تأثير أشعة كاما على المزارع النسيجية لنباتات البقدونس *Petroselinum crispum*♦

رغد نواف الزيدي* عبد الله نجم النعيمي
قسمَ علوم الحياة – كلية التربية –جامعة الموصل

ABSTRACT

This study attained to callus induction from(shoot tips, leaves, hypocotyle and roots) of *petroselinum crispum L* . plants which produced by non radiation and radiation seeds and explants in solid MS medium with different concentration of growth regulators (BA+NAA) . the best response observed in forming callus radiation seeds and explants with some doses of gamma rays , especially the hypocotyle (0.15and 0.7) K.rad . the best doses of callus growth and durability was 0.3 K.rad , and the high doses of gamma radiation 0.9 K.rad stimulated callus differentiation and created also one step regeneration plants , especially the hypocotyle callus.

الخلاصة

تمكنت الدراسة الحالية من استحداث الكالس من الاجزاء(القمم النامية،الاوراق،السيقان تحت الفلقية والجذور) الناتجة من البذور غير المشعة والمشعة بأشعة كاما لنبات البقدونس، فضلاً عن الاجزاء النباتية المشعة في وسط MS الصلب المجهز بتراكيز مختلفة من منظمات النمو (NAA + BA) بنسبة استحداث 100% لكالس الاجزاء النباتية الناتجة من البذور والاجزاء المشعة عند بعض الجرع الاشعاعية ، وخاصة السيقان تحت الفلقية عند الجرعتين (0.15 و0.7) كيلوراد. ولوحظت افضل جرعة اشعاعية (0.3) كيلوراد لتنمية الكالس وادامته لجميع الاجزاء النباتية. وكذلك شجعت الجرعة الاشعاعية العالية (0.9) كيلوراد تميز الكالس وتكوين اعداد جيدة من النباتات والحصول على نباتات كاملة بمرحلة واحدة One Step Regeneration ، وكان كالس السيقان تحت الفلقية الافضل في هذه الدراسة.

المقدمة

تواجه الزراعة النسيجية لنباتات البقدونس *Petroselinum crispum L* صعوبات كبيرة وعليه يعتبر من النباتات المتمردة على الزراعة النسيجية ، ولكن لاهميته

♦ البحث ملقى في المؤتمر الأول لعلوم الحياة في كلية التربية جامعة الموصل للفترة 4 – 5 أيلول 2007

الغذائية والطبية[1] اجريت عليه بعض الدراسات منها استحداث كالس الاوراق الفلقية والسيقان تحت الفلقية والجذوروالتي ذكرت بطأ تمايزه الذي استغرق (10) اسابيع [2] و تجذير الافرع الخضرية الناتجة من الزراعة النسيجية بأستخدام NAA لكنها اكدت صعوبة اقلمة هذا النبات في التربة [3].

كان لاكتشاف استخدام الاشعة المؤينة كوسيلة حديثة وفعالة سبباً في تحسين صفات الكثير من المحاصيل الزراعية كالذرة والشعير والخردل الابيض واحداث طفرات اصطناعية فيها [4] وعرفت اشعة كاما بتأثيراتها البايولوجية على الصفات المورفولوجية والتشريحية والانتاجية في بعض النباتات واحداث طفرة تمتد الى بذور نباتات الاجيال الاخرى ،وتنعكس هذه الطفرات في صفات الطول والحجم ونسبة الانبات كما في نبات الشعير

* مستل من رسالة الماجستير

Hordeum vulgare [5] ، بينما لوحظ على نبات الفاصوليا *Phaseolus vulgaris* تناقص في نسبة انبات البذور والنمو عند استخدام الجرع العالية (20 كيلو راد)من اشعة كاما [6] ، في حين ادى استخدام الجرع الواطئة من اشعة كاما في الحصول على نباتات كرفس تحمل صفات متميزة من حيث الطول وشكل ولون الاوراق [7] ، فضلاً عن تأثيرها الكبير والواضح في عمليات الزراعة النسيجية لعدة نباتات مثل نبات زهرة الشمس [8] وفول الصويا [9]

المواد وطرائق العمل

تم العمل في مختبرات زراعة الانسجة النباتية / قسم علوم الحياة وتحت ظروف معقمة .

الزراعة النسيجية :

عقمت بذورا لبقدونس ***Petroselinum crispum L*** التي تم الحصول عليها من السوق المحلي سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم NaOCl (القاصر التجاري) لمدة (15 دقيقة) ثم غسلت البذور جيداً بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات وبمعدل ثلاث دقائق لكل مرة لازالة اثار المحلول المعقم وزرعت البذور المعقمة سطحياً في انابيب اختبار حجم 70 مل تحتوي كل منها 20 مل وسط MS الخالي من منظمات النمو(MSO) بمعدل (بذرة واحدة / انبوبة) ، نقلت العينات الى غرفة النمو بدرجة حرارة 25±2°م في الظلام للاسبوعين الاوليين من الزراعة ثم الى ظروف النمو الاعتيادية (16 ساعة ضوء / 8 ساعات ظلام) وشدة اضاءة 1200 لوكس . اخذت النباتات السليمة وقطعت بمعدل 1سم لكل من الجذور والسيقان تحت الفلقية وبمساحة 0.5 سم^2 للاوراق و 1 ملم^2 للقمم النامية وزرعت على اوساط MS الصلبة الحاوية على تراكيز مختلفة ومنتخبة ومتداخلة من

BA(3.0,1.0,3.0,1.5) وNAA(0.5,0.5,1.0,1.0)ملغم/ لتر على التوالي ، وقدر الوزن الطري للكالس المستحدث .

استخدمت الاوساط المنتخبة المخطط(1) لادامة الكالس الناتج وتقدير وزنه الطري بحساب الفروقات في وزن الكالس عند زراعة (1غم) منه بعد مرور 30 يوماً من بدء زراعته، وحفز كالس كل من القمم النامية والأوراق والسيقان تحت الفلقية لغرض تكوين الأفرع الخضرية.

مخطط (1) يوضح الأوساط المنتخبة

رمز المعاملة	وسطMS المنتخب (ملغم/ لتر) BA+NAA	مصدر الكالس	تنمية الكالس	تحفيز نشوء الافرع الخضرية
MS1	(1.5+1.0)	الاوراق	كالس جميع الاجزاء	—
MS2	(3.0+1.0)	القمم النامية	—	القمة النامية
MS3	(1.0+0.5)	السيقان والجذور	—	السيقان تحت اللقية
MS4	(3.0+0.5)	*—	—	الاوراق

*—: لم يحدث أي استجابة

التعريض لاشعة كاما :

استخدمت اشعة كاما (مصدر كوبلت / جهاز Gamma cell-220- Na 187 الكندي المنشا / كلية العلوم) وبالجرع الاشعاعية (0.90,0.70, 0.45,0.30,0.15) كيلوراد من اشعة كاما لتشعيع العينات (البذور والاجزاء النباتية والكالس ونواتجهم) المستخدمة في هذه الدراسة وفي ظروف معقمة ، والتي اعيدت بعد التشعيع الى غرفة النمو تحت نفس الظروف الاعتيادية ، واعتمدت اجزاء النباتات البذرية الناتجة من بذور غير معرضة للتشعيع (للمقارنة) والمعرضة للتشعيع والمستحدثة للكالس وتقدير وزنه الطري (بمعدل 1غم / قطعة كالس / معاملة عند الزراعة) فضلاً عن تحفيز نشوء الافرع الخضرية من الكالس الناتج .

استخدام التحليل الاحصائي لتحليل البيانات :

استخدم التحليل الاحصائي لتحليل البيانات وفق برنامج SAS باستخدام الحاسوب الالي .

النتائج والمناقشة

1. تاثير اشعة كاما على النباتات الناتجة من البذور المشععة

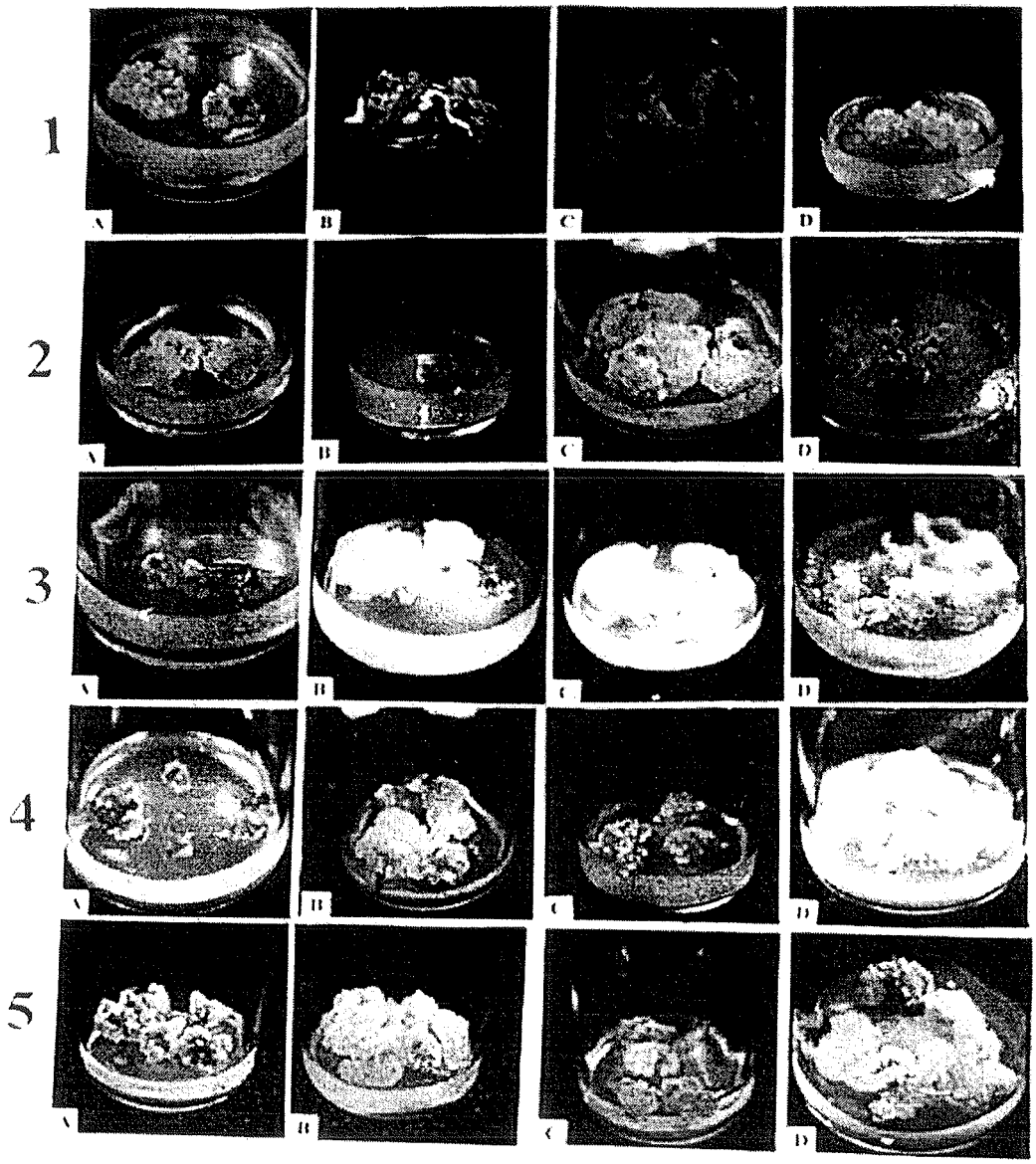
احدثت عملية التعريض لأشعة كاما تاثيراً واضحاً على العمليات الحيوية للبقدونس ومنها التغيرات الوراثية في هذا النبات أبتداءً من الانبات ومروراً بالتغيرات الحاصلة بالكالس وصولآ الى انتاج النباتات الكاملة مع ملاحظة وجود التباين في هذا المؤثر مابين المشجع والمحفز والمثبط وهذا يؤكد ماشارت اليه بعض الدراسات على نبات الشعير [5] ونبات الكرفس [7] و[10] أوضحت نتائج تشعيع البذور الجدول (1) خفض مدة الانبات بمعدل يومين عند الجرعة (0.15) كيلوراد وكذلك المدة اللازمة لاكتمال نمو النبات عند جميع الجرع الاشعاعية وخاصةً الجرع(0.15) كيلوراد بمعدل (8) أيام وبفروق معنوية ، كذلك زاد كل من معدل أطوال النباتات من (3-13)سم عند الجرع الآشعاعية الأربع الأولى ،وأفضلها كانت الجرعة (0.15) كيلو راد ومعدل اطوال الجذور (2-6)سم عند نفس الجرع استناداً الى معاملات المقارنة لكل حالة. وربما يعود سبب زيادة نمو النباتات الى ارتفاع معدل البناء الضوئي بالجرع الأشعاعية الواطئة من اشعة كاما [11] و[12] في حين ربما يعزى انخفاض النمو الى تضرر الكروموسومات [13] و[14].

الجدول (1): تأثير تعريض بذور البقدونس *Petroselinum crispum L.* لأشعة كاما على انبات ونمو وصفات النباتات الناتجة

الجرع الاشعاعية (كيلوراد) / الصفات	النباتات الناتجة من البذور المشعة *					النباتات البذرية غير المشعة (المقارنة)
	0.15	0.3	0.45	0.7	0.9	
مدة بدء الانبات (يوم)	9a	13c	11b	11b	10ab	11b
المدة التي تستغرقها البذرة لتصبح نبات كامل	22a	24bc	25c	23ab	25c	30d
معدل طول النبات (سم)	28a	18c	22b	22b	15c	15c
معدل طول الجذر (سم)	14a	10bc	11b	10b	5d	8c
شكل الاوراق ومساحتها	خضراء كبيرة	صفراء صغيرة	صفراء صغيرة	خضراء كبيرة	خضراء صغيرة	خضراء كبيرة
شكل الجذور	متفرع	متفرع	متفرع	مفرد	مفرد	مفرد

*المعاملات ذات الاحرف المتشابهة لكل عامل او تداخلاتها كلّ على انفراد لا تختلف معنوياً حسب اختبار دنكن متعددة الحدود ، عند مستوى احتمال 0.01

وكذلك شجعت الجرع الاشعاعية (الجدول2)، شكل (1)عملية استحداث الكالس وبفارق معنوي مع خفض مدة الاستحداث في غالبية المعاملات وتميزت الجرع (0.45,0.7,0.15) كيلوراد.



الشكل (1) كالس اجزاء نباتات البقدونس *Petroselinum craspium L* الناتجة من البذور المشععة

A – كالس القمة النامية **B**– كالس الاوراق **C**– كالس السيقان تحت الفلقية **D**–كالس الجذور بالجرع (0.15،0.3،0.45،0.7،0.9)كيلوراد لكل جزء من الاجزاء اعلاه .

الجدول (2) :- استحداث الكالس من أجزاء النباتات الناتجة من بذور نباتات البقدونس *Petroselinum crispum L.* المشعة بجرع مختلفة من أشعة كاما في الأوساط المنتخبة

الجرع الإشعاعية (كيلوراد)	الأجزاء النباتية الناتجة من البذور المشعة*							
	القمة النامية		الأوراق		السيقان تحت الفلقية		الجذور	
	نسبة الاستحداث (%)	المدة الزمنية (يوم)	نسبة الاستحداث (%)	المدة الزمنية (يوم)	نسبة الاستحداث (%)	المدة الزمنية (يوم)	نسبة الاستحداث (%)	المدة الزمنية (يوم)
0.15	100a	22cd	80bc	35.0fg	100a	17ab	100a	17ab
0.3	100a	26e	70cd	36.6fg	100a	20c	90ab	20c
0.45	80bc	28f	66d	35.0fg	100a	25de	80bc	17ab
0.7	100a	25de	80bc	30.0f	100a	18b	100a	19c
0.9	90ab	30f	90ab	35.0fg	100a	16a	100a	18b
(0.0) المقارنة	90ab	30f	80bc	38.0g	100a	20c	100a	20c

*المعاملات ذات الأحرف المتشابهة لكل عامل أو تداخلاتها كل على انفراد لا تختلف معنويا حسب اختبار دنكن متعددة الحدود ، عند مستوى احتمال 0.01

كما بينت النتائج (الجدول3) ان الجرعة (0.9) كيلوراد حفزت جميع الاجزاء النباتية على استحداث الكالس وبنسبة 100% وبفروق معنوية عن بقية الجرع الأشعاعية وخفضت مدد الاستحداث لجميع هذه الاجزاء استناداً الى معاملات المقارنة.كما لوحظ ان نسبة استحداث كالس الاوراق زادت عند جميع الجرع الاشعاعية باستثناء الجرعة (0.45)كيلوراد التي جاءت مساوية لمعاملة المقارنة مع تميز الجرعتين (0.9,0.7)كيلوراد

استناداً الى معاملة المقارنة للأوراق ،ان التباين الحاصل نتيجة التشعيع ربما يعزى سببه الى نوع النسيج النباتي ومدى تحمل كل قطعة للجرع الأشعاعية [9] .

الجدول (3) :- استحداث الكالس من أجزاء نباتات البقدونس *Petroselinum crispum L.* المشععة بجرع مختلفة من اشعة كاما في الاوساط المتنخبة

الجرع الإشعاعية (كيلوراد)	الأجزاء النباتية المشععة*							
	القمة النامية		الأوراق		السيقان تحت الفلقية		الجذور	
	نسبة الاستحداث (%)	المدة الزمنية (يوم)	نسبة الاستحداث (%)	المدة الزمنية (يوم)	نسبة الاستحداث (%)	المدة الزمنية (يوم)	نسبة الاستحداث (%)	المدة الزمنية (يوم)
0.15	90ab	28.3c	90ab	30.0d	0.0e	-	0.0k	-
0.3	80bc	36.0f	90ab	32.0de	80bc	26.0bc	50d	30.0d
0.45	80bc	33.6e	80bc	35.0ef	90ab	20.0ab	70c	21.6b
0.7	90ab	27.0e	100a	35.0ef	0.0e	-	50d	25.0bc
0.9	100a	28.0c	100a	29.6d	100a	16.6a	100a	17.0a
(0.0) المقارنة	90ab	30.0d	80bc	38.0fg	100a	20.0ab	100a	20.0ab

*- : لم يحدث استحداث

2. تأثير اشعة كاما في الوزن الطري للكالس المشعع

أظهرت نتائج تشعيع الكالس الجدول (4)زيادة معدلات الوزن الطري لكالس جميع الأجزاء النباتية عند الجرعة الاشعاعية (0.3) كيلوراد باستثناء كالس الجذور، وكانت أفضل استجابة في كالس الاوراق عند الجرعتين(0.45,0.3) كيلوراد استناداً الى معاملة المقارنة ،وربما يرجع السبب في ذلك الى التاثير الكبير للأشعاع في عمليات التغاير الوراثي الحاصلة في الخلايا النباتية ونتاجاتها المختلفة ،سواء الكالس او النباتات الناتجة منه [9] ومن هذه التغايرات زيادة او نقصان الوزن الطري للكالس والذي ربما يعزى الى نوع النسيج النباتي او قدرة وتميز بعض انواع خلايا الكالس على تحمل الجرع الاشعاعية دون غيرها الذي ينعكس على زيادة انقسام خلايا الكالس وحجمها وزيادة امتصاصها للماء ، او ربما يعزى الى التاثير الكيموحيوي على جدار الخلية او الغشاء الخلوي [6] و [13] .

الجدول (4) : الوزن الطري لكالس نباتات البقدونس *Petroselinum crispum* المشعع بجرع مختلفة من أشعة كاما بعمر (30) يوماً في وسط (MS1)

الجرع الإشعاعية كيلوراد	الوزن الطري لكالس الاجزاء النباتية (غم)*			
	القمة النامية	الأوراق	السيقان تحت الفلقية	الجذور
0.15	2.4g - j	3.5cde	2.0i-j	2.8e- i
0.3	3.1- g	6.06a	3.9c	3.5cde
0.45	2.3g- j	5.5ab	2.5f- j	3.0d-g
0.7	1.9j	3.0d-g	1.7j	1.9j
0.9	1.9j	3.3c-f	2.2h-j	2.9e-h
(0.0) المقارنة	2.5f- j	5.0b	3.8cd	3.8cd

*المعاملات ذات الأحرف المتشابهة لكل عامل أو تداخلاتها كل على انفراد لا تختلف معنويا حسب اختبار دنكن متعددة الحدود ، عند مستوى احتمال 0.01

3. تاثير اشعة كاما في تحفيز نشوء الافرع الخضرية :

حفزت اشعة كاما كالس القمم النامية والسيقان تحت الفلقية الناتجة من البذور المشععة (الجدول 5) على تكوين الافرع الخضرية وزيادة عددها عند جميع الجرع الاشعاعية وخاصة عند الجرعة (0.9) كيلوراد لكالس القمم النامية والجرعة (0.7) كيلوراد لكالس السيقان تحت الفلقية ، وكذلك خفض المدة الزمنية وبفروق معنوية استناداً الى معاملتي المقارنة وجاءت هذه النتائج متفقة مع ما اشارت اليه بعض الدراسات حول تحفيز التمايز بأستخدام اشعة كاما [8] و [15] .

الجدول (5) :- نشوء الأفرع الخضرية من كالس الأجزاء النباتية الناتجة من بذورنباتات البقدونس *Petroselinum crispum L.* المشعة بجرع مختلفة من اشعة كاما

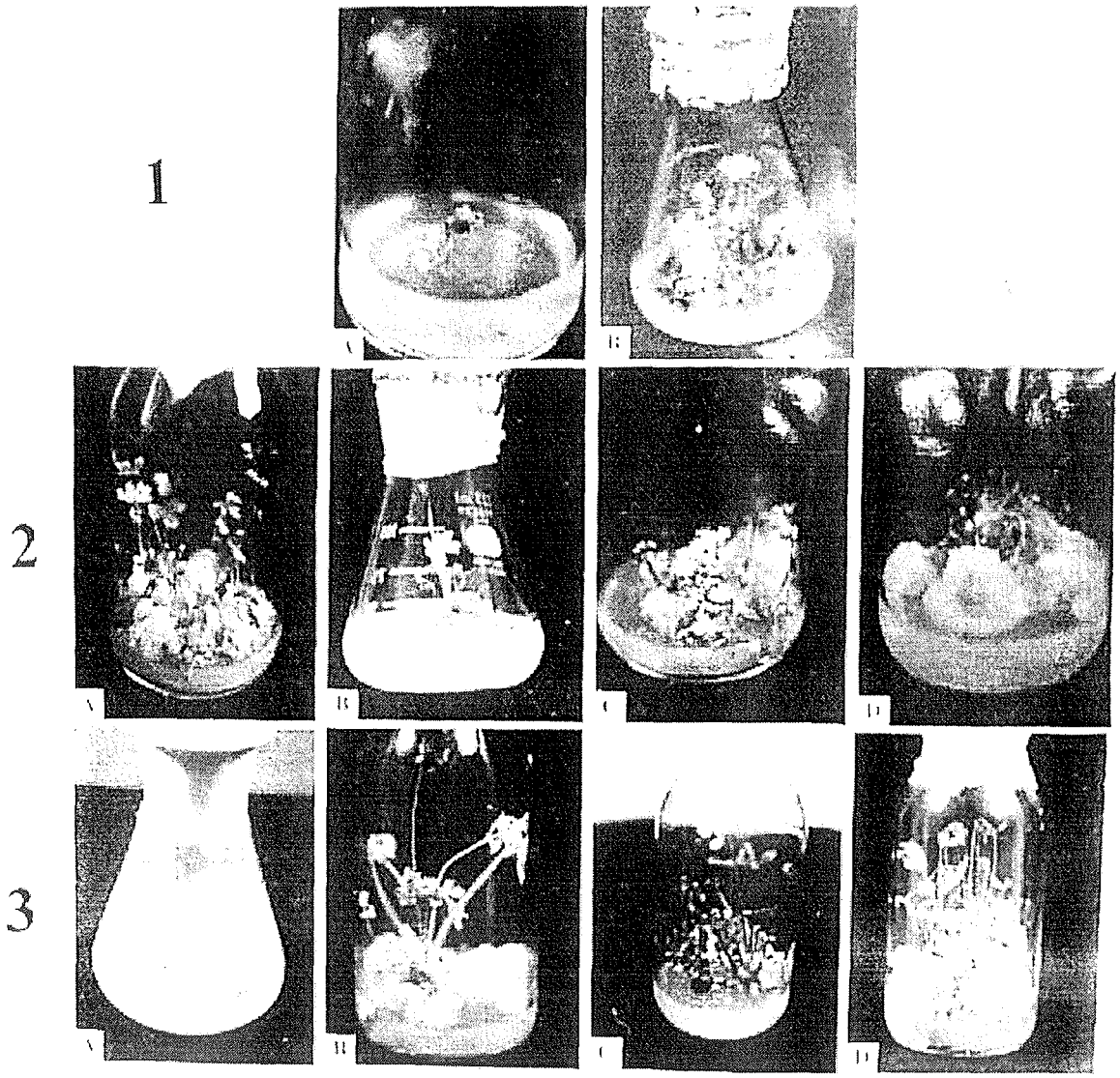
الجرع الإشعاعية (كيلوراد)	تمايز الكالس*					
	القمم النامية		الأوراق		السيقان تحت الفلقية	
	عدد الأفرع	المدة الزمنية (يوم)	عدد الأفرع	المدة الزمنية (يوم)	عدد الأفرع	المدة الزمنية (يوم)
0.15	3.0d	25.0b	0.0e	-	2d	35.0e
0.3	5.0c	28.ocd	0.0e	-	5c	24.6ab
0.45	5.0c	42.0g	0.0e	-	7b	50.3h
0.7	3.0d	27.0c	0.0e	-	12a	31.0d
0.9	8.0b	23.0a	0.0e	-	8b	30.0d
(0.0) المقارنة	2.0d	50.3h	3.0d	60j	2d	55.0f

* المعاملات ذات الأحرف المتشابهة لكل عامل أو تداخلاتها كل على انفراد لا تختلف معنويا حسب اختبار دنكن متعددة الحدود ، عند مستوى احتمال 0.01

- : لم يحدث تمايز

كذلك اظهرت نتائج الكالس المشعع (الجدول 6)، الشكل (2) تفوقه بتكوين الافرع الخضرية وزيادة عددها وخفض المدة الزمنية وبفروق معنوية عن معاملات المقارنة ، وخاصة كالس الاوراق والسيقان تحت الفلقية ، وعند الجرعتين (0.9) كيلوراد لكالس القمم النامية وكان معدل زيادة الافرع الخضرية بين (0.5 -12) ضعف استنادا الى معاملات المقارنة مع التميز لواضح لتأثير الجرعة (0.9) كيلوراد على جميع انواع مصادر الكالس في هذه الدراسة ، في حين لوحظ ان جميع عينات كالس المقارنة والجذور لم يكونا اية افرع خضرية ، كذلك نجحت هذه الدراسة بالحصول على عدد من النباتات تكونت بمرحلة واحدة لكالس كل من الاوراق والسيقان تحت الفلقية الذين اظهرا تفوقاً معنوياً عند غالبية الجرع الاشعاعية وخاصة كالس الاوراق ، وربما يرجع سبب ذلك الى ان للجرع العالية من اشعة كاما اثراً كبيراً في زيادة عدد الافرع الخضرية [6]

و[7]و[16]و[17] ، او ان الاشعاع ادى الى تنشيط عمل الاوكسينات مما دفع الكالس المشعع للجزر *Daucus carrota* على التمايز [18] .



الشكل (2) تمايز الافرع الخضرية من كالس نباتات البقدونس *petroselinum craspium L* المشعع بجرع مختلفة من اشعة كاما .

1. نشوء الافرع الخضرية من كالس القمة النامية المشعع .

B-A بالجرع (0.9،0.3) كيلوراد على التوالي .

2. نشوء الافرع الخضرية من كالس الاوراق المشعع .

D-C-B-A بالجرع (0.9،0.45،0.3،0.15) كيلوراد على التوالي.

3. نشوء الافرع الخضرية من كالس السيقان تحت الفلقية المشعع.

D-C-B-A بالجرع (0.9،0.7،0.45،0.3) كيلوراد على التوالي .

الجدول (6) :- نشوء الأفرع الخضرية من كالس نباتات البقدونس *Petroselinum crispum L.* المشعع بجرع مختلفة من أشعة كاما الأوساط المنتخبة (MS4 ، MS3 ، MS2)

الجرع الإشعاعية (كيلوراد)	تمايز الكالس*					
	القمة النامية		الأوراق		السيقان تحت الفلقية	
	عدد الأفرع	المدة (يوم)	عدد الأفرع	المدة (يوم)	عدد الأفرع	المدة (يوم)
0.15	3.0gh	13.0ab	18.0bc***	16.6bc	4.0fg	13.0ab
0.3	1.3hi	15.0b	5.0ef	20.0h	6.0e	17.0c
0.45	0.0i	-	25.0a***	17.0c	9.0d	17.6c
0.7	0.0i	-	18.0bc***	15.3b	17.0c***	12.0a
0.9	25.3a***	15.0b	19.6b***	18.0cd	25.a***	11.6a
(0.0) المقارنة	2.0hi	20.0h	3.0gh	30.0g	2.0hi	17.0bc

* المعاملات ذات الأحرف المتشابهة لكل عامل أو تداخلاتها كل على انفراد لا تختلف معنويا حسب اختبار دنكن متعددة الحدود ، عند مستوى احتمال 0.01

(***) الحصول على نباتات كاملة من الكالس بمرحلة واحدة .

- : لم يحدث تمايز

المصادر

1. حسين ، فوزي طه قطب . النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها. دار المريخ للنشر . الرياض . السعودية (1981).

2. Watin, D. and Bigot, C.. Canadian. Journal of Botany. 69 (7), 1583-1592. (1991)

3. Gbolade, A.A. and Lockwood, G.B. Fitoterapia 62 (3): 237- 242. (1991).

4. مصطفى، رأفت أنور كمال . الطفرات ودورها في تربية النبات.مجلة الذرة والتنمية (7) : 30_41(1995) .

5.Devrevx, M. , Donini, B. and Scarascia, G.T. Radiation Bot. 12: 87 – 98. (1972).

6. Bajaj, Y.P.S, Saettler, A.w.and Adams, M.W. Radiation Bot. 10, 119-124. (1970).

7. Prakash, A. , Intha jak, P. , Hulbregtse, H. and Caporaso, F .J.of Food Science. 65(6): 1070- 1075. (2000).

8. العقيدي، تغريد نواف احمد عبيد. رسالة ماجستير ، كلية التربيـــة ، جامعـــة الموصـــل ، (2004).

9. البياتي، فراس عباس يونس الياس . رسالة ماجستير . كلية التربية . جامعة الموصـــل . (2002).

10. Lacy, M.L., Grumet, R., Toth, K.F., Krebs, S.L., Cortright, B.D. and Hudgins, E. Hort. Science. 31 (2): 289- 290. (1996).

11. Bakr, M.A, Asour, N.I. EL-Basyouny, S.Z. and Sayed, A.M. Envi. Exp. Botany. 16, 217-222. (1976).

12. Woodstock, L. Wand Justic, O. L. Radiat. Bot. 7, 129-136. (1967).

13. Al- Safadi, B. and Simon, P.W. Tissue Culture Environ. Expt. Bot. 30:361- 371. (1990).

14. Alison , P. , Walter , D, and John , R. Radiation Biology.U.S.A atomic Energy commission current printing (Last digit) (1968) .

15. الحسو، زينة يحيى قاســم ســلطان. رســالة ماجــستير . كليــة التربيــة . جامعــة الموصل(2004).

16. Kiranmai, V., and Devi, P., Advances in – Plant–Sciences. 8 (2) : 326- 329. (1995).

17. Moraravec, J ، .Janyska, A. and Toul, v. Bulletin-vyzkumny a Slechtitelsky-Ustav Zelinarsky Olomouc. 32: 55-62. (1988).

18. الصفدي ، بسام.تأثير اشعة كاما على الجزر .مجلة عـــالم الـــذرة . (9). 116-133 . (1989).