جامعة الموصل

كلية العلوم

تضمين الدقائق النانوية لأكاسيد النحاس والخارصين في بادرات وكالس نبات الخرنوب البري

رنا طارق يحيى الطائي

اطروحة دكتوراه

علوم الحياة/علم النبات

بإشراف

الأستاذ الدكتورة

هناء سعيد عبد الله الصالح

1436هـ 2014م

جامعة الموصل

كليـة العلوم

تضمين الدقائق النانوية لأكاسيد النحاس والخارصين في بادرات وكالس نبات الخرنوب البري

اطروحة تقدمت بها

رنا طارق يحيى الطائي

الى

مجلس كلية العلوم في جامعة الموصل وهي جزء من متطلبات

درجة الدكتوراه فلسفة في اختصاص

علوم الحياة/ علم النبات

بإشراف

الأستاذ الدكتورة

هناء سعيد عبد الله الصالح

1436هـ **2014م**

الخلاصة

تمكنت الدراسة الحالية من استحداث ونمو كالس قطع السيقان تحت الفلقية والأوراق الفلقية لبادرات الخرنوب *Prosopis farcta* L.، باستخدام منظمات النمو النباتية NAA (Naphthaleneacetic acid), IBA (Indolebutyric acid)، BA، Zeatine (Benzyl adenine) وحدها أو متداخلة مع بعضها مضافة الى وسط MS الصلب، ولم تنجح جميعها في تكوين مزارع كالس كفوءة. لذلك حورت بعض تراكيز املاح وسط MS بزيادة تركيز KNO_3 الى 2000 ملغم/ لتر، Thiamine-HCl الى 0.5 ملغم/ لتر، Pyrodoxine-HCl الى 1.0 ملغم/ لتر واعتمد هذا الوسط المحور في الدراسة مدعماً بتراكيز مختلفة من NAA وTDZ (Thidizuron) كل منها على انفراد او متداخلة فيما بينها للحصول على مزارع الكالس.

وأظهرت نتائج الدراسة نجاحاً ملحوظاً في إنشاء مزارع كالس كفوءة مشتقة من قطع السيقان تحت الفلقية للخرنوب على وسط MS المحور المدعم بإضافة 1.0 ملغم/ لتر NAA مع 4.0 ملغم/ لتر TDZ الذي تفوق على باقي التراكيز في تشجيعهُ لاستحداث الكالس بنسبة 100%. وتميزت هذه المزارع بتكوينها صبغة الانثوسيانين والتي قدرت كمياتها طيفياً وبلغت 440.98 مايكروغرام/غم وزن طري للكالس.

ووفرت الدراسة الحالية اهم المعلومات حول سلوك انسجة الخرنوب مع الدقائق النانوية لأوكسيدي الخارصين ZnO والنحاسCuO وCu_2O وبأقطارها المختلفة عند اضافتها الى وسط MSO لإنبات البذور اذ اوضحت النتائج الدور الايجابي لتلك الدقائق في تحفيز انبات البذور المبكر إضافة الى إحداث تغييرات فسلجية ومورفولوجية في نمو بادراتها. ووجد زيادة طردية للوزن الطري والجاف للكالس مع زيادة تراكيز الدقائق النانوية لأوكسيدي الخارصين والنحاس المضافة الى وسط نموه وعدّ ذلك كدلالة مهمة على التأثير التشجيعي لهذه الدقائق المضافة الى وسط MS المحور في نمو خلايا كالس الخرنوب وزيادة كتلته الحيوية، اذ تفوق التركيز 100 مايكروغرام/مل من الدقائق النانوية لأوكسيد الخارصين ZnO <100 و<120 نانوميتر وأوكسيد النحاس Cu_2O <100 و CuO <350 نانوميتر على باقي التراكيز في تحفيزه نمو الكالس بدلالة الوزن الطري بعد 30 يوماً من النمو البالغ 10.56، 5.7 ، 9.05، 7.3 غم على التوالي مقارنةً مع باقي التراكيز المستخدمة. وبصورة مناظرة تمكن التركيز ذاته من الدقائق النانوية من تسجيل تفوقه في تأثيره على الوزن الجاف للكالس ولجميع انواع الدقائق النانوية مسجلاً 0.28، 0.28، 0.29، 0.27 غم على التوالي.

ووظفت الدراسة المجهر الالكتروني للتحري عن قدرة انسجة الكالس لاستقطاب الدقائق النانوية وتراكمها, فضلا عن قدرة الخلية الواحدة على التعامل مع الدقائق النانوية. واوضحت انسجة بادرات وكالس الخرنوب قدرتها المميزة على استقطاب الدقائق النانوية, من خلال فحوصات المجهر الالكتروني الماسح Scanning Electron Microscope(SEM) لهذه الانسجة. وظهرت الدقائق النانوية

لأوكسيدي الخارصين والنحاس بأنواعها المضافة الى وسط MSO بالتركيز 50 مايكروغرام/مل على انفراد مستقطبة على أسطح خلايا انسجة بادرات الخرنوب مع انعدام وجودها على اسطح خلايا البادرات النامية على ذات الوسط ولكن بغياب الدقائق النانوية(المقارنة). واشارت النتائج الى تزايد قدرة انسجة كالس الخرنوب على استقطاب الدقائق النانوية لأوكسيدي الخارصين والنحاس كل على انفراد أو متداخلة فيما بينها مع تزايد تراكيزها المضافة الى وسط نموها بدلالة تفوق التركيز 100 مايكروغرام/مل على باقي التراكيز المستخدمة بتواجدها على اسطح خلايا الكالس بكثافة عالية. وعلى المستوى داخل خلوي برهنت الدراسة قدرة خلايا الخرنوب على تضمين الدقائق النانوية وتراكمها ضمن العصير الخلوي للفجوة. إذ أشارت فحوصات المجهر الالكتروني النافذ Transmission Electron Microscope (TEM) الى الوجود الغزير للدقائق النانوية لأوكسيد الخارصين ZnO <100 نانوميتر وأوكسيد النحاسCuO<350 نانوميتر كل على انفراد وتداخلهما معاً في العصير الخلوي لخلايا كالس الخرنوب .

ولمقارنة سلوك الدقائق النانوية للخارصين والنحاس الموجودة في العصير الخلوي مع الشكل الايوني لهذه العناصر الموجودة ضمن مكونات وسط MS فقد استخدم مطياف الامتصاص الذري Atomic Absorption Spectrometer (AAS) لفحص هذه الدقائق في العصير الخلوي لخلايا بادرات وكالس الخرنوب والذي اشارت نتائجهُ الى الدور الكبير للدقائق النانوية لأوكسيدي الخارصين والنحاس المضافة الى وسط نموها في تحفيزها تراكم تراكيز عالية من ايونات تلك الدقائق، فقد حفز وجود 100مايكروغرام/مل من أوكسيد الخارصين ZnO <100نانوميتر اعلى تراكم لأيونات الخارصين بلغ تركيزها 5.384 مايكروغرام/مل من العصير الخلوي للكالس، وان اعلى تركيز لأيونات النحاس في العصير الخلوي للكالس النامي على وسط MS المحور ومدعماً بإضافة 100 مايكروغرام/مل من أوكسيد النحاس Cu_2O < 100 نانوميتر وصل الى 8.871 مايكروغرام/مل.

وتناولت الدراسة استخدام تقنية حديثة في مجال دراسات النانوتكنولوجي متمثلة باستخدام جهاز Zetasizer لتحليل مكونات العصير الخلوي لخلايا بادرات وكالس الخرنوب الذي يعد بمقاييسه المتعددة تأكيداً مطلقاً على تواجد الدقائق النانوية وميلها الى تكوين تجمعات اكثر من تواجدها بالشكل الحر وبالأخص جهد الخلية التراكمي للدقائق النانوية الذي بلغ −11.15، −11.05 ملي فولت في العصير الخلوي للبادرات والكالس المعاملة بأوكسيد الزنك <120 نانوميتر في حين بلغ−15.4 ، −14.9 ملي فولت في العصير الخلوي للبادرات والكالس المعاملة بأوكسيد النحاس CuO<350 نانوميتر.

University of Mosul

College of Science

Inclusion of Nanoparticles of Copper and Zinc Oxides in Seedlings and Callus of Wild Prosopis Plant

Rana Tariq Yahya Al-Taee

Ph.D.Thesis

Biology/Botany

Supervised by

Professor

Dr.Hana SaeedAbdullah Al-Salih

2014A.D. 1436A.H.

University of Mosul

College of Science

Inclusion of Nanoparticles of Copper and Zinc Oxides in Seedlings and Callus of Wild Prosopis Plant

Ph.D.Thesis Submitted By

Rana Tariq Yahya Al-Taee

To

The Council of the College of Science University of Mosul In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

Doctor of philosophy

In

Biology\Botany

Supervised by

Professor

Dr.Hana Saeed Abdullah Al-Salih

2014A.D. **1436A.H.**

Summary

The current study accomplished the initiation and growth of callus from seedlings hypocotyls and cotyledonary segments leaves of *Prosopis farcta* L. for this purpose Naphthaleneacetic acid (NAA),Benzyl adenine (BA), Indolebutyric acid (IBA),and Zeatine were used, by adding them to MS solidified medium either individually or with their interactions but results revealed that all these treatments did not succeed in initiation of efficient callus cultures, so that the study use some modifications on MS salts ,that's by using 2000 mg/L of KNO_3, 0.5 mg/L of Thiamine-HCl and 1.0 mg/L of Pyrodoxine-HCl. This modified medium was dependent in all the experiments related to callus initiation and growth after adding different concentrations of NAA and Thidizuron (TDZ) each of them individually or in combination with them.

Results showed that the modified MS medium used in this study help in generating efficient callus cultures from stem hypocotyl segments, that's by addition of 1.0 and 4.0 mg/L of NAA and TDZ alternatively which surpass the other concentrations with its 100% response. The callus cultures characterized by production of anthocyanin which reached to 440.98 µg/g callus fresh weight.

The current study provided us with the most important information about the behavior of Prosopis tissues when treated with nanoparticles of Zinc oxide ZnO and Copper oxides CuO and Cu_2O , which used in this study with various meshes when added them to the nutrient medium. Results showed the positive effect of addition the nanoparticles to the medium that used for seed germination (MSO) represented by enhancement of early germination, in addition to some morphological and physiological changes accompanying seedling growth. It was found also that there were proportional increase in callus fresh and dry weight with the increase of nanoparticle concentration, it was shown that addition of 100 µg/ml of each ZnO < 100 and < 120 nm and the same concentration of Cu_2O< 100 and CuO < 350 nm was the most effective in enhancing callus growth by its fresh weight, among all the concentrations used after 30 days of

culture to reach 10.56, 5.7, 9.05, 7.3 g respectively. At the same time this concentration of all the nanoparticles used in this study, proved to enhance increasing in callus dry weight to reach 0.28, 0.28, 0.29 and 0.27 g respectively.

The study employed electron microscopy to investigate the ability of callus tissues to uptake the nanoparticles and their Inclusion, as well as single cell's ability to treat with nanoparticles. The callus and seedlings tissues explained its distinguished ability of nanoparticles uptake by Scanning Electron Microscope (SEM) to these tissues. Nanoparticles of each Zinc and Copper oxides appeared to be attached to the surface of seedling cells that grown on MSO supplemented with 50µg/ml , whereas it did not exist when the seedlings grown on MSO without addition of these nanoparticles (control). Callus tissues ability to uptake the nanoparticles of Zinc and Copper oxides at alone or with in combination in the media increased with increase of its concentration by evidence surpass the concentration 100 µg/ml. The study proved also the intracellular Inclusion of the nanoparticles, by using TEM that refers to the high density of ZnO < 100 nm and CuO < 350 nm each of them alone or in combination of both in the cell sap of Prosopis callus cells .

For comparison the behavior of Zinc and Copper nanoparticles in the cell sap with the ionic form of these elements which exist within the components of MS medium. Therefore, used Atomic Absorption Spectrometer (AAS) instrument for detection of these particles in the cell sap of seedling and callus. The results revealed the major role of Zinc and Copper nanoparticles which added to its growth medium for increasing callus cells ability to Inclusion of the high concentration of those nanoparticle's ions. Also, 100 µg/ml of ZnO < 100 nm encouraged the high Inclusion of Zinc ions reached 5.384 µg/ml from callus cellular sap, and the high concentration of cupper ions was 8.871 µg/ml in the callus cellular sap that grown in modified MS medium supplemented with 100 µg/ml of Cu_2O <100 nm.

The study included the use of modern technology in the nanotechnology studies field represented by using Zetasizer instrument to analyze the

components in the cellular sap of Prosopis seedlings and callus cells. Multiple Zetasizer parameters consider a confirmation on the presence of the nanoparticles and their tendency to form aggregates more than their presence in the free form. Especially cell zeta potential to those nanoparticles, which reached to -11.15, -11.05 m volt in the cellular sap of the seedlings and callus treated with ZnO> 120 nm. While it reached to -15.4 , -14.9 m volt in the cellular sap of the seedlings and callus treated with CuO> 350 nm.