الزراعة النسيجية لنبات الفجل *Raphanus sativus L.* وتشخيص قلويد الرافايول Raphaiol في مستخلص البذور والأجزاء النباتية والكالس والنباتات الناتجة من الزراعة النسيجية

م.م. تغريد نواف احمد
قسم علوم الحياة
كلية التربية / جامعة الموصل

تاريخ تسليم البحث: ٢٠١١/٩/٢٩ ؛ تاريخ قبول النشر: ٢٠١٢/٢/١٦

ملخص البحث:

تمكنت الدراسة الحالية من استحداث كالس الأجزاء النباتية (الأوراق، السيقان والجـذور) الناتجة من البادرات المعقمة لنباتات الفجل *Raphanus sativus L.* في وسط MS الصلب المجهز بتراكيز مختلفة من منظمات النمو (BA و NAA) ، إذ أعطت قطع الجذور أعلى نسبة اسـتحداث بلغت ١٠٠% في الأوساط الحاوية على BA وNAA بتركيز ١,٠ ملغم/ لتر لكل منهما، تليها قطع السيقان بنسبة استحداث ٩٨% ، وقطع الأوراق بنسبة استحداث ٨٨% للوسط نفسه. واظهر ان لكل من كالس السيقان والأوراق لنباتات الفجل قابلية عالية على تكوين الأفرع الخضرية فـي الوسـط الزرعي المستخدم الحاوي على BA وNAA بتركيز ١,٠ ملغم /لتر لكل منهما.

كذلك أظهرت نتائج عزل وتشخيص قلويد الرافايول من البذور والأجزاء النباتية (الأوراق، السيقان والجذور) والكالس المتكون منها واوراق النباتات المتكونة من الكالس باستخدام تقنية كروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة Thin Layer Chromatography والحصول على بقعة منفصلة واحدة من كل عينة مختبرة وتطابقها من حيث معدلات مسافة جريانها (R_f) وتطابقها مع معدلات مسافة جريان بقعة قلويد الرافايول القياسي العينة الضابطة والتي بلغت (٠,٥٩).

Tissue Cultivation of Plant *Raphanus sativus L*. and Identification of Raphaiol Alkaloid of Extraction of The Seeds, Explants, Callus and produced Plants from tissue Cultivation

Asst. Lect. Taghreed Nawaf Ahmed
Department of Biology
College of Education / Mosul University

Abstract:

The present study managed the initiation of callus from leaves, stems and roots of the sterilized *Raphanus sativus* L. Seeds using the solid MS supplied with various concentrations of growth regulators (BA, NAA). The root parts showed the highest percentage of 100% in the presence of 1.0 mg/liter of NAA and BA. Then the stem parts in which the callus initiation estimated at 98%, and the leaves parts with 88% percentage initiating which is done in the same medium. The callus of the stem and the leaves of *Raphanus sativus* L. has showed a high ability of regeneration of shoots in the same medium.

Moreover, the results of isolation and identification of Raphaiol alkaloid from the seeds , the plant parts (leaves, stems, and roots) and the produced callus from them and the leaves of the plants produced from callus by using the thin layer chromatography showed an isolated spot from each tested sample .These samples showed perfect conformity with the rate flow (R_f) and perfect and approximate conformity with the rates flow of the standard Raphaiol alkaloids spot (the control sample amounted to)=(0.59).

المقدمة:

تشكل زراعة الأنسجة النباتية الحجر الأساس في التقنيات الحياتية لما لها من دور فعال في إكثار النباتات وخاصة النباتات الطبية التي تنتج المركبات الطبية وزيادة إنتاج هذه النباتات لمركبات الايض الثانوي بما في ذلك مركبات القلويدات والمواد الصيدلانية وغيرها من المركبات (Bajaj, 1998).

والفجل نبات حولي له جذور وتدية درنية مغزلية او كروية الشكل حسب الأصناف، الجزء الطبي فيه (البذور،الأوراق والجذور) ، أما المكونات الفعالة في الفجل فهي السكر والنشأ ورافايول Raphaiol ورافانين Raphanin وريتيكول وسينابين Sinapine (جامعة الدول العربية، ١٩٨٨)، المركب Raphaiol من القلويدات التي هي أهم ما في النبات من مواد دوائية ، وهي من الوجهة الكيميائية مواد عضوية معقدة التركيب (يحيى، ٢٠٠٣)، وللفجل استخدامات طبية عديدة منها استعمال عصير الفجل في حالات أمراض الحصاة ولمعالجة احتقان الكبد ونوبات الربو

والسعال والروماتيزم المفصلي والتهاب القصبات الحاد (جندل، ٢٠٠٨) وأوراق وجذور الفجل لها تأثير فعال في مقاومة الجسم للجراثيم والميكروبات (Gutierrez, 2004).

ان هذه الدراسة تهدف الى تشخيص المركب القلويدي رافايول Raphaiol في المستخلصات الكحولية لبذور وأجزاء وكالس نباتات الفجل واوراق النباتات المتكونة من الكالس باستخدام تقنية الطبقة الرقيقة (TLC).

مواد وطرائق العمل

أولاً: الزراعة النسيجية لنباتات الفجل *Raphanus sativus L.*

الأوساط الغذائية

حضر مختبرياً وسط MS (Murashige & Skoog, 1962) واستخدم هذا الوسط لزراعة البذور واستحداث الكالس وتمايزه.

زراعة البذور وانتاج البادرات

عقمت بذور الفجل التي تم الحصول عليها من الأسواق المحلية بغمرها في محلول من الماء المقطر المعقم وهايبوكلورايت الصوديوم NaOCl (القاصر التجاري) وبالتراكيز والفترات الآتية:

المحلول المعقم حجم (معقم) : حجم (ماء مقطر)	مدة التعقيم (دقيقة)	عدد البذور المستخدمة
١:١*	٥	١٠٠
١:١*	١٠	١٠٠
١:٢	٥	١٠٠
١:٢	١٠	١٠٠

*(العقيدي ٢٠٠٤)

زرعت البذور المعقمة سطحياً في أنابيب اختبار حجم (٧٠) مل الحاوية على وسط MS الخالي من منظمات النمو (MSO) بمعدل (بذرة واحدة / أنبوبة)، نقلت العينات إلى غرفة التنمية بدرجة حرارة ٢٥ ± ٢مْ في ظروف (١٦ ساعة ضوء / ٨ ساعات ظلام) وشدة إضاءة ٢٠٠٠ لوكس.

استحداث الكالس

استخدمت البادرات السليمة والخالية من التلوث بعمر (١٥ يوماً) والنامية في ظروف معقمة كمصدر للأجزاء النباتية (الأوراق، السيقان والجذور) اذ قطعت بمشارط معقمة بمعدل ١ سم لكل من السيقان والجذور و٠,٥ سم^{٢} للأوراق ، ثم وضعت قطع الأجزاء النباتية في دوارق زجاجية حجم

(١٠٠- ٢٥٠) مل او قناني زجاجية حجم (١٠٠) مل حاوية كل منها على وسط MS (٢٥- ٥٠) مل المدعم بتراكيز مختلفة من منظمات النمو BA (Benzyl adenine) و NAA (Naphthalene Acetic Acid) وكالآتي:- (٠,٠ : ٠,٠)، (١,٠ : ٠,٢٥)، (١,٠ : ٠,٥٠)، (١,٠ : ١,٠)، (٢,٠ : ٠,٢٥)، (٢,٠ : ٠,٥٠)، (٢,٠ : ١,٠) من (NAA : BA) على التوالي.

* وسط MS الخالي من منظمات النمو بالتركيز (٠,٠ : ٠,٠) اعتبر (معاملة المقارنة) في هذا البحث.

الإدامة الدورية لمزارع الكالس وتقدير الوزن الطري

تمت إدامة مزارع الكالس المستخدمة دورياً كل (٣ -٤) أسابيع، رفع الكالس من الوسط الغذائي وأزيلت عنه المناطق البنية اللون ثم قسم على قطع مناسبة بمعدل (١غم/ قطعة) بعمر (٣٠) يوماً، وبعد مرور (١٥) يوماً من زراعته حسب الوزن الطري له بحساب الفرق بين وزن القناني او الدوارق قبل زراعة الكالس وبعد ذلك.

تكوين الأفرع الخضرية من الكالس

تتضمن عملية تكوين النباتات من الكالس مرحلتين ، الأولى يتم فيها تكوين الأفرع الخضرية من الكالس، والثانية تتضمن تحفيز هذه الأفرع على تكوين الجذور .

نقل الكالس المستحدث من قطع (الأوراق ، السيقان والجذور) بمعدل (١ غم / قطعة كالس) على سطح (٤٠ -٥٠) مل من الوسط المخصص للتمايز وهي وسط MS الحاوي على BA بتراكيز (١,٠ ملغم/لتر) مع NAA (١,٠ ملغم / لتر) وبمعدل (٣ قطع / دورق) وبثلاثة مكررات لكل معاملة ، ثم حفظت العينات في غرفة التنمية في الظروف المذكورة سابقاً.

تجذير الافرع الخضرية المتكونة

بعد تكوين الأفرع الخضرية استؤصلت هذه الأفرع وأزيل عنها بقايا الكالس وقطعت عند قاعدتها بوساطة مشرط حاد معقم ، ثم نقلت الى دوارق زجاجية حاوية على MS الخالي من منظمات النمو لغرض تجذيرها.

ثانياً: المركبات القلويدية في البذور والأجزاء النباتية (الأوراق، السيقان والجذور) وكالس الاجزاء النباتية واوراق النباتات المتكونة من كالس نباتات الفجل *Raphanus sativas L.*

تحضير المستخلصات الكحولية

استخدمت طريقة (Al-Daody، ١٩٩٨) ، اذ اخذ ١٠ غم من كل عينة (البذور، الأجزاء النباتية والكالس واوراق النباتات المتكونة من الكالس) لنباتات الفجل وجففت في الفرن بدرجة حرارة ٣٧-٤٠ مْ ولمدة ٢٤ ساعة ثم سحقت العينات وأضيف الى كل منها ١٠٠مل ايثانول (٨٠%) بدرجة حرارة ٥٠مْ وحرك المزيج بوساطة المحرك الكهربائي لمدة ٢٤ ساعة ثم ترك في الثلاجة لمدة ٢٤ ساعة أخرى، ورشح المحلول بعدها بوساطة ورق الترشيح وحفظ الراشح في الثلاجة لحين استعماله.

عزل المركبات القلويدية

تم تركيز الراشح الناتج في الفقرة السابقة باستعمال وعاء التبخير الدوار تحت الضغط المخلخل Rotary Vacuum Evaporator المجهز من شركة (Electro Thermal) الإنكليزية وبعد انتهاء عملية التبخير والحصول على ربع حجم الراشح الاصلي أضيف الى المحلول المركز بضعة قطرات من محلول هيدوكسيد الامونيوم (NH_4OH) بشكل تدريجي مع التبريد في حمام ثلجي ومع التحريك المستمر لحين حصول الترسيب الكامل للقلويدات ، بعدها تم جمع أشباه القلويدات بعملية الطرد المركزي ولمدة (٥) دقائق وعلى سرعة 1500 r.p.m ، ثم غسل الراسب بـ١% من محلول هيدروكسيد الامونيوم (NH_4OH) ، ثم أذيب الراسب في كمية مناسبة من الكلورفورم ، وحفظت العينات في الثلاجة لحين الاستعمال (Harborne, 1973).

الكشف عن المركب القلويدي (الرافايول) Raphaiol

استخدمت طريقتان للكشف عن القلويد المعزول من المستخلصات الكحولية المحضرة للعينات وهما :

١ـ الكشف عن القلويد بوساطة اختبار دراجن دروف :

استخدمت طريقة Wagner وآخرون (1984) في الكشف عن القلويد بأخذ بضع قطرات من محلول المادة المعزولة لكل عينة من مستخلصات (البذور،الأجزاء النباتية، الكالس واوراق النباتات المتكونة من الكالس) إذ وضعت على ورق ترشيح Whatman No.1 بشكل قطرات منفصلة وتم رشها بمحلول دراجن دروف الذي يعطي (لون برتقالي) دلالة ايجابية على وجود المركبات القلويدية في العينات التي تم اختبارها.

٢ـ الكشف عن قلويد (الرافايول) باستخدام تقنيات كروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة : Thin Layer Chromatography (TLC)

استخدمت الألواح الزجاجية المغطاة بمادة هلام السليكاجيل G بسمك ٠,٢٥ ملم وبالأبعاد (٢٠×٢٠)سم وذلك بعد تنشيطها لمدة (٣٠) دقيقة في الفرن عند حرارة (٤٠)مْ ، فقد تم وضع العينات التي عزلت سابقا والتي خففت بكمية مناسبة من الكلوروفورم على احد طرفي اللوح بهيئة بقع على امتداد خط البداية بوساطة الأنبوبة الشعرية ٢٠ مايكرولتر Drummond Scientific Co.U.S.A ، ثم وضع اللوح في الحاوية الخاصة (Tank) بشكل عمودي ، استخدم محلول الفصل المتكون من ($MeOH : NH_4OH$) بنسبة (٣ حجم : ٢٠٠ حجم) على التوالي (Harborne, 1976) غطيت الحاوية ثم تركت في درجة حرارة المختبر ٢٥مْ الى حين اكتمال صعود محلول الفصل الى النهاية الأخرى من اللوح ، ثم ترك اللوح في ظروف المختبر ليجف لمدة ٥ دقائق، بعد تمام جفافه يفحص بتسليط الأشعة فوق البنفسجية (UV) بطول موجي ٣٦٥ نانوميتر عليه لتحديد مواقع البقع المنفصلة ومقارنتها مع سرعة جريان (R_f) العينة القياسية بعد اظهاره بمحلول كاشف دراجن دروف، بعد انفصال كل عينة من العينات، تم قياس المسافة التي قطعتها كل بقعة من نقطة البداية الى حد النقطة التي توقفت عندها. وقياس سرعة الجريان (R_f) لكل مادة من المواد المعزولة على انفراد ومقارنتها مع سرعة الجريان للعينة القياسية، واستخدمت من المعادلة الاتية لقياس سرعة الجريان (Mikes, 1979).

$$\text{سرعة الجريان } (R_f) = \frac{\text{المسافة التي قطعتها العينة (النموذج)}}{\text{المسافة التي قطعها المذيب}}$$

النتائج والمناقشة

أولاً : الزراعة النسيجية لنباتات الفجل *Raphanus sativus L.*

١. كفاءة التعقيم السطحي للبذور وانتاج البادرات السليمة

أظهرت اختبارات تعقيم بذور الفجل بمحلول هايبوكلورايت الصوديوم NaOCl (القاصر المحلي) ان (١ حجم ماء مقطر : ٢ حجم معقم) لمدة ١٠ دقيقة أعطى نتائج أفضل، اذ بلغت نسبة النباتات السليمة ١٠٠% ، لذلك اعتمدت هذه المعاملة في تعقيم بذور الفجل في هذا البحث. حيث ثبتت كفاءة هايبو كلورايت الصوديوم في التعقيم السطحي (سلمان، ١٩٨٨).

ان استخدام البذور المعقمة والنامية في وسط MS المعقم الخالي من منظمات النمو كان ملائما بدرجة كبيرة لانبات بذور الفجل والحصول على بادرات سليمة (الصالح، ٢٠٠٦).

٢. استحداث الكالس من الاجزاء النباتية المختلفة لنبات الفجل Raphanus sativus L.

لوحظ من نتائج (الجدول ١) ان وسط MS الحاوي على BA و NAA بالتركيز ١,٠ ملغم / لتر لكل منهم، شجع كثيرا عملية استحداث الكالس في جميع قطع الأجزاء النباتية المستخدمة كما في الشكل (١ -٣)، وربما يعزى سبب ذلك إلى التوافق بين منظمات النمو المضافة مع الهرمون النباتي في داخل النبات (Badigannavar & Kuruvinashetti, 1996) وهذا يتفق مع العديد من الدراسات المهمة بنشوء واستحداث الكالس من نباتات عدة (Mohammad & Collin, 1979). اذ بلغت نسبة استحداث كالس الجذور ١٠٠% وفي قطع السيقان ٩٨% و ٨٨% لقطع الأوراق وان اختلاف استجابة الاجزاء النباتية لاستحداث الكالس يعود الى التركيب النسيجي لكل منهما (محمد وعمر، ١٩٩٠).

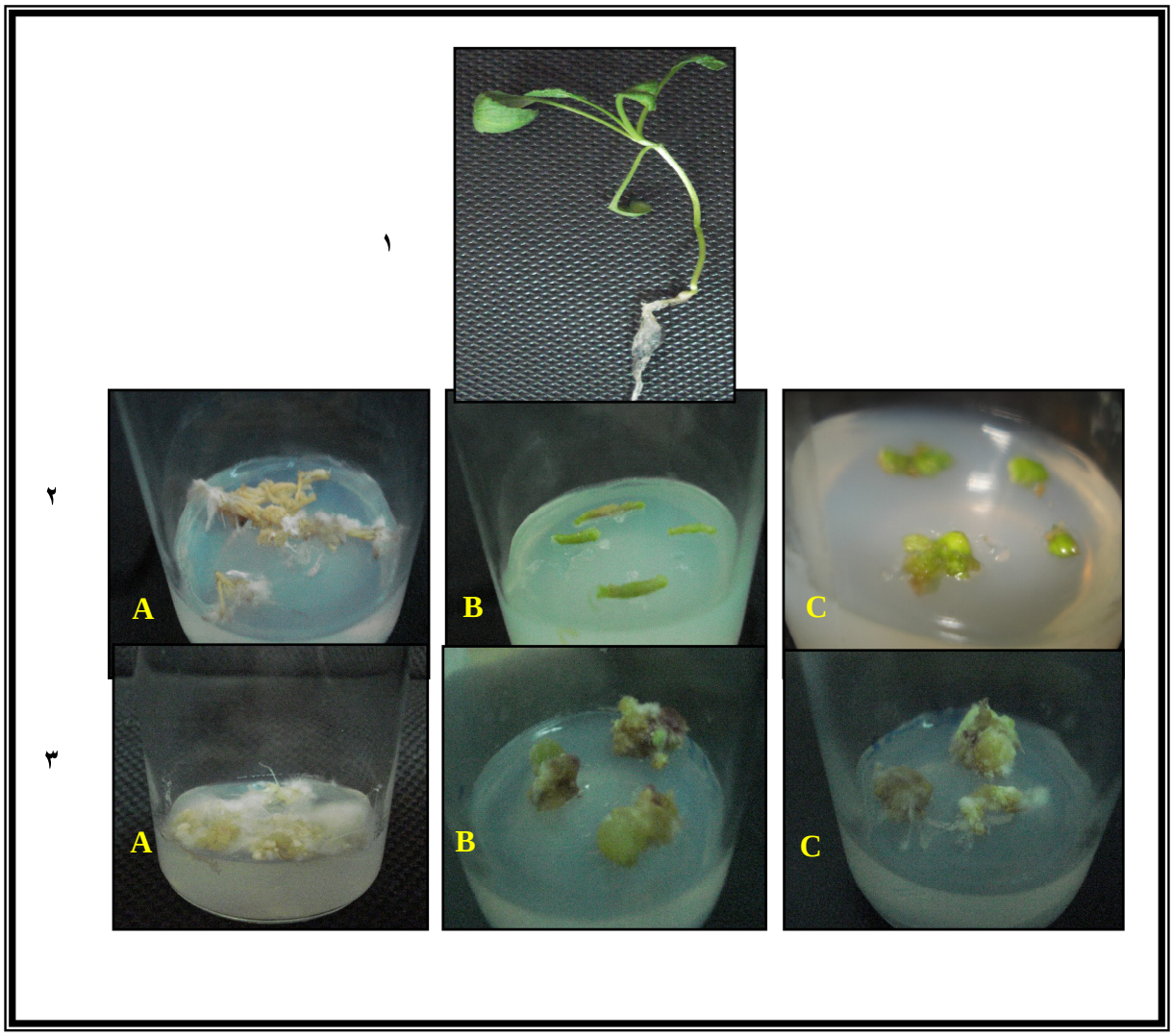
يتضح من هذه النتائج في الجدول (١) ان استجابة قطع الجذور لاستحداث الكالس كانت الأفضل في جميع المعاملات الحاوية على BA و NAA تليها قطع السيقان بينما أظهرت الأوراق اقل استجابة لاستحداث الكالس وان سبب التباين في استحداث الكالس ربما يعزى الى اختلاف الأجزاء النباتية في اعداد الخلايا المؤهلة للانقسام (Negrutiu, 1978) او يعزى الى الطاقة الكامنة Totipotency في خلايا الأجزاء النباتية وقدرتها على الاستحداث (محمد وعمر، ١٩٩٠) اما الاوساط الخالية من منظمات النمو فقد حصل فيها بداية استحداث لجميع القطع النباتية ولكن لم يستمر نمو الكالس وتشكله.

الجدول(١): استحداث الكالس من الاجزاء النباتية المختلفة لنباتات *الفجل Raphanus sativus L.* في وسط MS المدعم بتراكيز متباينة من (NAA + BA) و (2,4-D+ Kin)

منظمات النمو (ملغم / لتر)		استحداث الكالس ٪		
NAA	BA	الأوراق	السيقان	الجذور
٠,٠	٠,٠	-	-	-
٠,٢٥	١,٠	٧٢	٧٥	١٠٠
٠,٥٠	١,٠	٨٣	٧٢	١٠٠
١,٠	١,٠	٨٨	٩٨	١٠٠
٠,٢٥	٢,٠	٨٠	٨٦	٩٦
٠,٥٠	٢,٠	٧٥	٨٩	٩١
١,٠	٢,٠	٨٩	٩١	٩٨
معدل المدة الزمنية (يوم)		١٤	٧	٥
2,4-D	Kin			
٠,٠	٠,٠	-	-	-
٠,٥	١,٠	٦٠	٧٥	٩٠
٠,٥	٢,٠	٦٥	٨٥	٩٢
٠,٥	٣,٠	٧٢	٨٨	٩٥
١,٠	١,٠	٧٨	٨٨	٨٥
١,٠	٢,٠	٧٠	٨٣	٨٧
١,٠	٣,٠	٨٠	٧٦	٩٠
معدل المدة الزمنية (يوم)		٢٠	١٠	٧

* معدل (٣٠ قطعة / معاملة / جزء نباتي)

- بداية استحداث ولكن لم يستمر تكون الكالس.



الشكل (١) استحداث الكالس من اجزاء نباتات الفجل *Raphanus sativus L.* .

١. **نبات فجل ناتج من البذور المعقمة.**
٢. **الاجزاء النباتية** (A: **جذور** ، B: **السيقان** ، C: **الاوراق**) **على وسط** MS **الحاوي على** ١,٠**ملغم/لتر من كل من** BA **و** NAA.
٣. **مزارع كالس الاجزاء النباتية بعمر** (٣٠ **يوماً**) **على وسط** MS **الحاوي على** ١,٠**ملغم/لتر من كل من** BA **و** NAA
A: **كالس الجذور.**
B: **كالس السيقان.**
C: **كالس الاوراق.**

٣. تقدير الوزن الطري ونشوء الافرع الخضرية لكالس أجزاء نباتات الفجل *Raphanus sativus L.*

أظهرت نتائج الجدول (٢) الزيادة الواضحة للوزن الطري لجميع كالس نبات الفجل (الأوراق، السيقان والجذور) بعد مرور ١٥ يوما من بدء زراعة (١غم) لكل قطعة كالس على الوسط المنتخب. اذ وجد ان أفضل زيادة في الوزن الطري لوحظت في كالس الجذور بمعدل زيادة (١,٠) غم يليها كالس

السيقان (٠,٨) غم ثم الأوراق (٠,٥) غم ويعزى السبب الى نوع النسيج النباتي ونوع القطعة النباتية ومدى قدرة خلايا الكالس على الانقسام (Al-Safadi, 1990)، فضلا عن توافق المضاف من منظمات النمو والمحتوى الداخلي للهرمونات النباتية (Phillips, 1985).

وحفز الوسط MS المنتخب الحاوي على ١,٠ ملغم / لتر لكل من BA و NAA على تكوين الأفرع الخضرية لكالس الأوراق والسيقان لنبات الفجل كما في الصورة (A و B) الشكل (٢) وزيادة عددها وتجذيرها كما في الصورة (C و D) الشكل (٢) وان سبب التمايز يعود إلى استخدام اجزاء نباتية حاوية على مستويات عالية من الهرمونات النباتية الداخلية والتي بتوازنها مع ما موجود من منظمات نمو في وسط التمايز ادت إلى حث الكالس على تكوين الافرع الخضرية (Hartmann, et al., 2002)، حيث ان استخدام اوساط غذائية حاوية على منظمات النمو الاوكسينات والسايتوكاينينات تعتبر الأساس في نمو الخلايا المزروعة لتكوين الكالس او للتمايز Regeneration (Street, 1977). كما ان تمايز الكالس المستحدث يعتمد على سرعة الانقسام والنمو لمنشئات الجذور والافرع الخضرية (عبود والدليمي، ٢٠٠٩).

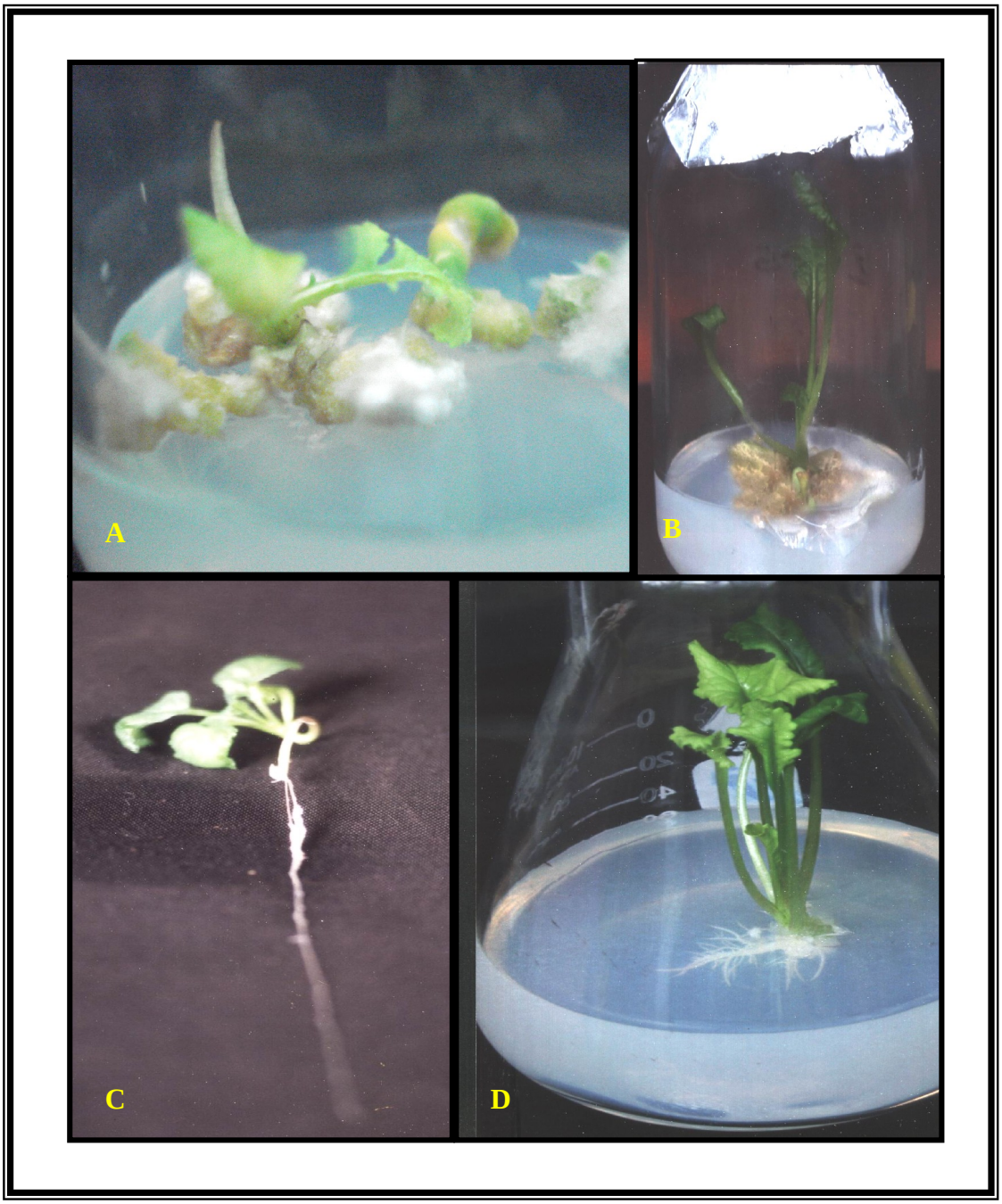
واظهرت النتائج عدم قابلية كالس الجذور على التمايز وتكوين الافرع الخضرية بالرغم من اختبار العديد من التداخلات الهرمونية ويعود سبب فشله الى ان الكالس مشتق من خط خلوي ذات نشاط مرستيمي ضعيف (Hartmann, 2002) او يعود الى عامل النوع النباتي فيما يتعلق بنمطه الوراثي او كليهما (Ozyigit, 2007).

الجدول (٢) : الوزن الطري ونشوء الأفرع الخضرية من كالس اجزاء نباتات الفجل *Raphanus sativus L.* في وسط MS الحاوي على BA (١,٠) ملغم/لتر و NAA (١,٠) ملغم / لتر.

مصدر الكالس	معدل الوزن الطري (غم)*	تمايز الكالس*	
		عدد الأفرع	المدة (يوم)
الأوراق	١,٥	٣	٢٠
السيقان	١,٨	٧	٣٠
الجذور	٢,٠	-	-

* معدل ٥ مكررات (١غم كالس عند الزراعة / جزء نباتي / معاملة)

- لم يحدث تمايز



الشكل (٢) تمايز الافرع الخضرية المتكونة من نباتات الفجل *Raphanus sativus L.* في وسط MS الحاوي على (١,٠) ملغم/لتر BA و (١,٠) ملغم/لتر NAA وتجذيرها في وسط MS الخالي من منظمات النمو بعمر ٣٠ يوماً.

A . نشوء الافرع الخضرية من كالس الاوراق.

B . نشوء الافرع الخضرية من كالس السيقان.

C . تجذير الافرع الخضرية المتكونة من كالس الأوراق في وسط MS الخالي من منظمات النمو.

D . تجذير الافرع الخضرية المتكونة من كالس السيقان في وسط MS الخالي من منظمات النمو.

ثانيا: الكشف عن المركب القلويدي في العينات النباتية المختبرة

١. الكشف عن القلويد المعزول بوساطة اختبار دراجن دروف Dragen droff.

استخدم اختبار دراجن دروف للكشف عن القلويد المعزول من العينات النباتية (البذور، الاجزاء النباتية، الكالس وأوراق النباتات المتكونة من الكالس) حيث أثبتت النتائج ايجابية هذا الاختبار، حيث اعطت العينات لوناً برتقالياً عند اضافة الكاشف اليها.

٢. الكشف عن القلويد المعزول باستخدام تقنية كروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) Thin layer chromatography

أظهرت نتائج الجدول (٣) والشكل (٣) ان سرعة جريان البقع المنفصلة في لوحة (TLC) أكدت تشخيص نوع واحد من القلويدات وهو الرافايول ، وسرعة الجريان من البذور وقطع الاوراق والجذور لنبات الفجل كانت مطابقة مع بعضها ومع سرعة جريان العينة القياسية لقلويد الرافايول الذي استخدم للمقارنة. اذ كانت سرعة جريان العينة القياسية لقلويد الرافايول (٠,٥٩) (Andreu, 1982) وهذا مايشير الى ان المركب القلويدي المعزول هو قلويد الرافايول.

اما بالنسبة لقطع السيقان فقد بلغت سرعة جريان القلويد المعزول فيها ٠,٥٤ وهي مقاربة لسرعة جريان العينة القياسية.

واوضحت الدراسات ان وجود النواتج الايضية الثانوية يكون بمستوى اعلى في المزارع النسيجية من النباتات الطبيعية (Sarin, 2005).

الجدول (٣): سرعة جريان (Rf) البقع المنفصلة من القلويد المعزول من البذور والاجزاء النباتية وكالس الأجزاء النباتية واوراق النباتات المتكونة منه لنباتات الفجل *Raphanus sativus L.*

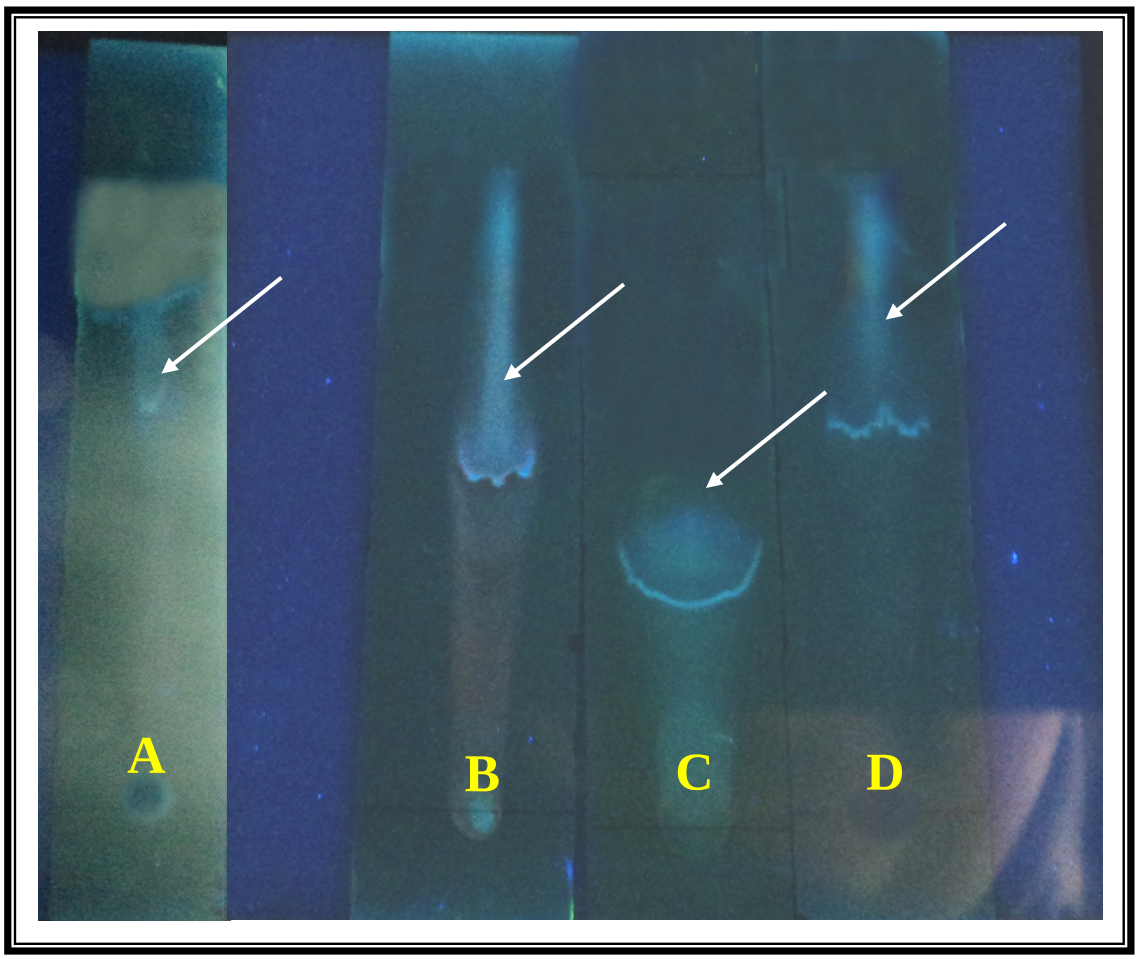
مصدر القلويد المعزول	عدد البقع	سرعة الجريان (R_f)
البذور	١	٠,٥٩
الاوراق	١	٠,٥٩
السيقان	١	٠,٥٤
الجذور	١	٠,٥٩
كالس الاوراق	١	٠,٥٥
كالس السيقان	١	٠,٥٧
كالس الجذور	١	٠,٥٥
اوراق النباتات المتكونة من الكالس	١	٠,٥٩

Rf : **سرعة الجريان** (Rate of flow)

اظهرت نتائج الجدول (٣) الشكل (٤) ان سرعة جريان البقع المنفصلة من كالس نبات الفجل (الاوراق – السيقان والجذور) بلغت (٠,٥٥ ، ٠,٥٧ ، ٠,٥٥) على التوالي وهي مقاربة لسرعة جريان R_f العينة القياسية (قلويد الرافايول٠,٥٩) حسب الجداول المذكورة في (Andreu, 1982)،

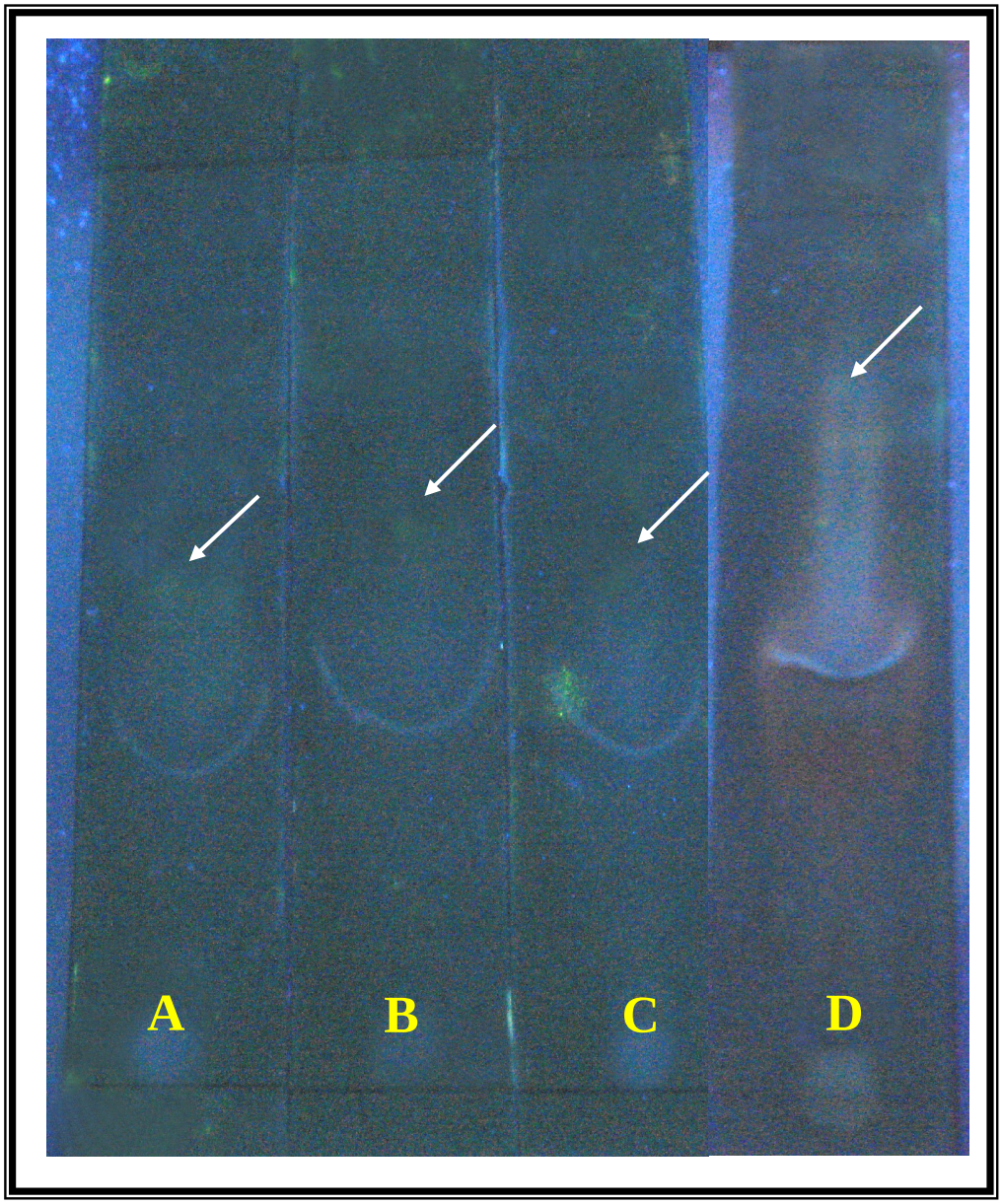
إذ ان المدة التي يمر بها النبات وانسجته خلال زراعته وما يتعرض له اثناء عملية زراعتــه فــي الاوساط الغذائية وادامته قد تؤثر في كمية المواد الفعالة (Larkin & Scowcroft, 1981).

ان تقارب قيم R_f للعينات النباتية تشير الى وجود المركب نفسه في المستخلــصات النباتيــة فضلاً عن ظهور بقعة واحدة لكل مستخلص نباتي منه كما بلغت سرعة جريــان اوراق النباتــات المتكونة من الكالس (٠,٥٩) وهي مطابقة تماما لسرعة جريان العينة القياسية (قلويدالرافايول).



شكل (٣): الكشف عن قلويد الرافايول Raphaiol المعزول من البذور والاجزاء النباتية (الاوراق ، السيقان والجذور) لنباتات الفجل *Raphanus sativus L.* بتقنية كروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة (TLC)

A : **محلول القلويد المعزول من البذور.**
B : **محلول القلويد المعزول من الاوراق.**
C : **محلول القلويد المعزول من السيقان.**
D : **محلول القلويد المعزول من الجذور.**



شكل (٤): الكشف عن قلويد الرافايول Raphaiol المعزول من الكالس المشتق من (اوراق، سيقان وجذور) نباتات الفجل *Raphanus sativus L.* واوراق النباتات النسجية بتقنية كروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة (TLC)

A : محلول القلويد المعزول من كالس الاوراق.
B : محلول القلويد المعزول من كالس السيقان.
C : محلول القلويد المعزول من كالس الجذور.
D : محلول القلويد المعزول من اوراق النباتات النسجية.

المصادر : Reference

1. **Bajaj Y.P.S.** (1998). Biotechnology for improvement of medicinal plants. Symposium on Plant Biotechnology As a Tool For Exploitation of Mountain Lands., 457: 37-45.

٢. **جامعة الدول العربية / المنظمة العربية للتنمية الزراعية (١٩٨٨)**. النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي . دار مصر للطباعة، الخرطوم - السودان.

٣. **يحيى**، توفيق الحاج (٢٠٠٣). النبات والطب البديل، الدار العربية للعلوم، مطبعة المتوسط. بيروت - لبنان.

٤. **جندل**، جاسم محمد (٢٠٠٨). عالج نفسك بنفسك. جامعة تكريت.

5. **Gutierrez, R. M. P. & Perez, R. L.** (2004). *Raphanus sativus* L. (Radish): Their Chemistry and Biology. The scientific world Journal 4: 811-837.

6. **Murashige, T. & Skoog, F.** (1962). A revised medium for rapid growth bioassay with tobacco tissue culture, physiol . plant. 15: 473-497.

٧. **العقيدي**، تغريد نواف احمد (٢٠٠٤). تاثير اشعة كاما في احداث التغايرات في محتوى البروتين والزيت والاحماض الدهنية من كالس نبات زهرة *الشمس Helianthus annuus* L. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل.

8. **Al-Daody, A. G. K.** (1998). Chemical study on some Iraqi plants, (Ph.D), University of Mosul, Iraq.

9. **Harborne, J. B.** (1973). phytochemical methods; Vol. I, p: 140.

10. **Wagner, H. B.; Ladt, S. & Zgainski, E. M.** (1984). "Plant drug analysis a thin layer chromatography atlas". Springer Verlage. Berlin.

11. **Harborne, J. B. O.** (1976). "Phytochemical Methods". John Willey and Sons. Inc., New York.

12. **Mikes, O.** (1979). "Chromatographic and Allied Methods". John Willey and Sons, Inc., New York. .

١٣. **سلمان**، محمد عباس (١٩٨٨). أساسيات زراعة الخلايا والأنسجة النباتية، جامعة بغداد، دار الكتب للطباعة والنشر.

١٤. **الصالح**، هناء سعيد وازاهار حسين علي (٢٠٠٦). تأثير تداخل بعض منظمات النمو ومشتقات الترايازولس في نمو وتمايز كالس نبات الفجل *Raphanus sativus* L. مجلة علوم الرافدين المجلد ١٧، العدد ٩ ، ٥٠-٦٣.

15. **Badigannavar, A. M. & Kuruvinashetti, M. S.** (1996). Bractas an Explant for callus induction and shoot bud formation in sunflower (Helianthus annus L.) Agricultural sciences, 19:25, 35-38.

16. **Mohammad, A. M. S. & Collin, H. A.** (1979). Growth and invertase activity of sugar beet callus. New Phytol., 82: 293-299.

١٧.**محمد،** عبدالمطلب سيد ومبشر صالح عمر (١٩٩٠). المفاهيم الرئيسية في زراعة الخلايا والانسجة والاعضاء، جامعة الموصل.

18. **Negrutiu, I.; Jacobs, M. & Dorina, G.** (1978). Some factors controlling in vitro morphogenesis of (Arabidopsis Thaliana). Z. pflanzen Physiol; 86: 113-124.
19. **Al-Safadi, B. & Simon, P. W.** (1990). The Effects of gamma irradiation on the growth and cytology of carrot (Daucus carota). Tissue culture Environ. Expt. Bot., 30: 361-371.
20. **Phillips, G. C. & Hustenberger, J. F.** (1985). Organogenesis in pepper tissue cultures. Plant cell. Tiss . Org. Cult., 4: 261-269.
21. **Hartmann, H. T.; D. E. Kester; F. T. Davies & R. L. Geneve** (2002). Plant Propagation Principles and Practices. 7th ed., Perntice Hall, Inc. New Jersey. USA.
22. **Street, H. E.** (1977). "Plant Tissue and Cell Culture Black Well Scientific Publication" . Oxford, London Edinburgh, Melbourne.

٢٣. **عبود،** ساجدة عزيز؛ الدليمي، حكمت مصطفى (٢٠٠٩). تأثير أشعة كاما في نمو كالس نبات الحبة السوداء (*Nigella sativa* L.)، مجلة التربية والعلم، ٢٢(٢)، ٩١ -٩٢.

24. **Ozyigit, I, I;** Gozkirmizi, N, and Semiz, B. D. (2007). Genotype de pended callus in duction and shoot regeneration in sun flower (Helianthus, annuus, L.) Afri. J. Biotechnol. Vol. 6(13), PP. 1498-1502.
25. **Andreu, J. M. & Timasheff, S. N.** (1982). Biochemistry; 2: 21(3): 534-43.
26. **Sarin, R.** (2005). Biotechnology, 4(2): 79-93.
27. **Larkin, P. J. & Scowcroft, W. R.** (1981). Theor. Appl Genet ; 60: 197-214.

This document was created with Win2PDF available at http://www.daneprairie.com.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.