الجافة باستخدام نبات الكبار واعتباره نباتاً متحملاً ومقاوماً للجفاف.
- وأخيراً وتُعد من أهم النقاط وهي:
- ضرورة الاستمرار في إجراء دراسات موسعة وشاملة على نبات الكبار بهدف تحسين طرق الإكثار المختلفة لما لهذا النبات من أهمية طبية واقتصادية وبيئية مهمة جداً.

## 7. المراجع

### 1.7. المراجع العربية

- 1- القاضي.ع. 1988 استعمالات بعض النباتات في الطب الشعبي الليبي. دار الكتب الوطنية. بنغازي. ليبيا.
- 2- حمود.س،ن. الطرشاني ،ا.أبوغنية،م أبوسنينة، غادة سعيد، إ. الداخة، 2013 الإكثار الدقيق لنبات الكبار *Capparis spinosa L* المؤتمر السادس للتقنيات الحيوية مصراتة – ليبيا.

## 2.7. المراجع الأجنبية

Abughnia, E. S, Elmaghrabi, A., & Hammud, S (2017). Micropropagation of *Capparis spinosa* L. from wild leaves in Libya. African Journal of Biotechnology, 16(5), 233-241. <https://doi.org/10.5897/AJB2016.15772>.

Abughnia. E, S, Hammud. A. Shaaban, M. Abosneena, A, Elmograbi. 2020. Micro propagation of *Capparis spinosa* through plant tissue culture technology Journal of Misurata University for Agricultural Sciences ISSN 2708-8588

Basheir M. El-Azraq<sup>1</sup>, H.M.S. Hassan<sup>2</sup>, M.A. El-Mekawy<sup>2</sup> and M.A.M. ali<sup>2</sup> 2018. effect of light, explant type, growth regulators and mannitol on *Capparis spinosa* L callus induction and active ingredients production. Sinai Journal of Applied Sciences (ISSN: 2314-6079) Vol. (7) Is. (2), Aug. 2018

Carimi, F., Zottini, M., Formentin, E., Terzi, M., & Schiavo, F. L. (1999). Cytokinins and plant regeneration: Inhibition of programmed cell death in *Medicago truncatula*. Plant Physiology and Biochemistry. 37(5), 443-450.

Carra, A., Mingo, D. M., Carimi, F., & De Pasquale, F. (2020). In vitro rooting of caper *Capparis spinosa* L as affected by genotype and the proliferation method. Scientia Horticulturae, 259, 108849. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108849>

Davies, P. J. (2010). Plant hormones Biosynthesis, signal transduction action! (3rd ed. 1. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-26>

De Klerk, G. J., Van Der Krieken, W. & De Jong, J. C. (1999) The formation of adventitious roots: New concepts, new possibilities. In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant, 35(3), 189-199 <https://doi.org/10.1007/s11627-999-0031->

Faran, M. *Capparis spinosa* the plant on the wall. In Medicinal and Aromatic Plants of the Middle-East (Medicinal and Aromatic Plants of the World), Yaniv, Z., Dudai, N., Eds, Springer Dordrecht. The Netherlands, 2014, pp. 59-65

- Fici, S. Intraspecific variation and evolutionary trends in *Capparis spirisa* L. (Capparaceae) Plant Syst. Evol. 2001, 228, 123-141 (CrossRef]
- George, E F., Hall, M. A., & De Klerk, G. J. (2008), Plant propagation by tissue culture Volume 1. The background. Springer.
- George, E. F., Hall, M. A., & De Klerk, G. 1. (2008). Plant propagation by tissue culture (3rd ed.). Springer
- Germana, M. A., & Chiancone, B. (2009). In vitro germination and seedling development of caper *Capparis spinosa* L mature seeds In Acta Horticulturae, 839. [ups://doi.org/10.17660/Acta Hortic 2009.839.21](https://doi.org/10.17660/Acta Hortic 2009.839.21) 181-186
- Goda, S. M. (2017). Genetically stable plants with boosted flavumids content after in vitro regeneration of the endangered *Capparis spinosa* L Global Drugs & Therapeutics 2(4), 7. <https://doi.org/10.15761/GDT 1000124>
- Gristina, A.S., Fici, S., Siragusa, M., Fontana, 1, Garfi, G. Carimi, F Hybridization in *Capparis spinosa* L... Molecular and morphological evidence from a Mediterranean island complex. Flora Morphol Distrib. Funct. Ecol. Plants 2014, 209, 733-741 (CrossRef)
- Gupta, P.K., & Durzan, D. J. (1985). Shoot multiplication from mature trees of woody species by tissue culture: Pinus and Sequoia. Proceedings of the National Academy of Sciences, 82(15), 5570-5574. <https://doi.org/10.1073/pnas.82.15.5570>
- The Plant Cell. 25(9), 3159-3173. <https://doi.org/10.1105/tpe.113.116053>
- Inocencio, C., Rivera, D., Concepción Obón, M.; Alcaraz, F., Barreña, J.-A. A systematic revision of *Capparis* section *Capparis* (Capparaceae) 1,2. Ann. Mo. Bot. Gard. 2006, 93, 122-149. [CrossRef]
- Jiang, H.E., Li, X., Ferguson, K.D.; Wang, Y.F, Liu, C.J., Li, C.S. The discovery of *Capparis spinosa* L (Capparidaceae) in the Yanghai Tombs (2800 years b.p.), NW

China, and its medicinal implications. J. Ethnopharmacol. 2007, 113, 409-420.  
[CrossRef]

Khodadadi, M., Zarei, A., & Shafiei, M. (2021). Effects of different substrate mixtures on acclimatization and growth of medicinal plants propagated via tissue culture. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 184(3), 453-462

Koufan, M., Belkoura, 1., & Mazri, M. A. (2022).

In vitro propagation of caper *Capparis spinosa* L. A review. Plants, 8(8), 737.  
<https://doi.org/10.3390/horticulturae8080737>

Ludwig-Müller, J. (2000). Indole-3-butyric acid in plant growth and development. Plant Growth Regulation, 32(2-3), 219-230.<https://doi.org/10.1023/A:1006388821672>

Mohamed, R. A., El-Banna, A N., & El-Awadi, M. E. (2021). Micropropagation, conservation, molecular and biochemical studies on *Capparis spinosa* var. deserti. Egyptian Journal of Botany, 61(1). 1-15.

Mok, D. W. S., & Mok, M. C. (2001). Cytokinin metabolism and action. Annual Review of Plant Biology, 52(1), 89-118.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.52.1.89>

Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 15(3), 473-497.  
<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>

R Core Team (2020). A Language and Environment for Statistical Computing Vienna: R Foundation for Statistical Computing

Ramezani-Gask, M. Bahrani, M. & Shekafandeh, A. A. 2008. comparison of different propagation methods of common Caper-bush *Capparis spinosa* L as a new horticultural crop. Int. J. Plant Dev. 2008, 2, 106-110.

Rhimi, A., Hannachi, H., Hjaoujia, S., Yousfi, H.; Boussaid, M. In vitro germination and seedling development of Tunisian caper *Capparis spinosa* L. Int. J. Agron. Agri. Res. 2017, 10, 1-8.

Tavanaei, F., Salehi, H., & Gharati, F. (2020). Encapsulation of in vitro-derived propagules of two genotypes of *Capparis spinosa* for short-term conservation and exchange.

Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01791-5>



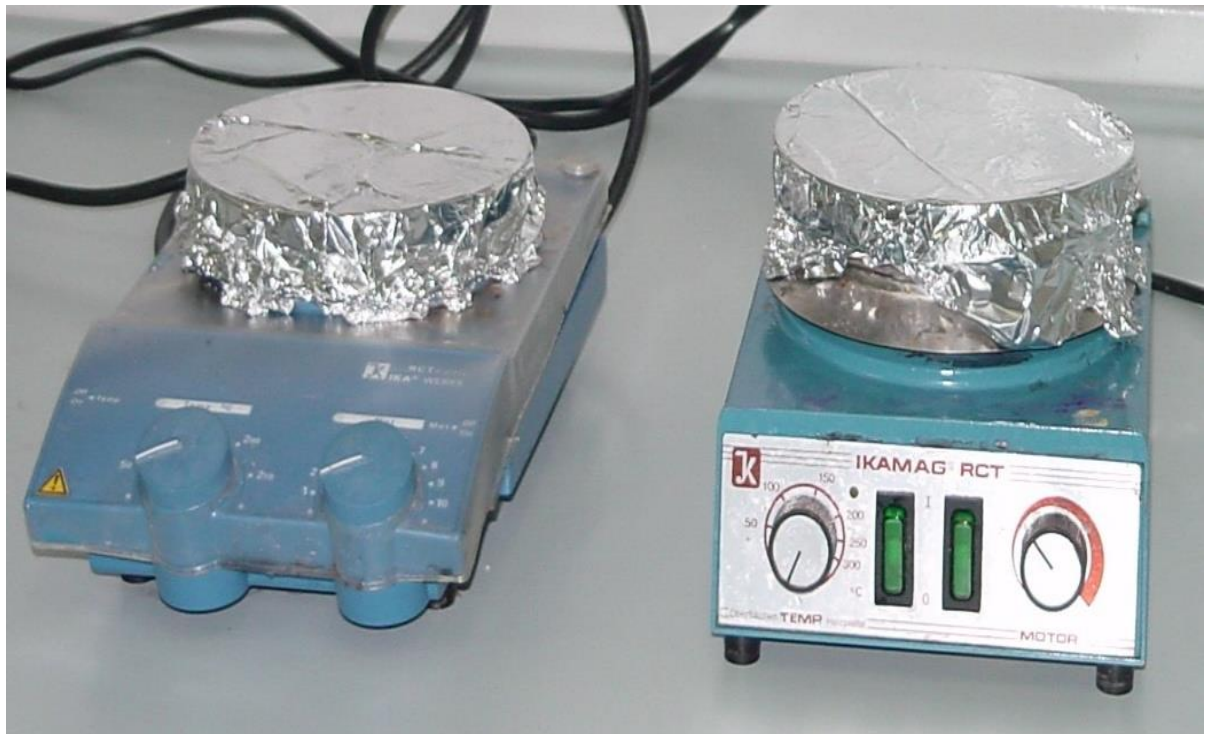
ملحق (1) جهاز التعقيم بالبخار



ملحق (2) جهاز التقطير الثنائي



ملحق (3) جهاز الميزان الحساس



ملحق (4) المسخن الحراري الدوار



ملحق (5) جزء من العينات المزروعة داخل غرفة العزل



ملحق (6) المؤقت Timer



ملحق (7) غرفة النمو



ملحق (8) جهاز قياس PH الأس الهيدروجيني



ملحق (9) جهاز التقطير الماء الثنائي



ملحق (10) صورة لنبات الكبار من داخل الصوبة

## Abstract

The using of plant tissue culture technology in propagating the caper plant *Capparis spinosa* L by direct and indirect method

This study was conducted to determine the optimal concentration of the sterilization solution for achieving contamination-free tissue cultures, identify the best treatment for the studied growth regulators to achieve optimal vegetative and root growth, and facilitate indirect propagation by producing callus from the caper plant *Capparis spinosa* L. Additionally, the study aimed to acclimatize tissue cultured plants and select the most suitable acclimatization medium.

To obtain contamination-free vegetative growths, surface sterilization of the plant cuttings was performed. The results showed that the best sterilization treatment was immersion of the plant parts in a 2% Clorox solution for 15 minutes. Regarding the use of growth regulators, a concentration of 0.5 mg/L of the growth regulator TDZ significantly outperformed all studied traits in terms of vegetative growth, including the number of leaves, number of nodes, and plant height, recording averages of 36.6, 8, and 2.38 cm, respectively.

Regarding root growth, the results showed that a combination of IBA (1 mg/L) with either 0.1 or 0.5 mg/L NAA (n-A) was the best treatment for root growth. Root length averaged 4.7 cm with the (1:0.1) (NAA: IBA) combination, while the (0.5:2) (NAA: IBA) combination yielded the best root count, averaging 13 roots.

For indirect propagation using callus cells, the 0.5 mg/L 2,4D treatment was the most effective, significantly outperforming the other treatments. It yielded 544 mg of callus cells from a single plant root.

The study demonstrated the ability to acclimatize 80% of the seedlings in a sterile medium of soil and peat moss at a 1:1 v/v ratio before transplanting to the greenhouse, due to the balanced physical and chemical properties of the mixture.

**Keywords:** *Capparis spinosa* plant, plant tissue culture technique, callus, growth regulators.



University of Zawiya

Faculty of Science

Department of Botany

Research Thesis in Partial Fulfillment of the Master's  
Degree in Botany

**Title**

The using of plant tissue culture technology in propagating the caper  
plant (*Capparis spinosa* L) by direct and indirect method

Prepared by: Ghada Al-Taher Mohammed Al-Naas

Registration Number: 016201199

Supervised by: Prof. Dr. **Adel Mokhtar Al-Maghrabi**

**Spring Semester 2026**