جامعة الموصل
كلية العلوم

تحفيز إنتاج كالس نبات اللوسينيا (*Leucaena leucocephala*) وتقدير مركب الميموسين Mimosine فيه باستخدام تقانة زراعة الانسجة النباتية

رشا محمد صالح حمزة الحمزة

رسالة ماجستير
علوم الحياة / علم النبات

بإشراف
المدرس
الدكتورة أزهار حسين علي الشهواني

1442هـ
2021م

الخلاصة

تم في هذه الدراسة استحداث الكالس من قطع الأوراق والسيقان تحت الفلقية لبادرات أشجار اللوسينيا *Leucaena leucocephala* باستخدام منظمات نمو مختلفة، وتضمنت الدراسة بيان دور نترات الفضة $AgNO_3$ كعامل تحفيز elicitor بالتراكيز (12,10,8,6,4,2) ملغم لتر$^{-1}$، في إنبات بذور أشجار اللوسينيا ونمو البادرات وكذلك في استحداث الكالس من قطع الأوراق والسيقان تحت الفلقية للبادرات في أوساط MS الحاوية على تراكيز نترات الفضة والمجهزة بتراكيز مختلفة من منظمات النمو القياسية 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)، Benzyl adenine (BA)، (NAA) Naphthalene acetic acid سواء لوحدها أم بتداخلات فيما بينها، واشتملت الدراسة أيضاً بيان دور نترات الفضة في ايض مركب الميموسين، واستخدمت تقانة الفصل كروماتوكرافيا السائل ذي الأداء العالي(HPLC) لتشخيص المركب وتحديد تركيزه.

أوضحت النتائج أن الوسط الحاوي على التركيز 2 ملغم لتر$^{-1}$ من $AgNO_3$ هو افضل الأوساط مقارنة بـ MS0 من حيث مدة إنبات البذور، وكان لتواجد نترات الفضة في الوسط الغذائي تأثير على نمو البادرات وفي مؤشرات النمو للبادرة من ارتفاع للساق وطول للجذر وعدد التفرعات الخضرية وعدد الأوراق لكل بادرة، إذ أعطى الوسط المزود بتركيز 2 ملغم لتر$^{-1}$ من نترات الفضة هو الأفضل من حيث معدل ارتفاع الساق مقارنة بوسط MSO، أمّا من ناحية طول الجذر فقد أعطى الوسط المزود بـ6 ملغم لتر$^{-1}$، أعلى معدل لطول الجذر، من ناحية أُخرى فإن الوسط المزود ب 8 ملغم لتر$^{-1}$ من $AgNO_3$، أعطى اكبر معدل لعدد التفرعات وبمعدل أعلى للأوراق.

تضمنت الدراسة أيضاً بيان دور منظمات النمو في استحداث الكالس من قطع الساق والأوراق ومقارنته بالكالس النامي على نفس الأوساط الغذائية والمزودة بتراكيز من نترات الفضة. وكان لتداخل BA مع NAA الدور المشجع في زيادة نسبة الاستحداث إذ تميز وسط (Murashige & Skoog) (MS) المزود بتركيز (2.0)ملغم لتر$^{-1}$ لكل منهما بتسجيله نسبة استحداث 90.69% و90.24% من قطع السيقان تحت الفلقية والأوراق على التوالي، وتميز الكالس بقوامه المتماسك مع ملاحظة اختلاف لونه حسب مصدر القطعة النباتية explant المستخدمة، إذ بدا الكالس الناتج من قطع السيقان بلون أصفر، بينما الكالس الذي اصله من قطع الأوراق تميز باللون الأخضر.

واتضح من النتائج أن إضافة $AgNO_3$للوسط الحاوي على NAA وBA بتركيز (2.0)ملغم لتر$^{-1}$ لكل منهما أظهرت أعلى نسبة استحداث للكالس من قطع السيقان تحت الفلقية المأخوذة من بادرات أشجار اللوسينيا وذلك عند تركيز 6 ملغم لتر$^{-1}$ من نترات الفضة والتي بلغت 90.78% والكالس الناتج اظهر نمطا للنمو من قوام هش ولون أبيض، وبعد مدة 45 يوماً حصل تمايز للكالس أدى لإعطاء مجموع خضري، بينما نجد أن التركيز 8 ملغم لتر$^{-1}$ من نترات الفضة قد أظهر تمايزاً للكالس باتجاه تكوين الجذور.

أظهرت نتائج استخدام تقانة كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء HPLC أدلة على نقصان مركب الميموسين بشكل ملحوظ بإضافة منظمات النمو النباتية وخاصة BA مع 2,4-D بتركيز 1.5 ملغم$^{-1}$ لكل منهما عند قياسه في مستخلصي الكالس للساق والورقة وبدون إضافة نترات الفضة عند تحديد زمن الاحتباس والمساحة تحت المنحني وكذلك التركيز مقارنة بالعينة القياسية، نجد أن الكالس النامي على الوسط الحاوي على نترات الفضة كانت نسبة الميموسين منخفضة مقارنة ببقية العينات وخصوصا في المستخلص المائي لكالس الساق الحاوي على BA مع NAA بتركيز 2 ملغم لتر$^{-1}$ لكل منهما وخصوصا في المستخلص المائي لكالس الساق مقارنة بالمستخلص المأخوذ من كالس الورقة.

Abstract

The Current study has managed to initiate callus from leaves and hypocotyl stems explants of *Leucaena leucocephala* trees seedlings, using different plant growth regulators, the study also included a display of the role of silver nitrate $AgNO_3$ as elicitor factor in(2,4,6,8,10,12)mg L^{-1} Concentration, in germination and growth of *Leucaena* seedlings also in callus initiation from leaves and hypocotyl stems of seedling in MS media which contain different Concentration of silver nitrate with combination of different Concentration of standard plant growth regulators 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D), Benzyl adenine (BA), Naphthalene acetic acid(NAA), whether alone or in overlaps among each other. in addition the study also included displaying the role of $AgNO_3$ in mimosine compound metabolism, the technology of isolation by the chromatography of high performance liquid (HPLC) was used to identify the compound and determine its Concentration.

The results showed the superiority of the medium that contained 2 mg L^{-1} of $AgNO_3$ as to germination period of seeds, the existence of $AgNO_3$ in the nutrition medium has effect on seedling growth, and also affects the growth indicators of the seedling as to the height of the stem and the length of the root, the number of vegetative branches, the number of leaves for each seedling. We found that the medium of 2 mg L^{-1} of $AgNO_3$ is the best as to the average of the stem height compared to MSO medium. As to the length of the root the medium with 6 mg L^{-1} of $AgNO_3$ give the highest average of the root length.

on the other hand, the medium with 8 mg L^{-1} of $AgNO_3$ gave the largest average of the number of branches and with higher average of leaves.

The study also included the display of the role of growth regulator in initiating the callus from stems and leaves explants and comparing it with the callus growing on the same nutrition media supplied with concentration of $AgNO_3$. the interaction of BA with NAA has a stimulating role in increasing initiation rate, where MS with 2.0mg L^{-1} for each other was distinguished in

recording a rate of initiation of 90.69% and 90.24% of hypocotyl explants and leaves, the result callus was characterized by its cohesive nature noticing its different color according to the origin of the explant used. The callus resulting from stem explants showed a yellow color, while the callus of leaves explants origin showed a green color.

The results showed that when adding $AgNO_3$ to the medium containing NAA & BA with 2.0 mg L^{-1} for each of them, the highest initiation rate of the callus resulting from hypocotyl stem explants taken from Leucaena trees seedling was when the concentration was 6 mg L^{-1} $AgNO_3$, the rate was 90.78%, the resulting callus showed a style of growth with brittle texture and white color, after 45 days of growth a differentiation of callus took place resulting in giving to shoot, while we found that 8 mg L^{-1} $AgNO_3$ has showed a callus differentiation towards forming roots.

The results showed by using HPLC evidence that memosine compound was affected significantly when adding plant growth regulators especially BA & 2,4-D with concentration 1.5 mg L^{-1} of each of them when measuring it in the callus extract of the stem and leaf without adding $AgNO_3$, when determining retention time, area under Curve and also the concentration. Compared with the standard sample. While when adding $AgNO_3$ to growth media supplied with concentration of plant growth regulators currently being studied, we founded that the best medium which helped in reducing the callus content of mimosine compound, was the medium which contain 2 mg $L^{-1}$of BA and NAA for each of them especially in aqueous extract of stem callus compared to extract taken from leaf callus

University of Mosul

College of Science

Stimulating the Callus Production of (*Lencaena leucocephala*) and Estimating Compound Mimosine by Plant Tissue Culture Technique

Rasha Mohamad Salih

M.Sc. Thesis

In

Biology / Botany

Supervised By

Lecture

Azhaar Hussien Ali Al-Shahwany

1442 A.H. **2020 A.D.**