CC BY

------ مجلة علوم الرافدين، المجلد 29، العدد 1، ص 50-67، 2020------

دور المعاملة المسبقة بأشعة ليزر الدايود في نمو بادرات وكالس نبات البازلاء *Pisum sativum* L. تحت الإجهاد الملحي

ايمان طه ياسين ***ساجدة عزيز عبود**

قسم علوم الحياة/ كلية العلوم/ جامعة الموصل

***E-mail**: azizsajida@yahoo.com

(أُستلم 13/ 11/ 2019 ؛ قُبل 19/ 1/ 2020)

DOI: 10.33899/rjs.2020.164481

الملخص

تضمن البحث دراسة تأثير أشعة ليزر الدايود الحمراء عند الطول الموجي 650 نانوميتر وبقدرة 50 ملي واط/سم^2 لمدد مختلفة 2،4،6،8 و10 دقيقة في نمو وتطور بادرات وكالس البازلاء *Pisum sativum* L. تحت الإجهاد الملحي بتركيز 200 ملي مول. اظهرت النتائج ان تعريض بذور البازلاء لأشعة الليزر لمدد مختلفة أحدثت زيادة واضحة في مؤشرات النمو المدروسة قياسا بمعاملة المقارنة، اذ تفوقت معاملة البذور بأشعة الليزر لمدة 10 دقائق على باقي المعاملات في تحفيزها لسرعة الإنبات، معدل اطوال كل من الجذير والرويشة وأوزانهما الطرية والجافة مع زيادة معدل الوزن الطري والجاف للمجموع الجذري والخضري للبادرات قياسا بمعاملة المقارنة. أشارت النتائج أيضا الى زيادة معدل الأوزان الطرية والجافة للكالس المعرض لأشعة الليزر لمدد مختلفة بعد 21 يوما من النمو على وسط MS المجهز بتركيز 1.0 ملغم/ لتر من BA و NAA لكل منهما. برهنت الدراسة امكانية معالجة التاثيرات السلبية لملح كلوريد الصوديوم بتركيز 200 ملي مول على مؤشرات نمو بادرات البازلاء وكالسه بتعريض البذور والكالس مسبقا لأشعة الليزر لمدة 10 دقائق، حيث سببت زيادة واضحة في سرعة الإنبات، فعالية انزيم الالفا- اميليز خلال مراحل الانبات المختلفة، ومعدلات نمو البادرات (اطوال كل من الجذير والرويشة ومعدل أوزانهما الطرية والجافة، ارتفاع النبات، طول الجذر، عدد تفرعات الساق والجذر، والاوزان الطرية والجافة للمجموع الخضري والجذري مع زيادة كمية الكلوروفيل الكلي في الاوراق). وايضا تشير النتائج الى الدور الايجابي لأشعة الليزر لمدة 10 دقائق في زيادة معدل الأوزان الطرية والجافة للكالس واعادة حيويته بعد 21 يوما من النمو والتقليل من تضرر الأغشية الخلوية مع زيادة محتوى الأوراق والكالس من البروتينات والسكريات الذائبة والبرولين قياسا بالمعاملة بالملح فقط.

الكلمات الدالة: نبات البازلاء، ملح كلوريد الصوديوم، ليزر الدايود، مزارع الكالس.

المقدمة

تؤثر العديد من العوامل البيئية بشكل سلبي على نمو النبات وتطوره وعلى الإنتاج النهائي للمحصول ومن هذه العوامل الجفاف والملوحة (Shao *et al*., 2008)، وتعد الملوحة إحدى مشاكل الزراعة التي تحول دون نمو المحاصيل و إنتاجيتها وتلقت اهتماما كبيرا من قبل مربي النباتات ومعها طورت النباتات العديد من الآليات للتخفيف من الاثار الضارة للملوحة (Shehzad *et al*., 2019). يعد إنبات البذور مرحلة حرجة في نمو النباتات وتطورها (Bnejdi *et al*., 2011). وفي الآونة الأخيرة أُجريت العديد من البحوث لتحسين تحمل النبات للملوحة من خلال تطبيق العلاجات الكيميائية كإضافة الهرمونات النباتية، المعادن، الاحماض الامينية او الفيتامينات وغيرها (Emam and Helal, 2008؛ جودي وعباس، 2016؛ حمزة وعلي، 2017) او من خلال المعالجة الفيزيائية كالتعريض لأشعة الليزر (Ferdosizadeh *et al*., 2013) او ممغنطة المياه

(الجبوري وآخرون،2011) وغيرها. ان استخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية ساعدت في التغلب على الكثير من المشاكل التي تسببها الملوحة لما توفره هذه التقنية من وسط نمو متجانس من حيث المحتوى الملحي والظروف البيئية (Rai *et al*., 2011) واستخدمت هذه التقنية لدراسة تأثيرات العديد من عوامل الاجهاد غير الحيوية (Hameed, 2018) وذلك بانتخاب الخلايا التي تتحمل الملوحة وتكثيرها على اوساط غذائية خاصة كما في نبات البازلاء (Elsayed and Elsayed, 2011)، نبات الحنطة (عبد وآخرون،2012)، نبات العنب (عبد الحسين وهاشم،2015) ونبات البطاطا (كامل وآخرون، 2016). لقد اثبت استخدام اشعة الليزر كاسلوب واعد للتحسينات الزراعية حيث تعد طريقة امنة للبيئة وكثيرا ما تغير مسار بعض العمليات الفسيولوجية والبيوكيميائية في البذور مما يؤدي الى تحسين نمو النبات في المراحل اللاحقة (Hernandez *et al*., 2010، غانم،2017). تم توجيه البحوث الزراعية الحالية نحو وضع طرق فعالة لتحسين النشاط الفسيولوجي للنبات وانتاجية المحصول. اذ وجدت نتائج العديد من البحوث ان التشعيع بالليزر يزيد من انبات البذور ويسرع من نمو النبات ويحسن الايض النباتي (Chen *et al*., 2005)، على الأرجح يرتبط تأثير اشعة الليزر على النباتات بتأثيراته الضوئية والكهرومغناطيسية المحفزة لعديد من العوامل الداخلية كصبغات الفايتوكروم (Samuilov and Garifullina, 2007) والهرمونات النباتية (Valiati *et al*., 2012). أشارت إحدى الدراسات ان معالجة بذور البنجر السكري بأشعة الليزر سببت زيادة تركيز الكلوروفيل والسكر الذائب في الاوراق قياسا بمعاملة المقارنة (Sacala *et al*., 2012). وفي دراسة أخرى سببت معاملة بذور زهرة الشمس باشعة ليزر الدايود زيادة في نسب الانبات وفي نمو وتطور النبات وتعجيل ظهور الأزهار (غانم وعبود،2015). أثبتت العديد من الدراسات ان نتائج معاملة البذور باشعة الليزر زادت من مقاومة النبات لبعض أنواع الإجهاد البيئي (Chen, 2008).

اجريت هذه الدراسة بهدف تقييم كفاءة اشعة الليزر في تحفيز ونمو بادرات البازلاء وكالسه ومدى دور تلك الأشعة في التخفيف من الآثار السلبية لملح كلوريد الصوديوم في نمو تلك البادرات والكالس.

مواد وطرائق البحث

تعريض البذور لأشعة الليزر

جهزت بذور البازلاء *Pisum sativum* L. من كلية الزراعة في جامعة الموصل. عرضت مجموعة من بذور البازلاء إلى أشعة ليزر الدايود الحمراء باستعمال جهاز ليزر شبه الموصل بطول موجي (650) نانوميتر وبقدرة (50) ملي واط/سم^2 ولمدد زمنية (2، 4، 6، 8 و10 دقيقة) وعلى بعد (7.0) سم من مصدر الأشعة وبالإضافة الى بذور المقارنة بدون التعريض لأشعة الليزر.

التعقيم السطحي للبذور

عقمت مجموعة من البذور المعاملة بأشعة الليزر وأخرى بدون معاملة (المقارنة) بغمرها في محلول الكحول الاثيلي بتركيز 96% مع التحريك المستمر لمدة دقيقتين ثم نقلت الى محلول القاصر التجاري NaOCl المخفف بنسبة2:1 (قاصر: ماء) لمدة 20 دقيقة، بعد ذلك غسلت بالماء المقطر المعقم أربع مرات لإزالة آثار محلول التعقيم (ياسين وعبود، 2019).

معاملة البذور بملح كلوريد الصوديوم

نقلت مجموعة من بذور البازلاء المعرضة لأشعة الليزر لمدة 10 دقائق الى محلول ملح كلوريد الصوديوم بتركيز 200 ملي مول وتركت في الظلام مدة 24 ساعة وبدرجة حرارة 25°م.

زراعة البذور وتنمية البادرات

اخذت 50 بذرة بشكل عشوائي من بذور البازلاء *P. sativum* L. المعرضة لاشعة الليزر لمدد مختلفة والمنقوعة بمحلول كلوريد الصوديوم 200 ملي مول و بالماء المقطر (معاملة المقارنة)، ووزعت على ثلاثة اطباق بلاستيكية (لكل معاملة) بقطر 12سم بداخلها ورق ترشيح مبلل بـ 10 سم ^{3} من الماء المقطر. تركت البذور في غرفة التنمية في الظلام بدرجة حرارة (23 ± 2)°م لحين حصول الانبات فيها مع مراعاة بقاء أوراق الترشيح رطبة.

تأثير ملح كلوريد الصوديوم في انبات البذور وتطورها

بدء الانبات

تم حساب المدة اللازمة لبدء انبات بذور البازلاء *P. sativum* L. المعاملة بالليزر والملح وبالماء المقطر (معاملة المقارنة).

نسبة الانبات

حسبت النسبة المئوية للانبات لبذور نبات البازلاء *P. sativum* L. لكل معاملة بعد 10 ايام من الزراعة وفق المعادلة الآتية:

$$\text{نسب الإنبات (\%)} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{عدد البذور المزروعة}} \times 100$$ (ولي، 1990)

سرعة الإنبات

استخدمت المعادلة التالية لتقدير سرعة انبات بذور البازلاء *P. sativum* L. لكل معاملة بعد 10 ايام من الزراعة.

$$\text{سرعة الإنبات} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{عدد الايام منذ بدء الإنبات}}$$

(داؤد، 2011)

تقدير فعالية انزيم الالفا- اميليز في البذور خلال مراحل الإنبات

استخلاص الإنزيم

أخذت أربع مجاميع من بذور نبات البازلاء *P. sativum* L. المعقمة، بالطريقة المذكورة سابقا، المجموعة الأولى نقعت في الماء المقطر والمجموعة الثانية في محلول كلوريد الصوديوم بتركيز200 ملي مول والمجوعة الثالثة عرضت لأشعة الليزر لمدة 10 دقائق والمجموعة الرابعة عرضت لأشعة الليزر لمدة 10 دقائق ثم نقعت بمحلول ملح كلوريد الصوديوم بتركيز 200 ملي مول مدة 24 ساعة، بعد ذلك نقلت البذور لكل المعاملات الى أطباق بلاستيكية حاوية على ورق ترشيح مبلل بالماء المقطر مع مراعاة الاستمرار في ترطيب البذور بقليل من الماء ومتابعة فعالية إنزيم الالفا- اميليز خلال مرحلة الإنبات.

استخدمت طريقة (Bialecka and Kepczynski, 2010) لاستخلاص انزيم الالفا- اميليز من تلك البذور ومن ثم تقدير وحساب فعاليته وفق طريقة (Bernfeld,1955) بالاعتماد على المنحنى القياسي للمالتوز المحضر. حددت وحدة فعالية الانزيم بأنها كمية الانزيم اللازمة لتحرير مايكرومول واحد من المالتوز لكل دقيقة من الزمن.

طول الجذير والرويشة

تم قياس طول كل من الجذير والرويشة للبذور النابتة بعد مرور عشرة أيام من زراعتها باستخدام شريط القياس.

الوزن الطري والجاف للجذير والرويشة

تم أخذ الأوزان الطرية للجذير والرويشة لكل معاملة بعد عشرة أيام من زراعة البذور على الأطباق باستخدام ميزان حساس. ثم جففت العينات في فرن كهربائي بدرجة حرارة 70°م لمدة 48 ساعة ولغاية ثبات الوزن، ثم اخذت الاوزان الجافة للجذير والرويشة كل على حدا، ولكل معاملة.

تأثير أشعة الليزر وكلوريد الصوديوم في نمو وتطور البادرات

عرضت مجموعة من البذور لاشعة الليزر لمدة 10 دقائق، ثم عقمت البذور بالطريقة المذكورة سابقا، بعدئذ زرعت على سطح قنانٍ زجاجية حاوية على الوسط الغذائي Arnon شبه الصلب المعقم (Arnon and Hoagland, 1944) المجهز بـ 200 ملي مول من كلوريد الصوديوم إضافة الى مجموعة المقارنة (دون اي معاملة) وحضنت القناني في نفس الظروف المذكورة أعلاه، ثم أجريت القياسات التالية:

معدل طول الساق والجذر

تم قياس طول الساق للبادرات لكل معاملة إبتداءاً من مستوى سطح الوسط الغذائي وحتى أعلى قمة نامية له ومعدل طول الجذور لنفس البادرات من قاعدة الجزء الخضري (منطقة اتصال الساق بالجذر) حتى نهاية الجذر الرئيسي، وتمت عملية القياس باستخدام شريط القياس.

معدل عدد الأفرع للساق والجذر

حسب معدل عدد الأفرع للسيقان والجذور للبادرات لكل المعاملات

معدل الوزن الطري والجاف للنبات

قدر معدل الأوزان الطرية للبادرات (المجموع الخضري والجذري) المعاملة بأشعة الليزر لمدة 10 دقائق والنامية على الأوساط الزرعية الحاوية على200 ملي مول من ملح كلوريد الصوديوم بعد 20 يوما من النمو على تلك الأوساط باستخدام ميزان حساس. بعد أخذ الوزن الطري للبادرات ، وضعت في أكياس ورقية مثقبة وجففت في فرن كهربائي بدرجة حرارة 70°م ولمدة 24 ساعة ولحين ثبات الوزن، وبعد تبريد العينات وزنت بميزان حساس لإيجاد معدل الأوزان الجافة للبادرات.

تقدير كمية الكلوروفيل الكلي

أتبعت طريقة Lichtenthaler (1987) في استخلاص وتقدير كمية الكلوروفيل في أوراق النباتات لكل المعاملات، وحسبت كمية الكلوروفيل الكلي وفق المعادلة التالية:

كمية الكلوروفيل الكلية (ملغم/سم^3)= 20.2 (الامتصاصية 645 نانوميتر) + 8.02 (الامتصاصية 663 نانوميتر) × الحجم/ (1000×الوزن)

استحداث الكالس و تكوينه

زرعت قطع من سيقان نباتات البازلاء .*P. sativum* L المعقمة بعمر 25 يوما وبطول 1.0 سم تقريبا على الوسط الغذائي MS(Murashige and Skoog,1962) المجهز بمنظمات النمو BA و NAA بتركيز 1 ملغم/ لتر لكل منهما والسكروز بتركيز 3% والأكار بتركيز 0.8%. حضنت الزروعات في غرفة التنمية تحت ظروف إضاءة 16 ساعة و8 ساعات ظلام وبشدة إضاءة 2000 لوكس بدرجة حرارة (22 ± 2)°م.

تأثير اشعة الليزر في نمو وتطور الكالس

عرضت قطع كالس البازلاء بوزن 0.5 غرام تقريبا وبعمر 30 يوما لأشعة الليزر لمدد مختلفة (2،4 ،6، 8 و10 دقيقة)، زرعت تلك القطع على الوسط الغذائي MS (Murashige and Skoog,1962) المجهز بمنظمات النمو BA وNAA بتركيز 1.0 ملغم/ لتر لكل منهما والسكروز بتركيز 3% والأكار بتركيز 0.8%. حضنت الزروعات في نفس الظروف المذكورة سابقا.

تأثير اشعة الليزر وكلوريد الصوديوم في استحداث الكالس ونموه

عرضت قطع سيقان بادرات البازلاء .*P. sativum* L المعقمة بطول 1.0سم تقريبا وبعمر 25 يوما وعينات من الكالس بوزن 0.5 غرام تقريبا وبعمر 30 يوما لاشعة الليزر لمدة 10دقائق ثم زرعت على اوساط MS الغذائية بنفس المكونات والظروف المذكورة سابقا مع إضافة ملح كلوريد الصوديوم بتراكيز 300,250,200,150,100,50 ملي مول إلى أوساط نمو البادرات و 200 ملي مول فقط إلى أوساط نمو الكالس. وبعد فترة نمو لمدة ثلاثة أسابيع على الأوساط الغذائية السابقة اجري على الكالس القياسات اللاحقة.

تقدير الاوزان الطرية والجافة للكالس

حددت الأوزان الطرية للكالس بعد مضي فترة 21 يوما من النمو على تلك الأوساط الغذائية لجميع المعاملات، ثم جففت عينات الكالس لإيجاد الوزن الجاف وذلك بوضعها في أكياس ورقية مثقبة في فرن كهربائي بدرجة حرارة 60°م لحين ثبوت الوزن، وبعد تبريد العينات أُخذت الأوزان الجافة لجميع المعاملات باستخدام ميزان حساس.

تقدير كمية البروتين الكلية الذائبة

تم تقدير كمية البروتين الكلي لجميع عينات الأوراق للبادرات بعمر20 يوما والكالس بعد 21 يوما من المعاملة حسب طريقة (Lowry *et al*.,1951) وبالاعتماد على المنحني القياسي المحضر من مصل البقر BSA.

تقدير كمية الكربوهيدرات الكلية الذائبة

استخلصت وقدرت كمية الكربوهيدرات الكلية الذائبة للأوراق والكالس لجميع المعاملات حسب طريقة (Herbert *et al*.,1971) استخدم الكلوكوز كمحلول قياسي.

تقدير كمية البرولين

قدرت كمية البرولين لجميع عينات الأوراق والكالس المعاملة بملح كلوريد الصوديوم والليزر حسب الطريقة المتبعة من قبل (Bates *et al*.,1973) واعتمد على المنحنى القياسي المحضر من تراكيز متعددة من البرولين.

تضرر أغشية خلايا الكالس

وضع 0.2 غم من الكالس الطري بعمر 21 يوما في أنابيب حاوية على10 سم^3 من الماء المقطر وتركت لمدة 24 ساعة، بعد ذلك تم قياس Ec للعينات باستخدام جهاز (Conductivity Electrolytic Measuring) واعتبرت Ec1، ثم أُخذت العينات نفسها ووضعت في جهاز التعقيم على درجة حرارة 120°م لمدة 20 دقيقة وذلك لقتل النسيج النباتي. بردت العينات وتم قياس Ec لها واعتبرت Ec2 ومن ثم حسبت النسبة المئوية لتضرر أغشية خلايا الكالس وفقا للمعادلة الآتية:

$$\text{نسبة تضرر الأغشية} = \frac{\text{القراءة الأولى لدرجة التوصيل الكهربائي Ec1}}{\text{القراءة الثانية لدرجة التوصيل الكهربائي Ec2}} \times 100 \quad \text{(Yang } \textit{et al}.\text{,1996)}$$

حيوية الكالس

قيست حيوية الكالس بعد21 يوما من المعاملة وبالإعتماد على مدى قدرة خلايا الكالس الحية على إختزال مادة الـ Triphenyltetrazolium chloroide الى Formazan الحمراء (Towill and Mazur,1975).

النتائج

الانبات

أظهرت نتائج زراعة البذور المعرضة مسبقا لأشعة ليزر الدايود لمدد مختلفة 2 ،4،6،8 ،10 دقيقة نسب إنبات عالية لجميع المعاملات بلغت 100% واستغرقت يوم واحد لبدء إنباتها وهي نتائج مطابقة لنتائج معاملة المقارنة (دون التعريض للأشعة)، في حين كانت سرع الإنبات للبذور المعرضة للأشعة أفضل من سرعة إنبات بذور معاملة المقارنة، حيث قلت عدد الأيام اللازمة لإنبات جميع البذور المعرضة للأشعة، لذا بلغت سرعة إنبات البذور المعرضة للأشعة لمدة 10 دقائق 10بذرة/ يوم مقارنة بـ 5 بذرة/ يوم لبذور معاملة المقارنة غير المعرضة للأشعة (الجدول1).

الجدول1: تأثير اشعة الليزر لمدد مختلفة على سرعة انبات بذور البازلاء *P. sativum* بعد 10 ايام من الزراعة

مدد التعريض للاشعة (دقيقة)	سرعة الانبات (بذرة/ يوم)
معاملة المقارنة	5
2	5
4	6
6	8
8	8
10	10

كل قيمة تمثل معدل 50 بذرة لكل معاملة.

نمو الجذير والرويشة

يلاحظ من خلال بيانات (الجدول 2) زيادة في اطول كل من الجذير والرويشة للبادرات النامية من البذور المعرضة لأشعة الليزر لمدد زمنية مختلفة ورافق ذلك النمو زيادة في معدل اوزانهما الطرية والجافة قياسا بمعاملة المقارنة. وان إطالة مدة التعريض للاشعة سببت زيادة في مؤشرات النمو السابقة اذ سجلت مدة التعريض 10 دقائق أفضل زيادة بلغت 7.0سم، 5.2 سم، 1.182غم، 1.104غم كمعدل لأطوال الجذير والرويشة وأوزانهما الطرية والجافة على التوالي.

الجدول 2: مؤشرات نمو وتطور بادرات نبات البازلاء *P.sativum* النامية من البذور المعرضة مسبقا لأشعة الليزر لمدد مختلفة بعد فترة نمو 10 أيام.

مدد التعريض (دقيقة)	معدل طول الجذير (سم)	معدل طول الرويشة (سم)	معدل الوزن الطري للجذير والرويشة (غم)	معدل الوزن الجاف للجذير والرويشة (غم)
معاملة المقارنة	5.2	3.6	1.125	1.002
2	5.3	3.7	1.1 26	1.022
4	5.5	3.8	1.130	1.024
6	6.0	4.0	1.135	1.072
8	6.4	4.6	1.139	1.093
10	7.0	5.2	1.182	1.104

كل قيمة تمثل معدل 10 مكررات.

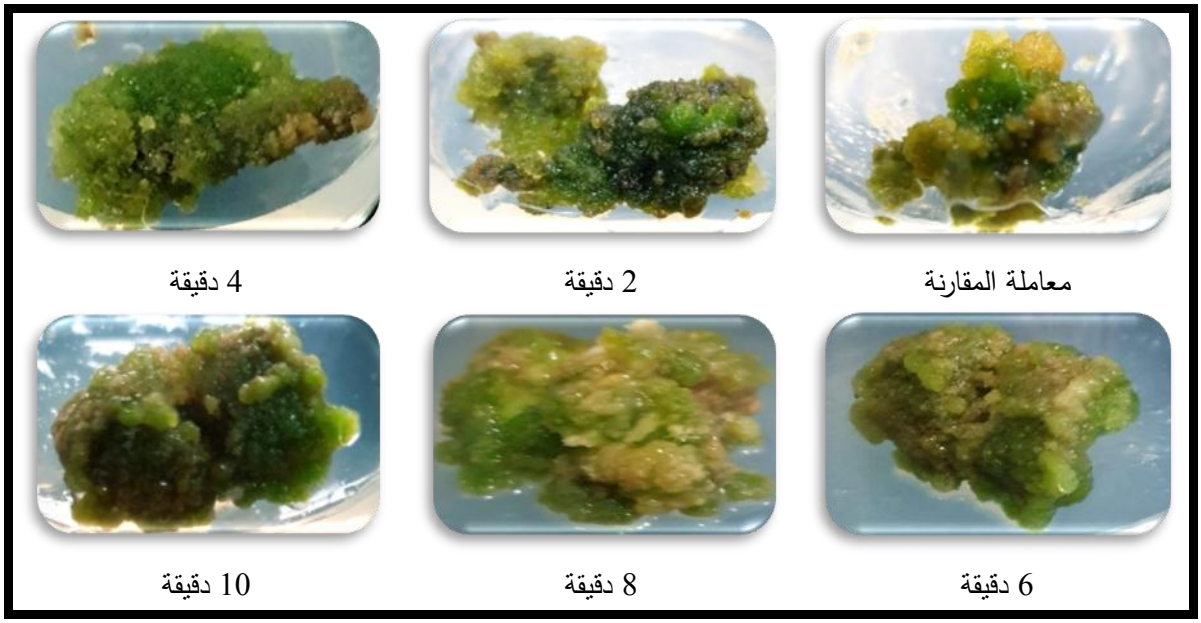
تأثير اشعة الليزر في نمو البادرات والكالس

أثرت معاملة البذور بأشعة الليزر لفترات مختلفة من الزمن بشكل ايجابي على معدل الوزن الطري والجاف للمجموع الجذري والخضري للبادرات قياسا بمعاملة المقارنة، حيث أدت الإطالة بمدة التعريض للأشعة الى تزايد في معدل تلك الأوزان ووصلت الى أعلى قيمة لها 6.430غم للوزن الطري و 0.592 غم للوزن الجاف عند تعريض البذور للأشعة لمدة 10 دقائق (الجدول 3). تشير البيانات ايضا بان لأشعة الليزر تأثيرا مشجعا في نمو الكالس بدلالة الزيادة الحاصلة في معدل اوزانه الطرية والجافة بعد 21 يوما من معاملته بالأشعة لمدد مختلفة ونموه على وسط MS الغذائي المزود بمنظمات النمو قياسا بمعاملة المقارنة. استمرت كتلة الكالس بالزيادة مع زيادة مدة التعريض للأشعة حتى بلغت 2.521 غم و1.821غم للوزن الطري والجاف على التوالي بعد21 يوما من التعريض للأشعة لمدة 10 دقائق. يوضح الشكل (1) وجود بعض الفروقات المظهرية بين كتل عينات كالس المقارنة غير المعرض لأشعة الليزر و عيناته المعرضة لأشعة الليزر لمدد مختلفة متضمنة زيادة كتلته واستمرار احتفاظه بلونه الأخضر وقوامه المتماسك.

الجدول 3: تأثير اشعة الليزر في معدل الاوزان الطرية والجافة للبادرات النامية من بذور البازلاء *P. sativum* بعد 20 يوما من النمو على وسط Arnon وللكالس بعد 21 يوما من النمو على وسط MS المجهز بتركيز 1 ملغم/ لتر لكل من BA وNAA.

مدد التعريض للاشعة (دقيقة)	معدل الوزن الطري للبادرات (غم)	معدل الوزن الجاف للبادرات (غم)	معدل الوزن الطري للكالس (غم)	معدل الوزن الجاف للكالس (غم)
معاملة المقارنة	4.015	0.402	1.395	0.140
2	4.062	0.403	1.426	0.165
4	4.233	0.432	1.549	0.198
6	5.361	0.510	1.711	1.231
8	5.831	0.563	2.0 10	1.611
10	6.430	0.592	2.521	1.8 21

كل قيمة تمثل معدل 10 مكررات للبادرات و 5 مكررات للكالس.



الشكل 1: تأثيرات اشعة الليزر لمدد مختلفة في هيئة كالس البازلاء *P. sativum* بعد 21 يوما من المعاملة والنمو على وسط MS المجهز بتركيز 1.0 ملغم/ لتر لكل من BA وNAA.

دور أشعة الليزر في التقليل من التاثير السلبي للملوحة

الإنبات

تشير النتائج المدونة في (الجدول 4) ان معاملة بذور نبات البازلاء بأشعة الليزر لمدة 10 دقائق مسبقا قبل معاملتها بمحلول كلوريد الصوديوم بتركيز 200 ملي مول قللت من التأثير السلبي للملح بدلالة ارتفاع نسبة وسرعة إنبات البذور إلى 72% و3.8 بذرة/يوم على التوالي مع قلة الايام اللازمة لبدء الإنبات مقارنة بمعاملة البذور بالملح دون التعريض للأشعة.

الجدول 4: تأثير اشعة الليزر لمدة 10 دقائق والمعاملة بملح كلوريد الصوديوم بتركيز 200 ملي مول في انبات ونمو بذور البازلاء *P. sativum* بعد فترة نمو 10 ايام.

المعاملة	المدة اللازمة لبدء الانبات (يوم)	نسبة الانبات(%)	سرعة الانبات (بذرة/ يوم)
معاملة المقارنة	1	100	5
اشعة الليزر	1	100	10
كلوريد الصوديوم	4	16	0.8
الليزر+ كلوريد الصوديوم	2	72	3.8

كل قيمة تمثل معدل 50 بذرة.

فعالية انزيم الالفا- اميليز

حفزت أشعة الليزر لمدة 10 دقائق نشاط انزيم الالفا- اميليز في البذور خلال الأيام الخمسة الأولى من عملية الإنبات بصورة أفضل من معاملة المقارنة وبهذا التحفيز تم التقليل من التأثير السام لملح كلوريد الصوديوم الذي ثبط تلك الفعالية بتركيز 200 ملي مول خلال مراحل الانبات (الجدول 5).

الجدول 5: فعالية انزيم الالفا- اميليز المستخلص من بذور البازلاء *P.sativum* المعرضة لاشعة الليزر لمدة 10 دقيقة والمعاملة بكلوريد الصوديوم بتركيز 200 ملي مول خلال مراحل انبات البذور.

فترة الانبات (يوم)	المعاملات			
	* فعالية انزيم الالفا- اميليز (وحدة/ سم^3)			
	المقارنة	اشعة الليزر	ملح كلوريد الصوديوم	الليزر + ملح كلوريد الصوديوم
1	59	61	53	56
2	337	339	200	212
3	518	520	410	430
4	1100	1130	652	680
5	1404	1470	700	776
6	1205	1209	500	536

كل قيمة تمثل معدل ثلاث مكررات.

* وحدة فعالية الانزيم هي كمية الانزيم اللازمة لتحرير مايكرومول واحد من المالتوز لكل دقيقة من الزمن.

نمو الجذير والرويشة

ان تعريض البذور للأشعة لمدة 10 دقائق ومن ثم معاملتها بـ 200 ملي مول ملح كلوريد الصوديوم أدى إلى استعادة البادرات نموها المتمثل بزيادة معدل أطوال كل من الجذير والرويشة ومعدل أوزانهما الطرية والجافة بعد فترة نمو استغرقت 10 أيام على الأطباق الزرعية (الجدول 6) والموضحة بالشكل (2).

الجدول 6: مؤشرات نمو وتطور بادرات البازلاء *P. sativum* النامية من البذور المعرضة لاشعة الليزر لمدة 10 دقائق والمعاملة بملح كلوريد الصوديوم 200 ملي مول بعد فترة 10 أيام.

المعاملات	معدل طول الجذير (سم)	معدل طول الرويشة (سم)	معدل الوزن الطري للجذير والرويشة (غم)	معدل الوزن الجاف للجذير والرويشة (غم)
معاملة المقارنة	5.1	3.7	1.127	1.000
اشعة الليزر	7.2	5.2	1.1 81	1.111
ملح كلوريد الصوديوم	0.5	0.1	0.524	0.063
الليزر+ كلوريد الصوديوم	3.9	2.8	0.945	0.750

كل قيمة تمثل معدل 10 مكررات.

معاملة المقارنة اشعة الليزر اشعة الليزر+ كلوريد الصوديوم كلوريد الصوديوم

الشكل 2: انبات ونمو كل من الجذير والرويشة لبذور البازلاء *P. sativum* المعاملة باشعة الليزر لمدة 10 دقائق وكلوريد الصوديوم بتركيز 200 ملي مول بعد فترة نمو 10 ايام من معاملتها.

نمو البادرات

يلاحظ من (الجدول 7) انخفاض واضح في مؤشرات نمو بادرات البازلاء (طول الساق والجذر وتفرعاتهما ومعدل الأوزان الطرية والجافة للمجموع الخضري والجذري) النامية على وسط Arnon الغذائي المجهز بـ 200 ملي مول من ملح كلوريد الصوديوم استنادا إلى معاملة المقارنة. وتشير نتائج الجدول أيضا ان معاملة البذور بأشعة الليزر لمدة 10 دقائق مسبقا قبل زراعتها على الأوساط الملحية سببت تزايداً في تلك المؤشرات والتقليل من اثر الملوحة ورافقها نمو جيد للجزء الخضري والجذري الشكل (3).

الجدول 7: مؤشرات نمو وتطور بادرات البازلاء *P. sativum* النامية من بذور معاملة باشعة الليزر لمدة 10 دقائق و بملح كلوريد الصوديوم 200 ملي مول بعد فترة نمو 20 يوما من نموها على وسط Arnon الزرعي.

المعاملة	معدل طول الجذر (سم)	معدل طول الساق (سم)	معدل عدد تفرعات الجذر	معدل عدد تفرعات الساق	معدل الوزن الطري للنبات (غم)	معدل الوزن الجاف للنبات (غم)
معاملة المقارنة*	13.8	12.9	26.0	6.0	4.110	0.410
اشعة الليزر	14.3	13.5	26.0	7.0	4.871	0.522
ملح كلوريد الصوديوم	1.2	4.6	2.0	2.0	0.864	0.082
الليزر+ كلوريد الصوديوم	8.8	7.5	15.0	4.0	2.865	0.299

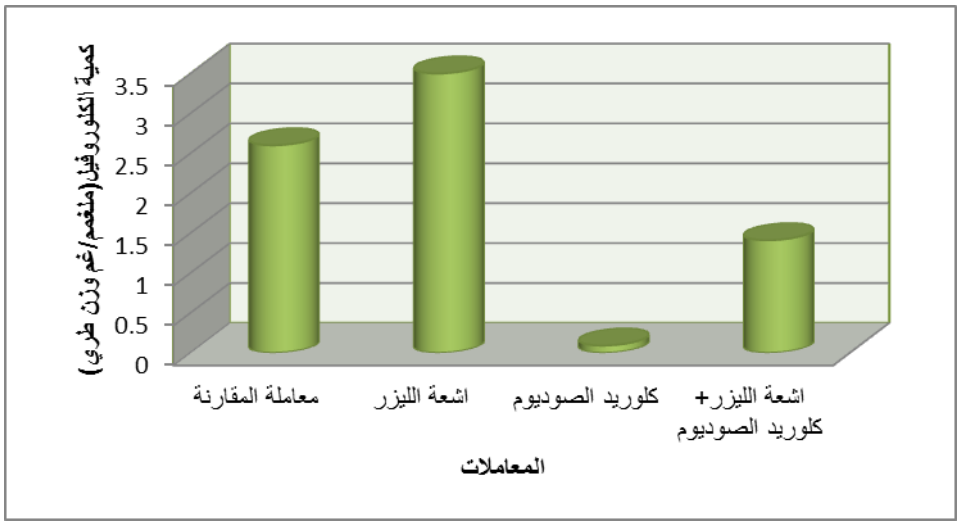
كل قيمة تمثل معدل 10 مكررات. * دون التعرض لليزر ولا للملوحة.

معاملة المقارنة اشعة الليزر كلوريد الصوديوم اشعة الليزر+ كلوريد الصوديوم

الشكل3: تأثيرات المعاملة باشعة الليزر لمدة 10 دقائق وبملح كلوريد الصوديوم بتركيز 200 ملي مول في نمو وتطور بادرات البازلاء *P. sativum* النامية على وسط Arnon الزرعي بعد 20 يوما من المعاملة.

كمية الكلوروفيل الكلي

أظهرت النتائج زيادة تركيز صبغة الكلوروفيل المستخلصة من أوراق بادرات البازلاء النامية من بذور معرضة لاشعة الليزر لمدة 10 دقائق والتي بلغت 3.5 ملغم/غم قياسا بمعاملة المقارنة 2.6 ملغم/ غم. أدت إضافة كلوريد الصوديوم الى الأوساط الزرعية بتركيز 200 ملي مول انخفاض كبير في كمية الكلوروفيل بلغت 0.09 ملغم/غم، اذ تم معالجته بتعريض البذور لاشعة الليزر لمدة 10 دقائق قبل زراعتها على تلك الاوساط الملحية، اذ ازداد تركيز الكلوروفيل الى 1.41ملغم/غم الشكل (4).

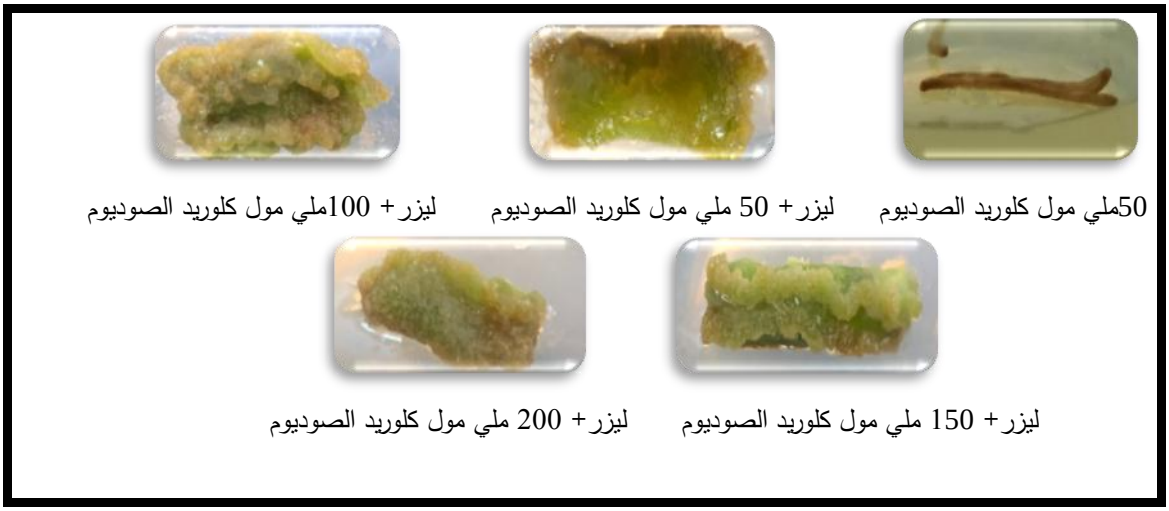


الشكل 4: معدل كمية الكلوروفيل المستخلصة من أوراق بادرات البازلاء *P. sativum* النامية من البذور المعاملة بأشعة الليزر لمدة 10 دقائق والنامية على وسط Arnon الغذائي المزود بـ 200 ملي مول من ملح كلوريد الصوديوم بعد فترة نمو 20 يوما. كل قيمة تمثل معدل ثلاث مكررات.

استحداث الكالس

من النتائج المهمة هو قدرة اشعة الليزر ولمدة 10 دقائق على تشجيع استحداث الكالس من قطع السيقان والمزرعة على الأوساط الغذائية الحاوية على ملح كلوريد الصوديوم وبتراكيز 50،100،150 و200 ملي مول الشكل (5) والتي سبق فشل استحداثها

للكالس في الدراسة السابقة (ياسين وعبود، 2019)، بينما استمرت التراكيز العالية من الملح (250، 300 ملي مول) في تثبيط عملية استحداث ونمو الكالس من القطع النباتية حتى في حالة تعريضها مسبقا لاشعة الليزر.



الشكل 5: استحداث الكالس من قطع سيقان البازلاء *P. sativum* المعرضة مسبقا لاشعة الليزر لمدة 10 دقائق والنامية على اوساط MS الغذائية المجهزة بـ BA وNAA بتركيز 1.0 ملغم/لتر لكل منهما وتراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم بعد فترة نمو استغرقت 15 يوما على تلك الاوساط.

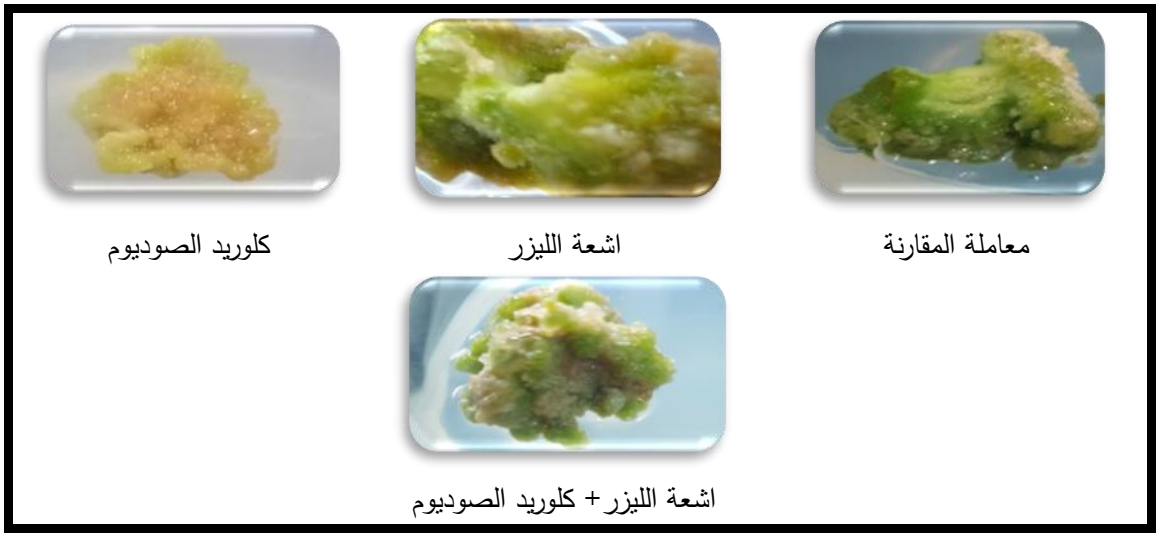
نمو وتطور الكالس

أظهرت النتائج في (الجدول 8) تأثيرا مشجعا لأشعة الليزر في زيادة معدل الاوزان الطرية والجافة لعينات الكالس بعد 21 يوما من تعريضها لتلك الأشعة ولمدة 10 دقائق يناظرها نقصان في تلك الأوزان للكالس النامي على الأوساط الملحية بتركيز 200 ملي مول، ويوضح الجدول ايضا ان تعريض عينات الكالس لأشعة الليزر لمدة 10 دقائق قبل زراعتها على تلك الأوساط الملحية قلل من التأثير السلبى للملح على نمو الكالس مع استعادة الكالس المعامل بالليزر قوامه المتماسك ولونه الأخضر الشكل (6). و تشير البيانات في (الجدول 8) ايضا ان التأثيرات السلبية التي افرزتها المعاملة بملح كلوريد الصوديوم بتركيز 200 ملي مول في تلف الاغشية الخلوية لنسيج الكالس أمكن التخفيف منها بتعريض عينات الكالس لأشعة الليزر لمدة 10 دقائق قبل زراعتها على تلك الاوساط الملحية مسببة انخفاض في نسبة تضرر الأغشية من 83% الى 50% وانعكس ذلك ايضا على حيوية الكالس أي ازدادت نسبة حيويته إلى 75% استنادا الى المعاملة بكلوريد الصوديوم 18% اي تقريبا بمقدار أربعة أضعاف حيوية الكالس النامي على الوسط الملحي بتركيز 200 ملي مول الشكل (7).

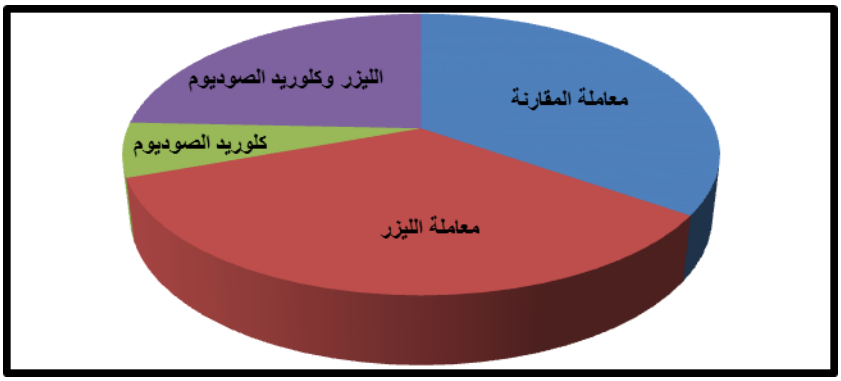
الجدول 8: انعكاس تاثير اشعة الليزر (10 دقائق) و ملح كلوريد الصوديوم (200 ملي مول) في مؤشرات نمو كالس البازلاء *P. sativum* لفترة 21 يوما على الاوساط الغذائية المجهزة بـ BA وNAA بتركيز 1.0.ملغم / لتر.

تركيز كلوريد الصوديوم (ملي مول)	معدل الوزن الطري (غم)	معدل الوزن الجاف (غم)	تضرر الاغشية (%)	حيوية الكالس (%)
معاملة المقارنة	1.410	0.142	45	100
اشعة الليزر	2.488	0.803	40	100
ملح كلوريد الصوديوم	0.482	0.083	83	18
الليزر+ ملح كلوريد الصوديوم	1.188	0.105	50	75

كل قيمة تمثل معدل خمس مكررات.



الشكل 6: انعكاس تأثيرات اشعة الليزر لمدة 10 دقائق في التقليل من التأثير السلبي لملح كلوريد الصوديوم بتركيز 200 ملي مول على نمو كالس البازلاء *P. sativum* بعد 21 يوما من النمو على الاوساط الغذائية المجهزة بـ BA و NAA بتركيز 1.0 ملغم/ لتر لكل منهما



الشكل 7: نسب حيوية كالس البازلاء *P. sativum* بتأثير كلوريد الصوديوم 200 ملي مول وأشعة الليزر لمدة 10 دقائق.

المحتويات الخلوية في الأوراق والكالس

أفرزت النتائج في (الجدول 9) التأثيرات الداعمة لاشعة الليزر لمدة 10 دقائق في زيادة محتوى الأوراق والكالس من البروتينات الكلية والسكريات الذائبة الكلية والبرولين قياسا بمعاملة الملوحة بتركيز 200 ملي مول. ان هذه الزيادة في تلك المحتويات بتأثير أشعة الليزر قللت من التأثير السلبي لملح كلوريد الصوديوم في كل من الأوراق والكالس.

الجدول 9: محتوى اوراق وكالس البازلاء *P. sativum* من الكربوهيدرات والبروتينات الذائبة والبرولين المتأثرة بملح كلوريد الصوديوم بتركيز200 ملي مول والتعريض لاشعة الليزر لمدة 10 دقائق.

تركيز كلوريد الصوديوم (ملي مول)	كمية البروتين الكلي (ملغم/غم وزن طري)		كمية السكريات الكلية الذائبة (مايكروغرام/غم وزن طري)		كمية البرولين (مايكروغرام/100ملغم وزن طري)	
	الاوراق*	الكالس**	الاوراق	الكالس	الاوراق	الكالس
معاملة المقارنة	1.027	1.830	0.341	0.421	11.4	14.6
اشعة الليزر	1.231	2.320	0.399	0.621	11.9	14.9
ملح كلوريد الصوديوم	0.262	0 205	0.836	0.889	75.6	90.0
الليزر+ ملح كلوريد الصوديوم	0.716	1.292	0.857	0.989	80.2	91.4

كل قيمة تمثل معدل ثلاث مكررات. * اوراق البادرات بعمر 20 يوما نامية على وسط Arnon الغذائي.

** كالس بعمر 21 يوما بعد التعريض لاشعة الليزر لمدة 10 دقائق والنمو على وسط MS الغذائي المجهز بـ 1.0 ملغم/لتر من BA و NAA.

المناقشة

ان الضوء احد العوامل الرئيسة الأكثر أهمية والذي يؤدي دورا مهما في التمثيل الضوئي وفي التكوين الخارجي للنبات (Nawaz *et al*.,2018). و يعد الليزر من المصادر المستخدمة لإحداث التحفيز الخلوي والتغيرات الجينية في النباتات، وهو احد الطرق الفيزيائية التي تشمل أيضا المعالجة الكهرومغناطيسية التي يمكن ان تحسن نوعية المحاصيل وتساعد على تحقيق انتاجية اعلى، وفي الوقت نفسه تقلل من خطر التلوث الناجم عن التربة والمياه (Hernandez *et al*., 2010). ان تعريض بذور البازلاء لاشعة الليزر الدايود الحمراء لفترات زمنية مختلفة حفزت نمو البذور بزيادة سرعة الانبات قياسا بمعاملة المقارنة ورافقتها زيادة في مؤشرات نمو البادرات، وقد ادى التحفيز بالليزر الى تحسين نمو البادرات النامية من تلك البذور المعاملة بالاشعة بدلالة زيادة أوزانها الطرية والجافة والتي تفوقت على البادرات النامية من البذور غير المعاملة باشعة الليزر (معاملة المقارنة) وهذا ينسجم مع ما وجد من قبل (Ri and Jang, 2019) ان أشعة الليزر حفزت إنبات بذور الرز وسرعت من نمو الشتلات، وتتفق النتائج ايضا مع الدراسة التي اجريت من قبل غانم (2017) ان اشعة ليزر الدايود الحمراء حفزت النمو الخضري في المراحل المختلفة من دورة حياة نبات زهرة الشمس. وجاءت دراسة (Podlesna *et al*., 2015) لتفسير التغيرات التي تحدث في بذور البازلاء عند تعريضها لأشعة الليزر حيث حفزت تلك الاشعة بناء IAA مع زيادة في فعالية انزيمات الاميليز تبعها زيادة في تحلل الكربوهيدرات المخزونة في البذرة وذكر (Kamiya *et al*.,1999) بان بناء حلقة المعقدة لهرمون الجبرلين تحفز بالضوء الأحمر وأكد ذلك من قبل (Soliman and Harith, 2010) ان جين GA_3B وجين الهيدروكسيلاز يمكن ان يحفز بأشعة الليزر الحمراء مما يعزز دورة معقدة لبناء GA_3 ومن المعروف بان الجبرلين بدوره يحفز انزيمات التحلل البروتيني مسببا تحرر التربتوفان الضروري لبناء IAA احد هرمونات التجذير (Van Overbeek,1966).

تعد الملوحة من اهم الاجهادات البيئية غير الحيوية a biotic stress التي تعرقل نمو النبات من خلال تأثيرها على جاهزية الماء والعناصر الغذائية الضرورية لنمو وتطور النباتات (الزبيدي، 1989؛ ياسين وعبود، 2019). عرف الباحثين (Yadav *et al*., 2011) ان تحمل الملوحة بأنه قدرة النبات على النمو واكمال دورة حياته في ظل ظروف الملح المجهدة مثل كلوريد الصوديوم. اشارت نتائج الدراسة السابقة (ياسين وعبود، 2019) بان زيادة تركيز ملح كلوريد الصوديوم إلى أعلى من 200ملي مول (250، 300 ملي مول) كان له تاثير سلبي واضح على مؤشرات نمو كل من بذور وبادرات البازلاء وكالسه، لذا اقترح استخدام كلوريد الصوديوم 200 ملي مول تركيز تحت القائل المناسب لإجراء المعالجة بالليزر. أسفرت نتائج الدراسة الحالية بان معاملة بذور نبات البازلاء بأشعة الليزر الدايود الحمراء مدة 10 دقائق حققت نجاحا في تحسين إنبات البذور وتقليل المدة

اللازمة لبدء الانبات مع زيادة في نسب الإنبات بحث أصبحت مطابقة لنتائج معاملة المقارنة رافقتها تزايد في سرعة الانبات عما عليه في معاملة المقارنة، وتسبب تعريض البذور للأشعة لمدة 10 دقائق قبل معاملتها بملح كلوريد الصوديوم (200 ملي مول) نقصان في المدة اللازمة لبدء الانبات مع زيادة في نسبة الانبات ورافقتها زيادة في سرعة الانبات قياسا بمعاملة البذور بالملح من دون التعريض للاشعة. تفسر هذه النتائج بان طاقة اشعة الليزر زادت من الطاقة الداخلية للبذور وبالتالي أدت إلى التسريع في عملية الايض الفسيولوجي مسببة تسريع في نمو وتطور البادرات (Chen *et al*., 2005). أشارت إحدى البحوث بان أشعة الليزر عززت بشكل كبير من مقاومة نبات القمح للاجهاد الملحي استنادا الى عينات المقارنة (Ferdosizadeh *et al*., 2013). تقلل الملوحة من نشاط التمثيل الضوئي عن طريق تدمير الصبغات الخضراء او تقليل مساحة الورقة او تقليل نشاط انزيمات التمثيل الضوئي (Misra *et al*., 1997). لقد اثبت ان الاجهاد الملحي يسبب تلف الاغشية الخلوية وبيروكسيدات الدهون في كالس البازلاء (Miljus-Djukic *et al*., 2013). ان التغيرات في المحتويات الخلوية للنباتات التي يسببها الاجهاد الملحي تكون لمساعدة النباتات على مقاومة التأثيرات السلبية التي تحدثها الملوحة. ان الزيادة في بعض المحتويات الخلوية بتأثير اشعة الليزر ربما ساعدت نباتات البازلاء على مقاومة الملوحة ومنحت خلايا الكالس القابلية على الانقسام مسببة زيادة في معدلات الاوزان الطرية والجافة مع زيادة في محتوى الكالس من السكريات الذائبة والبرولين والبروتينات الكلية، واكد ذلك من قبل (Zeinab *et al*., 2012) ان تعريض كالس النخيل لاشعة ليزر الديود بطول موجي 650 نانوميتر لمدة 20 دقيقة سببت الزيادة في تحلل البروتينات وبالتالي زيادة في محتوى الخلايا من الأحماض الامينية الذائبة قياسا بمعاملة المقارنة، وفي دراسة اخرى سببت ايضا اشعة الليزر الدايود الحمراء زيادة في المحتويات الخلوية من البروتينات والاحماض النووية والفوليت المستخلصة من نسيج كالس زهرة الشمس (غانم وعبود، 2019) وزادت من مقاومة الكالس لمثبطات انزيمات الفوليت (غانم، 2017) ذكر الباحثون (Sawathy *et al*., 2017) ان اشعة الليزر زادت من كمية البرولين في انسجة نبات الباذنجان الذي انعكس ايجابيا على استحداث وتكوين الكالس وتمايزه إلى الأفرع الخضرية. وان هذه التغيرات في المحتويات الخلوية في نسيج الأوراق والكالس المعامل بالليزر انعكست في زيادة مقاومة النبات للتأثير السلبي لمح كلوريد الصوديوم.

وقد تبين مما سبق بان المعاملة باشعة ليزر الدايود الحمراء قللت بشكل فعال من الاثار السلبية للملح على مؤشرات النمو وتطور نباتات البازلاء وكالسه.

المصادر العربية

الجبوري، عبد الجاسم محيسن؛ عبد، اشواق شنان؛ رشيد، خالد عباس؛ مجيد، ضحى ميسر حسن؛ محمد صلاح، اسماعيل ؛ نعمان، ايمان (2011). تأثير مغنطة مياه الري المالحة في انبات ونمو بادرات حنطة الخبز. مجلة مركز بحوث التقنيات الإحيائية (عدد خاص) المجلد الخامس– العدد الثالث.**32**(A)،32-38.

جودي، زينب جلال؛ عباس، محسن عباس (2016). تأثير حامض السالسليك في مؤشرات النمو لكالس اصل الخوخ Garnem تحت الاجهاد الملحي خارج الجسم الحي. مجلة الكوفة للعلوم الزراعية. **8**(3)،77-91

حمزة، جلال حميد؛ علي، محسن كامل محمد (2017). تأثير نقع البذور بالـ GA_3 في بزوغ ونمو بادرات الذرة الصفراء تحت الاجهاد الملحي. مجلة العلوم الزراعية العراقية. **48**(3)،650-659 .

داؤد، وسام مالك (2011). التأثير التثبيطي لمستخلص (ابو دميم *Phalaris minor* Retz) في إنبات ونمو نباتات الحنطة *Triticum aestivum* L. مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية. **11** (3)، 51–58 .

الزبيدي، احمد حيدر(1989). ملوحة التربة– الاسس النظرية والتطبيقية. بيت الحكمة / جامعة بغداد.

عبد الحسين، مسلم عبد علي؛ هاشم، احمد حمزة (2015). نمو نبيتات العنب كمؤشر لتحملها للإجهاد الملحي خارج الجسم الحي. مجلة الفرات للعلوم الزراعية. **3**(7)،1-11 .

عبد، اشواق شنان؛ الجبوري، عبد الجاسم محيسن؛ محمود، سمير؛ ناجي مجيد، ضحى ميسر؛ الحسيني، زينب عبد الجبار(2012). استخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية في تقويم ثلاثة تراكيب وراثية من حنطة الخبز لتحمل الاجهاد الملحي. مجلة مركز بحوث التقنيات الاحيائية. **6**(2)،46-51 .

غانم، سارة نزار؛ عبود، ساجدة عزيز (2019). تأثيرات اشعة ليزر الدايود في استحداث ونمو كالس نبات زهرة الشمس *Helianthus annuus* L. مجلة علوم الرافدين. **28**(1A)،24-34.

غانم، سارة نزار؛ عبود، ساجدة عزيز (2015). تأثير معاملة بذور زهرة الشمس بأشعة ليزر الدايود في نمو البادرات والكالس. مجلة مركز بحوث التقنيات الاحيائية. **9**(2)،21-30 .

غانم، سارة نزار (2017). تأثير أشعة الليزر في استحداث ونمو كالس نبات زهرة الشمس *Helianthus annuus* L. وفعالية انزيم الداي هيدروفوليت ردكتيز ومحتواه من الاحماض النووية والبروتينات والفوليت. رسالة ماجستير، علوم الحياة/ كلية العلوم /جامعة الموصل.

كامل، ياسين صباح؛ علي، عبد المنعم حسين (2016). دراسة تأثير الاجهاد الملحي على نمو نبيتات البطاطا صنفي Eigenheimer و Bintje المزروعة خارج الجسم الحي. مجلة الفرات الزراعية. **8**(3)، 34-40 .

ولي، صدر الدين بهاء الدين (1990). الإنبات و سبات البذور. أربيل/ جامعة صلاح الدين.

ياسين، ايمان طه؛ عبود، ساجدة عزيز (2019). تأثير ظروف الشد الملحي في مؤشرات انبات البذور ونمو البادرات واستحداث كالس البازلاء *Pisum sativum* L. في الاوساط الزرعية. مجلة علوم الرافدين، قيد النشر.

المصادر الأجنبية

Arnon, D.L.; Hoagland, D.R. (1944). The investigation of plant nutrition by artificial culture methods. *Biol. Rev*., **19**, 55-67.

Bates, L.S.; Waldren, R.P.; Teare, J.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, **93**, 205-207.

Bernfeld, P. (1955). Amylase α and β. *Method Enzymol*., **1**, 149–158.

Białecka, B.; Kępczyński, J. (2010). Germination, α-, β-Amylase and total dehydrogenase activities of *Amaranthus caudatus* seeds under water stress in the presence of ethephon or gibberellin A3. *Acta. Biol. Cracov*., **52**(1), 7–12.

Bnejdi, F.; Rassa, N.; Saadoun, M.; Mouna, N.; Gazzeh, E.L.(2011). Genetic adaptability of durum wheat to salinity level at germination stage. *Afr. J. Biotechnol*., **10**(21), 4400-4404.

Chen, Y.P.; Yue, M.; Wang, X.L. (2005). Influence of He-Ne irradiation on seed thermodynamic parameters and seedlings growth of Isatisindogotica. *Plant Sci*., **168**,601-606.

Chen, Y.P. (2008). Isatis indigotica seedlings derived from laser stimulated seeds showed resistance to elevated UV.B. *Plant Growth Regul*., **55**, 73-79.

Elsayed, H.; Elsayed, A.(2011).Isolation and characterization of NaCl resistant callus line of field pea (*Pisum sativum* L.) to salinity. *Agr. Biol*.,**2**,964-973.

Emam, M.M.; Helel, N.M. (2008). Vitamins minimize the salt –induced oxidative stress Hazard. *Aust. J. Basic and Appl.Sci*.,**2**(4), 1110-1119.

Ferdosizadeh, L.; Sadat-Noori, S.A.; Zare, A.; Syghafi, S. (2013). Assessment of diode laser pretreatments on germination and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salinity stress. *World J. Agric. Res.*, **1**(1), 5-9.

Hameed, R.Z. (2018). *Pisum sativum* L. abiotic stress tolerance ,Genomic and in vitro approach. *J. Pharm. Sci. Res*., **10**(10), 2480-2433.

Herbert, D.; Phipps, P.J.; Strange, R.E. (1971). Chemical Analysis of Microbial Cells. *Method Microbiol*., **5**, 209-344.

Hernandez, A.C.; Dominguez, P.A.; Cruz, O.A.; Ivanov, R.; Carballo C.A.; Zepeda, B.R. (2010). Laser in agriculture. *Int. Agrophys*., **24**, 407-422.

Kamiya, V.; Jose, L.; Martinez, G. (1999). Regulation of gibberellin biosynthesis by light. *Curr. Opin. Plant Biol*., **2**, 398-403.

Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic bio-membranes. *Method Enzymol*., **148**, 350- 382.

Lowry, O.H.; Rosebrough, N.J.; Farr, A.L.; Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the folin-phenol regents. *J. Biol. Chem*., **193**, 265-275.

Miljus-Djukic, J.; Stannnisavljevic, N.; Radovic, S.; Jovanvoic, Z.; Mikic, A.; Maksimovic, V. (2013). Differential response of three contrasting pea (*Pisum arvense, Pisum sativum, Pisum fulvum*) species to salt :assessment of variation in antioxdative defense and miRNA expression. *Aust. J. Crop Sci*. ,**7**(13), 2145-2153.

Misra, A.N.; Sahu, S.M.; Misra, M.; Singh, P.; Meera, I.; Das, N.; Kar, M.; Shau, P. (1997). Sodium chloride induced changes in leaf growth and pigment and protein. *Biol. Plant*., **39**,257-262.

Murashige, T.; Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant*., **15**, 473-477.

Podleśna, A.; Gładyszewska, B.; Podleśny, J.; Zgrajka, W. (2015). Changes in the germination process and growth of pea in effect of laser seed irradiation. *Int. Agrophys*. **29**, 485-492.

Rai, M.K.; Kalia, R.K.; Singh, R.; Gangola, M.P.; Dhawan, A.K. (2011). Developing stress plants through in vitro selection – An overview of the recent progress. *Environ. Exp. Bot.,* **71**,89-98.

Ri, P.; Jang, Y. (2019). Study on laser pre-sowing treatment of rice seeds by free- falling method. *IPA.,* **6**(4),515-521.

Sacala, E.; Demczuk, A.; Grzys, E.; Prosba-Bialcyz, U.; Szajsuer, H. (2012). Impact of presowing laser irradiation of seeds on sugar beet properties. *Int. Agrophys*, **26**, 295-300.

Samuilov, F.D.; Garifullina, R.L. (2007). Effect of laser irradiation on micro-viscosity of aqueous medium in imbibing maize seeds as studied with a spin probe method. *Russ. J. Plant Physiol*. **54**(1), 128-131.

Shehzad, M.; Shafeeq, R.; Ditta, A.; Iqbal. M.; Malic, T.H.; Hussain, S.B.; Khan, M.I.; Ramzan, M. (2019). Effect of salinity stress on cotton growth and role Marker Assisted breeding and agronomic practices (chemical, biological and physical) for salinity tolerance, Review Article.

Soliman, A.SH.; Harith, M.A. (2010). Effects of Laser Biostimulation on Germination of (*Acacia farnesiana* L.) Willd. *ISHS Acta Horticulturae*. **854**, 41-50.

Swathy, P.S. ; Rupal, G.; Prabhu, V.; Mahato, K.K.; Muthusamy, A. (2017). In *vitro* culture responses, callus growth and organogenetic potential of brinjal (*Solanum melongena* L.) to He-Ne laser irradiation. *J. Photochem. Photobiol. B.*, **174**,333-341.

Nawaz, T. ; Ahmad, N.; Ali, S.; Khan, M.; Fazal, H.; Khalil, S.A. (2018). Developmental variation during seed germination and biochemical responses of Brassica rapa exposed to various colored lights. *J. Photochem. Photobiol. B.*, **179**,113-118.

Towill, L.E.; Mazur, P. (1975). Studies on the reduction of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride as a viability assay for plant tissue cultures. *Can. J. Bot.*, **35**,1097-1102.

Valiati R.; Jefferson, V.P.; Aury N.M.; Aldo, G.; Michelle, A.; Anelise, V.M.; Marilia, G.O.; Rogério, M.P. (2012). Effect of Low-Level Laser Therapy on Incorporation of Block Allografts. *Int. J. Med. Sci*. **9**(10), 853-861.

Van Overbeek, J. (1966). Plant hormones and regulators. *Sci.*, **152**, 721-731. W.H. Freeman and Co. San Francisco. (C.F. M. Sc. Thesis, National Institute of laser. Cairo).

Yadav, S.; Irfan, M.; Ahmad, A.; Hayat, S. (2011). Causes of salinity and plant manifestations to salt stress, A review in *J. Environ. Biol*., **32**,667-685.

Yang, G.; Rodes, D.; Joly, R.J. (1996). Effects of High Temperature on Membrane Stability and Chlorophyll Fluorescence in Glycinebetaine-deficient and Glycinebetaine-containing Maize Lines. *Aust. J. Plant Physiol*., **23**,437-43.

Zeinab, A.; Abo-Rekab, M.; Khater, M.S.; Mohamed, A.M. (2012). Effect of Different Laser Wavelength on Callus of Date Palm. *J. Appl. Sci. Res.*, **8**(8), 4685-4690.

Role of Diode Laser Radiation Pretreatments in Growth of *Pisum sativum* L. Plant Seedlings and Callus under Salinity Stress

Eman T. Yaseen **Sajida A. Abood**

Department of Biology/ College of Science/ University of Mosul

ABSTRACT

The research included a study of the effect of the red diode laser radiation at wave length 650 nm and power 50 mw/cm^2 for different periods of time 2,4,6,8 and 10 minutes in the growth and development of seedlings and callus of *Pisum sativum* L. plant under salt stress at 200mM. The results showed that seeds exposed to laser radiation for different periods of time caused a clear increased in all studied growth indicators compared with the control treatment. Seeds treated with laser radiation for 10 minutes showed superiority on the other treatments in stimulation of germination speed, rate of the radical and coleoptile lengths and their fresh and dry weights with an increase in the rate of fresh and dry weight of plant. The results showed also that exposing callus segments to the laser radiation for different periods of time caused an increase in the rate of their fresh and dry weights after 21 days of growth on MS medium supplement with 1.0 mg/l of BA and NAA for each one. The present study proved possibility of treating the negative effects of sodium chloride at the concentration 200mM on the growth indicators of seedlings and callus of *Pisum sativum* by treatment seeds and callus with laser radiation for 10 minutes before salinity treatment at 200 Mm. This led to increase in the speed of seeds germination, the activity of α-amylase enzyme during different germination stages and increasing in plant growth rates (the lengths rate of each of the radical and coleoptile and their fresh and dry weights, plant height, root length, number of stem and root branches, fresh and dry weights of plant with an increase in the leaves content of chlorophyll. Also the results indicated a positive effect of laser radiation for10 min. in the increasing the fresh and dry weights of callus and return its viability after 21 days of growth and reduce the damage of cellular membranes with an increase in the amount of total soluble carbohydrates, level of proline and protein content in the tissues of seedling leaves and callus according to salinity treatment only.

Keywords: *Pisum sativum* plant, Sodium chloride salt, Diode laser, Callus culture.