



جامعة الموصل
كلية العلوم

تأثير أشعة الليزر في استحداث ونمو كالس نبات زهرة الشمس
Helianthus annuus L. وفعالية انزيم الداى هيدروفوليت
ردكتيز ومحتواه من الاحماض النووية والبروتينات والفوليت

سارة نزار غانم جميل

رسالة ماجستير

علوم الحياة / نبات

باشراف

الأستاذ الدكتورة ساجدة عزيز عبود

شمل البحث دراسة تأثير اشعة الليزر الحمراء عند الطول الموجي (650) نانوميتر وبقدرة (50) ملي واط / سم² ، باستخدام جهاز الليزر الثنائي شبه الموصل الدايمود diode laser لمدد مختلفة (20,15,10,5) دقيقة في استحداث ونمو كالس نبات زهرة الشمس *Helianthus annuus* L.

عُرِضت بذور زهرة الشمس الى ضوء الليزر الاحمر لمدد مختلفة، اختلفت نسب إنبات البذور ومعدلات طول الجذور باختلاف مدة التعريض للأشعة، ادت الزيادة في مدة تعريض البذور للأشعة إلى زيادة في نسب الإنبات حتى بلغت (100%) ، وفي حالة تعريض البذور لمدة (20) دقيقة حصل نمو وتطور البادرات، وتعجيل ظهور الأزهار عند تعريض البذور لمدة (15) دقيقة استنادا الى معاملة المقارنة.

أظهرت النتائج الاستجابة العالية لاستحداث الكالس بتأثير الأشعة لجميع قطع الأجزاء النباتية (الجذور، السيقان والأوراق) لبادرات نامية من بذور معرضة للأشعة ولمدد مختلفة وعلى الوسط الغذائي لموراشيخ وسكوك MS الحاوي على (1.0) ملغم/لتر من البنزاييل ادينين BA و(0.5) ملغم/لتر من النفثالين حامض الخليك NAA، وأعطى تعريض البذور لمدة 20 دقيقة أفضل نمو وقوام لكالس الأوراق. ان زيادة مدة تعريض البذور للأشعة أدى الى زيادة في محتوى كالس الأجزاء النباتية من البروتين والحمضين (DNA و RNA والفوليت) مع زيادة في مستوى فعالية انزيم الداى هيدروفوليت رديكتيز بعد مدة نمو الكالس (30 و 60) يوما على الوسط الغذائي. برهنت هذه الدراسة زيادة في كمية البروتين ونسب الزيت المستخلصة من البذور المتكونة من نباتات نامية لبذور معرضة للأشعة لمدة (20) دقيقة التي بلغت (1.261) ملغم/غرام وزن طري و (42.7%) على التوالي استناداً إلى معاملة المقارنة التي بلغت (0.615) ملغم/ غرام وزن طري و (12.7%) على التوالي. وأشارت النتائج إلى أن تعريض البذور لمدة (5 و 20) دقيقة لأشعة الليزر حفزت تكوين الجذور والأفرع الخضرية من كالس السيقان والأوراق على التوالي.

تعريض قطع (الجذور، السيقان والأوراق) الى اشعة الليزر ادى الى زيادة واضحة في معدل مؤشرات نمو الكالس خاصة بعد فترة نمو استغرقت (60) يوماً، فضلاً عن معدل الاوزان الطرية للكالس، وفعالية انزيم الداى هيدروفوليت رديكتيز ومحتوى الكالس من البروتينات والحمضين (DNA و RNA والفوليت) في الاوراق تأثرت بمدة التعريض للأشعة. لقد اعطى التعريض لمدة (20) دقيقة للأشعة اعلى مستوى من فعالية الانزيم وصلت (53.4111) مايكرومول/ دقيقة/ملغم بروتين مع زيادة في كمية البروتينات DNA، RNA والفوليت وصلت (4.3) ملغم/غم (221.888, 1.2, 23.311) مايكروغرام/غرام وزن طري على التوالي بعد (60) يوماً من التعريض للأشعة، كما انعكست هذه التغيرات في مؤشرات النمو على تمايز كالس السيقان الى مجموعة من الجذور البيض

ب الخلاصة

كثيفة الشعيرات الجذرية بعد (35) يوماً من تعريض قطع السيقان للأشعة لمدة (10) دقائق، كما حفز كالس الاوراق لتكوين عدد من الافرع الخضرية بعد 50 يوماً من التعريض للأشعة لمدة (20) دقيقة، وجذرت الافرع الخضرية بسهولة عند نقلها الى اوساط MS الخالية من منظمات النمو، استمرت النباتات بالنمو مكونة اقراص زهرة الشمس بعد (50) يوماً من عملية التجذير.

تعريض عينات كالس (الجذور، السيقان و الاوراق) لضوء الليزر الاحمر أظهرت تأثيرات ايجابية وسلبية متأثرة بمدة التعريض للأشعة، كما سبب تعريض كالس الاوراق لأشعة الليزر لمدة (10) دقائق زيادة في مستوى فعالية انزيم الداى هيدروفوليت رديكتيز وسجلت (51.881) مايكرومول/دقيقة/ملغرام بروتين مع زيادة في كمية البروتينات (DNA، RNA والفوليت) التي بلغت (2.9) ملغم/غم ، (19.345، 130.781، 0.663) مايكروغرام/غرام وزن طري على التوالي بعد (30) يوماً من التعريض للأشعة، وسبب تعريض كالس السيقان لأشعة الليزر لمدة (5) دقائق تكوين مجموعة من الجذور البيض كثيفة الشعيرات الجذرية بعد (50) يوماً من التعريض للأشعة، اتصفت الجذور الناشئة من كالس الجذور بصلابتها وقلة عددها بعد (60) يوماً من التعريض للأشعة لمدة (5) دقائق، كما رافق الانخفاض في مؤشرات نمو كالس السيقان المعرضة للأشعة لمدة (20) دقيقة نشوء العديد من النموات الخضرية تراوح عددها من (12-13) نمواً بعد (30) يوم من التعريض، وتطورت تلك النموات الى افرع خضرية جيدة النمو، امكن تجذيرها بنقلها الى اوساط MS الغذائية الحاوية على (1.0) ملغم/لتر من (NAA)، وياشرت النباتات بعد (45) يوماً من تجذيرها واقلمتها بتكوين اقراص زهرة الشمس .

برهنت النتائج امكانية معالجة التأثيرات السلبية لمشابهات الفوليت من الترايميثوبريم والامينوبترين بتركيز (10^{-3}) مولار والتي شملت اختزال في حجم كتلة الكالس المتزامنة مع انخفاض في مؤشرات نمو الكالس الاخرى قيد الدراسة ، بعد تعريض مزارع كالس الاوراق بعمر (20) يوماً لأشعة الليزر لمدة (10) دقائق وبعد مدة نمو استغرقت 30 يوماً من المعاملة انخفضت نسب التثبيط بالترايميثوبريم والامينوبترين من (50-60%) إلى (10-20%) على التوالي.

University of Mosul

College of Science



**Effect of Laser Radiation in the Initiation and
Growth of Sunflower (*Helianthus annuus L.*) Calli,
Dihydrofolate Reductase Enzyme Activity and their
Contents of Nucleic Acids, Proteins and Folate**

Sara Nazar Ghanem Jameel

M.Sc. Thesis
Biology/Botany

Supervised by
Prof. Dr. Sajida Aziz Abood

Summary

The research involved study the effect of the red laser radiation at wavelength 650 nm and power 50 mw/ cm² using a semi-connector laser (diode laser) for different periods of time 5, 10, 15, 20 min., in the initiation and growth of sunflower (*Helianthus annuus* L.) calli.

Exposing of sunflower seeds to different periods of time of red laser light. The percentage of seeds germination and the average of roots length differed with the exposure time used. Increasing in the time of exposure leads to the best results in seeds germination percentage reached 100% and in the growth and development of seedlings in the case of exposing seeds to 20 min. and accelerated the emergence of flowers when seeds exposed to 15 min. in respect to control. The results indicated to a successful initiation of calli from explants (roots, stems and leaves) of sunflower seedlings developing from irradiated seeds for different periods of time on Murashige and Skoog media containing 1.0 mg/l of Benzyl adenine and 0.5 mg/l of Naphthalene acetic acid. The best irradiation time was 20 min. for growth and durability of leaf calli. Fresh weight, protein, DNA, RNA, folate contents and the level of specific activity of dihydrofolate reductase of calli of different explants were increased with increasing the duration of seeds exposure to red light after 30 and 60 days of growth on media. This study also proved an increase in protein and oil contents in seeds of plants grew from irradiated seeds especially at 20 min. which amounted to 1.261 mg/gm fresh weight and 42.7% respectively in respect of control which reached to 0.615 mg/gm fresh weight and 12.7% respectively. Using red laser rays for 5 and 20 min, resulted in roots and shoots production from calli of stems and leaves respectively.

Exposing of root, stem and leaf explants to laser radiation leads to a clear increase in rate of growth indicators of calli after 60 days of different times exposure. Fresh weight of calli, dihydrofolate reductase activity and

Summary

the amount of protein, DNA, RNA, folate in callus tissues ,affected by the duration of exposure. It was found that 20 min. duration was ideal to produce maximal activity of dihydrofolate enzyme giving value of 53.411 $\mu\text{mol /min /mg}$ protein and an increase in the amount of protein, DNA, RNA and folate to achieve 4.3mg/gm , 23..311, 221.888, 1.2 $\mu\text{g/gm}$ fresh weight respectively after 60 days of leaf calli growth. These changes in growth indicators reflected on differentiation of stem calli to a group of white roots with dense root hairs after 35 days of stem explants exposure to 10 min. While leaf calli stimulated to form a number of vegetative branches after 50 days of exposure to 20 min. All shoots were rooted easily in hormone free MS medium. Plants continued to grow to form sunflower disks after 50 days of rooting process and growth.

Exposing callus of different plant explants (roots , shoots and leaves) to red laser light showed positive and negative impacts in growth indicators of calli, influenced by exposure time. Exposure of leaf calli to laser radiation for 10 min. enhanced dihydrofolate reductase activity which recoded 51.881 $\mu\text{mol/min/mg}$ protein and an increase in the amount of protein, DNA, RNA and folate reached to 2.9 mg/gm ,19.345, 130.781, 0.663 $\mu\text{g/gm}$ fresh weight respectively after 30 days of irradiation. The exposure of stem calli to radiation for 5 min. caused the formation of a group of white roots with dense root hairs after 50 days of exposure, while roots were formed on root calli characterized by rigidity and few root hairs after 60 days of exposure to 5 min.. Companied with the decline in growth indicators of stem calli which exposed to the radiation for 20 min. caused the formation of many vegetative shoots varied from 12-13 growth after 30 days of exposure. Shoots developed into vegetative branches with good growth. These branches rooted after transferred them to MS media

Summary

containing 1.0 mg/l of NAA. Plants after 45 days from their rooting and growth enabled to form sunflower discs.

The results proved the possibility of treating the negative effects of folate analogous of Trimethoprim and Aminopterin at 10^{-3} molar, which included a reduction in the size of the callus masses and decrease in other growth indicators of callus, after exposing of leaf callus cultures aged 20 days to laser light for 10 min. and after a period of growth it took 30 days of treatment. The percentage of inhibition by Trimethoprim and Aminopterin declined from 60-50% to 20-10% respectively.