تاثير المستخلصات الكحولية لكالس نبات البابونج *Matricaria chamomilla* L. في استحداث ونمو كالس سيقان بادرات نبات الحبة السوداء *Nigella sativa* L. ومحتواه البروتيني

رنا طارق يحيى الطائي
قسم علوم الحياة/كلية العلوم/جامعة الموصل

الخلاصة

تناولت الدراسة الحالية تأثير المستخلصات الكحولية لنبات البابونج *Matricaria chamomilla* L. في استحداث ونمو كالس سيقان نبات الحبة السوداء *Nigella sativa* L. فضلاً عن محتواه البروتيني. اذا ابدت القطع النباتية استجابة مختلفة لاستحداث ونمو الكالس باختلاف تراكيز المستخلصات الكحولية لنبات البابونج المضافة الى الوسط القياسي لاستحداث ونمو كالس الحبة السوداء[MS+٠,٢٢١ ملغم/لتر 2,4-Dichchlorophenoxyacetic acid (2,4-D)] .تشير النتائج الى ان اضافة ٥ ملغم/لتر من المستخلص الكحولي الى وسط (MS) القياسي كان الافضل لاستحداث ونمو الكالس بعد مرور ٦٠يوما وبمعدل وزن طر ١٢,١١ غم مقارنة بـ ٦,٣٥ غم للوسط القياسي وزيادة محتوى البروتين الكلي بمعدل ١,٢١ ملغم/ غم مقارنة بـ ٠,٦١ ملغم/غم للوسط القياسي.وان اضافة المستخلصات الكحولية لوحدها الى وسط MS حفز وبدرجات مختلفة استحداث ونمو الكالس، اذ ان اضافة نفس التركيز (٥ ملغم/لتر) لوحده الى وسط MS حفز بدرجة كبيرة استحداث ونمو الكالس بعد مرور ٦٠يوما وبمعدل وزن طر ٨,٥٤ غم وبمحتوى بروتيني ٠,٨٨ ملغم/غم مقارنة مع وسط MS لوحده.

المقدمة

اصبح من المعروف ان منظمات النمو تعد عاملا مهما وضروريا في الوسط الغذائي لانقسام ونمو الخلايا المستمر والتي أمكن استبدالها بمستخلصات نباتية طبيعية لاستحداث ونمو الكالس .اثبتت الدراسات ان نبات البابونج *Matricaria chamomilla* L. يحتوي على تنوع عالي من المركبات الكيمياوية الفعالة والتي تعد محفزات للنمو فمثلا يحتوي البابونج على الجبرلينات، الكلايكوسيدات، القلويدات ، التربينات، الازولينات وغيرها من المركبات ذات التأثير التحفيزي للنمو (الطائي، ٢٠٠٥و Presbella واخرون ، ٢٠٠٦). فقد وجد في احدى الدراسات ان مستخلص نبات القسطناس *Saussurea obvallata* الذي ينتمي كالبابونج الى عائلة Asteraceae يحتوي على مدى واسع من المركبات المؤثرة في النمو والتي يمكن ان تتداخل مع نمو أعشاب أخرى كتداخلها مع قطع الحبة السوداء وبالتالي إعطاء تأثير مضاعف في استحداث وتحفيز النمو(Dhar و Joshi ،٢٠٠٥ و Ratlamwala ،٢٠٠٦). حيث ان اضافة المستخلصات الطبيعية لهذه النباتات الى المكونات الاساسية للاوساط الغذائية يساعد وبدرجة عالية في تحفيز نمو الانسجة والاجزاء النباتية المختلفة المزروعة (Emma ،٢٠٠٩). كما اشارت دراسة اخرى ان استخدام المستخلصات المائية لجذور النباتات السرخسية سبب تأخير انبات البذور وخفض في النسبة المئوية للانبات (الذي يعود الى زيادة نشاط انزيم peroxidase بالاضافه الى التاثيرات الاخرى المباشرة والغير مباشرة منها التداخل مع وظيفة المايتوكندريا وبناء البروتين (الراوي ، ١٩٩٣). وانطلاقا من مبدا البحث عن تقنيات بسيطة لاستحداث واخلاف النباتات باستخدام مستخلصات طبيعية من نباتات معينة للاستغناء عن استخدام منظمات النمو المصنعة او لزيادة فعاليتها فقد استهدف البحث امكانية استخدام المستخلصات الكحولية لنبات البابونج في تحفيز نمو كالس نبات الحبة السوداء سواء في حالة استخدامها لوحدها او مع منظم النمو القياسي وبتراكيز مختلفة لاستنباط أفضل وسط يشجع استحداث الكالس وتكوين النباتات لاستخدامه في التجارب.

مواد البحث وطرائقه

استحداث كالس نبات البابونج *Matricaria chamomilla* L. : تم استخدام الوسط القياسي للبابونج المكون من وسط MS المضاف له ٠,٠٢٢٥ ملغم/لتر BA (Benzyladenine) و٠,٠٠١٩ ملغم/لتر NAA (Naphthaleneacetic acid) لاستحداث كالس نبات البابونج (الطائي، ٢٠٠٥) تم زراعة

قطـــع

تاريخ تسلم البحث ٢٠١٠/٦/٢٨ وقبوله ٢٠١٠/٩/٢٠

سيقان نبات البابونج المأخوذة من التربة بعد تعقيمها بمحلول هايبوكلورايت الصوديوم بتخفيف (٢:١) (قاصر: ماء) ولمدة ٥ دقائق ثم غسلت بالماء المقطر المعقم ٣ مرات لإزالة أثار المعقمات ثم تم الحصول على الكالس بزراعة هذه القطع على الوسط القياسي.

تحضير المستخلصات الكحولية لنبات البابونج: اتبعت طريقة تحضير المستخلصات الكحولية عن الطريقة الاساسية للباحث Verpoort وجماعته (Verpoort وآخرون، ١٩٨٢). حيث اخذ الكالس النامي على الوسط القياسي بعد مرور٩٠ يوما من الزراعة وتم سحق ١ غم منه بوجود ٢,٥ مل ميثانول(كحول مثيلي٦٠%) واكمل السحق ومجانسة المستخلص باستخدام جهاز السحق الكهربائي نوع (Ultra Turrax blender , Germany) بسرعة دوران ١٠٠٠٠ دورة/دقيقة، وتم السحق بوضع المستخلص داخل حمام ثلجي، بعدها ترك المزيج في الثلاجة بدرجة حرارة ٤مْ ولمدة ٢٤ ساعة، رشح المستخلص خلال طبقات عديدة من الشاش ثم مرر خلال قمع بخنر، ثم وضع في جهاز المبخر الدوار Rotary Vacume Evaporater المجهز من شركة Electro thermal الذي يعمل على اساس التبخير تحت ضغط مخلخل ودرجة حرارة لاتزيد عن ٤٠مْ وبعد تبخير الميثانول الموجود في المزيج تم الحصول على طبقة كثيفة من المستخلص الذي جفف في الهواء. وحضرت التخافيف (التراكيز) التالية منه: ٥ ،١٠، ٢٥، ٥٠، ١٠٠ ملغم/لتر لغرض استخدامها في التجارب.

تأثير الـ 2,4-D و المستخلصات الكحولية لكالس نبات البابونج في استحداث ونمو كالس الحبة السوداء استحداث وتنمية بادرات الحبة السوداء: تم الحصول على بذور نبات الحبة السوداء *Nigella sativa* L. من الاسواق المحلية وحددت نسبة انباتها بعد مرور ٧ ايام وبلغت ٩٥% عقمت البذور بمعاملتها بمحلول الكحول الاثيلي بتركيز ٩٦% لمدة دقيقتين ثم نقلت الى محلول هايبوكلورايت الصوديوم (محلول القاصر التجاري) بتركيز ٦,٢%) المخفف بنسبة ٢:١ (قاصر: ماء) لمدة ٤-٥ دقائق ، بعد انتهاء فترة التعقيم غسلت بالماء المقطر عدة مرات لازالة اثار المعقمات وزرعت على وسط Arnon and Hoagland (Arnon و Hoagland، ١٩٤٠و ١٩٤٤) ثم نقلت بعدها البذور الى الحاضنة في ظروف الظلام وبدرجة حرارة (٢٠±٢)مْ لحين ظهور الجذير ثم نقلت بعدها الى الحاضنة في ظروف الاضاءة بشدة اضاءة ١٥٠٠ لوكس وبتعاقب يومي ١٦ ساعة ضوء و٨ ساعات ظلام (البكر، ٢٠٠٢).

استحداث الكالس من سيقان نبات الحبة السوداء: استعملت قطع السيقان بطول ١,٥ سم تقريبا لبادرات الحبة السوداء النامية بعمر ٣٠ يوما. زرعت القطع في دوارق حاوية على وسط MS الغذائي (Murashige وSkoog، ١٩٦٢) الصلب مضافا اليه :

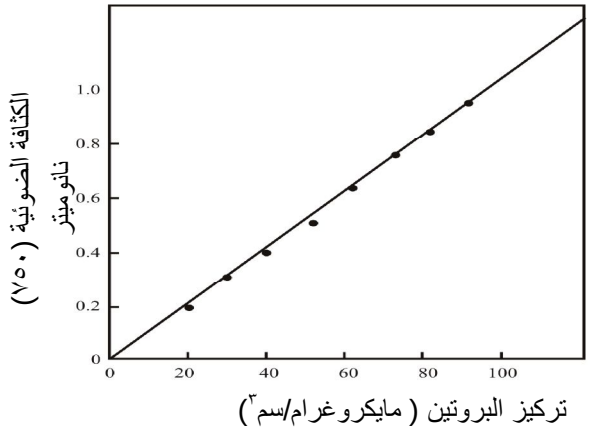
١- ٠,٢٢١ ملغم/لتر 2,4-D (الوسط القياسي لاستحداث ونمو كالس الحبة السوداء) (البكر ،٢٠٠٢)
٢- ٠,٢٢١ ملغم/لتر 2,4-D مضافا اليه (٢٥،٥٠،١٠٠و١٠و٥) ملغم/لتر من المستخلصات الكحولية لكالس نبات البابونج
٣- (١٠٠و٥٠و٢٥و١٠و٥) ملغم/لتر من المستخلصات الكحولية لكالس نبات البابونج

تم تحضين الزروعات كافة في حاضنة نمو بدرجة حرارة (٢٠± ٢مْ) وبشدة اضاءة ١٥٠٠ لوكس وبتعاقب ضوئي ١٦ ساعة ضوء مع ٨ ساعات ظلام .

تقدير الوزن الطري لكالس الحبة السوداء: تم تقدير الوزن الطري للكالس على الوسط الغذائي وذلك بحساب الفرق بين وزن الدوارق الزرعية وهي فارغة ووزنها بعد نقل الكالس اليها بعد مرور ٣٠و٦٠ يوما من الزراعة .

استخلاص وتقدير البروتين الكلي :استخلص البروتين الكلي من كالس سيقان الحبة السوداء النامي على الأوساط الغذائية المختلفة بعد مرور ٣٠و ٦٠ يوما من النمو. واستخدم ١ غم من الكالس وسحق في محلول Trichloricacetic acid (TCA) بتركيز ٥% وبدرجة حرارة ٤ م° . رسب المحلول باستخدام جهاز الطرد المركزي وبسرعة 2000 g /5 دقائق. احتفظ بالراسب فقط وغسل الراسب اربع مرات بمحلول TCA ٥% اخذ الراسب فقط (بعد الطرد المركزي في كل مرة وبنفس الطريقة السابقة) . واضيف اليه محلول هيدروكسيد الصوديوم (1N NaOH) العياري ومزج جيدا وترك لمدة ٤٨ ساعة في الثلاجة لاستكمال ذوبان البروتين ،اجري طرد مركزي واخذ الراشح واكمل الى الحجم القياسي بمحلول (1N NaOH) ، ثم حددت كمية البروتين الكلي باستخدام طريقة Lowry (Lowry

و خرون، ١٩٥١) . قدرت كمية البروتين في المستخلصات المختلفة بمقارنتها مع المنحنى القياسي للبروتين الشكل (١)والمحضر باستخدام تراكيز مختلفة من البومين المصل ألبقر .



الشكل (١) : المنحنى القياسي لتقدير حميه البروتين بطريقة Lowry

النتائج والمناقشة

تأثير المستخلصات الكحولية لكالس نبات البابونج في استحداث كالس نبات الحبة السوداء: تشير نتائج هذه الدراسة ان بالامكان استحداث الكالس من قطع سيقان بادرات نبات الحبة السوداء وان الكالس المستحدث ينمو تباعا مع زيادة في الوزن الطر ، وان عملية استحداث الكالس تعود الى التراكيز المختلفة للمستخلصات الكحولية لكالس البابونج المستخدمة، ويبدو واضحا ان هذه التراكيز حفزت نشوء الكالس بدرجات متفاوتة معتمدة على التراكيز المستخدمة فالتراكيز الواطئة للمستخلصات (٥ ، ١٠)ملغم/لتر حفزت نشوء الكالس بدرجة اعلى من التراكيز العالية وهذا يؤكد احتواء المستخلصات النباتية على هرمونات نمو منظمة ومحفزة لاستحداث الكالس (Dhar وJoshi ، ٢٠٠٥) حيث تشير الدراسات ان مستخلصات نبات البابونج لها تطبيقات واستخدامات عديدة لامتلاكها مدى واسع من المركبات العضوية التي تدخل في تركيب منظمات النمو النباتية (Bresibella خرون، ٢٠٠٦)، فقد تنوعت نسبة الاستجابة لاستحداث الكالس بين التحفيز القليل في الوسط الحاو على ٥٠ و ١٠٠ملغم/لتر وتحفيز متوسط في الوسط الحاو على ١٠ و ٢٥ ملغم/لتر من المستخلص وتحفيز جيد في الوسط الحاو على ٥ ملغم/لتر من المستخلص (الجدول ،١).في حين تبين ان اضافة ٠,٢٢١ ملغم/لتر 2,4-D مع المستخلصات الكحولية لكالس نبات البابونج بالتراكيز المختلفة (٥و ١٠ و ٢٥ و ٥٠ و ١٠٠) ملغم/لتر الى الاوساط الغذائية النامية عليها

الجدول (١) : الاستجابة لتحفيز نشوء الكالس لقطع سيقان بادرات نبات الحبة السوداء المزروعة على وسط MS لوحده او مع ٠,٢٢١ ملغم/لتر 2,4-D او مضافا اليهما تراكيز مختلفة من المستخلصات الكحولية لنبات البابونج لكل منهما على حدى بعد مرور ٣٠ يوما من الزراعة.

المستخلصات الكحولية لنبات البابونج (ملغم/لتر)	MS لوحده	MS + ٠,٢٢١ ملغم/لتر 2,4-D
صفر	+	+++
٥	+++	++++
١٠	++	+++
٢٥	++	++
٥٠	+	+
١٠٠	+	+

+ كالس قليل ، ++ كالس متوسط ،+++ كالس جيد،++++ كالس جيد جدا ، كل معاملة تمثل معدل خمس مكررات، زرعت قطعتين في كل مكرر

قطع سيقان نبات الحبة السوداء اعطت استجابة عالية بالمقارنة مع وجود المستخلصات لوحدها على الوسط الغذائي (MS) اعتمادا على التكامل بين منظمات النمو والذ يعد ضرور لتحفيز انقسام الخلايا وتوالي انقساماتها وبالتالي زيادة نمو الكالس (محمد و عمر، ١٩٩٠) ولكن التحفيز بالمستخلصات الكحولية كان على الاغلب اقل مما في الوسط القياسي وهذا ربما يعود الى عدم امكانية الوصول الى التركيز الافضل لاستحداث و نمو الكالس اضافة الى عدم نقاوة هذه المستخلصات مقارنة بمنظم النمو المصنع الـ 2,4-D (Street ، ١٩٧٧).

التأثير في الوزن الطري للكالس: من نتائج هذه الدراسة وجد ان مستخلصات نبات البابونج لها تاثير متباين في تحفيز نمو كالس سيقان بادرات نبات الحبة السوداء وحسب التركيز المستخدم ،والذ لوحظ خلال متابعة الوزن الطر للكالس بعد مرور ٦٠،٣٠ يوما من الزراعة . وهذا يعود الى احتواء نبات البابونج ومستخلصاته على العديد من المركبات المهمة مثل المخصبات والامونيوم سلفيت والجبرلين والكلايكول والعديد من محفزات النمو (Latimer واخرون،٢٠٠٣ ؛ Meawad واخرون، ٢٠١٠). حيث يوضح (الجدول،٢)بان الوزن الطر لكالس نبات الحبة السوداء ازداد بزيادة فترة النمو باستثناء كالس الوسط الحاو على اعلى تركيز من مستخلصات البابونج الا ان الزيادة كانت متفاوته معتمدة على تراكيز المستخلصات الكحولية لكالس نبات البابونج المستخدمة اذ ربما حدث تداخل بين منظمات النمو الموجودة في كلا النباتين وهذا التداخل له تاثيراته في نمو الخلايا وبالتالي يؤثر في الوزن الطر للكالس (Del La Torre واخرون، ٢٠٠١ ; Ratlamwala ، ٢٠٠٦ ; Emma، ٢٠٠٩). ان عملية تكوين الكالس من القطع النباتية النامية على الاوساط الغذائية الحاوية على المستخلصات الكحولية بدأت بانتفا ونمو قطر للقطعه لفترة ١٠ ايام اعقبها بعد ذلك مباشرة البدء بتكوين الكالس. ويبدو واضحا من (الجدولين ،٢و٣) ان التراكيز القليلة للمستخلصات اعطت اعلى معدلات للاوزان الطرية خاصة عند تداخلها مع محتويات الوسط القياسي للحبة السوداء اذ كانت اعلى زيادة في الوزن الطر للاوساط الغذائية الحاوية على ٥ ملغم/لتر من مستخلص البابونج في الوسط القياسي للحبة السوداء حيث بلغ معدل الوزن الطر للكالس ١٢,١١ غم بعد مرور ٦٠ يوما من الزراعة واعطى كالس بلون اخضر الشكل (٢، A) وربما يعود ذلك الى ان وجود التراكيز الواطئة من المخصبات والمحفزات مع التراكيز الواطئة من منظمات النمو يكون الاكثر تأثيراً في النمو والانقسام (Costa واخرون، ٢٠٠٢). وهذا مشابه لاستخدام نبات النيم (Neem) *Azadirachta indica* اذ ادت اضافته الى الوسط النامية عليه القطع النباتية لنبات الخس *Lactuca sativa* L. الى تحفيز استحداث الكالس بنسبة ٨٤%من القطع المزروعة وبلغ معدل الوزن الطر ١٥ غم بعد مرور ٦٠ يوما هذا في حالة استخدام المستخلص بتراكيز قليلة تصل الى ٣ملغم/لتر بالمقارنة مع استخدام التراكيز العالية ٢٥ ملغم/لتر فقد اعطت نسبة انبات للقطع بلغت ٥٠% (Ashrafi واخرون، ٢٠٠٨).

في حين بلغ الوزن الطر للكالس٨,٥٤غم في الوسط الغذائي الحاو على ٥ ملغم/لتر من مستخلص نبات البابونج لوحده بعد مرور ٦٠ يوماً من الزراعة الشكل (٢،B) كما اعطى الوسط القياسي للحبة السوداء كالس بوزن طر ٧,٤٨ غم عند وجود المستخلص بتركيز ١٠ملغم/لتر فيه الشكل (٢،C) ، هذا كله يعود الى احتواء مستخلصات نبات البابونج على مواد محفزة للنمو (Del La Torre واخرون، ٢٠٠١ ; Ratlamwala، ٢٠٠٦)اما الوسط القياسي للحبة السوداء الحاو على٠,٢٢١ ملغم/لتر 2,4-D لوحده فقد اعطى كالس بلون اخضر ووزن طر للكالس بلغ ٦,٣٥ غم بعد مرور ٦٠ يوما من الزراعة الشكل (٢،D). بينما يلاحظ التأثير التثبيطي او السلبي للتراكيز العالية (٥٠،١٠٠ملغم/لتر) للمستخلصات سواء لوحدها او مع الوسط القياسي للحبة السوداء حيث كان اقل وزن طر للكالس في الوسط الحاو على ١٠٠ ملغم/لتر مستخلص اذ بلغ الوزن الطر ١,١٢ غم بعد مرور ٦٠ يوما من الزراعة واعطى كالس بلون بني الشكل (٢، E) وهذا ربما يعود الى ان زيادة نسبة بعض منظمات النمو في المستخلص كالاوكسينات تكون مثبطة لنمو النبات (Raven واخرون، ١٩٨٦)، فمثلا ادى استخدام التراكيز العالية من المستخلصات المائية الجافة لثمار نبات القرع الى موت قطع نبات عباد الشمس المزروعة نتيجة لزيادة تراكيز محفزات النمو الموجودة في المستخلصات (احمد، ١٩٩٠).كذلك ادى استخدام المستخلص لوحده بنفس هذا التركيز (١٠٠ملغم/لتر) (الجدول ، ٢) الى اعطاء تاثير تثبيطي قلل من الوزن الطر للكالس بمرور الوقت وصل معدله الى ١,٣٩غم بعد مرور ٦٠ يوما من الزراعة ، وبدئ الكالس ميت الشكل (٢، F). ويبدو واضحا من

النتائج ان مستخلصات كالس نبات البابونج حفزت بدرجة لاتقبل الشك استحداث ونمو الكالس للحبة السوداء سواء لوحدها او عند وجودها في الوسط القياسي للحبة السوداء الحاو على ٠,٢٢١ ملغم/لتر 2,4-D وهذا يؤكد احتوائها على مواد محفزة للنمو لها نشاط مشابه لعمل الاوكسينات والسايتوكاينينات (Meawad واخرون، ٢٠١٠). ونتيجة لتوافق منظمات النمو للنباتين في وسط MS القياسي للحبة السوداء ادى الى زيادة في معدلات الوزن الطر مقارنة بوجود المستخلصات لوحدها وهذا يعود الى توافق منظمات النمو الداخلية للنباتين ومع ٠,٢٢١ ملغم/لتر 2,4-D في الوسط القياسي مما ادى الى تحفيز عالي لانقسام الخلايا ونموها وبالتالي زيادة الوزن الطر للكالس، حيث ان تداخل السايتوكاينين مع الاوكسين حقق توازن وافق حاجة النبات وصولا الى تحفيز الانقسام الخلو وبناء RNA والبروتين وبالتالي حفز نمو الكالس (محمد وعمر، ١٩٩٠).

الجدول (٢) :معدل الوزن الطر لكالس سيقان بادرات نبات الحبة السوداء المزروعة على وسط MS مضافا إليه تراكيز مختلفة من المستخلصات الكحولية لنبات البابونج بعد مرور ٣٠، ٦٠ يوما من الزراعة.

المستخلصات الكحولية لنبات البابونج (ملغم/لتر)	الوزن الطر للكالس (غم)	
	٣٠ يوما	٦٠ يوما
صفر	٠ ±٢٠,٨ ٠	٠ ±٢١,٣ ٠
٥	٠ ±٣,١ ٠	٠ ±٨,٥٤ ٠
١٠	٠ ±٢,١٨ ٠	٠ ±٥,٥٩ ٠
٢٥	٠ ±٢٢,٢١ ٠	٠ ±٤,١١ ٠
٥٠	٠ ±١,٩١ ٠	٠ ±٣٢,٠٨ ٠
١٠٠	٠ ±٧١,٦ ٠	٠ ±١,٣٩ ٠

± يمثل الخطا القياسي لمتوسط المعاملات، كل معاملة تمثل معدل خمس مكررات

الجدول (٣) :معدل الوزن الطر لكالس سيقان بادرات نبات الحبة السوداء المزروعة على وسط MSالحاو على ٠,٢٢١ ملغم/لتر 2,4-D مضافا إليه تراكيز مختلفة من المستخلصات الكحولية لنبات البابونج بعد مرور ٣٠، ٦٠ يوما من الزراعة.

المستخلصات الكحولية لنبات البابونج (ملغم/لتر)	الوزن الطر للكالس(غم)	
	٣٠ يوما	٦٠ يوما
صفر	٠ ±١٣,٧ ٠	٠ ±٣٦,٣٥ ٠
٥	٠ ±٤,٢ ٠	٠ ±١٢,١١ ٠
١٠	٠ ±٢,٨ ٠	٠ ±٧,٤٨ ٠
٢٥	٠ ±٣٢,١٨ ٠	٠ ±٥,١ ٠
٥٠	٠ ±١,٦٥ ٠	٠ ±٢,١٨ ٠
١٠٠	٠ ±٢١,٤٤ ٠	٠ ±١,١٢ ٠

± يمثل الخطا القياسي لمتوسط المعاملات، كل معاملة تمثل معدل خمس مكررات

٣- التاثير في المحتوى البروتيني لكالس سيقان الحبة السوداء:بصورة عامة يمكن القول بان الزيادة في الوزن الطر للكالس خلال فترة نموه يجب ان تقترن الى حد ما بالزيادة والنقصان في المحتويات المختلفة لخلاياه، وان هذه التغيرات لكالس العديد من النباتات تعتمد بدرجة اساس على منظمات النمو المستعملة ويرافق انقسام الخلايا زيادة في المحتويات المهمة والضرورية لادامة الانقسام والنمو مثل البروتينات، الاحماض النووية والكاربوهيدرات (عبود والدليمي، ٢٠٠٩)حيث ان ا زيادة في الوزن الطر يجب ان يرافقها زيادة معنوية في محتوياتها مع تغيرات خاصة داخلية تؤد الى انقسامها ومن ثم تخصصها (Mohammed واخرون ، ١٩٩٧). اظهرت النتائج (الجدولين ٤، و٥) ان الزيادة في محتوى الكالس من البروتين خلال فترة النمو (٦٠ يوما)كانت موازية للزيادة في الوزن الطر في جميع الاوساط الغذائية الحاوية على مختلف التراكيز من المستخلصات النباتية لوحدها او في الوسط القياسي للحبة السوداء والزيادة كانت متفاوته معتمده على تركيز المستخلص المستخدم وهذا مايؤكد

احتواء المستخلصات على مواد محفزة للنمو تلعب دورا مهما في عملية بناء البروتين (Costa واخرون، ٢٠٠٢)، فمثلا السايتوكاينينات تحفز البناء الحيو للبروتين وRNA (Ohya واخرون، ١٩٨٦)وان عملية تحفيز البناء الحيو للبروتين بوجود السايتوكاينينات مرتبطة بزيادة Merfort) polyribosome واخرون، ١٩٩٧؛ العاني ، ١٩٩٨). ومما تجدر الاشارة اليه ان كمية البروتين الكلية للكالس النامي على الاوساط الغذائية الحاوية على مستخلصات كالس نبات البابونج كانت اعلى عند استخدام التركيز ٥ ملغم/لتر مستخلص على الوسط القياسي خلال فترة النمو (٦٠يوما) حيث بلغت ١,٢١ ملغم/غم وزن طر ، وربما يعود ذلك الى الاختلاف بين عمليتي الهدم والبناء للبروتينات وكذلك وجود منظمات النمو الداخلية (Latimer، واخرون، ٢٠٠٣؛ Salamon، ٢٠٠٧) حيث اشارت العديد من البحوث ان منظمات النمو تلعب دورا مهما وفعالاً في زيادة قابلية خلايا الكالس على بناء البروتين (Mohammad و Abood ، ١٩٩٥).

الجدول (٤) : المحتوى البروتيني لكالس سيقان بادرات نبات الحبة السوداء المزروعة على وسط MS الخالي من منظمات النمو مضافا إليه تراكيز مختلفة من المستخلصات الكحولية لنبات البابونج بعد مرور ٣٠، ٦٠ يوما من الزراعة.

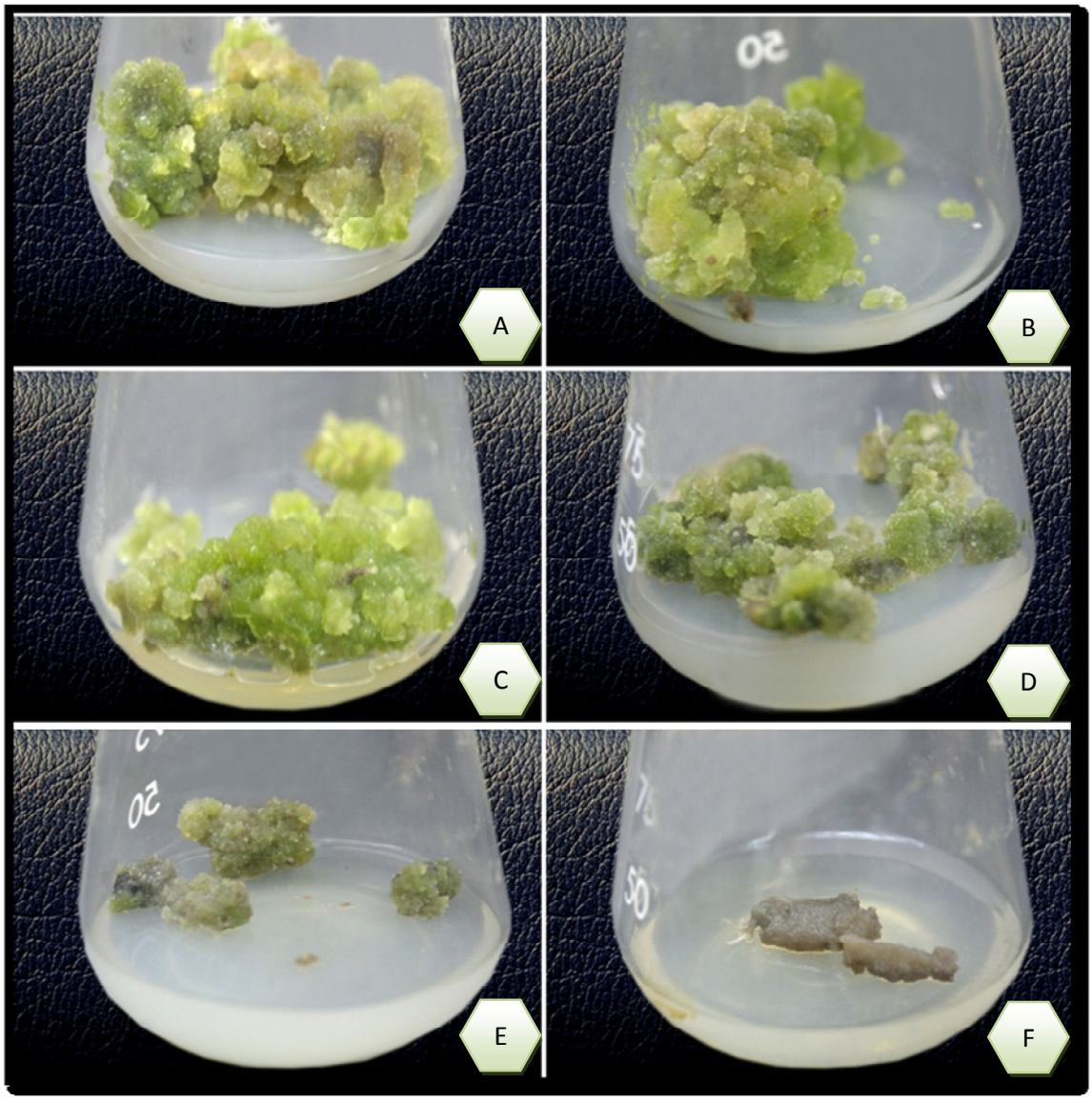
المستخلصات الكحولية لنبات البابونج (ملغم/لتر)	المحتوى البروتيني للكالس(ملغم/غم وزن طر)	
	٣٠ يوما	٦٠ يوما
صفر	٠ ±٠,١٢	٠ ±٠,١٦
٥	٠ ±٠,٥٢	٠ ±٠,٨٨
١٠	٠ ±٠,٣	٠ ±٠,٧٢
٢٥	٠ ±٠,٢٤	٠ ±٠,٤٣
٥٠	٠ ±٠,٢١	٠ ±٠,٣١
١٠٠	٠ ±٠,١٩	٠ ±٠,١٨

± يمثل الخطا القياسي لمتوسط المعاملات، كل معاملة تمثل معدل خمس مكررات

الجدول (٥) : المحتوى البروتيني لكالس بادرات نبات الحبة السوداء المزروعة على وسط MS الحاو على ٠,٢٢١ ملغم/لتر 2,4-D مضافا إليه تراكيز مختلفة من المستخلصات الكحولية لنبات البابونج بعد مرور ٣٠، ٦٠ يوما من الزراعة.

المستخلصات الكحولية لنبات البابونج (ملغم/لتر)	المحتوى البروتيني للكالس(ملغم/غم وزن طر)	
	٣٠ يوما	٦٠ يوما
صفر	٠ ±٠,٢٤	٠ ±٠,٦١
٥	٠ ±٠,٣٤	٠ ±١,٢١
١٠	٠ ±٠,٢٩	٠ ±٠,٥٩
٢٥	٠ ±٠,٣٢	٠ ±٠,٤٨
٥٠	٠ ±٠,٢١	٠ ±٠,٢٧
١٠٠	٠ ±٠,١٩	٠ ±٠,١٣

± يمثل الخطا القياسي لمتوسط المعاملات، كل معاملة تمثل معدل خمس مكررات



الشكل(٢) : تأثير إضافة تراكيز مختلفة من المستخلصات الكحولية لنبات البابونج إلى وسط MS على نمو قطع بادرات نبات الحبة السوداء بعد مرور (٦٠) يوما من الزراعة

A – وسط MS القياسي (MS +٠,٢٢١ ملغم/لتر 2,4-D) مضافا اليه ٥ ملغم/لتر مستخلص كحولي لنبات البابونج

B – وسط MS مضافا اليه ٥ ملغم/لتر مستخلص كحولي لنبات البابونج

C – وسط MS القياسي (MS +٠,٢٢١ ملغم/لتر 2,4-D) مضافا اليه ١٠ ملغم/لتر مستخلص كحولي لنبات البابونج

D- وسط MS القياسي (MS +٠,٢٢١ ملغم/لتر 2,4-D) لوحده

E- وسط MS القياسي (MS +٠,٢٢١ ملغم/لتر 2,4-D) مضافا اليه ١٠٠ ملغم/لتر مستخلص كحولي لنبات البابونج

F - وسط MS مضافا اليه ١٠٠ ملغم/لتر مستخلص كحولي لنبات البابونج

EFFECT OF ALKOHOLIC EXTRACTS OF CHAMOMILE (*Matricaria chamomilla* L.) CALLUS IN INITIATION, GROWTH AND PROTEIN CONTENT OF BLACK BEAN (*Nigella sativa* L.)STEMS CALLUS

Rana T.Y. Altaee
Biology Dept., College of Sci., Mosul Univ., Iraq

ABSTRACT

The study was carried out to know the effect of alkoholic extracts of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) in callus initiation and growth of explants of black bean (*Nigella sativa* L.) ,apart from the protein content. Results cleared different response of explant to callus initiation and growth with different concentrations of alkoholic extracts of chamomile . Which had been added to the standard medium of black bean callus initiation and growth [MS+0.221mg/L 2,4-D (2,4- Dichchlorophenoxy acetic acid)] .The results refer when adding of 5 mg / L of chamomile alkoholic extracts to standard MS medium was the best in initiation and growth the callus after 60 days with fresh weight average 12.11 g as comparing with 6.35 g of the standard medium with increasing in total content at 1.21 mg /gm as comparing with 0.61 mg /gm of standard medium ,and when adding chamomile alkoholic extracts alone to MS medium enhanced with degree initiation and growth callus..And also showed that adding of 5 mg /L alkoholic extracts to MS medium greatly enhanced callus initiation and growtg after 60 days with fresh weight average 8.54g with protein content 0.88 mg /gm as comparing with MS medium alone.

المصادر

احمد ،اميرة اسماعيل (١٩٩٠). تاثير المستخلصات المائية الجافة لثمار القرع والطماطة على استحداث ونموعباد الشمس.رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

البكر، رحاب عبد الجبار حامد عبدالله (٢٠٠٢). دور بعض منظمات النمو القياسية والمصنعة حديثا في استحداث ونمو وتمايز الكالس من نبات الحبة السوداء *Nigella sativa* L. ومستوى المركبات الفعالة فيه. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

الراو ، اقبال مراد ظاهر (١٩٩٣). تأثير الافرازات والمستخلصات المائية لجذور بعض المحاصيل وفي مرحلتي نمو على الانبات والمراحل المبكرة لنمو حنطة الخبز *Triticum aestivum* L. . اطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

الطائي، رنا طارق يحيى (٢٠٠٥). تاثير بعض منظمات النمو في استحداث ونمو المزارع النسيجية والخلوية لنبات البابونج *Matricaria chamomilla* L. وقياس مستوى بعض المركبات الفعالة فيهما. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

عبود، ساجدة عزيز والدليمي، حكمت مصطفى (٢٠٠٩) تأثير اشعة كاما في نمو كالس نبات الحبة السوداء (*Nigella satival* L.) مجلة التربية والعلم، ٢٢(٢):٩١-٩٩.

العاني، اوس هلال (١٩٩٨). دراسة مكونات الحبة السوداء المحلية *Nigella sativa* L. وتاثير مستخلصاتها على بعض الاحياء المجهرية.رسالة ماجستير، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية.

محمد، عبد المطلب سيد وعمر، مبشر صالح (١٩٩٠). المفاهيم الرئيسة في زراعة الخلايا والانسجة والاعضاء للنبات. مطبعة جامعة الموصل، العراق.

Arnon, D.I. and D.R. Hoagland (1940). Crop production in artificial culture solution and in soil with special reference to factors influencing yield and absorption of inorganic. Soil Sci. 50: 463.

Arnon, D.I. and D.R. Hoagland (1944). The investigation of plant nutrition by artificial culture methods. Boil. Rev. 19: 55-67.

Ashrafi, Z.Y.; A. Rahnavard; S. Saseghi; H.M. Alizad and H.R. Mashhadi (2008). Study of the allelopathic potential of extract of *Azdirachta indica* (Neem). J.Bio.Sci.8(3):57-61.

Costa, G.; M. Montefiori; M. Noferini ; F.Vitali and G. Ceredi (2002). Using bioregulators to influence morphogenesis in Kiwifruit. c.v. “Hayward” Actinidia deliciosa. Acta Horticulturae 594: 327-333.

Del La Torre, M.F.; M.I. Sanchez and J.C. Garcia Robaina (2001). Clinical cross-reactivity between *Artemisia vulgaris* and *Matricaria chamomilla* (chamomile). J.Investiny allergol clin immunol. 11(2):118-122.

Dhar, V. and M. Joshi (2005). Efficient plant regeneration protocol through callus for *Soussurea obvallata* (DC.) Edgew. (Asteraceae): effect of explants type, age and plant growth- regulators.Plant Cell Reports. Spirnger Berlin / Heidelberg. 24(4): 195-200.

Emma,A. (2009). The Effect of a Natural Plant Extract and Synthetic Plant growth Regulators on Growth, Quality and Endogenous Hormones of *Actinidia chinenisis* and *Actinidia deliciosa* Fruit. Master Thesis. Science in Horticultural Science. New Zeland University.

Latimer, J.; Scoggins, H and Groover, V. (2003). Asteraceae response to PGRS. (GPN) Green House Product News. 13 (3):1-4.

Lowry, O.H.; N.J. Rosebrough ; A.L. Farr and R.J. Randall (1951). Protein measurement with the folin-phenol reagent. J.Biol. chem.. 139:265-275.

Meawad, A.A.; A.E. Awad; A. Afify (2010). The combined effect of n-fertilization and some growth regulators on chamomile plants ISTTS Acta Horticuturae 144.IV International Symposium on Spice and Medicinal Plants.

Mohammad, A.M.S.; H.S. Al- Saleh and M.T. Ayoub (1997). Role of some synthetic pentadienoic acid related to absisic acid as anew growth regultor on sunflower callus .Raf.J.Sci.8:8-17.

Mohammed, AM.S. and S.A. Abood (1995). Effect of Some growth regulators on protein, nucleic acid and plant regeneration of *Sesanmum indicuu* L. callus .Raf.J. Sci. 6:1-13.

Murashige , T. and F. Skoog (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with Tobacco tissue cultures . Physiol . Plant. , 15:473-497.

Merfort, I.; V. Wray ; H.H. Barakat ; S.A. Hussein; M.A.M. Nawwar and G. Willuhn (1997). Flavonol triglycosides from seed of *Nigella sativa* L. . Phytochem 46(2):359-363.

Ohya, T.; K. Natio and H. Suzuki (1986). Differential effect of benzyladenine and potassium on pibulose 1,5-biphosphate carboxylase synthesis in detached cucumber cotyledone. Plant Physiol. 125:115-121.

Presibella, M.M.; L.D.B. Villas-Bôas; K.M.S. Belletti ; C.A.M. Santos and A.M. Weffort- Santors (2006) Comparison of chemical constituents of *Chamomilla recutita* L. Rauschert essential oil and its anti- chemotatic activity. Brazilian Archives of Biology And Technology. 49(5):717-724.

Ratlamwala, N. (2006). Herb- drug interactions. Pharmaceutical information for you. 4 :1-3.

Raven , P.H. ; Evert , R.F. and Eichhor , S.E.(1986). "Biology of Plant" 4th ed. Worth Pub.TNC.

Salamon, I.(2007). Effect of the internal and external factors on yield and qualtative-quantitative characteristics of chamomile essential oil. International Symposium on Chamomile Kesearch, development and production. ISHS. Acta Horticu Hurae. 1(36): 749

Street, H,E. (1977). " Plant Tissue and Cell Culture". BlackWell, Scientific Publication. Oxfoard, London, Edinburgh, Melbourne.

Verpoort, R.; A. Tginastoi ; H. Vandoorne and A.B. Svendsen (1982). Medicinal plant of surinam, 1- Antimicrobial activity of Some medicinal plants.J. Ethanopharm. 5:221-226.