POTENTIATION OF SOME VITAMINS IN ALLEVIATING OXIDATIVE STRESS HAZARDS

THESIS

Submitted for Partial Fulfillment of Master Degree of Science in Botany (Physiology)

By

Nesma Maher Hassan Helal

B. Sc. In Science (Botany)

(2005)

Ain Shams University
Faculty of Science
Botany Department

(2009)

POTENTIATION OF SOME VITAMINS IN ALLEVIATING OXIDATIVE STRESS HAZARDS

THESIS

Submitted for Partial Fulfillment of Master Degree of Science in Botany (Physiology)

By

Nesma Maher Hassan Helal

B. Sc. In Science (Botany)
(2005)

Supervisors

Dr. Manal Mohamed Emam
Assist. Prof. of Plant Physiology
Faculty of Science
Ain Shams University

Prof. Dr. Amna Hafez El-Sweify
Prof. of Agronomy
Field Crops Research Institute
Agriculture Research Center

Ain Shams University
Faculty of Science
Botany Department
(2009)

Approval Sheet

Title of Thesis:

Potentiation of Some Vitamins in Alleviating Stress Hazards

Name of Student: **Nesma Maher Hassan Helal**

Degree: **Master of Science in Botany (Physiology)**

This Thesis has been approved by:

Dr. Sohair Khalil Ibrahim
Professor of Plant Physiology
National Research Center

Dr. El-Sayed Abd El-Sattar El-Meleigy
Professor of Plant Physiology
Faculty of Science
Suez Canal University

Dr. Manal Mohamed Emam
Associate Professor of Plant Physiology
Botany Department, Faculty of Science
Ain Shams University

Prof. Dr. Amira Ahmed Hassanein
Head Department of Botany
Faculty of Science
Ain Shams University

ACKNOWLEDGMENT

Firstly and Finally Thanks to Allah for helping me to finish this work.

I would like to express my sincere gratitude to ***Dr. Manal Mohamed Emam****, Associate Professor of plant physiology, Botany Department, Faculty of Science, Ain Shams University,* ***Prof. Dr. Amna Hafez El-Sweify,*** *Field Crops Research Institute, Agriculture Research Center, Giza, Cairo for suggesting the point of this study and for their continuous support, kind supervision, fruitful discussions throughout this work.*

I am especially grateful to ***Prof. Dr. Amira A. Hassanein****, Head of Botany Department, Faculty of Science, Ain Shams University, for her encouragement and valuable help.*

My thanks are also to all staff members in Botany Department, Faculty of Science, Ain Shams University, with special appreciation to ***Prof. Dr. Somia S. El-Akkad*** and ***Prof. Dr. Hemmat I. Khattab*** *for their help and support throughout my work.*

I am also greatly indebted to my family that has been wishing me the best success.

فاعليه بعض الفيتامينات فى تقليل مخاطر الإجهاد التأكسدى

رسالة مقدمة
للحصول على درجة الماجستير فى علم النبات (فسيولوجى)

من

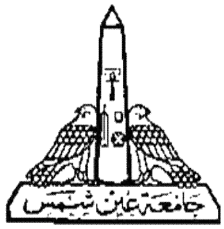
نسمه ماهر حسن هلال
بكالوريوس علوم (نبات)- جامعة عين شمس
(2005)

المشرفون **التوقيع**

د. منال محمد امام .....
استاذ فسيولوجيا النبات المساعد
كليه العلوم
جامعة عين شمس

أ.د. أمنه حافظ السويفى .....
أستاذ المحاصيل
معهد بحوث المحاصيل الحقليه
مركز البحوث الزراعيه

أ.د. أميرة أحمد حسنين
.....
رئيس قسم النبات
كليه العلوم – جامعه عين شمس



فاعليه بعض الفيتامينات فى تقليل مخاطر الإجهاد التأكسدى

رسالة مقدمة
للحصول على درجة الماجستير فى علم النبات
(فسيولوجى)

من

نسمه ماهر حسن هلال

بكالوريوس علوم (نبات)- جامعة عين شمس
(2005)

جامعة عين شمس
كلية العلوم
قسم النبات
(2009)

فاعليه بعض الفيتامينات فى تقليل مخاطر الإجهاد التأكسدى

رسالة مقدمة

للحصول على درجة الماجستير فى علم النبات (فسيولوجى)

من

نسمه ماهر حسن هلال

بكالوريوس علوم (نبات)- جامعة عين شمس

(2005)

المشرفون

د. منال محمد امام

استاذ فسيولوجيا النبات المساعد

كليه العلوم

جامعة عين شمس

أ.د.أمنه حافظ السويفى

أستاذ المحاصيل

معهد بحوث المحاصيل الحقليه

مركز البحوث الزراعيه

جامعة عين شمس

كلية العلوم

قسم النبات

(2009)

رسالة ماجستير

اسم الطالبه: نسمه ماهر حسن هلال
عنوان الرسالة: فاعليه بعض الفيتامينات فى تقليل مخاطر الاجهاد التأكسدى
اسم الدرجه العلمية: ماجستير فى العلوم (علم النبات)

لجنة التحكيم

أ.د. سهير خليل ابراهيم أستاذ فسيولوجيا النبات الغير متفرع
المركز القومى للبحوث

أ.د. السيد عبد الستار المليجى أستاذ فسيولوجيا النبات
كلية العلوم - جامعة قناة السويس

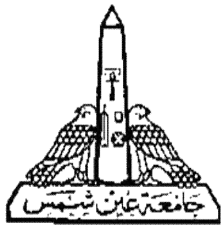
د. منال محمد امام أستاذ فسيولوجيا النبات المساعد
كلية العلوم - جامعة عين شمس

تاريخ البحث: / /

الدراسات العليا

ختم الاجازة: / / أجيزت الرسالة بتاريخ: / /

موافقة مجلس الكلية: / / موافقه مجلس الجامعة: / /



اسم الطالبه: نسمه ماهر حسن هلال

الدرجة العلمية: درجة الماجستير فى علم النبات

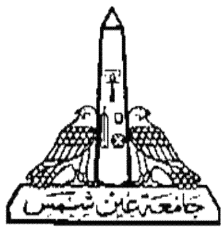
القسم التابع له: قسم النبات

اسم الكلية: كلية العلوم

الجامعة: جامعة عين شمس

سنة التخرج: 2005

سنة المنح: 2009



شكر وتقدير

اتقدم بخالص الشكر و التقدير للسادة الاساتذة المشرفين على الرسالة و هم

د. منال محمد امام
أستاذ فسيولوجيا النبات المساعد
كليه العلوم
جامعة عين شمس

أ.د. أمنه حافظ السويفى
أستاذ المحاصيل
معهد بحوث المحاصيل الحقليه
مركز البحوث الزراعيه

كما اتوجه بالشكر للاستاذة الدكتورة / أميرة أحمد حسنين رئيس مجلس قسم النبات- كلية العلوم- جامعة عين شمس و السادة الاساتذة والسادة الزملاء بقسم النبات كلية العلوم جامعة عين شمس.

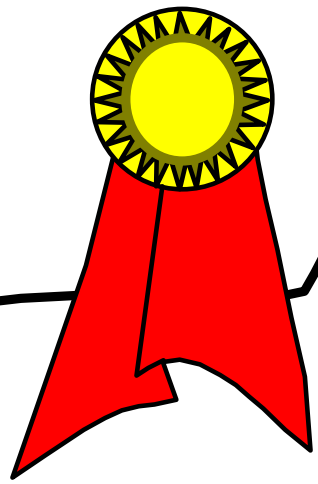
كما اتقدم بخالص الشكر لكل من الهيئات التاليه:

1- قسم النبات- كلية العلوم- جامعة عين شمس.
2- قسم محاصيل الالياف- مركز البحوث الزراعيه.
3- المعمل المركزى- كليه العلوم- جامعه عين شمس.
4- وزارة الزراعة و استصلاح الأراضى- مركز البحوث الزراعيه- معهد بحوث تكنولوجيا الأغذيه.

This thesis has not been previously submitted for any degree at this or any other university.

The references in the text will show specifically the extent to which I have availed myself of the work of other authors.

Nesma Maher Hassan Helal



CONTENTS

Contents	Page
LIST of ABBREVIATION.....	**I**
LIST of TABLES…….	**IV**
LIST of FIGURES……..	**VIII**
LIST of PLATES…….	**XVII**
GENERAL INTRODUCTION……..	**1**
MATERIALS AND METHODS….	**6**
Materials…….	**6**
Methods……..	**6**
Extraction and Estimation of Photosynthetic Pigments.....	**7**
Extraction and Estimation of Carbohydrates..	**8**
Extraction.....	**8**
Estimation of total soluble sugar……	**8**
Estimation of polysaccharides……..	**9**
Estimation of total carbohydrates…….	**9**
Estimation of Nitrogenous Constituents……	**9**
Extraction……..	**9**
Estimation of water-soluble protein……	**10**
Estimation of water-insoluble protein…….	**11**
Estimation of total proteins……..	**11**

Extraction and estimation of amino acids…….. **11**

Extraction and estimation of proline…….. **13**

Extraction and Estimation of Protein Using Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)…….. 15

Extraction…… **16**

Gel preparation…… **16**

Sample loading…… **18**

Electrophoresis…… **19**

Staining and destaining …… **19**

Extraction and Determination of Certain Elements..... 20

Extraction……... **20**

Determination of sodium, potassium and calcium……..… **20**

Determination of phosphorus…….. **20**

Determination of magnesium……... **21**

Determination of chloride……..... **21**

Quantitative Estimation of Nucleic Acids…… 23

Estimation of ribonucleic acid (RNA)……. **24**

Estimation of deoxyribonucleic acid (DNA)... **24**

Extraction and Estimation of Lipid Peroxidation Product……. 25

Determination of Membrane Stability Index (MSI)……... 25

Extraction and Estimation of Reduced Glutathione…… 26

Extraction and Estimation of Ascorbic Acid…….. 26

Extraction and Estimation of Total Phenols…. 27

Extraction and Assaying Activity of Certain Antioxidant Enzymes…….. 28

Extraction……. **28**

Assay of superoxide dismutase activity (SOD).. **28**

Assay of ascorbate oxidase activity (ASO)…… **29**

Assay of ascorbate peroxidase activity (APX)... **29**

Assay of peroxidase activity (POX)..... **30**

Assay of polyphenol oxidase activity (PPO)….. **30**

Assay of catalase activity (CAT)……..... **30**

Assay of glutathione reductase activity (GR)..... **31**

Analysis of Yield Components…… 31

Chemical composition of fibers……. 33

Determination of cellulose content……... **33**

Determination of pectin content……... **34**

Determination of lignin content……..... **34**

Extraction and Determination of Oil Content.. 35

Extraction and Determination of Fatty Acids.. 35

***PART I*:**

Vitamins Minimize the Salt-Induced Oxidative Stress Hazards of Flax

ABSTRACT…… 38

INTRODUCTION..... 39

TIME COURSE EXPERIMENT……. 56

EXPERIMENTAL RESULTS……. 57

Changes in percentage of germination……. **57**

Changes in some growth parameters……. **64**

Changes in carbohydrate contents…… **70**

Changes in nitrogenous constituents……..... **73**

Changes in protein banding pattern…… **79**

Changes in mineral composition…….. **83**

Changes in nucleic acids content……. **93**

Changes in lipid peroxidation product (MDA)……. **96**

Changes in membrane stability index (MSI)…… **97**

Changes in antioxidant compounds…… **100**

Changes in antioxidant enzyme activities……. **104**

DISCUSSION…… 112

SUMMARY..... 145