



كفاءة الدقائق النانوية للفضة المصنعة حيويًا في نمو بادرات وكالس نبات القرنفل

Eugenia caryophyllus L.

رنا طارق يحيى

قسم الفيزياء الطبية/ كلية العلوم/ جامعة الموصل/الموصل/ العراق

سحر محمد منصور

قسم علوم الحياة/ كلية العلوم/ جامعة الموصل/الموصل/ العراق

p-ISSN: 1608-9391

e-ISSN: 2664-2786

Article information

Received: 22/5/2024

Revised: 15/7/2024

Accepted: 25/7/2024

DOI: 10.33899/rjs.2024.185384

corresponding author:

سحر محمد منصور

Sahar.23scp148@student.uomosul.edu.iq

رنا طارق يحيى

drranaaltaee@uomosul.edu.iq

الخلاصة

نجحت الدراسة الحالية في التصنيع الحيوي للدقائق النانوية للفضة من مستخلص ثمار نبات الطماطم بالاعتماد على تفاعل الاختزال الناتج عن مزج محلول نترات الفضة بتركيز 2 ملي مولر مع المستخلص المائي وبتخافيف مختلفة وكمؤشر أولي على تصنيع الدقائق النانوية للفضة من خلال حدوث تغيير لوني دلالة على حدوث الاختزال وتحول الفضة العنصرية إلى الدقائق النانوية للفضة. وبحثت الدراسة عن التأثير الإيجابي لهذه الدقائق في إنبات بذور نبات القرنفل وإنتاج البادرات، إذ أشارت نتائج زراعة بذور النبات على وسط Murashire and Skoog الصلب والمدعم بتراكيز مختلفة من الدقائق النانوية للفضة (25، 50، 100، 200) مايكروغرام/مل زيادة في نسبة إنباتها مقارنة بوسط MSO الخالي منها مع تفوق التركيز 100 مايكروغرام/مل من تلك الدقائق في تحفيزه نسبة الإنبات والبالغة 95% خلال 4 أيام مقارنة مع وسط MS الصلب لوحده والذي حفز نسبة إنبات بلغت 75% ولفترة 7 أيام. ولقد تمكنت هذه الدراسة من استحداث كالس نبات القرنفل من قطع سيقان بادراته النامية على وسط MS الصلب الحاوي على 1.0 ملغم/لتر Benzyl adenine و 0.5 ملغم/لتر Dichlorophenoxyacetic acid ومضافا إليه تراكيز الدقائق النانوية للفضة المصنعة حيويًا، إذ بينت النتائج أن أعلى نسبة استحداث للكالس كانت على الوسط القياسي المدعم بالتركيز 200 مايكروغرام/مل وبمعدل وزن طري 9.6 غم مقارنة مع 5.92 غم للكالس النامي على وسط MS القياسي الصلب الحاوي على 1.0 ملغم/لتر Benzyl adenine و 0.5 ملغم/لتر Dichlorophenoxyacetic acid لوحده (يعني بدون إضافة الدقائق النانوية) بعد 30 يوما من النمو.

الكلمات الدالة: الدقائق النانوية للفضة AgNPs، التصنيع الحيوي، الكالس، نبات

القرنفل *Eugenia caryophyllus* L.

المقدمة

يعد نبات القرنفل *Eugenia caryophyllus* L. واحداً من أهم أزهار القطف المهمة اقتصادياً في العالم وذلك لجمال لونها ورائحتها المميزة وهو نبات عشبي معمر من عائلة caryphllataceae التي تضم 2160 نوع و89 جنس، موطنه الأصلي البحر الأبيض المتوسط (Aung, 2020)، اسم القرنفل Clove مشتق من الكلمة الفرنسية Clou والكلمة الإنجليزية Ciout وكلاهما يعني مسمار من شبه البراعم بالمسمار ويطلق عليه عدة أسماء ومنها *Sgzggium armticu* او *Eugenia aromaticum* (Hussain et al, 2017) وان شجرة القرنفل هي شجرة دائمة الخضرة، تنمو الى ارتفاع يتراوح بين 8-12م اسم اوراقها ذات شكل بيضاوي متقابلة والزهرة رباعية الاقسام وتمتلك براعم زهرة غير مفتوحة ذات رائحة قوية وطعم حارق وتكون شاحبة اللون وتصبح تدريجياً خضراء وبعد ذلك تتطور الى لون احمر ساطع وعندها تصبح جاهزة للحصاد (Mahulette et al., 2019; Matatula and Wattimena, 2022) ويعد من اهم النباتات الطبية وتم استخدامه تقليدياً منذ العصور القديمة في علاج الديدان المستديرة والشريطية، الربو، الأم الاسنان والتهاب الحلق، اضطرابات الجهاز التنفسي، امراض الجهاز الهضمي، عسر الهضم، التهاب المعدة والإسهال، كخافض للحرارة، طارد للريح، فاتح الشهية، مقشع، مضاد للقيء، مزيل للقلق، مرخي عضلي، مسكن، مزيل للاحتقان، مضاد للالتهابات، وعامل مضاد للبكتريا، ويستخدم على نطاق واسع كعنصر مهم في معاجين الاسنان ومطهرات الفم المشهورة وهو مصدر لعدد كبير من مضادات الاكسدة المعروفة الان (Rani and Jena, 2021) والاستخدام التجاري للقرنفل يتمثل بإنتاج زيت القرنفل الذي يحتوي على المادة الفعالة التي تمتلك فعالية مضادة للأكسدة، مضادة للفطريات (Mostafa et al., 2023)، مضادة للفيروسات، مضاد للتخثر، مضاد للسكري، مضادة للالتهابات، مخدر ومسكن للألم وطارد للحشرات، وذلك بسبب احتوائه على نسبة عالية من مركبات الفلافونويدات (Hariyadi et al., 2020; Habeeb et al., 2023).

وتعد تقانة الزراعة النسيجية من اهم وأكثر التقنيات العلمية الحيوية تطوراً وتعرف على انها عملية عزل الخلية او النسيج او العضو النباتي تحت ظروف خالية من مسببات التلوث وتعقيمها وزراعتها في اوساط غذائية صناعية معقمة ايضاً ومن ثم نمو وتطور هذا الجزء المزروع تحت ظروف مختبرية من حيث الحرارة والضوء، كما يمكن تعريفها بأنها الزراعة المعقمة للخلايا والانسجة والاعضاء ومكوناتها تحت ظروف كيميائية وفيزيائية معينة خارج الجسم الحي (Singh et al., 2020). وفي هذا المجال اجريت دراسات عديدة نجحت في استحداث الكالس من قطع سيقان بادرات نبات القرنفل على وسط MS المدعم بتركيز 0.5 ملغم/لتر لكل من NAA و 2,4-D واتبعتها تمايز هذا الكالس الى تكوين افرع خضرية على الوسط الحاوي على 0.5 ملغم/لتر NAA و 2.0 ملغم/لتر من Kinetine (Thakur and Kanwar, 2018). وتمكنت دراسات اخرى من الحصول على كالس القمم النامية وعقد الساق لنبات القرنفل وتمايز هذا الكالس الى مجموعة من الأفرع الخضرية التي أمكن تجذيرها (Pareek et al., 2004). كما اشارت دراسة اخرى الى امكانية استحداث كالس من اجزاء نباتية مختلفة لنبات القرنفل (سيقان، اوراق، جذور) وبلغت نسبة الاستحداث 100% من زراعة هذه الاجزاء على وسط MS المزود بتركيز 0.5 ملغم/لتر 2,4-D مع 0.1 ملغم/لتر BA من قطع السيقان والاوراق ويتأثر تجديد النموات العرضية للقرنفل بنوع الوسط الغذائي ومنظمات النمو ونوع الجزء النباتي المستخدم (Kanwar and Kumar, 2009).

إن الجسيمات النانوية هي مواد صغيرة الحجم يتراوح حجمها من 1 الى 100 نانومتر يمكن تصنيفها الى فئات مختلفة بناء على خصائصها او اشكالها او احجامها، وتظهر هذه الجسيمات خصائص محسنة مثل التفاعلية العالية والقوة ومساحة السطح والحساسية والاستقرار وما الى ذلك بسبب صغر حجمها (Yaha and Mahdi, 2022)، وان علم النانو هو حقل حديث يلعب دوراً محورياً يوماً بعد يوم في كثير من المجالات ويمكن ان يعرف ايضاً على انه العلم الذي يتعامل مع انتاج الوحدات والمواد التي يتراوح احجامها ضمن وحدات النانومتر ومعالجتها، ويمكن ان تستخدم في مجال الطب والكيمياء والفيزياء الذرية (Heera and Shanmugam, 2015) وتمكنت بعض الدراسات من تطبيق المواد والدقائق النانوية في مجال النبات باستغلال هذه المواد كعوامل

محفزة للنمو والتمايز وبالإمكان استخدامها كمحفزات نمو يستعاض بها عن منظمات النمو المضافة الى اوساط نمو المزارع الخلوية (Yaha, 2022; Singh *et al.*, 2021)

تتضمن المستخلصات النباتية العديد من المكونات النشطة بما في ذلك القلويدات والفينولات والتيربينويدات والأميدات والفلافونويدات والبروتينات (Nair *et al.*, 2010)، التي يمكن أن تقلل من بعض الايونات المعدنية وتحولها إلى دقائق نانوية معدنية MNPs، وفي نفس الوقت تعمل كمثبتات لمنع تجميعها وبالتالي تلعب دورًا رئيسيًا في التصنيع الأخضر للدقائق النانوية المعدنية MNPs وان الطريقة الحيوية أو Biosynthesis أو ما تعرف بالتصنيع الأخضر Green synthesis تتضمن الحصول على مواد نانوية أكثر تجانسًا مع عيوب أقل بالمقارنة مع الطرق الأخرى، وفيها يمكن ان يتم بناء هذه الدقائق عن طريق كائن مجهري كالبكتريا او الفطر او الطحلب او مستخلص نباتي، اذ تستخدم المواد الكيميائية النباتية الموجودة في النباتات لاختزال ايونات العنصر الى الدقائق النانوية للعنصر، تستخدم هذه العملية غالبًا في الكيمياء الخضراء كبديل صديق للبيئة للطرق الكيميائية التقليدية المكلفة وذات التأثير السلبي على البيئة (Ribeiro *et al.*, 2020).

ومن المستخلصات النباتية ذات الفوائد العديدة والمحتوى الطبي العالي مستخلص نبات الطماطم *Solanum lycopersicum* والتي تحوي مكونات نشطة ذات أهمية في التصنيع الحيوي للدقائق النانوية ومنها العنصر النشط الليكوبين الذي ينضم الى عائلة الكاروتينويد والتي تعتبر صبغة طبيعية قابلة للذوبان في الدهون ولها فوائد طبية مثل امراض القلب وحماية الجلد من الاشعة فوق البنفسجية ومضاد للالتهابات (Gomes *et al.*, 2021).

الهدف من الدراسة:

هدفت الدراسة الحالية الى التصنيع الحيوي لدقائق الفضة النانوية من مستخلص ثمار الطماطة واثبات كفاءة تراكيز مختلفة من الدقائق كمحفز إيجابي لإنبات بذور نبات القرنفل ونمو بادراتها وفي استحداث كالس سيقان بادرات نبات القرنفل ومعدلات وزنه الطري.

مواد وطرائق العمل

التعقيم السطحي لبذور نبات القرنفل وإنتاج البادرات المعقمة

جهزت بذور نبات القرنفل من الأسواق المحلية في مدينة الموصل، وعقمت سطحيا بغمرها في محلول هايبوكلورايت الصوديوم NaOCl لمدة 15 دقيقة مع الرج المستمر (Amin and Khader, 2013) ثم غسلت البذور بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات/دقيقة وبعدها جففت على ورق ترشيع معقم للتخلص من الماء الزائد وضعت البذور على سطح 30 مل من وسط MS الصلب بواقع 4 بذور/قنينة وحضنت في غرفة الزروعات بظروف الظلام وبدرجة 24±2 سيليزية. وبعد انبات البذور نقلت بادراتها الى ظروف التعاقب الضوئي 16 ساعة ضوء وبشدة 1500 لوكس/8 ساعة ظلام.

التصنيع الحيوي للدقائق النانوية للفضة AgNPs

تحضير المحلول القياسي لنترات الفضة:

لتحضير 2.0 ملي مولر من المحلول القياسي لنترات الفضة انيب 0.3 غم من مسحوق نترات الفضة في لتر من الماء المقطر (Allafchian *et al.*, 2017) مع استخدام جهاز الهزاز المغناطيسي (Hotplate Stirrer Lab Tech Lms1003, Korea) لإكمال عملية الاذابة.

تحضير مستخلص ثمار الطماطم:

تم عصر 1.0 كغم من ثمار نبات الطماطم يدويًا بشكل جيد ثم رشح بورق الترشيح (Filter paper 15, A4 cm) ووضعت في انابيب بلاستيكية معقمة وحفظت في الثلاجة بدرجة حرارة -18 درجة مئوية او اقل للحفاظ عليه لحين الاستخدام.

تحضير الدقائق النانوية للفضة:

تم خلط حجم مناسب من محلول نترات الفضة ومستخلص نبات الطماطم المحضرة مسبقا في انابيب معقمة ومدرجة وفقا للتخافيف التالية:

1:1 (10 مل من محلول نترات الفضة + 10 مل من للمستخلص المائي لثمار نبات الطماطم)

1:2 (10 مل من محلول نترات الفضة + 20 مل من للمستخلص المائي لثمار نبات الطماطم)

وضعت التخافيف أعلاه في الحمام المائي (WNB10, memmert, Germany) بدرجة حرارة 80 درجة سيليزية ولمدة ساعتين لملاحظة تغير لون المحلول كدلالة لونية لتكوين دقائق الفضة النانوية من خلال اختزال نترات الفضة الموجودة في المستخلص.

اختبار كفاءة الدقائق النانوية للفضة المصنعة حيويًا في انبات بذور نبات القرنفل ونمو البادرات

زرعت بذور نباتات القرنفل المعقمة سطحيا على سطح 30 مل من وسط MS الصلب لوحده ومدعما بإضافة التراكيز 25، 50، 100، 200 مايكروغرام/مل من الدقائق النانوية للفضة المصنعة حيويًا، حفظت العينات في حاضنة النمو بدرجة حرارة 24 ± 2 درجة سيليزية وبظروف الظلام وتم التحري عن مدة انباتها نمو بادراتها وشكلها ومعدل اطوال سيقانها وجذورها تحت تأثير إضافة هذه الدقائق النانوية للوسط.

اختبار تأثير الدقائق النانوية للفضة المصنعة حيويًا في استحداث الكالس من قطع السيقان تحت الفلجية لبادرات نبات القرنفل

رفعت بادرات نبات القرنفل النامية بعد أسبوعين من نموها على وسط MS وقطعت سيقانها بطول 1.5 سم ووضعت منفردة على سطح وسط MS الصلب ومجهزا بمنظمات النمو وهي 1.0 ملغم/مل من BA و 0.5 ملغم/مل من 2,4-D (Amin and Khader, 2013) لوحده مرة ومجهزا بالتراكيز المستخدمة من الدقائق النانوية للفضة (25، 50، 100، 200) مايكروغرام/مل مرة أخرى، حفظت العينات جميعا في غرفة المزروعات في ظروف التحضين القياسية وفي ظروف التعاقب الضوئي.

الكشف عن تأثير الدقائق النانوية للفضة المصنعة حيويًا على نمو الكالس

تم الكشف عن تأثير الدقائق النانوية للفضة المصنعة حيويًا على نمو الكالس من خلال معدلات الوزن الطري للكالس النامي على وسط MS الصلب لوحده ومزودا بالتراكيز المستخدمة من الدقائق النانوية للفضة من خلال اخذ الفرق بين وزن قناني الزرع الحاوية على الوسط الغذائي فقط ووزنها بعد زراعة الكالس فيها بعد مرور 30 يوما من الزراعة .

النتائج والمناقشة

انتاج بادرات نبات القرنفل المعقمة

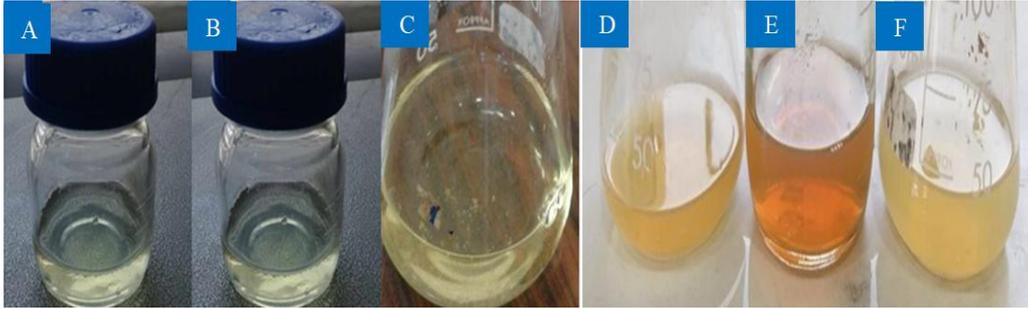
أظهرت نتائج التعقيم السطحي لبذور نبات القرنفل *Eugenia caryphallta* بمحلول هايبيوكلوورايت الصوديوم NaOCl كفاءتها بدلالة الحصول على بادرات سليمة وذات حيوية جيدة ونامية بشكلها الطبيعي من جنور وسيقان واوراق غير متأثرة بعمليات التعقيم اذ ان كفاءة مواد التعقيم مع اختيار الوقت المناسب للتعقيم هي اهم اسباب نجاح زراعة البذور وكفاءة انباتها، واستخدمت هذه البادرات بعمر أسبوعين مصدرا لقطع السيقان لاستحداث الكالس منها.

استحداث كالس سيقان بادرات نبات القرنفل

اشارت النتائج الى ان اضافة منظمات النمو لكل من BA و D-2,4 وبتراكيزها المعتمدة في الدراسة الى وسط MS القياسي الصلب اعطى افضل نتيجة في تشجيع استحداث الكالس ونموه من قطع سيقان بادرات نبات القرنفل لتلائم تراكيز منظمات النمو مع المحتوى الداخلي للقطع النباتية المزروعة، واعتمدت قطع السيقان في تجارب الاستحداث ولم يتم الاعتماد على قطع الأوراق لعدم كفاءتها في الاستحداث. اذ ان نجاح زراعة القطع النباتية وقابليتها على استحداث الكالس يعتمد على نوع وتراكيز منظمات النمو المضافة الى اوساط نموها بما يتلاءم مع محتواها الداخلي (Yaha and Mohammed, 2018).

البناء الحيوي للدقائق النانوية للفضة المصنعة حيويًا من مستخلص ثمار الطماطم

أظهرت نتائج التصنيع الحيوي لدقائق الفضة النانوية حدوث تغيرًا لونيًا لمزج المستخلص المائي لثمار الطماطم مع محلول نترات الفضة في جميع العينات المحضرة بعد مرور ساعة من وضعها في الحمام المائي بدرجة حرارة 80 درجة سيليزية من عديم اللون إلى اللون الأصفر أو البرتقالي أو الوردي حسب التخفيف المستخدم، ويعد التغير اللوني دليلًا لونيًا واضحًا على تكوين جسيمات الفضة النانوية وإيجابية التصنيع الحيوي إذ إن اختزال أيون الفضة إلى جزيئات الفضة النانوية بعد معاملتها بالمستخلصات النباتية يتبعه تغير في اللون (Rasae et al., 2018) كما في الشكل (1).



الشكل 1: عينات مزيج محلول نترات الفضة والمستخلص المائي لثمار نبات الطماطم و بالتخفيف التالية:

قبل التفاعل	}	A. 1:1 (10 مل من محلول نترات الفضة + 10 مل من المستخلص المائي لثمار نبات الطماطم)
		B. 2:1 (10 مل من محلول نترات الفضة + 20 مل من المستخلص المائي لثمار نبات الطماطم)
		C. 1:2 (20 مل من محلول نترات الفضة + 10 مل من المستخلص المائي لثمار نبات الطماطم)
بعد التفاعل	}	D. 1:1 (10 مل من محلول نترات الفضة + 10 مل من المستخلص المائي لثمار نبات الطماطم)
		E. 2:1 (10 مل من محلول نترات الفضة + 20 مل من المستخلص المائي لثمار نبات الطماطم)
		F. 1:2 (20 مل من محلول نترات الفضة + 10 مل من المستخلص المائي لثمار نبات الطماطم)

وكانت أفضل نتيجة كدلالة لونية عند عينة التخفيف 1:2 (20 محلول نترات الفضة + 10 المستخلص المائي لثمار نبات الطماطم) إذ حصل تغير في اللون من الأصفر إلى اللون البرتقالي أو البني مما يؤكد حدوث تفاعل ما بين المركبات النانوية الفعالة الموجودة في المستخلص النباتي مع نترات الفضة لحدوث عملية الاختزال وتكوين جسيمات الفضة النانوية، وإن التغيرات اللونية التي حصلت كانت بسبب ظاهرة رنين بلازمون السطح Surface plasmon resonance وان حدوث هذه الخاصية في بعض المعادن مثل الفضة يسبب تحور اقطار جسيمات المعادن إلى الجسم النانوي (Schletz et al., 2021) إذ إن الألوان المختلفة التي تحدث في المحلول الغروي هي أشكال كروية وخماسية ودائرية غير منتظمة لجسيمات الفضة النانوية Siddiqi et al., 2018). ويفسر سبب التغير اللوني إلى امتلاك النباتات مركبات إضية مختلفة مثل التربنويدات والفينولات والقلويات والفلافونويد وغيرها والتي تؤدي دورًا رئيسيًا في استقرار الفضة المعدنية واختزالها إلى جسيمات الفضة النانوية AgNPs إذ تظهر الجسيمات النانوية المعدنية ألوان مختلفة في المحلول بسبب خصائصه البصرية (Saliem et al., 2016).

وقد بين (Phanjom and Ahmed, 2017) إمكانية زيادة معدل الاختزال وتكوين الجسيمات النانوية بشكل أكبر عن طريق زيادة وقت التفاعل ومن ثم تزداد كثافة اللون مع زيادة للوقت وأيضا مع زيادة تركيز المستخلص النباتي مما يؤدي إلى زيادة عملية التصنيع الحيوية لدقائق الفضة النانوية.

اختبار إضافة الدقائق النانوية للفضة المصنعة حيويًا على انبات بذور ونمو بادرات نبات القرنفل

أظهرت نتائج الدراسة الدور الإيجابي لتراكيز الدقائق النانوية للفضة AgNPs المصنعة حيويًا والمضافة إلى وسط MSO في انبات ونمو بذور نبات القرنفل، إذ حفر التركيز 100 ميكروغرام/مل من الدقائق النانوية للفضة انبات بذور نبات القرنفل عند

اضافته الى وسط MSO وبمدة زمنية اقصر ، 4 أيام مقارنة بالمدة اللازمة لأنبأتها في بادراتها المقارنة المزروعة على وسط MSO لوحده والبالغة 7 ايام كما اعطى اعلى نسبة مئوية للإنبات بلغت 95% مقارنة بنسبة انبات 25% لمثيلاتها على وسط MSO (المقارنة) لوحده (الجدول 1).

الجدول 1: النسبة المئوية وسرعة الانبات لبذور نبات القرنفل *Eugenia caryphallata* المزروعة على وسط MSO لوحده ومدعما بالتركيز المختلفة من الدقائق النانوية للفضة.

تراكيز الدقائق النانوية للفضة المضافة الى وسط MSO مايكروغرام/مل	النسبة المئوية للإنبات %	فترة الانبات (يوم)
0.0	25	7
25	50	7
50	60	4
100	95	4
200	75	4

ان تأثير الدقائق النانوية للفضة في تسريع نمو بادرات نبات القرنفل مصحوبا بإعطاء نسبة انبات عالية للبذور قد يعود الى ان الخصائص السطحية للدقائق النانوية التي تلعب دورا مهما في تسريع الانبات ونمو البادرات اذ ان التأثيرات الإيجابية للدقائق النانوية على نمو النبات لها تطبيقات واسعة في زراعة النباتات من خلال إطلاق العديد من العناصر الغذائية التي تحفز نمو النبات والتي ترتبط بالخلايا المستهدفة التي تسبب التحفيز (Farooqui et al., 2016).

ومن خلال نتائج الدراسة لوحظ ان التأثير الواضح للدقائق النانوية للفضة بتركيزها المختلفة على انبات البذور يعتمد على التركيز المستخدم منها اذ تناقصت نسبة الانبات الى 50% و60% و75% بوجود التراكيز 25، 50، 200 مايكروغرام/مل على التوالي من الدقائق النانوية الفضة (الجدول 1). ويمكن ان يعود تباين الدقائق النانوية في تحفيز الانبات الى التغيرات التي تحدثها هذه الدقائق في المسارات البيوكيميائية المختلفة والتي تؤثر على تنظيم التعبير الجيني المحفز للنمو والانبات (Venkatachalam et al., 2017; Sotoodehnia et al., 2020) الا ان جميع التراكيز المستخدمة من هذه الدقائق اعطت نسبة انبات للبذور اعلى من مثيلاتها للبذور النامية على وسط MSO لوحده اذا بالاعتماد على الدراسات المختلفة لتأثيرات الدقائق النانوية في اليات وميكانيكيات فسلجية انبات البذور فان هذه الدقائق تمنح قابلية امتصاص الماء من قبل البذور (Zheng et al., 2005).

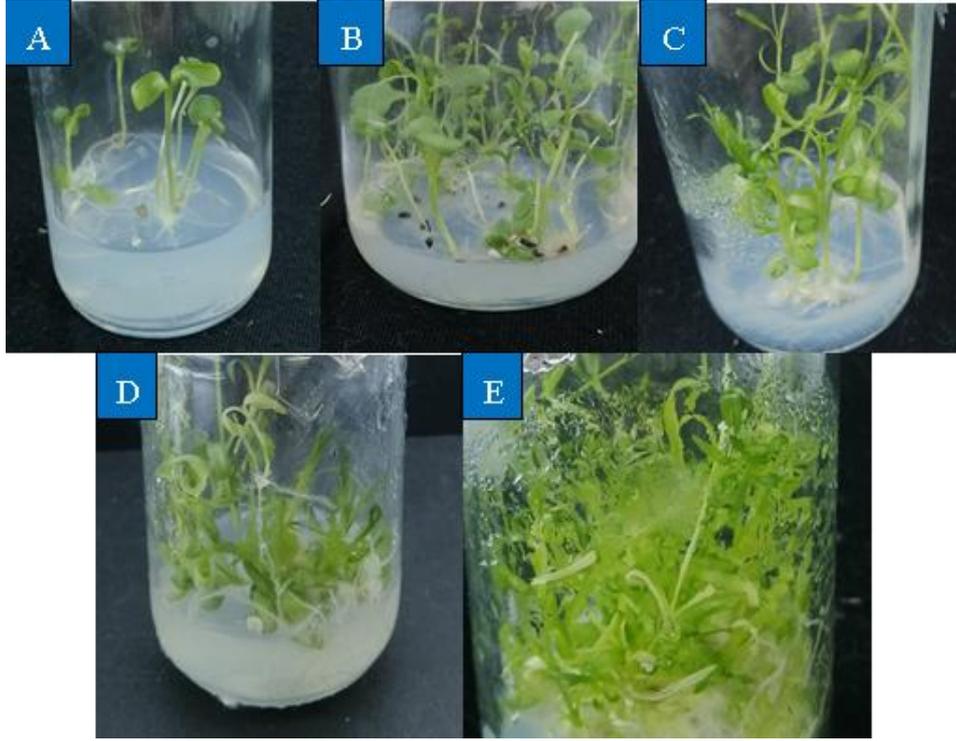
تأثير الدقائق النانوية للفضة AgNPs المصنعة حيويا في النمو الخضري لأوراق وسيقان وجذور بادرات نبات القرنفل

تشير بيانات (الجدول 2) الى الدور المتباين لتركيز الدقائق النانوية للفضة المصنعة حيويا في تحسين نمو بادرات القرنفل النامية على الأوساط الحاوية عليها وبتركيزها المستخدمة بالمقارنة مع البادرات النامية على الأوساط الخالية منها (المقارنة) من خلال مؤشرات النمو الخضري للبادرات المتمثلة في معدل اطوال الجذور والسيقان المتزايدة وعدد الأوراق. اذ تبين من خلال النتائج ان هذا التأثير بدا واضحا من خلال زيادة نسبة مؤشرات النمو المتمثلة بعدد الافرع الخضرية والأوراق واطوالهم بالمقارنة مع البذور النامية على الوسط الخالي من الدقائق النانوية الشكل (2).

الجدول 2: تأثير الدقائق النانوية للفضة AgNPs في مؤشرات النمو الخضري (الأوراق والسيقان والجذور) لبادرات نبات القرنفل النامية على وسط MS لوحده ومدعما بالتركيز المستخدمة منها.

معدل عدد الاوراق (ورقة)	معدل عدد الافرع الخضرية (فرع)	معدل اطوال الافرع الخضري (سم)	معدل عدد الجذور (جذر)	معدل اطوال الجذور (سم)	تراكيز الدقائق النانوية للفضة المضافة الى الوسط الغذائي (MS) مايكروغرام / مل
16	9	2	5	5	0.0
20	10	2.5	6	6	25
30	10	3.5	8	8	50
40	30	8	14	14	100
35	18	3.5	6	6	200

كل قراءة تمثل معدل 5 مكررات.



الشكل 2: بادرات نبات القرنفل النامية على وسط MS الصلب بعد 15 يوما والمدعم بإضافة:

A. MS لوحده المقارنة.

B. 25 مايكروغرام/مل من الدقائق النانوية للفضة.

C. 50 مايكروغرام/مل من الدقائق النانوية للفضة.

D. 100 مايكروغرام/مل من الدقائق النانوية للفضة.

E. 200 مايكروغرام/مل من الدقائق النانوية للفضة.

وان هذه النسب تباينت من معاملة الى أخرى اذ سجلت البادرات النامية على الوسط الحاوي على الدقائق النانوية للفضة و بتركيز 100 مايكروغرام/مل اعلى مؤشرات النمو الخضري للبادرات المتمثلة في معدل عدد الأوراق والافرع الخضرية واطوالها والتي ازدادت بشكل واضح وبلغت 40، 30، 8 سم على التوالي ومعدل عدد الجذور 14 بينما كان معدل اطوال الجذور 9 سم الشكل (2-D). وهذا يوضح تأثير الدقائق النانوية على نمو البادرات بينما لوحظ انخفاضاً في نسبة النمو الخضري للبادرات النامية على وسط (MS) الخالي من الدقائق النانوية (المقارنة) حيث بلغ معدل عدد الأوراق 16 ومعدل عدد الافرع الخضرية 9، معدل طول الافرع الخضرية 2 سم وبعده جذور بلغ 5 ذات معدل طول 5 سم الشكل (2-A)، بينما سجلت معاملة البذور المعرضة للدقائق النانوية بتركيز 25 مايكروغرام/مل من الدقائق النانوية اقل مؤشرات النمو الخضري للبادرات المتمثلة في عدد الأوراق والافرع الخضرية واطوالها اذ بلغ معدل عدد الأوراق 20 ومعدل عدد الافرع الخضرية 10 بالإضافة الى معدل اطوال الافرع الخضرية بلغ 2.5 سم ومعدل وعدد الجذور 5 بينما كان معدل اطوال الجذور 5 سم الشكل (2-B) اذ لوحظ تناقص ملحوظ في مؤشرات النمو الخضري للسيقان والجذور لنبات القرنفل مع تناقص تراكيز الدقائق النانوية للفضة فكان لها تأثيراً سلبياً داخل الخلية (Elsayh *et al.*, 2022).

تأثير الدقائق النانوية للفضة المصنعة حيويًا في استحداث الكالس

أظهرت النتائج كفاءة الدقائق النانوية للفضة المصنعة حيويًا في استحداث ونمو الكالس من قطع سيقان بادرات نبات القرنفل بدلالة زيادة نسبة الاستحداث مقارنة مع نسبة استحداثه في الوسط MS القياسي مضافاً اليه منظّمات النمو 1.0 ملغم/لتر Benzyl adenine و0.5 ملغم/لتر Dichlorophenoxyacetic acid الخالي من وجود هذه الدقائق. اذ تشير

بيانات (الجدول 3) ان اقل فترة زمنية لاستحداث الكالس كانت 7 أيام لقطع السيقان النامية على وسط MS القياسي والمدعم بتركيز 200 مايكروغرام/مل من الدقائق النانوية للفضة المصنعة حيويًا مع إعطاء أعلى نسبة استحداث للكالس والبالغة 95% بينما استغرقت القطع فترة زمنية اطول لاستحداث الكالس 13 يوم على وسط MS والمزود بتركيز 25، 50، 100 مايكروغرام/مل من الدقائق النانوية للفضة المصنعة حيويًا مع انخفاض ملحوظ في النسبة المئوية لاستحداث الكالس وصولًا إلى 75% عند تركيز 100 و 60% عند تركيز 50 ميكروغرام/مل و 50% عند تركيز 25 مايكروغرام/مل في حين كانت اقل نسبة استحداث لكالس سيقان البادرات النامية على وسط MS لوحده والبالغة 25% واستغرقت اطول فترة لاستحداث الكالس بلغت 20 يوما دلالة على عدم وجود التأثير الإيجابي للدقائق النانوية للفضة على انقسام ونمو خلايا السيقان وبالتالي ضعف الاستجابة في الاستحداث اذ ان التداخل بين الخلايا النباتية والدقائق النانوية للمعادن يعود إلى تحفيز النمو والتطور للنبات اعتمادًا على نوع هذه الدقائق وتركيزها (Marslin et al., 2018; Ahmad et al., 2022).

الجدول 3: تأثير الدقائق النانوية للفضة المصنعة حيويًا في النسبة المئوية لاستحداث كالس سيقان بادرات نبات القرنفل النامية على وسط MS القياسي (MS+ 1.0 ملغم/مل) من BA و 0.5 ملغم/مل من (D-2,4)

مدة الاستحداث (يوم)	استحداث الكالس %	عدد القطع المزروعة /المستجيبة	تراكيز الدقائق النانوية للفضة المصنعة حيويًا المضافة إلى وسط MS القياسي (مايكروغرام/مل) (المقارنة) 0.0
20	25	5/20	0.0 (المقارنة)
13	50	10/20	25
13	60	12/20	50
13	75	15/20	100
7	95	19/20	200

كل قراءة تمثل معدل 5 مكررات

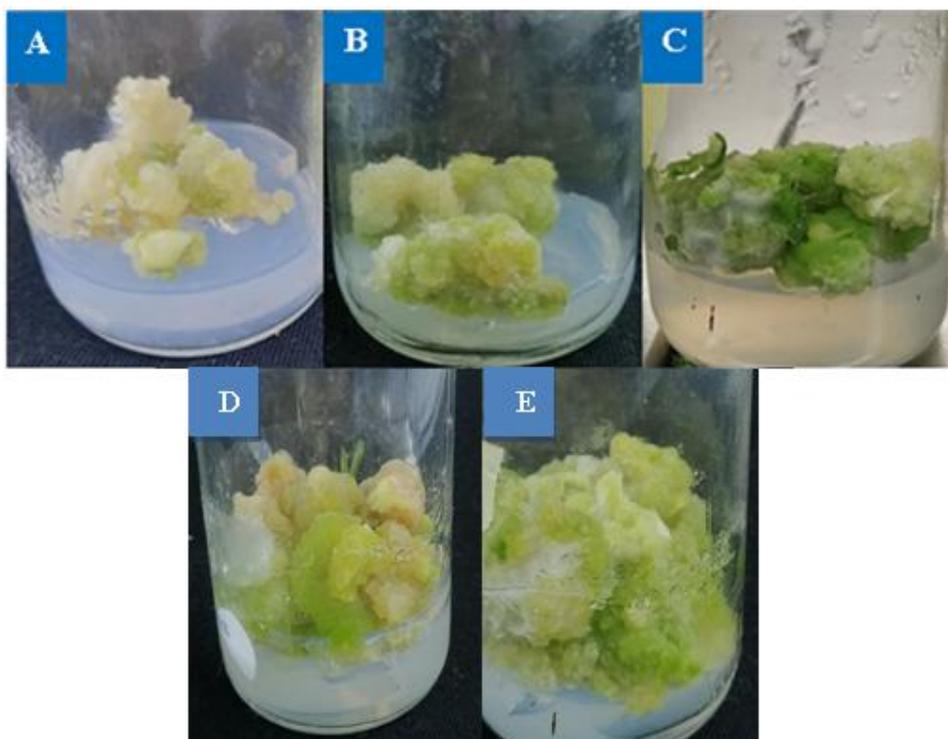
تأثير الدقائق النانوية للفضة المصنعة حيويًا في الوزن الطري للكالس

تشير نتائج (الجدول 4) إلى تباين معدلات الوزن الطري لكالس سيقان نبات القرنفل مع تباين التراكيز المستخدمة للدقائق النانوية للفضة، إذ لوحظ زيادة معدلات وزنه الطري بزيادة تراكيز هذه الدقائق المضافة إلى الوسط الغذائي وصولًا إلى تركيز 200 مايكروغرام/مل والذي بلغ 9.6 غم بعد 20 يومًا واتصف الكالس النامي بلونه الأخضر المصفر الشكل (E-3)، يليه الوسط الغذائي المجهز بإضافة 100 مايكروغرام/مل من دقائق الفضة النانوية وبمعدل وزن طري للكالس 8.9 غم واتصف بلونه الأخضر الشكل (D-3) ثم انخفض معدل النمو بدلالة الوزن الطري بإضافة 50 مايكروغرام/مل من الدقائق الفضة النانوية وبلغ معدل الوزن الطري 6.62 غم بعد 20 يومًا من الزراعة واتصف بلونه الأخضر الشكل (C-3) ويليه الوسط الغذائي المجهز بإضافة 25 مايكروغرام/مل من الدقائق النانوية بمعدل وزن طري 6.52 غم وكان أقل معدل وزن عند الوسط الخالي من الدقائق النانوية (المقارنة) 5.92 غم واتصف الكالس بلونه الأخضر المصفر الشكل (A-3)، إذ وصفت الدراسات الدقائق النانوية للمعادن مثل الفضة والذهب والزنك بصغر حجمها مع مساحة سطحية عالية مما يساعدها على اختراق الخلايا النسيجية والتأثير على الوظائف الأيضية والفسلجية ومن ثم على التعبير الجيني ومعدلات الانقسام للخلايا (Gomes et al., 2021).

الجدول 4: الأوزان الطرية لكالس سيقان بادرات نبات القرنفل النامية على وسط MS القياسي الصلب والمجهز بتركيز مختلفة من الدقائق النانوية للفضة بعد مرور 20 يوما.

الوزن الطري للكالس (غم)	تراكيز الدقائق النانوية للفضة المضافة الى وسط MS القياسي (مايكروغرام/ مل) (المقارنة)
5.92	0.0
6.52	25
6.62	50
8.9	100
9.6	200

كل قراءة تمثل معدل 5 مكررات



الشكل 3: كالس نبات القرنفل *Eugenia Caryphalta* النامي على وسط MS القياسي الصلب بعد 20 يوما والمدعم بإضافة:

- A. MS القياسي لوحده (المقارنة).
- B. 25 ميكروغرام / مل من الدقائق النانوية للفضة.
- C. 50 مايكروغرام / مل من الدقائق النانوية للفضة.
- D. 100 مايكروغرام / مل من الدقائق النانوية للفضة.
- E. 200 مايكروغرام / مل من الدقائق النانوية للفضة.

الاستنتاجات

برهنت الدراسة كفاءة التصنيع الحيوي للدقائق النانوية للفضة من مستخلص ثمار نبات الطماطة في الحصول عليها بشكلها الفعال و كبدل صديق للبيئة عن الطرق التقليدية الكيميائية او الفيزيائية ذات التأثيرات الجانبية ودورها الإيجابي في إنبات ونمو بذور نبات القرنفل وإنتاج بادرات اتصفت بنموها الجيد على وسط Murashire and Skoog الصلب، وكذلك أثرها البارز في استحداث ونمو كالس السيقان الفلقية كما برهنت الدراسة التأثير الإيجابي للدقائق النانوية للفضة المصنعة حيويًا على نمو الكالس بدلالة معدلات الوزن الطري اذ تعتبر محفزًا لاستحداث ونمو الكالس بوجود منظمات النمو القياسية.

المصادر الاجنبية

- Ahmad, A.; Hashmi, S.S.; Palma, J.M.; Corpas, F.J. (2022). Influence of metallic, metallic oxide, and organic nanoparticles on plant physiology. *Chemosph.*, **290**, 133329. DOI:10. 1016/j.chemosphere.2021.133329
- Allafchian, A.; Jalali, S.A.H.; Hosseini, F.; Massoud, M. (2017). *Ocimum basilicum* mucilage as a new green polymer support for silver in magnetic nanocomposites: Production and characterization. *J. Env. Chem. Eng.*, **5**(6), 5912-5920. DOI:10.1016/j.jece.2017.11.023
- Amin, K.A.; Khader, F.H. (2013). The effect of some plant growth regulators on the induction, differentiation and growth of clove callus. *Dianthus caryophyllus*, *J. Edu. Sci.*, **26**(4), 74-88.
- Aung, E.E.; Kristanti, A.N.; Aminah, N.S.; Takaya, Y.; Ramadhan, R. (2020). Plant description, phytochemical constituents and bioactivities of *Syzygium* genus: A review. *Open Chem.*, **18**(1), 1256-1281. DOI: 10.1515/chem-2020-0175
- Elsayh, S.A.; Arafa, R.N.; Ali, G.A.; Abdelaal, W.B.; Sidky, R.A.; Ragab, T.I. (2022). Impact of silver nanoparticles on multiplication, rooting of shoots and biochemical analyses of date palm Hayani cv. by *in vitro*. *Bioc. Agr. Biotech.*, **43**, 102400. DOI: 10.1016/j.bcab.2022.102400
- Farooqui, M.; Hassali, M.A.; Shatar, A.K.A.; Farooqui, M.A.; Saleem, F.; ul Haq, N.; Othman, C.N. (2016). Use of complementary and alternative medicines among Malaysian cancer patients: A descriptive study. *J. Trad. Compl. Med.*, **6**(4), 321-326. DOI: 10.1016/j.jtcme.2014.12.008
- Gomes, H.I.O.; Martins, C.S.M.; Prior, J.A.V. (2021). Silver nanoparticles as carriers of anticancer drugs for efficient target treatment of cancer cells. *Nanomat.*, **11**(964), 2-31. DOI: 10.3390/nano11040964
- Habeeb, A.A.M.; Atta, M.A.A.; Elhanafy, A.I.A., Sharaf, A.K. (2023). The biological role of clove oil in the diet of mature male rabbits on the physiological body functions, oxidative stress and physical semen properties. *J. Indonesian Trop. Animal Agr.*, **48**(4). DOI: 10. 14710 /jिता.48.4.282-296
- Hariyadi, M.A.; Yaha, S.; Wachjar, A. (2020). Morphological characters and essential oil constituents extracted of two clove varieties (*Syzygium aromaticum* L.) Merr. and LM perry. *J. Ambon Island*, Indonesia. *Plant Archives*, **20**(1), 2208-2214.
- Heera, P.; Shanmugam, S. (2015). Nanoparticle characterization and application: An overview. *Inter. J. Curr. Microb. App. Sci.*, **4**(8), 379-386.
- Hussain, S.; Rahman, R.; Mushtaq, A.; Zerey-Belaskri, A.E. (2017). Clove: A review of a precious species with multiple uses. *Inter. J. Chem. Bioch. Sci.*, **11**, 129-133.
- Kanwar, J.K.; Kumar, S. (2009). Influence of growth regulators and explants on shoot regeneration in carnation. *Hort. Sci.*, **36**(4), 140-146. DOI: 10.17221/1/2009-HORTSCI
- Mahulette, A.S.; Hariyadi, H.; Yahya, S.; Wachjar, A.; Alfian, A. (2019). Morphological traits of Maluku native forest clove (*Syzygium aromaticum* L. Merr & Perry). *Inter. Sys. Agr. Sci. Tech.*, **6**(2), 105-111. DOI: 0.29244/jtcs.6. 02.105-111.
- Marslin, G.; Siram, K.; Maqbool. Q.; Sevakesavan, R.K.; Kruszka, D.; Kachlicki, P.; Franklin, G. (2018). Secondary metabolites in the green synthesis of metallic nanoparticles. *Mat.*, **11**(6), 940. DOI: 10.3390/ma11060940
- Matatula, A.J.; Wattimena, A.Y. (2022). Type and morphological character of local clove (*Syzygium aromaticum*) from Maluku, Indonesia. *Biodiv. J. Bio. Div.*, **23**(3), 1301-1309. DOI: 10.13057/biodiv/d230314
- Mostafa, A.A.F.; Yassin, M.T.; Al-Askar, A.A.; Al-Otibi, F.O. (2023). Phytochemical analysis, antiproliferative and antifungal activities of different *Syzygium aromaticum* solvent extracts. *J. King Saud Uni.-Sci.*, **35**(1), 102362. DOI: 10.1016/j.jksus.2022.102362

- Murashige, T.; Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant*, **15**(3), 473-479. DOI: 10.4236/health.2010.23025
- Nair, R.; Varghese, S.H.; Nair, B.G.; Maekawa, T.; Yoshida, Y.; Kumar, D.S. (2010). Nanoparticulate material delivery to plants. *Plant Sci.*, **179**(3), 154-163. DOI: 10.1016/j.plantsci.2010.04.012
- Pareek, A.; Kantia, A.; Kothari, S.L. (2004). *In vitro* cloning of ornamental species of Dianthus. *Indian J. Biotech.*, **3**(2), 263-266. DOI:10.20546/ijcmas.2019.804.019
- Phanjom, P.; Ahmed, G. (2017). Effect of different physicochemical conditions on the synthesis of silver nanoparticles using fungal cell filtrate of *Aspergillus oryzae* (MTCC No. 1846) and their antibacterial effect. *Adv. Natural Sci.: Nanosci. Nanotech.*, **8**(4), 045016. DOI: 10.1088/2043-6254/aa92bc
- Rani, R.; Jena, M.K. (2021). Clove (*Syzygium aromaticum*): Beneficial effects on human health: A review. *PlantArc.*, **21**(1), 1967-1972. DOI: 10.51470/PLANTARCHIVES.2021.v21.S1.320
- Rasae, I.; Ghannadnia, M.; Baghshahi, S. (2018). Biosynthesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Satureja hortensis* treated with NaCl and its antibacterial properties. *Microp. Mesop. Materials*, **264**, 240-247. DOI: 10.1016/j.micromeso.2018.01.032
- Ribeiro, J.J.K.; da Silva Porto, P.S.; Pereira, R.D.; Muniz, E.P. (2020). Green synthesis of nanomaterials: Most cited papers and research trends. *Research, Society and Development*, **9**(1), e54911593-e54911593. DOI: 10.33448/rsd-v9i1.1593
- Saliem, A.H.; Ibrahim, O.M.; Salih, S.I. (2016). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Cinnamom zeylanicum* plants bark extract. *Kufa J. Vet. Med. Sci.*, **7**(1), 51-63.
- Schletz, D.; Schultz, J.; Potapov, P.L.; Steiner, A.M.; Krehl, J.; König, T.A.; Fery, A. (2021). Exploiting combinatorics to investigate plasmonic properties in heterogeneous Ag-Au nanosphere chain assemblies. *Adv. Opt. Mat.*, **9**(9), 2001983. DOI: 10.1002/adom.202001983
- Siddiqi, K.S.; Husen, A.; Rao, R.A. (2018). A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties, *J. Nanobio.*, **16**, 1-28. DOI: 10.1186/s12951-018-0334-5.
- Singh, N.; Negi, A.S. Pant, M. (2020). Tissue culture interventions in sobean production: Significance, challenges and future prospects. *Eco., Envir. Cons. J.*, 26:96-102.
- Singh, R.P; Handa, R.; Manchanda, G. (2021). Nanoparticles in sustainable agriculture: An emerging opportunity. *J. Cont. Rel.*, **32**,1234-1248. DOI: 10.1016/j.jconrel.2020.10.051
- Sotoodehnia-Korani, S.; Iranbakhsh, A.; Ebadi, M.; Majd, A.; Ardebili, Z.O. (2020). Selenium nanoparticles induced variations in growth, morphology, anatomy, biochemistry, gene expression, and epigenetic DNA methylation in *Capsicum annum*; an *in vitro* study. *Envir. Poll.*, **265**, 114727. DOI: 10.1016/j.envpol.2020.114727
- Thakur, K.; Kanwar, K. (2018). *In vitro* plant regeneration by organogenesis from leaf callus of carnation, *Dianthus caryophyllus* L. Proceedings of the National Academy of Sciences, *India Sec. Bio. Sci.*, **88**, 1147-1155. DOI: 10.1007/s40011-017-0851-2
- Venkatachalam, P.; Jayaraj, M.; Manikandan, R.; Geetha, N.; Rene, E.R.; Sharma, N.C.; Sahi, S.V. (2017). Zinc oxide nanoparticles (ZnONPs) alleviate heavy metal-induced toxicity in *Leucaena leucocephala* seedlings: A physiochemical analysis. *Plant Physio. Bioch.*, **110**, 59-69. DOI: 10.1016/j.plaphy.2016.08.022
- Yaha, R.T. (2022). The efficiency of nanoparticles oxides in the promoting the formation of secondary metabolites compounds in plants. *Raf. J. Sci.*, **31**(1), 43-52. DOI: 10.33899/rjs.2022.172939
- Yaha, T.R.; Mahdi, G.A. (2022). Efficiency of zinc oxide nanoparticles in stimulating germination and seedling growth of soybean plant glycine max l. and protein content. *Raf. J. Sci.*, **31**(3), 10-17. DOI: 10.33899/rjs.2022.175399

- Yaha, T.R.; Mohammed, A.A. (2018). Regeneration of White Lupin, *Lupinus albus*, plants form hypocotyl stems callus of its seedlings. *Raf. J. Sci.*, **27**(5), 95–102.
- Zheng, L.; Hong, F.; Lu, S.; Liu, C. (2005). Effect of nano-TiO₂ on strength of naturally aged seeds and growth of spinach. *Biology. Trace Element Res.*, **104**(1), 83-91. DOI: 10.1385 /BTER :104:1:083
-

Efficiency of Biosynthesized Silver Nanoparticles in the Growth of Seedlings and Callus of the *Eugenia caryophyllus* L. Plant

Sahar M. Mansur

Biology Department/ College of Science/ University of Mosul/ Mosul/ Iraq

Rana T. Yahya

Biomedical Department/ College of Science/ University of Mosul/ Mosul/ Iraq

ABSTRACT

The current study succeeded in biosynthesis of silver nanoparticles from tomato fruits extract, based on the reduction reaction resulting from mixing of silver nitrate solution at a concentration of 2 mM and with the aqueous extract, is the occurrence of a color change an indication of the occurrence of reduction and the transformation of elemental silver into silver nanoparticles. The study investigated the positive effect of these nanoparticles on seed germination and the production of seedlings, so the results of culturing them on Murashige and Skoog medium supported with different concentrations of silver nanoparticles (25, 50, 100, 200) mg/ml increase in germination rate compared to MSO medium without of them, with the exceeding of 100 mg/ml concentration of those nanoparticles, in stimulated the germination rate of 95% within 4 days compared to MSO medium alone which stimulated a germination rate of 75% for a period of 7 days. This study was able to initiate clove callus from cutting stems of seedlings grown on MS medium containing 1.0 mg/l Benzyl adenine BA and 0.5 mg/l Dichlorophenoxyacetic acid 2,4-D acid in added with the concentrations used, as the results showed that the highest rate of callus initiation was on the standard MS medium supplemented with a concentration of 200 mg/ml and reached with a fresh weight rate of 9.6 g compared to 5.92 g for callus grown on solid standard MS medium alone after 30 days of growth.

Keywords: Silver nanoparticles, biosynthesis, callus, clove plant (*Eugenia caryophyllus*).