تأثير بعض مشتقات الجالكونات والترايازولات في استحداث ونمو وتمايز كالس نبات الخس *Lactuca sativa .L*♦

هلياء علي حسن
قسم علوم الحياة
كلية التربية/جامعة الموصل

عبد المطلب سيد محمد
قسم علوم الحياة
كلية العلوم/جامعة الموصل

مناهل فوزي بولص

Abstract

The effect of interaction between chalcone and triazoles on callus initiation , growth and differentiation were carried out .

The results indicates that the addition of triazole compound (A) with chalcone derivatives type B or C or D to the growth medium at conc. 10^{-8} Molar enhanced callus initiation , shoot and root formation . Furthermore addition of compound A with compound C at conc. 10^{-8}M stimuluse callus growth compared with other compound used.

It is found that the addition of chalcones and triazoles replace the standard growth regulators (auxins and cytokinin)

الخلاصة

شملت الدراسة تقييم كفاءة الاضافة المتداخلة من مركب من الترايازولات مع بعض من مشتقات الجالكونات المحضرة مختبرياً في استحداث نبات الخس ونموه وتمايزه .

اشارت النتائج ان اضافة المركب A من الترايازول مع مشتقات الجالكونات B ، C و D وبتركيز 10^{-8} مولار . حفز استحداث الكالس وتكوين الافرع الخضرية والجذور لقطع نباتات الخس بدرجات متباينة اعتماداً على نوع مشتق الجالكون المضاف الى الوسط الغذائي. ووجد ان اضافة المركب A بوجود المركب C بتركيز 10^{-8} مولار في الوسط الغذائي شجع تكوين الكالس ونموه وتمايزه بدرجة افضل مقارنة بالمشتقات الاخرى (B و D) من الجالكونات .

استنتجت الدراسة ان استخدام الجالكون مع الترايازول يمكن ان يعوض عن استخدام منظمات النمو النباتية المستوردة من الاوكسينات والسايتوكاينينات .

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

المقدمة

يعتمد نجاح تقانة زراعة الانسجة النباتية اساساً على عوامل عدة منها : الوسط الغذائي ومكوناته الرئيسة واضافة منظمات النمو المحددة (الاوكسينات والسايتوكاينينات) بنسب معينة ، وتعد تحديد اهمية منظمات النمو ومعرفة الطبيعية منها او المصنعة وتحديد تركيبها وآلية عملها خطوة مهمة جداً لنجاح هذه التقانة (1 و 2) . وعملت الجهود المتواصلة عن اكتشاف منظمات نمو مصنعة بوصفها اوكسينات او سايتوكاينينات على اساس انها تسلك سلوك الهرمونات النباتية الطبيعية (3 و 4) .

عرفت مركبات الترايازولات بدورها في تنظيم نمو النبات لحد ما (5) حيث ان اضافة مركبات الترايازولات بوجود PDA حفزت استحداث الكالس والافرع الخضرية والجذور لقطع نباتات الخس (3 و 6) .

كما تعد الجالكونات ايضاً من المركبات المهمة للكاربونيل الفا – بيتا الكيتونية غير المشبعة وتعد صنفاً من الصبغات الموجودة في النباتات (7) . ولا يوجد ما يشير الى ان مركبات الجالكون تستخدم كمنظمات نمو في تقانة زراعة الانسجة النباتية ماعدا بعض البحوث والتي اشارت الى ان بعض منها سلكت سلوك السايتوكانينات في زراعة انسجة نبات زهرة الشمس(8) و في زراعة انسجة نبات الخس ونموه وتمايزه بوجود NAA او BA (9).

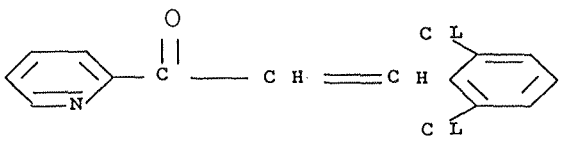
تهدف الدراسة الحالية التحري عن دور احد مركبات الترايازولات المستخدمة (6) وتداخلها مع عدد من مركبات الجالكونات المستخدمة (9) لاستخدامها كبدائل محلية عوضاً عن منظمات النمو القياسية المستوردة في استحداث ونمو كالس نبات الخس وتمايزه.

المواد وطرائق العمل

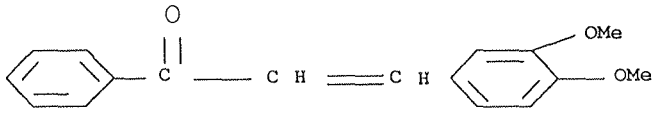
استخدمت بذور الخس *Lactuca sativa .L* صنف Longiflora وتم الحصول عليها من قسم البستنة / كلية الزراعة والغابات . عقمت البذور (10) ونميت على وسط Arnon and Hoagland المعقم (11) في الحاضنة بدرجة حرارة 20 ±1°م لانتاج البادرات الخالية من الملوثات .

استخدمت قطع من سوق بادرات الخس المعقمة والحاوية على عقدة واحدة وبعمر 21 يوم وبطول 1 سم تقريباً لاستحداث الكالس ونمو الافرع الخضرية والجذور ، استحدث الكالس على وسط Murashige & Skoog الصلب (12) مضافاً اليه مشتقات مركبات الجالكون المحضرة مختبرياً في قسم الكيمياء – كلية العلوم – جامعة الموصل (13) والمركبات المستخدمة لها تراكيب كيميائية كما يأتي:

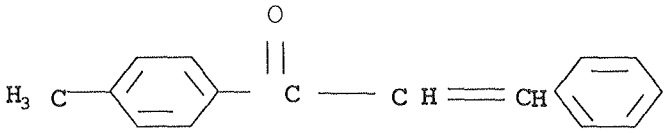
المركب B



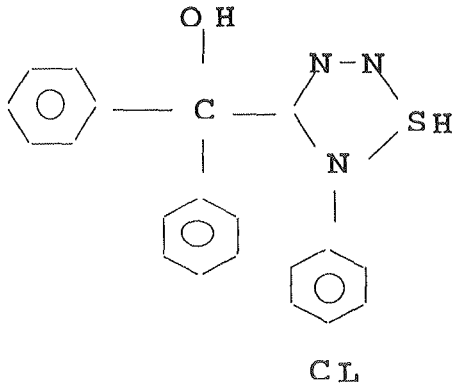
المركب C



المركب D



أضيفت هذه المركبات الى وسط MS الغذائي الصلب كل على حدا بتركيز 10^{-8} مولار بوجود مركب الترايازول A بتركيز 10^{-8} مولار والمحضر محلياً (14) حيث تم اختبار فعاليته الحيوية (5) كبديل من السايتوكاينيات القياسية والتركيب الكيميائي الاساس له



زرعت القطع النباتية على الاوساط المختلفة ووضعت في الحاضنة بدرجة حرارة 20 ±1°م وبتعاقب ضوئي ،16 ساعة ضوء و 8 ساعة ظلام . درس تأثير تداخل مركب الترايازول A مع كل من مركبات الجالكون B وC و D على القطع النباتية وبالمقارنة مع القطع النباتية المزروعة على الوسط القياسي (وسط MS بوجود NAA بتركيز 3×10^{-6} مولار و BA بتركيز 4×10^{-6} مولار).

تم تحديد الوزن الطري للكالس النامي على الاوساط المختلفة الحاوية على تداخلات الترايازول مع الجالكونات (AB و AC و AD) في عمر 30 ، 60 يوما من تاريخ الزراعة وأخذت المعدلات لخمس مكررات ومقارنته مع الوزن الطري للكالس النامي على الوسط القياسي .

النتائج

1. تأثير تداخل مركب A من الترايازول مع مركب B ، C ، D من الجالكون في نمو قطع سوق بادرات الخس الحاوية على عقدة واحدة .

حفزت اضافة مركب A بوجود مركبات B ، C و D في الوسط الغذائي تكوين الافرع الخضرية والجذور والكالس بصورة متباينة اعتماداً على نوع مشتق الجالكون المضاف ، حيث اظهرت النتائج (الجدول 1) ان اعلى معدل لعدد الاوراق بلغ 11 ورقة ومعدل 9 جذور بوجود مركب C مع A في الوسط وتمتاز الاوراق بلونها الاخضر وحجمها المتوسط وكذلك المساحة السطحية ، وشجعت اضافة المركب D مع A تحفيز لنشوء الكالس الأصفرالهش حيث بلغت نسبة الاستحداث 70% والمتمايز الى افرع خضرية وجذور حيث امتازت الافرع الخضرية بصغر حجم الاوراق ومساحتها السطحية اذ ما قورنت بالاوساط الاخرى (AB و AC) في حين اظهر المركب B مع A تحفيز نشوء الافرع الخضرية التي امتازت بقلة عددها وكبر حجم الاوراق ومساحتها السطحية مقارنة بالاوساط الاخرى (الصورة) .

2. تأثير تداخل مركب A من الترايازول مع مركب الجالكونات B ، C و D في نمو وتمايز كالس نبات الخس وتمايزه.

اظهرت النتائج ان اضافة مركب A بوجود مركب C الى الوسط الغذائي حفز نمو الكالس وتمايزه بدرجة كبيرة جداً بدلالة الزيادة في الوزن الطري حيث بلغت 14.6 غم بعد مرور 60 يوم من الزراعة (الشكل 1) فضلاً عن تمايز الكالس الى افرع خضرية بدرجة كثيفة جداً مقارنة بالاوساط الاخرى والوسط القياسي (الصورة) .

وتباينت الزيادة في الوزن الطري اعتماداً على نوع مشتق الجالكون المضاف الى الوسط الغذائي في حين امتاز الكالس في الوسط AC بلونه الاصفر المخضر وبنيته الهشة . وامتازت المجموعة الخضرية بكثافة وتعدد تفرعاتها واوراقها الرفيعة الطويلة بالمقارنة مع الاوساط الاخرى حيث تبدو التفرعات اقل كثافة لكن الاوراق اكبر حجماً وسعة مساحتها السطحية . في حين امتازت المجموعة الجذرية المتكونة في الوسط الحاوي على المركب D

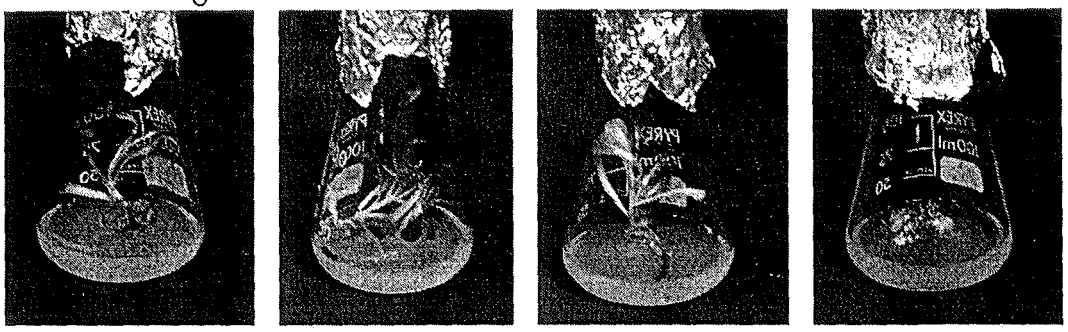
مع A (AD) بكثافة نموها وتشابكها مع بعضها مقارنةً بنظيراتها المتكونة في الاوساط الاخرى والوسط القياسي (صورة 1B) .

الجدول(1) : عدد الافرع الخضرية والجذور واستحداث الكالس من قطع سوق بادرات الخس الحاوية على عقدة واحدة والنامية على وسط MS الصلب القياسي او المضاف اليه مركب الترايازول (A) مع كل من مشتقات الجالكون B او C او D بتركيز 10^{-8} مولار ولفترة 30 ، 60 يوماً من النمو

الوسط الغذائي	30 يوم			60 يوم		
	معدل عدد الافرع/نبات	معدل عدد الجذور/نبات	استحداث الكالس %	معدل عدد الافرع/نبات	معدل عدد الجذور/نبات	استحداث الكالس %
Control	*	–	75	4 ±0.09	–	100
AB	5 ±0.18	3 ±0.05	50	7 ±0.2	5 ±0.05	65
AC	9 ±0.14	5 ±0.12	50	**11** ±0.26	**9** ±0.11	60
AD	6 ±0.20	7 ±0.13	60	8 ±0.19	8 ±0.24	**70**

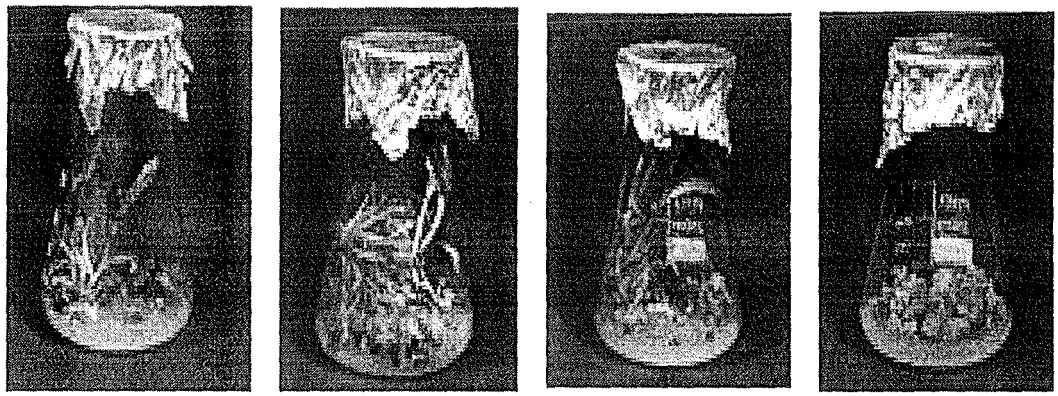
كل قيمة تمثل متوسط عشر مكررات – لا يوجد تحفيز * الافرع الخضرية الصغيرة جداً

± تمثل الخط القياسي لمتوسط المعدلات



4 3 2 1

A



4 3 2 1

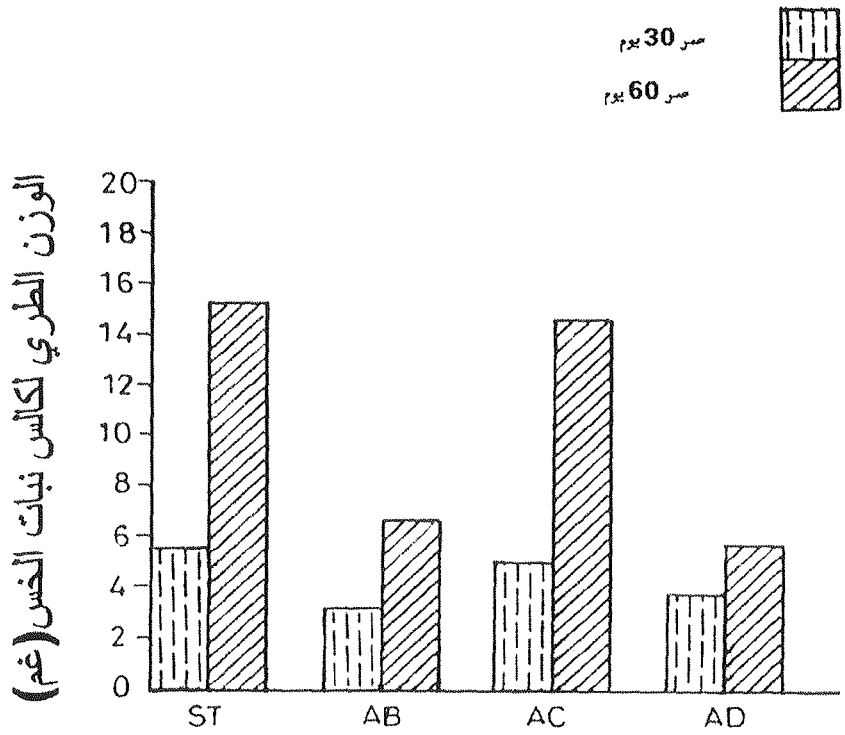
B

الصورة (1) تأثير تداخل مركب الترايازول (A) مع مركبات الجالكونات B ، C و D على نمو قطع و كالس نبات الخس وتمايزه .

A التاثير على قطع بادرات الخس الحاوية على عقدة واحدة .

B التاثير على قطع كالس نبات الخس .

1. الوسط القياسي (المقارنة)
2. الوسط الحاوي على مركب الترايازول A مع الجالكون B (AB)
3. الوسط الحاوي على مركب الترايازول A مع الجالكون C (AC)
4. الوسط الحاوي على مركب الترايازول A مع الجالكون D (AD)



(الشكل 1) :

معدل الوزن الطري لكالس نبات الخس النامي على وسط MS مضافاً اليه مركبات الجالكون والترايازول بتركيز 10^{-8} مولار بعد مرور 30 ، 60 يوماً من الزراعة

ST الوسط القياسي

(NAA بتركيز 3×10^{-6}مولار و BA بتركيز 4×10^{-6}مولار).

AB الوسط الحاوي على مركب الترايازول A و الجالكون B بتركيز 8- 10 مولار

AC الوسط الحاوي على مركب الترايازول A و الجالكون C بتركيز 8- 10 مولار

AD الوسط الحاوي على مركب الترايازول A و الجالكون D بتركيز 8- 10 مولار

المناقشة

يعتمد نجاح زراعة الانسجة النباتية على عوامل عديدة منها نوع النبات ومصدر القطعة النباتية والوسط الغذائي الملائم المدعم بمنظمات النمو المختلفة اضافة الى ظروف النمو (15) ، ومن العوامل المهمة والمؤثرة في نجاح هذه التقانة منظمات النمو سواء الداخلية او المضافة الى الوسط الغذائي (16 و 17) .وتعد الاوكسينات والسايتوكاينينات مهمة جداً في زراعة الانسجة النباتية لما لها من دور فعال في استحداث الكالس ونمو الافرع الخضرية والجذور (18) .

وتعد السايتوكاينينات مسؤولة عن الانقسام الخلوي من خلال تحفيز بناء بعض الانزيمات الاساسية التي تحدث مضاعفة DNA (19) . اضافة الى تحفيزها البناء الحيوي للبروتين والـ RNA (20) .

ان المركبات قيد الدراسة شجعت استحداث الكالس وتكوين الافرع الخضرية وتكوين الجذور ومن الجدير بالذكر ان اضافة مركب A مع D بتركيز 10^{-8} مولار شجع تكوين الكالس بصورة جيدة مع تكوين التفرعات الخضرية والجذور وقد يعزى هذا الى مشتقات الجالكون والترايازول التي من المحتمل انها عملت على زيادة مستوى السايتوكاينينات في القطع النباتية من خلال تحفيزها على زيادة امتصاص السايتوكاينين (الترايازول) المضاف الى الوسط (6 و 9) وهذا ما تؤيده بعض الدراسات (5 و 21) .

وجد عدد من الباحثين ان اضافة مركبات الترايازول تؤدي الى زيادة المستوى الداخلي من السايتوكاينينات او التاثير في المناطق الفعالة للانزيمات وتحفيز قسم منها ذات العلاقة ببناء الاوكسينات او القيام بعمل السايتوكاينينات او ربما يثبط درجة التأكسد للهرمونات النباتية (22) .

وتشير النتائج ان الاضافة المتداخلة من مشتقات الجالكون مع الترايازول في الوسط حفز نشوء الافرع الخضرية ذات الاوراق المتكاملة وكذلك تكوين جذور وباعداد واطوال متباينة اعتماداً على نوع مشتق الجالكون المستخدم وقد يعزى ذلك الى وجود الخلايا المرستيمية في قطع سوق بادرات الخس والتي لها القابلية على الانقسام مكونة الخلايا البنوية والتي تتخصص وتكون بادئات البراعم الطرفية والجذور (23).

ومما تجدر الاشارة اليه ان تركيز 10^{-8} مولار لجميع مشتقات الجالكون المستخدمة شجع بدرجة كبيرة استحداث الكالس واخلاف الافرع الخضرية او الجذور وهذا ما تؤيده دراسة (9) والذي يعزى الى وجود نوع من منظمات النمو المضافة الى الوسط وبتداخلها مع بعضها البعض او استجابة الجزء النباتي لها (24).

ويبدو واضحا ان اضافة مشتقات الجالكون مع الترايازول في الوسط شجع نمو الكالس بدلالة الوزن الطري ولم يصل معدل الوزن الطري الكالس النامي على هذه الاوساط وبوجود المركبات المستخدمة لذلك النامي على الوسط القياسي مطلقا في حين حفزت المركبات المستخدمة تمايز خلايا الكالس الى افرع خضرية ذات اوراق متكاملة طويلة وعديدة وجذور جيدة نوعا ما ، وتباينت المركبات في قدرتها على تكوين الافرع الخضرية والجذور اعتمادا على نوع مركب الجالكون المستخدم مما يؤكد دور المجموعات المعوضة في اظهار الفاعلية الحيوية وان وجود الاينون enone في جزيئات الجالكون منح هذه المركبات الفاعلية الحيوية (21) .

ان اضافة مركب الترايازول A مع الجالكون C الذي شجع زيادة الوزن الطري للكالس وتمايزه مقارنة بالوسط القياسي والاوساط الاخرى قد يعزى الى ان السلسلة الجانبية للمركب قد تؤثر على بعض الخصائص الفيزيائية له وبالتالي على كفاءة النمو والانقسام وبتداخله مع الترايازول (كسايتوكاينين) قد يحفز تكوين الانزيمات المرتبطة ببناء الاوكسينات و على مستوى الجينات (21) والسايتوكاينين عموما يحفز تكوين الافرع الخضرية من القطع النباتية او الكالس كذلك يعمل على تحفيز النمو وزيادة معدلات الانقسامات المتتالية في الكالس وذلك بوجود مستوى معين من الاوكسين الداخلي (9 و 23) اظهرت النتائج التمهيدية ان مشتقات مركبات الترايازولات سلكت سلوكا مشابها لعمل السايتوكاينينات القياسية (5) فضلا عن ان مشتقات الجالكون تعمل على زيادة مستوى السايتوكاينين (9) .

ويبدو واضحا من النتائج ان الاضافة المتداخلة لمركبات الجالكون مع الترايازول في الوسط الغذائي شجع بدرجة كبيرة نمو الافراع الخضرية والجذور وربما يعزى ذلك الى زيادة في تركيز السايتوكاينينات وتحفيز بناء الاوكسينات داخليا مما يؤدي الى توازن معين في مستوى منظمات النمو لزيادة تكوين الافرع الخضرية والجذور مقارنة بتلك النامية على الوسط القياسي فضلا عن ان هذه المواد المحضرة ربما يستفاد منها كبديل لحد معين عن منظمات النمو المستوردة .

المصادر

1. Moore, T.C. Physiology and Biochemistry of plant Hormones. Academic Press, New York. (1979).
2. حسين ،عاصم محمود . مقدمة فسلجة النبات ، مطبعة جامعة الموصل (1985) .
3. احمد ، اميرة اسماعيل . اطروحة دكتوراه ، كلية العلوم ، جامعة الموصل ، العراق (2002) .

4. حسن ، هلياء علي . اطروحة دكتوراه ، كلية التربية ، جامعة الموصل ، العـراق (2004) .

5. البياتي ، جميلة هزاع رشيد. اطروحة دكتوراه ، كلية التربية ، جامعة الموصـل ، العراق(2002) .

6. حسن ، هلياء علي ومحمد ،عبد المطلب سيد . مجلة علوم الرافدين، (2005) .

7. Dhar, D.N. The Chemistry of Chalcones And Related Compounds. Wiley and Sons. Inc. New York. (1981).

8. Mohammad, A.M.S. and Hassan, H.A J Univ. Kuwait (sci) 15: 69-77. (1989).

9. بولص، مناهل فوزي و محمد ، عبد المطلب سيد. مجلة علوم الرافدين ، (2005).

10. Mohammad, A.M.S. and Abood, S.A. Raf.J. Sci 6: 1-13. (1995).

11. Arnon , D.I. and Hoagland., D.R. Soil. Sci. 50: 463 (1940).

12. Murashige, T. and Skoog,F. Physiol . Plant. 15: 473-479 (1962).

13. Soliman, Y.A.A..M. Ph.D thesis, College of Science, University of Mosul.Iraq (2002).

14. Noori, M.S. Ph.D. Thesis. University of Mosul-Iraq. (1999).

15. Dodds, J.H. and Roberts, L.W. "Experiments in Plant Tissue Cultures" Cambridge University Press, UK (1985).

16. Bhojwani, S. S. and Razdan, M.K. Plant Tissue Culture, Theory and Practice 3rd ed . Elsevier . Science Publishers . New York and Canada (1986).

17. Mineo, L. Plant Tissue Culture Techniques . In : Tested Studies for Laboratory Teaching Ed. Goldman, C. A. Procceding of the Eleventh work shop , Conference of the ABLE. (1990).

18. Centeno, M. L., Rodriguez, A, Feito, I. and Fernandez, B. Plant Cell Repts. 16: 58-62 (1996).

19. Ivanova, M. and Rost , T.L. Eds. Bryant, J. A. and Chiatante, D., Pub. Wiley and Sons Ltd. (1998).

20. Lerbs, S. Lerbs, W., klyachko, N. L., Romanko, E. G. Kuloeva, O. N., Vollgiehn, R. and parthier, B. Plant. 162: 289-298.(1989).

21. بولص، مناهل فوزي . اطروحة دكتوراه ، كلية العلوم ، جامعـة الموصـل (2004).

22. Izumi, K., Nakagawa, S., Kobayashi, M., Oshio, H., Sakural, A. and Takahashi, N. Plant Cell physiology., 29: 97-104. (1988).

23. Tanimoto, S. and Harada, H. Biochem. Physiol. Pflanzen, 177: 22-28 (1982).

24. بولص، مناهل فوزي . رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة الموصل العراق (1998).