جامعة الموصل
كلية العلوم

انتاج مزارع الكالس من بادرات شوك الجمل *Silybum marianum* والكشف عن مركب السلبن

صباح عبد الله صالح البدراني

رسالة ماجستير
علوم الحياة / علم النبات

بإشراف
الأستاذ المساعد
الدكتورة رحاب عبد الجبار حامد البكر

1442هـ 2020م

الخلاصة

هـدفت الدراسـة فـي **محورهـا الاول** ايجـاد الطريقـة المثلـى لتعقـيم بـذور نبـات شـوك الجمـل *Silybum marianum* L. و الحصـول علـى بـادرات سليمة، واستخدم لذلك طرائق مختلفة للتعقيم، خلصت الى ان افضل معاملة هي نقع البذور بالماء المقطر المعقم لمدة 24ساعة، ثم غمرت بالكحول الاثيلي 70% لمدة 3 دقائق، بعدها بمحلول القاصر التجاري (هايبوكلورات الصوديوم NaOCl) 2.5% لمدة 10 دقائق ثم بـ Twean 20 بتركيز 0.1% لمدة 10 دقائق، اذ بلغت نسبة الإنبات 88% وكفاءة النمو 94%.

وتضـمن **المحـور الثـاني** مـن الدراسـة برنامجـاً واسـعاً لغـرض اسـتحداث و تنميـة مـزارع الكـالس، أُسـتخدمت فيـه قطـع البـادرات المعقمـة (الجـذور، الأوراق، السـيقان والعقـد) وزرعـت علـى أوسـاط MS الصلبة المدعمة بتراكيز منتخبة من Benzyl adenin (BA) وتداخله مع تراكيز منتخبة من 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) وكذلك تداخل تراكيز (BA) مع تراكيز منتخبة من Naphthalene Acetic Acid (NAA).

نجحت الأوساط المدعمة بـ 1.0 ملغم/لتر من (BA) و(2,4-D) في تحفيز استحداث ونمو الكالس، اذ بلغ الوزن الرطب لكالس الجذور (2.4، 3.1، 4.1) غم خلال (40، 80 و 120) يوم، اكدت النتائج ان قطع الجذور والعقد كانت الأكثر استجابة لإستحداث الكالس شهدت حيوية الكالس زيادة واضحة لمعظم مزارع الكالس وفي عمر 120 يوماً تفوقت مزارع كالس الجذور في حيويتها اذ بلغت 95%، واثبتت النتائج تباين مستوى البروتين في المزارع الكالس باختلاف مصدر الكالس وعمره ولوحظ انه بزيادة عمر الكالس يزداد مستوى البروتين فيه اذ بلغ اعلى مستوياته 1.64 ملغم/غم في كالس الجذور بعمر 120 يوماً.

كما أظهرت النتائج ان أفضل الأوساط التي حصل عليها الإستحداث والنمو الجيد للكالس هي أوساط MS الصلبة المدعمة بالتراكيز (3.0، 5.0) ملغم/لتر من BA وNAA، اذ بلغ الوزن الرطب لكالس الجذور النامي عليها (2.7، 4.0، 5.5) غم خلال الأعمار (40، 80 و 120) يوماً، كما سجلت مزارع كالس الجذور اعلى مستوى للحيوية خلال الأعمار المختلفة على باقي مزارع الكالس، وكذلك بالنسبة لتركيز البروتين، اذ بلغت اعلى مستوياته ولجميع المراحل العمرية في مزارع كالس الجذور، ووصل مستواه الى 2.18 ملغم/غم في عمر 120 يوماً. لذا عدت هذه الأوساط المثلى لتحفيز استحداث ونمو الكالس من القطع النباتية المختلفة لبادرات نبات شوك الجمل، وتفوقت مزارع الجذور Root culture على بقية المزارع في ذلك.

اشـتمل **المحـور الثالـث** مـن الدراسـة الكشـف عـن فاعليـة المجـال المغناطيسـي (M.F.) Magnetic field فـي إنبـات البـذور ونمـو بـادرات نبـات شـوك الجمـل *Silybum marianum*

وكذلك تاثيره في استحداث ونمو مزارع الكالس المختلفة وقياس المؤشرات الحيوية المختلفة للكالس، واخيرا بيان دور المجال المغناطيسي في تراكم المركب الفعال السلبن(Silybin) في مزارع الكالس، بالاعتماد على تقنية كروماتوكرافيا السائل الفائق الاداء (HPLC) High Performance Liquid Chromatography في فصل وتشخيص المركب وتقدير كميته.

واثبتت النتائج ان للمجال المغناطيسي دوراً واضحاً في زيادة نسبة إنبات البذور ونمو البادرات إذ بلغت نسبة الإنبات 92% وكفاءة النمو 98% وكذلك بالنسبة لإستحداث الكالس، كما تميزت مزارع الجذور على بقية المزارع عند التعرض للمجال المغناطيسي بالاعتماد على المؤشرات الحيوية المختلفة من وزن رطب وحيوية وكمية البروتين الكلي في المزارع والتي بلغت 4.0 غم، 96%، 1.85 ملغم/غم وزن رطب على التوالي.

كشفت النتائج نجاحا ملحوظا للمجال المغناطيسي في زيادة تراكم مركب السلبن في جميع مزارع الكالس المستحدثة، وعدت مزارع الكالس المستحدثة من قطع السيقان Stems culture الافضل من حيث مستوى تراكم السلبن فيها، تليها مزارع الأوراق والعقد، وكانت مزارع الجذور الاقل في محتواه من مركب السلبن بالاعتماد على زمن الاحتباس (R.T.) والمساحة تحت المنحنى للعينة القياسية (S.T.).

Abstract

The study aimed in its **first part** to find the best method for sterilization *Silybum marianum* L. plant seeds for getting best seedlings , using different methods of sterilization. The best treatment was concluded by soaking the seeds in sterile distilled water for (24) hours, then submerge in 70% ethanol for (3) minutes, Then submerge in 2.5% sodium hypochlorite (NaOCl) solution for (10) minutes, Then with 0.1% Tween 20 for (10) minutes, germination percentage was 88% and growth efficiency 94%.

The second part of this study included a large scale program for initiation and grow callus culture from sterilized seedlings segments (roots, leaves, stems and nodes) had been cultured on solid MS medium supplemented with selected concentrations of Benzyl adenine (BA), and its interaction with selected concentrations of 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D), as well its interaction with selected concentrations of (NAA) Naphthalene Acetic Acid.

The medium which supplemented with (1) mg/L of (BA) and (2,4-D) had been succeeded to induction of calls growth, which produce (2.4 , 3.1 , 4.1) gm. fresh weight of root callus within (40, 80 and 120) days.The results indicated that roots and nodes segments have more response than others to initiate of callus . The viability of callus showed a noticeable increase in most of callus cultures, in (120) days the callus of roots exceeded their viability which reaches 95% , also the results indicated that variation in protein level in callus culture with different in callus source and age ,It was observed that with increasing the age of callus, the level of protein in it increased, and its highest levels reached (1.64) mg/g in root callus in (120) days.

Results also revealed that the best initiation and growth of callus was occurred in MS medium supplemented with (3.0, 5.0) mg / L of BA and NAA, which produce (2.7, 4.0, 5.5) gm. fresh weight of root callus in (40,80 and 120) days. the callus of roots recorded the highest level of viability during different

ages on the rest of the callus cultures , as well as for protein concentration which reached (2.18) mg/g in (120) days. Therefore, these medium were returned to stimulate the development and growth of callus from different segments of the seedlings, and the root culture had been surpassed the rest of the other cultures in it.

The third part of this study included the detection of the activity of the magnetic field (M.F.) in seeds germination and seedlings growth of *Silybum marianum* L. , as well as its effect on the development and growth of different callus cultures ,and measuring the different biomarkers of callus, and finally, explaining the role of the magnetic field (M.F.) in the accumulation of silybin in callus cultures, based on the High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Technique in separating, diagnosing and quantifying this compound.

The results indicated a clear role of magnetic field in increasing the percentage of seed germination and seedling growth, as the germination rate reached 92% and the growth efficiency 98% , also about callus initiation , the callus of roots exceeded on the other cultures when expose there to magnetic field , depending on different biomarkers which reached (4.0) gm , (99)% , (1.85) mg/g wet weight, respectively.

The results of (HPLC) revealed a dramatic increase in accumulation of active compound (silybin) by magnetic field in all callus cultures depending on Retention time (RT) and area under the curve for the standard sample (ST) , and stems callus were returned the best from others cultures in level of accumulation of (silybin) , followed the leaves and nodes cultures and the roots cultures were the least of them.

University of Mosul
College of Science

Callus Initiation from *Silybum marianum* Seedlings and Investigation of Silybin

Sabah Abdulla Salih Al-Badrany

Ms.C. Thesis

Biology / Botany

Supervised By

Assist. Prof. Dr. Rehab Abdul-Jabbar Al-Baker

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