جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى
كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

((تكوين بادئات الكالس بطريقتي النشر والطمر وتأثير كثافة المعلقات الخلوية لنبات ورق السكر*Stevia rebaudiana* Bertoni على محتواها من Stevioside))

رسالة مقدمة إلى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة ديالى وهي جزء من
متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل

مصطفى عبد الكريم مصطاف العزاوي

بكلوريوس علوم حياة / كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة ديالى

(2015 – 2016)

بإشراف

الأستاذ الدكتور
نجم عبد الله جمعة

الأستاذ المساعد الدكتور
مثنى محمد إبراهيم

2020 م

1441 هـ

المقدمة

تعد النباتات الطبية واحدة من اهم النباتات التي تزرع من الناحية الاقتصادية ويمكن ان تستخدم بشكل مادة خام أو مصنعة، ومن بين تلك النباتات نبات ورق السكر(*Stevie rebaudiana* Bertoni) الذي يعد من النباتات الطبية ذات المردود الاقتصادي الجيد. ينتمي نبات ورق السكر الى العائلة النجمية Asteraceae، ويعرف النبات بأسماء كثيره منها Sugar bush و Candy leaf plant و Honey plant (Mubarak وآخرون، 2008). يعد شرق امريكا الجنوبية وتحديدا البرازيل الموطن الاصلي لنبات ورق السكر (Ahmed وآخرون، 2011). اما نقطة الانطلاق في انتشار زراعة هذا النبات جاءت بعد اكتشاف الفوائد الكثيرة للنبات قبل حوالي 40 عام، على اثرها تم نقل النبات من البرازيل الى اليابان، ثم نقلت زراعته الى الصين، التي اصبحت اليوم من الدول التي تتصدر قائمة الدول المنتجة بمساحة زراعة تصل الى 25000 الف هكتار. في الوقت الذي تحتل الهند المرتبة الاولى عالميا بمعدل انتاج بلغ 2–3 طن.هـ$^{-1}$ من الاوراق الجافة، والصين في المرتبة الثانية بمعدل انتاج بلغ 1–2 طن.هـ$^{-1}$ من الاوراق الجافة (Brandle و Rosa، 1992). يستخدم النبات بشكل واسع على النطاق التجاري في الصناعات الدوائية والغذائية (Mishra وآخرون، 2010). اذ تحتوي اوراق النبات على السكر الذي مصدره مركب Stevioside والعديد من الكلايكوسيدات (Yoshida، 1986). والتي تنتمي الى المركبات الكلايكوسيديه التربينية. وتتميز المادة السكرية في هذا النبات بانها احلى من السكر الخام بمقدار يتراوح بين 250–450 مرة حسب الاصناف المزروعة (Gerami وآخرون، 2017). يتكاثر نبات ورق السكر اما خضريا بالعقل الساقية او جنسيا بالبذور، إذ تواجه طريقة الاكثار بالبذور العديد من المشاكل اهمها نسبة

الانبات المنخفضة، لوجود حالة عدم التوافق الذاتي الذي يعمل على فشل الاخصاب (Miyazaki و Wantenabe، 1974). فضلا عن اختلاف التركيب الوراثي للنباتات الناتجة عن البذور، وبالتالي اختلاف محتوها من المادة الحلوة كمياً ونوعيا بسبب عدم التجانس الوراثي للبذور (Miyagawa وآخرون، 1986). وللتغلب على هذه المشكلة فقد تم استخدام تقنية زراعة الانسجة النباتية في الاكثار الواسع لنبات ورق السكر في الكثير من دول العالم (Noordin وآخرون, 2012 و Abdul Razak وآخرون 2014). اذ تعد زراعة الانسجة من التطبيقات الاكثر اهمية في اكثار النباتات الطبية باستخدام تقنية الاكثار السلالي السريع، فهي تحافظ على الصفات الوراثية والنوعية، وتحافظ على الاصول الوراثية للأصناف النباتية المهددة بالانقراض، كذلك استخدمت في انتاج المركبات الثانوية تحت ظروف ملائمة ومسيطر عليها من خلال توظيف المعلقات الخلوية او مزارع الكالس التي اصبحت المصدر النموذجي الاسرع في انتاج المركبات الصيدلانية بكميات كبيرة وبصورة مستمرة وبعيدا عن تداخلاتها مع المركبات الاخرى، او التقيد بالظروف البيئية فضلا عن امكانية تحويرها وراثيا لزيادة انتاجيتها من هذه النواتج الطبيعية (Mulabagal وTsay، 2004 وKaruppusamy، 2009). تعد المعلقات الخلوية نظاما للمزارع الخلوية التي توجد في حالة عشوائية تماما عند زراعتها في الوسط الغذائي السائل المتحرك، تتكون من مجموعة من الخلايا تشتق من الكالس الهش وتمتلك هذه الخلايا القدرة على الانقسام والقيام بالفعاليات الحيوية المختلفة (الجواري، 2004). يعتمد نجاح زراعتها على نوع الوسط الزرعي وكثافة الخلايا المعلقة (رشيد وقاسم، 2006). وقد اشار Davey وAnthony (2010) الى امكانية نشوء مزارع المعلقات الخلوية بوصفها مصدرا بديلاً يمكن من خلاله سد الحاجات المتزايدة من نواتج الايض الثانوي الصيدلانية والطبية من مصادرها النباتية الطبيعية.

على هذا الاساس بنيت اهداف الدراسة لتشمل :

1. دراسة تأثير منظمات النمو في انشاء مزارع معلقات نموذجية.
2. دراسة تأثير زراعة كثافات مختلفة من المعلقات الخلوية بطريقة النشر والطمر في تكوين بادئات الكالس.
3. دراسة تاثير تراكيز مختلفة من السكروز على انتاج مركب الستيفوسيد Stevioside في المزارع النسيجية للكالس والمعلقات الخلوية .

الخلاصة

نفذت الدراسة في جامعة ديالى/ كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة/ مختبر زراعة الخلايا والأنسجة النباتية بهدف اختبار دور بعض منظمات النمو النباتية في إستحثاث الكالس من الاوراق لنبات ورق السكر *Stevia rebaudiana* Bertoni النامي على وسط MS شملت على Naphthalene acetic acid (NAA) المتداخلة مع Thidiazuron (TDZ) أو Benzyl adenine (BA)، وانشاء مزارع الخلايا المعلقة المشتقة من الكالس الهش وزراعتها بطريقتي النشر والطمر، فضلاً عن تقدير محتوى الاوراق النباتية والمزارع النسيجية من مركب الستيفوسايد Steviosid

وقد اشارت النتائج الى ما يلي :-

1. ان افضل استحثاث للكالس تم الحصول عليه من الاوراق النباتية عند زراعتها على وسط MS المدعم بتركيز 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$ Naphthalene acetic acid (NAA) متداخلا مع 0.5 ملغم.لتر $^{-1}$ Thidiazuron (TDZ) او Benzyl adenine (BA) بنسبه استحثاث بلغت 100% مقارنة مع معاملة المقارنة التي بلغت نسبة الاستحثاث فيها 0% واعلى معدل للوزن الرطب البالغ 0.963 غم.قطعة$^{-1}$ بوجود TDZ و 0.624 غم.قطعة$^{-1}$ بوجود BA وامتاز الكالس المستحث بوجود TDZ بقوامه الهش، بينما امتاز الكالس المستحث بوجود BA بقوامه الصلب.
2. نجحت الدراسة بأنشاء معلقات خلوية نموذجية من الكالس الهش المستحث من الاوراق النباتية في وسط MS السائل المدعم بتركيز 2.0 ملغم.لتر$^{-1}$من NAA متداخل مع 0.5 ملغم.لتر $^{-1}$من TDZوالحاوي على سكروز بتركيز 30 غم.لتر$^{-1}$، او نفس الوسط والحاوي على سكروز بتركيز 90