جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الموصل / كلية العلوم

تحفيز دقائق الفضة النانوية AgNPs المصنعة حيوياً من مستخلص ثمار الطماطة في تعبير مورثات البناء لمركب Eugenol لأنسجة نبات القرنفل *Eugenia caryophyllus*

سحر محمد منصور نجم الحديدي

رسالة ماجستير

علوم الحياة / علم النبات

بإشراف

الأستاذ المساعد

الدكتورة رنا طارق يحيى

١٤٤٦هـ 2024 م

الخلاصة:

نجحت الدراسة الحالية في تصنيع دقائق الفضة النانوية بالطريقة الحيوية باستعمال المستخلص المائي لثمار نبات الطماطة الممزوج مع المحلول المائي لنترات الفضة بتراكيز وبتخافيف محددة لكل منهما وتم الاعتماد على التغييرات اللونية كمؤشر أولي على تكوينها فضلا عن تشخيصها باستعمال تقنيات التوصيف ، إذ أعطى التركيز ٢.٠ ملي مولر لمحلول نترات الفضة وعند التخفيف١:٢ أوضح دلالة لونية بظهور اللون البرتقالي الداكن كمؤشر اختزال الفضة الموجودة في مستخلص الطماطة وتكوين جزيئات الفضة النانوية. واستخدمت عدة تقنيات للكشف عنها ومنها التحليل الطيفي المرئي فوق البنفسجي اذ أعطى التركيز ٢.٠ ملي مولر من نترات الفضة وبالتخفيف اعلاه افضل نتيجة للكشف عنها من خلال ظهور أعلى قمة للمنحني عند الطول الموجي ٢٦٣ نانوميتر بامتصاصية 1.8963 نانوميتر. وأشار طيف الأشعة تحت الحمراء إلى وجود المجاميع الفعالة في كل التراكيز المستخدمة والمسؤولة عن اختزال دقائق الفضة النانوية وتغليفها لجعلها اكثر استقرارا حيث اعطى ذات التركيز والتخفيف اعلاه أفضل نتيجة للمجاميع الفعالة عند الرابطة H=O التي بلغت ٣٣٣١ سم$^{-1}$ عند طيف تردد (٢٥٠٠ – ٣٣٠٠) سم$^{-1}$.

وقد سعت الدراسة الحالية لبيان تاثير الدقائق النانوية للفضة المصنعة حيويا في نمو أنسجة نبات القرنفل وأثبتت التأثير الأيجابي لها في إنبات البذور ونموها وإنتاج بادرات اتصفت بنموها الجيد على وسط Murashige and Skoog الصلب، إذ أشارت نتائج زراعة بذور النبات على وسط MSO الصلب المدعم بتراكيز الدقائق النانوية للفضة المستخدمة في الدراسة (25, ٥٠, ١٠٠, ٢٠٠) مايكروغرام/مل زيادة إنباتها مقارنة بالوسط الخالي منها مع تفوق التركيز ١٠٠ مايكروغرام/ مل من تلك الدقائق في تحفيزه نسبة الإنبات والبالغة ٩٥٪ خلال ٤ أيام. ولقد تمكنت هذه الدراسة من إستحداث كالس قطع السيقان من بادرات القرنفل النامية على وسط MS الصلب القياسي، وبينت النتائج أن أعلى نسبة أستحداث للكالس على الوسط القياسي المدعم بالتركيز ٢٠٠ مايكروغرام/ مل وسجلت ٩٥٪ وبمعدل وزن طري ٩.٦ غم بعد ٣٠ يوماً من النمو. وأعطت فحوصات المجهر الألكتروني الماسح صورة واضحة لقابلية خلايا أنسجة بادرات وكالس القرنفل في أستقطاب دقائق الفضة النانوية المصنعة حيوياً على أسطحها وبتدرج كثافتها حسب التركيز المستخدم.

وتقدير المحتوى الزيتي لبادرات وكالس نبات القرنفل بوساطة جهاز Soxhelt وتبين تحفيز زيادة المحتوى الزيتي للبادرات النامية على وسط MSO الصلب والمجهز باضافة تراكيز الدقائق النانوية المستخدمة في الدراسة بالمقارنة مع نظيره الزيتي عند نموها على الوسط الخالي منها. وحققت البادرات النامية على وسط MSO الصلب والمجهز بإضافة ١٠٠ مايكروغرام \ مل أعلى محتوى زيتي ٣.٠٧ % . وتفوق الكالس النامي على وسط MS القياسي والمجهز بتراكيز الدقائق النانوية المستخدمة في الدراسة في محتواه الزيتي أذ أعطى الكالس النامي على الوسط القياسي والمجهز بإضافة ٢٠٠ مايكروغرام / مل اعلى محتوى زيتي بلغ ٢.٤٢٪.

وأجريت فحوصات تحليل المحتوى الزيتي بتقنية GC-MS للكشف عن المركب الفعال eugenol في زيت البادرات والكالس والذي كشف عن الصيغة التركيبية للمركب وصفاته الكاملة وبمساحة بلغت٢.٧٧ % للبادرات النامية على افضل التراكيز المحفزة لنمو البادرات (١٠٠مايكروغرام \مل) كما سجل الكالس النامي على وسط MS القياسي الصلب المجهز بتركيز الدقائق النانوية المحفزة لأفضل نمو للكالس (٢٠٠ مايكروغرام\مل) أعلى مساحة بلغت ٤.٥٤٪. وتم الكشف عن نشاط التعبير الجيني للمورث eugenol synthase 1-like *LOC*115670268 في بادرات وكالس سيقان بادرات القرنفل المسؤول عن زيادة المحتوى الزيتي eugenol بدلالة نتائج على تقنيات التفاعل التضاعفي الكمي RT-PCR والذي اظهر حصول أعلى تردد تعبير جيني كان لكالس السيقان النامية على وسط MS القياسي الصلب والمدعم بإضافة 200 مايكروغرام /مل من الدقائق النانوية للفضة والبالغ 1.33 في حين كان تردد التعبير الجيني للبادرات النامية على وسط MSO الصلب والمدعم بإضافة ١٠٠ مايكروغرام /مل من الدقائق النانوية للفضة 1.2.

Abstract

The present study was succeeded on the biosynthesis of silver nanoparticles by green method from an aqueous tomato fruits extract mixed with an aqueous solution of silver nitrate at a limited concentration and dilutions for each of them and dependent on the color changes as an primary indicator to form them as well as their identification by detection methods. So the concentration 2.0 mM of silver nitrate at a dilution of 1:2 gave the clearer colour indication by appearance of dark orange appears as an indicator of the reduction of silver present in tomato extract and the formation of silver nanoparticles. Many techniques used for detect them as ultraviolet-visible spectroscopy that the concentration 2.0 mM of silver nitrate solution and at the above dilution gave the best result for detect them by appearance the peak of the curve at the wavelength of 263nm with an absorbance of 1.8963 nm. Also Fourier Transform Infrared Spectrometer indicated the presence of active groups at all concentrations used which responsible for the reduction silver nanoparticles and enveloped to make them more stability, so the same concentration and dilution above gave the best result for the active groups band at the H=O bond reached to 3331 cm^{-1} at spectrum frequency (2500- 3333)cm^{-1}.

The current study strive to explain the effect of bio-synthesized silver nanoparticles on the growth the tissues of *clove* plant and proved their positive effect on the germination and growth of seeds and the production of seedlings characterized by their good growth on Murashire and Skoog solid medium. So the results of clove seeds cultured on MSO solid medium supplemented with used concentrations of silver nanoparticles (25, 50, 100, 200 mg/ml) reffered to an increased their germination compared to the free medium with the superiority of the concentration 100 mg/ml of this nanoparticles in stimulating the germination rate of 95% within 4 days. This study was able to initiate clove

plant callus from seedlings stems explants grown on standard solid MS medium,The results showed that the highest rate of callus initiation was on the standard medium supplemented with a concentration of 200 mg/ml and reached 95%, with an average fresh weight of 9.6 g after 30 days of growth. The Scanning electron microscope examinations gave a clear picture of the ability of the seedling tissue cells and callus of the clove plant to uptake bio-synthesized silver nanoparticles on their surfaces, with a gradient of their density according to the concentration used.

The oil content of the seedlings and callus of the clove plant was estimated using the Soxhelt device, and it was found to stimulate an increase in the oil content of the seedlings growing on the MSO solid medium supplemented with the concentrations of nanoparticles used in the study compaired with their oil content when growth on medium free of them and the seedlings growing on the MSO solid medium prepared with a concentration of 100 mg/ml were given the highest oil content was 3.07% and the callus growing on the standard MS medium prepared with the concentrations of nanoparticles used in the study was also superior in oil content, where the callus grown on the standard MS medium prepared with a concentration of 200 µg/ml had the highest oil content of 2.42%.Oil content analysis tests were conducted using GC- MS technology to detect the active compound Eugenol in the seedling and callus oil, which revealed the structural formula of the compound and its complete characteristics, with an area of 2.77% of the seedlings growing the best stimulating seedings growth medium (100 µg/ml of AgNPs), also the callus growing on solid standard MS medium prepared with the best callus growth stimulating concentration of nanoparticles (200 µg/ml) that gave the highest area of 4.54%.

The gene expression activity of the *LOC*115670268 eugenol synthase 1-like gene was investigated in seedlings and stems calluse of clove, which is

responsible for increasing the eugenol oil content, depending on REAL TIME-Polymerase Chain Reaction, the highest gene expression was in stems callus grown on standard MS solid medium supplemented with a concentration of 200 µg/ml of silver nanoparticles was 1.33, while the gene expression of seedlings grown on MSO solid medium supplemented with a concentration of 100 µg/ml of silver nanoparticles was 1.2

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education and Scientific Research
University of Mosul
College of Science
Dept. of Biology

Stimulation of biosynthesized silver nanoparticles AgNPs from aqueous extract of tomato fruits the expression of eugenol biosynthesis genes in *Eugenia caryophyllus* plant tissues.

Sahar Mohammad Mansur Najm Alhadidii

M.Sc. Thesis

Biology /Botany

Supervised By

Assistant Professor Dr Rana Tariq Yahya

1446A.H. **2024 A.D.**