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

تأثير الصدمة الحرارية وأشعة الليزر في نمو كالس نبات السذب *Ruta graveolens L.* ومحتواه من مركب الكومارين

رسالة مقدمة إلى
مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى
وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير
في علوم الحياة

من الطالبة

إسراء جاسم محمد

بكالوريوس تربية علوم حياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى 2011

بإشراف

أ. د. مثنى محمد ابراهيم المهداوي

ربيع الأول 1447هـ **أيلول 2025 م**

((ان هَٰذَا ٱلْقُرْءَان يَهْدِي لِلَّتِي هِيَ اقْوَمُ وَيُبَشِّرُ ٱلْمُؤْمِنِينَ ٱلَّذِينَ يَعْمَلُونَ ٱلصَّٰلِحَٰتِ ان لَهُمْ اجْرًا كَبِيرًا))

صدق الله العظيم

سورة الإسراء الاية (9)

الخلاصة

نفذت الدراسة في مختبر وهج النخيل الخاص لزراعة الخلايا والأنسجة النباتية – بعقوبة. تناولت هذه الدراسة الكشف عن دور العوامل الفيزيائية متمثلة بالصدمة الحرارية Heat Shock وصدمة ضوء الليزر Laser Shock عند تعريض مزارع الكالس المستحث من العقد المفردة لنبات السذب *Rutagraveolens*L. وتحديد تأثيرات هذه المعاملات من متابعة تراكيز الحمض النووي الـ DNA والبروتينات والكلوروفيل، فضلاً عن الاستخلاص والكشف لحامض الكومارين Coumarin acid والتحري عن مستوياتها بعد تعريض الكالس لنوعي الصدمة بدلالة بيانات جهاز الكروموتغرافيا السائل عالي الأداء(High Performance Liquid Chromatograph(HPLC.

أُستحثتْ مزارع الكالس بنجاح على وسط موراشيج وسكوج (MS) المدعم بمنظمات النمو 2.0 ملغم لتر$^{-1}$ من 2,4- Dichloro Phenoxy Acetic Acid (2,4-D) و0.5 ملغم لتر$^{-1}$ Benzyl Adenine (BA) بعده وسط منتخب اعتماداً على الدراسات السابقة.

عُرضَ الكالس إلى صدمة البرودة عند 10°م لمدة 24 ساعة و48 ساعة وإلى الصدمة الحرارية القصيرة المدة (5 دقائق)والطويلة لمدة (10 دقائق) عند درجة حرارة 30°م،40°م. وفى صدمة الليزر He-Ne بطول موجي 632.8 نانوميتر وبقدرة 2.30 ملي واط سم$^{-2}$ عرضت للأشعة لمدد زمنية تراوحت بين 20 إلى 80 ثانية، وعلى بعد 7سم من مصدر الاشعاع.

أكدت البيانات أن الكالس المعرض للصدمة الحرارية القصيرة 30°م/ 5 دقائق هو الأكثر فعالية في زيادة الوزنين الرطب والجاف للكالس مسجلة 4.96 غم 3.19 غم على التوالي، مع تحسين معنوي ملحوظ مقارنة بعينة المقارنة 3.78غم، أما بالنسبة لتقدير الكلوروفيل فقد بينت النتائج أن للمعاملات الحرارية تأثيرًا واضحًا في تركيز الكلوروفيل الكلي (ملغم غم$^{-1}$) في نسيج الكالس، إذ تباينت الاستجابات بشكل معنوي تبعًا لدرجة الحرارة وفترة التعرض، إذ تفوقت معاملة 10°م لمدة 24 ساعة بتسجيلها أعلى تركيز معنوي للكلوروفيل وبلغ 11.53 ملغمغم$^{-1}$. أما تأثير المعاملات الحرارية على مركب الكومارين فقد سجلت درجة الحرارة المتوسطة 30°م أعلى تركيزات من مركب الكومارين عند المعاملة لمدة 5 دقائق و10 دقائق ويعزى ذلك إلى أن درجات الحرارة المعتدلة تحفز إنتاج مركبات الأيض الثانوي في النبات.

أما التعرض لأشعة الليزر فقد حققت فترة التعريض لمدة 40 ثانية أعلى قيمة للوزن الرطب والجاف ومحتوى الكلوروفيل، إذ بلغت 5.44غم للوزن الرطب و2.94غم للوزن الجاف وبلغ محتوى الكلوروفيل 10.34 ملغم غم$^{-1}$. اما بالنسبة للبروتين فقد ظهر اعلى تركيز بمقدار 3.75% عند التعريض لمدة 20 ثانية وقد ظهر اعلى تركيز للـDNA والذي بلغ 19.7 عند التعريض لمدة 60 ثانية كما أظهرت النتائج زيادة واضحة في إنتاج مركب الكومارين مع زيادة مدة التعريض، إذ ارتفع التركيز من 131.06 ميكروغرام/ مل عند 20 ثانية إلى أعلى قيمة 185.0ميكروغرام / مل عند 60 ثانية، في حين التعرض لفترات أطول قد أدى إلى إنخفاض بسبب الإجهاد الضوئي أو التحلل الجزئي للمركبات.

تبرز نتائج الدراسة امكانية استخدام الصدمات الفيزيائية كوسائل فعالة لتحفيز نمو الكالس وزيادة إنتاج المركبات الفعالة في نبات السذب، مما يعزز التطبيقات التقنية الحيوية في إنتاج المستخلصات النباتية ذات القيمة الدوائية.

الفصل الأول
المقدمة

Introduction

1-1: المقدمة Introduction

يعد نبات السذب .*Ruta graveolens*L من النباتات المعمرة والذي يعود إلى العائلة السذبية Rutaceae ينتشرعلى نطاق واسع في مناطق حوض البحر الأبيض المتوسط وأجزاء من آسيا يزرع ويتكيف في ظروف بيئية متنوعة، إذ يفضل الاماكن المشمسة والتربة جيدة التصريف وغالبًا ما يُوجد في المناطق الجبلية والصخرية والحدائق. يتميز بأوراقه الزيتية الخضراء المائلة للزرقة (Ahmad وآخرون،2020) للنبات رائحة قوية وينتج أنواعًا مختلفة من المركبات الأيضية الثانوية وأكدت الدراسات إحتواء النبات على العديد من مركبات الأيض الثانوي التي تستخدم في العديد من الصناعات الدوائية والصيدلانية منها acridone وalkaloid و volatile وsubstances وterpenoids وflavonoids وsaponins وtanins وglycosides (Hashemi وآخرون ،2011). ومن هذه المركبات أيضًا الكومارين Coumarin الذي يعود إلى مجموعة الفينولات، ويعد من نواتج الأيض الثانوي التي تنتشر على نطاق واسع في النباتات وكذلك في أكثر أنواع البكتريا والفطريات ويوجد الكومارين في المملكة النباتية في كل من الأنواع النباتية آحادية وثنائية الفلقة (Matos وآخرون،2015).

النباتات الطبية هي تلك النباتات التي تمتلك خصائص علاجية تمكنها من المساهمة في معالجة بعض الأمراض لدى الإنسان، إذ تحتوي هذه النباتات على مواد فعالة تتركز في احد أجزائها أوجميعها (Alamgir،2017)، وقد تكون هذه المواد مركبًا واحدًا أو أكثر مما يمنحها تأثيرات فيسيولوجية تسهم في علاج الأمراض من خلال تداخلها، ويمكن أيضا الاستفادة من هذه المواد أما بعد استخلاصها وتنقيتها أو من خلال استخدامها بشكلها الطبيعي سواء كانت طازجة أو مجففة (Altemimi وآخرون،2017).

استخدمت النباتات الطبية التي تُعرف أيضًا بالأعشاب الطبية في الممارسات العلاجية التقليدية منذ العصور القديمة، إذ شكلت عنصرًا اساسيًا في أنظمة الطب الشعبي حول العالم، على الرغم من التطورات الطبية الحديثة ما يزال الكثير من سكان العالم يعدون الأعشاب الطبية دواء يستطب بهِ كجزء من الطب البديل التقليدي لعلاج مجموعة واسعة من الأمراض (الاغواني، 2024).

تعد تقنية زراعة الأنسجة النباتية من التقنيات الحديثة التي أسهمت بشكل كبير في تطوير الواقع الزراعي، إذ أصبحت أداة لاغنى عنها في مختلف المجالات العلمية (García-Gonzáles وآخرون،2010). إذ تتميز زراعة الأنسجة النباتية عن طرائق التكاثر التقليدية بسرعتها وأنخفاض تكلفة العمل وصغر مساحة العمل المطلوبة وإمكانية إنتاج نباتات خالية من الأمراض، فضلًا عن إمكانية الإنتاج المستمر بعيدًا عن تأثيرات الزراعة الموسمية (Debnath وآخرون،2018). واليوم تستعمل خطوط مزارع الكالس والمعلقات الخلوية المشتقة منه، كتقنيات لإنتاج مركبات الأيض الثانوية المهمة، بما تمتاز بهِ من محتواها للخلايا ذات القدرة العالية على الإنقسام السريع في بيئات مختبرية متحكم بها (Ramachandra Rao وRavishankar،2002). كما تُظهر الخلايا النباتية المستنبتة في هذه المزارع قدرة عالية على الإستجابة للإشارات الحيوية والبيئية التي تُفعّل المسارات الأيضية الثانوية داخل الخلية. عند تعرّضها لمحفزات حيوية أو كيميائية (Yao وآخرون ،2021).

2-1: هدفت الدراسة الحالية إلى

1- تقييم تأثير المعاملات الفيزيائية المختلفة في نمو مزارع كالس نبات السذب.

2- تقدير مستوى التغير في إنتاج مركب الكومارين تحت تأثير المعاملات الفيزيائية.

3- تحليل العلاقة بين مؤشرات نمو الكالس والتغير الكيميائي الناتج عن الإجهاد الفيزيائي لتوضيح اليه التحفيز المحتملة.

4- اقتراح بروتوكول فيزيائي أمن وفعال لتحفيز إنتاج المركبات الحيوية في مزارع الكالس لنبات السذب.

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education and Scientific Research
University of Diyala
College of Education for Pure Sciences
Department oF Biology

Effect of thermal shock and laser radiation on the growth of callus of the Rue plant (*Ruta graveolens L.*) and its coumarin content

A thesis submitted to

The Council of the College of Education for Pure Sciences/ University of Diyala As part of the requirements for a Master's degree in Biology

By the student

Israa Jassim Mohammed

B. Sc. Biology 2011

Supervised by

Prof. Dr. Muthanna Mohammed Ibrahim Al-Mahdawi

Rabi' al-Awwal / 1447AH **September / 2025 A.D**