جامعة الموصل
كلية العلوم

دور حامض الاسكوربيك في استحداث ونمو وتمايز كالس زهرة الشمس *Helianthus annuus* L. النامي تحت تأثير الشد الملحي

شيماء محمد سلطان حماد

رسالة ماجستير
علوم الحياة / نبات

بإشراف
أ. د. ساجدة عزيز عبود فليح

1443 هـ 2022 م

شملت الدراسة تأثير ملح كلوريد الصوديوم بتراكيز 50، 100، 150 و200 ملي مول، وحامض الاسكوربيك بتركيزين 20 و40 ملغم.لتر$^{-1}$ والتداخل بينهما في استحداث ونمو كالس سيقان بادرات زهرة الشمس *Helianthus annuus* L. على وسط Murashige and Skoog (MS) المزود بالبنزايل ادنين Benzyl adenine (BA) بتركيز 1.0 ملغم.لتر$^{-1}$ والنفثالين حامض الخليك Naphthalene acetic acid (NAA) بتركيز 0.5 ملغم.لتر$^{-1}$. وأظهرت النتائج أن زيادة تركيز كلوريد الصوديوم في الأوساط الغذائية أدى إلى اختزال نسب استحداث الكالس ورافقه انخفاض معنوي في الأوزان الطرية والجافة للكالس، بينما سببت إضافة حامض الاسكوربيك إلى الأوساط الحاوية على الملح إلى استعادة استحداث ونمو الكالس بعد 30 يوما من الزراعة.

أوضحت النتائج أن زراعة عيّنات من الكالس المستحدث من سيقان بادرات زهرة الشمس على أوساط MS المزودة بتراكيز مختلفة من الملح أدت إلى انخفاض متباين في مؤشرات نمو الكالس (الوزن الطري والجاف، دليل التحمل الإجهاد الملحي، معدل النمو النسبي والمطلق، حيوية الكالس) مع زيادة في النضح الالكتروليتي لخلايا الكالس بعد 21 يوما من الزراعة. إنّ إضافة حامض الاسكوربيك وبتراكيز 20 او40 ملغم.لتر$^{-1}$ إلى أوساط MS أدى إلى زيادة في معدل مؤشرات نمو الكالس أعلاه خاصة عند التركيز 20 ملغم.لتر$^{-1}$. الملوحة سببت أيضا ازدياد محتوى الكالس من البرولين، السكريات الذائبة وحامض الاسكوربيك فضلاً عن زيادة فعالية أنزيمي الكاتليز والبروكسيديز رافقه انخفاض في تركيز البروتينات والحامض النووي المنقوص الاوكسجين والحامض النووي الرايبوزي . كان لإضافة حامض الاسكوربيك إلى أوساط نمو الكالس وتداخله مع كلوريد الصوديوم تأثيرات إيجابية في زيادة تلك المكونات في أنسجة الكالس قياسا بمعاملة المقارنة والملوحة. وسببت أيضا إضافة حامض الاسكوربيك اختزال تركيز أيونات الصوديوم والكلور في أنسجة الكالس التي ازدادت بتأثير الملوحة ورافقها زيادة في أيونات البوتاسيوم، الكالسيوم، المغنسيوم والفسفور.

فشل تمايز كالس معاملة الملوحة عند التركيز 150 ملي مول، بينما تفوق كالس معاملة حامض الاسكوربيك عند التركيز20 ملغم.لتر$^{-1}$ في تمايزه إلى أفرع خضرية وتكوين النبيتات على بقية المعاملات، وأمكن تجذير تلك النبيتات وأقلمتها لتكون نباتات استمرت بالنمو لتكوين أقراص زهرة الشمس بعد 35 يوما من المعاملة بحامض الاسكوربيك.

اعتُمد مؤشر التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال لسلسلة الحامض النووي المنقوص الاوكسجين للكشف عن التغايرات الوراثية للمقارنة بين مجموعتين من الكالس المستحدث من قطع سيقان

البادرات النامية من بذور منقوعة في محلول كلوريد الصوديوم (150 ملي مول)، حامض الاسكوربيك (20 ملغم.لتر$^{-1}$) والتداخل بينهما فضلاً عن معاملة المقارنة وبذور اخرى غير منقوعة. وأظهرت نتائج مؤشر التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال لسلسة الحامض النووي المنقوص الاوكسجين حصول تغايرات وراثية في الكالس للمعاملات المختلفة اعتمادا على وجود وحجم الحزم المتضاعفة.

إنّ نقع بذور زهرة الشمس بمحلول كلوريد الصوديوم بتركيز 150 ملي مول أثر سلبا في مؤشرات نمو البادرات بدلالة الانخفاض في اطوال كل من الجذير والرويشة وأوزانهما الطرية والجافة قياسا بمعاملة المقارنة. واستمر تأثير نقع البذور بكلوريد الصوديوم في بعض المؤشرات المظهرية والكيميائية في نمو نباتات زهرة الشمس المزروعة في الحقل (ارتفاع النبات، الوزن الطري والجاف للنبات، المساحة الورقية، عدد البذور.قرص$^{-1}$، وزن 100 بذرة، تركيز الكلوروفيل في الأوراق ونسبة الزيت والبروتين في البذور)، بينما حسنت عملية نقع البذور بمحلول حامض الاسكوربيك بتركيز 20 ملغم. لتر$^{-1}$ من النسبة المئوية لإنبات البذور واختزال التأثيرات السلبية لكلوريد الصوديوم في مؤشرات النمو المذكورة سابقا. وأعطت النباتات النامية من بذور منقوعة في حامض الأسكوربيك بتركيز 20 ملغم. لتر$^{-1}$ أكثر من نورة زهرية واحدة للنبات الواحد وتراوح عدد النورات الزهرية بين 3–6 قياسا بالمعاملات الأخرى التي أعطت نورة زهرية واحدة لكل نبات.

The study included the effect of sodium chloride salt at concentrations 50, 100, 150 and 200 mM and ascorbic acid at concentrations 20 and 40mg.l^{-1} and interaction between them in the initiation and growth of callus from stem seedlings of *Helianthus annuus* L. on Murashige and Skoog (MS) medium provided with 1.0mg.l^{-1} benzyl adenine (BA) and 0.5mg.l^{-1} naphthalene acetic acid (NAA). The results showed that increasing the concentration of sodium chloride in cultured media led to a reduction the percentage of callus initiated and accompanied by a significant decrease in the callus fresh and dry weights, while the addition of ascorbic acid to the salt-containing media caused the restoration of callus initiation and growth after 30 days of cultivation.

The results showed that the culturing samples of callus from the stems on MS media supplied with different concentrations of salt led to a differential decrease in the growth indicators of callus(fresh and dry weight, salt stress index, absolute and relative growth rates, callus vitality) with an increase in the relative electrolyte leakage of callus cells after 21 days of cultivation. The addition of ascorbic acid with concentrations of 20 or 40 mg.l^{-1} to MS media increased the rates of the above callus growth indicators, especially with 20 mg.l^{-1} concentration. Salinity also caused an increase in the content of callus from proline, soluble sugars and ascorbic acid in addition to an increase in the activity of catalase and peroxidase enzymes, accompanied by a decrease in the concentration of proteins, deoxyribonucleic acid and ribonucleic acid. The addition of ascorbic acid to callus growth media and its interaction with sodium chloride had positive effects in increasing these components in callus tissues compared to control and salinity treatment. The addition of ascorbic acid also caused a reduction in the concentration of sodium and chlorine ions in the callus tissue, which increased by the effect of salinity, and was accompanied by an increase in potassium, calcium, magnesium and phosphorous ions.

The differentiation of the salinity treatment callus at 150mM failed while the callus of the ascorbic acid treatment at 20 $mg.l^{-1}$ was superior in terms of its differentiation into vegetative branches and forming the plantlets compared to the rest of the treatments.These plantlets were rooted and acclimatized to form plants that continued to grow to form sunflower heads after 35 days of treatment with ascorbic acid.

The Random Amplified Polymorphic-DNA molecular marker was used to detect the genetic variations between two groups of callus inducted from stem segments of seedlings grown from seeds soaked in sodium chloride solution (150mM), ascorbic acid ($20mg.l^{-1}$) and interaction between them as well as control treatment and other unsoaked seeds. The Random Amplified Polymorphic-DNA marker results showed, a genetic variation in different treatments of callus which conformed by the number and size of bands.

Soaking sunflower seeds in a sodium chloride solution at a concentration of 150mM had a negative effect on the growth indicators of seedlings in terms of the decrease in the lengths of the radical and the coleoptile with their fresh and dry weights compared to the control treatment. The effect of soaking seeds with sodium chloride continued on some phenotypic and chemical indicators on the growth of sunflower plants grown in the field (plant height, fresh and dry weight, leaf area, number of $seeds.disc^{-1}$, the weight of 100 seeds, chlorophyll concentration in the leaves and the content of oil and protein in the seeds), while the process of soaking the seeds with ascorbic acid solution at a concentration of $20mg.l^{-1}$ was improved of seed germination percentage and reduced the negative effects of sodium chloride on the growth indicators mentioned previously.

Plants grown from soaked seeds in ascorbic acid at a concentration of 20 $mg.l^{-1}$ gave more than one inflorecence per plant, and the number of inflorecences ranged between 3-6 compared to other treatments that gave only one inflorecence per plant.

University of Mosul
College of Science

Role of ascorbic acid in the initiation, growth and differentiation of *Helianthus annuus* L. callus growing under the influence of salinity stress

Shaimaa Mohammed Sultan Hamaad

M.Sc. Thesis

Biology / Botany

Supervised by Professor
Dr. Sajida Aziz Abood Flieh

1443 A.H. **2022 A.D.**