

تأثير إضافة فيتامين E للوسط الغذائي في بعض صفات كالس وأجنة نخيل التمر صنف البرحي المكثّر خارج الجسم الحي

أسامة نظيم جعفر المير / أوراس طارق ياسين
مركز أبحاث النخيل، جامعة البصرة

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في مختبر زراعة الأنسجة التابع لمركز أبحاث النخيل عام ٢٠٠٧ بهدف معرفة تأثير إضافة تراكيز مختلفة من فيتامين E للوسط الغذائي ومعرفة تأثيره في النسبة المئوية للاسمرار والنمو للكالس الأولي وتكوين الأجنة، تم زراعة ملغم من الكالس الأولي على أوساط غذائية حاوية على أملا MS ومنظم النمو نفتالين حامض الخليك بتركيز و تراكيز مختلفة من فيتامين E (/ لتر والساييتوكاينين 2ip بتركيز / أسابيع وأوضحت

نتائج البحث ما يلي:

- فيتامين E للوسط الغذائي خفض النسبة المئوية النباتية المزروعة وفارق معنوي عن المعاملة الخالية من الفيتامين، بلغت نسبة الاسمرار % عند التركيز /لتر بالمقارنة مع معاملة المقارنة والتي بلغت فيها نسبة الاسمرار %.
- فيتامين E زيادة النسبة المئوية لاستجابة النمو عند التركيز /لتر، في حين انخفضت النسبة % .
- لس الجنيني عند التركيز / ملغم، في حين انخفض ملغم في معاملة المقارنة، كما ساعد إضافة الفيتامين على تكون الأجنة الخضرية في اقل مدة زمنية ممكنة إذ بلغت يوم عند التركيز /
- بينت النتائج إن إضافة فيتامين E بتركيز / جنين مقارنة بمعاملة المقارنة والتي بلغ فيها معدل عدد الأجنة الخضرية جنين.

المقدمة

يعد نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. احد اشجار دوات الفلقة الواحدة monocotyledoneae التي تنتمي إلى العائلة النخيلية Arecaceae وتعتبر نخلة التمر Date Palm من اقدم الاشجار التي عرفها الإنسان إذ يعود تاريخها إلى اكثر من () الميلاد حيث اهتم بها البابليون والاشورييون وكانت مقدسة عند السومريين (البكر ، (Letouze, et al. 1998

ان تقانة الزراعة النسيجية Tissue Culture تعد من التقانات الحديثة لإكثار نخيل التمر والتي يمكن من خلالها الحصول على اعداد كبيرة (من اشجار النخيل) خلال فترة زمنية قصيرة كما تعطي نباتات خالية من الامراض والفيروسات وتمتاز هذه الاشجار بقوة وسهولة تداولها ونقلها وقدرتها على إنتاج فسانل كثيرة مطابقة للام ورائيا , (AL- Wasel , Al-Ghamdi,1993 ; 2001).

"الفيتامينات" هي عبارة عن مركبات عضوية تؤثر بتراكيز واطئة في العديد من العمليات الحيوية على الرغم من قدرة الخلايا النباتية النامية خارج الجسم الحي على بناء الفيتامينات الضرورية إلا ان الاوساط الغذائية كثيرا ماتجهز بالفيتامينات لتحسين النمو فيها (Al-Khayri, 2001).

تنشط الفيتامينات نمو الاجزاء النباتية المزروعة لذلك تضاف بعض الفيتامينات التي تدخل بشكل مباشر في عمليات النمو المختلفة، وقد اشار بعض الباحثين إلى اهمية إضافة الفيتامينات على شكل مجموعات او منفردة لما لها من تاثير وقائي او منشط ا النباتية (محمد ويونس،).

إن متطلبات الاجزاء النباتية من الفيتامينات غير واضحة لذلك تضاف إلى الوسط الغذائي كاسلوب وقائي تاثر الاجزاء النباتية المزروعة وكعامل مساعد إضافي نموها (margara,1984).

وعليه فان هذه الدراسة تهدف إلى :

1 دراسة تاثير إضافة فيتامين E إلى الوسط الغذائي في التلوث وظهور التلون البني للكالس الجنيني والاجنة الخضرية.

2 دراسة تاثير إضافة مين E إلى الوسط الغذائي في نمو وتطور الكالس والاجنة

الخضرية

المواد وطرائق العمل

- استئصال الاجزاء النباتية.

استخدمت في هذه التجربة فساتل نخيل التمر صنف البرحي حيث تم قلع عدد من الفساتل Offshoots تراوحت اعمارها بين (-) سنوات من بساتين منطقة ابي الخصيب في محافظة البصرة، شرحت الفساتل بواسطة سكين وازيلت اوراقها واليافاها تصاعديا حتى الوصول إلى البرعم القمي Shoot Tip (قلب الفسيلة) والذي يبدو بهيئة جسم هرمي واستاصل بارتفاع (ملم) وقطر قاعدة (ملم) مع طبقة لحمية (ملم) تقريبا تساعد على تماسك الاوراق (Tisserat, 1991) وبعد استئصال البرعم القمي تم وضعها في محلول مضاد للاكسدة (Antioxidant Solution) والذي يتكون من () ملغم /لتر من حامض الاسكوربيك (Ascorbic Acid) و () ملغم/لتر من حامض الستريك (Citric Acid). حفظت الاجزاء النباتية في التلاجة على درجة م ° لحين اجراء عملية التعقيم السطحي لمدة .

- التعقيم السطحي للاجزاء النباتية *Surface Sterilization* .

اجريت عملية التعقيم السطحي للاجزاء النباتية بعد إخراجها من المحلول المضاد للاكسدة وجزئت البراعم القمية إلى اربعة اقسام متساوية قدر الإمكان بواسطة مشارط وملاقط معقمة (Mater,1986) وضعت ارباع البراعم القمية في وعاء زجاجي يحتوي على القاصر التجاري (الكلوركس) (% حجم/حجم محتوى على هيبوكلورايت الصوديوم Sodium) Hypochlorite مضافا إليه قطرة واحدة من المادة الناشرة (Tween 20) (سم) من المحلول مع الرج والتحرك بين الحين والآخر ولمدة () دقيقة وبعدها استخرجت الاجزاء النباتية من محلول التعقيم وغسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات تمت هذه العملية على منضدة انسياب الهواء الطبقي (Laminar air flow cabinet) المعقمة مسبقا بالايثانول % والفورمالديهايد المخفف بالماء المقطر المعقم .

- تحضير الوسط الغذائي *Preparation of nutrient medium* .

. يتكون الوسط الغذائي من مجموعة من الاملاح اللاعضوية (Murashige and Skoog, 1962) وتعرف باملاح MS وتحضر هذه الاملاح بالمختبر على شكل محلول اساس (Stock solution) المتكونة من خمس مجاميع وكما موضحة في جدول ()

جدول () تركيز الاملاح اللاعضوية توسط الـ MS

المجموعه	اسم المادة	التركيب الكيميائي	الكميه (غم/لتر)
النترات Nitrates	نترات الامونيوم Ammonium nitrates	NH_3NO_3	.
	نترات البوتاسيوم Potassium nitrates	KNO_3	.
الكبريتات Sulphates	كبريتات المغنسيوم Magnesium sulphate	$MgSO_4.7H_2O$.
	كبريتات المنغنيز Manganese sulphates	$MnSO_4.H_2O$.
	كبريتات الخارصين Zinc sulphates	$ZnSO_4.7H_2O$.
	كبريتات النحاس Cupric sulphates	$CuSO_4.5H_2O$.
الـ P.B.Mo	فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين Potassium di Hydrogen Boric Acid	KH_2PO_4	.
	حامض البوريك Sodium موليبيدات الصوديوم Molybdate	H_3BO_3	.
		$NaMoO_4.2H_2O$.
Halies الهاليدات	كلوريد الكالسيوم Calcium Chloride	$CaCl_2.2H_2O$.
	ايوديد البوتاسيوم Potassium Iodide	KI	.
	كلوريد الكوبلت Cobalt Chloride	$COCl_2.6H_2O$.
الحديد المخليبي	كبريتات الحديدوز المائية Ferrous Sulphate	$FeSO_4.7H_2O$.
	المادة المخليبية بشكل ملح ثنائي الصوديوم Ethylene diamine tetra Acetic Acid	Na_2EDTA	.

المصدر Murashige and Skoog,1962

جدول () تراكيز المواد المضافة إلى الوسط الغذائي الخاص بنشوء الكالس

اسم المادة	الكمية (غم/لتر)
Sucrose	كروز
Sodium hydrogen Ortho phosphate	اورثو فوسفات الصوديوم الحامضية
Mesoinositol	ميزوانسول
Adenine Sulphate	كبريتات الادنين
Neutralized activated charcoal	فحم منشط متعادل
NAA	منظم النمو الاوكسين
2IP	منظم النمو الساييتوكاينين

- زراعة الكالس الاولي.

تم دراسة تأثير فيتامين E بالتراكيز (صفر) (ملغم/لتر في النسبة المئوية للاسمرار والاستجابة للنمو اذ تم زراعة الكالس الاولي بواقع (ملغم/انبوب في الوسط الغذائي الصلب المتكون من املاح MS والمواد المذكورة في جدول () . تمت الزراعة على منضدة انسياب الهواء الطبقي التي تم تعقيمها قبل موعد الزراعة . وبعد الانتهاء من عملية الزراعة حضنت الزروعات في غرفة النمو Growth Chamber تحت شدة إضاءة لوكس وعلى درجة حرارة \pm م⁰ اجريت عمليات إعادة الزراعة Reculture مرة كل اربعة اسابيع ولحين تكون الكالس (Jasim, 2000;El-Hammady, et al. 1999) . تم حساب النسبة المئوية للاسمرار والنسبة المئوية نمو الكالس اخذت القراءات كل اربعة اسابيع واعتمد الوزن الطري للكالس كمؤشر للنمو ووفقا للطريقة () :

- وزن انبوب اساس يحتوي على الوسط الغذائي يترك حتى نهاية التجربة من دون زراعة
- وزن كل انبوب مخصص للمعاملات مع الوسط الغذائي.
- وزن كل انبوب مع الوسط الغذائي بعد زراعة الكالس فيه.
- تحتسب النسبة المئوية للفق في وزن الوسط الغذائي كالآتي:

$$\% \text{ لفقد} = \frac{\text{الوزن الاول} - \text{الوزن الحالي}}{\text{الوزن الاول}} \times$$

. ويحدد الوزن الفعلي لكل انبوب مع المحتويات وذلك بوزن كل انبوب معاملة مع احتساب نسبة الفقد كما يلي:

$$\text{الوزن الفعلي للانبوب} = \text{الوزن الحالي} + \frac{\% \text{ للفقد} \times \text{الوزن الحالي}}$$

وزن الكالس = الوزن الفعلي للانبوب - الوزن الاول في بداية التجربة.
اعتمادا على (سعد) .

تحفيز نشوء الاجنه من الكالس :

لغرض تحفيز نشوء الاجنه من الكالس تم زراعة ملغم من الكالس المتكون على الوسط الغذائي الحاوي على المكونات في الجدول () وبدون إضافة منظمات النمو النباتية. اخذت القياسات التالية والمتضمنة :

(الوزن الطري للكالس الجنيني بعد مرور () اسابيع من الزراعة .
(المدة اللازمة لظهور الاجنه.

تصميم التجربه والتحليل الإحصائي

نفذت الدراسة حسب التصميم العشوائي الكامل The Completely Randomized Design (C.R.D) واختبرت المعنوية بين المتوسطات حسب اختبار " اقل فرق معنوي معدل " Revised least significant differences test (R.L.S.D) وبمستوى احتمال % اعتمادا (الراوي،)

النتائج والمناقشة

جدول () تأثير التراكيز المختلفة من فيتامين E النسبة المئوية للاسمرار والنسبة المئوية للنمو واستحداث الكالس لصنف البرحي.

النسبة المئوية للنمو	النسبة المئوية للاسمرار	تركيز الفيتامين (ملغم / لتر)
c	d	(المقارنه)
b	c	
a	a	
c	b	
		المعدل

*المعدلات التي يتبعها نفس الحرف لا تختلف عن بعضها معنوياً واختلافها دلالة

على وجود فرق معنوي بينها عند مستوى احتمال % .

تبين النتائج الموضحة في الجدول () وجود اختلافات معنوية عند المعاملة بتراكيز مختلفة من

فيتامين E في النسبة المئوية لاسمرار الكالس الاولي المستخدم في الدراسة

اظهرت النتائج المبينة في الجدول () ان جميع تراكيز الفيتامين المضافة إلى الوسط الغذائي كان لها الأثر في الحد من ظاهرة التلون البني او الاسمرار لانسجة الكالس المزروعة مقارنة بالمعاملة المقارنة في صنف البرحي . فقد ادت إضافة الفيتامين إلى الوسط الغذائي بتركيز " ملغم / لتر إلى الاسمرار والتي بلغت " % حيث اختلفت معنوياً عن معاملة التراكيز الاخرى المستخدمة في حين بلغت نسبة الاسمرار عند التركيز ملغم/لتر % ، وارتفعت النسبة إلى % عند معاملة المقارنة.

وحول تأثير تراكيز الفيتامين على نمو الكالس الاولي المستخدم في الزراعة إلى تفوق الوسط الغذائي المجهز بـ " ملغم/ لتر على بقية التراكيز الاخرى إذ بلغت نسبة النمو % تلاه في التأثير استخدام الفيتامين بتركيز ملغم /لتر إذ بلغت نسبة النمو % إلا ان

التحليل الإحصائي لم يظهر فروقا معنوية بين معاملة التركيز ملغم/لتر وبين معاملة المقارنة حيث بلغت نسبة النمو . و % على التوالي.

وقد يعزى السبب وراء انخفاض النسبة المئوية لاسمرار الانسجة النباتية المزروعة إلى دور الفيتامين إد دا الفيتامين كمضاد قوي للاكسدة ونشاطه هذا كمضاد للاكسدة يعني انه يقوم بحماية الخلايا من الانسجة النباتية الاخرى من المواد التي تسبب تلف الخلايا ثم الإصابة بالتلون البني(الاسمرار) إد إضافة الفيتامين إلى الوسط الغذائي اكدت المركبات متعددة الفينول "Poly phenols" بفعل انزيمي الـ "Peroxidase" او "Phenol oxidase" وتكوين الكوينونات "Quinones" السامة للانسجة النباتية (Zaid,1984) ومن المحتمل ان السبب وراء ارتفاع استجابة الاجزاء النباتية المزروعة على النمو عند الـ بتركيز مختلفة من فيتامين E المضافة إلى الوسط الغذائي إلى جاهزية مكونات الوسط بشكل كاف للاجزاء النباتية الامر الذي يؤدي إلى استجابتها وبالتالي نموها مقارنة لوسط الغذائي غير المجهز بالفيتامين (Abo El- Nil,1986 ; حميد) .

جدول () تاثير التراكيز المختلفة من فيتامين E في الوزن الطري للكالس الجنيني والمدة اللازمة لظهور

الاجنه لصنف البرحي.

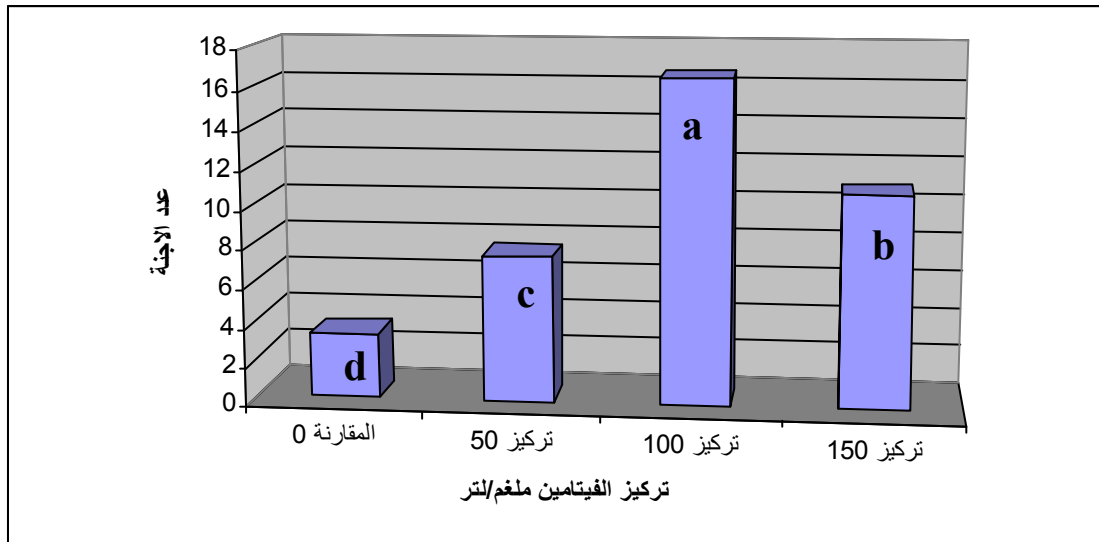
تركيز الفيتامين (ملغم / لتر)	الوزن الطري للكالس الجنيني(ملغم)	المدة اللازمة لظهور الاجنه(يوم)
(المقارنه)	d	c
	c	a
	a	a
	b	b
المعدل		

*المعدلات التي يتبعها نفس الحرف لا تختلف عن بعضها معنويا واختلافها دلالة

على وجود فرق معنوي بينها عند مستوى احتمال % .

اوضحت النتائج المبينة في الجدول () ان هنالك تأثيرا معنويا لتركييز الفيتامين المستخدم في معدل الوزن الطري للكالس الجنيني، إذ تفوقت معاملة التركيز ملغم/لتر على بقية المعاملات معنويا بعد شهرين من زراعة ملغم من الكالس الجنيني إذ بلغ معدل الوزن الطري ملغم ، تلتها معاملة التركيز ملغم/لتر إذ بلغ معدل الوزن الطري ملغم وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة التي بلغ معدل الوزن الطري فيها ملغم .

إما إلى المدة اللازمة لظهور الاجنة من زراعة ملغم كالس جنيني فقد بينت النتائج الجدول نفسه إلى تفوق معاملة التركيز ملغم/لتر في تكون الاجنة مدة زمنية ممكنة وبلغت يوم وبفارق غير معنوي عن معاملة التركيز ملغم/لتر والتي بلغت يوم. في حين تكونت الاجنة عند معاملة التركيز ملغم/لتر بمدة يوم ، وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة التي بلغت يوم .



*المعدلات التي يتبعها نفس الحرف لا تختلف عن بعضها معنويا واختلافها دلالة

على وجود فرق معنوي بينها عند مستوى احتمال % .

() تأثير تراكيز مختلفة من فيتامين E في عدد الاجنة المتكونة من زراعة ملغم

كالس جنيني

كما يوضح الشكل () تأثير تراكيز مختلفة من فيتامين E في عدد الاجنة المتكونة من زراعة

ملغم كالس جنيني إذ تبين النتائج تفوق المعاملة بالتركيز ملغم/لتر من الفيتامين في

تكوين اكبر معدل لعدد الاجنة المتكونة إذ جنين وبفارق معنوي عن التراكيز الاخرى

في حين بلغ معدل عدد الاجنة عند معاملة التركيز ملغم/لتر جنين وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة التي بلغت اجنة.

تلعب الفيتامينات دورا هاما في العمليات الحيوية التي يقوم بها النبات من انقسام وتكاثر ونمو إما بالنسبة لفيتامين E فوجد انه يعد عاملا مهما ضد الاكسدة وبالتالي يساعد على جاهزية المغذيات المكونة للوسط المستخدم في نمو وإكثار الانسجة النباتية (محمد ويونس،).

المصادر

البكر، عبد الجبار. (). نخلة التمر ماضيها وحاضرها والجديد في زراعتها وصناعاتها وتجاريتها. مطبعة العاني. بغداد: العراق .

يد، محمد خزعة . (). إكثار بعض اصناف نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. خضريا باستخدام تقانة زراعة الانسجة. رسالة دكتوراه، كلية الزراعة - بغداد.

الراوي، خاشم محمود وخلف الله، محمد عبد العزيز. (). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، مؤسس دار الكتب للطباعة والنشر، الموصل.

سعد، احمد عبد الله. (). تأثير نوع الوسط الغذائي والساييتوكاينين في نشوء الكالس وتكون الاجنة الخضرية في نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. صنف الاشقر، رساله ماجستير، قسم البستنة والنخيل، كلية الزراعة - جامعة البصرة -العراق .

محمد، عبد العظيم كاظم ويونس، مؤيد احمد . (). اساسيات فسيولوجيا النبات . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جامعة بغداد: العراق .

Abo El-Nil, M. (1986). Refining methods of date palm micro propagation. In: 2nd .symp.on date palm. March, 1986.KFU. Saudi Arabia. (1):29-41.

Al-Ghamidi, A.S. (1993). True to type date palm *Phoenix dactylifera* L. production through tissue culture techniques, cv. Safry. 3rd .Symp. Date Palm, KFU. Saudi Arabia, (1):1-13.

Al-Khayri, J.M (2001). Optimization of biotin and thiamine requirements for somatic embryogenesis of date palm *Phoenix dactylifera* L. *in vitro* cell .Dev. Biol. plant 37:453-456.

- Al-Wasel, A.S.(2001). Phenotypic comparison of tissue culture derived and conventionally propagated by offshoots date palm (*Phoenix dactylifera* L.) . cv. Barhee trees 1-Vegetative characteristics. J. KSU. Vol.13, Agric. Sci. (1). 65-73.
- El-Hammady, A. M.; Wanas , W. H.; Abo-rawash, M. and Awad, A .A.(1999) Regeneration of date palm “Sewy” cv. Plantlets by somatic embryogenesis through callus with refrence to the genetic stability . In Proc.Int. Conf. Date Palm ,Nov.1999.Assiut Univ.Egypt. pp:117-131.
- Jasim,A.M. (2000). Production of somatic embryos of date palms (*Phoenix dactylifera* L.). in in vitro by liquid media culture. J.Basrah researchs , 24 (1) : 1-6.
- Letouze, R.;Daguin, F.; Satour; P.; Hamama L.; and Marionate,F. (1998). Somatic embryogenesis and mass micropropagation of date palm characterization and genetic stability of regenrated plantles by RAPD markers. In: 1st. Inter.Conf. Date Palms, Al-Ain , U.A.E. March 1998:158-167.
- Mater,A.A. (1986). In in vitro propagation of (*Phoenix dactylifera* L.). date palm J. 4:137-152.
- Margara, J.(1984). Bases de la Multiplication vegetative .Les meristemes et lorganogense.I.N.R.A.Paris 262P.
- Murashig,T.and Skoog,F.(1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures physio.plant.15:473- 497.
- Tisserat,B. (1991). Clonal propagation of palms. Plant Tissue Culture Manual, C2:1-14.
- Zaid, A. (1984). In vitro browning of tissues and media with special emphasis to date palm cultures: A review .Date Palm J. 3:269-275.

Effect of vitamin E on some callus and embryos characteristics of date palm cv.barhee propagated by *in vitro*

Usama N.J Almeer

Oraas T. Yaseen

Date palm research center-university of basrah

Summary

This study was conducted in the laboratory of tissue culture of the Palm Research Center in 2007 to find out the effect of adding different concentrations of vitamin E for the media and see its effect on the percentage of browning and growth of the Callus initial and the formation of embryos, were culturing on 100 mg of callus initial media container salts MS the forces of complete and sucrose 30 g / liter activated charcoal 3 g / l and plant growth of naphthalene acetic acid concentration of 30 mg / L and cytokines 2ip concentration of 3 mg / L and different concentrations of vitamin E (zero, 50,100,150 mg / L) and incubated explants under severe lighting 1000 lux and the temperature in 27 ± 1 , was carried out of agriculture every 4 weeks, and results showed the following:

- 1 - The addition of vitamin E for the media has reduced the percentage of browning of explants in difference significant comparison with treatment without vitamin D, as the percentage of browning 30% at a concentration of 100 mg / L compared with control treatment, which amounted to a rate of browning 90%.
- 2 - The addition of vitamin E for the media add to increase the percentage of the response of growth reaching 80.3% at a concentration of 100 mg / L, while the percentage reduced to 40% in the treatment comparison.
- 3 - increased rate of weight of embryo callus at a concentration of 100 mg / l as the rate of 280 mg, while decreased to 130 mg in the treatment of comparison, also helped add the vitamin to be vegetative embryos in less time as possible as it was 32 days at a concentration of 100 mg / liter significant difference from control treatment, which amounted to 52 days.
- 4 - The results showed that the addition of vitamin E concentration of 100 mg / L led to give the highest rate of vegetation as the number of embryos was 17 compared to the treatment comparison of embryos, which was the average number of embryos vegetative three embryos.