جامعة الموصل

كلية التربية للعلوم الصرفة

دور المعاملة الحرارية وضوء الليزر في مستويات حامض السينامك ونمو كالس الأجنة والسيقان تحت الفلقية لنبات الخردل البني *Brassica juncea* L

جمال أحمد يونس محمد

رسالة ماجستير

علوم الحياة

بإشراف

الأستاذ

الدكتورة جميلة هزاع رشيد

١٤٤٣ هـ

٢٠٢٢م

الخلاصة

تناولت الدراسة الحالية احد انواع العائلة الخردلية يدعى الخردل البني *Brassica juncea* L تم انتاج كالس الاجنة على وسط MS الصلب الحاوي 0.5 ملغم /لتر (NAA) α-Naphthaline acetic acid و 1.5 ملغم /لتر Benzyl Adenine(BA) .انتج الكالس من السيقان السيقان تحت الفلقية على وسط MS الصلب الحاوي 0.2 ملغم / لتر NAA و 0.5 ملغم / لتر BA . عُرض الكالس بنوعيه لنوعين من المحفزات الفيزياوية هما الصدمة الصدمة الحرارية متمثلة بالصدمة الحرارية طويلة المدى Long Term Heat Shock (LTHS) والصدمة الحرارية قصيرة المدى Short Term Heat Shock(STHS) و ضوء الليزر.

كان الهدف من هذه الدراسة هو الكشف عن تأثير هذين العاملين على حيوية الكالس ومتابعة مستويات الاحماض النووية DNA و RNA والبروتينات ومستويات الكلوروفيل . كذلك لمعرفة ما إذا كانت هذه االصدمات قد أدت إلى استمرار تخليق المنتج الطبيعي لحامض السينامیك في الكالس المعامل. بشكل عام ، عززت الصدمات الحرارية وضوء الليزر من مستويات المركب حامض السينامیك.

تشير النتائج إلى أن كلًا من الصدمات الحرارية ووضوء الليزر يضاعف تراكيز كل من محتوى DNA و RNA والبروتينات والكلوروفيل في كالس الاجنة المعرض. ومن المثير للاهتمام أن تخليق حامض السينامیك كان متراكما في الكالس المعرض لكل من هذه الصدمات . شجعت الصدمة الحرارية قصيرة المدى 45° م / 5 دقائق زيادة الوزن الطري لهذا الكالس وحافظت على حيوته وحفزت زيادة تركيز DNA بلغ 1300 نانوغرام / 50 ميكرولتر و سجل RNA 7200 نانوغرام / 50 ميكرولتر مقارنة بعينة المقارنة . و سجلت البروتينات 0.631 ملغم / غم والكلوروفيل وصل إلى 1.39 ملغم / غم. وكذلك الحال بالنسبة للصدمة الحرارية طويلة المدى 45° م / 10 دقيقة التي شجعت الوزن الطري لهذا الكالس وحافظت على حيويته كما زادت هذه المعاملة من تركيز الـ DNA الذي سجل 540 نانوغرام / 50 ميكرولتر والـ RNA الذي وصل الى 8500 نانوغرام / 50 ميكرولتر مقارنة بعينة المقارنة. سجل محتوى البروتين 0.666 ملغم / غم بينما محتوى الكلوروفيل كان 11.93 ملغم / غم .

كما الحال في كالس السيقان تحت الفلقية فقد حفزت الصدمة الحرارية قصيرة المدى 45° م / 5 دقائق مسببة زيادة في تركيز DNA و RNA 1600 ، 11000 نانوغرام / 50 ميكرولتر التوالي. بينما سجل محتوى البروتين 0.824 ملغم / غم ومحتوى الكلوروفيل 1.54 ملغم / غم ، وأثبتت النتائج أن الصدمة الحرارية طويلة المدى 45° م / 10 دقائق شجعت الوزن الطري لهذا الكالس وحافظت على حيويته. أدت هذه الصدمة إلى زيادة DNA حتى وصل الى 1900 نانوغرام / 50 ميكرولتر و RNA 9700 نانوغرام / 50 ميكرولتر مقارنة بعينة المقارنة . كما سجل محتوى البروتين 0.852 ملغم / غم و محتوى الكلوروفيل 5.78 ملغم / غم .

أظهرت بيانات تعريض كالس الأجنة لصدمة الليزر مدة 20 ثانية عامة تفوقاً ملحوظاً عن المعاملات الأخرى فقد سجلت الأوزان الطرية لكالس الأجنة 4.68 غم عند تعريضها لضوء الليزر كما تفوقت المعاملة 20 ثانية في زيادة تراكيز كل من DNA و RNA عن بقية المعاملات بضمنها معاملة المقارنة إذ حققت هذه زيادة في مستويات الأحماض النووية DNA و RNA 720 ، 9000 نانوغرام / 50 مايكروليتر على التوالي . كما لوحظ أن مدة التعريض 20 ثانية حفزت حصول معدلات عالية لمحتوى البروتين بلغت 0.411 ملغم / غم . وأظهرت بيانات محتوى الكلوروفيل في كالس الأجنة المعرض لليزر، أن مدة التعريض 20 ثانية حّفزت محتواه 11.9 ملغم / غم قياساً بعينة المقارنة 1.63 ملغم / غم. وشجعت مدة تعريض كالس السيقان تحت الفلقية مدة 20 ثانية لصدمة الليزر زيادة الأوزان الطرية والتي بلغت 5.38 غم وأشارت البيانات المتحققة أن تراكيز الأحماض النووية DNA و RNA في كالس السيقان تحت الفلقية المعرضة لليزر إلى إنفراد مدة المعاملة 20 ثانية في زيادة مستوياتها إلى 1650 ، 4625 نانوغرام / 50 مايكروليتر على التوالي . وسجل محتوى البروتين في هذا الكالس 0.571 ملغم / غم عند تعريضه للمدة ذاتها 20 ثانية إلى ضوء الليزر كما سجل محتوى الكلوروفيل الكلي في كالس السيقان تحت الفلقية المعرض لليزر أعلى معدلاته 1.79 ملغم / غم قياساً بعينة المقارنة (1.5) ملغم / غم .

أظهرت بيانات High-performance liquid chromatography (HPLC) عن زيادة مستويات حامض السينامك في كلا النوعين من الكالس عند تعرضها لـ STHS و LTHS وضوء الليزر أيضًا. فقد بلغ اعلى تركيز لهذا الحامض 21.6 ميكروغرام / مل في

كالس الاجنة المعرض لصدمة حرارية قصيرة المدى. كما بلغ 7.42 ميكروغرام / مل. وفي كالس السيقان تحت الفلقية المعرض لصدمة حرارية قصيرة المدى كان مستوى حامض السيناميك 14.00 ميكروغرام / مل وفي طويلة المدى بلغ . 20.44 ميكروغرام / مل. اما كالس الاجنة المعرض لضوء لليزر فقد سجل مستوى حامض السيناميك 9.920 ميكروغرام / مل في حين بلغ 23.27 ميكروغرام / مل في كالس السيقان تحت الفلقية مقارنةً بعينة المقارنة لكل من كالس الاجنة وكالس السيقان تحت الفلقية التي بلغ فيها 3.19 ، 0.005 على التوالي.

Summary

The present study used *Brassica juncea* L , know as brown mustard,which is investigation deal with a member of mustard family Embryegenic callus was produced on agar solidified medium MS+ 0.3 mg /l NAA (a-Naphthalene acetic acid) + 1.5 mg /l BA (Benzyl Adenine) . Hypocotyl callus was produced on agar solidified medium MS+ 0.2 mg /l NAA + 0.5 mg /l BA. Both types of calli were exposed to Long Term Heat Shock (LTHS) , Short Term Heat Shock (STHS) and Laser light .The aims of this work were to detect the effect of these factors on the viability of calli and to following up the levels of nucleic acid DNA, RNA, proteins as well as chlorophyll levels. Another aim was to find out if these treatments sustained synthesis of the natural product cinnamic acid in treated callus.

The results indicated that each of heat shock and Laser multiplicate DNA , RNA, proteins and chlorophyll content in exposed embryodenic callus. Interestingly, cinnamic acid synthesis was sustained in calli exposed to each of these factors. (STHS) 45ºC/5min stimulated the fresh weight of this callus with its viability. Obivously this treatment (STHS) increased the concentration of DNA to 1300 ng/50µl and RNA to 7200 ng/50µl compared to the control.The other hand proteins showed 0.631 mg/g while chlorophyll at 1.39 mg/g. Similarly, (LTHS) 45ºC/10min indued the fresh weight of this callus with its viability.This treatment increased both DNA (540 ng/50µl) and RNA (8500 ng/50µl) compared to the control.The conten of Proteins content showed 0.666 mg/g while chlorophyll contant was 11.93 mg/g . Similar situation was also detected in case of hypocotyl calli. Short Term Heat Shock 45ºC/5min DNA and

RNA concentration to 1600, 11000 ng/50µl respectively. In contrast proteins content was 0.824 mg/g while chlorophyll 1.54 mg/g.The results indicated that long term heat shock (45ºC/10 min) einduced the fresh weight of this callus and with its viability. This shock increased DNA up to 1900 ng/50 µl and RNA 9700 ng/50µl compared to the control. Also proteins content showed 0.852 mg/g and chlorophyll content was up 5.78 mg/g.

In general, Exposing the embryogenic callus to laser shock for about 20 seconds showed a noticeable superiority over the other treatments. The fresh weight of the embryo callus was 4.68 g when exposed to the laser light.Also treatment 20 seconds out per formed in in increasing , concentrations of DNA and RNA over the rest of the treatments, including the control treatment . This increased the levels of DNA and RNA 720 and 9000 ng/50 µl, respectively. It was also noted 20 seconds of time stimulated a high rates of protein content to 0.411 mg/gm.Additionally the content of chlorophyll in the embryogenic calluses exposed to the laser for 20 seconds stimulated its content 11.9 mg / g compared to the control . 1.63 mg / g. Exposure of the Hypocotyl callus to the laser shock for a period of 20 seconds increased the frech weights to 5.38 g. The verififed data indicated that concentrations of nucleic acids,DNA AND RNA in the Hypocotyl callus exposed to the laser were increasing their levels to 1650,4625 ng / 50 µl. respectively. The protein content of this callus was 0.571 mg/g when exposed to laser light for the same period of 20 seconds. Once again, the total chlorophyll content in the callus of the Hypocotyl exposed to the laser recorded the highest rates of 1.79 mg / g compared to the control sample (1.5) mg / g

The high performance liguid chromatography (HPLC) showed increasing in the Levels of cinnamic acid in both types of callus as exposed to STHS and LTHS as well as Laser light. The maximum conc.was of this acid was 21.6 µg/ml in embryogenic calli exposed to short term heat shock while its conc. in long term heat shock was 7.42 µg/ml in long term heat shock . In hypocotyl callus exposed to short term heat shock cinnamic acid level was 14.00 µg/ml and 20.44 µg/ml in LTHS . in while embryogenic callus exposed to laser light recorded the level of cinammic acid 9.920 µg/ml where as hypocotyl callus reached 23.27 µg/ml.compared to the control in both embryogenic and hypocotyl calli , in which reahed 3.19 , 0.005 respectively . Generally both heat and Laser diode shocks enhanced the levels of this compound cinnamic acid.

University of Mosul

College of Education

For Pure Science

The Role of Heat shock and Laser light in cinnamic acid levels and growth of Embryogenic and Hyopcotyl callus of mustrad (plants) *Brassica juncea* L.

Jamal Ahmed Younis Mohammed

M.Sc. Thesis

Biology

Supervised by

Prof.

Dr. Jamella Hazza Rasheed

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