تأثير معاملة بذور زهرة الشمس (*Helianthus annuus* L.) باشعة ليزر الدايود في نمو البادرات والكالس
Effect of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Seeds Treatment by Diode Laser Radiation in Seedlings and Calli Growth

سارة نزار غانم ساجدة عزيز عبود
كلية العلوم/ جامعة الموصل
Sara N. Ghanem Sajida A. Abood
College of Science / University of Mosul

الملخص

شمل البحث دراسة تأثير تعريض بذور نبات زهرة الشمس (*Helianthus annuus* L.) لأشعة الليزر الحمراء عند الطول الموجي 650 نانوميتر وبقدرة 50 ملي واط/سم^2 باستخدام جهاز ليزر الدايود في إنبات البذور ونمو وتطور بادرات وكالس زهرة الشمس. عرضت بذور زهرة الشمس إلى اشعة الليزر الحمراء لمدد مختلفة 5، 10، 15 و20 دقيقة. اختلفت نسب إنبات البذور ومعدلات أطوال الجذور باختلاف مدة التعريض للأشعة. ادت الزيادة في مدة تعريض البذور إلى زيادة في نسبة الإنبات 100% ونمو وتطور البادرات وتعجيل ظهور الأزهار مقارنة بمعاملة المقارنة. أظهرت النتائج الاستجابة العالية لاستحداث الكالس، بدلالة زيادة الوزن الطري لجميع قطع الأجزاء النباتية (الجذور، السيقان والأوراق) لنباتات نامية من بذور معرضة للأشعة ولمدد مختلفة على الوسط الغذائي الحاوي على 1.0 ملغم/لتر من البنزايل ادينين (BA) و0.5 ملغم/لتر من النفثالين حامض الخليك (NAA). أعطى تعريض البذور لمدة 20 دقيقة أفضل نمو وقوام لكالس الأوراق. سببت أيضاً زيادة مدة تعريض البذور للأشعة زيادة في محتوى كالس الأجزاء النباتية من البروتين والأحماض النووية بنوعيها DNA وRNA وتنشيط لفعالية انزيم الداي هيدروفوليت ردكتيز، بعد مدة نمو الكالس 30 و60 يوماً على الوسط الغذائي. دلت نتائج الدراسة أيضاً الى زيادة في كمية البروتين ونسب الزيت في البذور المعرضة للأشعة لمدد مختلفة استناداً إلى معاملة المقارنة. أشارت النتائج أيضاً إلى أن تعريض البذور للمدتين 5 و20 دقيقة لأشعة الليزر حفزت تكوين الجذور والأفرع الخضرية من كالس السيقان والأوراق على التوالي.

الكلمات المفتاحية: كالس، زهرة الشمس، الليزر، انزيم الداي هيدروفوليت ردكتيز.

Abstract

The effect of the exposure of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds to red light laser radiation with 650 nm 50 mw/cm^2 by diode laser in germination and growth of seedlings and calli had been studied. Seeds were irradiated with red light for different periods of time 5, 10, 15 and 20 minutes. The percentage of seeds germination and the average of roots length were different according to exposure time used. Increasing the time of exposure led to the best results in seed germination percentage (100%), rooting and shooting behavior and flowering acceleration compared with control. Initiation of calli from explants (roots, stems and leaves) of sunflower seedlings on Murashige and Skoog media containing 1.0 mg/l of Benzyl adenine and 0.5 mg/l of Naphthalene acetic acid were succeeded very well from the irradiated seeds. The best irradiation time was 20 minutes for growth and durability of leaf calli. The fresh weight, protein, DNA, RNA contents and the specific activity of dihydrofolate reductase of calli of different explants were increased with increasing the duration of seeds exposure to red light at 30 and 60 days of growth on media. Results also illustrate increases in protein and oil contents in the irradiated seeds over control seeds, specially at 20 minutes. Using red laser rays for 5 and 20 minutes, resulted in roots and shoots production from calli of stem and leaf respectively.

Key words: Sunflower, Callus, Laser, Dihydrofolate reductase

المقدمة

سعى العالم باستمرار عن طريق البحث والتقصي إلى استنباط واكتشاف الطرق الحديثة والتي تعينه على مواكبة التطور الحاصل في مختلف مضامير الحياة. وتعد تقانة زراعة الأنسجة النباتية إحدى هذه الطرق الحديثة. ولنجاح هذه الزراعة يتطلب توفير ظروف بيئية ملائمة للجزء المزروع خارج الجسم الحي مشابهة لتلك الظروف التي يحتاجها النبات الكامل في الطبيعة، والضوء هو أحد العوامل البيئية المؤثرة على الصفات المورفولوجية والتشريحية والإنتاجية في عدة نباتات [1، 2، 3]. وأشعة الليزر تتفاعل مع تلك الصفات البيولوجية لإظهار خصائص فريدة ومتنوعة من التطبيقات في مجالات البحث المختلفة. أثبتت الدراسات الحديثة بان لأشعة الليزر تأثيراً على الخلايا النباتية وأن لها فاعلية على الكثير من وظائف تلك الخلايا، حيث حققت نجاحاً ملحوظاً في التطبيقات الزراعية المختلفة التي شمل استخدامها في تعجيل إنبات البذور [4] وتأثيراتها الإيجابية في نمو وتطور النبات [5، 6، 7].

تشير إحدى الدراسات إلى كون الضوء الأحمر له علاقة بتنشيط الانزيمات والهرمونات التي تؤثر في نمو واستطالة الجذور [8] وفي انقسام الخلايا [9] وان الفوتونات الضوئية الخارجة من شعاع الليزر لها تأثيرات في تخليق مركبات معينة كتخليق البروتين [10]

البحث مستل من رسالة الماجستير للباحث الأول

والكربوهيدرات [11] والحامض النووي DNA [12] والعديد من المركبات الأخرى. ووجد Salyaev وآخرون [13] أن الشدة الواطئة لأشعة الليزر تحفز تكوين أنسجة كالس الحنطة وتؤثر على المكونات الكيميائية وتركيب الدهون في ذلك الكالس. وذكرت الكعبي [14] أن تعريض كالس نخيل التمر صنف البرحي لأشعة الليزر ذات اللون الأحمر رفدت النسيج باحتياجاته الضوئية بحيث تفوقت أغلب المعاملات بالأشعة على معاملة المقارنة، كما أظهرت بعض الدراسات بأن لأشعة الليزر دوراً مميزاً في وقاية النباتات من الإصابات الفطرية [15] وفي مقاومة النباتات للظروف القياسية [16].

هدفت الدراسة الى معرفة مدى تاثير اشعة ليزر الدايود في نمو وتطور بادرات زهرة الشمس وفي نمو الكالس المستحدث من الأجزاء النباتية لنباتات نامية من بذور معرضة مسبقاً لتلك الأشعة .

مواد العمل وطرائقه

تعريض البذور لأشعة الليزر

عرضت مجموعة من بذور زهرة الشمس (*Helianthus annuus* L.) إلى أشعة الليزر الحمراء باستعمال جهاز ليزر الدايود (الشركة البريطانية UK-SCIENTIFIC Ltd.) بطول موجي 650 نانوميتر وبقدرة 50 ملي واط/سم^2 ولمدد زمنية 5، 10، 15 و20 دقيقة وعلى بعد 7.0 سم من مصدر الأشعة.

زراعة البذور وتنمية البادرات

بعد انتهاء مدة تعريض بذور زهرة الشمس للاشعة ، عقمت البذور سطحيا بغمرها في محلول الكحول الاثيلي 96% لمدة دقيقتين، ثم نقلت الى محلول القاصر التجاري Naocl المخفف بنسبة 2:1 (قاصر . ماء معقم) لمدة 10 دقائق بعد ذلك غسلت البذور عدة مرات بالماء المقطر المعقم وزرعت على سطح قناني زجاجية حاوية على الوسط الغذائي Arnon شبه الصلب المعقم [17] وبمعدل ثلاث بذور/قنينة. حفظت القناني الحاوية على البذور في غرفة الزرع في الظلام التام و بدرجة حرارة 22±2°م لحين ظهور الجذير، نقلت الى ظروف اضاءه 16 ساعة وظلام 8 ساعات وبشدة اضاءة 2000 لوكس. زرعت مجموعة اخرى وبمعدل 30 بذرة لكل معاملة (20,15,10,5,0 دقيقة) في البيت الزجاجي وتركت مع السقي المستمر لحين ظهور الازهار وتكوين البذور، بعد تسعة اشهر من زراعتها.

استحداث الكالس

زرعت قطع من الجذور والسيقان بطول1-1.5 سم والاوراق بمساحة 0.5 سم^2 لبادرات بعمر 20 يوما نامية من بذور غير معرضة ومعرضة لاشعة الليزر لمدد مختلفة في قناني زجاجية بحجم 100ملليتر وبمعدل قطعة /قنينة حاوية على وسط موراشيج وسكوك المعقم [18] وبوجود 1.0 ملغم/لتر من BA و0.5 ملغم/لتر من NAA كمنظمات نمو [19]. حفظت جميع العينات في غرفة الزرع تحت ظروف اضاءة 16ساعة وظلام 8 ساعات وبشدة اضاءة 2000 لوكس ودرجة حرارة م. واستخدم الكالس المستحدث من الاجزاء النباتية المختلفة بعد مدة نمو 30 و60 يوما على الوسط الغذائي في التجارب اللاحقة.

تقدير الوزن الطري للكالس

قدرت الأوزان الطرية للكالس المستحدث من الأجزاء النباتية (الجذور، السيقان والأوراق) لبادرات نامية من بذور زهرة الشمس غير المعرضة والمعرضة لأشعة الليزر لمدد مختلفة وبعد 30 و60 يوماً من النمو على الأوساط الغذائية.

تقدير المحتوى البروتيني الكلي

قدرت كمية البروتين الكلية لجميع عينات الكالس المستحدث من الجذور والسيقان والاوراق ولجميع المعاملات بعد 30 و60 يوما من النمو حسب طريقة لاوري واخرون [20] واستعمل مصل البقرBSA بوصفه محلولاً قياسياً.

تقدير فعالية انزيم الداي هيدروفوليت ردكتيز (DHFR)

استخلاص الانزيم

سحق غرام واحد من الكالس المستحدث من الجذور والسيقان والأوراق لزهرة الشمس والنامي على الوسط الغذائي MS الحاوي على 1.0 ملغم/لتر من BA و0.5 ملغم/لتر من NAA وبعمر 30 و60 يوماً، في هاون خزفي مبرد بدرجة 4 م وأضيف إليه 10 سم^3 من محلول بوتاسيوم – فوسفيت المنظم بتركيز 50 ملي مولار pH 7.0 . اكمل سحق وتحطيم الخلايا باستخدام جهاز الترددات فوق الصوتية بتسليط 20000 ذبذبة/ثانية ولمدة نصف دقيقة، وفصل الرائق عن الراسب باستخدام جهاز الطرد المركزي المبرد بسرعة 9000 دورة/دقيقة ولمدة ساعة، واستخدم الرائق في تقدير فعالية انزيم DHFR.

قياس فعالية الانزيم

اتبعت طريقة [21] لقياس فعالية انزيم الداي هيدروفوليت ردكتيز (DHFR) مع بعض التحويرات [22] التي تعتمد على قياس مقدار الانخفاض في الامتصاص الضوئي عند الطول الموجي 340 نانوميتر بوجود مركب الداي هيدروفوليت كمادة أساس ومركب NADPH كمانح للهيدروجين. حددت الفعالية النوعية للانزيم على أنها كمية الانزيم اللازمة لأكسدة مايكرومول واحد من NADPH خلال دقيقة واحدة من التفاعل لكل ملغرام بروتين، واستخدم معامل الامتصاص الضوئي لمادة NADPH والمساوي إلى $6.2\times10^3 M^{-1}cm^{-1}$ [23].

تقدير كمية الأحماض النووية الكلية

حددت كمية الأحماض النووية الكلية [24] المستخلصة من كالس الجذور والسيقان والأوراق لنباتات زهرة الشمس بايقاف فعالية انزيم Nuclease وترسيب الأحماض النووي بنوعيها DNA وRNA وبالاعتماد على المنحنى القياسي المحضر من خلايا الخميرة النقية وحددت كمية DNA [25] من تقدير كمية السكر الرايبوزي فيه وبالاعتماد على المنحنى القياسي المحضر من Galf thymus DNA، وحددت كمية RNA من الفرق بين الكمية الكلية للأحماض النووية وكمية الحامض DNA.

تقدير كمية البروتين الكلي و نسب الزيت في البذور

قدرت كمية البروتين الكلية [20] و نسب الزيت [26] المستخلصة من بذور غير المقشرة للنباتات النامية من بذور معرضة لأشعة الليزر لمدد 5، 10، 15 و20 دقيقة وأخرى غير معرضة (معاملة المقارنة) باستخدام جهاز Soxhlet بعد تسعة اشهر من زراعتها وحسب المعادلة التالية:

$$\text{نسب الزيت} = \frac{\text{وزن الدورق مع الزيت} - \text{وزن الدورق وهو فارغ}}{\text{وزن العينة الأصلية}} \times 100$$

التحليل الإحصائي

حللت النتائج إحصائياً باستخدام التصميم Randomized Block Complete Design(RBCD) بعامل واحد ،وقورنت المتوسطات حسب اختبار دنكن عند مستوى معنوية 0.01 [27].

النتائج

تأثير أشعة الليزر

نمو بادرات زهرة الشمس

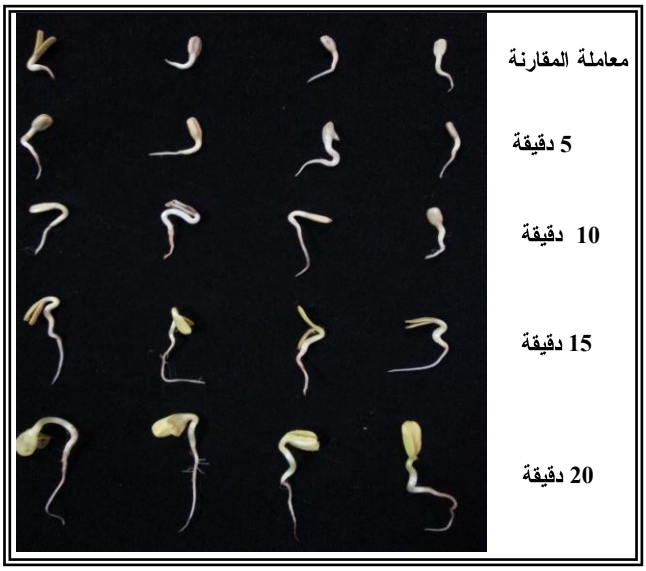
أظهرت النتائج الموضحة في جدول (1) بأن مدة بدء الإنبات للبذور المعرضة للأشعة لمدة 15 و20 دقيقة استلزمت يومين مقارنة بالمدة التي استلزمتها البذور غير المعرضة للأشعة حيث استغرقت خمسة أيام لبدء الإنبات، وحصل أيضاً اختلاف في نسبة الإنبات ومعدلات أطوال الجذور باختلاف مدد التعريض للأشعة، إذ بلغت نسبة الإنبات 100% عند تعريض البذور لمدة 20 دقيقة، في حين انخفضت تلك النسبة بقلة مدة التعريض، حيث بلغت 30% في معاملة المقارنة بعد 10 أيام من تعريضها. أما بالنسبة لمعدل أطوال الجذور، حيث ازداد معدلها بازدياد مدة التعريض أيضاً حتى بلغت 6.5 سم عند التعريض لمدة 20 دقيقة مع ملاحظة النشوء الواضح للشعيرات الجذرية استنادا إلى معاملة المقارنة بعد 10 أيام من التعريض شكل(1).

جدول (1): تأثير أشعة ليزر الدايود في انبات بادرات زهرة الشمس *H. annuus* L. بعد عشرة أيام من تعريض البذور للأشعة.

مدد التعريض (دقيقة)	مدة بدء الإنبات (يوم)	نسب الإنبات (%)	معدل أطوال الجذور (سم)
معاملة المقارنة	5	30	e 1.0
5	4	40	d 2.7
10	3	60	c 3.5
15	2	80	b 4.0
20	2	100	a 6.5

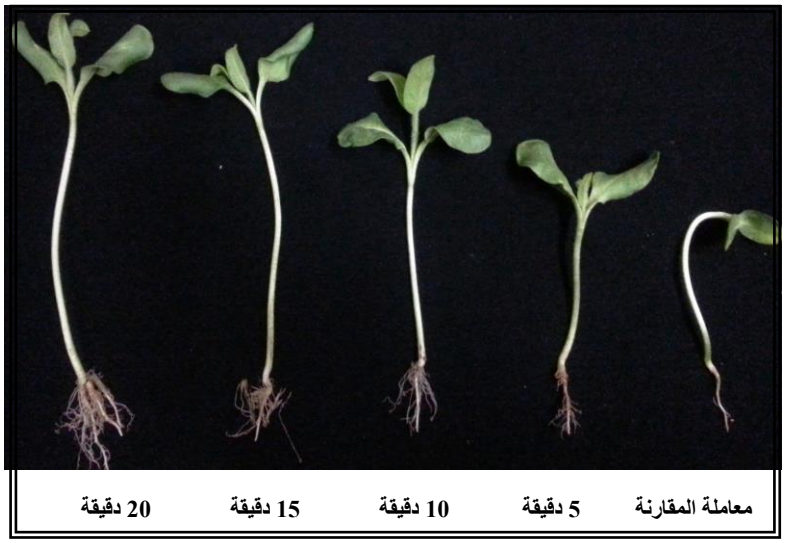
كل قيمة تمثل معدل 20 مكرر/معاملة.

تشير الأحرف المتشابهة عمودياً إلى عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى (0.01) احتمالية بين المتوسطات باختبار DMRT.



شكل (1): نمو بادرات زهرة الشمس *H. annuus* L. لبذور معاملة بأشعة الليزر لمدد مختلفة وبعد مرور فترة نمو 10 أيام.

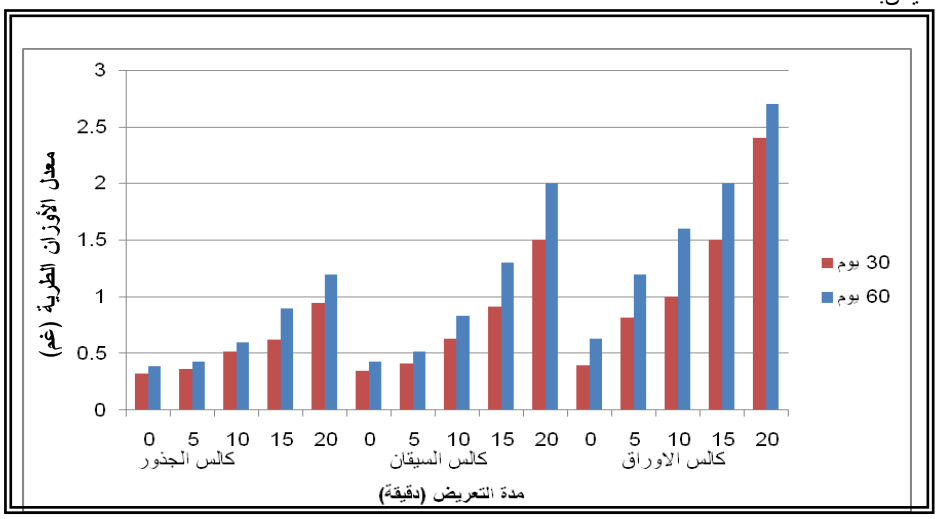
ويشير شكل (2) إلى مقارنة بين النباتات الناتجة من بذور غير معرضة لأشعة الليزرمع تلك الناتجة من بذور معرضة لأشعة الليزر ولمدد مختلفة بعد فترة نمو 20 يوماً من التعريض، حيث يلاحظ التأثير الايجابي لهذه الأشعة في نمو البادرات وتكوين الأوراق الأولية والجذور استناداً إلى معاملة المقارنة.



شكل (2): مقارنة بين النباتات الناتجة من بذور زهرة الشمس *H. annuus* L. غير المعرضة والمعرضة لأشعة الليزر لمدد مختلفة وبعد 20 يوماً من التعريض.

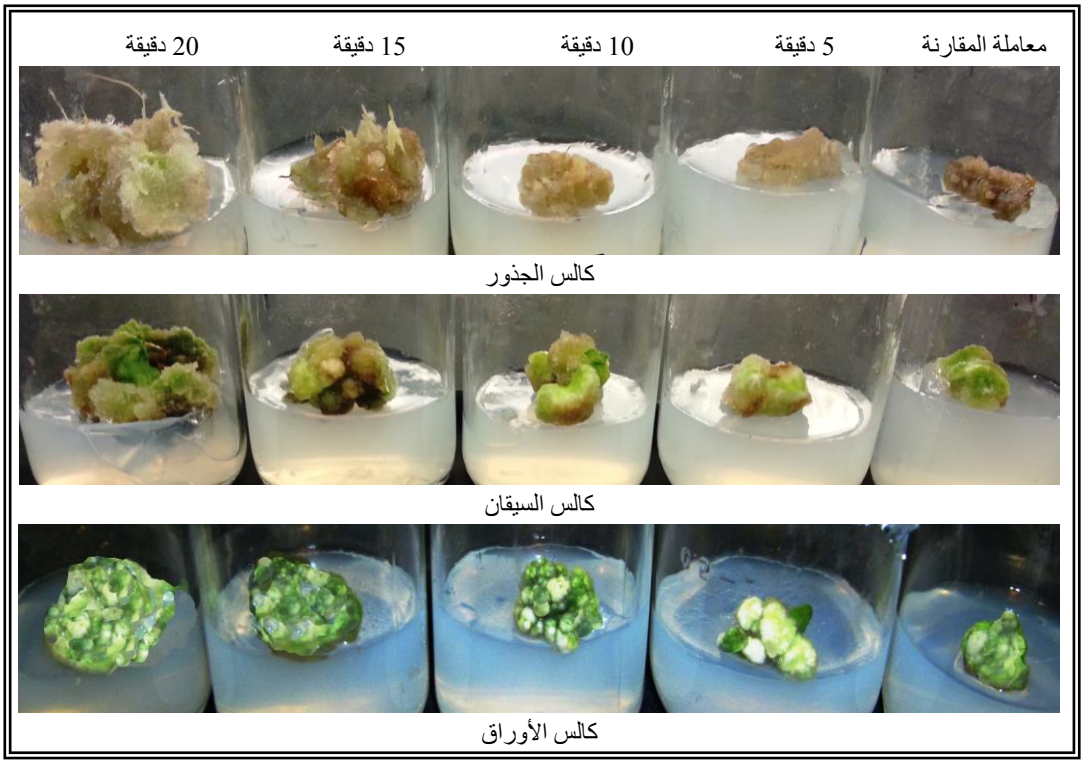
استحداث ونمو كالس زهرة الشمس

يوضح شكل (3) بأن معدل الأوزان الطرية اختلفت باختلاف مدة تعريض البذور للأشعة وباختلاف الجزء النباتي المستحدث منه الكالس، حيث ازدادت تلك المعدلات بزيادة مدة التعريض، وأعطى كالس الأوراق أعلى وزن طري لجميع مدد التعريض مقارنة بكالس الجذور والسيقان.



شكل(3): معدل الأوزان الطرية لكالس الأجزاء النباتية لنباتات زهرة الشمس *H. annuus* L. النامية من بذور غير معرضة ومعرضة لأشعة الليزر لمدد مختلفة وبعد 30 و60 يوماً من النمو على الوسط الغذائي. كل قيمة تمثل معدل خمسة مكررات/معاملة.

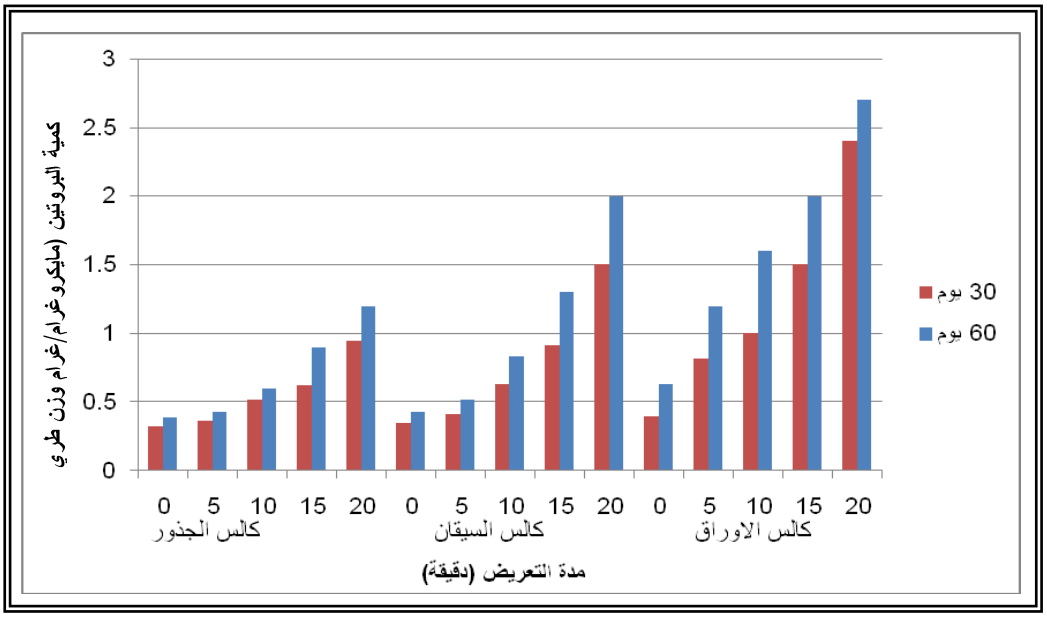
يوضح شكل (4) تميز كالس الجذور للنباتات المعرضة لاشعة اللبزر بقوامه الهش ولونه الاصفر الفاتح مقارنة بصلابة كالس معاملة المقارنة ولونه الداكن .في حين تميز كالس السيقان والاوراق لنباتات نامية من بذور معرضة لاشعة الليزر للمدتين 10 ،20 دقيقة بصلابة قوامه ولونه الاخضر الداكن مقارنة بمدتي التعريض 5،10 دقيقة ومعاملة المقارنة.



شكل (4): تأثير تعريض بذور زهرة الشمس *H. annuus* L. لأشعة الليزر لمدد مختلفة في تكوين كالس الأجزاء بعد فترة نمو 30 يوماً على الوسط الغذائي.

المحتوى البروتيني الكلي

لوحظ تباين في كمية البروتين الكلية مع تباين الكالس المستحدث من الأجزاء النباتية (الجذور، السيقان والأوراق) وتباين مدة تعريض البذور للأشعة. أوضحت النتائج بأن أنماط الزيادة في كمية البروتين المستحدث من عينات الكالس المختلفة اتخذت أنماطاً مشابهة لأنماط الزيادة في أوزانه الطرية شكل (5).



شكل (5): تأثيرات أشعة الليزر في كمية البروتين المستخلص من كالس الأجزاء النباتية لنباتات زهرة الشمس *H. annuus* L. النامية من بذور غير معرضة ومعرضة للأشعة لمدد مختلفة وبعد 30 و60 يوماً من النمو على الوسط الغذائي.
كل قيمة تمثل معدل ثلاث مكررات/معاملة.

فعالية انزيم الداي هيدروفوليت ردكتيز (DHFR)

دلت نتائج تعريض بذور زهرة الشمس لأشعة الليزر تحفيزها لفعالية انزيم DHFR المستخلص من كالس الأجزاء النباتية لزهرة الشمس. ولوحظ تباين مستوى التحفيز مع تباين مدة تعريض البذور للأشعة، وحقق تعريض البذور لمدة 20 دقيقة الى زيادة واضحة في الفعالية النوعية للانزيم المستخلص من الكالس المستحدث من الجذور، السيقان والأوراق حيث بلغت 36.211، 47.215 و52.329 مايكرومول/دقيقة/ملغرام بروتين استناداً إلى معاملة المقارنة والتي بلغت 31.320، 43.221 و46.321 مايكروغرام/دقيقة/ملغرام بروتين على التوالي، بعد فترة نمو 60 يوماً على الأوساط الغذائية جدول (2).

جدول (2): تأثيرات أشعة الليزر في الفعالية النوعية لانزيم DHFR في كالس الأجزاء النباتية المختلفة لنباتات زهرة الشمس *H. annuus* L. النامية من بذور غير معرضة ومعرضة للأشعة بعد 30 و60 يوماً من النمو على الوسط الغذائي.

مدد التعريض (دقيقة)	الفعالية النوعية لانزيم DHFR (مايكرومول/دقيقة/ملغرام بروتين)*					
	كالس الجذور		كالس السيقان		كالس الأوراق	
	عمر الكالس (يوم)					
	30	60	30	60	30	60
معاملة المقارنة	0.012±29.211	0.019±31.320	0.112±42.121	0.321±43.221	0.152±45.211	0.123±46.321
5	0.150±32.331	0.211±33.921	0.119±42.992	0.152±43.989	0.020±46.252	0.321±47.921
10	0.321±32.991	0.131±34.001	0.011±43.821	0.131±44.921	0.211±47.991	0.231±48.599
15	0.050±33.951	0.001±35.998	0.020±44.510	0.199±45.321	0.03±248.291	0.031±50.011
20	0.015±35.411	0.128±36.211	0.132±46.521	0.004±47.215	0.003±50.921	0.041±52.329

كل قيمة تمثل معدل ثلاث مكررات/معاملة. ±يمثل الخطأ القياسي.

*** كمية الانزيم اللازمة لاكسدة مايكرومول واحد من NADPH/دقيقة/ملغرام بروتين.**

المحتوى الكلي للأحماض النووية

سجلت النتائج زيادة واضحة في كمية الحامضين DNA وRNA لعينات كالس الجذور، السيقان والأوراق في حالة تعريض البذور لأشعة الليزر لمدد 5، 10، 15 و20 دقيقة، حيث بلغت كمية DNA وRNA في كالس الأوراق لبادرات نامية من بذور معرضة لأشعة الليزر لمدة 20 دقيقة ضعف كميتها تقريباً في كالس أوراق معاملة المقارنة بعمر 60 يوماً الجدولين (3،4).

جدول (3): كمية الحامض النووي الرايبوزي المنقوص الاوكسجين (DNA) المستخلص من كالس الأجزاء النباتية المختلفة لنباتات زهرة الشمس *H. annuus* L. النامية من بذور غير معرضة ومعرضة لأشعة الليزر لمدد مختلفة وبعد فترة نمو 30 و60 يوماً على الوسط الغذائي.

مدد التعريض (دقيقة)	كمية DNA (مايكروغرام/غرام وزن رطب)					
	كالس الجذور		كالس السيقان		كالس الأوراق	
	عمر الكالس (يوم)					
	30	60	30	60	30	60
معاملة المقارنة	i 3.03	e 9.32	j 5.015	E 10.841	j 5.520	f 11.411
5	h 4.014	d 11.116	i 5.991	D 13.310	i 6.231	d 14.921
10	g 6.312	c 13.310	h 7.211	C 15.242	h 8.342	c 18.132
15	f 8.203	b 15.012	g 9.209	B 16.807	g 10.321	b 19.821
20	e 9.411	a 16.813	f 10.334	A 18.890	e 12.520	a 22.213

كل قيمة تمثل معدل ثلاث مكررات/معاملة.

تشير الأحرف المتشابهة عمودياً إلى عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى (0.01) احتمالية بين المتوسطات باختبار DMRT.

جدول (4): كمية الحامض النووي الرايبوزي (RNA) المستخلص من كالس الأجزاء النباتية المختلفة لنباتات زهرة الشمس *H. annuus* L. النامية من بذور غير معرضة ومعرضة لأشعة الليزر لمدد مختلفة وبعد فترة نمو 30 و60 يوماً على الوسط الغذائي.

مدد التعريض (دقيقة)	كمية RNA (مايكروغرام/غرام وزن رطب)					
	كالس الجذور		كالس السيقان		كالس الأوراق	
	عمر الكالس (يوم)					
	30	60	30	60	30	60
معاملة المقارنة	j 27.110	f 79.245	j 42.634	E 97.395	i 43.210	f 100.249
5	i 40.094	d 100.036	i 53.906	D 126.440	h 54.316	d 136.960
10	h 53.716	c 119.409	h 64.950	C 149.488	g 70.318	c 179.508
15	g 77.909	b 142.614	g 87.434	B 166.922	f 100.319	b 192.320
20	e 80.286	a 159.773	f 95.034	A 188.933	e 125.318	a 212.078

كل قيمة تمثل معدل ثلاث مكررات/معاملة.

تشير الأحرف المتشابهة عمودياً إلى عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى (0.01) احتمالية بين المتوسطات باختبار DMRT.

تمايز الكالس

عبرت النتائج عن انعكاسات تأثيرات أشعة الليزر في تمايز عينات الكالس، حيث تمايز كالس الأوراق في حالة تعريض البذور لمدة 20 دقيقة، إلى فرع متضخم يحمل عدة أوراق، كما أظهرت عينات كالس السيقان، في حالة تعريض البذور لمدة 5 دقائق، تمايزها إلى عدد كبير من الجذور شكل(6) بعد فترة نمو 45 يوماً على وسط MS المدعم بـ1.0 ملغم/لتر من BA و0.5 ملغم/لتر من NAA، مع عدم حصول تمايز لعينات الكالس الأخرى على الرغم من بقاءها مدة 60 يوماً على الوسط الغذائي.

شكل (6): انعكاسات تاثير أشعة الليزر في تمايز كالس السيقان والأوراق لنباتات زهرة الشمس *H. annuus* L. النامية من بذور معرضة لأشعة الليزر بعد فترة نمو 45 يوماً على الوسط الغذائي.

(A): تمايز كالس السيقان إلى جذور، لنباتات نامية من بذور معرضة للأشعة لمدة 5 دقائق.

(B): تمايز كالس الأوراق إلى ساق متضخم يحمل عدة أوراق، لنباتات نامية من بذور معرضة للأشعة لمدة 20 دقيقة.

التزهير

توضح النتائج في جدول (5) بأن تعريض البذور لأشعة الليزر كان له أثر في موعد ظهور الأزهار، حيث احتاجت نباتات معاملة المقارنة إلى 180 يوم لظهور أول زهرة فيها، وهي فترة أطول من المدة التي استغرقتها نباتات البذور المعرضة لأشعة الليزر وخاصة عند تعريض البذور لمدة 15 دقيقة والتي استغرقت 110 يوماً.

جدول (5): انعكاس تأثيرات أشعة الليزر في موعد تزهير النباتات النامية من البذور الغير معرضة والمعرضة للأشعة لمدد مختلفة.

مدد التعريض (دقيقة)	المدة اللازمة لظهور الأزهار (يوم)
معاملة المقارنة	a 180
5	b 172
10	c 125
15	d 110
20	cd 120

كل قيمة تمثل معدل عشرين مكرر/معاملة.

تشير الأحرف المتشابهة عمودياً إلى عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى (0.01) احتمالية بين المتوسطات باختبار DMRT.

كمية البروتين الكلي ونسب الزيت في البذور

تعبر البيانات الواردة في جدول (6) زيادة في كمية البروتين ونسب الزيت في البذور غير المقشرة التي جمعت من نورات نباتات زهرة الشمس النامية من بذور معرضة لأشعة الليزر لمدد مختلفة، حيث بلغت كمية البروتين للبذور المعرضة لمدة 20 دقيقة (1.261 ملغرام / غرام وزن طري) ونسبة الزيت (42.7 %) أي تقريبا اكثر من ضعف كمية البروتين ونسبة الزيت لبذور معاملة المقارنة (0.615ملغرام/غرام وزن طري و12.7% على التوالي) بعد تسعة اشهر من زراعتها.

جدول (6): كمية البروتين ونسب الزيت المستخلصة من بذور غير مقشرة لنباتات نامية من بذور غير معرضة ومعرضة لأشعة الليزر بعد فترة نمو تسعة أشهر.

مدد التعريض (دقيقة)	كمية البروتين (ملغرام/غرام وزن طري)	نسبة الزيت (%)
معاملة المقارنة	d 0.615	12.7
5	cd 0.642	21.3
10	c 0.702	25.3
15	b 0.816	35.2
20	a 1.261	42.7

كل قيمة تمثل معدل ثلاث مكررات/معاملة.

تشير الأحرف المتشابهة عمودياً إلى عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى (0.01) احتمالية بين المتوسطات باختبار DMRT

المناقشة

يعد الليزر أداة مهمة في مجالات مختلفة وواسعة، ففي الوقت الحاضر أدى استخدام أجهزة الليزر بأنواعها المختلفة في التقنيات الزراعية إلى إدخال العديد من التحسينات على هذه التقنيات والارتقاء بها، مما كان له الأثر الكبير في زيادة كفاءتها وإنتاجيتها [28]. إن تأثير أشعة الليزر تختلف باختلاف نوعية الليزر والجرعة المستخدمة وزمن التعريض ونوعية النسيج المستخدم [29]. أظهرت نتائج الدراسة الحالية بأن تعريض بذور زهرة الشمس لأشعة الليزر ذو اللون الأحمر أنتجت عدة تأثيرات إيجابية في تحفيز نمو النبات أثناء المراحل المختلفة من النمو الخضري الذي شمل اختزال في وقت الإنبات، زيادة في نسبة الإنبات وتفرعات وأطوال الجذور وتطور النباتات. إن قلة الفترة المستغرقة لإنبات البذور ربما يعود إلى قدرة أشعة الليزر على كسر الكمون للبذور وبالتالي الإسراع من إنباتها [30]، كما ذكر Kamiya وآخرون [31] بأن بناء الحلقة المعقدة لهرمون الجبرلين تحفز بالضوء الأحمر، والجبرلين بدوره يحفز انزيمات التحلل البروتيني مسبب تحرر التربتوفان الضروري لبناء IAA أحد الهرمونات المسؤولة عن التجذير [32]، وأشار

الباحث Metwally [29] أن تعريض نبات الجربيرا لأشعة الليزر سببت زيادة في إنتاج الجبرلين المحفز للنمو، إن الأشعة الحمراء تحفز نشاط الانزيمات هدم الكربوهيدرات من الاميليز والبروتيز لتكوين السكريات البسيطة الضرورية لعملية الإنبات [10].

إن النمو والتطور الجيد لبادرات زهرة الشمس لبذور معرضة مسبقاً لأشعة الليزر مقارنة بنظيراتها في معاملة المقارنة يعود إلى قدرة صبغة الفايتوكروم على امتصاص الضوء الأحمر لتحفز عمليات النمو الخضري وإنتاج الأزهار [33] وزيادة في عملية البناء الضوئي [34]، حيث ان الفاتيوكروم مركبات بروتينية تعمل عمل الانزيمات أو تساعد في إظهار وتضخيم تأثيرات الضوء إذ يؤدي دور الانزيم الفعال [35].

تنقسم الخلايا البرنكيمية وتكوين كتلا من خلايا غير متخصصة (كالس) ثم بفعل الهرمونات النباتية تتخصص هذه الخلايا وتكون جذوراً أو براعم ورقية وأخيراً النبات الكامل [36]. إذ التباين في استحداث وتكوين الكالس من الجذور، السيقان والأوراق لبادرات زهرة الشمس يعود إلى الاختلاف في مدة التعريض للأشعة ونوع النسيج المستحدث منه الكالس. وتعزى التغيرات الإيجابية للضوء الأحمر في استحداث ونمو الكالس إلى الزيادة الحاصلة في المكونات الخلوية من البروتينات والأحماض النووية بنوعيها DNA وRNA والتي تعد زيادتها وتضاعفها ضروري في مرحلة التحفيز Induction لاستحداث الكالس [37]. وأشار الملاح [12] حصول زيادة في كمية الحامض النووي DNA في عينات كالس الثوم المعرضة لأشعة الليزر مع زيادة في معدلات الأوزان الطرية للكالس، وقد يعود التحفيز الحاصل في عملية البناء إلى تنشيط فعالية انزيم الداي هيدروفوليت ردكتيز (DHFR) بزيادة فترة التعريض للأشعة، حيث يعمل انزيم DHFR على بناء مركب التتراهيدروفوليت الذي تبنى منه مشتقات حامض الفولك الضرورية في بناء نيوكليوتيدات الأحماض النووية [38، 39] والأحماض الامينية [40] والسايتوكاينينات [41]. ومن دون شك فإن الزيادة في المحتويات الخلوية وانقسام الخلايا تؤدي إلى زيادة في معدلات الأوزان الطرية للكالس [42].

برهنت النتائج أيضاً زيادة في كمية البروتين ونسب الزيت المستخلصة من بذور لنباتات زهرة الشمس النامية من بذور معرضة لأشعة الليزرلمدد مختلفة استناداً إلى معاملة المقارنة. حيث أشار Govil وآخرون [43] بأن أشعة الليزر سببت الزيادة في كمية البروتين في بذور نبات الماش بسبب الزيادة في فعالية انزيمات بناء البروتين بتأثير الأشعة.

إن قلة عدد الأيام اللازمة لبدء التزهير بسبب الأشعة له أهمية، حيث يعني ذلك التبكير في الإنتاج والتخلص من الآفات والأمراض [44]، وأكد ذلك من قبل Metwally [29] بأن أشعة الليزر أثبتت جدواها في المجال الزراعي في دفع بذور الجربيرا للإنبات السريع والحصول على جودة عالية من النمو والتزهير المبكر.

إن التأثيرات الإيجابية لأشعة الليزر في زيادة المحتويات الخلوية لأنسجة الكالس انعكست في تحفيز تمايز الكالس إلى أفرع خضرية وجذور، على الرغم من النمو غير الطبيعي للفرع المتمايز من كالس الأوراق لبذور معرضة لمدة 20 دقيقة وربما يعود هذا النمو إلى حدوث ضرر في النظام الايضي أو الحيوي باحداث تدمير أو تنشيط الهرمونات داخل النبات [29].

المصادر

1. Fathy, H.M, Metwally, S.A. and Tah, L.S. (2012). *In vitro* growth behavior and leaf anatomical structure of Balanites aegyptiaca and chtoneoster horizontalis affected by different types of laser radiation. J. Appl. Sci. Res. 8(4): 2386-2396.
2. Lu, N., Maruo, T., Johkan, M., Hohjo, M., Tsukakoshi, S., Ito, Y.,Ichimura, T. and Shinohara, Y. (2012). Effects of supplemental lighting with light-emitting diodes (LED_S) on tomato yield and quality of single-truss tomato plants grown at high planting density. Environ. Cont. Biol. 50: 63-74.
3. عبود، ساجدة عزيز وفراس حميد خضير. (2012a). تأثير الأشعة فوق البنفسجية في نمو وتمايز كالس نبات زهرة الشمس *Helianthus annuus* L. مجلة مؤتة للبحوث والدراسات، سلسلة العلوم الطبيعية والتطبيقية. المجلد (27)، العدد (1): 9-21.
4. Muszynski, S. and Gladyszewska, B. (2008). Representation of He-Ne-laser irradiation effect on radish seeds with selected germination indices international Agro Physics. University of life Science, Academic Lublin-Poland. 22: 151-157.
5. Michtchenko, A. and Hernandez, M. (2010). Photobiostimulation of germination and early growth of wheat seeds (*Triticum aestivum* L.) by a 980 nm semiconductor laser. Rev. Cub. Fis. 27(2B): 271-274.
6. Sacala, E., Demczuk, A., Grzys, E., Prosba-Bialcyz, U. and Szajsuer, H. (2012). Impact of presowing laser irradiation of seeds on sugar beet properties. Int. Agrophys. 26: 295-300.
7. Abu-Elsaoud, A.M. and Tuleukhanov, S.T. (2013). Can He-Ne laser induce changes in oxidative stress and antioxidant activities of wheat cultivars from Kazakhstan and Egypt?, J. Eco. Heal. Env. 1(1): 1-11.
8. Yorio, N.C., Goins, G.D., Kugie, H.R., Wheeler, R.M. and Sager, J.C. (2001). Improving spinach, radish and lettuce growth under red light emitting diodes (LEPS) with blue light supplementation. Hort. Science. 36: 380-383.
9. Cope, K.R. and Bughee, B. (2013). Spectral effects of three types of white light emitting diodes on plant growth and development: Absolute versus relative amounts of blue light. Hort. Science. 48(4): 504-509.
10. Perveen, R., Ali, Q., Ashraf, M., Al-Qurainy, F., Jamil, Y. and Ahmed, M.R. (2012). Effects of different doses of low power continuous wave He-Ne laser radiation on some seed thermodynamic and germination parameters, and potential enzyme involved in seed germination of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Photochem. Photobiol. 86: 1050-1055.

11. Samuliene, G., Brazaityte, A.,Urbonavicinte, A., Sabajeviene, G. and Duchovskis, P. (2010). The effect of red and blue light component on the growth and development of frigo strawberries. Zemdirbyste-Agric. 97(2): 99-104.

12. الملاح، مزاحم قاسم، قتيبة شعيب النعمة ومرا اسامة الكاتب. (2009). تأثير ليزر الهليوم – نيون على نمو كالس السيقان القرصية *Allium sativum* ومحتواه من الحامض النووي DNA. مجلة تكريت للعلوم الصرفة. 14(2): 78-81.

13. Salyaev, R.K., Dudareva, L.V., Lankevich, S.V., Makaveuko, S.P.,Sumtsova, V.M. and Rudikovsaya, E.G. (2007). Effect of low intensity laser, irradiation on the chemical composition and structure of lipids in wheat tissue culture. Dokl. Biol. Sci. 412(1): 87-88.

14. الكعبي، انسام مهدي صالح (2010). تأثير أشعة الليزر في إكثار نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. صنف البرحي خارج الجسم الحي. مجلة البصرة لأبحاث نخلة التمر. المجلد (9)، العدد (1).

15. Rassam, Y.Z., Boya, A.F. and Al-Mashhadani, F.A. (2012). Laser treatment may enchance growth and resistance to fungal infection of hard wheat seeds. Middle East J. Agric. Res. 1(1): 1-5.

16. Ferdosizadeh, L., Sadat-Noori, S.A., Zare, A. and Syghafi, S. (2013). Assessment of diode laser pretreatments on germination and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salinity stress. World J. Agric. Res. 1(1): 5-9.

17. Arnon, D.L. and Hoagland, D.R. (1944). The investigation of plant nutrition by artificial culture methods. Biol. Rev. 19: 55-67.

18. Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.

19. Mohammad, A.M.S., Al-Barhawi, R.K. and Abood, S.A. (1986). Effect of some growth regulators on the initiation and growth of sunflowers callus. J. Univ. Kuwait (Sci.). 13(2): 199-205.

20. Lowry, O.H., Rosebrnogh, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. (1951). "Protein measurements with the folin reagent". J. Biol. Chem. 193: 265-275.

21. Osborn, M.J. and Huennckens, F.M. (1958). Enzymatic reduction of dihydrofolic acid. J. Biol. Chem. 233: 969-974.

22. Mohammad, A.M.S., Al-Chalabi, K. and Abood, S.A. (1989a). the occurrence and properties of dihydrofolate reductase isolated from sunflower callus. J. Exp. Bot. 40: 693-699.

23. Mathews, C.K., Scrimgeour, K.G. and Huennekeus, F.M. (1963). Dihydrofolic acid reductase (Eds: Colowick, S.P. and Kaplau, N.O.) Meth. Enzymol. 6: 364-368.

24. Cherry, J.H. (1962). Nucleic acid determination is storage tissue of higher plants. Plant Physiol. 37: 670-678.

25. Giles, K.W. and Mayer, A. (1967). Determination of DNA concentration with diphenylamine reagent-Meth. Enzymol. 12: 163.

26. Bratf-Alean, D., Cristea, V.M., Agachi, P.S. and Irimie, D.F. (2008). Improvement of sunflower oil extraction by modeling and simulation. Revue Roumaine de Chimie. 53(9): 881-888.

27. Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. (1980). "Principles and procedures of statistive". 2nd ed. McGraw-Hill Company, Inc., London.

28. العسيف، صفاء صالح. (2006). تأثير أشعة الليزر على إنبات ونمو بذور القمح. رسالة ماجستير، قسم الفيزياء والفلك، جامعة الملك فهد، المملكة العربية السعودية.

29. Metwally, S.A. (2010). Physiological and anatomical studies on the effect of gamma and laser irradiation and some bioregulators treatments on the growth, flowering and keeping quality of gerbera. Ph.D. Thesis, Faculty of Agriculture, Zagazig University.

30. Nanova, M. (1992). Effect of preseeding laser irradiation of alfalaf and grass mixture seed on plant growth and dry matter accumulation. Fiziol Rasten. (Sofia). 17(4): 4-51.

31. Kamiya, V., Jose, L. and Martinez, G. (1999). Regulation of gibberellin biosyathesis by light. Curr. Opin. Plant Biol. 2: 398-403.

32. Van Overbeek, J. (1966). Plant hormones and regulators. Sci., 152: 721-731. W.H. Freeman and company, San Francisco. (C.F. M. Sc. Thesis, National Institute of laser. Cairo).

33. Smith, H. (2002). Phytochromes and light signal perception by plants – An emerging synthesis, Nat. 407: 585-591.

34. Goins, G.D., Yorio, N.C., Sanwo, M.M. and Brown, C.S. (1997). Photomorphogenesis, photosynthesis and seed yield of wheat plants grown under red light-emitting diodes (LED_S) with and without supplemental blue lighting. J. Exp. Bot. 48: 1407-1413.

35. محمد، عبد العظيم والريس، عبد الهادي. (1990). "فسلجة نبات". الجزء الثاني، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، كلية الزراعة، بغداد، العراق.

36. عبود، ساجدة عزيز. (2011). تكثير نبات تمر الهند *Tamarindus indica* L. بطريقة زراعة الانسجة النباتية. مجلة علوم الرافدين. 22(2): 68-78.

37. محمد، عبد المطلب سيد وعمر، مبشر صالح. (1991). "المفاهيم الرئيسية في زراعة الخلايا والاعضاء للنبات". وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جامعة الموصل، العراق.

38. عبود، ساجدة عزيز وفراس حميد خضير. (2012b). قياس الفعالية النوعية لأنزيم الداي هيدروفوليت ردكتيز وتقدير كمية الفوليت الكلية المستخلصة من كالس سيقان زهرة الشمس *Helianthus annuus* L. المعرضة للأشعة فوق البنفسجية. مجلة علوم الرافدين. 23(3): 1-11.

39. Al-Taee, N.E., Abood, A.S. and Al-Mallah, M.K. (2013). Ultrasonic waves stimulate the activity of thymine nucleotide biosyntues enzymes, nucleic acids and proteins content of *Sesamum indicum* L. stem calli. Dirasat, Pure Sci. 39(1): 91-97.

40. Donald, D., Collynn, F., Chiang, E., Barry, S. and Patrick, S. (2012). Serinehydroxymethyl transferase anchors de novo thymidylate synthesis pathway to nuclear lamina for DNA synthesis. J. Biol. Chem. 287: 7051-7062.

41. Smith, K.H., Kerns, H.A., Antony, J.L. and Wild, J.R. (1987). Methotrexate and aminopterin effects on growth and regeneration in *Daucuc carota*. Plant Cell Repts. 6: 60-62.

42. الطائي، نهال عزت وساجدة عزيز عبود ومزاحم قاسم الملاح. (2013). الصدمة الحرارية تحفز محتوى الأحماض النووية والبروتينات والفعالية النوعية لأنزيمات بناء نيوكليوتيد التالمين في كالس سيقان السمسم *Sesamum indicum* L. مجلة مركز بحوث التقنيات الاحيائية، المجلد (7)، العدد (2): 47-56.

43. Govil, S.R., Agrawal, D.C., Rat, K.P. and Thakur, S.N. (1991). Physiological responses of *Vigna radiata* L. to nitrogen and argon laser irradiation. Indian J. Plant. Physiol. 34(1): 72-76.

44. الحافظ، بسمة احسان. (1999). تأثير نقع بذور التبغ *Nicotiana tabacum* L. بالماء وتشعيعها بالليزر في الإنتاجية وبعض الصفات المظهرية. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل.