تأثير بعض الفيتامينات في تطوير الكالس الجنيني وتكون الأجنة الخضرية وانباتها خارج الجسم الحي لنخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. صنف البرحي

* خيون علي محسن ** عباس مهدي جاسم * زينب محسن كاظم

* مركز ابحاث النخيل/ جامعة البصرة /العراق . ** قسم البستنة والنخيل / كلية الزراعة / جامعة البصرة / العراق .

الخلاصة

تم دراسة تأثير خمسة فيتامينات وهي (الثيامين و البيرودوكسين والنيكوتين والكالسيوم بانتثونيت والبيوتين) في تطور الكالس الجنيني وتكون الأجنة الجسمية و إنباتها لنخيل التمر تم استخدام الوسط الغذائي لاملاح موراشيك وسكوك (MS) المزود بـــ (٥) ملغم من الاوكسين نفثالين حامض الخليك NAA Naphthalene aceticaad و(٢) ملغم /لتر من السايتوكاينين ايزوبنتايل ادنين (٢ ip) ٢-isopenfenyleadinine حصل افضل تطور للكالس الجنيني بدلالة الوزن الطري بعد مرور شهر من الزراعة في معاملة البيوتين وبفارق معنوي عن المعاملات الأخرى إذ بلغ (٠,٩٤٨) غم في حين بلغ اقل وزن (٠,٥٤٥)غم وذلك في معاملة المقارنة إما بعد مرور شهرين من الزراعة تفوقت معاملة البيرودوكسين معنويا على المعاملات الأخرى ليصل الوزن الطري فيها (٣,٩٢٧) غم في حين بلغ اقل وزن طري (٢,٢٠٣) غم وذلك من معاملة المقارنة إما في فترة اللازمة لظهور الاجنة الأسطوانية فقد تفوقت معاملتي البيرودوكسين والبيوتين معنويا على المعاملات الأخرى مع عدم وجود فرق معنوي بينهما والبالغة فيها (٢٨,٣١) يوميا على التوالي في حين لم تتكون اجنة أسطوانية في معاملة الكالسيوم بانتثونيت

اما في عدد الأجنة الأسطوانية تفوقت معاملة البيرودوكسين (٦٥) جنينا وبفارق معنوي عن المعاملات الاخرى في حين بلغ اقل عدد للاجنة الأسطوانية (صفر) جنينا وذلك في معاملة الكالسيوم بانتثونيت اما في طول الاجنة الاسطوانية نلاحظ تفوق معاملتي البيوتين والبيرودوكسين وبفارق معنوي على المعاملات الاخرى ليصل طول الاجنة فيهما (١,٨٢) سم و (١,٧) سم على التوالي .اما اقل طول للاجنة بلغ (٠) سم وذلك في معاملة الكالسيوم بانتثونيت . اما في انبات الاجنة

الاسطوانية فقد تفوقت معاملة البيرودوكسين وبفارق معنوي عن المعاملات الاخرى في النسبة المئوية لانبات الاجنة والتي بلغت (٦٥ %) في حين بلغت نسبة الإنبات (٠ %) في معاملة الكالسيوم بانتثونيت .

المقدمة

تعد تقنية زراعة الأنسجة من التقنيات الحديثة لإكثار نخيل التمر إذ يتم زراعة الأجزاء النباتية متمثلة بالقمة النامية Shoottip على أوساط زراعية صناعية وتحت ظروف معقمة بهدف تحفيز الكالس الذي يتطور لاحقا إلى اجنة جسمية Somaticembryos ومن ثم إلى نبيتات Planlets(المعري والغامدي /١٩٩٨) وتعتبر الفيتامينات احد مكونات الاوساط الغذائية اذ تعد من المركبات النيتروجينة والتي تضاف بكميات قليلة جدا بهدف تحفيز النمو حيث تدخل كعوامل مساعدة في التفاعلات الانزيمية (Bhojwani & Razdan,١٩٨٣) ويعتبر فيتامين الثايمين من المكونات الاساسية للاوساط الغذائية ويضاف بتركيز (٠,١– ٠,٥) ملغم /لتر (Pierik,١٩٨٧) ، وأوضح حسن (١٩٨٧) ان الفيتامينات المضافة الى الوسط الغذائي وهي (ميزوانيسيتول) . بيرودوكسين . الثايمين . الريبوفلافين .باتنثونين)لم تؤثر بشكل رئيسي على النمو الخضري ووزن الكالس بينما كانت استجابة الأصناف المدروسة (البرحي ، الحلاوي)مختلفة تبعا لنوع الفيتامين المستبعد من الوسطالغذائي وحصل
(Al-Khayri,٢٠٠١) على اعلى وزن للكالس الجنيني واكبر عدد من الاجنة المتكونة وذلك باضافة فيتامين البيوتين بتركيز (٢) ملغم /لتر مع (٠,٥) ملغم/لتر من الثايمين الى الوسط الغذائي اما احسن طول ظهر عند اضافة (١) ملغم /لتر بايوتين و(١) ملغم/لتر ثايمين ونظرا لقلة الدراسات في هذا المجال اجريت هذه الراسة لمعرفة تاثير عدة فيتامينات كل على حدة وبوجود فيتامين الثايمين في الوسط الغذائي المزود بـــ (٥) ملغم/لتر (NAA) و (٢) ملغم/لتر (٢ip) في نمو الكالس الجنيني وتكون الاجنة الخضرية وانباتها .

المواد وطرائق العمل

نفذت هذه الدراسة في مختبر الزراعة النسيجية التابع الى مركز ابحاث النخيل جامعة البصرة للفترة من شهر أيلول ٢٠٠٤ وحتى نهاية نيسان ٢٠٠٥ استخدم لتنفيذ هذه الدراسة الكالس الجنيني المنتج من أرباع البراعم القمية لنخيل التمر صنف البرحي (صورة /١) بعمر ستة اشهر والنامي على الوسط الغذائي المتكون من أملاح موراشيك وسكوك المزود بـــ (٣٠) ملغم /لتر NAA ٣ملغم /لتر(٢ip) تم دراسة الفيتامينات التالية وبصورة مستقلة وبتركيز (١) ملغم لكل منهما مع

ثبات فيتامين الثايمين وبتركيز(٠,٥) ملغم /لتر لكل المعاملات المدروسة (المقارنة ,البيرودوكسين Pyrodoxine, النيكوتين Nicotine, الكالسيوم بانتثونيت Calicum Pantthonat والبيوتين Biotine) في تطور الكالس الجنيني وتكون الاجنة الاسطوانية منه زود الوسط الغذائي بـــ (٣٠) غم /لتر سكروز و(١٧٠) ملغم /لتر ارثرو فوسفات الصوديوم الحامضية و(٣٠) ملغم /لتر ادنين و (١٠٠) ملغم /لتر ميزوانيسيتول و(٧)غم /لتر اكر و(٢)غم /لتر مسحوق الفحم و(٥) ملغم /لتر ANN و٢ ملغم/لت (٢ip) ضبط PHالوسط على(٥،٧) تم زراعة (٠,٥) غم كالس جنيني في الانبوبة الواحدة حضنت الزروعات في غرفة النمو على درجة حرارة ٢٧ +١ م وشدة اضاءة ١٠٠٠ لوكس ولمدة ١٦ ساعة استخدام ١٠ مكررات لكل معاملة نفذت بطريقة التصميم العشوائي الكامل (CRD) واختبرت المعنوية بين المتوسطات حسب اختبار اقل فرق معنوي معدل (RLSD) وبمستوى احتمال (٥%) (الراوي وخلف الله ١٩٨٠). تمت اعادة الزراعة مر ة كل شهر .

تم اخذ الفيتامينات التالية

١- الوزن الطري للكالس الجنيني بعد ٣٠ و ٦٠ يوم ووزن الكالس الجنيني = وزن الانبوبة بعد الزراعة - وزن الانبوبة قبل الزراعة

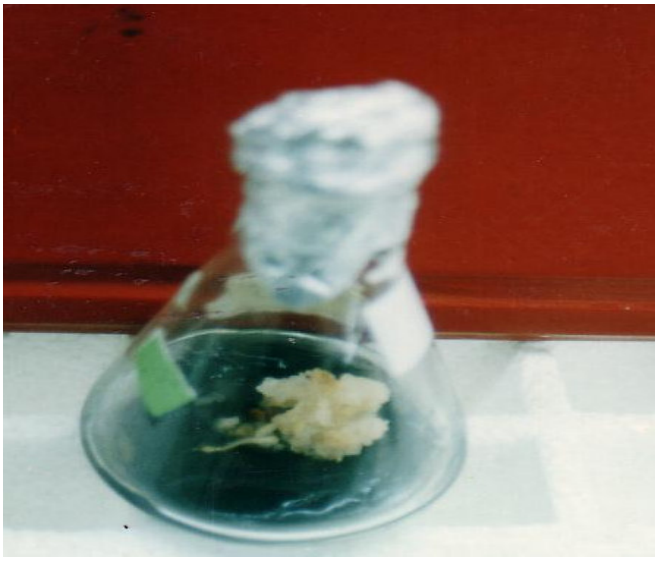
٢- حساب المدة اللازمة لظهور الاجنة الاسطوانية (يوم)

٣- حساب عدد الاجنة الاسطوانية

٤- طول الاجنة الاسطوانية (سم)

٥- احتساب النسبة المئوية لانبات الاجنة الاسطوانية

$$\text{النسبة المئوية لانبات الاجنة} = \frac{\text{عدد الاجنة الثابتة} \times ١٠٠}{\text{عدد الاجنة المزروعة}}$$



صورة(١) الكالس الجنيني

النتائج والمناقشة

١- الوزن الطري

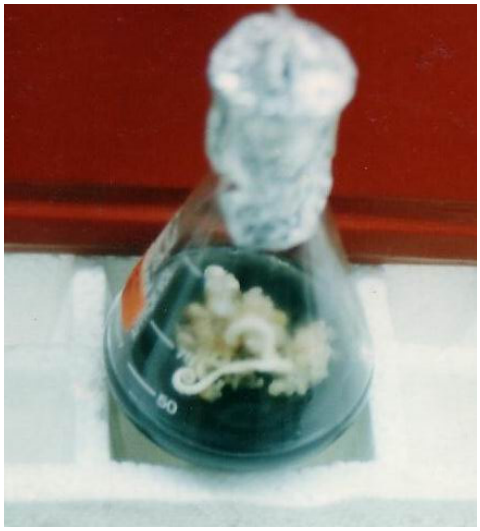
يتضح من الجدول (١) ان الكالس الجنيني تاثر وبشكل متفاوت في معدل النمو المتمثل بدلالة الوزن الطري نتيجة لاستخدام الفيتامينات في الوسط الغذائي وبعد مرور شهر من الزراعة تفوقت معاملة البيوتين وبفارق معنوي عن المعاملات الاخرى اذ بلغ الوزن الطري فيها (٠,٩٤٨) غم وتلتها معاملة البيرودوكسي (٠,٧٨٧) غم في حين اعطت معاملة المقارنة اقل وزن طري(٠,٥٤٥) اما بعد مرور شهرين من الزراعة تفوقت معاملة البيرودوكسين وبفارق معنوي عن المعاملات الاخرى اذ بلغ معدل الوزن الطري فيها(٣,٩٢٧) غم في حين بلغ اقل وزن طري (١,٤٦٢) غم وذلك في معاملة الكالسيوم بانتثونيت ومن هنا نستنتج ان اضافة (١) ملغم /لتر من فيتامين البيرودوكسين والبايوتين كل على حدة أعطى افضل نمو بدلالة الوزن الطري وهذا يدلك عن حاجة النسيج النباتي في هذه المرحلة الى هذين الفيتامينين الضروريين لنمو وتحور الكالس الجنيني الى اجنة خضرية ويعمل فيتامينا البيرودوكسين والبيوتين كعوامل مساعدة انزيمية في بناء الكربوهيدرات في حين يعد فيتامين الثايمين من العوامل المساعة الانزيمية في هدم الكربوهيدرات) (Bhojwani & Razdan , ١٩٨٣) وجاءت هذه النتائج متفقة مع اخرون (حسن ١٩٨٧وِ Al-Khayri,٢٠٠١)

جدول(١) تاثير القيتامينات في الوزن الطري للكالس الجنيني (غم).

المعاملات	شهر	شهرين
المقارنة	٠,٥٤٥	٢,٢٠٣
البيرودوكسين	٠,٧٨٧	٣,٩٢٧
النيكوتين	٠,٧٠٣	١,٧٩٢
كالسيوم بانتثونيت	٠,٧٦٣	***١,٤٦٢***
البيوتين	٠,٩٤٨	٢,٥٨٢
RLSD	٠,٠٠٦	٠,٠٠٨

٢- المدة اللازمة لظهور الاجنة الأسطوانية

يتضح من جدول (٢) عن تفوق معاملة البيرودوكسين في تقليل المدة اللازمة لظهور الاجنة الاسطوانية وبفارق معنوي عن المعاملات الاخرى اذ بلغت مدة ظهور الاجنة فيها (٢٨) يوما والتي لم تختلف معنويا عن معاملة البيوتين (٣١) يوما اما اطول مدة لظهور الاجنة كانت في معاملة النيكوتين (٣٥) يوما والتي لم تختلف معنويا عن معاملة المقارنة (٣٣)يوما اما في معاملة الكالسيوم بانتثونيت لم تتحور الاجنة الكروية الى الطور الاسطواني وبقيت متلاصقة وظهرت منها سيقان خضراء كثيرة العدد وقد لاحظ (دريره واخرون ١٩٩٣) ظهور سيقان متعددة في الكالس الجنيني الابيض اللون في الوسط الغذائي المزود بـــ NAA و BAP والتي تم تجذيرها لاحقا باستخدام IBA ان سبب تفوق معاملي البيرودوكسين والبيوتين في تقليل المدة اللازمة لظهورالاجنة الاسطوانية ربما يعود الى هذين الفيتامينين سرع من نمو الكالس الجنيني مما نتج عنه نفاذ الاوكسين من الوسط الزرعي وبعد نفاذ الاوكسين حدث تطور للاجنة الكروية وذلك بتوقفها عن الانقسام اذ يبدأ قطبها المرستيمي بالانقسام والنمو يصحبه تمزق الغلاف الصلب للجنين الكروي وبذلك تحدث استطالة الفلقة وظهور الشكل الاسطواني للجنين (صورة /٢) (Ebert & Talor ,١٩٩٠) وجاءت هذهالنتائج متفقة مع (Al- khayri,٢٠٠١)



صورة(٢) الجنين الأسطواني

جدول(٢) تأثير الفيتامينات في المدة اللازمة لظهور الأجنة الأسطوانية (يوم)

المعاملات	يوم
المقارنة	٣٥
البيرودوكسين	٢٨
النيكوتين	٣٥

كالسيوم بانتثونيت	٠
البيوتين	٣١
RLSD	٣

٣-عدد الاجنه الاسطوانية :-

يتضح من جدول (٣) عن وجود اختلافات معنوية بين الفيتامينات المضافة الى الوسط الغذائي في عدد الاجنة الاسطوانية المتكونة من (٠,٥) غم كالس جنيني وتفوقت معاملة البيرودوكسين معنويا عن باقي المعاملات الاخرى وبما فيها معاملة المقارنة اذ بلغ عدد الاجنة المتكونة فيها (٦٥) جنينا وتلتها معاملة البيوتين (٤٧) جنينا اما اقل عدد من الاجنه ظهر في معاملة الكالسيوم بانتثونيت (٠) جنينا وجاءت هذة النتائج متفقة مع (Al-Khayri,٢٠٠١)

جدول(٣) تأثير الفيتامينات في عدد الأجنة الأسطوانية

المعاملات	**عدد الأجنة الاسطوانية**
المقارنة	٢٢
البيرودوكسين	٦٥
النيكوتين	١٣
كالسيوم بانتثونيت	٠
البيوتين	٤٧
RLSD	١٠

٤-طول الاجنه الأسطوانية :-

يتضح من جدول (٤) ان استخدام فيتامين البيوتين والبيرودوكسين بنفس التراكيز كل على حدة في وسط زراعة الكالس الجنيني ادتا الى زيادة معنوية في طول الجنين الاسطواني ليصل الى (١,٨٢ و١,٧) سم على التوالي اما طبيعة النمو وحالة الفصل لها كانت جيدة جدا في تلك المعاملتين اما اقل طول للجنين الاسطواني بلغ (١,٠٦) سم وذلك في معاملة المقارنة والتي لم تختلف معنويا

عن معاملة النيكوتين ، اما طبيعة النمو وحالة الفصل كانت متوسطة فيهما في حين لم تتكون اجنة اسطوانية في معاملة الكالسيوم بانتثونيت .

جدول(٤) تاثير الفيتامينات في طول الاجنة الاسطوانية (سم)

المعاملات	طول الاجنة الاسطوانية
المقارنة	١,٠٦
البيرودوكسين	١,٧
النيكوتين	١,١٨
كالسيوم بانتثونيت	٠
البيوتين	١,٨٢
RLSD	٠,٣٢

٥- انبات الاجنة الا سطوانية :-

يتضح من الجدول (٥) عن تفوق معاملة البيرودوكسين وبفارق معنوي عن المعاملات الاخرى في النسبة المئوية لانبات الاجنة الاسطوانية والبالغة (٦٧,٦ %) وتلتها في التأثير معاملة البايوتين في التاثير (٥٥ %) .

جدول(٥) تاثير الفيتامينات في انبات الاجنة الاسطوانية

المعاملات	النسبة المئوية للانبات
المقارنة	٢٥

البيرودوكسين	٦٧,٥
النيكوتين	٣٠
كالسيوم بانتثونيت	٠
البيوتين	٥٥
RLSD	٨

ومن هنا نستنتج ا ن وجود مصدر للنيتروجين العضوي في الوسط الغذائي ساعد خلايا الكالس الجنيني والاجنة الاسطوانية على الانقسام والنمو وخاصة في المعامليسن البيرودوكسين والبيوتين اذ يعد نيتروجين الفيتامينات اكثر جاهزية للامتصاص من النيتروجين الغير عضوي كما تعد الفيتامينات من مصادر الطاقة وذلك من خلال مساهمتها في انتاج مركز الطاقة (ATP) والذي يستفاد منه اثناء النمو (Bhojwani & Razdan , ١٩٨٣) اما سبب تثبيط النمو وعدم حصول اجنة وانبات في معاملة الكالسيوم بانتثونيت ربما يعود ال ى زيادة تركيزه في هذه المرحلة عن الحد المطلوب او عدم حاجة النسيج النباتي اليه مما ادى الى تثبيط النمو وجاءت هذه النتائج متفقة مع ما توصل اليه (Al-Khayri , ٢٠٠١) .

المصادر

المعري ، خليل والغامدي ، عبدالله صالح (١٩٩٨) . اثر زراعة الاجزاء النباتية على اكثار النخيل صنف هلالي بالانسجة النباتية ، اصدارات الندوة العلمية لبحوث المملكة المغربية – مراكش ، ١٦– ١٨ .

دريرة ، نور الدين ، الشعري ، انيسة المصمودي ، رجاء (١٩٩٣) تحليل قدرات المبادئ الزهرية الانثوية لنخيل التمر بواسطة رزاعة الانسجة ، اصدارات ندوة النخيل الثالثة جامعة الملك فيصل الجزء الاول ١٧ – ٢٠ المملكة العربية السعودية .

الراوي ، خاشع محمود ، خلف الله ، محمود محمد عبدالعزيز (١٩٨٠) تصميم وتحليل التجارب الزراعية ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر جامعة الموصل .

حسن ، عبدالرزاق عثمان (١٩٨٧) تأثير الاملاح اللاعضوية والفيتامينات على نشوء ونمو كالس نخلة التمر خارج الجسم الحي رسالة ماجستير قسم البستنة والنخيل كلية الزراعة جامعة البصرة.

Al-Khayei, J.M. (2001) . Optimiazation of biotin thiamine reguirements to somatic emberyogenesis of palm (phoenix dactifera L) cv. Mosaifah & Nabtat sultan , plant tissue culture 10 (1) : 1 – 8 , 2000 (jun) .

Bhojwani, S.S. & Razdan , M.K. (1983) . plant tissue culture theary and practice. Elsevier pub. The Netherlands pp:SO2 .

Murashig, T & Skoog , F. (1962). Arevised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue calture physiol. Plant . 1st : 473 – 497 .

Pirek, R.L. (1987) . In . invitro culture of higher plants Dordech : Martinus Nihhoff publishers ; 1987 : 76 .

Ebert , A & Talor , H. (1990) Assessment of the changes of 2.4 dichloro phenoxy acetic acid the presence of activated charcoal plant cell tiss. Org. culture , 20 : 165 – 172 .

مجلة البصرة للعلوم الزراعية ، المجلد ١٩ ، العدد١ ، ٢٠٠٦

EFFECT OF SOME VITAMINS ON EMBRYOGENIC CALLUS DEVELOPMENT AND FORMATION AND GERMINATION OF SOMATIC EMBRYOS OF DATE PALMS (*PHOENIX DACTYLIFERA* L) CV. BARHI CULTURED IN VITRO .

K. A. Muhsin
Date palm research center Univ. of Basrah , Iraq

A. M. Jasim
College of Agriculture , Univ. of Basrah , Iraq

Z. M. Khadhem
Date palm research center Univ. of Basrah , Iraq

SUMMARY

The effect of five vitamins (thaimine , pyxidoxine , nicotine , calcium pentathunate and biotin) on development of embryogenic callus and somatic

embryos formation and germination in date palm cv. Bahi were studied in vitro. Ms medium supplemented with NAA (5 mg/L) and 2 ip (3 mg/L) were used as aculture medium. Best embrogenic callus develoment as a function of fresh weight after une month of culture under biotin treatment, were the fresh weight was (0.948 gm) while control treatment fresh weight was (0.545 gm) .

After two months of culture , pyrodoxine treatment increase fresh wight to (3.927 gm) wheres fresh wight under control treatment was (2.203 gm) .

Pyridoxin and biotin treatment decreased signifacantly the number of days required for of cylinderic somatic embryos appearance which were (28) and (31) daes respectively. No cylindercal somatic embryos were formed under calcium pentothonat treatment. Piridoxine treatment increased number of somatic embryos to (65) embryos where , no embryos under calcium pentothonat treatment lenth of somatic embryos where hiher under biotin and pyridoxin which were (1.82) and (1.7) cm respectively. Germination of somatic embryos was (65 %) under pyridoxine treatment while under calcium pentothonate the germination was (0 %) .