------ مجلة علوم الرافدين، المجلد17، العدد9، خاص بعلوم الحياة، ص108-125، 2006 ------

تأثير مشتقات الترايازولات وحامض البنتادابنويك في استحداث كالس نبات الخس (*Lactuca sativa L.*) ونموه وتمايزه

الجزء الاول: التأثير في قطع سوق بادرات الخس الحاوية على عقدة واحدة

هيلاء علي حسن
قسم علوم الحياة
كلية التربية
جامعة الموصل

عبد المطلب سيد محمد
قسم علوم الحياة
كلية العلوم
جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 2005/1/8 ؛ تاريخ القبول 2005/4/6)

الملخص

شملت الدراسة تقيم كفاءة ستة مركبات مشتقة من الترايازولات محضرة محليا في استحداث كالس نبات الخس ونموه وتمايزه . ووجد أن إضافة مركبات الترايازولات بوجود PDA حفزت استحداث الكالس والأفرع الخضرية والجذور لقطع نباتات الخس بدرجات متباينة اعتمادا على نوع وتركيز المركب المضاف إلى الوسط الغذائي . فضلا عن إضافة PDA بتركيز 10^{-5} مع مركب Bبتركيز 10^{-5} مولار شجع على تكوين الأفرع الخضرية والجذور على نحو افضل مقارنة بالأوساط المستخدمة الأخرى فضلا عن إضافة PDA بتركيز 10^{-5} مولار بوجود مركب Bبتركيز 10^{-8} مولار الى الوسط الغذائي شجع على تكوين الكالس بدرجة افضل مقارنة بالتراكيز الأخرى لباقي المركبات المستخدمة .

Effect of Triazoles and Pentadienoic Acid on Callus Initiation and Growth of Lettuce (*Lactuca sativa* L.)Plant

Part one: Effect on stem segment with one node

Halia A. Hassan
Department of Biology
College of Education
Mosul University

Abdul Mutalib S. Mohammad
Department of Biology
College of Science
Mosul University

ABSTRACT

The effect of six compounds derived from di-phenylmethy 1,2,4-triazol locally prepared on callus initiation, growth and differentiation of lettuce were carried out . The results indicated that the addition of triazole compounds with PDA to MS medium stimulates callus initiation, shoot and root formation depending on the type and concentration of the compound .

It was found that the addition of 10^{-5} M PDA with compound B at 10^{-5} M stimulated shoot and root formation to a great extent as compared with other compounds used. Moreover the addition of PDA at 10^{-5} M with compound B at 10^{-8} M to MS medium showed the best stimulation of callus initiation compared to other triazole derivative compound used in the study .

المقدمة

يحدد نجاح زراعة الأنسجة النباتية عموما سواء في عملية الإكثار أو مسار البحث العلمي على استجابة الجزء النباتي المستخدم والوسط أو الأوساط المعدة لهذا الغرض فضلا عن عوامل عديدة منها وجود منظمات النمو (أوكسنيات أو السايتوكاينينات) بنسب معينة . لذا أصبح من الضروري إضافة منظمات نمو نباتية إلى الوسط مثل الاوكسينات والسايتوكاينينات أو غيرها بوجود العناصر الغذائية للحصول على نمو جيد في الجزء النباتي المزروع (Macchia et al., 2003) . وان كمية منظمات النمو المضافة سوف تؤثر في نمو الجزء النباتي وتمايزه معتمدة على نوع النبات المستخدم (Barrobero et al., 1995).

ولأهمية منظمات النمو في هذه التقانة فان التحري عنها ومحاولة معرفة الطبيعية منها او المصنعة وتحديد تركيبها والية عملها خطوة مهمة جدا في نجاح هذه التقانة (Moore, 1979; حسين، 1985) ومن خلال الجهود الكبيرة اكتشفت منظمات النمو المصنعة بوصفها أو كسينات أو سايتوكاينينات على أساس إنها تسلك سلوك الهورمونات النباتية الطبيعية (احمد، 2002).

قدم لأول مرة منظم نمو جديد وهو مركب PDA واثبتت فعاليته على انه أحـد ألا وكسـينات المصنعة (محمد واخرون، 1998 ; بولص ومحمد، a 1999، 1999b) فضلا عن استخدام مركـب جديد آخر من مشتقات الترايازولات وأكد دوره كسايتوكاينين من خلال تحفيزه لاستحداث ونمـو كـالس نبات الخس (الوتار، 2000) كما قدمت مركبات ترايازول أخرى بوصفها مبيدات للفطريات أو منظمات نمو (Fletcher et al. 2000)

وأكدت عدد من الدراسات دور مركب الترايازول في تأخير الشيخوخة الناتجة عن الشد المائي والملحي إضافة إلى تأثيراتها الفسلجية والشكلية في النبات (Fletcher and Hofstra, 1988). وعمومـا يمكن القول إن مركبات الترايازولات لها دور معين في تنظيم نمو النبات لحد ما ولا يوجد ما يشير إلـى أن هذه المركبات أو مشتقاتها قد استخدمت فعلا في تقانة زراعة الأنسجة لذا يعد مهما وأساسيا اختبارها لبيان دورها بوصفها منظمات أو مثبطات للنمو لاستخدامها كبدائل محضرة محليـا عـن منظمـات أو مثبطات النمو القياسية المستوردة، لذا فقد تواصلت الدراسات لاختبار مجموعة من مشتقات الترايازولات بإضافتها مع PDA إلى الوسط الغذائي وبتراكيز مختلفة لدراسة تأثيرها في اسـتحداث الكـالس ونمـوه وإنتاج الأفرع الخضرية والجذور من قطع سوق نبات الخس *Lactuca sativa* . لذا تهـدف الدراسـة الحالية التحري عن دور عدد من مركبات الترايازولات على إنهـا منظمـات نمـو (سـايتوكاينين أو اوكسين) لاستخدامها كبدائل محلية عوضا عن القياسية المستوردة في استحداث كالس نبات الخس ونموه وتمايزه .

المواد وطرائق العمل

استخدمت بذور الخس *Lactuca sativa* صنف Longiflora وتم الحصول عليها من قسم البستنة /كلية الزراعة والغابات . عقمت البذور بغمرها في محلول القاصر وحسـب مـاذكر سـابقا مـن قبـل (Mohammad and Abood, 1989) وزرعت في وسـط (Arnon and Hoagland, 1940, 1944) Arnon وبتركيز 5/1 من التركيز الأساس لانتاج البادرات الخالية من الملوثات .

قطعت السيقان والأوراق من النبات وبعمر 21 يوما وبطول 1 سم تقريبا ووزعت على الوسـط الغذائي المعد لاستحداث الكالس لغرض دراسة تأثير التراكيز المختلفة من منظمات النمو المستخدمة فـي استحداث ونمو وتمايز الكالس . حضنت القطع في غرفة النمو بدرجة حرارة (20 ± 2) م وشدة إضـاءة 1500 لوكس وبتعاقب ضوئي 16 ساعة ضوء و8 ساعات ظلام لمدة 60 يوما .

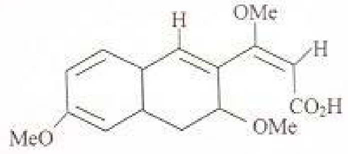
استخدم وسط MS (Murashige and skoog, 1962) المضاف إليه NAA بتركيز 3×10^{-6} و BA بتركيز 4×10^{-6} مولار لاستحداث كالس نبات الخس ونموه بوصفه افضل وسط واعتمادا علـى التجارب والخبرة العلمية والعملية في قسم علوم الحياة /كلية العلوم – جامعة الموصل (بولص ومحمـد، 1999 ; الوتار، 2000 ; احمد، 2002).

استخدم عدد من مركبات الترايازولات المحضرة من قبل (Noori, 1999) والتي اختبرت فعاليتها الحيوية من قبل (البياتي، 2002) بوصفها بدائل عن السايتوكاينينات القياسية وبتراكيز متعددة (جدول 1) . بوجود PDA بتركيز 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} و 10^{-8} مولار .

الجدول 1: تراكيز مركبات الترايازول

ت	المركب	التراكيز المستخدمة
1	مركب A	10^{-10} , 10^{-8} , 10^{-6} مولار
2	مركب B	10^{-8} , 10^{-6} , 10^{-5} مولار
3	مركب C	10^{-8} , 10^{-6} , 10^{-4} مولار
4	مركب D	10^{-8} , 10^{-6} , 10^{-5} مولار
5	مركب E	10^{-10} , 10^{-8} , 10^{-6} مولار
6	مركب F	10^{-10} , 10^{-6} , 10^{-4} مولار

إن هذه المركبات المستخدمة لها نفس التركيب الكيميائي الرئيسي (شكل 1) وتختلف عن بعضها البعض فقط بإحلال المجموعات في الموقع (N_4) من حلقة الترايازول (جدول2) .



Pentadienoic acid (PDA)

الترايازول

الشكل 1: التركيب الأساس لمركب Pentadienoic acid (PDA) ومركب الترايازول

كما استخدم حامض البنتادانيويك (PDA) المحضر مختبريا وحسب الطريقة المقدمة من قبل (Ayoub et al., 1987) والمستخدم من قبل محمد وجماعته 1999. حدد استحداث الكالس ونموه ونشوء

الأفرع الخضرية والجذور من قطع سوق بادرات الخس الحاوية على عقدة واحدة بعد فترة نمو 30و 60 يوما .

الجدول 2: خصائص مركبات الترايازول بالطرائق الفيزيائية

درجة الانصهار M.P. C^0	الوزن الجزيني	الاحلال في الموقع (4) Group (G)		الرمز
		الرمز الكيمياوي	الاسم	
279-280	297	(CH_3)	Methyl	A
237-238	387	$(CH_3 CH_2C_6H_4)$	4-Ethyl phenyl	B
225-226	311	$(CH_2 CH_3)$	Ethyl	C
240-241	298	(NH_2)	Amine	D
210-211	394	(ClC_6H_4)	4-Chlorophenyl	E
216-217	359	(C_6H_5)	Phenyl	F

النتائج

أظهرت النتائج التمهيدية ان مشتقات مركبات الترايازولات سلكت سلوكا مشابها لعمل السايتوكاينينات القياسية وكما وجد سابقا (البياتي، 2002) فضلاعن إن مركب PDA المستخدم عمل بشكل مشابه للاوكسينات القياسية (محمد وجماعته، 1998; بولص ومحمد، 1999; احمد، 2002).

نشوء الكالس :

تباين نشوء الكالس المستحدث اعتمادا على تركيز PDA في الوسط الغذائي فضلا عن نوع مركب الترايازول وتركيزه المستخدم . اظهر المركب A بتركيز 10^{-8} بوجود PDA بتركيز 10^{-4} و 10^{-6} مولار على التوالي أعلى نسبة استحداث للكالس(60 %) مقارنة بباقي التراكيز المستخدمة بعد 60 يوما من الزراعة (الجدول 3) .

في حين اظهر المركب B بتركيزه 10^{-8} بوجود PDA بتركيز 10^{-5} مولار أعلى تحفيز لنشوء الكالس الهش (80 %) وبلون اصفر مخضر (الجدول 4) . واظهر المركب C بوجود PDAبتركيز 10^{-4} مولار استحداث جيد للكالس (60 %) بعد 60 يوما من الزراعة وتمايز بلونه الأصفر وتكوينه مجاميع خضرية قصيرة جدا (الجدول 5) .

الجدول 3: استحداث الكالس ونشوء الأفرع الخضرية والجذور من قطع سوق بادرات الخس الحاوية على عقدة واحدة والنامية على وسط MS القياسي أو المضاف إليه مركب A مع PDA بتراكيز مختلفة ولفترة 30 , 60 يوما من الزراعة .

الوسط PDA + ترايازول	التـركيز (مـولار)																							
	10^{-4}						10^{-5}						10^{-6}						10^{-8}					
PDA مولار / مركب A مولار	30 يوم			60 يوم			30 يوم			60 يوم			30 يوم			60 يوم			30 يوم			60 يوم		
	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C
10^{-6}	6 ± 0.58	2 ± 0.01	40	7 ± 0.51	3 ± 0.02	40	2 ± 0.51	–	20	3 ± 0.51	–	40	–	–	40	2 ± 0.17	–	60	–	–	40	–	–	40
10^{-8}	4 ± 0.55	–	40	6 ± 0.31	–	60	1 ± 0.01	–	20	3 ± 0.23	–	40	4 ± 0.52	–	40	6 ± 0.11	–	60	4 ± 0.13	–	20	10 ± 0.5	–	40
10^{-10}	3 ± 0.43	–	20	5 ± 0.24	–	20	3 ± 0.31	2 ± 0.1	20	7 ± 0.02	2 ± 0.1	40	4 ± 0.07	2 ± 0.3	20	8 ± 0.22	3 ± 0.01	20	2 ± 0.14	2 ± 0.51	20	2 ± 0.5	3 ± 0.1	30
الوسط القياسي	–	–	70	5 ± 0.09	–	100																		

كل قيمة تمثل متوسط عشرة مكررات (S) معدل عدد الافرع الخضرية / نبات (R) معدل عدد الجذور / نبات

C) استحداث الكالس % (±) يمثل الخطا القياسي لمتوسط المعاملات (*) لون الكالس مائل الى البني

– لا يوجد تحفيز

الجدول 4: تأثير مركب B و PDA بتراكيز متعددة المضافة الى الوسط الغذائي على استحداث الكالس ونشوء الأفرع الخضرية والجذور من قطع سوق بادرات الخس الحاوية على عقدة واحدة والنامية على وسط MS القياسي لفترة 30 , 60 يوما من الزراعة

الوسط PDA + ترايازول	التركيز (مولار)																							
	10^{-4}						10^{-5}						10^{-6}						10^{-8}					
PDA مولار / مركب B مولار	30 يوم			60 يوم			30 يوم			60 يوم			30 يوم			60 يوم			30 يوم			60 يوم		
	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C
10^{-5}	2 ± 0.14	–	20	3 ± 0.25	–	40	4 ± 0.08	3 ± 0.2	30	9 ± 0.35	a ± 0.5	50	2 ± 0.04	–	40	4 ± 0.2	–	60	2 ± 0.05	–	60	3 ± 0.2	–	60
10^{-6}	2 ± 0.13	–	40	5 ± 0.013	–	40	5 ± 0.09	1 ± 0.08	40	7 ± 0.11	5 ± 0.2	80	3 ± 0.10	1 ± 0.1	60	3 ± 0.7	4 ± 0.13	60	4 ± 0.21	–	40	5 ± 0.13	1 ± 0.05	60
10^{-8}	2 ± 0.04	–	20	3 ± 0.3	1 ± 0.09	40	5 ± 0.21	3 ± 0.2	60	10 ± 0.27	7 ± 0.3	80	3 ± 0.08	1 ± 0.08	40	6 ± 0.3	1 ± 0.08	80	5 ± 0.32	–	60	6 ± 0.2	1 ± 0.08	60
الوسط القياسي	–	–	40	5 ± 0.32	–	90																		

كل قيمة تمثل متوسط عشرة مكررات (S) معدل عدد الافرع/ نبات (R) معدل عدد الجذور / نبات (C) استحداث الكالس %

(±)يمثل الخطا القياسي لمتوسط المعاملات (*) لون الكالس مائل الى البني (–) لايوجد تحفيز (a) العدد اكثر من 10

الجدول 5: دور مركب Cبوجود PDA بتراكيز مختلفة في استحداث الكالس ونشوء الأفرع الخضرية والجذور من قطع سوق بادرات الخس الحاوية على عقدة واحدة النامية على وسط MSالقياسي ولفترة 30 , 60 يوما من الزراعة .

الوسط PDA + ترايازول	التـــركيز (مـــولار)																							
	10^{-4}						10^{-5}						10^{-6}						10^{-8}					
PDA مولار / مركب C مولار	30 يوم			60 يوم			30 يوم			60 يوم			30 يوم			60 يوم			30 يوم			60 يوم		
	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C
10^{-4}	6 ± 0.30	1 ± 0.05	40	7 ± 0.12	2 ± 0.1	60	2 ± 0.09	-	20	3 ± 0.27	1 ± 0.08	40	2 ± 0.07	-	20	3 ± 0.23	1 ± 0.08	40	1 ± 0.04	-	20	1 ± 0.1	-	20
10^{-6}	1 ± 0.01	-	40	5 ± 0.27	-	60	6 ± 0.3	1 ± 0.08	40	6 ± 0.24	2 ± 0.2	60	2 ± 0.13	-	40	3 ± 0.10	-	60	5 ± 0.25	1 ± 0.05	40	8 ± 0.3	1 ± 0.05	40
10^{-8}	3 ± 0.15	-	20	4 ± 0.15	1 ± 0.08	40	1 ± 0.07	2 ± 0.1	20	3 ± 0.13	2 ± 0.15	40	4 ± 0.2	1 ± 0.08	20	6 ± 0.34	2 ± 0.1	60	3 ± 0.12	1 ± 0.01	20	6 ± 0.5	6 ± 0.2	60
الوسط القياسي	4 ± 0.21	-	60	10 ± 0.5	-	80																		

كل قيمة تمثل متوسط عشرة مكررات (S) معدل عدد الافرع/ نبات (R) معدل عدد الجذور / نبات (C) استحداث الكالس %

(±)يمثل الخطأ القياسي لمتوسط المعاملات (*) لون الكالس مائل الى البني (-) لايوجد تحفيز (a) العدد اكثر من 10

(-) لا يوجد تحفيز

إضافة إلى أن المركب D مع PDA بتركيز 10^{-8} اظهر تحفيز جيد جدا للكالس (80 %) الذي امتاز بقوامه الصلد ولونه الأخضر وتمايزه الكثيف جدا إلى مجاميع خضرية قصيرة مقارنة بالتراكيز الأخرى المستخدمة (الجدول 6) .

واظهر المركب E بتراكيزه المستخدمة 10^{-8}و 10^{-10} مع PDA بتركيز 10^{-8}و10^{-4} مولار على التوالي أعلى تحفيز لنشوء الكالس الأصفر المخضر حيث بلغت نسبة الاستحداث 60% لكليهما وتمايزه إلى مجاميع خضرية (الجدول 7).

في حين ان إضافة المركب F إلى الوسط الغذائي بتركيز 10^{-10} بوجود PDA بتركيز 10^{-4} مولار حفز استحداث الكالس من قطع سوق بادرات الخس وبنسبة 60% مقارنة بالتراكيز الأخرى المستخدمة (الجدول 8).

تكوين الأفرع الخضرية

تباينت درجة تمايز الكالس إلى الأفرع الخضرية حسب نوع مركب الترايازول المستخدم وتركيزه فضلا عن تركيز PDA المضاف إلى الوسط و أظهرت النتائج إن إضافة مركب Aمع PDA بتركيز10^{-8} مولار الى الوسط الغذائي حفزت تكوين المجموعة الخضرية بدرجة كبيرة وبلغ عددها (10) مقارنة بالتراكيز الأخرى المستخدمة (الجدول3). في حين إن إضافة المركب B مع PDA بتركيز 10^{-5} مولار حفز تكوين النباتات الكاملة . والتي امتازت بطول أوراقها وعرضها(الجدول 4) مقارنة بإضافة مركب C بالتراكيز المتعددة المستخدمة وبانخفاض في درجة التحفيز لتكوين الأفرع الخضرية ما عدا التركيز 10^{-6} بوجود PDA بتركيز 10^{-8} مولار (الجدول 5).

ويشير الجدول (6) إن إضافة مركب D بتركيز 10^{-8} بوجود PDA بتركيز10^{-8} مولار شجع إلى حد ما تكوين الأفرع الخضرية مقارنة بباقي الأوساط المستخدمة وبلغ عددها أكثر من 10 (α) وامتازت بطولها وتعدد تفرعاتها . ويوضح الجدول (7) إن مركب E بوجود PDA بتركيز 10^{-8} مولار حفز نشوء الكالس وتمايزه الى مجاميع خضرية امتازت بأوراقها العريضة بعد مرور 60 يوما من الزراعة .

وان المركب F بتركيز 10^{-10} بوجود PDAبتركيز 10^{-6} مولار كان له دور واضح في تكوين المجاميع الخضرية حيث بلغ عددها (9) بعد 60 يوما من الزراعة .

تكوين الجذور

يبدو واضحا من الجدول (3)إن إضافة المركب A بتراكيزه المختلفة بوجود PDA لم يحفز تكوين الجذور في جميع الأوساط والأعمار ، في حين إن إضافة المركبB مع PDA بتركيز 10^{-5} مولار حفز بدرجة كبيرة تكوين النباتات الكاملة فضلا عن تكوينه للجذور الطويلة والمتشابكة بعد مرور 60 يوما من الزراعة، وان إضافة مركب D لم يشجع عموما تكوين الجذور (الجدول 6) .

الجدول 6: نشوء الأفرع الخضرية والجذور والكالس من قطع سوق بادرات الخس الحاوية على عقدة واحدة النامية على وسط MS القياسي أو المضاف إليه مركب D مع PDA بتراكيز مختلفة ولمدة 30 , 60 يوما من الزراعة .

الوسط PDA + ترايازول	التركيز (مولار)																							
	10^{-4}						10^{-5}						10^{-6}						10^{-8}					
PDA مولار / مركب D مولار	30 يوم			60 يوم			30 يوم			60 يوم			30 يوم			60 يوم			30 يوم			60 يوم		
	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C
10^{-5}	3 ± 0.021	–	40	6 ± 0.25	2 ± 0.1	60	–	–	20	3 ± 0.12	1 ± 0.11	40	3 ± 0.11	1 ± 0.05	20	3 ± 013	–	30	2 ± 0.1	1 ± 0.1	20	2 ± 0.14	–	20
10^{-6}	3 ± 0.11	–	20	7 ± 0.39	1 ± 0.09	60	4 ± 0.6	–	40	5 ± 0.37	–	*40	1 ± 0.07	–	20	2 ± 0.09	–	40	1 ± 0.08	–	20	2 ± 0.06	–	20
10^{-8}	2 ± 0.09	–	20	2 ± 0.1	–		2 ± 0.24	–	*20	3 ± 0.29	–	40	2 ± 0.14	–	20	3 ± 0.08	–	40	3 ± 0.14	–	40	a ± 0.33	–	80
الوسط القياسي	1 ± 0.08	–	40	8 ± 0.6	–	80																		

كل قيمة تمثل متوسط عشرة مكررات (S) معدل عدد الافرع/ نبات (R) معدل عدد الجذور / نبات (C) استحداث الكالس %

(±)يمثل الخطا القياسي لمتوسط المعاملات (*) لون الكالس مائل الى البني (–) لايوجد تحفيز (a) العدد اكثر من 10

الجدول 7: سلوك قطع من سوق بادرات الخس الحاوية على عقدة واحدة والنامية على وسط MS القياسي او المضاف إليه مركب E مع PDA بتراكيز مختلفة في استحداث الكالس ونشوء الأفرع الخضرية والجذور ولفترة 30 , 60 يوما من الزراعة .

الوسط PDA + ترايازول	التـــركيز (مـــولار)																							
	10^{-4}						10^{-5}						10^{-6}						10^{-8}					
PDA مولار / مركب E مولار	30 يوم			60 يوم			30 يوم			60 يوم			30 يوم			60 يوم			30 يوم			60 يوم		
	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C
10^{-6}	4 ± 0.25	—	20	10 ± 0.57	α ± 0.5	40	-	—	—	—	—	-	1 ± 0.05	-	20	2 ± 0.07	-	40	2 ± 0.09	1 ± 0.08	20	3 ± 0.15	2 ± 0.21	20
10^{-8}	5 ± 0.32	4 ± 0.2	20	7 ± 0.45	α ± 0.6	40	2 ± 0.05	—	20	4 ± 0.17	-	50	-	-	20	1 ± 0.09	-	30	4 ± 025	—	40	α ± 0.03	—	60
10^{-10}	4 ± 0.19	—	40	9 ± 0.37	2 ± 0.1	60	4 ± 0.23	—	40	4 ± 0.29	2 ± 0.09	40	5 ± 0.21	2 ± 0.15	40	8 ± 0.23	α ± 0.15	40	2 ± 0.11	2 ± 0.09	20	3 ± 0.2	3 ± 0.13	*40
الوسط القياسي	3 ± 0.23	-	40	8 ± 0.28	-	80																		

كل قيمة تمثل متوسط عشرة مكررات

(C) استحداث الكالس %

- لا يوجد تحفيز

(S) معدل عدد الافرع الخضرية / نبات

(±) يمثل الخطأ القياسي لمتوسط المعاملات

(R) معدل عدد الجذور / نبات

(*) لون الكالس مائل الى البني

الجدول 8: استحداث الكالس ونشوء الفرع الخضرية والجذور من قطع سوق بادرات الخس الحاوية على عقدة واحدة والنامية على وسط MSالقياسي او المضاف إليه مركب Fمع PDA بتراكيز مختلفة ولفترة 30 , 60 يوما من الزراعة

الوسط PDA + ترايازول	التركيز (مولار)																							
	10^{-4}						10^{-5}						10^{-6}						10^{-8}					
PDA مولار / مركب F مولار	30 يوم			60 يوم			30 يوم			60 يوم			30 يوم			60 يوم			30 يوم			60 يوم		
	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C	S	R	C
10^{-4}	4 ± 0.11	—	20	8 ± 0.28	-	20	-	—	40	—	—	40	3 ± 0.22	-	10 ± 0.35	3 ± 0.45	-	20	—	—	—	2 ± 0.05	-	20
10^{-6}	3 ± 0.07	—	20	5 ± 0.32	3 ± 0.1	40	3 ± 0.7	—	—	7 ± 0.53	4 ± 0.2	- -	1 ± 0.07	-	10 ± 0.12	5 ± 0.51	-	10	2 ± 03	—	—	4 ± 0.25	—	-
10^{-10}	2 ± 0.12	—	40	4 ± 0.27	-	60	4 ± 0.22	2 ± 0.03	20	7 ± 0.3	α ± 0.7	20	3 ± 0.23	-	10 ± 0.53	9 ± 0.29	-	10	3 ± 0.21	1 ± 0.09	20	4 ± 0.31	-	20
الوسط القياسي	2 ± 0.09	-	40	2 ± 0.1	-	90																		

كل قيمة تمثل متوسط عشرة مكررات
(C) استحداث الكالس %
– لا يوجد تحفيز

(S) معدل عدد الافرع الخضرية / نبات
(±) يمثل الخطا القياسي لمتوسط المعاملات

(R) معدل عدد الجذور / نبات
(*) لون الكالس مائل الى البني

ويوضح الجدول (7) إن المركب E بتركيز 10^{-6} و 10^{-8} بوجود PDA بتركيز 10^{-4} مولار حفز تكوين الجذور إذ بلغ عددها اكثر من 10(α)وكذلك التركيز 10^{-10} بوجود PDA بتركيز 10^{-6} مولار مقارنة بباقي الأوساط المستخدمة .

في حين إن المركب F لم يحفز تكوين الجذور عموما ماعدا التركيز 10^{-10} بوجود PDA بتركيز 10^{-5} مولار اذ بلغ عددها أكثر من 10 (α) بعد 60 يوما من الزراعة (الجدول 8).

المناقشة

تستخدم الاوكسينات والسايتوكاينينات المضافة عادة وبنسب مختلفة في زراعة الأنسجة إذ لا يوجد ما يشير إلى إن هناك تركيزا محددا لكل منها لاستخدامها بصورة عامة (Vieitez et al., 1989)حيث تمتاز بدورها البارز والمهم في استحداث الكالس ونموه فضلا عن دورها الرئيسي في استحداث الأفرع الخضرية وتكوين الجذور(Centeno et al., 1996) .

حيث تؤثر الاوكسينات في ليونة الجدران الخلوية وتوسعها ناتجة عن خفض الـpH مما يؤدي الى تحفيز الانزيمات لتفكيك الروابط الاكلايكوسيدية ويفسح المجال لوضع مواد البناء الاساسية وزيادة المساحة السطحية للجدار وينتج عنه الاستطالة للخلايا او بزيادة نشاط أو بناء عدد من الأنزيمات المسؤولة أوقد تؤثر في ايض الحوامض النووية ومن ثم بناء عدد من البروتينات (Dietz et al., 1990) من خلال زيادة فعالية الأنزيمات اللازمة لبناء المواد الأساسية (البروتينات والحوامض النووية) (Napier and Venis, 1990) . أما السايتوكاينينات فتعد المسؤولة عن الانقسام الخلوي والية عملها يعود إلى تحفيزها للبناء الحيوي للبروتين وال RNA (Lerbs et al., 1989) وتحفز بناء عدد من الأنزيمات المتعلقة بالمسارات الايضية المرتبطة بنمو الخلايا (Moore, 1979).

إن إضافة مركبات الترايازولات بوجود PDA إلى الوسط الغذائي حفزت بدرجات متباينة استحداث ونمو الكالس من القطع اعتمادا على نوع وتركيز المركبات المضافة وان المركب B بوجود PDA شجع نشوء الكالس من القطع بصورة افضل من المركبات الأخرى ولاسيما بتركيز 10^{-8} مع PDA بتركيز 10^{-5} و 10^{-6}مولار وربما يعزى ذلك الى وجود مستوى معين من منظمات النمو الداخلية والتي تتداخل مع مركبات الترايازولات المضافة (احمد، 2002) .

ينشأ الكالس عادة نتيجة الانقسامات العديدة في خلايا البشرة والتي تنقسم محوريا وتكون خلايا الهدف لتكوين الكالس (Dodds and Roberl, 1985 ; Lo et al., 1997,b) . كما إن مركبات الترايازولات مع PDA حفزت تكوين الأفرع الخضرية او الجذور او كليهما معا بأعداد متباينة اعتمادا على نوع وتركيز الترايازولات مع PDA، وقد يعزى ذلك إلى إن قطع سوق بادرات الخس حاوية على خلايا مرستيمية لها القابلية على الانقسام مكونة الخلايا البنوية والتي بإمكانها التخصص وتكوين بادئات

البرعم الطرفي أو الجذور(Tanimoto and Harada, 1982),إن إضافة مركب E ومركب PDA بتركيز 10^{-8} مولار لكليهما شجع بدرجة كبيرة تكوين المجاميع الخضرية من الكالس مقارنة بالأوساط الأخرى . فضلا عن وجود PDA بتركيز 10^{-4} مع مركب E بتركيز 10^{-8} و 10^{-6} مولار حفز تكوين الجذور بصورة افضل من باقي الأوساط المستخدمة وربما يعزى ذلك الى التداخل بين مستوى المركبات المضافة إلى الوسط (الترايازول + PDA) والمستوى الداخلي للسايتوكاينينات والاوكسينات في خلايا الجزء النباتي حيث إن كمية امتصاص منظمات النمو المضافة والوصول الى مستوى محدد لتكوين الكالس ونموه (Einspahr and Thompson, 1990 ; Street, 1977)

كما وجد عدد من الباحثين إن إضافة مركبات الترايازول تؤدي إلى زيادة مستوى السايتوكاينينات الداخلي او التأثير في المناطق الفعالة للانزيمات وتحفيز قسم منها ذات العلاقة ببناء الاوكسينات او القيام بعمل السايتوكاينينات او ربما يثبط درجة التأكسد للهرمونات النباتية (Izumi et al., 1988)

وبذلك تحفز نشوء الأفرع الخضرية من الكالس (Sunkhla et al., 1994)، فضلا عن إن مركبي Uniconazolو paclobutrazol قد حفزا تكوين الجذور من عقل أنواع مختلفة من النباتات (Parlingis et al., 1996) وان التباين في تحفيز المركبات المضافة لتكوين المجاميع الخضرية بضمنها الأوراق والجذور يعود أساسا إلى الاختلاف في المجاميع الاحلالية في موقع N4 لحلقة الترايازول (Murthy et al., 1998) إذ تعمل حلقة الترايازول من خلال تحوير في الغشاء الخلوي لزيادة امتصاص المواد وتمثيلها داخل الخلايا وتوفير الطاقة اللازمة لحدوث عملية التمايز (Rademacher, 1991) .قدمت عدة أبحاث تشير الى إن استخدام PDA كأوكسين (Mohammad et al., 1997)،محمد وجماعته، 1999) واستخدم كأوكسين مصنع مع بعض الترايازولات كسايتوكاينينات وتأثيره في قطع نبات الخس ونشوء الكالس وتمايزه (احمد، 2002) حيث أشار إلى إن هذا المركب مع عدد من الترايازولات شجع استحداث الكالس والأفرع الخضرية والجذور . ونظرا للتشابه الكبير بين PDA و ABAعدا بعض الاختلافات في المجاميع الاحلالية فقد اقترحت نظرية حول آلية عمله والتي تعتمد على تغيير في الغشاء البلازمي اوتحفيز أو تثبيط بناء ال RNAوالبروتين التي تعتمد على جزيئات المثيل (بولص، 1998) ،فضلا عن آلية عمل PDAالتي تعتمد على ان الجزيئة ثنائية القطب وتعمل كحامل لشحنه معينة ترتبط مع أواصر الجزيئة في منطقة فعالة والفعالية تعتمد على نوع الإحلال في الحلقة الاروماتية وموقعه .

وتشير النتائج الى ان عددا من مركبات الترايازولات بوجود PDA وبتراكيز معينة شجعت تكوين الكالس على نحو افضل من المركبات الأخرى فضلا عن تكوين المجاميع الخضرية والجذور، وربما يعزى ذلك إلى أن مستوى PDA في الوسط الغذائي قد أضيف بتركيز امثل حيث يعمل كأوكسين ويحفز نشوء الجذور بالاعتماد على مستوى السايتوكاينين الداخلي والترايازول المضاف الى الوسط(احمد، 2002) حيث إن زيادة نسبة الاوكسينات الى السايتوكاينينات تؤدي إلى تكوين المجموع الجذري للأجزاء

المزروعة (Kang et al., 1996) . في حين ان السايتوكاينينات تؤثر بشكل أساسي في تحفيز الأفرع الخضرية وعلى حسب تراكيز محددة من الاوكسينات دون تكوين الجذور (Mohammad and Abood, 1989) كما إن السايتوكاينينات تزداد نتيجة لزيادة المستوى الداخلي لها مما يؤدي إلى استحداث الأفرع الخضرية (Dodds and Roberts, 1985) . وتشير النتائج إلى أن المركبB بوجود PDA بتركيز 10^{-5} مولار لكليهما شجع تكوين الأفرع الخضرية والجذور معا بدرجة فاقت جميع المركبات الأخرى المستخدمة بضمنها الوسط القياسي ، وربما يعزى ذلك إلى التوازن الحاصل بين المحتوى الداخلي من الهرمونات مع المضاف من مركب B مع PDA مما حفز الخلايا المرستيمية في القطع النباتية النامية على هذه الأوساط (Grossmann, 1992) وبالمقارنة اشارت دراسات اخرى ان عدد من مركبات الترايازول تكون فعالة وكفوءة في تكوين الجذور العرضية للقطع النباتية (Davis et al.., 1988) .في حين أشارت دراسات أخرى إن إضافة PDA لوحده إلى الوسط حفز بدرجة كبيرة نشوء الكالس من القطع النباتية وان إضافة BA شجع بدرجة كبيرة نشوء الكالس وتكوين الأفرع الخضرية والجذور من القطع النباتية (بولص، 1998) وهذا التكوين ربما يعود الى القدرة الكامنة في البراعم بوجود منظمات النمو في الوسط مما يحفز الفعالية المرستيمية لمنشآت البراعم (Tanimoto and Harada, 1982) .وبناءا على ما تقدم يمكن الاستنتاج بان الدراسة الحالية أضافت إلى منظمات النمو النباتية المعتمدة منظمات نمو جديدة محضرة محليا تناظر القياسية او قد تفوقها لاستخدامها كمركبات تسلك سلوك ألا وكسينات او السايتوكاينينات القياسية من خلال استحداث الكالس ونموه وتمايزه من قطع سوق بادرات نبات الخس .

المصادر العربية

أحمد، أميرة اسماعيل. 2002. استخدام ثمانية مركبات من مشتقات الترايازولات محضرة مختبرياً بدلاً من السايتوكاينينات القياسية في استحداث كالس نبات الخس (*Lactuca sativa L.*) ونموه وتمايزه. اطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

بولص، مناهل فوزي. 1998. حامض بنتادانيويك (PDA) كمنظم نمو جديد محضر مختبرياً في نمو وتمايز كالس نبات الخس (*Lactuca sativa L.*). رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

بولص، مناهل فوزي ومحمد، عبد المطلب سيد. 1999a. تأثير حامض بنتادانيويك (PDA pentadienoic acid) كمنظم نمو جديد على كالس نبات الخس، الجزء الأول، الاستحداث والنمو. مجلة علوم الرافدين، 10 (2)، ص1–12.

بولص، مناهل فوزي ومحمد، عبد المطلب سيد، 1999b. تأثير حامض بنتادايونيك (PDA pentadienoic acid) كمنظم نمو جديد على كالس نبات الخس، الجزء الثاني، التغيرات في الوزن الطري ومحتوى البروتين. مجلة علوم الرافدين، 10 (2)، ص13-25.

البياتي، جميلة هزاع رشيد، 2002. كفاءة مشتقات من مركبات الترايازولات مصنعة مختبرياً كمنظمات نمو جديدة عوضاً عن السايتوكاينينات القياسية في زراعة الخلايا المفردة والمعلقات الخلوية واستحداث الكالس لنبات الخس (*lactuca sativa L.*). اطروحة دكتوراه، كلية التربية، جامعة لموصل، العراق.

الوتار، مي طه حامد، 2000. نجاح أحد مشتقات الترايازولات في نمو وتمايز كالس نبات الخس (*Lactuca sativa L.*) . رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

حسين، عاصم محمود، 1985. مقدمة فسلجة النبات، مطبعة جامعة الموصل

محمد،عبد المطلب سيد، الصالح، هناء سعيد و أيوب، مقداد توفيق، 1999. انتاج منظم نمو جديد (PDA) وتأثيره على كالس زهرة الشمس. براءة اختراع، رقم البراءة 2789، الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية.

محمد، عبد المطلب سيد، الصالح، هناء سعيد وايوب، مقداد توفيق، 1998. تحضير نوع جديد من الأوكسينات المصنعة مختبرياً ودوره في الزراعة النسيجية لنبات الخس. علوم الرافدين،9 (2): ص 14-24.

المصادر الاجنبية

Arnon, D.I. and Hoagland, D.R., 1940. Crop induction artificial culture solutions and soil with special reference to factors influencing yields absorption of organic nutrients. Soil. Sci. 50: 463 p.

Ayoub, M.T., Shandala, M.Y. and Kareem, A.A., 1987. Synthesis of 5- Substituted of 3-methoxy 2,4-PDA. J. F., Prakf. Chem. Band 329: Hept. Pp.145-149.

Barrobero, C.I., Villalobos, N. and Guerra, H., 1995. Changes in protien and carbohydrate during the induction of callus from cotyledons of (Cicer arieetimum L.). the role of 2.4-D. Acta. Physiol. Plant. 17: pp.301-308.

Centeno, M.L. Rodriguez, A., Feito, I. and Fernandez, B., 1996. Relationship between endogenous auxin and cytokinine levels and morphogenic responses in (Actinidia deliclosa) tissue cultures. Plant Cell Rep. 16: pp.58-62.

Davis, T.D., Steffens, G.L. and Sankhla, N., 1988. Triazole plant growth regulators. Hort. Rev. 10: pp.63-105.

Dodds, J.H. and Roberts, L.W., 1985. Experiments in Plant Tissue Cultures. Cambridge University press.

Einspahr, K.J. and Thompson, G.A., 1990. Transmembrane signaling via phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate hydrolysis in plants. Plant. Physiol. 93: pp.361-366.

Fletcher, R.A. and Hofstra, G., 1988. Triazoles as potential plant protectants pp.321-331. In Berg. D. and plempel, M. (eds), Sterol synthesis inhibitors in plant protection. Ellis Howood Ltd. Cambridge. UK.

Fletcher, R.A., Gilley, A., Sankhla, N. and Davis, T.D., 2000. Triazole as plant growth regulators and stress protectants. Hort. Rev. 24: pp.55-136.

Grossmann, K., 1992. Plant growth retardants. Their mode of action and benefit for physiological research pp. 788-797. In: Karssen, C. M. Vanloon, L. C. and Vreugdenhil, D. (eds) progress in plant growth regulation, Kluwer Academic publ. Netherlands.

Izumi, K., Nakagawa, S., Kobayashi, M., Oshio, H., Sakural, A. and Takahashi, N., 1988. Levels of IAA, Cytokinin, ABA and Ethylene in rice plants as effected by a gibberellin biosynthesis inhibitor, uniconazole-p. Plant Cell Physiol., 29: pp.97-104.

Kang, M.K., Soh, W.Y. and Cho, D.Y., 1996. Effect of auxins on adventitious root formation on cotyledon derived microcalli in lettuce (lactuca sativa L.). Korean J. of Plant Tiss. Cult. 23: pp.135-139.

Lerbs, S., Lerbs, W., Klyachko, N.L., Romanko, E.G., Kulaeva, O.N., Vollgiehn, R. and Parthier, B., 1989. Gene expression in cytokinin and light mediated plastogenesis of cucurbita cotyledones ribulase 1,5-bisphosphate carboxylase. Oxygenase. Planta. 162: pp.289-298.

Lo, K.H., Gilles, K.L. and Sawhney, V.K. 1997b. Histological changes associated with acquisition of competence for shoot regeneration in leaf discs of (Saintpaula ionanthax) confusa hybrid (African violet) cultured in vitro Plant. Cell Reports. 16: pp.421-425.

Macchia, F., Scaramuzzi, F. and Porcelli, S., 2003. Organogenesis and propagation in vitro of F_1 hybrid of (*Solanum melongena L.*) from vegetative segments. Acta Hort. 131: In Vitro culture XXI IHC.

Mohammad, A.M.S. and Abood, S.A., 1989. Propagation of lettuce (Lactuca sativa L. c. v. Longiflora) by tissue culture. E. ESCWA, ID. 89Conf. 1110.

Moore, T.C., 1979. Physiology and Biochemistry of Plant Hormones. Acad. Press, New York.

Murashige, T. and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. Physiol. Plant. 15: pp.473-479.

Murthy, B.N.S., Murch, S.J. and Saxena, R.K. 1998. Thidiazuron. A potent regulator of in vitro plant morphogenesis. In vitro Cellular and Development. Biology Plant. 34: pp.267-275.

Napier, R.M. and Venis M.A., 1990. Receptors for plant growth regulators. Recent advances. J. Plant. Growth Regul. 9: pp.113-126.

Noori, M.S., 1999. Synthetic studies of some new poly functional substituted five and membered heterocyclic compounds.Ph.D. Thesis.University of Mosul, Mosul – Iraq.

Porlingis, I.G. and Koukourikou-petridou, M., 1996. Promotion of adventitious root formation in mung bean cuttings by four triazole growth retardants. Hort. Sci. 71: pp.573-579.

Rademacher, W., 1991. Biochemical effects of plant growth retardants. pp.169-200. In Gausman, W. (ed). Plant Biochemical Regulators. Marcel Dekker,New York.

Sankhla, D., Davis, T.D., Sankhla, N. and Upadhyaya, A., 1994. In vitro production of flowering shoots in German red carnation: Effect of uniconazole and gibberellic acid. Plant Cell Rep. 13: pp.514-518.

Street, H.E., 1977. Plant Tissue and Cell Culture. Black Well Scientific Publication. Oxford. London. Edinburgh. Melbourne.

Tanimoto, S. and Harada, H., 1982. Studies on the initial process of adventitious bud differntiation in toronia stem segments cultures in vitro. Effect of cytokinine. Biochem. Physiol. Pflanzen, 177: pp.22-28.

Vieitez, A.M., Barciela, J. and Ballester, A., 1989. Propagation of (Camelia japanica c. v. Albaplena) by tissue culture. J. Hort. Sci. 64: pp.177-182.