جامعة الموصل

كلية العلوم

دعم دقائق اوكسيد الخارصين النانوية ZnO–NPs لمستوى الزيت المنتج والبروتينات في أنسجة نباتات فول الصويا *Glycine max* L. المزروعة خارج الجسم الحي

غادة علي مهدي علي الربيعي

رسالة ماجستير

علوم الحياة / علم النبات

بإشراف

الأستاذ المساعد

الدكتورة رنا طارق يحيى

١٤٤٤هـ ٢٠٢٢م

الخلاصة

أوضحت الدراسة الحالية التاثير الايجابي للدقائق النانوية لأوكسيد الخارصين Zinc Oxide Nanoparticles في إنبات بذور فول الصويا *Glycine max* L. وإنتاج بادرات اتصفت بنموها السليم على وسط MSO الصلب، إذ أشارت نتائج زراعة البذور على وسط Skoog Murashige and (MS) الصلب المدعم بتراكيز مختلفة من الدقائق النانوية لأوكسيد الخارصين (٢٠، ٤٠، ٦٠، ٨٠، ١٠٠) مايكروغرام/ مل زيادة إنباتها مقارنة بالوسط الخالي منها ورافقها زيادة محتوى خلايا بادراتها من الجزيئات الحيوية الممثلة بالبروتينات وألاحماض النووية Deoxyribonucleic acid(DNA) و Ribonucleic acid (RNA) مع تفوق التركيز (٤٠ مايكروغرام/ مل) من تلك الدقائق في تحفيزه نسبة الإنبات والبالغة ١٠٠٪ في حين إن وسطMSO الصلب حفز نسبة إنبات ٧٥٪ كما شجع ذات التركيز (٤٠ مايكروغرام/ غم) في الحصول على أفضل معدل طول لكل من السيقان والجذور البالغة ١٠،١٢ سم على التوالي بالمقارنة مع معدل اطوالها للبادرات النامية على وسط MSO الصلب التي أعطت ٦.٠ و٨.٥ سم على التوالي وإنعكس هذا التأثير الإيجابي في اتجاه زيادة محتوى بادراتها من المكونات الخلوية كمؤشر نمو إيجابي، ووصل معدل محتوى خلايا بادراتها النامية على الوسط ألافضل أعلاه ١.٩٢، ١٢.٤٥، ٩٩.٤٣ مايكروغرام/ غم من البروتينات ، DNA ، RNA على التوالي ، مقارنة بنظيراتها البادرات النامية على الوسط الخالي منها (المقارنة) اذ بلغت٠.٨١، ١.٣٢، ٢٠.٣١ مايكروغرام/ غم على التوالي. كما إنعكس تأثير هذه الدقائق النانوية إيجابياً في محتوى أنسجة بادرات فول الصويا النامية على الأوساط المدعمة بتراكيزها المستعملة في الدراسة المتضمنة المحتوى الزيتي التي وصلت إلى ٣٠.٣٦٪ لخلايا البادرات النامية على وسط MSO الصلب والحاوي على التركيز ٢٠ مايكروغرام/ مل مقارنة بمحتوى الزيت في بادراتها النامية على وسط المقارنة MSO الصلب لوحده (المقارنه) التي سجلت محتوى زيتي بلغ ١٤.٧٨٪.

ونجحت الدراسة الحالية إستحداث كالس الأوراق الفلقية على وسط MS الصلب الحاوي ١.٠ ملغم/لتر لكل من Naphthaleneacetic acide (NAA) و Benzyl adenine (BA) (كوسطاً قياسياً) ومضافاً إليه تراكيز من الدقائق النانوية لأوكسيد الخارصين وبينت النتائج ان أعلى نسبة استحداث للكالس كانت على هذا الوسط القياسي المدعم بالتركيز ٤٠ مايكروغرام / مل وبلغت ٩٣.٣٪ وبلغ معدل وزنه الطري ٩.٤ غم بعد ٤٠ يوماً من النمو، أما معدل الوزن الطري للكالس النامي في وسط MSO الصلب والمدعم بالتراكيز المختلفة من الدقائق النانوية بلغ أفضله عند التركيز ٤٠ مايكروغرام / مل بعد ٤٠ يوماً وبوزن طري ٦.٣ غم، وبينت نتائج الدراسة تأثير الدقائق النانوية لأوكسيد الخارصين في زيادة المحتوى البروتيني ومحتوى ألاحماض النووية لكالس ألاوراق الفلقية لنبات فول الصويا النامي على وسط MS القياسي الصلب وبلغ أعلى محتوى منها للكالس النامي على الوسط القياسي المدعم بالتركيز ٤٠

مايكروغرام /مل والبالغة على التوالي ١.٩٣، ١٤.٥، ٩٩.١٣ مايكروغرام /غم، أما أفضل تركيز للدقائق النانوية لأوكسيد الخارصين المضافة إلى وسط MSO الصلب كان عند التركيز ٤٠ مايكروغرام /مل الذي بلغ محتواه من البروتينات وألاحماض النووية DNA وRNA ١.٤، ١٢.٥، ٨٩.١٣ مايكروغرام /غم على التوالي. عززت هذه الدراسة الدور التحفيزي للدقائق النانوية في زيادة المحتوى الزيتي للكالس النامي على وسط MS القياسي الصلب وبلغ المحتوى الزيتي للكالس النامي على الوسط القياسي والمدعم باضافة ٤٠ مايكروغرام /مل من الدقائق النانوية لأوكسيد الخارصين ١٤.٣ % مقارنة مع MS القياسي الصلب والبالغة ٥٪، أما المحتوى الزيتي للكالس النامي على وسط MSO الصلب مع التراكيز المختلفة من الدقائق النانوية لأوكسيد الخارصين فقد أعطى التركيز ٤٠ مايكروغرام /مل ايضا أعلى محتوى زيتي والبالغ ١٢.٣.%.

ووظفت فحوصات المجهر الإلكتروني الماسح Scanning Electron Microscope (SEM) للتأكد من قدرة خلايا أنسجة بادرات وكالس نبات فول الصويا لاستقطاب الدقائق النانوية ومن خلال فحوصاتها وجدت الدقائق النانوية لأوكسيد الخارصين المضافة إلى وسط MS القياسي الصلب المدعم بتركيز ٤٠ مايكروغرام /مل مستقطبة بأعلى كثافة لإنتشاره على سطوح الجدر الخلوية لأنسجة البادرات وكالسها.

وأظهر الكشف عن نشاط التعبير الجيني للمورث Fatty Acid Desaturase (FAD2) في بادرات وكالس ألاوراق الفلقية لنبات فول الصويا المسؤول عن زيادة المحتوى الزيتي للبادرات والكالس بألاعتمادعلى تقنيات التفاعل التضاعفي الكمي REAL TIME- Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)، إن أعلى تعبير جيني كان عند كالس ألاوراق النامية على وسط MS القياسي الصلب والمدعم بتركيز ٤٠ مايكروغرام /مل من الدقائق النانوية لأوكسيد الخارصين والبالغ ٧.٤٥ في حين كان التعبير الجيني للبادرات النامية على وسط MSO الصلب والمدعم بتركيز ١٠٠ مايكروغرام /مل من الدقائق النانوية لأوكسيد الخارصين ٠.١٢.

Abstract

The current study explained the positive role of zinc oxide nanoparticles in germination of soybean *Glycine max* L. seeds and the production of seedlings characterized by good growth when placed on solid MSO medium. The results of culturing plant seeds on Murashige and Skoog (MS) solid medium supplemented with different concentrations of ZnO-NPs 20, 40, 60,80 and 100 µg/ml the nanoparticles increase germination compared ration to the medium without it and accompanied by an increase in the cells content of biomolecules represented by proteins and nucleic acids Deoxyribonucleic acid (DNA) and Ribonucleic acid (RNA) with the superiority of 40 µg/ml of those nanoparticles in stimulating the germination percentage reached to 100%, while the MSO solid medium alone stimulated 75% of germination percentage and the same concentration (40 µg/ml) encouraged to obtain the best total length of each of stems and roots of 10 and 12 cm, respectively, compared to its total length for seedlings grown on MSO solid medium, which gave 6.0 and 8.5 cm, respectively, and this positive effect was reflected in the direction of increasing the seedlings content of cellular components as a positive growth indicator and the average cells content for those seedlings on the best medium reached to 1.92, 12.45, 99.43 µg/g of proteins and DNA and RNA, respectively, compared with those seedlings grown on the MSO solid medium alone (control), they recorded 0.81, 1.32, and 20.31 µg/gm, respectively.

The effect of these nanoparticles was also positively reflected in the oil content of soybean plant seedling tissue growing on the media supplemented with its concentrations used in this study, which reached to 30.36% for seedling cells grown on MSO solid medium containing a concentration of 20 µg/ml compared to the oil content of seedlings grown on MSO solid medium(control) recorded an oil content of 14.78%.

This study was able to initiate soybean plant callus from cuttings of the plant seedlings cotyledons leaves on MS solid medium containing 1.0 mg/l of

each of Naphthaleneacetic acid (NAA) and Benzyl adenine (BA),(as a standard medium) in addition to the concentrations of zinc oxide nanoparticles. The results showed that the highest percentage of callus initiation was on this standard medium supported with a concentration of 40 µg/ml, which was 93.3%, and its fresh weight averaged reached to 9.4 g after 40 days of growth, while the average fresh weight of callus growing in MSO solid medium supplemented with different concentrations of nanoparticles reached the best at a concentration of 40 µg / ml after 40 days reached to 6.3g .

The results of the study showed the effect of zinc oxide nanoparticles in increasing the protein and nucleic acids content of soybean plant cotyledon leaves callus growing on the MS solid standard medium and the highest content of the growing callus was reached on the standard medium supported with a concentration of 40 µg / ml, which respectively amounted to 1.93, 14.5, 99.13 µg / gm, also the best concentration of zinc oxide nanoparticles added to the MSO solid medium in the concentration 40 µg/ml which reached to 1.4, 12.5, and 89.13 µg/ml respectively.

This study reinforced the stimulating role of nanoparticles in increasing the oil content of the callus growing on MS solid standard medium, its oil content reached to 14.3% for the callus growing on the standard medium and supported with a concentration of 40 µg/ml of zinc oxide nanoparticles compared to the standard MS solid medium of 5%, while the oil content of callus growing on MSO solid medium with different concentrations of zinc oxide nanoparticles, the concentration of 40 µg/ml also gave the highest oil content of 12.3%.

The study employed Scanning Electron Microscope (SEM) to investigate the ability of seedling and callus tissue cells of soybean plants to uptake of nanoparticles and through its investigations, the nanoparticles of zinc oxide added to the standard MS solid medium supported at a concentration of 40 µg/ml were uptake with the highest density to spread it on the surfaces of seedling tissues and callus cells..

The gene expression activity of the Fatty Acid Desaturase (FAD2) gene was investigated in seedlings and cotyledons leaves callus of soybean plant responsible for the increase the oil content of seedlings and callus by using REAL TIME- Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) techniques. The highest gene expression was at callus of leaves grown on standard MS solid medium supplemented with a concentration of 40 µg/ml of zinc oxide nanoparticles were 7.45, while the gene expression of seedlings grown on MSO solid medium was supplemented with a concentration of 100 µg/ml of zinc oxide nanoparticles, which amounted to 0.12.

University of Mosul

College of Science

Supporting role of zinc oxide nanoparticles promoting oil production and protein content in the soybean *Glycine max* L. plants tissue in vitro

Ghada Ali Mahdi Ali Al-Rubaie

M.Sc. Thesis

In

Biology / Botany

Supervised By

Assist. Prof.

Dr. Rana Tariq Yahya

1444 A.H. **2022 A.D.**