# تقدير المحتوى البروتيني في بذور نبات الكتان
# *Linum Usitatissimum*
# والنباتات الناتجة من الزراعة النسيجية

زينة يحيى قاسم
المعهد التقني / الموصل / قسم التمريض

**الخلاصة**

استحدث الكالس من الأجزاء المختلفة لنبات الكتان في أوساط MS الحاوية على تراكيز متباينة من منظمات النمو، وكان أفضل استحداث للكالس في الأوراق الفلقية والسيقان تحت الفلقية على التوالي وكان وسط MS المدعم بـ (1.0) ملغم/لتر لكل من NAA, BA ووسط MS الحاوي على (1.0, 2.0) ملغم/لتر (2,4-D, Kin) على التوالي أفضلها. أظهرت نتائج تقدير كمية البروتين في البذور، الأجزاء النباتية والكالس أن نسبة البروتين في البذور كانت (0.30) ملغم/غم أما بالنسبة للأجزاء النباتية فقد كانت أعلى نسبة بروتين في الأوراق إذ بلغت (0.50) ملغم/غم تلتها السيقان تحت الفلقية (0.45) ملغم/غم في حين كانت أقل نسبة في الجذور (0.10) ملغم/غم كما لوحظ أن أعلى نسبة بروتين كانت في كالس الأوراق أيضاً حيث بلغت (0.35) ملغم/غم تلاها كالس السيقان تحت الفلقية (0.30) ملغم/غم وكانت أقل نسبة في كالس الجذور أيضاً (0.10) ملغم/غم.

**المقدمة**

ينتمي نبات الكتان ***Linum Usitatissimum*** إلى العائلة الكتانية Linaceae ويعد من النباتات الاقتصادية والغذائية المهمة لاحتواء بذوره على نسبة عالية من الزيت والبروتين، إذ تحوي بذوره الناضجة على (35-45%) زيت أما كسبة البذور فهي غنية بالبروتين بعد استخلاص الزيت منها أذ تبلغ نسبة البروتين فيها (35%) (طيفور ورشيد، 1990). تتحدد القيمة البايولوجية للبروتين بمقدار ما يقدمه من أحماض أمينية أساسية بكميات كافيةٍ للاستعمال البشري (المظفر، 2000)، إذ أن القيمة الغذائية والنوعية للبروتينات التركيبية تختلف حسب تركيب الأحماض الأمينية الموجودة فيها والتي تعد الوحدة الأساسية لبنائه ونسبة الأحماض الأمينية الضرورية فضلاً عن مصدر البروتينات مثل البذور، اللحوم، الفطر. ويحتل البروتين

أهمية عالية في الوقت الحاضر لدوره الأساسي في عمليات البناء الحيوية في الجسم (دلالي والحكيم، 1987) إذ يستفاد من البروتينات في بذور نبات الكتان بوصفها غذاء للحيوانات. تهدف الدراسة إلى تقدير كمية البروتين في نبات الكتان في كل البذور والأجزاء النباتية والكالس.

## مواد وطرائق العمل

### إنتاج بادرات الكتان من الزراعة النسيجية:

عقمت بذور الكتان التي تم الحصول عليها من السوق المحلي بغمرها في محلول هايبوكلورات الصوديوم (6%) لمدة (10) دقائق بعدها غسلت بالماء المعقم ثلاثة مرات (3 دقائق/مرة). زرعت البذور في أنابيب اختبار (70 مل) حاوية على (20 مل) وسط MS الصلب الخالي من منظمات النمو النباتية (2) بذرة/أنبوبة، حفظت العينات في غرفة النمو عند درجة حرارة (25±2) لمدة أربعة أيام في ظروف الظلام أعقبها ظروف الإضاءة (16 ساعة ضوء / 8 ساعات ظلام) وشدة إضاءة (2000) لوكس.

### استحداث الكالس وأدامته:

اعتمدت البادرات المعقمة مصدراً للأجزاء النباتية (الأوراق، السيقان، الأوراق الفلقية، السيقان تحت الفلقية، الجذور) بطول (1) سم للسيقان والسيقان تحت الفلقية والجذور و (0.5) سم2 لكل من الأوراق والأوراق الفلقية. زرعت هذه الأجزاء في دوارق زجاجية حجم (150-125) مل والحاوية على (30) مل/دورق وسط MS المدعم بـ BA تركيز (0.0، 1.0، 2.0، 3.0) ملغم/لتر و NAA تركيز (0.0، 0.5، 1.0، 1.5) ملغم/لتر و Kin بتركيز (0.0، 1.0، 2.0، 3.0) ملغم/لتر متداخلة مع (2,4-D) تركيز (0.0، 0.5، 1.0) ملغم/لتر حفظت العينات في ظروف غرفة النمو والتعاقب الضوئي وأعيدت زراعة الكالس كل (30) يوماً. (الحسو، 2004).

## تقدير كميات البروتين

قدرت كميات البروتين في كل من (البذور، الأجزاء النباتية، الكالس) حسب طريقة (Lowry وآخرون، 1951) والمحوره من قبل (Schacterle and Pollack, 1973) تتضمن هذه الطريقة تفاعل البروتين مع كاشف فولن ليعطي معقد أزرق اللون نتيجة لتفاعل التربتوفان والثايروسين مع حامض فوسفومولبيدوتنكستيك وقرأت الامتصاصية بجهاز

Spectrophotometer عند طول موجي (650) نانوميتر وتناسب شدة الأمتصاص مع تركيز اللون وتم استعمال البومين مصل البقر (BSA) كمحلول قياسي.

**تحضير الكواشف**

حضرت ثلاثة محاليل استخدمت في البحث وكالآتي:

**كاشف النحاس القاعدي:**

حضر هذا الكاشف بإذابة (2) مل من هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) و (10) غم من كاربونات الصوديوم ($Na_2Co_3$) و (0.1) غم من تارتارات الصوديوم والبوتاسيوم و (0.05) غم من كبريتات النحاس المائية ($CuSO_4.7H_2O$) في كميات قليلة من الماء المقطر مزجت هذه المحاليل سوية ووضعت في قنينة حجميه سعة (100) مل وكمل الحجم بالماء المقطر إلى (100) مل.

**كاشف فولن (Folin reagent):**

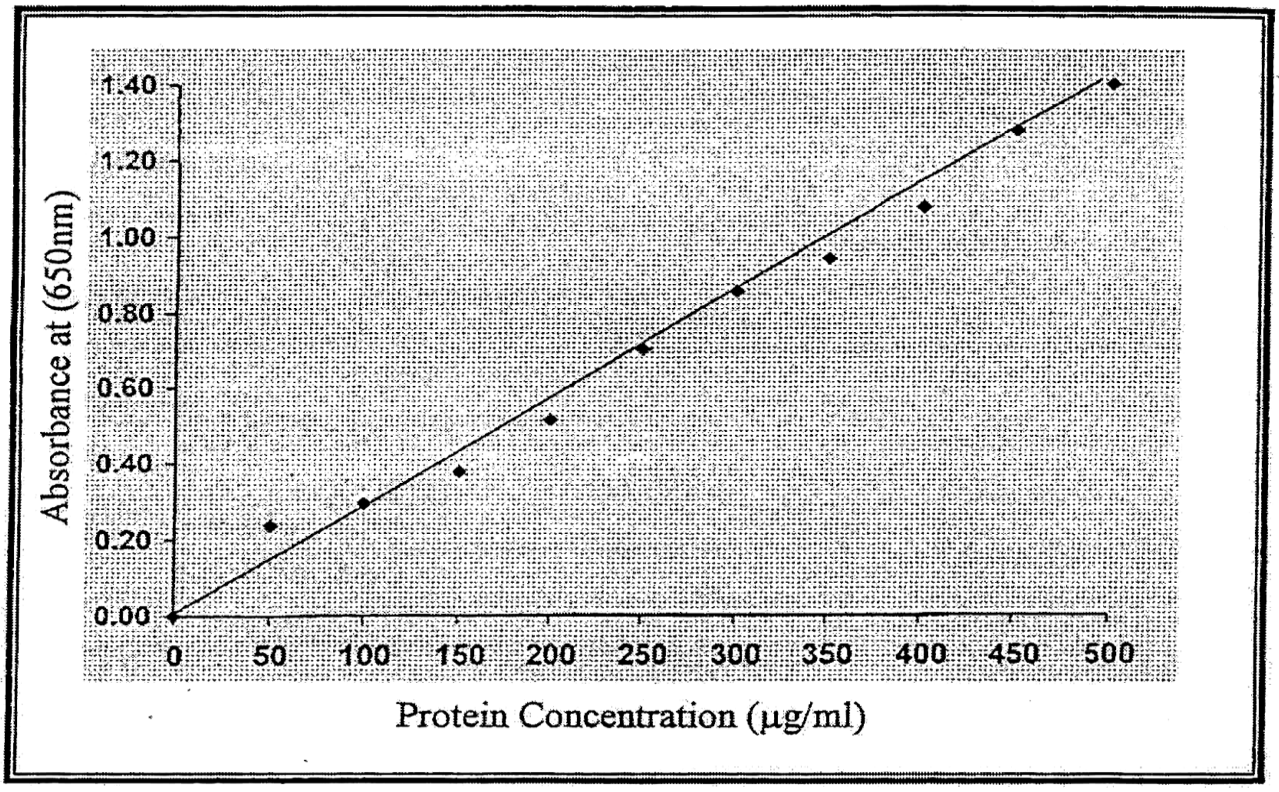
خفف كاشف فولن (2N) إلى (1N) بإضافة حجوم متساوية من الكاشف والماء المقطر، أضيف بعد ذلك لكل (0.5) مل من الكاشف (4) مل ماء مقطر ليصبح الكاشف جاهز للاستعمال.

**تحضير المحلول القياسي للبروتين:**

حضر هذا المحلول بإذابة (100 ملغم BSA / 100 مل ماء مقطر)، قرأت كثافة المحلول بواسطة جهاز المطياف الضوئي نوع Sertescectil1021 1000 عند طول موجي (280) نانوميتر ويجب أن تكون القراءة (0.67) فإذا كانت أقل من ذلك يضاف BSA إلى المحلول إلى أن تصل القراءة (0.67) وإذا تجاوزت ذلك تعدل القراءة بإضافة الماء المقطر. ولتحضير المنحنى القياسي للبروتين أخذت تراكيز مختلفة من المحلول القياسي للبروتين تراوحت بين (0.0-400) مايكروغرام/مل. تم أخذ (1) مل من النموذج (0.1 مل من العينة + 0.9 مل ماء مقطر) أضيف أليه (1) مل من كاشف النحاس القاعدي ومزج جيداً، تركت الأنابيب لمدة (10) دقائق في درجة حرارة الغرفة، وأضيف أليه (4) مل كاشف فولن رجت الأنابيب جيداً ثم وضعت في حمام مائي عند درجة حرارة (55م°) لمدة (5) دقائق بعد ذلك تركت الأنابيب لكي تبرد في درجة حرارة الغرفة بعدها قرأت الامتصاصية عند طول موجي (650) نانوميتر، رسم المنحنى القياسي للبروتين المستخدم لاحقاً في تعيين بروتين العينات إذ تم اسقاط الامتصاصية لكل عينة على المنحنى القياسي

للبروتين في الشكل المبين، طبق القانون الآتي لتحويل كمية البروتين من المايكروغرم إلى ملغم/مل= **خطأ!**

[ شكل (1) المنحني القياسي النموذجي للبروتين]




**كميات البروتين في أجزاء نباتات الكتان:**

**الجدول (1) كميات البروتين في أجزاء نباتات الكتان *L. usitatissimum* الناتجة من البذور بعمر (30) يوماً**

| الأجزاء النباتية | كمية البروتين (ملغم/غم)* |
|---|---|
| الأوراق | 0.50 |
| السيقان | 0.30 |
| الأوراق الفلقية | 0.35 |
| السيقان تحت الفلقية | 0.45 |
| الجذور | 0.10 |

* بمعدل (3) مكررات/جزء نباتي

**تبين من خلال نتائج** الجدول (1) تفوق الأوراق (Leaf) على بقية الأجزاء النباتية بمحتواها من البروتين إذ بلغت نسبته (0.50) ملغم/غم تلتها قطع السيقان تحت الفلقية (0.45) ملغم/غم وكنت أقل نسبه بروتين في قطع الجذور (0.10) ملغم/غم وقد يعزى السبب في ذلك إلى نوعية الجزء النباتي وقدرة خلاياه على تحمل مختلف الظروف (Omar, 1988) وقد أشارت دراسات على نباتات مختلفة إلى مثل هذه العوامل مثل دراسة (البياتي، 2002) على نبات فول الصويا (*Glycine max L.*).

**كميات البروتين في كالس الأجزاء النباتية الناتجة من البذور:-**

**الجدول (2) كميات البروتين في كالس الأجزاء النباتية الناتجة من بذور نبات الكتان *L. usitatissimum* بعمر (45) يوماً**

| المصدر | كمية البروتين (ملغم/غم)* |
|---|---|
| الأوراق | 0.35 |
| السيقان | 0.20 |
| الأوراق الفلقية | 0.13 |
| السيقان تحت الفلقية | 0.30 |
| الجذور | 0.10 |

* بمعدل (3) مكررات/جزء نباتي

أظهرت نتائج الجدول (2) زيادة كمية البروتين في كالس الأوراق إذ بلغت نسبته (0.35) ملغم/غم تلاها كالس السيقان تحت الفلقية (0.30) ملغم/غم بينما كانت أقل نسبة بروتين في كالس الجذور (0.10) ملغم/غم وقد يرجع السبب إلى زيادة نشاط الأنزيمات أو فعالية الأنزيمات في كالس جزء نباتي معين مقارنة بالجزء النباتي الأخر وبالتالي زيادة في عملية تكوين البروتين (Bajaj, 1970). وقد لوحظ هذا في نتائج مقاربة في دراسة إجريت على نبات زهرة الشمس ***Helianthus annuus L.*** (العقيدي، 2004).

## المصادر

1- البياتي، فراس عباس يونس (2002). أحداث التغايرات الوراثية في بذور النباتات وكالس فول الصويا (***Glycine max L.***) (صنف أباء) باستخدام أشعة كاما وتأثيراتها على المحتوى البروتيني ونسبة الزيت. رسالة ماجستير. كلية التربية. جامعة الموصل.

2- الحسو، زينة يحيى قاسم (2004). تأثيرات أشعة كاما في محتوى الزيت والأحماض الدهنية في الكالس والنباتات الناتجة في نباتات الكتان (***Linum usitatissimum***). رسالة ماجستير. كلية التربية. جامعة الموصل.

3- العقيدي، تغريد نواف احمد (2004). تأثير أشعة كاما في أحداث التغايرات في محتوى البروتين والزيت والأحماض الدهنية في كالس نبات زهرة الشمس ***Helianthus annuus L.*** وتمايزه. رسالة ماجستير. كلية التربية. جامعة الموصل.

4- المظفر، سامي عبد المهدي (2000). كيمياء البروتينات. دار المسيرة للنشر والتوزيع. عمان. الأردن.

5- دلالي، باسل كامل والحكيم، صادق حسين (1987). تحليل الأغذية. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل.

6- طيفور، حسين عوني ورشيد، زكار حمدي (1990). المحاصيل الزيتية. مديرية دار الكتب للطباعة والنشر. شارع ابن الأثير. الموصل.

7- Bajaj, Y.P.S. (1970) Effect of gamma irradiation on growth RNA, Protein and Nitrogen content of bean callus culture. Ann Bot. 34: 1089-1096.

8- Lowry, O.H.; Roise brough, N.J.; Farr, A.L. and Randad, R.J. (1951). Protein measurment with folin. Phenol reagent. J. BIOL. Chem.. 193: 265-257.

9- Omar, M.S. (1988), Effect of gamma ray on callus culture and sexual embryo genesis in (***Phoenix decty lifera L.***). Date Plam. J. 6(1): 258-264.

10- Schacterle, G.R. and Pollack, R.L. (1973). Asimpified Method for quantitative assay of small amount of Protein in biological material. Anal. Biochem. 51: 654-655.

# Abstract

Callus induction from different explant in ***Linum usitatissimum*** in MS medium Provided by variable concentration of growth regulators, cotyledons and hypocotyls have show high response to form callus in MS that contains (BA, NAA) with (1.0) mg/liter concentration for each one. It was same for MS that contains (Kin, 2,4-D) with (2.0) and (1.0) mg/liter respectively. The result of Protein estimate in seeds, explants and callus showed that the rate of Protein in seeds about (0.30) mg/g, and in explant the high rate of Protein in Leaf about (0.50) mg/g, followed by hypocotyls about (0.45) mg/g while in Root was about (0.10) mg/g. In callus the high Protein rate in Leaf callus about (0.35) mg/g then in hypocotyls about (0.30) mg/g and the minimum rate showed in root callus about (0.10) mg/g.