جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى
كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

تأثير أوكسيد الحديد النانوي في نمو وإكثار نبات البروكلي *Brassica oleracea L.var Italica* والكشف عن مركب السلفورافان في مزارع المعلقات الخلوية خارج الجسم الحي

اطروحة مقدمة إلى
مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى، وهي جزء من
متطلبات نيل درجة الدكتوراه فلسفة في علوم الحياة
من قبل

الحان محمد علوان

بكالوريوس علوم حياة 1999- 2000 جامعة بغداد
ماجستير علوم حياة 2012-2013 جامعة ديالى

بإشراف
الأستاذ الدكتور
مثنى محمد إبراهيم

1443 هـ **2022 م**

1-1: المقدمة

تضُم العائلة الصليبية Brassicaceae العديد من الخُضر المهمة وأحدها البروكُلي Broccoli وأسمهُ العلمي *Brassica oleraceae* var. Italica يُزرع البروكلي لأجل نوراتهِ الزهرية التي تؤكل وهي في طور البراعم الزهرية مع حواملها السميكة الغضة (حسن ، 2004). وغالباً ما تؤكل الأقراص الزهرية مطبوخة أو مسلوقة وفي بعض الاحيان تؤكل بحالتها الطبيعية أو قد تدخل في عمل المُخللات. البروكلي نبات عشبي حولي موطنه الأصلي منطقة حوض البحر الابيض المتوسط (السيد ، 2009) . حيث نما هناك أول مرة خلال حقبة حكم الرومان في إيطاليا ، كما زُرع للمرة الاولى في انكلترا في العام 1720م ، ومن ثم انتقلت زراعتهُ الى الولايات المتحدة الأمريكية في العام 1806م ، أما من حيث انتاجهُ التجاري فقد شَهَدَ العام 1923م أول زراعة للبروكلي لغرض التسويق التجاري في الولِايات المتحدة الأمريكية (Ouda و Mahadeen ، 2008).

يتميز نبات البروكلي بالقيمة الغذائية العالية إذ يحتوي على العديد من العناصر الغذائية والفيتامينات والبروتينات والدهون والكربوهيدرات (Hanson، 2000)، اذ يحتوى كل 100غم من الجزء الذي يؤكل 89.1 غم رطوبة ، 3.6 غم بروتين و 0.3 غم دهون و 5.9غم وكربوهيدرات و 1.5غم ألياف و 103ملغم كالسيوم و 78ملغم فوسفور و 1.1 ملغم حديد و 15ملغم صوديوم و38 ملغم بوتاسيوم و 2500 وحدة دولية من فيتامين A و 0.1 غم ثيامين و0.23غم ريبوفلافين و 0.9 غم نياسين و 113ملغم حامض الاسكوربك (أسماعيل ، 2004) ، فضلا عن محتواه المرتفع من مركبات الايض الثانوي من الكلوكوسيدات ذات الخصائص المضادة للإصابات السرطانية اذ يقلل تناول أقراص

البروكلي اكثر من مرة في الاسبوع من خطر الإصابة بمرض سرطان البروستات بنسبة 45% Gad (وAbd- moez ، 2011، Hanson ، 2000).

أزداد الطلب في الآونة الأخيرة على استهلاك البروكلي لأهميته الغذائية والطبية فضلا عن طعمه المحبب لدى المستهلك وشهدت الأسواق العالمية اتساعاً أمام هذه النوع من الخضار. وعلى الرغم من الزيادة الملحوظة في المساحة المزروعة وإنتاجية البروكلي في العقود الأخيرة عالمياً فمازالت معظم المراجع يشير إلى البروكلي والقرنبيط معاً ، فلا توجد حتى الأن معطيات دقيقة تخص البروكلي وحدهُ (Jing وآخرون، 2011). وقدُرت المساحة العالمية المزروعة بمحصولي القرنبيط والبروكلي لعام 2011 ، بحوالي 1209106 هكتار، وقُدرت إنتاجيته نحو20876817 طن(FAO ، 2011).

ان زيادة الطلب للعديد من المواد الصيدلانية والأصباغ ادى الى توظيف تقانات الزراعة النسيجية كالإكثار السلالي السريع وتربية النباتات وتوظيف مزارع الكالس أو المعلقات الخلوية أو تحويرها وراثيا لزيادة إنتاجية النباتات من هذه النواتج (Mulabagal و Tsay ، 2004) . إذ أصبحت زراعة الخلايا والأنسجة النباتية المصدر النموذجي الأسرع في انتاج المركبات الصيدلانية خارج الجسم الحي بكميات كبيرة وبصورة مستمرة بعيدا عن التقيد بالظروف البيئية وعدم تداخلها مع مركبات أخرى، كما يحصل عند عزلها من النبات الكامل (Karuppusamy ، 2009) .

وتعد تقنية المعلقات الخلوية نظاما للمزارع الخلوية التي توجد في حالة عشوائية تماما عند زراعتها في الوسط الغذائي السائل المتحركة، تشتق من الكالس الهش وتمتلك هذه الخلايا القدرة على الانقسام والقيام بالفعاليات الحيوية المختلفة (الجواري ، 2004) . لذا يمكن عد مزارع المعلقات الخلوية مصدرا بديلاً يمكن من خلاله سد الحاجات المتزايدة من نواتج الايض الثانوي الصيدلانية والطبية من مصادرها

النباتية الطبيعية. (Davey و Anthony، 2010) . وتعد مركبات الكلوكوز clucosinolates الاهم في نبات البروكلي اذ تتواجد بكميات كبيرة وينتج من تحللها مركب السلفورافان الذي اثبتت قدرته على تثبيط نمو الخلايا السرطانية وخفض خطر الاصابة بمرض السرطان بنسبة تصل الى 45 % ويساهم ايضا في منع الاصابة بالعمى الشيخوخيا مع تقدم العمر (Yagishita وآخرون ، 2019). فضلا عن تواجد مركب Indole 3– carbinol وهو مركب كيميائي مضاد للأكسدة يمنع الاصابة بسرطان الثدي والقولون ويعمل على تعزيز وظائف الكبد (Owis، 2015) .

ويعد الحديد واحد من أهم العناصر الصغرى للنبات فضلا عن الزنك و المنغنيز والنحاس والبورون..الخ وبدون الحديد في التربة لا يمكن للنبات أن ينمو بشكل سليم. اذ يعتبر الحديد أحد العناصر الأساسية لتكوين جزئ الكلوروفيل ، الا ان الحديد يلعب دوراً مهماً في تكوين الإنزيمات المسئولة عن تمثيل الكلوروفيل ، كما أن الحديد يدخل في تركيب العديد من الإنزيمات اللازمة في عملية التمثيل الضوئي للنبات . وتم توظيف الحديد كمادة نانوية اذ يعد اوكسيد الحديد النانوي من أهم الاكاسيد النانوية لما له من أهمية كبيرة في التطبيقات الطبية والحيوية والزراعية الحديثة (Laurent وآخرون ، 2009) ، كما أن أوكسيد الحديد النانوي له تأثيرات كبيرة على مختلف انواع النباتات عندما يوجد بحجم 4–500 nm (Zuverza–Mena وآخرون، 2017)، كما استعملت المركبات النانوية في الاكثار الدقيق لبعض النباتات لما لها من دور فعال في زيادة الافرع الناشئة وزيادة نسبة التجذير، إذ تعمل دقائق الحديد النانوي على زيادة المساحة السطحية ومن ثم زيادة انقسام الخلايا كما تعمل على زيادة التفاعلات الكيميائية داخل النبات (Khodakovskaya وآخرون ، 2012) .

تعد تقنية النانو من التقنيات الحديثة والتي أثبتت أهميتها في العلوم الزراعية والصناعات المرتبطة بها من خلال ايجاد حلول للمشاكل الزراعية وأوجه القصور في العديد من مجالات العلوم والتقنيات الاخرى الساندة لها . (Warad و Dutta ، 2006) .

تعد المواد النانوية من مجموعة المواد التي يكون فيها بعد واحد على الأقل ضمن المقياس النانوي 100 nm (Alagarasi ،2011) ، ولهذه المواد أهمية كبيرة وبسبب صغر حجم جزيئاتها هذا فان هذه المواد غالبا ما تظهر بخواص فريدة تختلف عن المواد العادية ذات الجزيئات الكبيرة (Ghorbani وآخرون، 2011) .

1-2: اهداف الدراسة

1- تحديد افضل الظروف لإكثار نبات البروكلي بالزراعة النسيجية من حيث نوع الجزء النباتي ومنظمات النمو المدروسة .

2- دراسة تأثير اوكسيد الحديد النانوي في نمو مزارع الانسجة لنبات البروكلي .

3- انشاء مزارع معلقات نموذجية لنبات البروكلي ودراسة اضافة اوكسيد الحديد النانوي على نموها.

4- الاستخلاص والكشف والتقدير الكيميائي لمركب السلفورافان في مزارع الكالس ومزارع المعلقات الخلوية باستخدام تقنيه HPLC ودراسة دور اوكسيد الحديد النانوي في انتاج المركب .

الخلاصة

اجريت هذه الدراسة في مختبر زراعة الخلايا والأنسجة النباتية التابع لقسم علوم الحياة في كلية التربية للعلوم الصرفة بجامعة ديالى خلال الفترة من أيلول 2020 ولغاية تموز2021 ، نفذت هذه الدراسة بهدف اكثار نبات البروكلى نسيجيا ومعرفة تأثير استبدال كبريتات الحديدوز المائية في وسط MS (Murashige and skooge) بأوكسيد الحديد النانوي بالتراكيز 0 و 50 و100 و 150 ملغم. لتر$^{-1}$ في استحثاث ونمو كالس السيقان تحت الفلقية وعلى نمو مزارع الخلايا المعلقة **لنبات** البروكلي *Brassica oleracea* var.Itilica ، واستخلاص مركب السلفورافان والكشف والتشخيص والتقدير الكمي له في الكالس المشتق من السيقان تحت الفلقية بعمر 30 يوماً، وفي الوسط الغذائي السائل للمزارع المستمرة المغلقة بعد 7 و 14 و 21 يوماً، فضلاً عن الخلايا المحصودة منها ومقارنتها بالأوراق النامية في الحقل وكانت النتائج على النحوالآتي:

1-أظهرت السيقان تحت الفلقية المزروعة على وسط MS المدعم بمنظمات النمو تفوقها وقابليتها على استحثاث الكالس بالمقارنة مع قريناتها في معاملة المقارنة. حيث اتضح ان الوسط MS المدعم بالتراكيز 1.5 و 2.0 ملغم . لتر $^{-1}$ 2,4-D + 0.5 ملغم. لتر$^{-1}$ BA حفز استحثاث الكالس بنسبة 100% وحقق أعلى قيمة بلغت 2.343 مقارنة مع العينات الغير معاملة فضلا عن تسجيلهما أعلى متوسط للوزن الطري للكالس اذ بلغ 1.166، 2.343 غم. قطعة$^{-1}$ بالتتابع .

2- بينت النتائج تفوق معنوي في الوزن الطري للكالس النامي على وسط MS المدعم بتركيز 2.00 ملغم. لتر$^{-1}$ من 2,4-D + 0.5 من BA مضاف له اوكسيد الحديد النانوي بتركيز 150 ملغم . لتر$^{-1}$