وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربيّة للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

تأثير مستخلص المهيج الحيوي *Aspergillus niger* على انتاج حامض السالسيلك في مزارع الكالس والمعلقات الخلوية لنبات الاقحوان *Calendula officinalis* L.

رسالة مقّدمة إلى

مجلس كليّة التربيّة للعلوم الصرفة–جامعة ديالى وهي جزء من

متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل

فرح قاسم علي عنفوص

بكالوريوس علوم حياة / كلّية التربيّة للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

2016–2015

بإشراف

د. مثنى محمد إبراهيم

أستاذ مساعد

د. رباب مجيد عبد

مدرس

جمادى الأول 1440 هـ

كانون الأول 2019 م

Introduction المقدمة

يعد نبات الاقحوان *Calendula officinalis* L. أحد نباتات العائلة المركبة Asteraceae وهو من النباتات الحولية الشتوية العشبية، إذ يستخدم في الكثير من المجالات الطبية (عرموش، 1999). يستعمل مستخلص النبات كمضاد للأكسدة وعلاج للربو وكمادة مقشعة ومليّنة لاحتوائه على مواد متعددة السكريات ذات الطبيعة اللزجة (شمس الدين، 2000)، فضلاً عن إن ازهار الاقحوان تحتوي على زيوت عطرية تمتاز بخواصها القاتلة للفيروسات وكمضادات لمسببات التسمم والالتهابات، في حين تميزت أوراقه بأحتوائها على مركبات فعّالة طبيا تستخدم لتثبيط الخلايا السرطانية (Medina وآخرون، 2006 و Amoian وآخرون، 2010).

ذكر Bashir وآخرون (2006) إن لنبات الاقحوان استخدامات واسعة في مجال الطب الشعبي إذ اعتمدت ازهاره لعلاج الحصبة والجدري واليرقان والامساك فضلا عن دورها في تقليل النزيف الحيضي.

استعملت تقنية الزراعة النسيجية للعديد من النباتات الطبية في مجال إنتاج مركبات الأيض الثانوية ذات الفعالية الحيوية لما توفره هذه التقنية من ظروف ملائمة لتنمية المزارع النسيجية على مدار السنة، فضلاً عن ما توفره من الإنتاج السريع للمركبات الثانوية بعيدا عن التقيد بالموسم الزراعي او الحاجة الى مساحات زراعية واسعة (Purohit، 1999 و Karuppusamy، 2009).

قد بين Radman وآخرون (2003) امكانية حث البناء الحيوي لبعض مركبات الأيض الثانوية التي تقوم بإنتاجها النباتات عند تعرضها لعامل شد حيوي أو غير حيوي، إذ تعد العوامل المظهرة Elicitors من العوامل المهمة لتحفيز الخلايا النباتية النامية في المزارع النسيجية لإنتاج مركبات الأيض الثانوية بعملية

تدعى الإظهار Elicatation، وتعد الفطريات من افضل المظهرات الحيوية لكونها تعمل على تحفيز الخلايا النباتية لإنتاج مركبات الأيض الثانوية كالفلافينويدات والفينولات كما هو الحال في استخدام الفطر *Aspergillus niger* كمظهر حيوي (Shanker وShanker، 2016).

يعد حامض السالسيلك من أهم مركبات الأيض الثانوية التي تلعب دورا مهماً في مقاومة النبات للعديد من الامراض (Hayat وآخرون، 2010)، لما له من دور في احداث المقاومة النباتية ضد المسببات المرضية من خلال دورهُ في استحثاث إنتاج النبات للبروتينات المرتبطة بالامراضية Pathogenesis-Related proteins (Yalpani وآخرون، 1993 وVerberne وآخرون، 1999)، كذلك يشترك حامض السالسليك في المقاومة المكتسبة التي تحدث نتيجة لهجوم المسبب المرضي في جزء واحد من النبات والتي ينتج عنها استحثاث المقاومة في الأجزاء الأخرى (Wasternack وآخرون، 2013).

ركزت العديد من الدراسات السابقة على دراسة تأثير إضافة حامض السالسيلك، في سير العمليات الحيوية والفسلجية وفي بناء مركبات الأيض الثانوية كمسار من مسارات البناء الحيوي، ودراسة دوره في تحفيز المقاومة للمسببات المرضية، في حين كإن توجه هذه الدراسة الى دراسة بعض العوامل التي تحفز بناء حامض السالسيلك في النبات لذلك هدفت الدراسة الحالية الى:

1- دراسة تأثير نوع الجزء النباتي ومنظمات النمو في استحثاث الكالس

2- إنشاء مزارع معلقات خلوية نموذجية

3- دراسة تأثير تراكيز مختلفة من مستخلص الفطر *Aspergilus niger* على إنتاج حامض الساليسيلك في مزارع الكالس ومزارع المعلقات الخلوية

الخلاصة

نُفذت الدراسة في كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة / مختبر زراعة الخلايا الانسجة النباتية بهدف دراسة تأثير المهيج الحيوي *Aspergillus niger* في انتاج حامض السالسيلك في مزارع الكالس ومزارع المعلقات الخلوية لنبات الاقحوان *Calendula officinalis* L. وكانت النتائج على النحو التالي.

1. إن أفضل استحثاث للكالس تم الحصول عليها من الاجزاء النباتية للاوراق الحقيقية والفلقية عند زراعتها على وسط MS مدعم بتركيز 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ 2,4-Dichloro phenoxy Acetic Acid متداخلا مع 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ Kinetin والذي سجل اعلى وزن رطب بلغ 2.2350 و2.7125 غم على التوالي بعد مرور أربعة اسابيع على زراعتها، وامتاز الكالس المستحث من ألاوراق الحقيقية بقوامهِ الصلب على النقيض من الكالس المستحث من ألاوراق الفلقية الذي امتاز بقوامهِ الهش.
2. نجحت الدراسة في انشاء معلقات خلوية نموذجية من الكالس الهش للاوراق الفلقية على وسط MS المدعم بتركيز 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ 2,4-D متداخلاً مع 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin.
3. اعلى محتوى من حامض السالسيلك 1.147 ملغم.غم$^{-1}$ تم الحصول عليها من مزارع الكالس بعد مرور 30 يوم على عمر المزرعة النامية على وسط MS المدعم بتركيز 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ 2,4-D متداخلا مع 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$ Kin واظهرت نتائج إضافة مستخلص فطر *Aspergillus niger* بتركيز 0.0 ، 1.0، 1.5، 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ كمظهر حيوي الى وسط النمو MS، ان تركيز 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ من مستخلص الفطر اعطى اعلى تركيز من حامض