تاثير الجزء النباتي وتركيز الكاينتين في تفتح وتضاعف نبات الدورنتا (*Duranta erecta* L) خارج الجسم الحي

مي عبد الله رزوقي
الكلية التقنية / مسيب

الخلاصة :

استخدمت تقنية زراعة الانسجة في اكثار نبات الدورنتا ***Duranta erecta* L .** باستخدام ثلاثة اجزاء نباتية هي العقدة الحاوية على برعم واحد وطرف الفرع والبرعم الزهري. واجريت التجربة في مختبر زراعة الانسجة النباتية في قسم التقنيات الانتاج النباتي في الكلية التقنية - المسيب في عام 2013 زرعت الاجزاء النباتية بعد تعقيمها بالهايبوكلورات الصوديوم (1.5%) على الوسط الغذائي المعقم .MS والمجهز بتراكيز مختلفة من الكاينتين Kin (0.0 و 1.0 و 3.0 و 5.0) ملغم/لتر لدراسة تاثير الجزء النباتي وتركيز Kin في تفتح الافرع الخضرية خارج الجسم الحي. بينت النتائج التي تم الحصول عليها تفوق البرعم في معدل عدد الافرع المتفتحة (1.00 فرع)، في حين بلغ اعلى معدل طول 0.365 و 0.305 سم في البرعم الزهري وطرف الفرع على التوالي. كما بينت النتائج ان لتركيز Kin تاثير في تفتح الافرع اذ بلغ اعلى معدل لعدد الافرع واطوالها عند التركيز 1.0 ملغم/لتر اذ بلغ 1.13 فرعاً و 0.446 سم على التوالي. وتم تجذير الافرع الناتجة على وسط .MS بنصف القوة مضافاً اليه الاوكسين IBA بتركيز 0.5 ملغم/لتر.

الكلمات المفتاحية :- الدورنتا، خارج الجسم الحي، الكاينتين، الاوكسينات.

Effect of explant and Kinetine concentration on proliferation and multiplication of *Duranta erecta* L. *in vitro*

May Abdullah

Abstracts :

Plant tissue culture were used for the propagation of ***Duranta erecta* L**. using three explants were cultured on stenle MS medium supplemented with Kin at 0.0 , 1.0, 3,0 and 5.0 mg/L for studying the effect of explant and Kin concentration on proliferation of shoots. Results showed that the flower bud was significant in shoot number (1.00), while the highest shoot length was in flower bud and shoot tip (0.365 and 0.305cm respectively). Results showed also that the Kin concentration was significant in shoot number and length, the best concentration was 1.0 mg/L which gave 1.13 shoots and length reached to 0.446 cm. shoots were rooted in MS medium half power supplement with 0.5 mg/L IBA.

Key words : *Dauranta* , *erecta* , *in vitro* , kintine , auxine.

المقدمـــة :

يعود الجنس *Duranta* الى العائلة النباتية اللوزية Verbenaceae والذي يضم حوالى 35 نوعا منتشرة في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية (Anis, *et al.*2001). وأحد هذه الانواع هو النوع ***D. erecta* L .** الذي تتميز شجيراته بانها دائمة الخضرة ذات افرع متدلية تحوي على اشواك و يصل ارتفاع الشجرة الى 1-3 م ذات اوراق مسننة الحافة بيضوية الشكل خضراء اللون متقابلة وازهارها مرتبة في نورات عنقودية متدلية زرقاء بنفسجية اللون تظهر في اواخر الصيف وثمارها كذلك في مجاميع عنقودية برتقالية او صفراء ذهبية

ISSN 2072-3875

(1995,Liogier) (صورة -1-) وتعد نباتات الدورنتا من نباتات الزينة الجميلة لجمال ازهارها وثمارها والتي تستخدم ايضا في الاغراض الطبية اذ تحتوي على العديد من المركبات الثانوية بما فيها الكلايكوسيدات (Takeda *et ,al. 1995*) *والتربينات(1999,Hiradate et al.)* والفلافونيدات (Anis *et al.*, *2002*). فقد اظهرت العديد من الدراسات اهمية وفعالية مستخلصات الاجزاء النباتية لنبات الدورنتا ضد العديد من الامراض حيث استخدمت كمضادات للسموم خاصة التي تصيب الكبد (2001,Nagao *et al.*) .

يكثر نبات الدورنتا عن طريق زراعة البذور مباشرة في تربة المشتل او في اكياس النايلون (Ibrahim and 2001,Majeed) او طريقة الاكثار بالعقل الخشبية وهي الاكثر شيوعا في انتاج شتلات الدورنتا التي تقتصر زراعتها في فصل الشتاء وقبل بداية الربيع حيث تزرع العقل اما بارض المشتل مباشرة او في اكياس الاكثار او السنادين والتي تحتاج الى جهد وكلفة ومادة نباتية كثيرة (2001,Ibrahim and Majeed) وعلى الرغم من الدراسات المتعددة حول الاهمية الطبية لنباتات الدورنتا والتي لم يسجل اكثارها بالزراعة النسيجية سابقا، وانتاج شتلات من الدورنتا متجانسة ومطابقة للنبات الاصلي ومحاولة التجذير خارج الجسم الحي للعديد من النباتات التي تعاني من صعوبة التجذير (Bhattachaarga and, 2010Bhattacharya) ،على ضوء ما تقدم فقد هدفت الدراسة الحالية الى ايجاد توليفة مناسبة من الكاينتين في اكثار نبات الدورنتا خارج الجسم الحي باستخدام اجزاء نباتية مختلفة .

صورة (1) : أزهار وثمار نبات الدورنتا ***D .erecta* L.**

المواد وطرائق العمل :

اجري البحث في مختبر زراعة الانسجة النباتية التابع لقسم تقنيات الانتاج النباتي في الكلية التقنية - المسيب ، في عام 2013 اذ تضمن ما ياتي :-

اختيار الجزء النباتي :

اخذت الاجزاء النباتية على شكل عقدة حاوية على برعم واحد (Single node) وطرف الفرع (Shoot tip) والبرعم الزهري (Flower bud) من نبتة ام واحدة نامية في الحقل جيدة النمو خالية من الاصابات المرضية والحشرية.

تعقيم الجزء النباتي :

ازيلت الاوراق من الفروع في المختبر وغسلت الاجزاء النباتية بالماء والصابون السائل ثم وضعت تحت الماء الجاري لمدة 30 دقيقة ، بعد ذلك نقلت الاجزاء الى كابينة انسياب الهواء الطبقي واستعملت مادة هايبوكلورات الصوديوم (NaOCl) بتركيز 1.5% لمدة 15 دقيقة لتعقيم الاجزاء النباتية واضيف اليها 3-2 قطرات من المادة الناشرة Tween-20 لتسهيل عملية انتشارها في الجزء النباتي ، غسلت بعدها الاجزاء النباتية ثلاث مرات بالماء المقطر المعقم ولمدة 5 دقائق في كل مرة حيث اصبحت جاهزة للزراعة.

ISSN 2072-3875

الوسط الغذائي :

حضر الوسط الغذائي مختبرياً من مجموعة املاح وفيتامينات الوسط الزرعي (Murashige and, 1962Skoog) MS مع اضافة السكروز ومنظم النمو الكاينتين Kin ومادة المايوانوستيول (Myoinositol) (جدول-1-) .

جدول رقم -1- مكونات الوسط الغذائي المستعمل في زراعة الاجزاء النباتية

المادة	الاسم الانكليزي	الكمية ملغم/لتر
مجموعة املاح MS	Murashige and skoog salts (1962)	قوة كاملة
انوسيتول	Inostol	100
ثيامين حامض الهيدروكلويك	Thiamine - HCl	0.5
بايرودوكسين	Pyridoxine	0.5
حامض النكوتين	Nicotinic acid	0.5
الكلايسين	Glycine	2.0
الكاينتين	Kinetin	0.0،1.0،3.0و5.0
السكروز	Sucrose	30000
الاكار	Agar	7000

زراعة الاجزاء النباتية :

زرعت الاجزاء النباتية (العقدة وطرف الفرع والبرعم الزهري) على الوسط الغذائي MS المصلب بالاكار بمقدار 7غم/لتر المعقم والمجهز بتراكيز مختلفة من منظم النمو الكاينتين Kin (0.0, 1.0, 3.0, 5.0) ملغم / لتر وبواقع خمس مكررات لكل من الجزء النباتي والتركيز ثم نقلت الانابيب المزروعة الى غرفة النمو وحضنت على درجة حرارة 25± 2مْ وشدة اضاءة 1000 لوكس وبفترة ضوئية 16 ساعة / يوم . تم تسجيل النتائج بعد اربعة اسابيع من تاريخ الزراعة لبيان تاثير الاضافة في تفتح الافرع واطوالها لنبات الدورنتا خارج الجسم الحي.

التجذير :

نقلت الافرع الناتجة من المرحلة السابقة الى الوسط سائل حاوٍ على املاح بنصف قوة وقوة كاملة لـ MS مضافا اليه الاوكسين IBA بتراكيز (0.5 , 1.0) ملغم/لتر لتجذير الافرع، اذ تمت زراعة فرع واحد في كل انبوب حاو على 10 مل من الوسط.

الاقلمة :

استعملت ثلاثة اوساط زرعية هي البيتموس Peat-moss ، والرمل وخليط البيتموس مع الرمل 1:1. عقمت هذه الاوساط باستعمال جهاز التعقيم بالبخار على درجة حرارة 121مْ وضغط 1.04 كغم \سم^2 مدة ساعة واحدة لضمان التخلص من المسببات المرضية. استخرجت النباتات المجذرة من الانابيب الزراعة وغسلت بماء الحنفية الجاري للتخلص من بقايا الاثار العالقة في جذورها باستعمال المبيد الفطري (Benlate) بتركيز (0.2)% لغمر النبيتات فيه لبضع ثواني لاجل الوقاية من الفطريات، ثم زرعت النبيتات في اصص بلاستيكية ورفعت الرطوبة النسبية في محيط منطقة الزراعة خل ال الاسابيع الثلاثة الاولى بتغطية النبات بالبلاستك الشفاف للسماح بنفاذ الضوء وزيادة قدرة النباتات على صنع غذائها بنفسها. تم تثقيب الغطاء البلاستيكي بشكل متساو للسماح بتبادل الغازات بعدها رفع الغطاء البلاستيكي تدريجيا بعد ثلاثة ايام مع مراعاة سقيها حسب الحاجة.

التحليل الاحصائي :

تم تحليل البيانات باستعمال البرنامج Statistical Analysis System (2012,SAS) لدراسة تاثير العوامل المدروسة في الصفات المختلفة وفق تصميم عشوائي كامل (CRD) وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستخدام اختبار اقل فرق معنوي (LSD) وعلى مستوى احتمالية (0.05) .

ISSN 2072-3875

النتائج والمناقشة :

تأثير الاجزاء النباتية ومنظم النمو الكاينتين Kin في تفتح الافرع

بينت نتائج الجدول (2) تفتح افرع نبات الدورنتا خارج الجسم حيث اعطى البرعم الزهري اكبر عدد من الافرع بلغ 1.00 فرع الا انها غير معنوية عن الاجزاء الاخرى تلاه طرف الفرع للدورنتا حيث اعطى 0.80 فرعاً. وكان ادنى المعدلات والبالغ 0.75 فرع عند زراعة العقدة على الوسط نفسه. قد يرجع سبب هذا الاختلاف في نسبة تفتح الاجزاء النباتية الى مدى استجابة الاجزاء النباتية للزراعة النسيجية بسبب تاثره بالمحتوى الداخلي للهرمونات الموجودة في النسيج النباتي مما ينتج عنه اختلافات في استجابات الاجزاء النباتية المزروعة نتيجة لاختلاف حاجاتها لمنظمات النمو اللازمة لاحداث نمو معين (Maggon ,and Singh1995).

توضح النتائج المبينة في الجدول نفسه تاثير الـ Kin في معدل تفتح افرع نبات الدورنتا حيث اظهرت المعاملة (1.0) ملغم/لتر Kin معدلاً لعدد الافرع المتفتحة بلغ 1.13 فرعاً ولم تختلف معنويا عن المعاملة المقارنة التي اعطت (1.00) فرعاً في حين انخفض هذا المعدل معنويا بزيادة تركيز Kin في الوسط ليصل الى ادنى قيمة بلغت 0.33 فرعاً عندالتركيز 3.0 ملغم/لتر Kin و قد يعود السبب الى عدد الاواصر المزدوجة في السلسلة الجانبية التي يمتلكها الـ Kin مما يقلل من فاعليته في تحفيز وانقسام الخلايا (Hopkins,1999) .

اما فيما يخص التداخل بين تركيز Kin والجزء النباتي فان نتائج الجدول ذاته تشير الى وجود تاثير معنوي للتداخل بينهما في معدل عدد الافرع. اذ تفوق البرعم الزهري عند التركيز 1.0 ملغم/لتر Kin فاعطى اعلى معدل لعدد الافرع بلغ 1.60 فرعاً .

ولم يظهر تاثير معنوي عند التركيزين (5.0,0.0) ملغم/لتر من الـ Kin في معدل عدد الافرع حيث بلغ 1.20 فرعاً لكلا المعاملتين باستعمال نفس الجزء النباتي. بينما كان اقل معدل لعدد الافرع عند معاملة المقارنة (0.0) والتركيز 5.0 ملغم/ لتر من الـ Kin باستعمال طرف الفرع بلغ (0.60 فرعاً) ،ولم يعط التركيز 3.0ملغم / لتر Kin باستعمال العقدة والبرعم الزهري اية فروع متوالده.

ويتضح من نتائج هذه الدراسة استجابة الاجزاء النباتية المختلفة للتراكيز المدروسة من السايتوكاينين وهذا يعود الى دوره المعروف في كسر السيادة القمية مما يؤدي الى زيادة عدد الافرع الناتجة من الاجزاء المستخدمة اذ ان اضافة السايتوكاينين شجع نمو بادئات البراعم وبالتالي نمو الافرع الخضرية (عبدول،1987). وتوضح الصورة (2) تفتح الافرع الخضرية من الاجزاء النباتية المختلفة .

جدول -2- تاثير الجزء النباتي وتركيز الكاينتين في تفتح افرع نبات الدورنتا خارج الجسم الحي

تركيز KIN	الجزء النباتي			المعدل
	العقدة	طرف الفرع	البرعم الزهري	
0	1.40	0.60	1.20	1.06
1	0.80	1.00	1.60	1.13
3	0.00	1.00	0.00	0.33
5	0.80	0.60	1.20	0.86
المعدل	0.75	0.80	1.00	---
$P<0.05^{*}$				
قيمة LSD: للاجزاء 0.430 NS ، للتركيز 0.497* ، للتداخل : 0.860*				

ISSN 2072-3875

أ ب جـ

صورة (2) : تفتح فرع نبات الدورنتا خارج الجسم الحي من الاجزاء النباتية المختلفة : أ : العقدة ، ب : طرف الفرع جـ : البرعم الزهري

تاثر الجزء النباتي ومنظم النمو Kin في طول افرع نبات الدورنتا

يظهر من نتائج الجدول (3) التاثير المعنوي للبرعم الزهري وطرف الفرع اذ اعطيا زيادة في معدل طول الافرع لنبات الدورنتا بلغ 0.365 و 0.305 سم على التوالي وتفوقتا معنوياًعلى العقدة التي اعطت معدلاً بلغ 0.245 سم.

وتشير النتائج المبينة في الجدول نفسه الى وجود تاثير معنوي لتركيز Kin المضاف للوسط الغذائي في معدل طول الافرع. فقد تغلبت معاملة التركيز 1.0ملغم/لتر الـ Kin باعطائه اعلى معدل بلغ 0.446 سم في حين انخفض هذا المعدل في التراكيز العالية من الكاينتين . يتبين من النتائج ان التراكيز العالية نسبيا من الـ Kin ادت الى تثبيط نمو الافرع ، وبصورة عامة فان التراكيز العالية من السايتوكانين تؤدي الى تثبيط استطالة الخلايا و قد يعزى السبب الى ان مثل هذه التراكيز تعد ذات تاثير تثبيطي ، وتجمعها يؤدي الى زيادة في عمليات الهدم نسبة الى ما يبنى (محمد واليونس ،1991).

وكانت هناك فروقاً معنوية في معدل طول الافرع عند تداخل الجزء النباتي مع تركيز الكاينتين ، اذ تفوق التداخل الحاوي على 1.0 ملغم/لتر من الـ Kin و البرعم الزهري معنويا على التداخلات جميعها واعطت معدلا بلغ 0.6 سم تلتها المعاملات الحاوية على 5.0 ملغم/لتر و البرعم الزهري والتي لم تظهر فيها اختلاف معنوي لكنها تفوقت معنويا على بقية المعاملات . وهذا المعدل انخفض عند التركيزين (0.0 و 5.0) ملغم/لترKin وطرف الفرع ، اذ اعطى ادنى معدل لطول الافرع بلغ0.16 سم .

ومن خلال هذه الدراسة وجد ان نمو الانسجة او الاجزاء النباتية خارج الجسم الحي ودرجة استجابتها تختلف باختلاف الانواع النباتية والاجناس ضمن العائلة الواحدة (2006,Ozel and Arslan) . هذا بالاضافة الى نوعية وتركيبة الوسط الغذائي المستخدم في تنشئة الجزء النباتي المزروع وتظهر هنا اهمية تركيبه الوسط الغذائي في تزويد الجزء النباتي ما يحتاجه من المغذيات الضرورية لنموه ، وتختلف احتياجات الجزء اعتمادا على نوع الجزء النباتي الماخوذ منه.

تجذير افرع الدورنتا خارج الجسم الحي :

نقلت النموات الخضرية المكثرة بالمرحلة السابقة الى وسط جديد سائل حاوٍ على MS املاح بنصف قوة وقوة كاملة مضافا اليه الاوكسين IBA بتراكيز (0.5 او 1.0) ملغم / لتر لاستجابة الافرع على التجذير وبعد اربعة اسابيع من الزراعة اعطت المعاملة المكونة من MSبنصف قوة مضافاً اليه 0.5 ملغم/لتر IBA على الوسط MSبنصف قوة جذوراً في حين فشلت المعاملة الثانية في ذلك.

ومن المعروف ان الاوكسين يكون محفزا لنمو الجذور بالتراكيز الواطئة ومثبطا للنمو للتراكيز العالية. وقد وجد ان الجذور هي اكثر الاعضاء النباتية تاثرا بالاوكسين وعادة تضاف الاوكسينات الى المزارع النسيجية لتشجيع تكوين الجذور على الافرع المكثرة نسيجيا (Vasiil1985,)، و فضلا عن نوع الاوكسين المستعمل هناك عوامل اخرى تزيد من عملية التجذير منها نوع

ISSN 2072-3875

الوسط والكاربوهيدرات التي تؤدي دورا اساسيا في نجاح التجذير (سلمان واخرون، 2000)

جدول - 3 - : تأثير الجزء النباتي وتركيز الكاينتين في اطوال الافرع (سم) المتفتحة لنبات الدورنتا خارج الجسم الحي .

تركيز KIN	الجزء النباتي			المعدل
	العقدة	طرف الفرع	البرعم الزهري	
0	**0.34**	**0.16**	**0.30**	**0.266**
1	**0.34**	**0.40**	**0.60**	**0.446**
3	**0.00**	**0.50**	**0.00**	**0.166**
5	**0.30**	**0.16**	**0.56**	**0.340**
المعدل	**0.245**	**0.305**	**0.365**	**----**
$P<0.05^*$				
قيمة LSD: للاجزاء : 0.110 * ، للتركيز : *0.128 ، للتداخل : * 0.221				

المصادر:

سلمان ، محمد عباس ومحمد، سعيد سالم التكريتي، فيصل عبد الرحمن. 2000. دراسة الاختلافات التشريحية بين انسجة شتلات بعض انواع الحمضيات المكثرة خارج الجسم الحي والنامية طبيعيا. مجلة العلوم الزراعية العراقية. كلية الزراعة. جامعة بغداد. العراق. المجلد 31 العدد3.

عبدول ، كريم صباح ، 1987 . منظمات النمو النباتية. الجزء الاول. مطبعة جامعة الموصل. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جمهورية العراق .

محمد ، عبدالعظيم كاظم ومؤيد احمد اليونس.1991. اساسيات فسيولوجيا النبات. الجزء لثاني. كلية الزراعة. جامعة بغداد. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي جمهورية العراق .

Anis, I.; Anis , E.; Ahmed, S.; Mustafa, G.; Malik, A. Amtual, Z. and A.UR-Rahman,2001. Thrombin inhibitory constituents from Duranta repens.Helv. Chim. Acta, 849: 649 - 655.

Anis, I.; S.; Ahmed, A.; Malik, A.; Yasin , and M.I. choudary, 2002 .Enzyme inhibitory constituents fron Duranta repens. Chem. Pharm. Bull, 509 515 _518.

Bhattacharya , S. and S. Bhattacharaya, 2010. In vitro propagation of Jasmiuum officinale L.; Awoody ornavnental vine Yielding aromatic oil from Flowers , Meth. in Molec. Bio., 58, (1) ; 117 _ 126.

Hiradate, S.; Yada, H.; Ishii, T.; Nakajma , N.; Ohnishi - Kameyama , M .; Sugie H.; Zungsontiporn S.; and Fujii, Y.1999 . Three plant growth inhibiting saponins from Duranta repens. Phytochemistry, 52, 1223 _1228.

Hopkins, W.G. 1999.Introduction to Plant Physiology. 2nd ed Jhon Wiley and sons, Ins. USA.

Ibrahim , K .M.and S. H . Mageed , 2001 . The nurseries Dar Al Kutub, Mosul Univ, Iraq.

Liogier, H. A. 1995. Descriptive Flora of Puerto Rico and Adjacent Islands. Vol-4- Editorial de la Universided de Puerto Rico,San Juan, PR.617p.

Maggon, R. and B.D. Singh. 1995. Promotion of adventitious bud regeneration by ABA in epicotyl and hypocotyl explants of sweet orange (Citrus sinensis (L.) Osbeck.). Scientia Horticulturae,63:123-128.

Murashige , T. and F. Skoog. 1962. Arevised medium for rapid growth

ISSN 2072-3875

and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plants. 15: 473 - 497.

Nagao , T.; Abe ,and F.; H.Okabe, 2001. Antiproliferative constituents in the plants 7. Leaves of Clerodendron bungei and leaves and bark of C. trichotomum. Biol. Pharm. Bull. 2001, 249 1338 _ 1341.

Ozel,C. and O. Arslan , 2006. Efficient micrpro pagation of English shurb rose" Heritage" under in Vitroconditions International Journal of Agriculture & Biology. 8(5)626 - 629.

SAS.2012. Statistical Analysis System, User's Guide. statistical. Version ,. 1th ed.SA S. Inst.Inc. Cary. N.C. USA.

Takeeda, Y.; Morimoto ,; Matsumoto, T.; Ogimi, C.; Hirata, ; Takushi and A. Otsuck , H.1995 Iridiod glucosides from the leaves and stems od Duranta erecta - Phytochem,39 , 829 - 833.

Vasil , I.K. 1985 cellculture and somak 5-2 Cell Geneties of plants. Academie Press, Inc- Vol.2 : 330.

ISSN 2072-3875