جامعة الموصل

كليـــة التربيـــة للعلوم الصرفة

دعم استحداث كالس نبات الكلغان *Silybum marianum* L. وتمايزه بالتعريض لنوعين من الليزر

علياء رعد مشعل علي المشهداني

رسالة ماجستير

علوم الحياة / علم النبات

بإشراف

الأستاذ المساعد

الدكتورة شفاء مهدي صالح الطائي

1439هـ 2018 م

الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالية التعرف على استجابة نبات الكلغان *Silybum marianum* L. للزراعة النسيجية من خلال استحداث الكالس من القطع المختلفة (الأوراق، الأوراق الفلقية، السيقان تحت الفلقية والجذور) وإنتاج الأفرع الخضرية وتجذيرها.

أظهرت نتائج الدراسة أن جميع أجزاء بادرات الكلغان استجابت بشكل جيد لاستحداث الكالس عند زراعتها على وسط MS الصلب المجهز بتراكيز مختلفة من منظمات النمو وكان أفضل وسط لاستحداث كالس الأوراق ،الأوراق الفلقية والجذور وإنتاج الأفرع الخضرية والتجذير وسط MS الصلب الحاوي على 2.0 ملغم/لتر NAA و0.5 ملغم/لتر BA . أما وسط MS الصلب المجهز بـ 2.0 ملغم/لتر NAA و1.0 ملغم/لتر BA فكان الأفضل لاستحداث كالس السيقان تحت الفلقية.

وأظهر كالس السيقان تحت الفلقية و الأوراق والأوراق الفلقية مقدرة جيدة على إنتاج الأفرع الخضرية بلغت 77.78 % و70 % و60 % على الترتيب . وبلغت نسبة تجذير الأفرع الناتجة من كالس السيقان تحت الفلقية 55.6 % ولتلك الناتجة من الأوراق والأوراق الفلقية 30.8 و44.4 على الترتيب .

كما تناولت هذه الدراسة تأثير الليزر الأخضر (Nd-YAG) ذي الطول الموجي532 نانوميتر وبقوة 87 ملي واط/سم^2 والليزر الأحمر (He-Ne) بطول موجي 650 نانوميتر وبقوة5 ملي واط/سم^2 وفي أوقات تعريض مختلفة 10 و15 و20 و25 و30 دقيقة على استحداث الكالس وإنتاج الأفرع الخضرية وتجذيرها وتقدير المحتوى البروتيني للكالس المعرض لليزر.

وكان تأثير الليزر الأخضر (Nd-YAG) ذي الطول الموجي 532nm وبقوة 87mw واضحاً في استحداث كالس بادرات الكلغان متمثلاً باختزال المدد الزمنية اللازمة لاستحداث الكالس من الأجزاء المختلفة وزيادة معدلات الاوزان الطرية للكالس ،وكانت أفضل معاملة لكالس الأوراق والأوراق الفلقية والجذور هي التعريض مدة 25 دقيقة لليزر الأخضر Nd-YAG أذ بلغ الوزن الطري للكالس 7.8 غم و 12.5غم و7.3 غم على الترتيب. في حين كانت أفضل مدة تعريض لكالس السيقان تحت الفلقية هي 20 دقيقة إذ وصل فيها معدل الوزن الطري للكالس إلى 13.3 غم . كما تبين أن مدة التعريض 20 دقيقة كانت مناسبة في تكوين الأفرع الخضرية من كالس الأوراق الفلقية التي بلغت 70 % ومدة التعريض 25 دقيقة مناسبة لكالس السيقان تحت الفلقية إذ وصل إنتاج الأفرع الخضرية إلى 90 % مع ملاحظة عدم مقدرة الأفرع الخضرية الناتجة من الكالس المعرض لليزر الأخضر على التجذير. وأظهرت النتائج زيادة بالمحتوى البروتيني لكالس الأوراق والأوراق الفلقية المعرضة لليزر الأخضر Nd-YAG الذي بلغ أعلى

مستوياته 0.570 ،0.707 ملي غرام/غم في مدة التعريض 25 دقيقة على الترتيب ، وأكدت النتائج ملاءمة مدة التعريض (30 دقيقة) للكالس الناتج من قطع السيقان تحت الفلقية والجذور إذ بلغ المحتوى البروتيني 0.750 و0.410 ملي غرام/غم .

أظهر الليزر الأحمر (He-Ne) بطول موجي 650nm وبقوة 5mw تأثيراً محفزاً لاستحداث الكالس من الأجزاء المختلفة لبادرات الكلغان من خلال اختزال المُدد الزمنية اللازمة للاستحداث .فضلاً عن زيادة معدلات الأوزان الطرية للكالس والمحتوى البروتيني ، إذ وصل وزن كالس الأوراق والسيقان تحت الفلقية والجذور الى6.2 غم و10.0 غم و 10.3 غم على الترتيب عند التعريض مدة 30 دقيقة ، في حين بلغ الوزن الطري لكالس الأوراق الفلقية 9.8 غم عند التعريض مدة 25 دقيقة .كما كان له تأثيّر في زيادة قابلية كالس الأوراق على تكوين الأفرع الخضرية التي وصلت الى 80 % عند التعريض مدة 25 دقيقة و70% للأوراق الفلقية المعرضة مدة 30 دقيقة وكانت المدة الزمنية لتكوين المجاميع الجذرية لهذه الأفرع هي 22 يوماً و25 يوماً على الترتيب. وأظهرت النتائج ان أعلى كمية للبروتين في كالس الأوراق والسيقان تحت الفلقية والجذور المعرضة لليزر الأحمرHe-Ne كانت 0.481 ، 0.548 ،0,484 ملي غرام/غم على الترتيب عند مدة التعريض 30 دقيقة. وسجل كالس الأوراق الفلقية أعلى كمية للبروتين بلغت 0.537 ملي غرام/غم عند مدة التعريض 25 دقيقة .

Abstract

The present study includes identification the response of *Silybum marianum* L. plant for tissue culture through initiation the callus from different explants (leaves, cotyledonary leaves, hypocotyls and roots), as well as plant regeneration.The results showed that all parts of *Silybum marianum* L. seedlings were responded successfully to callus induction on MS medium supplemented with different concentrations of growth regulators . Solid MS medium supplemented with 2.0mg/L NAA and 0.5mg/L BA was the best for callus initiation from leaves, cotyledonary leaves and roots. Moreover, this medium was suitable for shoot regeneration and rooting. While solid MS medium containing 2.0mg/L NAA and 1.0 mg/L BA was the best for hypocotyl explants.

The callus of hypocotyls, leaves and cotyledonary leaves showed a good ability for shoot regeneration which reached to 77.78, 70 and 60 % respectively. The percentage of rooting was 55.6 % for the shoots regenerated from hypocotyls, whereas 30,8 % , 44.4 % were the percentages for those regenerated from leaves and cotyledon leaves.

In the second part of the current study callus of *Silybum marianum* L. was exposed for 10,15,20,25 and 30 minutes to green laser (Nd-YAG) of wavelength 532nm, power 87mw and red laser (He-Ne) of 650nm wavelengt, power 5mw. The effect of green laser was clear by decreasing the time needed for callus induction, in addition to increasing the fresh weights of this callus which reached to 7.8gm, 12.5gm and 7.3gm for cotyledonary leaves and root callus at 25min exposing time. While the best exposing period for hypocotyls was 20min, since the fresh weight of callus reached to 13.3gm.

It became obvious that the treatment of 25min. exposing time to green (Nd-YAG) laser was the best for regeneration from hypocotyl's callus since the percentage of shooting reached to 90%,while that for cotyledons was 70% at 20min exposing period. Unfortunatety, all the shoots regenerated from laser treated callus failed in rooting.

The results showed increasing in the protein content of leaves and cotyledonary leaves callus exposed to Nd-YAG laser which reached its highest levels 0.570,0.707µg/ gm at 25min.exposed period respectively.It was proved that 30min exposing period was suitable for hypocotyles and root callus since the protein content reached 0.750 and 0.410 µg/ gm.

Red laser (He-Ne) had a stimulating effect on callus as the fresh weights of leaves , hypocotyls and roots were 6.2 gm,10.0gm and 10.3gm respectively at 30min. exposing time whereas,the fresh weights of cotyledonary leaves was 9.8gm at 25min exposing period. More than that, shoots regeneration ability was increased in leaves and cotyledonary leaves callus which became 80% and 70% when exposed to 25min and 30min respectively. The results indicated that highest contents of protein were 0.481 ,0.548 and 0.484 µg/ gm in leaves , hypocotyls and root callus respectively at 30min .exposing period.while highest content of protein for cotyledonary leaves callus was 0.537 µg/ gm at 25min. exposing time.