إنتاج صبغات البيتالين في مزارع المعلقات الخلوية للبنجر

عزه بنت محمد سعيد طيب

د . سامية بنت جمال كلكتاوي

المستخلص العربي

يهدف هذا البحث إلى دراسة إنتاج صبغات البيتالين في الم زارع الخلوي ة لنب ا ت البنج ر Beta vulgaris تح ت ظروف متنوعة كمحاولة لتحفي ز إنت اج ص بغات البيت الين ف ي الم زارع الخلوي ة ودراس ة كيفي ة ال تحكم ف ي البن اء الحيوي لها . وقد تم في هذا البحث إنشاء المزارع الخلوية لنبات البنجر وتحديد العلاقة بين نمو المزرع ة وإنت اج ص بغات البيت الين خ لال دورة النم و . كم ا ت م تعري ف البيتاس يانين ات الرئيس ي ة الت ي تنتجه ا المزرع ة وك ذلك البيتازانثين ات . ثم تم د راسة عدد من الظروف البيئية للمزرعة اشتملت على دراسة ت أثير تركي زات مختلف ة م ن منظمات النمو تضمنت ٤,٢ ثنائي كلورو فينوكسي حمض الخليك) ٤,٢ –د (وكذلك درس تأثير تركيزات متنوعة عدد من المثير ات الحيوية مثل ال ميث اي ل جاسمونيت ، و ال بيتاجلوك ان و ال كيتوس ان وغي ر الحيو ي ة مث ل كبريت ات الزنك ، و كبريتات النحاس ، و كبريتات المنجنيز على النمو والبناء الحيوي للبيتالين ات . وق د أظه رت النت ائج أن بناء صبغات البيتالين كان متزامناً مع النمو وقد بلغ أقصاه مع بداية مرحلة الثبات في منحنى النمو) في اليوم ١٤ (

وأن المزرع ة تن تج " البيت انين " رئيسية للبيتازانثين . كما أظهرت نتائج دراسة تأثير منظمات الن مو أن التركيز العالي من الكينتين) ٠,٤ ملجم / لتر (في البيئة المغذية قد حف ز إنتاجي ة البيتاس يانينات و البيتازانثين ات ، لك ل ج م م ن ال وزن ال رط ب لخلاي ا المزرع ة) بحوالي ٤٥ ٪ و ١٢ ٪ على التوالي (وكذلك على مستوى المزرعة الكاملة في حين نقص النمو عند نفس التركيز . كبيتاس يانين رئيس ي م ع قلي ل م ن الآيزوبيت انين ، وتن تج الان ديكازانثين كص ورة

أما بالنسبة لتأثير ٤,٢ –د ف ل لبيتاسيانين و البيتازانثين بحوال ي ٨٣ ٪ و ٥٠ ٪ على التوالي، لكل جم وزن رطب من ٤,٢ –د مع قد وجد أن إنتاج الصبغة يزداد م ع انخف اض تركي ز ٤,٢ –د . عند التركيز ٠,٠٠٥ ملجم / لتر وعن د وق د س جلت أعل ى زي ادة أن النمو عند هذا التركيز لم يتأثر بدرجة معنوية مقارنة بالعينة الضابطة ٠,٠٢ ملجم / لتر .

دراسة تأثير تركيزات مختلفة من) ٤,٢ –د و الكينتين (معاً مع الحفاظ على نسبة الهرمونين إلى

ب ين المع املات ف ي البيئ ة المغذي ة للمزرع ة الخلوي ة فق د أظه رت

أن الت أثير المحف ز للتركي زات المنخفض ة م ن

٤,٢ –د يرجع إلى تركيزه بالتحديد وليس إلى التغير في نسبة الأكسين إلى السيتوكينين كما لوحظ إنتاج الصبغة بتأثير منظم ات النم و يرج ع إل ى زي ادة ف ي نش اط إن زيم التيروس ينيز . أم ا بالنس بة لت أثير الم ثي ر ات الحيوية وغير الحيوية على النمو و إنتاجية الصبغات في المزرعة فقد وجد أن المثير الحيوي ميثايل جاسمونيت أن الزي ادة ف ي بعضهما موحدة

أدى إلى زيادة الإنتاجية عند إضافته منذ بداية التجربة) اليوم الصفر (وخاصة عند التركي ز ٣٠ ميكروم ول لك ل من البيتاسيانين و البيتازانثين) حوالي ١١ و ١٥ ضعف العينة الضابطة على التوالي (، إلا أن النمو انخفض عند ه ذه المع املات . أم ا ف ي حال ة اس تعمال المثي ر الحي وي بيتاجلوك ان فق د ك ان الت أثير المحف ز عن د التركي ز ٠,١ ملـ جـ م / لتر المضافة منذ بداية التجربة) اليوم الصفر (لكل من البيتاسيانين والبيتازانثين) حوالي ٩٧ ٪ و ٣٨ ٪ على التوالي (ف ، ي ح ين ل م يت أثر النم و ت أثراً معنوي ًا . و ف ي حال ة الكيتوس ان فق د ازداد إنت اج الص بغة عن د التركي ز ٥ ملج م / لت ر) ح والي) ١٢٣ ٪ للبيتاس يانين و ٦٤ ٪ للبيت ازانثين (، كم ا حف ز النم و عن د نف س التركي ز . أم ا ف ي ح ال ة استخدام المثيرات الغير حيوية فقد لوحظ أن كبريتات النحاس كانت محفزة لإنتاج البيتا لين ات قل ي ًلا عن د إض افتها مع بداية الزراعة في اليوم الصفر) حيث زاد كل من البيتاسيانين والبيتازانثين لكل جم بحوالي ٧٦ ٪ و ٤٣ ٪ على التوالي (. ولم تكن المعاملة بأي من كبريتات الز نك وكبريتات المنجنيز لها تأثير معنوي . كما لوحظ أن ه في جميع المع املات ك ان البيتاس يانين الرئيس ي ا ل ذي تنتج ه المزرع ة ه و البيت انين م ع قلي ل م ن الآيزوبيت انين بينم ا يمث ل

الإنديكازانثين الصورة الرئيسية للبيتازانثين المنتجه بواسطة المزرعة . أن زيادة الإنتاجية للمزارع تتطلب تر كيز منخفض من ٤,٢ –د وفي الخلاصة : استنتج من هذ وأن تحفيز الصبغة كان راجعاً إلى ت أثير ٤,٢ –د ه الدراسات

وليس إلى التغير في نسبة) ٤,٢ –د / الكينتين (، على تركيزه . وأن جزء من الآلية التنظيمية يرجع المثي ر ات الحيوي ة الميثاي ل جاس مونيت و البيتاجلوك ان و الكيتوس ان الصبغة أما بالنسبة للمثيرات الغير حيوية فقد كان كبر إنتاج الصبغة . و كان الوقت الأمثل لـلإمداد بهذه المثير ا ت وه و عن د بداي ة الزراع ة و و أن ٤,٢ –د إلى تأثير ٤,٢ –د على نشاط إنزيم التيروسينيز . وب النسبة لـ تأثير يتات النحاس الوحيد الذي كان له ت أثير معن وي ف يرج ع تحفي ز الص بغة إل ى له دور تنظيمي متحكم في إنتاج الصبغة ويعتمد ذلك ي تحفي ز فق د ك ان له ا ت أثير معن وي ف ي تحفي ز إنت اج

تأثير المثيرات على زيادة نشاط التيروسينيز .

كما لوحظ أن نوعية البيتاسيانينات و البيتازانثينات المنتجة بواسطة

المزرع ة الخلوي ة للبنج ر Beta vulgaris ه ي م ن خص ائص المزرع ة الت ي ق د تض بط وراثي ًا الظروف البيئية للمزرعة يمكن أن يؤثر على كمية البيتالينات المنتجة وليس على نوعيتها .

Production of Betalains in Suspension Cultures of Beta vulgaris

AZZA M. S. TAYEB

D. SAMIA J. KALKATAWI

ABSTRACT

The aim of this project was to investigate the production of betalains in cell cultures of Beta vulgaris under various culture conditions in an attempt to enhance the productivity of the cultures with regard to betalains and to study the control of betalain accumulation in cell cultures. Cell culture of Beta vulgaris was initiated and the relationship between the growth and betalain accumulation throughout the growth cycle was determined. The individual betalains produced by the cell cultures were also identified. The effect of various concentrations of growth regulators [2,4-dichlorophynoxyacitic acid (2,4-D) and kinetin (Kin.) were examined on growth, betalain production and tyrosinase activity. Also, various concentrations of some biotic and abiotic elicitors were applied to the cultures at various time throughout the growth cycle (on day 0, 8 and 12) and their effects were examined on the growth, betalain biosynthesis, and tyrosinase activity. Results of the study showed that the accumulation of betalains was synchronized with growth and the maximum was attained when the growth reach the maximum on day 14. Kinetin at 0.04 mg.l-1 enhanced the production of betacyanin and betaxanthin per gram F.wt. (45% & 12% respectively) and per culture. The growth, however, was reduced. Tyrosinase activity was remarkably increased at this level of kinetin. Betalain production was increased as the concentration of 2,4-D was decreased in the medium and the highest production of the pigments was achieved at 2,4-D of 0.005 mg/l-1 which was optimum for betacyanin and betaxanthin production, as they were increased by 83% & 50% respectively, mean while the growth was not significantly affected. Tyrosinase activity was substantially increased at this level of 2,4-D, comparing to the control

mg.l-1 2,4-D). When the effect of both growth regulators was examined while ٠.٠٢) maintaining the same ratio of 2,4-D/kin, results showed that enhancement of betalains at 0.005 mg.l-1 was due to the level of 2,4-D but not due to the change of 2,4-D/kin ratio. Elicitors have remarkably influenced the growth and betalain biosynthesis, Methyl Jasmonate enhanced the production of betacyanin and betaxanthin per gram F.wt. especially at the concentration of 30 µM when applied at day 0 (11 fold and 15 fold respectively). However, the growth was slightly decreased. β-glucan also increased the

production of both pigments (97% & 38% respectively) when supplied at 0.1 mg.l-1 on day 0. Chitosan has also increased the betacyanin and betaxanthin content by 123% & 64% respectively when supplied at level of 5 mg.l-1 on day 0. Among the examined abiotic elicitors copper sulfate at 0.5 mg.l-1 slightly enhanced the production of betacyanin (76%) and betaxanthin (43%) as applied on day 0. Other abiotic elicitors (zinc sulfate and manganese sulfate) had no significant effect. The main betacyanins produced by treated cultures and the control were betanin, companied with little production of isobetanine and the main betaxanthin was presented as Indicaxanthin. In conclusion, data from the study have shown that low concentrations of 2,4-D is favored for high production of betalains. The level of 2,4-D has a regulatory effect on betalain biosynthesis and part of its regulatory mechanism is related to its effect on tyrosinase activity. MJ, β-glucan, chitosan and copper sulfate have a stimulatory effect on betalain biosynthesis and the best time for their application is at the beginning of subculture and part of their regulatory mechanism is related to their effect on tyrosinase activity. The kind of individual betalains produced by the cultures is a characteristic of the cultures which may be genetically controlled. Various .culture conditions may affect the amount of the pigments but not the type