



جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية / كلية العلوم

قسم علوم الحياة

## تأثير بعض منظمات النمو في الانتاج والفعالية البايولوجية لبعض المركبات الفعالة في كالس نخيل التمر

أطروحة مقدمة إلى

مجلس كلية العلوم في جامعة القادسية وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الدكتوراه في علوم الحياة

من قبل

حسام سعد حسين كنو

بكالوريوس علوم الحياة - جامعة بابل

2015

ماجستير علوم الحياة - جامعة بابل

2021

بإشراف

الدكتور  
عبد الكاظم جواد موسى

الأستاذ الدكتور  
ليث سريع مطر الركابي

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قَالَ رَبِّ اشْرَحْ لِي صَدْرِي ﴿٢٥﴾ وَيَسِّرْ لِي  
أَمْرِي ﴿٢٦﴾ وَاحْلُلْ عُقْدَةً مِنْ لِسَانِي  
﴿٢٧﴾ يَفْقَهُوا قَوْلِي ﴿٢٨﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة طه

الآية (٢٥ - ٢٨)

## اقرار المشرفين

نشهد أن إعداد هذه الاطروحة الموسومة بـ (تأثير بعض منظمات النمو في الانتاج والفعالية البايولوجية لبعض المركبات الفعالة في كالس نخيل التمر) قد اعدھا الطالب بإشرافنا ، وهي جزء من متطلبات نيل درجة الدكتوراه علوم في علوم الحياة.

التوقيع :

الأسم : د.عبدالكاظم جواد موسى

اللقي العلمي : باحث علمي

التاريخ : / / 2025

التوقيع:

الأسم : أ.د. ليث سريع مطر

اللقي العلمي : أستاذ

التاريخ : / / 2025

## توصية رئيس قسم علوم الحياة

أشارة الى التوصية المقدمة من المشرفين أحيلى هذه الاطروحة الى لجنة المناقشة لدراسىها وبيان الرأى فىها.

التوقيع :

الاسم : أ.د ليث سريى مطر

اللقب العلمى : اسىاذ

الارىخ : / / 2025

## اقرار المقوم اللغوي

اشهد ان اعداد هذه الاطروحة والموسومة بـ (تأثير بعض منظمات النمو في الانتاج والفعالية  
البايولوجية لبعض المركبات الفعالة في كاس نخيل التمر)

. تمت مراجعتها لغوياً واسلوبياً واصبحت بذلك مؤهلة للمناقشة قدر تعلق الامر بالسلامة اللغوية.

التوقيع :

الاسم :

اللقب العلمي :

التاريخ : 2025/ /

## اقرار لجنة المناقشة

نحن أعضاء لجنة المناقشة الموقعين في أدناه، نشهد بأننا إطلعنا على الاطروحة الموسومة بـ ( تأثير بعض منظمات النمو في الإنتاج والفعالية البايولوجية لبعض المركبات الفعالة في كالس نخيل التمر)

المقدمة من قبل الطالب (حسام سعد حسين كنو) وناقشنا الطالب في محتوياتها وفيما له علاقة بها وذلك بتاريخ 31 / 8 / 2025 ونشهد بانها جديرة بالقبول لنيل درجة الدكتوراه في علوم الحياة .

### رئيس اللجنة

### عضو اللجنة

التوقيع :

التوقيع :

الاسم: أ.د. نصير جواد كاظم

الاسم: أ.د. مها علي عبد الامير

المرتبة العلمية: استاذ

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة الكوفة / كلية العلوم

العنوان: جامعة القادسية / كلية العلوم

التاريخ: 31 / 8 / 2025

التاريخ: 31 / 8 / 2025

### عضو اللجنة

### عضو اللجنة

التوقيع :

التوقيع :

الاسم: أ.م.د. ظافر عبد الكاظم

الاسم: أ.م.د. محمد جابر حسين

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: جامعة القادسية / كلية التربية

العنوان: جامعة القاسم الخضراء/كلية الزراعة

التاريخ: 31 / 8 / 2025

التاريخ: 31 / 8 / 2025

### عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم: أ.م.د. سماح صالح سلمان

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: جامعة القادسية / كلية العلوم

التاريخ: 31 / 8 / 2025

### عضوا و مشرفاً

### عضوا و مشرفاً

التوقيع :

التوقيع :

الاسم: أ.د. ليث سريع مطر

الاسم: د. عبد الكاظم جواد موسى

المرتبة العلمية: استاذ

المرتبة العلمية: باحث علمي

العنوان : جامعة القادسية / كلية العلوم

العنوان: وزارة الزراعة / دائرة البحوث الزراعية

التاريخ: 31 / 8 / 2025

التاريخ: 31 / 8 / 2025

## اقرار مجلس الكلية

اجتمع مجلس كلية العلوم لجلسته ..... المنعقدة في / / 2025 وقرر منح شهادة الدكتوراه  
مصادقة عمادة كلية العلوم – جامعة القادسية

التوقيع :

الاسم:

المرتبة العلمية :

## الاهداء

إلى أولئك الذين كانت خطواتهم في حياتي دعائم ثابتة، ومواقفهم آثارا لا تُنسى...  
إلى والدي الحبيب تقديراً لعطاءه المتواصل، ودعمه الثابت الذي لا يُقدَّر بثمن، الذي علمني أن  
الطموح لا سقف له، وأن العلم زاد لا يفنى.  
وإلى والدي الغالية، التي كانت دعواتها طوق نجاة في كل لحظة شك وتعب، وسندا لا يقارن.  
إلى زوجتي العزيزة، النبض الذي رافقتني في درب مليء بالتحديات،  
شكرا لصبرك، لحبك، لوقوفك إلى جانبي حين كانت المسافة بيني وبين اليأس قصيرة،  
كنت النور في أوقات الظلمة، والدافع حين خفت الهمة.  
إلى ولدي الحبيبين، أتما الوعد الجميل، والمستقبل الذي أرجوه مشرقا،  
لقد كنتم القوة التي تدفعني كلما شعرت بالتعب،  
وهذا العمل هو غرس أهديه لكما، عسى أن يكون منارة لطريقكما.  
إلى كل من كان له في قلبي تقدير،  
أساتذتي الكرام، زملائي الأوفياء، وأصدقائي الصادقين،  
لكم جميعا، أهدي هذا الجهد المتواضع، تقديرا وامتنانا،  
وخطوة أولى نحو المزيد بإذن الله.

حسام الخالدي

## شكر وتقدير

الحمد لله الذي أعطى فأغنى، وهدى فأقنى، ووهب فأنعم، وسرّ فرجهم، وأرشد فسلم، له الحمد على ما مضى من لطفه، وما دام من فضله، وما يُرتجى من رحمته. وله الشكر في كل تعبٍ أُثيب، وكل دربٍ أُصيب، وكل ضعفٍ أُقيم.

أتقدم بجزيل الشكر وخالص الامتنان إلى مشرفي الكرام: الأستاذ الدكتور ليث سريع مطر، والأستاذ الدكتور عبد الكاظم جواد موسى، لما بذلاه من جهد علمي رصين، ومتابعة دقيقة، وتوجيهات ساعدتني على تجاوز العقبات، فكان لدعمها وعلمها الأثر الكبير في إخراج هذا العمل إلى النور. كما أخص بالشكر عمادة كلية العلوم – جامعة القادسية، وقسم علوم الحياة، بكل ما فيه من عقولٍ مضيئة، وهم نبيلة، فقد منحوني بيئة علمية كانت الحاضن الأول لهذا العمل.

ختامًا، الشكر موصول لكل من دعمني بكلمة أو موقف أو دعاء، وألهمني الثبات في مراحل هذا العمل، سائلًا الله أن يجزيهم عني خير الجزاء، وأن يجعل هذا العمل خالصًا لوجهه الكريم.

## الخلاصة:

يعد نخيل التمر *Phoenix dactylifera L.* من أهم الأشجار الاقتصادية والغذائية والطبية في العراق والمنطقة العربية، لما تحتويه من مركبات أولية وثنائية ذات نشاط بايولوجي واسع. غير أن إنتاج هذه المركبات من الأنسجة النباتية يواجه تحديات ترتبط ببطء النمو وتقييد الظروف البيئية. تمثل تقنيات الزراعة النسيجية وسيلة فعالة لتجاوز هذه التحديات، في حين يُعد حامض الجاسمونيك ومنظمات النمو النباتية من العوامل الرئيسية في تحفيز المسارات الأيضية الثانوية وزيادة إنتاج المركبات الفعالة.

أجريت هذه الدراسة خلال عامي 2023 و2024 في مختبر الزراعة النسيجية في مختبر كلية العلوم / جامعة القادسية بالتعاون مع قسم بحوث النجف الأشرف / دائرة البحوث الزراعية / وزارة الزراعة، وهدفت إلى تقييم تأثير منظمات النمو بالتداخل مع حامض الجاسمونيك في تحفيز نمو الكالس وإنتاج المركبات الثانوية في نخيل التمر صنف البرحي *Phoenix dactylifera L. cv. Barhi* باستخدام تقنية الزراعة النسيجية.

وهدفت هذه الدراسة إلى تقييم تأثير التداخل بين تراكيز مختلفة من حامض الجاسمونيك (0، 2، 4 ملغم/لتر) ومنظمات النمو (NAA، 2,4-D، 2iP) على نمو الكالس وإنتاج المركبات الثانوية في نخيل التمر صنف البرحي. وصممت تجربة الدراسة حسب التصميم العشوائي الكامل (CRD) Complete Random Design وبمعاملين الأول حامض الجاسمونيك بتركيز (0، 2، 4 ملغم لتر<sup>-1</sup>) والعامل الثاني منظمات النمو NAA، 2,4-D، 2iP وبتوليفتين هما (2 و 8 و 40 ملغم لتر<sup>-1</sup>) و (4 و 12 و 60 ملغم لتر<sup>-1</sup>) بالتتابع.

زرعت القمم النامية في أوساط MS مكملّة بالتوليفات الهرمونية المختلفة (A-F)، وبعد الحصول على الكالس تم تحضير المستخلص الكحولي لأنسجة الكالس الناتج من زراعة القمم النامية لنخيل البرحي (Barhi) وذلك لتحديد مكونات المركبات الثانوية المتكونة نتيجة تأثير التداخلات بين منظمات النمو وحامض الجاسمونيك. حيث أظهر تحليل GC-MS أن عدد المركبات الكلي المكتشفة في جميع المعاملات بلغ 138 مركباً ثانوياً تنتمي إلى أصناف متعددة (أحماض دهنية، كحولات، كيتونات، فينولات، إيبوكسيدات، فوسفات عضوية) ومن بين هذه المركبات، تم تسجيل 35 مركباً كمركبات مشتركة على الأقل بين معاملتين مختلفتين، بينما وُجدت 8 مركبات فقط ظهرت في جميع المعاملات الست (A-F).

وبينت النتائج أن أعلى عدد من المركبات ظهر في المعاملة B، حيث بلغ عدد المركبات فيها 50 مركبًا، بنسبة بلغت 36.23% من إجمالي المركبات. بينما المعاملة A سجلت 32 مركبًا فقط بنسبة 23.18%، وكانت أقل المعاملات من حيث التنوع الكيميائي. وسجلت المعاملة C 35 مركبًا وبنسبة بلغت 25.36%، أما المعاملات D و E و F فقد سجلت 40 مركبًا لكل منهما، وبنسب متساوية بلغت 28.99%.

تمت مقارنة الفعالية التثبيطية للمستخلصات الكحولية لكالس نخيل التمر البرحي مع المضاد الحيوي Amoxyclav (AMC) بتركيز 30 ميكروغرام قرص<sup>1</sup> ضد بكتيريا *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*، حيث بلغت أقطار التثبيط للمضاد القياسي 17 ملم و 15 ملم بالتتابع، في حين لم تسجل السيطرة السالبة (1% DMSO) أي فعالية. حيث أظهرت العينة B أعلى فعالية بين جميع المعاملات، إذ بلغت أقطار التثبيط ضد *E. coli* تراكيز 18، 20، و 30 ملم، وضد *S. aureus* بلغت 16، 20، و 29 ملم عند التراكيز 100، 200، و 300 ملغم مل<sup>-1</sup>، بالتتابع. أما العينة C، فسجلت فعالية أقل، لكنها جيدة نسبيًا، خاصة ضد *S. aureus* عند التركيز 300 ملغم مل<sup>-1</sup>، حيث بلغ قطر التثبيط 20 ملم. العينة F أظهرت فعالية معتدلة، بأقطار بلغت 14-17 ملم ضد *E. coli* و 12-16 ملم ضد *S. aureus*. أما العينة E فسجلت أقطارًا أقل، تراوحت بين 10-14 ملم و 9-13 ملم ضد النوعين بالتتابع. أما العينة D، فرغم فعاليتها المحدودة عند التركيز المنخفض من منظمات النمو، إلا أنها أظهرت زيادة تدريجية عند التراكيز الأعلى، خاصة ضد *E. coli* في حين كانت العينة A الأقل فعالية، ولم تسجل أي تثبيط عند التركيز 100 ملغم مل<sup>-1</sup>، وبلغت أقصى قيمها 15 ملم ضد *E. coli* و 14 ملم ضد *S. aureus* عند التركيز 300 ملغم مل<sup>-1</sup>.<sup>1</sup> تشير هذه النتائج إلى أن هناك علاقة واضحة بين التركيز والفعالية، وأن العينة B تمتلك فعالية بكتيرية متميزة، بينما أظهرت العينات الأخرى فعالية متفاوتة تراوحت بين المتوسطة والضعيفة.

أيضا أظهرت النتائج أنّ التغير في تراكيز منظمات النمو (2iP، 2,4-D، NAA) لم يحدث فروقات معنوية في معظم التراكيز المختبرة (120، 250، 500) ملغم لتر<sup>-1</sup> من حيث النشاط المضاد للأكسدة، باستثناء التركيز الأعلى (1000) ملغم لتر<sup>-1</sup> حيث تفوقت معنويا عند المعاملة ذات التراكيز المنخفضة (2:2iP، 4، 82، 4-D، 40:NAA) بستجيلها أعلى قيمة نشاط مضاد للأكسدة بلغ 74.13% مقارنة بالمعاملة ذات التراكيز الأعلى التي بلغ فيها النشاط المضاد 73.27%. وأكد التحليل الجزيئي باستخدام مؤشرات RAPD كفاءته في تقييم الاستقرار الوراثية للعينات الناتجة عن الزراعة النسيجية عند مقارنتها بالنبات الأم. وقد أظهرت النتائج أن العينتين A و B سجلتا نسبة تشابه وراثي بلغت (0.50)، وهي نسبة تُعد منخفضة نسبيًا وتُشير إلى حدوث

تغيرات جينية واضحة. في حين كانت العينة D هي الأقل تشابهاً وراثياً مع النبات الأم بنسبة بلغت (0.05)، مما يدل على حصول تغيرات جينية كبيرة على مستوى الحامض النووي. وتدل هذه النتائج على أن جميع العينات خضعت لتغيرات جينية بدرجات متفاوتة نتيجة تأثير منظمات النمو. تستنتج الدراسة أن التداخل بين حامض الجاسمونيك ومنظمات النمو يمثل استراتيجية فعالة لتحفيز إنتاج المركبات الثانوية في نخيل البرحي، مع تعزيز النشاط البايولوجي (المضاد للبكتيريا والأكسدة) ، بما يفتح آفاقاً للتطبيقات الطبية والصيدلانية المستقبلية.

## قائمة المحتويات

| الصفحة                                | العنوان                                                                                      | ت       |
|---------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| I                                     | الخلاصة                                                                                      |         |
| IV                                    | قائمة المحتويات                                                                              |         |
| VIII                                  | قائمة المختصرات                                                                              |         |
| IX                                    | قائمة الجداول                                                                                |         |
| XI                                    | قائمة الاشكال والمخططات                                                                      |         |
| <b>الفصل الأول : المقدمة</b>          |                                                                                              |         |
| 1                                     | المقدمة                                                                                      | 1       |
| 3                                     | اهداف الدراسة                                                                                | 2.1     |
| <b>الفصل الثاني : استعراض المراجع</b> |                                                                                              |         |
| 4                                     | نخيل التمر                                                                                   | 1.2     |
| 4                                     | الوصف النباتي لنخيل التمر صنف البرحي                                                         | 2.2     |
| 4                                     | تصنيف النخيل التمر                                                                           | 3.2     |
| 5                                     | الاهمية التغذوية لنخيل التمر                                                                 | 4.2     |
| 6                                     | الاهمية الطبية لنخيل التمر                                                                   | 5.2     |
| 6                                     | المركبات الايضية النباتية                                                                    | 6.2     |
| 7                                     | المركبات النشطة بايولوجيا الغذائية                                                           | 1.6.2   |
| 8                                     | المركبات النشطة بايولوجيا غير الغذائية                                                       | 2.6.2   |
| 8                                     | الفينولات                                                                                    | 1.2.6.2 |
| 10                                    | التربينويدات                                                                                 | 2.2.6.2 |
| 10                                    | القلويدات                                                                                    | 3.2.6.2 |
| 11                                    | زراعة الانسجة النباتية                                                                       | 7.2     |
| 12                                    | منظمات النمو النباتية                                                                        | 8.2     |
| 13                                    | تأثير منظمات النمو في الزراعة النسيجية                                                       | 9.2     |
| 15                                    | المحفزات الاحيائية و للأحيائية ودورها في تنشيط المسارات الأيضية الثانوية في الخلايا النباتية | 10.2    |
| 16                                    | حامض الجاسمونيك                                                                              | 11.2    |
| 18                                    | تأثير الجاسمونيك في الزراعة النسيجية                                                         | 12.2    |
| 19                                    | أنواع مزارع الخلايا                                                                          | 13.2    |
| 20                                    | مزارع الكالس                                                                                 | 1.13.2  |
| 20                                    | مزارع الخلايا المعلقة                                                                        | 2.13.2  |
| 21                                    | مزارع الشعيرات الجذرية                                                                       | 3.13.2  |
| 21                                    | الثبات الوراثي                                                                               | 14.2    |
| 23                                    | بعض أنواع البكتيريا الممرضة المستخدمة في تقييم النشاط الحيوي للمركبات النباتية               | 15.2    |
| 23                                    | بكتريا <i>Staphylococcus aureus</i>                                                          | 1.15.2  |
| 24                                    | بكتريا <i>Escherichia coli</i>                                                               | 2.15.2  |

|                         |                                                                        |            |
|-------------------------|------------------------------------------------------------------------|------------|
| 24                      | النشاط المضاد للبكتريا                                                 | 16.2       |
| الفصل الثالث: طرق العمل |                                                                        |            |
| 26                      | المواد وطرق العمل                                                      | 3          |
| 26                      | الأجهزة والمعدات                                                       | 1.3        |
| 28                      | تصميم التجربة                                                          | 2.3        |
| 30                      | تحضير وسط الزراعة النسيجية لأستحثاث الكالس                             | 3.3        |
| 30                      | التعقيم                                                                | 1.3.3      |
| 30                      | تعقيم الادوات المستخدمة في الزراعة النسيجية                            | 2.3.3      |
| 31                      | التعقيم السطحي للأجزاء النباتية                                        | 4.3        |
| 31                      | زراعة الأجزاء النباتية وأستحثاث الكالس                                 | 5.3        |
| 32                      | تحفيز نمو الكالس باستخدام منظمات النمو وحامض الجاسمونيك (JA) في وسط MS | 6.3        |
| 34                      | تحضير المستخلص الكحولي للكالس                                          | 7.3        |
| 34                      | تحضير تراكيز المستخدمة في اختبارات الدراسة                             | 8.3        |
| 34                      | تحليل المركبات الثانوية باستخدام جهاز GC-MS                            | 9.3        |
| 35                      | عزل العينات البكتيرية وتعقيم المستلزمات                                | 10.3       |
| 36                      | التشخيص المجهرى                                                        | 1.10.3     |
| 36                      | الاختبارات الكيموحيوية                                                 | 2.10.3     |
| 36                      | الاختبارات الخاصة بعزلة <i>S. aureus</i>                               | 1.2.10.3   |
| 36                      | اختبار الكاتاليز                                                       | 1.1.2.10.3 |
| 37                      | اختبار تخمير المانيتول                                                 | 2.1.2.10.3 |
| 37                      | اختبار التجلط                                                          | 3.1.2.10.3 |
| 37                      | اختبار تحلل الجيلاتين                                                  | 4.1.2.10.3 |
| 38                      | الاختبارات الخاصة بعزلة <i>E.coli</i>                                  | 2.2.10.3   |
| 38                      | اختبار الاندول                                                         | 1.2.2.10.3 |
| 38                      | اختبار الميثيل الأحمر                                                  | 2.2.2.10.3 |
| 38                      | اختبار السترات                                                         | 3.2.2.10.3 |
| 38                      | اختبار الاوكسيديز                                                      | 4.2.2.10.3 |
| 39                      | تقييم النشاط المضاد للبكتريا باستخدام اختبار الحفر                     | 11.3       |
| 39                      | تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الكحولية باستخدام اختبار DPPH   | 12.3       |
| 40                      | الدراسة الجزيئية                                                       | 13.3       |
| 40                      | استخلاص DNA                                                            | 1.13.3     |
| 40                      | خطوات استخلاص DNA                                                      | 2.13.3     |
| 41                      | فحص نقاوة الحامض النووي DNA                                            | 3.13.3     |
| 41                      | تحضير البودائى                                                         | 4.13.3     |
| 42                      | تفاعل PCR                                                              | 5.13.3     |
| 42                      | ظروف التفاعل الحراري لتقنية RAPD-PCR                                   | 6.13.3     |

|                                        |                                                                                                                                                       |        |
|----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 43                                     | تحليل نواتج تفاعل RAPD-PCR بواسطة الترحيل الكهربائي على هلام الأكاروز                                                                                 | 7.13.3 |
| 43                                     | التحليل الاحصائي                                                                                                                                      | 14.3   |
| <b>الفصل الرابع: النتائج والمناقشة</b> |                                                                                                                                                       |        |
| 44                                     | النتائج والمناقشة                                                                                                                                     | 4      |
| 44                                     | تحليل عدد المركبات الكيميائية في المعاملات المختلفة                                                                                                   | 1.4    |
| 49                                     | تأثير منظمات النمو وحامض الجاسمونيك على المعاملات وتحليلها بجهاز GC-MS لكالس نخيل البرحي.                                                             | 2.4    |
| 50                                     | نتائج تأثير إضافة منظمات النمو وحامض الجاسمونيك على المساحات النسبية للمركبات المشتركة لكالس نخيل التمر                                               | 3.4    |
| 50                                     | تأثير إضافة منظمات النمو وحامض الجاسمونيك (JA) وتداخلهما في كمية مركب 2,2'-Bioxirane في مستخلص كالس نبات نخيل التمر صنف البرحي.                       | 1.3.4  |
| 51                                     | تأثير إضافة منظمات النمو وحامض الجاسمونيك (JA) وتداخلهما في كمية مركب 2-Propanone, 1-hydroxy- في مستخلص كالس نبات نخيل التمر صنف البرحي.              | 2.3.4  |
| 52                                     | تأثير إضافة منظمات النمو وحامض الجاسمونيك (JA) وتداخلهما في كمية مركب Glyceraldehyde في مستخلص كالس نبات نخيل التمر صنف البرحي.                       | 3.3.4  |
| 53                                     | تأثير إضافة منظمات النمو وحامض الجاسمونيك (JA) وتداخلهما في كمية مركب Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester في مستخلص كالس نبات نخيل التمر صنف البرحي. | 4.3.4  |
| 54                                     | تأثير إضافة منظمات النمو وحامض الجاسمونيك (JA) وتداخلهما في كمية مركب 1,2,3-Propanetriol, 1-acetate في مستخلص كالس نبات نخيل التمر صنف البرحي.        | 5.3.4  |
| 55                                     | تأثير إضافة منظمات النمو وحامض الجاسمونيك (JA) وتداخلهما في كمية مركب 2-(Isobutoxymethyl)oxirane في مستخلص كالس نبات نخيل التمر صنف البرحي.           | 6.3.4  |
| 56                                     | تأثير إضافة منظمات النمو وحامض الجاسمونيك (JA) وتداخلهما في كمية مركب Benzophenone في مستخلص كالس نبات نخيل التمر صنف البرحي.                         | 7.3.4  |
| 57                                     | تأثير إضافة منظمات النمو وحامض الجاسمونيك (JA) وتداخلهما في كمية مركب Dichloroxylenol في مستخلص كالس نبات نخيل التمر صنف البرحي.                      | 8.3.4  |
| 58                                     | التحليل النوعي والكمي لبنية المركبات باستخدام التجميع الهرمي                                                                                          | 4.4    |
| 62                                     | التحليل النوعي للمركبات الكيميائية                                                                                                                    | 1.4.4  |
| 62                                     | التحليل الكمي للمركبات الكيميائية                                                                                                                     | 2.4.4  |
| 65                                     | نتائج تأثير الفعالية البايولوجية للمستخلصات النباتية في نمو البكتريا                                                                                  | 5.4    |
| 65                                     | الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي بتركيز 300 ملغم / مل في تثبيط نمو بكتريا <i>E.Coli</i>                                        | 1.5.4  |

|                        |                                                                                                                                                                        |       |
|------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 66                     | الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي بتركيز 200 ملغم / مل في تثبيط نمو بكتريا <i>E.Coli</i> .                                                       | 2.5.4 |
| 67                     | الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي بتركيز 100 ملغم / مل في تثبيط نمو بكتريا <i>E.Coli</i> .                                                       | 3.5.4 |
| 68                     | الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي بتركيز 300 ملغم / مل في تثبيط نمو بكتريا <i>S. aureus</i> .                                                    | 4.5.4 |
| 69                     | الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي بتركيز 200 ملغم / مل في تثبيط نمو بكتريا <i>S. aureus</i> .                                                    | 5.5.4 |
| 70                     | الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي بتركيز 100 ملغم / مل في تثبيط نمو بكتريا <i>S. aureus</i> .                                                    | 6.5.4 |
| 71                     | تقييم الفعالية البايولوجية للمركبات الكيميائية للمستخلصات ضد البكتريا.                                                                                                 | 6.4   |
| 79                     | تقييم فعالية المستخلصات النباتية كمضاد للأكسدة.                                                                                                                        | 7.4   |
| 79                     | تأثير اضافة الجاسمونيك ومنظمات النمو على الفعالية المضادة للأكسدة بأختبار DPPH عند التركيز 120 ملغم لتر <sup>-1</sup> .                                                | 1.7.4 |
| 80                     | تأثير اضافة الجاسمونيك ومنظمات النمو على الفعالية المضادة للأكسدة بتقنية DPPH عند التركيز 250 ملغم لتر <sup>-1</sup> .                                                 | 2.7.4 |
| 81                     | تأثير اضافة الجاسمونيك ومنظمات النمو على الفعالية المضادة للأكسدة بتقنية DPPH عند التركيز 500 ملغم لتر <sup>-1</sup> .                                                 | 3.7.4 |
| 82                     | تأثير اضافة الجاسمونيك ومنظمات النمو على الفعالية المضادة للأكسدة بتقنية DPPH عند التركيز 1000 ملغم لتر <sup>-1</sup> .                                                | 4.7.4 |
| 84                     | التحليل الجزيئي لتقييم التغيرات الوراثي في كالس نخيل التمر صنف البرحي باستخدام مؤشرات RAPD تحت تأثير منظمات النمو.                                                     | 8.4   |
| 84                     | شجرة القرابة الوراثية Dendrogram بين الأصل (النبات الأم) والكالس الناتج من الزراعة خارج الجسم الحي باستخدام مؤشرات التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال لسلسلة الدنا RAPD. | 1.8.4 |
| 85                     | قيم التشابه الوراثي اعتمادا على مؤشرات RAPD.                                                                                                                           | 2.8.4 |
| الاستنتاجات و التوصيات |                                                                                                                                                                        |       |
| 88                     | الاستنتاجات                                                                                                                                                            |       |
| 89                     | التوصيات                                                                                                                                                               |       |
| المصادر                |                                                                                                                                                                        |       |
| الملاحق                |                                                                                                                                                                        |       |
| الخلاصة بالانكليزي     |                                                                                                                                                                        |       |

## قائمة المختصرات

| المختصر      | المصطلح العلمي                       |
|--------------|--------------------------------------|
| <b>RCBD</b>  | Randomized Complete Block Design     |
| <b>LSD</b>   | Least Significant Difference         |
| <b>ROS</b>   | Reactive oxygen species              |
| <b>SOD</b>   | Superoxide Dismutase                 |
| <b>GC-MS</b> | Gas chromatography mass spectrometry |
| <b>NSPs</b>  | Non-Starch Polysaccharides           |
| <b>LS</b>    | Linsmaier Skoog                      |
| <b>BS</b>    | Gamborg Skoog                        |
| <b>NN</b>    | Nitsch Nitscha                       |
| <b>ABA</b>   | Abscisic Acid                        |
| <b>MS</b>    | Murashige and Skoog                  |
| <b>ET</b>    | Ethylene                             |
| <b>BRs</b>   | Brassinosteroids                     |
| <b>PCR</b>   | Polymerase Chain Reaction            |
| <b>NAA</b>   | Naphthalene Acetic Acid              |
| <b>GAs</b>   | Gibberellins                         |
| <b>PGRs</b>  | Plant Growth Regulators              |
| <b>JAs</b>   | Jasmonates                           |
| <b>JA</b>    | Jasmonic acid                        |
| <b>SA</b>    | Salicylic Acid                       |
| <b>TDZ</b>   | Thidiazuron                          |
| <b>IAA</b>   | Indole-3-Acetic Acid                 |
| <b>2iP</b>   | N6-(2-Isopentenyl)adenine            |
| <b>BAP</b>   | Benzylaminopurine                    |

|             |                                                |
|-------------|------------------------------------------------|
| <b>MEJA</b> | Methyl Jasmonate                               |
| <b>SAR</b>  | Systemic Acquired Resistance                   |
| <b>CT</b>   | Cytokinins                                     |
| <b>ABA</b>  | Absciscic Acid                                 |
| <b>NO</b>   | Nitric Oxide                                   |
| <b>BR</b>   | Brassinosteroids                               |
| <b>SL</b>   | Strigolactone                                  |
| <b>RAPD</b> | Random Amplified Polymorphic DNA               |
| <b>WHO</b>  | World Health Organization                      |
| <b>NIST</b> | National Institute of Standards and Technology |

### قائمة الجداول

| الصفحة | العنوان                                                                                                                      | الجدول |
|--------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 27     | الاجهزة المستعملة في الدراسة                                                                                                 | 1-3    |
| 28     | المواد الكيميائية التي اعتمدت في تنفيذ الدراسة                                                                               | 2-3    |
| 33     | تركيز حامض الجاسمونيك و منظمات النمو الاخرى المضافة لوسط الزراعة MS.                                                         | 3-3    |
| 42     | مجموعة البوادئ المستخدمة في تفاعل RAPD                                                                                       | 4-3    |
| 42     | مكونات خليط تفاعل PCR                                                                                                        | 5-3    |
| 42     | البرنامج الحراري لتفاعل RAPD-PCR لنخيل التمر صنف البرحي                                                                      | 6-3    |
| 44     | عدد المركبات الكيميائية ونسبها المؤية لمستخلص كالس نخيل البرحي لجميع المعاملات.                                              | 1-4    |
| 45     | بعض المركبات الكيميائية المشتركة لمستخلص كالس نخيل البرحي لجميع المعاملات.                                                   | 2-4    |
| 49     | تأثير منظمات النمو وحامض الجاسمونيك على المساحات النسبية للمركبات الكيميائية المشتركة في كالس نخيل البرحي.                   | 3-4    |
| 50     | تأثير اضافة منظمات النمو وحامض الجسمونك وتداخلاتهما في كمية مركب 2,2'-Bioxirane لمستخلص كالس نخيل التمر صنف البرحي.          | 4-4    |
| 51     | تأثير اضافة منظمات النمو وحامض الجسمونك وتداخلاتهما في كمية مركب 2-Propanone, 1-hydroxy- لمستخلص كالس نخيل التمر صنف البرحي. | 5-4    |
| 52     | تأثير اضافة منظمات النمو وحامض الجسمونك وتداخلاتهما في كمية مركب Glyceraldehyde لمستخلص كالس نخيل التمر صنف البرحي.          | 6-4    |

|    |                                                                                                                                                                       |      |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 53 | تأثير اضافة منظمات النمو وحامض الجسمونك وتداخلاتهما في كمية مركب Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester لمستخلص كالس نخيل التمر صنف البرحي.                             | 7-4  |
| 54 | تأثير اضافة منظمات النمو وحامض الجسمونك وتداخلاتهما في كمية مركب 1,2,3-Propanetriol, 1-acetate لمستخلص كالس نخيل التمر صنف البرحي.                                    | 8-4  |
| 55 | تأثير اضافة منظمات النمو وحامض الجسمونك وتداخلاتهما في كمية مركب 2-(Isobutoxymethyl)oxirane لمستخلص كالس نخيل التمر صنف البرحي.                                       | 9-4  |
| 56 | تأثير اضافة منظمات النمو وحامض الجسمونك وتداخلاتهما في كمية مركب Benzophenone لمستخلص كالس نخيل التمر صنف البرحي.                                                     | 10-4 |
| 57 | تأثير اضافة منظمات النمو وحامض الجسمونك وتداخلاتهما في كمية مركب Dichloroxylenol لمستخلص كالس نخيل التمر صنف البرحي.                                                  | 11-4 |
| 58 | المركبات الكيميائية المشتركة بين كل عينة والعينة A لكالس نخيل البرحي.                                                                                                 | 12-4 |
| 59 | المركبات الكيميائية الفريدة بين كل عينة والعينة A لكالس نخيل البرحي.                                                                                                  | 13-4 |
| 66 | الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي بتركيز 300 ملغم / مل في تثبيط نمو بكتريا <i>E. Coli</i> .                                                     | 14-4 |
| 67 | الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي بتركيز 200 ملغم / مل في تثبيط نمو بكتريا <i>E. Coli</i> .                                                     | 15-4 |
| 68 | الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي بتركيز 100 ملغم / مل في تثبيط نمو بكتريا <i>E. Coli</i> .                                                     | 16-4 |
| 69 | الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي بتركيز 300 ملغم / مل في تثبيط نمو بكتريا <i>S. aureus</i> .                                                   | 17-4 |
| 70 | الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي بتركيز 200 ملغم / مل في تثبيط نمو بكتريا <i>S. aureus</i> .                                                   | 18-4 |
| 71 | الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي بتركيز 100 ملغم / مل في تثبيط نمو بكتريا <i>S. aureus</i> .                                                   | 19-4 |
| 72 | أقطار مناطق التثبيط (بالمليمتر) الناتجة عن تأثير المستخلصات النباتية المختلفة مقارنة بالمضاد الحيوي Amoxyclav ضد <i>E. coli</i> و <i>S. aureus</i> عند تراكيز مختلفة. | 20-4 |
| 80 | تأثير اضافة الجاسمونيك ومنظمات النمو على الفعالية المضادة للأكسدة بأختبار DPPH عند التركيز 120 ملغم لتر <sup>-1</sup> .                                               | 21-4 |
| 81 | تأثير اضافة الجاسمونيك ومنظمات النمو على الفعالية المضادة للأكسدة بتقنية DPPH عند التركيز 250 ملغم لتر <sup>-1</sup> .                                                | 22-4 |
| 81 | تأثير اضافة الجاسمونيك ومنظمات النمو على الفعالية المضادة للأكسدة بتقنية DPPH عند التركيز 500 ملغم لتر <sup>-1</sup> .                                                | 23-4 |

|      |                                                                                                                                              |    |
|------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 23-4 | تأثير اضافة الجاسمونيك ومنظمات النمو على الفعالية المضادة للأوكسدة بتقنية DPPH عند التركيز 1000 ملغم مل <sup>-1</sup> .                      | 82 |
| 25-4 | قيم التشابه الوراثي باستخدام مؤشرات RAPD بين معاملة الأصل الوراثي لنخيل التمر صنف البرحي ومعاملات الكالس الناتجة من الزراعة خارج الجسم الحي. | 86 |

### قائمة الاشكال والمخططات

| الشكل | العنوان                                                                                                                                                                                                                                 | الصفحة |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 1-2   | العلاقة بين تركيز الأوكسين والسيتوكينين ومسار تمايز الخلايا النباتية في زراعة الأنسجة.                                                                                                                                                  | 14     |
| 2-2   | آلية الإشارة الخلوية الناتجة عن تأثير المحفزات الحيوية واللاحيائية، والتي تؤدي إلى تنشيط الجينات الدفاعية وتخليق المركبات الأيضية الثانوية في النبات.                                                                                   | 16     |
| 3-2   | آلية الإشارات بين حامض الساليسيليك (SA) وحامض الجاسمونيك (JA) في خلايا النبات، ودورها في تنظيم استجابة الإجهاد من خلال إنزيمات الحماية المضادة للأوكسدة ومسار الكاينيز MAPK.                                                            | 18     |
| 1-3   | القمة النامية لنخيل التمر صنف البرحي بعد إزالة الأجزاء الجارحية.                                                                                                                                                                        | 26     |
| 2-3   | يوضح تصميم التجربة وعوامل الدراسة                                                                                                                                                                                                       | 29     |
| 3-3   | غرفة نمو الزراعة النسيجية خلال مرحلة تحفيز تكون الكالس لنخيل البرحي.                                                                                                                                                                    | 33     |
| 4-3   | الكالس ضمن الوسط MS المحفز باحامض الجاسمونيك ومنظمات النمو.                                                                                                                                                                             | 33     |
| 1-4   | المركبات الكيميائية التي ظهرت في تحليل GC-MS لمستخلص كالس نخيل التمر للعينة A بتوليفة (JA:0+2iP:2 +2,4-D:8 +NAA:40) ملغم لتر <sup>-1</sup> ).                                                                                           | 46     |
| 2-4   | المركبات الكيميائية التي ظهرت في تحليل GC-MS لمستخلص كالس نخيل التمر للعينة B بتوليفة (JA:2+2iP:2 +2,4-D:8 +NAA:40) ملغم لتر <sup>-1</sup> ).                                                                                           | 46     |
| 3-4   | المركبات الكيميائية التي ظهرت في تحليل GC-MS لمستخلص كالس نخيل التمر للعينة C بتوليفة (JA:4+2iP:2 +2,4-D:8 +NAA:40) ملغم لتر <sup>-1</sup> ).                                                                                           | 47     |
| 4-4   | المركبات الكيميائية التي ظهرت في تحليل GC-MS لمستخلص كالس نخيل التمر للعينة D بتوليفة (JA:0+2iP:4 +2,4-D:12 +NAA:60) ملغم لتر <sup>-1</sup> ).                                                                                          | 47     |
| 5-4   | المركبات الكيميائية التي ظهرت في تحليل GC-MS لمستخلص كالس نخيل التمر للعينة E بتوليفة (JA:2+2iP:4 +2,4-D:12 +NAA:60) ملغم لتر <sup>-1</sup> ).                                                                                          | 48     |
| 6-4   | المركبات الكيميائية التي ظهرت في تحليل GC-MS لمستخلص كالس نخيل التمر للعينة F بتوليفة (JA:4+2iP:4 +2,4-D:12 +NAA:60) ملغم لتر <sup>-1</sup> ).                                                                                          | 48     |
| 7-4   | المخطط الشجري لتحليل المركبات الكيميائية المستخلصة من كالس نخيل التمر نوعيا.                                                                                                                                                            | 62     |
| 8-4   | المخطط الشجري لتحليل المركبات الكيميائية المستخلصة من كالس نخيل التمر كميًا.                                                                                                                                                            | 63     |
| 9-4   | فعالية قرص المضاد الحيوي AMC (بتركيز 30 ميكروغرام / قرص) ضد بكتريا <i>E.coli</i> و <i>S.aureus</i> .                                                                                                                                    | 73     |
| 10-4  | فعالية المستخلص النباتي للعينة A (JA:0 + 2iP:2 + 2,4-D:8 + NAA:40) ملغم لتر <sup>-1</sup> بثلاث تراكيز (100,200,300) ملغم مل <sup>-1</sup> بالتتابع ضد <i>E. coli</i> و <i>S. aureus</i> . و استخدام DMSO بنسبة 1% كمجموعة سيطرة سلبية. | 73     |
| 11-4  | فعالية المستخلص النباتي للعينة B (JA:2 + 2iP:2 + 2,4-D:8 + NAA:40) ملغم لتر <sup>-1</sup> بثلاث تراكيز (100,200,300) ملغم مل <sup>-1</sup> بالتتابع ضد <i>E. coli</i> و <i>S. aureus</i> . و استخدام DMSO بنسبة 1% كمجموعة سيطرة سلبية. | 74     |

|    |                                                                                                                                                                                                                                                |      |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 74 | فعالية المستخلص النباتي للعينة C ( JA:4 + 2iP:2 + 2,4-D:8 + NAA:40 ) ملغم لتر <sup>-1</sup> ( بثلاث تراكيز (100,200,300) ملغم مل-1 بالتتابع ضد <i>E. coli</i> و <i>S. aureus</i> . و استخدام DMSO بنسبة 1% كمجموعة سيطرة سلبية.                | 12-4 |
| 75 | فعالية المستخلص النباتي للعينة D ( JA:0+2iP:4 + 2,4-D:12 + NAA:60 ) ملغم لتر <sup>-1</sup> ( بثلاث تراكيز (100,200,300) ملغم مل-1 بالتتابع ضد <i>E. coli</i> و <i>S. aureus</i> . و استخدام DMSO بنسبة 1% كمجموعة سيطرة سلبية.                 | 13-4 |
| 75 | فعالية المستخلص النباتي للعينة E ( JA:2+2iP:4 + 2,4-D:12 + NAA:60 ) ملغم لتر <sup>-1</sup> ( بثلاث تراكيز (100,200,300) ملغم مل-1 بالتتابع ضد <i>E. coli</i> و <i>S. aureus</i> . و استخدام DMSO بنسبة 1% كمجموعة سيطرة سلبية.                 | 14-4 |
| 76 | فعالية المستخلص النباتي للعينة F ( JA:4+2iP:4 + 2,4-D:12 + NAA:60 ) ملغم لتر <sup>-1</sup> ( بثلاث تراكيز (100,200,300) ملغم مل-1 بالتتابع ضد <i>E. coli</i> و <i>S. aureus</i> . و استخدام DMSO بنسبة 1% كمجموعة سيطرة سلبية.                 | 15-4 |
| 85 | شجرة القرابة الوراثية Dendrogram لستة معاملات (F-A) من كالس نخيل النمر (البرحي) مع معاملة الأصل الوراثي (G) حسب طريقة (UPGMA) Pair –Group Method using an arithmetic Average نتائج اربعة بواديء لمؤشرات التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال RAPD. | 16-4 |
| 86 | نواتج الـ PCR لمؤشرات RAPD بأستعمال اربعة بواديء (A9 و A10 و I14 و I16) لستة عينات لكالس النخيل البرحي (F-A) مع عينة الأصل الوراثي (G).                                                                                                        | 17-4 |



---

# الفصل الاول

---

[المقدمة]

## 1. المقدمة Introduction

كانت المجتمعات البشرية على تواصل وثيق مع بيئاتها منذ نشأتها الأولى، حيث استعانت بمكونات البيئة المحيطة لتأمين الغذاء والدواء. وقد تحقق وعي الإنسان بتوظيف النباتات في تحضير الغذاء والدواء من خلال أسلوب التجربة والخطأ، مما مكّنه تدريجيًا من تلبية احتياجاته من المصادر الطبيعية المحيطة به. لقد انتقلت المعرفة بالنباتات عبر الأجيال بشكل تدريجي، وتكامل هذا الإرث المعرفي مع نشوء الحضارات وتوفر الإمكانيات العلمية والمادية (Alum, 2024). تمتلك بعض النباتات خصائص مضادة للميكروبات وتستخدم في علاج أمراض مختلفة، إذ تُعزى الفعالية العلاجية للنباتات بدرجة كبيرة إلى احتوائها على مركبات كيميائية معقدة التركيب، تختلف في طبيعتها وتكوينها، وتُعرف بالمركبات الثانوية الأيضية (Arip et al., 2022).

يعد نخيل التمر *Phoenix dactylifera L.* من المحاصيل الاقتصادية المهمة التابعة لفصيلة النخيلية (Arecaceae)، والتي تضم حوالي 200 جنسًا وما يقرب من 2500 نوع (Al-Karmadi and Okoh, 2024). وكانت تُسمّى في بعض النصوص القديمة بشجرة الحياة وقد تم استخدام كل جزء من شجرة النخيل في حياة الإنسان. بالإضافة إلى أنها ذات قيمة غذائية تعتبر ثمارها مصدرًا هامًا وغنيًا بالطاقة لاحتوائها على العناصر الغذائية الرئيسية (Al-Badri, 2010).

تعتبر تقنية زراعة الأنسجة النباتية من التقنيات الحديثة التي تتميز بكفاءتها العالية في النباتات المنتجة وتجانسها في فترات قصيرة. والنباتات الناتجة متطابقة في التركيب الوراثي مع النوع الأصلي الذي أخذت منه الأنسجة النباتية وخالية من مسببات الأمراض والحشرات ويمكن أيضا مضاعفته على مدار العام (Mishra et al., 2024). ويتم إكثار نخيل التمر عن طريق زراعة الأنسجة في مسارين إما عن طريق تكوين البراعم من خلال تكوين الأعضاء أو بشكل غير مباشر عن طريق الكالس (Alkhateeb and Ali-Dinar, 2002)، أو التطور الجنيني الجسدي، إما مباشرة من النباتات المستأصلة (Karam et al., 2017)، أو بشكل غير مباشر عن طريق الكالس (Al-Khayri, 2005).

قد أثبتت زراعة الأنسجة أنها وسيلة مفيدة وفعالة في إنتاج الكثير من المواد الايضية الطبيعية والعقاقير الطبية مثل المركبات الفينولية والقلويدية والكلايكوسيدية والصابونينية كما أن معظم هذه المركبات لا يمكن تحضيرها كيميائيا بالمختبر، لذلك يمكن استخراجها من النباتات التي تحتويها

وبتراكيز عالية عبر هذه التقنية (Sanyal *et al.*, 2022). و ايضا تتيح الزراعة النسيجية دراسة الخصائص الأساسية لتمييز الخلايا، كما تُستخدم لتطبيق جوانب حديثة من علم الوراثة النباتي وتحسين الأصناف، مثل الإكثار الخالي من الفيروسات، وتحرير الجينوم، والحفاظ على الموارد (Krishna *et al.*, 2016).

يوفر الوسط الغذائي الأساسي جميع العناصر الغذائية والطاقة والماء اللازمة لنمو النباتات الصغيرة أو الأعضاء أو الأنسجة أو الخلايا النباتية. ويتطلب تنظيم العمليات التطورية في زراعة الأنسجة النباتية عادةً إضافة منظمات النمو النباتية (Plant Growth Regulators – PGRs). ويعتمد نجاح الإكثار الدقيق بشكل كبير على اختيار النوع المناسب من منظمات النمو وتركيزها الملائم. تُعد الأوكسينات والسيتوكينينات من أكثر منظمات النمو استخداماً، إذ تتحكم في النمو وتنظم تطور الأنسجة النباتية. وبشكل عام، تُساهم الأوكسينات في تحفيز انقسام الخلايا، بينما تعمل السيتوكينينات على تنظيم تمايزها (Sidik *et al.*, 2024). ومع ذلك، تتأثر الأنسجة النباتية المزروعة أيضاً بالجبرلينات (GAs)، والبراسينوستيرويدات (BRs)، والإيثيلين (ET)، وحامض الأبسيسيك (ABA)، وحامض الساليسيليك (SA)، والجاسمونات (JAs)، والتفاعلات فيما بينها (Phillips and Garda, 2019).

تقوم النباتات بتصنع المركبات النشطة بيولوجياً بشكل طبيعي كآلية دفاع ضد مسببات الأمراض. حيث تم العثور على نفس الطبيعة والاستجابة في النباتات عند معالجتها بمواد كيميائية محفزة (Elicitors). تقوم المحفزات بتحفيز الإجهاد والتي بدورها تحفز المسارات الأيضية الثانوية مما يؤدي إلى تخليق المركبات النشطة بيولوجياً. تم استخدام المستحضات اللاأحيائية والأحيائية في المختبر لتحفيز كمية كبيرة من المركبات النشطة بيولوجياً (القلويات، والألكاميدات، والجلوكوزينات، والتربين، والصابونين، والفلافونويدات، والفينولات، والكومارين) خلال فترة زمنية محدودة (Makowski *et al.*, 2020).

يُعتبر حامض الجاسمونيك من أهم المركبات المحفزة، ويُعرف أيضاً بجزيء الإشارة، إذ يشارك في استجابة النبات للضغوط البيئية (Afrin *et al.*, 2015). تُستخدم الجاسمونات لتحفيز الاستجابة الفسيولوجية في حالات الجرح، وغالباً ما تُوظف كمحفزات لإنتاج المركبات الثانوية في أنظمة الزراعة النسيجية المختلفة (Kamińska, 2021). نظراً لأن تراكيز منظمات النمو قد تؤثر أيضاً على الاستقرار الوراثي، تُستخدم تقنيات مثل مؤشرات RAPD، والتي أثبتت موثوقيتها في كشف التباينات الجينية والمحافظة على النوعية (Ferreira *et al.*, 2023).

وتعد *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* من البكتيريا الممرضة الشائعة، والتي تستخدم كنماذج لاختبار النشاط الحيوي للمركبات النباتية نظرًا لارتباطها بأمراض خطيرة ومقاومتها المتزايدة للمضادات الحيوية (Ibn Awadh, 2025).

## 2.1. أهداف الدراسة Study objectives

1. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم تأثير تراكيز مختلفة من منظمات النمو (2iP، NAA، D-2,4) بتداخل مع حامض الجاسمونيك، على تحفيز نمو الكالس وإنتاج المركبات الثانوية في صنف البرحي من نخيل التمر باستخدام تقنيات الزراعة النسيجية.
2. هناك حاجة ماسة للبحث عن المركبات الفعالة طبيا التي يمكن أن تؤدي زراعة الأجزاء النباتية في توليفات مختلفة من المحفزات خارج الجسم الحي إلى كفاءة أكثر في إنتاج المواد الفعالة طبيا للكالس.
3. تقدير وتحديد بعض المركبات الفعالة للأجزاء النباتية النامية في توليفات مختلفة من منظمات النمو خارج الجسم الحي.
4. اختبار فعالية المستخلص الكحولي للكالس ضد بعض الأحياء المجهرية وقياس فعاليتها كمضاد أكسدة.



---

## الفصل الثاني

---

[استعراض المراجع]

**1.2. نخيل التمر Date palm**

نخيل التمر (*Phoenix dactylifera L.*) هو محصول تجاري ذو أهمية كبيرة في النظم الغذائية والحياة الاجتماعية، لا سيما في شمال أفريقيا وشبه الجزيرة العربية. يُعتبر من أقدم النباتات المنزرعة، ويشكل مصدر دخل رئيسياً للمزارعين المحليين والصناعات المرتبطة به (Alqahtani, 2025). وتلعب دوراً هاماً في تنمية الزراعة المستدامة في المناطق المتضررة من الجفاف والملوحة في العالم (Al-Karmadi and Okoh, 2024).

يوجد أكثر من 5000 صنف من نخيل التمر موزعة حول العالم تختلف في السمات الغذائية والشكلية والوراثية، على الرغم من أن الأصناف التجارية محدودة العدد (Abul-Soad et al., 2017). يعتبر نخيل التمر الشجرة الأكثر أهمية لأنها لها استخدامات متعددة الأغراض بما في ذلك استخدام التمور كمواد خام لعدد متزايد من المنتجات الغذائية (Al-Karmadi and Okoh, 2024).

**2.2. الوصف النباتي لنخيل التمر صنف البرحي****Botanical Characterization of *Phoenix dactylifera* cv. Barhi**

يُعتقد أن صنف نخيل التمر البرحي، موطنه الأصلي محافظة البصرة في العراق. حيث يتميز بجذع سميك ومتوسط الارتفاع وأوراق خضراء منحنية بشكل معتدل. يتميز النخيل بلون أخضر غباري ويبدو كثيفاً وكروياً. الثمرة بيضاوية الشكل ومتوسطة الحجم. لون الثمرة أصفر معتم في مرحلة الخلال، يتحول إلى بني كهرماني في مرحلة الرطب ويتغير إلى اللون البني الذهبي في مرحلة الرطب (النضج). عادة، يتم إنتاج 3-5 فسائل فقط لكل نخلة في الطبيعة، لكن النخيل الذي نشأ من خلال عملية زراعة الأنسجة ينتج 10 فسائل أو حتى أكثر لكل نخلة (Zaid and De Wet, 1999).

**3.2. تصنيف النخيل التمر Taxonomic Classification of *Phoenix dactylifera***

نخيل التمر يندرج تحت المملكة Plantae حسب تصنيف (ITIS, 2025)، وضمن صف أحادييات الفلقة Liliopsida، رتبة Arecales، فصيلة Arecaceae، والجنس Phoenix، والاسم العلمي المقبول للنوع هو *Phoenix dactylifera L.* يوفّر هذا التصنيف إطاراً موحدًا للتسمية وتبادل البيانات، ما يسهّل المقارنة بين الدراسات والأصناف ويحد من الالتباس التصنيفي.

Kingdom: Plantae

Class: Magnoliopsida

Order: Arecales

Family: Arecaceae

Genus: *Phoenix L.*

Species: *Phoenix dactylifera L.*

#### 4.2. الأهمية التغذوية لنخيل التمر Nutritional importance of date palm

أفاد العديد من الباحثين أن التمر تعد مصدرا غنيا بالكربوهيدرات والطاقة والفيتامينات والمعادن (Perveen and Bokahri, 2020). يحتوي الجزء الصالح للأكل من التمر على 60 إلى 65% سكر وحوالي 2.5% ألياف و2% بروتين وأقل من 2% من كل من الدهون والمعادن ومواد البكتين (Aladele et al., 2010). وهو غني بالحديد واليوتاسيوم والكالسيوم، مع نسبة منخفضة جدًا من الصوديوم. كما توجد أيضًا كميات معتدلة من الكلور والفوسفور والنحاس والمغنيسيوم والسيليكون والكبريت في ثمار التمر (Tamirat et al., 2024).

اهتمت منظمة الأغذية والزراعة بأشجار النخيل باعتبارها محصول فاكهة مهما جدا في حل مشكلة انعدام الأمن الغذائي وسوء التغذية، وقد استثمرت في البحث في جوانب مختلفة من زراعة النخيل (Arias et al., 2016).

في الآونة الأخيرة، تم طرح بعض المنتجات الثانوية الجديدة *P. dactylifera* تجاريا مثل سكر التمر، والآيس كريم، والحلوى، وألواح التمر، والمشروبات الغازية وغير الغازية (Tang et al., 2013).

ويعد سكر التمر هو سكر بني مشتق من التمر، ويعتبر مُحليًا طبيعيًا ممتازًا. من حيث المحتوى الغذائي والنشاط المضاد للأكسدة، فإن هذا النوع من السكر يشبه إلى حد كبير ثمار *P. dactylifera* (Phillips et al., 2009). بالإضافة إلى ذلك، يُظهر سكر التمر قدرة محتملة مضادة لمرض السكر مما يجعله خيارًا جيدًا كمحلي بديل لمرض السكر (Ranilla et al., 2008). وهناك منتج ثانوي تجاري آخر للنخيل هو قهوة نواة التمر التي تم تقديمها كبديل للقهوة، وهي شائعة الاستخدام بين مواطني الخليج العربي (Ghnimi et al., 2015). يعتبر هذا النوع من القهوة مشروبًا صحيًا، وهو مصدر غني بالـ (NSPs) Non-starch polysaccharides والمعادن والمكونات الفينولية (Alem et al., 2017).

**Medicinal Importance of Date Palm****5.2. الأهمية الطبية لنخيل التمر**

يعد نخيل التمر من النباتات الغنية بالمعادن مثل البوتاسيوم والمغنيسيوم والصوديوم وهي الأكثر وفرة في التمر (Alem et al., 2017). بالإضافة إلى ذلك، تعد *P. dactyliferapits* مصدرًا جيدًا للزيوت الصحية، وخاصة أحماض الأوليك، والتي يمكن استخدامها لإنتاج المكونات الصيدلانية (El Sheikh et al., 2014). ونظرًا لوجود المركبات النشطة بايولوجيًا، فإن التمر يتمتع بقدرة على التخلص من الجذور الحرة (Ouamnina et al., 2024)، أيضا لها نشاط مضاد للميكروبات (Bhaskaracharya et al., 2023)، وخصائص مضادة للسرطان (Abdelbaky et al., 2023). وكما تظهر اغلب منتجات التمر نشاط مضاد للأكسدة ومضاد للطفريات (Al-Habsi, 2025).

ويحتوي النخيل على المحتويات العالية من NSPs ومضادات الأكسدة الموجودة في نواة التمر فرصة جيدة لاستخدامها في النظام الغذائي البشري (Niazi et al., 2017) ويمكن أن تكون مفيدة في الوقاية من بعض الأمراض (Sirisena et al., 2015). علاوة على ذلك، فإن المنتجات الثانوية المهمة لنخيل التمر مثل حبوب اللقاح، والتي تعتبر مصدرا للمستقلبات والبروتينات والأحماض الأمينية والأحماض الدهنية، التي تؤثر حياة البشر (Salhi et al., 2024) هناك أيضًا إمكانية لتطوير أقرص مغذية من مستخلصات حبوب اللقاح للتطبيقات الغذائية والعلاجية (Daoud et al., 2019).

**6.2. المركبات الايضية النباتية Plant Metabolites**

يتم دعم عمليات الحياة الأساسية في النباتات من خلال إنتاج المستقلبات الأولية. وتشمل هذه المستقلبات الأولية الكربوهيدرات والدهون والأحماض الأمينية. بالإضافة إلى ذلك، فإن النباتات قادرة أيضًا على إنتاج مستقلبات ثانوية لها دورًا مهمًا في تفاعلها مع الاجهاد البيئي وضد مسببات الأمراض (Yang et al., 2018). في الصناعة، تُستخدم المستقلبات الثانوية النباتية في إنتاج الأدوية لأنها تمتلك خصائص دوائية مختلفة وقد تم تحديد معظمها على أنها آمنة للأغراض الطبية (Seca and Pinto, 2018).

إن استخدام المستقلبات الثانوية النباتية في تصنيع الأدوية على الرغم من الاعتماد الحالي على الأدوية الكيميائية الاصطناعية يزيد من أهمية النباتات في الوقاية من الأمراض وعلاجها. ومع ذلك، فمن الصعب ضمان الإمداد المستمر بالمستقلبات الثانوية من المصادر النباتية لأن نمو النباتات في الطبيعة يتأثر بشدة بعوامل خارجية مثل التغيرات البيئية والمناخية (Wawrosch

(and Zotchev, 2021). بالإضافة لذلك، فإن معظم المركبات المنتجة من خلال عملية التمثيل الغذائي الثانوي للنباتات غالبًا ما تكون موجودة بكمية صغيرة جدًا، وبالتالي فهي غير كافية لاختبار مجموعة واسعة من الأنشطة البيولوجية (Guerriero *et al.*, 2018). ولذلك، يتم اتباع نهج التكنولوجيا الحيوية من خلال إدخال زراعة الأنسجة النباتية كبديل للمساعدة في إنتاج واستخلاص المستقلبات الثانوية القيمة بتقنيات أكثر دقة وبساطة، مقارنة بالاستخلاص من النباتات الكاملة المعقدة (Ozyigit *et al.*, 2023).

تتبع الفوائد الصحية للتمر من محتواه من المواد الكيميائية النباتية، المعروفة بخصائصها الدوائية، بما في ذلك مركبات الفلافونويد، والكاروتينات، والأحماض الفينولية، والستيرول، والبروسيانيدينات، والأنثوسيانين. أصبحت تكنولوجيا زراعة الخلايا في المختبر وسيلة جذابة لإنتاج الكتلة الحيوية والمركبات النشطة بيولوجيًا (Naik and Al-Khayri, 2017).

المركبات النشطة بيولوجيًا في *P. dactylifera* هي من نوعين، وهي الجزيئات المغذية وغير المغذية. ومن أمثلة الجزيئات النشطة بيولوجيًا غير الغذائية المكتشفة في النخيل هي الأحماض الفينولية، والكاروتينات، والفلافونويدات، والبولىفينول، والفيتوستيرول (Vayalil, 2013; Ramchoun *et al.*, 2017). يمكن اعتبار المجموعة الأخرى مركبات نشطة بيولوجيًا مغذية مثل NSPs، ألفا توكوفيرول، بيتا كاروتين، حامض الأسكوربيك، والسيلينيوم (Al-Farsi and Lee, 2008). وتعتبر هذه المجموعة الأخيرة مصدرًا هامًا للخصائص الغذائية والوظيفية.

### 1.6.2. المركبات النشطة بيولوجيًا الغذائية Nutritional Bioactive Compounds

يحتوي نخيل التمر على مركبات مغذية نشطة بيولوجيًا، والأكثر شيوعًا هي السكريات غير النشوية. وتلعب السكريات غير النشوية (NSPs) دورًا غذائيًا ووظيفيًا مهمًا في جسم الإنسان (Okonkwo *et al.*, 2025).

هناك نوعان من NSPs في نخيل التمر، NSPs القابلة للذوبان وغير القابلة للذوبان. تتكون NSPs القابلة للذوبان من البكتين و  $\beta$ -glucans، في حين تشمل NSPs غير القابلة للذوبان السليلوز والهيميسيلولوز واللجنين (Mrabet *et al.*, 2012). إلى جانب فوائدها الغذائية والصحية العديدة، تلعب NSPs القابلة للذوبان وغير القابلة للذوبان دورًا كبيرًا بشكل خاص في امتصاص ونقل مضادات الأكسدة الغذائية (Saura-Calixto, 2011).

وتشمل المواد النشطة بايولوجيا المغذية الأخرى التي تم اكتشافها في النخيل الفيتامينات والمعادن مثل حامض الأسكوربيك (فيتامين ج)، بيتا كاروتين (سلائف فيتامين أ)، ألفا توكوفيرول (سلائف فيتامين هـ)، والسيلينيوم. ومن المعروف أن حامض الأسكوربيك له خصائص مضادة للأكسدة إلى جانب قيمته الغذائية (Al-Farsi and Lee, 2008). في حين أن محتوى  $\alpha$ -توكوفيرول في النخيل يختلف بناءً على الصنف ومرحلة الفاكهة وظروف النمو والتطور، فإنه يلعب دوراً مهماً في حماية أغشية الخلايا من الأضرار التأكسدية إلى جانب تعزيز تكيف النخيل مع الإجهاد البيئي وتحسين النمو (Hadrami et al., 2011). وتم اكتشاف السيلينيوم في النخيل بمستوى عالٍ، وهو يعمل بمثابة إنزيم مساعد للإنزيم المضاد للأكسدة لحماية جسم الإنسان من الإجهاد التأكسدي والحفاظ على الدفاعات ضد العدوى (Al-Farsi and Lee, 2008).

### 2.6.2. المركبات النشطة بايولوجيا غير الغذائية

#### Non-nutritional Bioactive Compounds

يمكن تصنيف المستقبلات الثانوية النباتية بناءً على تركيبها الكيميائي الذي قسمها إلى ثلاث مجموعات رئيسية، وهي الفينولات والتربينويدات والقلويدات (Hussein and El-Anssary, 2019).

### 1.2.6.2. الفينولات Phenolic Compounds

المركبات الفينولية هي مستقبلات ثانوية نباتية تلعب أدواراً مهمة في مقاومة النبات. يعتمد تركيبها الكيميائي على حلقة عطرية واحدة على الأقل مرتبطة بواحدة أو أكثر من مجموعات الهيدروكسيل. يتم تصنيعها بشكل رئيسي من الحامض الأميني فينيل ألانين. الفينولات هي واحدة من أكبر مجموعات المواد الفعالة النباتية وأكثرها تنوعاً. تشارك هذه المركبات في تنظيم نمو النباتات، وتشارك أيضاً في الاستجابات الدفاعية للنبات أثناء العدوى والتعرض المفرط لأشعة الشمس والإصابات والإجهاد الناتج عن المعادن الثقيلة (Salunke and Koche, 2023).

كما تعمل المركبات الفينولية على فصل الفسفرة التأكسدية، وتحفيز انقسام الخلايا في الزراعة النسيجية في المختبر، وتمنع إنبات البذور. ويعتقد أن المركبات الفينولية لها دور في تنظيم نمو النبات وتطوره لأنها تؤثر على التخليق الحيوي لحامض الإندوليل-3-أسيستيك (Kovaleva et al., 2007). كما أن الفينولات هي المكونات الهيكلية للكتلة النباتية حيث تدخل في تخليق اللكتين، وهو مكون مهم لجدار الخلية الذي يغلف مكونات السليلوز، وينتج عناصر داعمة للأنسجة النباتية (Vanholme et al., 2010).

وتعد الأحماض الفينولية أكثر المركبات النشطة بايولوجيا وفرة في نخيل التمر، في حين أن الفيتوستيرول هي الأقل. وتشمل الأحماض الفينولية الموجودة حامض البروتوكاتيكويك، والجاليك، والكافيين، وحامض p-hydroxybenzoic، والفانيليك، والفيروليك، و syringic، وحامض p-coumaric، و o-coumaric (Jaiti *et al.*, 2009; Hadrami *et al.*, 2011).

يتميز تمر البرحي باحتوائه على نسب مرتفعة من المركبات الفينولية، والتي تسهم في النشاط المضاد للأكسدة والخصائص البيولوجية الأخرى. فقد أظهرت دراسة حديثة أن مستخلصات تمر البرحي الإيثانولية تحتوي على أعلى نسبة من الفينولات الكلية (10.53 ملغم/جم) والنشاط المضاد للأكسدة (65.83%)، مقارنةً بأصناف أخرى مثل المجهول، مما يعزز أهميته كمصدر طبيعي لتطبيقات غذائية وصيدلانية (Maria *et al.*, 2024). كما احتوت حبوب اللقاح في التمر على عدد من المركبات الفينولية (Al-Samarai *et al.*, 2016).

من المعروف أن الفينولات الموجودة في التمر تظهر أنشطة دوائية مختلفة بما في ذلك خصائص مضادة للشيخوخة، ومضادة للسرطان، ومضادة للأكسدة، ومضادة للفيروسات، ومضادة للميكروبات، مما يجعلها علاجًا لبعض الأمراض والوقاية من الالتهابات المزمنة. وبالإضافة إلى ذلك، فإنها تمنع الأضرار التأكسدية الناجمة عن نشاط البلعمة الخلايا الليمفاوية من مسببات الأمراض والآفات الغازية. بالإضافة للتحكم في مستوى الجلوكوز في الدم في مرض السكري من النوع الثاني (Vayalil, 2012).

ايضا هناك مجموعة فرعية كبيرة من المستقبلات الثانوية المصنفة كمركبات فينولية هي الفلافونويدات، منتشرة على نطاق واسع في جميع النباتات وبدائيات النوى (Woo *et al.*, 2002). تحمي مركبات الفلافونويد النباتات من الضغوط الحيوية وغير الحيوية المختلفة وتظهر مجموعة متنوعة من الوظائف البيولوجية وتلعب دورًا مهمًا في التفاعل بين النبات وبيئته. تمتص مركبات الفلافونويد الأشعة فوق البنفسجية الضارة التي تسبب ضرر خلوي (Ferreyra *et al.*, 2021). الفلافونويدات ليست ضرورية لبقاء النبات؛ ومع ذلك فهي نشطة بيولوجيا وتؤثر على نقل هرمون النباتي ألوكسين (Buer *et al.*, 2010).

وقد أبلغت دراسات أخرى عن وفرة من مركبات الفلافونويد في النخيل مثل luteolin، quercetin، kaempferol (El Hadrami and Al-Khayri, 2012). كما اوضحت دراسة Abu-Reidah *et al.*, (2017) ان مضادات الأكسدة الموجودة في التمر هي في المقام الأول الفلافونويد والأحماض الفينولية.

وفي دراسة أخرى وجد ان نخيل التمر يحتوي على الفلافونيدات مثل lincoceric acid, glycosides, gIsorhamnetin, chlorogenic acid, ferulic acid, naringin, apigenin, apigenin-7-O-beta glycopyranoside, letulin , letulin-7-O-beta .(Al-Samarrai *et al.*, 2017)

#### 2.2.6.2. التربينويدات Terpenoid Compounds

تلعب التربينويدات، التي تشكل المجموعة الأكثر وفرة وتنوعاً هيكلياً من المستقلبات الثانوية النباتية، دوراً مهماً في التفاعلات بين النبات والحشرات ومسببات الأمراض النباتية والنباتات .(Li *et al.*, 2023)

وقد تم استخدام المواد الكيميائية النباتية التيربينويد من قبل البشر كموا حيوية تقليدية في شكل مخاليط معقدة أو في شكل مركبات أكثر أو أقل نقية منذ العصور القديمة. تُستخدم التربينويدات النباتية على نطاق واسع كموا حيوية ذات صلة بالصناعة، بما في ذلك العديد من المستحضرات الصيدلانية والتكهات والعطور والمبيدات الحشرية والمطهرات، وموا أولية كبيرة الحجم للصناعات الكيميائية (Fatima *et al.*, 2023).

#### 3.2.6.2. القلويدات Alkaloid Compounds

تعتبر القلويدات واحدة من أكثر مجموعات المستقلبات الثانوية تنوعاً الموجودة في الكائنات الحية ولها مجموعة متنوعة من التراكيب ومسارات التخليق الحيوي والأنشطة الدوائية. على الرغم من أنه تم عزل القلويدات تقليدياً من النباتات، إلا أنه يمكن العثور على أعداد متزايدة منها في الحيوانات والحشرات واللافقاريات البحرية والكائنات الحية الدقيقة. تم استخدام العديد من القلويدات منذ مئات السنين في الطب، ولا يزال بعضها من الأدوية البارزة حتى الآن. ومن ثم، فقد حظيت هذه المجموعة من المركبات بأهمية كبيرة في العديد من المجالات العلمية ذات الصلة، ولا تزال تحظى باهتمام كبير (Karakoçi *et al.*, 2023).

حيث تعتبر القلويدات مركبات كيميائية مهمة تعمل كمستودع غني لانتاج الأدوية. تظهر العديد من القلويدات المعزولة من الأعشاب الطبيعية تأثيرات مضادة للبكتيريا ومضادة للفيروسات ومبيدات حشرية ومضادة لأنواع مختلفة من السرطانات سواء في المختبر أو في الجسم الحي (Shi *et al.*, 2014).

## 7.2. زراعة الأنسجة النباتية Plant Tissue Culture Techniques

أثبتت تقنيات زراعة الخلايا والأنسجة والأعضاء النباتية فعاليتها كآلية حيوية لإنتاج ودراسة المستقلبات الثانوية في النباتات. وقد استُخدمت استراتيجيات داخل المختبر مثل الإضافة التحفيزية (elicitation)، الزراعة المعلقة (Suspension culture)، وزراعة الجذور الشعرية (Hairy root culture) بشكل واسع من أجل تحسين إنتاج هذه المركبات ذات القيمة الدوائية. وتُعد هذه النظم من الوسائل المرنة التي تسمح بالتحكم في المسارات الأيضية المنظمة لتخليق المستقلبات الثانوية، مما يجعلها خيارًا عمليًا لتلبية الطلب المتزايد على هذه المركبات. وبذلك، توفر زراعة الأنسجة النباتية منصة مستدامة وقابلة للتطوير لإنتاج المركبات العلاجية المهمة، فضلاً عن تمكين الحصول على مركبات جديدة لم تكن معروفة سابقًا (Fazili et al., 2022).

تم إحراز تقدم كبير في أولى التجارب الناجحة في الزراعة النسيجية لنخيل التمر لتحسين تجديد النبات من خلال التولد العضوي العرضي والتولد الجنيني الجسدي. تم إجراء العديد من الدراسات لتحسين كفاءة التجديد من خلال فحص مكونات وسط الاستزراع بما في ذلك الحالة الفيزيائية (Nimavat and Parikh, 2024; Abdulkareem, 2024).

تشير زراعة الأنسجة النباتية إلى نمو وتكاثر الخلايا والأنسجة وأعضاء النباتات على أوساط صلبة أو سائلة محددة في ظل بيئة معقمة وخاضعة للرقابة المختبرية (Ahloowalia et al., 2004). وتعتبر تكنولوجيا زراعة الأنسجة من التقنيات الحديثة التي تتميز بكفاءتها العالية من حيث وفرة وتجانس النباتات المنتجة في فترة زمنية قصيرة، وتكون النباتات الناتجة متطابقة من حيث التركيب الوراثي للنبات الأم التي أُخذ منها الخلايا أو النسيج النباتي، كما يمكن إكثارها على مدار العام دون التقيد في موسم معين (Zaid et al., 2011).

تعد تقنيات زراعة الأنسجة النباتية من أدوات التكنولوجيا الحيوية الأكثر استخدامًا للأغراض الأساسية والتطبيقية التي تتراوح بين التحقيق في عمليات نمو النبات، ودراسات الجينات الوظيفية، والتكاثر الدقيق للنباتات التجارية، وتوليد النباتات المحورة وراثيًا ذات سمات صناعية وزراعية محددة، وتربية النباتات وتحسين المحاصيل، ومنع الإصابة بالفيروسات والحفاظ على الأصول الوراثية للمحاصيل النباتية المتكاثرة، وإنقاذ الأنواع النباتية المهددة أو المهددة بالانقراض. بالإضافة إلى ذلك، تعد مزارع الخلايا والأعضاء النباتية ذات أهمية لإنتاج المستقلبات الثانوية ذات الأهمية الصناعية والصيدلانية (Loyola-Vargas and Ochoa-Alejo, 2018).

قد يختلف النمو الأمتل وتشكل الأنسجة باختلاف النباتات وفقاً لمتطلباتها الغذائية. وكذلك قد يكون للأنسجة من أجزاء مختلفة من النباتات متطلبات مختلفة للنمو. تم تطوير وسائط زراعة الأنسجة لأول مرة من المحاليل الغذائية المستخدمة في زراعة النباتات الكاملة، على سبيل المثال. وسط زراعة الجذر للأبيض و وسط زراعة الكالس في Gautheret. وتشتمل الاوساط الأساسية المستخدمة بشكل متكرر وسط (MS)، ووسط (LS)، ووسط (Bs)، ووسط (NN) (Saad and Elshahed, 2012).

ايضا تتطلب تغذية الزراعة النسيجية وسطاً يتكون من الأملاح غير العضوية والمركبات العضوية بالإضافة إلى مصدر الكربون ومنظمات نمو النبات (Sidik et al., 2024). يتأثر النجاح في تطبيق الزراعة النسيجية بشكل كبير بطبيعة وسط الزراعة المستخدم. قد يكون الاختلاف الأكثر أهمية بين الوسائط هو مستوى الملح الإجمالي، وبشكل أساسي كمية ونوعية مصدر النيتروجين (Murashige and Skoog, 1962).

من المهم جداً عند اختيار الوسط الأخذ في الاعتبار أن بعض مكونات وسط الزراعة يمكن أن يكون لها تأثير عميق جداً إما في نمو المزروعات أو في عملية التمايز (George and De Klerk, 2008). هناك العديد من الاوساط الزرعوية و ان اختيار الوسط يعتمد على الهدف المراد الوصول إليه.

## 8.2. منظمات النمو النباتية Plant Growth Regulators (PGRs)

يتم تعريف منظمات نمو النبات على أنها مركبات عضوية صناعية أو طبيعية تؤثر على العملية البيولوجية في النباتات العليا عند تركيزات منخفضة جداً (Rademacher, 2015). عندما تصنع هذه المركبات بشكل طبيعي داخل النبات فإنها تُعرف باسم الهرمونات النباتية، ولكن عند تطبيقها خارجياً فإنها تُسمى منظمات نمو النبات (PGRs) (Davies, 2004). يمكن لمنظمات النمو زيادة أو تقليل النمو والتطور عن طريق تغيير طبيعة العمليات البيولوجية في النبات (Rademacher, 2015).

حيث تؤثر منظمات النمو بشكل مباشر على نمو وتمايز أجزاء مختلفة من النبات. تعتمد أنشطة منظمات نمو النبات على تركيزها والعوامل البيئية التي تؤثر على امتصاصها والحالة الفسيولوجية للنبات. تتمتع منظمات نمو النبات بالقدرة على التأثير على انقسام الخلايا وبنيتها وتوسعها ووظيفتها والتوسط في الإجهاد البيئي حتى في التراكيز المنخفضة (Farman et al., 2019). تنتج جميع النباتات بشكل طبيعي هرمونات استجابةً لمحيطها الذي ينظم نموها وتطورها وأيضها. يتم تصنيع

الهرمونات في مواقع مختلفة مثل الجذور والبراعم والأوراق، ثم يتم نقلها إلى مواقع مستهدفة بعد الارتباط بمستقبلات محددة (Rademacher, 2015).

كما تتحكم الهرمونات في استطالته الخلايا وتميزها وتؤثر على استجابات النباتات للضغوط البيئية. ويمكنها إثارة استجابات متعددة اعتماداً على الأنسجة المستهدفة ومراحل نمو النبات والتراكيز النسبية وامتصاص وتخزين الماء والمواد المغذية الأخرى والظروف المناخية (Ferguson and Grafton-Cardwell, 2014).

حيث توجد هذه الهرمونات بتركيزات منخفضة في أنسجة النبات، مما يسبب تحديات كبيرة في عزل وتحديد واستخراج كميات مناسبة للاختبارات المعملية. باستخدام الهرمونات الصناعية، ويمكن التحكم في عمليات مماثلة، مثل تكوين ونمو البراعم والزهور والفواكه والجذور (Flasiński and Hąc-Wydro, 2014).

تم تصنيف الفئات الخمس التالية من الهرمونات هي : الأوكسينات، والجبرلينات، والسيتوكينينات، وحامض الأبسيسيك، والإيثيلين. ولكل منها تأثيرات فريدة، ومع ذلك فهي قادرة على العمل معاً بشكل تآزري أو متعاكس لممارسة استجابات أخرى داخل النبات. ومن بين منظمات النمو التي تم اكتشافها وتصنيفها حديثاً هي : البوليأيمينات، والجاسمونات، والبراسينوستيرويدات، وحامض الساليسيليك، والأوليغوساكارين، والتريازولات (Beyl, 2011).

## 9.2. تأثير منظمات النمو في الزراعة النسيجية

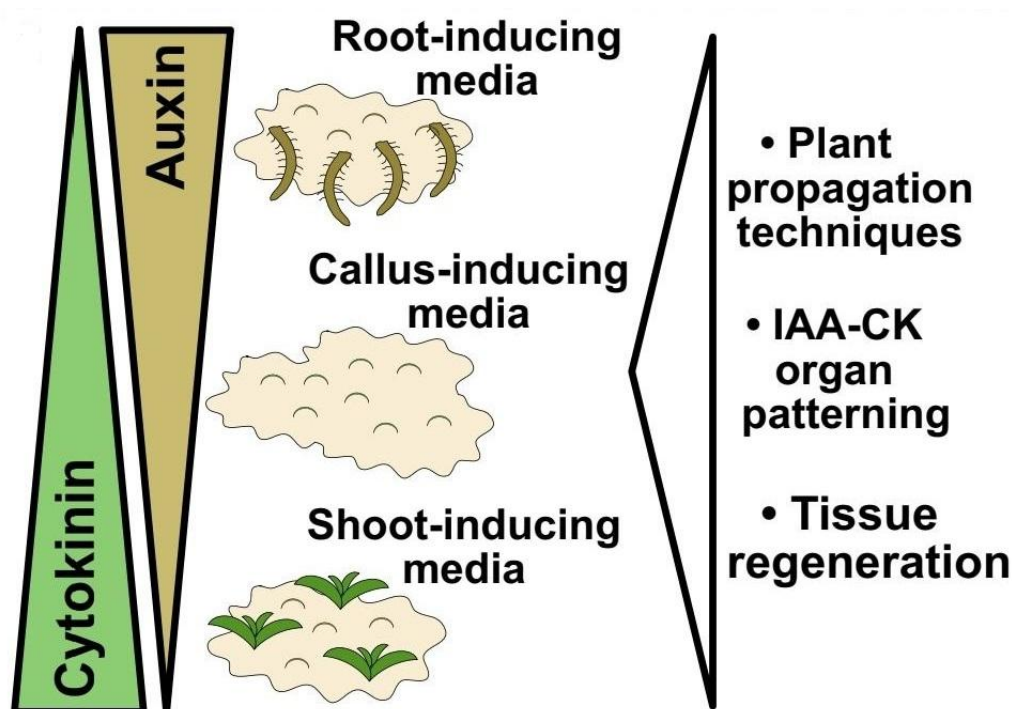
### Role of Plant Growth Regulators in Tissue Culture

يتم إضافة منظمات النمو النباتية (خاصة السيتوكينينات والأوكسينات) إلى وسط الزراعة النسيجية لغرض التحكم في الاستجابات الفسيولوجية المختلفة في المختبر، مما يؤدي إلى إنتاج الأنسجة (مثل الكالس) أو الأعضاء (مثل البراعم والجذور) أو النباتات الكاملة (Werbrouck *et al.*, 1996).

حيث تؤدي النسبة العالية من الأوكسين إلى السيتوكينين إلى تحفيز تكوين الجذور في البراعم، وبدء تكوين الكالس في النباتات أحادية الفلقة، وبدء التخلق الجنيني الجسدي (مع TDZ أو NAA بدلاً من IAA). تؤدي النسب المتوسطة من الأوكسين إلى السيتوكينين إلى تحفيز تكوين الجذر العرضي من الكالس وبدء تكوين الكالس في النباتات ثنائية الفلقة. تؤدي النسب المنخفضة من الأوكسين إلى السيتوكينين إلى تحفيز تكوين البراعم العرضية وإنتاج البراعم الإبطية

في مزارع البراعم. لذلك، فإن تفاعلات السيتوكينين والأوكسين حاسمة في التحكم في العديد من عمليات النمو والتطور في المختبر (Gaba, 2005).

كما تعمل الأوكسينات والسيتوكينينات بشكل تآزري للتحكم في انقسام الخلايا في الخلايا غير المتميزة (George *et al.*, 2007)، وتحفيز تكوين الكالس وانتشار الكالس بشكل أكبر. من الناحية النظرية، افترض أن كميات متساوية من الأوكسين والسيتوكينين تعزز تحريض الكالس (Vijay Kumar *et al.*, 2014). يوضح الشكل (1-2) أن النسب الكمية بين الأوكسين والسيتوكينين تحدد ما إذا كان الكالس سيتمايز إلى جذور، براعم، أو يبقى ككالس غير متميز (Melnyk, 2023).



شكل (1-2): العلاقة بين تركيز الأوكسين والسيتوكينين ومسار تمايز الخلايا النباتية في زراعة الأنسجة (Melnyk, 2023).

حيث أوصى Khierallah and Bader, (2006) بتركيبية 1 ملغم لتر<sup>-1</sup> حامض النفثالين الأسيتيك (NAA)، و1 ملغم لتر<sup>-1</sup> 2-حامض النفثوكسي الأسيتيك (NOAA)، و4 ملغم لتر<sup>-1</sup> -6-(ثنائي ميثيل الأيلامينو) البيورين (2iP)، و2 ملغم لتر<sup>-1</sup> 6-بنزيل أمينو البيورين (BAP) لنخيل التمر صنف مكتوم. واستخدم Khan and Bi, (2012) 0.5 ملغم لتر<sup>-1</sup> BAP و0.5 ملغم لتر<sup>-1</sup> كينيتين لتكاثر براعم البراعم في صنف دهكي (Dhakki). بينما Al-Mayahi, (2014) اقترح تركيبية 1 ملغم لتر<sup>-1</sup> BAP و0.5 ملغم لتر<sup>-1</sup> TDZ للصنف حلاوي. وبالمقارنة مع العديد

من أصناف نخيل التمر الأخرى، فإن صنف مجهول هو الأكثر مقاومة للتكاثر الدقيق. وعلاوة على ذلك، تم الإبلاغ عن بعض الاضطرابات الفسيولوجية التي تعيق التجديد من خلال تكوين الأعضاء مثل فرط الترطيب، وتغير لون الأنسجة، والتجذير المبكر في العديد من أصناف نخيل التمر (Mazri, 2015).

## 10.2. المحفزات الاحيائية وللأحيائية ودورها في تنشيط المسارات الأيضية الثانوية في الخلايا النباتية

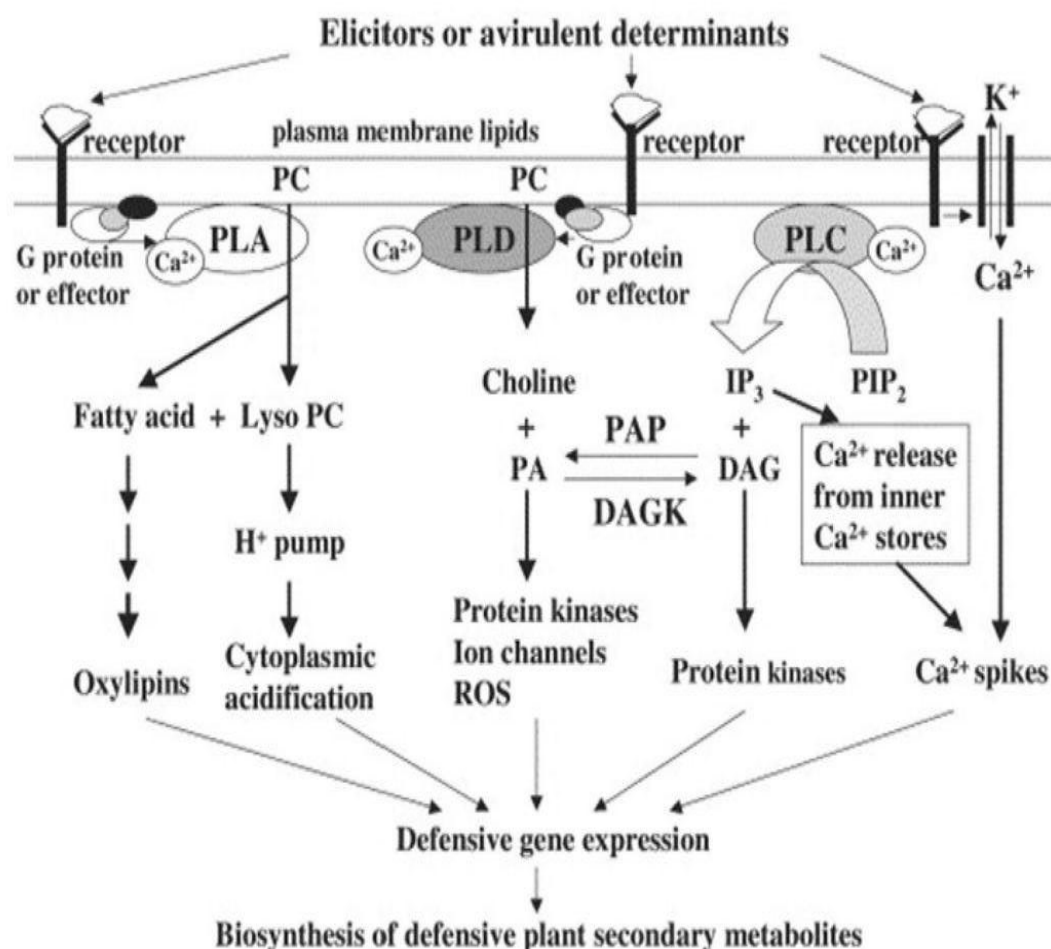
### Biotic and Abiotic Elicitors in the Activation of Secondary Metabolism in Plant Cells

تقوم النباتات بتصنيع المركبات النشطة بيولوجيا بشكل طبيعي كآلية دفاع ضد مسببات الأمراض. تم العثور على نفس الطبيعة والاستجابة في النباتات عند معالجتها بمواد كيميائية الأصل المسببة للأمراض (Elicitors). فالمحفزات هي الإجهادات التي تحفز المسارات الثانوية مما يؤدي إلى تخليق المركبات النشطة بيولوجيا الموضحة في الشكل (2-2). تم استخدام المستحضات اللاأحيائية والاحيائية في المختبر لتحفيز كمية كبيرة من المركبات النشطة بايولوجيا (القلويات، والألكاميدات، والجلوكوزينات، والتربين، والصابونين، والفلافونويدات، والمنشطات، والفينولات، والكومارين) خلال فترة زمنية قصيرة (Naik and Al-Khayri, 2016; Alsoufi *et al.*, 2019; Makowski *et al.*, 2020). يمكن تحقيق إنتاج أفضل وأكبر للمستقلبات الثانوية النباتية في المختبر من خلال إضافة المستحضات في وسط نمو النبات (Akula and Ravishankar, 2011). وهناك العديد من الدراسات حول مثيرات المستخلصات الفطرية والبكتيرية والخميرية (YE)، والمعادن الثقيلة، والهرمونات لمختلف المركبات النشطة بايولوجيا (Shakya *et al.*, 2019).

في الخلايا النباتية المزروعة في المختبر، مثل الكالس أو مزارع تعليق الخلايا، يمكن أن تنتج مركبات مفيدة صناعياً ونشطة بايولوجيا و ذات نشاط مضاد للأكسدة كبير عند تحفيزها (Ali *et al.*, 2018; Naik and Al-Khayri, 2018).

إن تطبيق هذه المحفزات في مزارع الخلية المعلقة سيعزز تراكم المركبات الفينولية. ويمكن تحفيز تراكم المستقلبات الثانوية في زراعة الخلايا النباتية بواسطة المستحضات. تم استخدام أنواع مختلفة من المثيرات ذات الأصل البيولوجي، بما في ذلك بقايا جدار الخلية النباتية (مثل البكتين والسليلوز) والسكريات من الكائنات الحية الدقيقة (مثل الكيتين والجلوكان)، وجزينات الإشارة المناعية النباتية (حامض الساليسيليك، وميثيل ساليسيلات، وحامض البنزويك، وجاسمونات الميثيل). تشمل المثيرات ذات الأصل غير البيولوجي: الأملاح غير العضوية، والمعادن الثقيلة،

والأشعة فوق البنفسجية، والملوحة العالية والضغط العالي. وقد تم استخدام تطبيق جاسمونات الميثيل المرتبطة بالمناعة على نطاق واسع بشكل خاص (Lee *et al.*, 2010). وبينت نتائج Al-Khayri, (2010) ضرورة إضافة حليب جوز الهند إلى الأوساط الغذائية الخاصة بزراعة الكالس وتكوين الاجنة وتمايزها، في حين أوصى El- Sharabasy and Ghazzawy, (2019) بإضافة حليب جوز الهند والكازين هيدروليزيت كمحفزات لنمو نخيل التمر صنف البرحي خارج الجسم الحي.



شكل (2-2): آلية الإشارة الخلوية الناتجة عن تأثير المحفزات الاحيائية واللاأحيائية، والتي تؤدي إلى تنشيط الجينات الدفاعية وتخليق المركبات الأيضية الثانوية في النبات (Bhaskar, 2022).

## 11.2. حامض الجاسمونيك Jasmonic acid

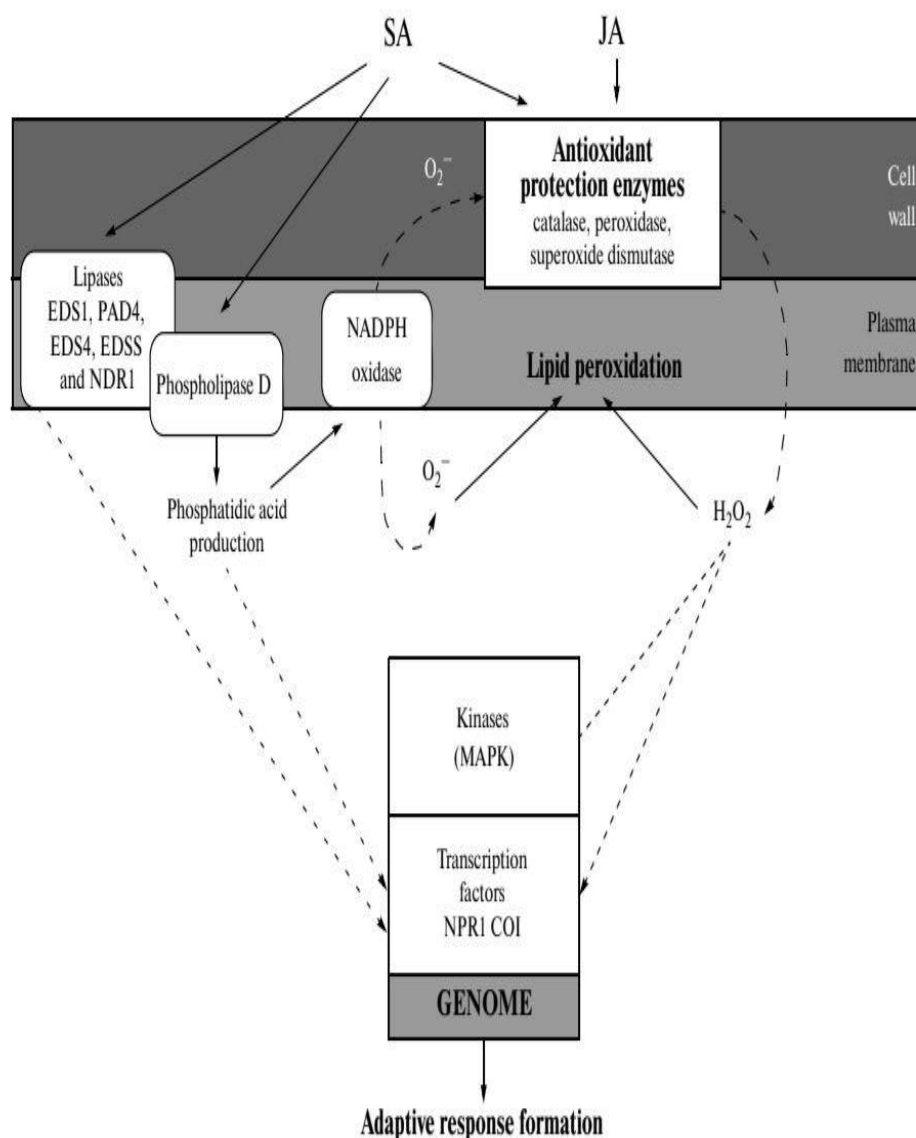
تعد الجاسمونات من منظمات النمو التي تم اكتشافها حديثاً في المملكة النباتية (Ghasemi Pirbalouti *et al.*, 2014). أهمها حامض الجاسمونيك (JA) و جاسمونات الميثيل (MEJA)، حيث يشارك في أنشطة فسيولوجية مختلفة في النبات وأثبتت فعاليتها في تحسين مقاومة النبات

لمختلف ظروف الإجهاد ، وخاصة الظروف الملوحة و الجفاف ودرجة الحرارة و الاصابة بالحشرات ومدى تأثيرها يعتمد على نوع النبات والجرعة المستخدمة ، حيث أن لديها أدوار مهمة تساعد النبات على التكيف مع الاختلافات البيئية ، ويعتبر مشتقات من استقلاب الأحماض الدهنية (Al-Qatrani *et al.*, 2021).

يعد حامض الجاسمونيك (JA) وجاسمونات الميثيل (MeJA) وحامض الساليسيليك (SA) من منظمات نمو النبات التي تلعب أدوارًا حاسمة في تنظيم شبكات الإشارات الدفاعية ضد مسببات الأمراض أو الحشرات العاشبة كما في الشكل (2-3) (Per *et al.*, 2018).

تقوم النباتات بتنشيط مسارات متعددة لنقل الإشارات مثل إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) عند اكتشاف مسببات الأمراض، مما يؤدي إلى التعبير الجيني وتخليق بروتينات الدفاع ، وتراكم المستقبلات الثانوية (Zhao *et al.*, 2005). يتم استخدام المستحضات اللاأحيائية مثل حامض الجاسمونيك (JA) وحامض الساليسيليك (SA) بشكل متكرر لتعزيز إنتاج المستقبلات الثانوية. يلعب SA، الذي يتم تصنيعه إما عن طريق مسارات الفينيل ألانين (Phenylalanine) أو مسارات الإيزوكوريسمات (Isochorismate)، دورًا رئيسيًا في المقاومة المكتسبة المنهجية (SAR) أثناء هجوم مسببات الأمراض في النباتات (Klessig *et al.*, 2018).

ويقوم JA بتعديل إشارات مسار الأوكتاديكانويد (octadecanoid) ويلعب دورًا حيويًا في تحمل النبات للإجهاد من خلال تعديل الاستجابات الدفاعية (Rehman *et al.*, 2023). يؤدي كل من JA وSA، إلى استجابات مشابهة للتعرض لمسببات الأمراض أو غيرها من المحفزات (Giri and Zaheer, 2016). حيث تبدأ مسارات نقل الإشارة التي تؤدي إلى نسخ جينات مختلفة وبالتالي تؤدي إلى تراكم الجزيئات مثل البولي فينول، والقلويدات، والتيربينويدات، والستيرويدات المشاركة في الدفاع عن النباتات ومقاومتها (Giri and Zaheer, 2016). ومن المعروف أن هذه المستقبلات الثانوية لها مجموعة من الأنشطة الدوائية مثل مضادات السرطان، ومضادات السكر، ومضادات الربو، ومضادات الملاريا، ومضادات الميكروبات، ومضادات الفيروسات. وقد تم استخدامها في الطب إما بشكل مباشر أو كنقطة انطلاق لاكتشاف الأدوية (Awuchi, 2019). ويجب تحسين العديد من الشروط لإنتاج مستقبلات ثانوية بواسطة المستحضات بما في ذلك التركيز وعمر الخلية و مرحلة الزراعة المعينة (Ochoa-Villarreal *et al.*, 2015).



شكل (2-3): آلية الإشارات بين حامض الساليسيليك (SA) وحامض الجاسمونيك (JA) في خلايا النبات، ودورهما في تنظيم استجابة الإجهاد من خلال إنزيمات الحماية المضادة للأكسدة ومسار الكاينيز MAPK (Kalachova, 2012).

## 12.2. تأثير الجاسمونيك في الزراعة النسيجية

### Impact of Jasmonic Acid on Plant Tissue Culture

يشكل التخليق الحيوي لمنظمات نمو النبات بما في ذلك الجبرلينات (GAs)، والأوكسين، والسيتوكينين (CT)، وحامض الأبسيسيك (ABA)، والإيثيلين (ET)، وحامض الجاسمونيك (JA)، والبراسينوستيرويد (BR)، وأكسيد النيتريك (NO)، وحامض الساليسيليك (SA)،

والستريجولاكتون (SL) استراتيجية فعالة للنباتات للاستجابة لظروف الإجهاد (Ahmad *et al.*, 2021).

تناولت العديد من الأبحاث العلمية دور حامض الجاسمونيك في تعزيز العمليات الأيضية الثانوية لدى النباتات، و يساهم في تفعيل مسارات التخليق الحيوي للمركبات الفينولية والتربينويدية عبر تنظيم التعبير الجيني للإنزيمات المعنية بهذه المسارات. فقد أشار دراسة Kamińska, (2021) إلى أن الجاسمونات، ومنها الجاسمونيك، تؤدي دورًا تنظيميًا دقيقًا في الأيض الثانوي، بشرط أن تُستخدم ضمن حدودها الفسيولوجية الملائمة، مما يسمح للنبات بإنتاج مركبات دفاعية دون الإخلال بالتوازن الحيوي.

وفي دراسة أخرى، أظهر (Nafie *et al.* (2011) أن معاملة بحامض الجاسمونيك أدت إلى تحفيز واضح لنشاط إنزيمات مضادة للأكسدة، شملت الكاتالاز والبيروكسيداز، إضافة إلى زيادة تراكم مركبات نشطة كحامض الأسكوربيك والكومارين، دون التأثير على نمو الخلايا، مما يعكس دور الجاسمونيك في التنسيق بين الدفاع الخلوي والنمو. كما لوحظ أن أحد آليات هذا التنظيم تعود إلى تعزيز إنتاج  $H_2O_2$  ، الذي يعمل كإشارة لتحفيز الاستجابة الدفاعية.

وكما بين (Al-Qatrani *et al.* (2021) أن تطبيق الجاسمونيك أو الساليسيليك بتركيزات منخفضة ساعد في تحسين نمو الكالس، سواء تحت الظروف البيئية المثلى أو في ظل الإجهاد الملحي، وهو ما يعزز من إمكانية استثمارهما في تحسين الكفاءة الفسيولوجية للأنسجة المستزرعة مختبرياً.

## Types of Plant Cell and Tissue Cultures

## 13.2. أنواع مزارع الخلايا

يمكن استخدام كل جزء من النبات تقريباً كمادة أولية (Explant). من بين أنواع النباتات المستأصلة المستخدمة بشكل متكرر، هناك أجزاء من الأوراق، أو الأنسجة المرستمية المعزولة، أو تحت الفلقات، أو أجزاء الجذر وغيرها. لبدء الزراعة، ينبغي أن تؤخذ ثلاثة اعتبارات هامة: أ) اختيار Explant ب) اختيار الاوساط المناسبة والظروف البيئية المناسبة لتنميتها. ج) عزل وحفظ الكالس للتجارب اللاحقة (Loyola-Vargas *et al.*, 2008).

من أكثر الطرق شيوعاً لإنتاج المركبات الثانوية هي:

## 1.13.2. مزارع الكالس Callus culture

لدى خلايا النباتات القدرة على التطور إلى نباتات أو أعضاء كاملة ، وتسمى هذه الخصائص الفريدة بـ "totipotency". ونظرًا لهذه الخاصية الفريدة للخلايا النباتية، تُستخدم الزراعة النسيجية حاليًا لمعالجة إمكانات التخليق الحيوي للنباتات (Cseke *et al.*, 2016). يمكن تربية أنسجة النباتات في المختبر وتجديدها إلى نباتات كاملة/ الكالس تعتمد على وسط الزراعة الذي يحتوي على مواد غذائية وهرمونات نمو النباتات الضرورية.

الكالس هو مجموعة من الخلايا المشتقة من أنسجة متخصصة يتم استزراعها في ظروف مختبرية لتكوين كتلة غير متميزة من الخلايا (Kurup *et al.*, 2009). تنتج النباتات خلايا الكالس بعد تعرضها لظروف النمو القاسية المختلفة، ويحدث في معظم الظروف المختبرية عن طريق التحفيز الهرموني (Ikeuchi *et al.*, 2013). عادة، يلعب الأوكسين بمفرده أو بالاشتراك مع أنواع أخرى من الهرمونات دورًا مهمًا في تحفيز أنسجة الكالس من الأنسجة النباتية المستأصل (Cseke *et al.*, 2016).

حيث تتضمن زراعة الكالس نمو الكالس (المكون من خلايا متميزة وغير متميزة)، والذي يتبعه إجراء يحفز تمايز الأعضاء. بناءً على البنية الفيزيائية، ينقسم الكالس إلى ثلاث فئات مثل الكالس المدمج (Compact)، العقدية (Nodular)، والهش (Friable). يكون الكالس الهش أكثر بروزًا ويمكن الحصول عليه من خلال الزراعة النسيجية المتعاقبة. هذا النوع من الكالس مناسب للتكاثر، وإنشاء مزارع الخلايا المعلقة، وإنتاج المستقلب الثانوي. حاليًا، يتم إنتاج أنواع كثيرة من المستقلبات الثانوية بنجاح من زراعة الكالس مزارع الخلايا المعلقة (Khafagi, 2007).

كخطوة أولى في العديد من تجارب زراعة الأنسجة، من الضروري تحفيز تكوين الكالس من النبات المستأصل الأولي. قد يكون هذا النبات المستأصل عبارة عن من جذور أو سيقان أو أوراق أو أعضاء تكاثرية معقمة (Constabel, 2012).

## 2.13.2. مزارع الخلايا المعلقة Cell suspension cultures

تستخدم تقنية زراعة الخلايا النباتية خلية واحدة يمكن زراعتها في وسط سائل (cell suspension) من أجل تحسين إنتاج المنتج الطبيعي المرغوب (Motolinía-Alcántara *et al.*, 2021). عادةً ما يبدأ إنشاء مزارع تعليق الخلايا عن طريق تلقیح الكالس الهش (أي يمكن تكسيره إلى قطعة صغيرة بعناية شديدة) في وسط سائل داخل القوارير ووضعه على هزاز دوار.

عندما تتشكل الخلايا الجديدة، تنتشر الخلايا في جميع أنحاء الوسط السائل لتشكل مزرعة الخلية المعلق. وبعد مرور أسبوعين إلى ثلاثة أسابيع، يتم نقل الخلايا المعلقة إلى وسط جديد بينما يتم التخلص من القطع الأكبر حجمًا (Sahraroo *et al.*, 2016; Yue *et al.*, 2016).

يمكن رصد نمو الخلية المعلقة عن طريق حجم الخلية المعبأة ويمكن تقدير كثافة الخلية باستخدام عداد الكريات. هناك عدد هائل من مزارع الخلايا النباتية التي تنتج كمية أكبر من المنتج الطبيعي مقارنة بالنبات الأم بأكمله، ومع ذلك، لا تزال هناك مشكلة في إنتاج المستقلب الثانوي من مزارع الخلايا المعلقة الناتجة عن انخفاض الإنتاجية وبطء النمو، ويمكن حل هذه المشكلة من خلال تحسين حالة النمو والمتطلبات الغذائية للخلايا (Lyu *et al.*, 2022).

### 3.13.2. مزارع الشعيرات الجذرية Hairy root culture

تعد زراعة الشعيرات الجذرية أداة واحدة في التكنولوجيا الحيوية لإنتاج مستقلبات ثانوية عالية القيمة عن طريق إصابة المواد النباتية ببكتيريا التربة سالبة الجرام (*Agrobacterium rhizogenes*) التي تنتج مستقلبات ثانوية مماثلة لتلك التي يتم تصنيعها عادة في جذور النباتات الأم ذات إنتاجية مماثلة أو أعلى (Gutierrez-Valdes *et al.*, 2020).

ويرجع الاهتمام الكبير بزراعة الشعيرات الجذرية بشكل أساسي إلى استقرارها الوراثي وقدرتها على النمو بسرعة دون الحاجة إلى تطبيق خارجي للأوكسينات وأثبتت أنها أكثر فعالية لتحسين إنتاج المستقلبات الثانوية (Haghighi *et al.*, 2012).

بالإضافة إلى ذلك، تعد زراعة الشعيرات الجذرية منصة جذابة لتطبيق التحول الحيوي لأنها توفر الاستقرار الجيني والكيميائي الحيوي، واستقلال الهرمونات النباتية ومتطلبات الاستزراع غير المكلفة (He *et al.*, 2015).

### 14.2. الثبات الوراثي Genetic Stability

إن استخدام المركبات الطبيعية بدلاً من منظمات نمو النبات في وسط استزراع قد يقلل أو يمنع احتمالية عدم الاستقرار الوراثي في النباتات. تم استخدام المضافات العضوية مثل هيدروليزات الكازين وماء جوز الهند لزيادة نمو الكالس الجنيني والتكوين الجنيني الجسدي في العديد من أنواع النباتات ونخيل التمر أيضًا (Hegazy *et al.*, 2009; Al-Khayri, 2010; Al-Khayri, 2011). وبما أن النباتات طويلة العمر قد تطور طفرات حتى في النسيج الإنشائي القمي (Klekowski, 1985). وخلال السنوات القليلة الماضية، فقد تم اكتشاف اختلافات بين

أصناف نخيل التمر في المختبر، البرحي (Barhi)، والمجهول (Medjool)، والخلاص (Khalas) مثل التقزم، وتأخر الإثمار، فشل مجموعة الاثمار (McCubbin *et al.*, 2004; Al Kaabi *et al.*, 2005). كل هذه الحالات من شأنها أن تؤثر بشكل كبير على الاستفادة من تقنيات زراعة الأنسجة (Al-Khalifah and Askari, 2006).

لقد سهّل تقدم التكنولوجيا الحيوية إدخال العديد من علامات الحامض النووي الهامة، والتي تختلف في النوع والمعلومات الجينية التي تم تدوينها. حيث تسمح هذه العلامات ببناء خرائط الارتباط الجيني وتحديد التباين الجيني المرتبط بالجنس أو تحديد الحامض النووي (Haq *et al.*, 2016).

وتعد تقنية الحامض النووي متعدد الأشكال العشوائي (RAPD) المستندة إلى تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) واحدة من التقنيات الجزيئية الأكثر استخداما للكشف عن علامات الحامض النووي. حيث تكون RAPD هي منتجات تضخيم لتسلسلات الحامض النووي المجهولة باستخدام بادئات مفردة وقصيرة وقليلة النوكليوتيد، وبالتالي لا تتطلب معرفة مسبقة بتسلسل الحامض النووي (Kumar and Gurusubramanian, 2011).

يعد تحليل RAPD الذي وصفه Williams *et al.*, (1990) علامة جزيئية شائعة الاستخدام في دراسات التنوع الجيني. ليست هناك حاجة إلى معرفة تسلسل الحامض النووي للجين المستهدف، حيث أن البادئات سوف ترتبط بمكان ما في التسلسل، ولكن ليس من المؤكد أين بالضبط. وهذا يجعل الطريقة شائعة لمقارنة الحامض النووي للأنظمة البيولوجية، أو في نظام تتم فيه مقارنة عدد قليل نسبياً من تسلسلات الحامض النووي. ويرجع ذلك أساساً إلى سرعة و قلة التكلفة وكفاءة التقنية في توليد أعداد كبيرة من العلامات في فترة قصيرة (Kumar and Gurusubramanian, 2011). وقد أشار Al-Khalifah and Askari, (2006) في دراستهما لثلاثة أصناف من نخيل التمر (البرحي، السكري، والخلاص) إلى أن تقنية RAPD تُعد أداة فعالة للكشف المبكر عن التغيرات الوراثية التي قد تحدث في النباتات الناتجة عن زراعة الأنسجة.

## 15.2. بعض أنواع البكتيريا الممرضة المستخدمة في تقييم النشاط الحيوي للمركبات النباتية Pathogenic Bacteria Used for Evaluating the Bioactivity of Plant-Derived Compounds

### 1.15.2. بكتريا *Staphylococcus aureus*

المكورات العنقودية الذهبية، وهي كائنات حية طبيعية في جسم الإنسان والحيوان، ترتبط غالبًا بالعدوى المكتسبة من المجتمع والعدوى المكتسبة من المستشفيات، والتي قد تكون قاتلة للمرضى الذين يعانون من نقص المناعة. يمكن أن تسبب المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين والفانكوميسين عدوى خطيرة في المستشفيات لدى البشر. كما تسبب التهاب الصرع لدى الأبقار والتهاب المفاصل لدى البشر والحيوانات والدواجن. المكورات العنقودية الذهبية مسؤولة أيضًا عن التسمم الغذائي الذي يتميز بالقيء الشديد والتقلصات مع أو بدون إسهال (Bhunia, 2018).

وتُعد *S. aureus* من أبرز البكتيريا موجبة غرام المرتبطة بالإصابات الجلدية، والتهابات الأنسجة الرخوة، والجروح الجراحية، وهي من أكثر الممرضات شيوعًا في البيئات السريرية. وقد أظهرت العديد من الدراسات أن هذه البكتيريا تُظهر قدرة عالية على تطوير مقاومة متعددة للمضادات الحيوية، مما يجعلها تمثل تحديًا كبيرًا في إدارة العدوى داخل المستشفيات وفي المجتمعات (Tong et al., 2015).

تعود قدرة *S. aureus* العالية كممرض إلى أنها تمتلك مجموعة متنوعة من عوامل الضراوة، يُشفر العديد منها على عناصر وراثية متحركة (MGEs)، مثل البلازميدات أو العاثيات الكامنة (prophages)، ويمكن أن تنتقل بين السلالات عن طريق الانتقال الأفقي للجينات. قد يحدث الانتقال الأفقي للجينات في *S. aureus* عبر نقل العاثيات (phage transduction)، أو الاقتران (conjugation)، أو من خلال الامتصاص المباشر للحامض النووي "العارٍ" بواسطة الكفاءة الجينية (Morikawa, 2012).

ومع ذلك، قد تُسبب المكورات العنقودية الذهبية أيضًا مجموعة متنوعة من الأمراض الأخرى، التي قد تكون شديدة جدًا ومُهْدِدَةً للحياة، مثل التهاب الشغاف المُعْدِي، ومتلازمة الصدمة التسممية، ومتلازمة الجلد المُسْلَق، والتهاب العظم والنقي، على سبيل المثال لا الحصر. حتى التهاب اللقافة الناحر والالتهاب الرئوي الناحر تم الإبلاغ عنهما باستخدام المكورات العنقودية الذهبية كعامل مسبب (Tong et al., 2015).

**2.15.2. بكتريا *Escherichia coli***

الإشريكية القولونية، أحد أفراد عائلة البكتيريا المعوية، هي أكثر الكائنات الحية المتعايشة شيوعاً في الجهاز الهضمي للإنسان والحيوانات ذوات الدم الحار، وتُعد من أكثر البكتيريا سلبية غرام تتناولاً في الأبحاث، نظراً لانتشارها الطبيعي في أمعاء الإنسان والحيوان، مع وجود سلالات مرضية قادرة على إحداث أمراض خطيرة مثل الإسهال النزفي، وعدوى المسالك البولية، والتسمم الغذائي (Kaper, 2004). إذ تُسجل لها القدرة على إصابة عدة أعضاء حيوية في الجسم، مثل المسالك البولية (urinary tract)، والدماغ (brain)، والرئتين (lung)، ونخاع العظم (bone marrow)، فضلاً عن دورها في التهابات الجروح (Shetty et al., 2019). وتُشكل هذه السلالات خطراً مضاعفاً في حال اكتسابها مقاومة للمضادات الحيوية. وقد أكدت منظمة الصحة العالمية أن الإفراط وسوء الاستخدام غير المنضبط للمضادات الحيوية ساهم بشكل كبير في ظهور سلالات مقاومة، مما يجعل من مقاومة مضادات الميكروبات أحد أبرز التهديدات الصحية على المستوى العالمي. ويؤدي هذا التحدي إلى تقويض فعالية المضادات الحيوية المستخدمة حالياً، ويُعقد خيارات العلاج المتاحة، لا سيما في حالات التهابات *E. coli* المقاومة (Wang et al., 2023).

وتتملك بعض سلالات *E. coli* قابلية عالية لاكتساب ونقل جينات المقاومة للمضادات الحيوية عبر آليات متعددة مثل النقل الأفقي للجينات (Horizontal gene transfer)، مما يجعلها نموذجاً مثالياً لدراسة تطور المقاومة في مختلف البيئات (Poirel et al., 2018).

إن الخصائص المميزة للإشريكية القولونية، مثل سهولة التعامل معها، وتوافر تسلسل الجينوم الكامل، وقدرتها على النمو في الظروف الهوائية واللاهوائية، تجعلها كائنًا مضيئاً مهماً في مجال التكنولوجيا الحيوية. تُستخدم الإشريكية القولونية في مجموعة واسعة من التطبيقات في المجالين الصناعي والطبي، وهي أكثر الكائنات الدقيقة استخداماً في مجال تقنية الحامض النووي المؤلف (Yoon, 2009).

**16.2. النشاط المضاد للبكتريا Antibacterial Activity**

الانتشار الواسع للمقاومة تجاه المضادات الحيوية بين البكتيريا يُعد سبباً رئيسياً لمئات الآلاف من الوفيات سنوياً. وتتمثل المشكلة الأخطر في الزيادة المستمرة لأعداد البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية الشائعة الاستخدام، بما في ذلك الأدوية الأخيرة في خط العلاج مثل الفانكوميسين. وتُظهر السرعة التي تنتشر بها جينات المقاومة حول العالم مدى خطورة هذا

التصاعد، مما يؤكد أن هذه الظاهرة تُشكّل تهديدًا للصحة العامة على مستوى العالم وتتطلب تعاونًا دوليًا لمواجهتها واستجابةً للارتفاع الكبير في أعداد السلالات المقاومة المتعددة للأدوية على مستوى العالم، اعتبرت منظمة الصحة العالمية (WHO) في عام 2014 هذه الظاهرة تهديدًا كبيرًا للصحة العالمية (Bengtsson-Palme, 2018).

في ظل التوجهات الحديثة للبحث عن بدائل طبيعية فعّالة، مما يستلزم تطوير أساليب علاجية متنوعة. وقد أصبحت النباتات الطبية، المعروفة منذ العصور القديمة، تحظى باهتمام متزايد كوسائل بديلة وفعّالة في معالجة العدوى البكتيرية (Azzam and Radif, 2024).

تشير الدراسات الحديثة إلى أن بذور تمر البرحي تحتوي على مركبات فينولية فعّالة تُمكنها من إظهار نشاط مضاد لبعض أنواع البكتيريا الممرضة. ففي دراسة أجراها (Abbasi et al., 2023)، أظهرت المستخلصات النباتية المستخلصة من سليلوز نوى تمر البرحي فعالية ملحوظة في تثبيط نمو البكتيريا، مما يؤكد الإمكانيات البايولوجية لهذا الصنف كمصدر طبيعي للمركبات المضادة للبكتيريا، حتى قبل تحويلها إلى أشكال نانوية.

كما أثبتت إحدى الدراسات أيضا أن مستخلص بذور نخيل التمر تمتلك نشاطًا مضادًا للبكتيريا ضد *E. coli* و *S. aureus*، حيث أظهر قدرة واضحة على تثبيط نمو هذه السلالات (Idris et al., 2017).



---

## الفصل الثالث

---

[طرق العمل]

### 3. المواد وطرق العمل Materials and Methods

تمثلت الدراسة في جمع فسائل نخيل التمر من صنف البرحي، بعمر يتراوح بين 3 إلى 4 سنوات، خالية من الأمراض، من إحدى بساتين محافظة النجف الواقعة في وسط العراق، وذلك خلال شهر تشرين الثاني من عام 2023. جرى تشريح الفسائل داخل مختبر شعبة الزراعة النسيجية التابع لقسم بحوث النجف الأشرف / دائرة البحوث الزراعية – وزارة الزراعة كما في الشكل (3-1)، حيث تم استخلاص القمة النامية عن طريق تشريح الفسائل وغسله بالماء الجاري لعدة دقائق، تلاه غسيل متكرر بالماء المقطر لإزالة الشوائب، بعد ذلك تم تعقيم القمة النامية بدقة وفقاً للإجراءات المعتمدة في المختبر، ثم جزئت القمة النامية الى اربعة اجزاء وزرعت في الوسط الغذائي باستخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية.



شكل (3-1): القمة النامية لنخيل التمر صنف البرحي بعد إزالة الأجزاء الجارية.

#### 1.3. الأجهزة والمعدات Devices and equipment

تم استخدام مجموعة من الأجهزة والمعدات الموضحة في الجدول (3-1)، والموجودة ضمن مختبر زراعة الأنسجة النباتية في كلية العلوم بجامعة القادسية. في حين تم الحصول على وسط الزراعة (MS)، ومنظمات النمو، وحامض الجاسمونيك من شركة Caisson الأمريكية، وتم تأمين المذيبات والمواد الكيميائية من المخازن المركزية التابعة لكلية الموضحة في جدول (3-2).

جدول (1-3): الاجهزة المستعملة في الدراسة.

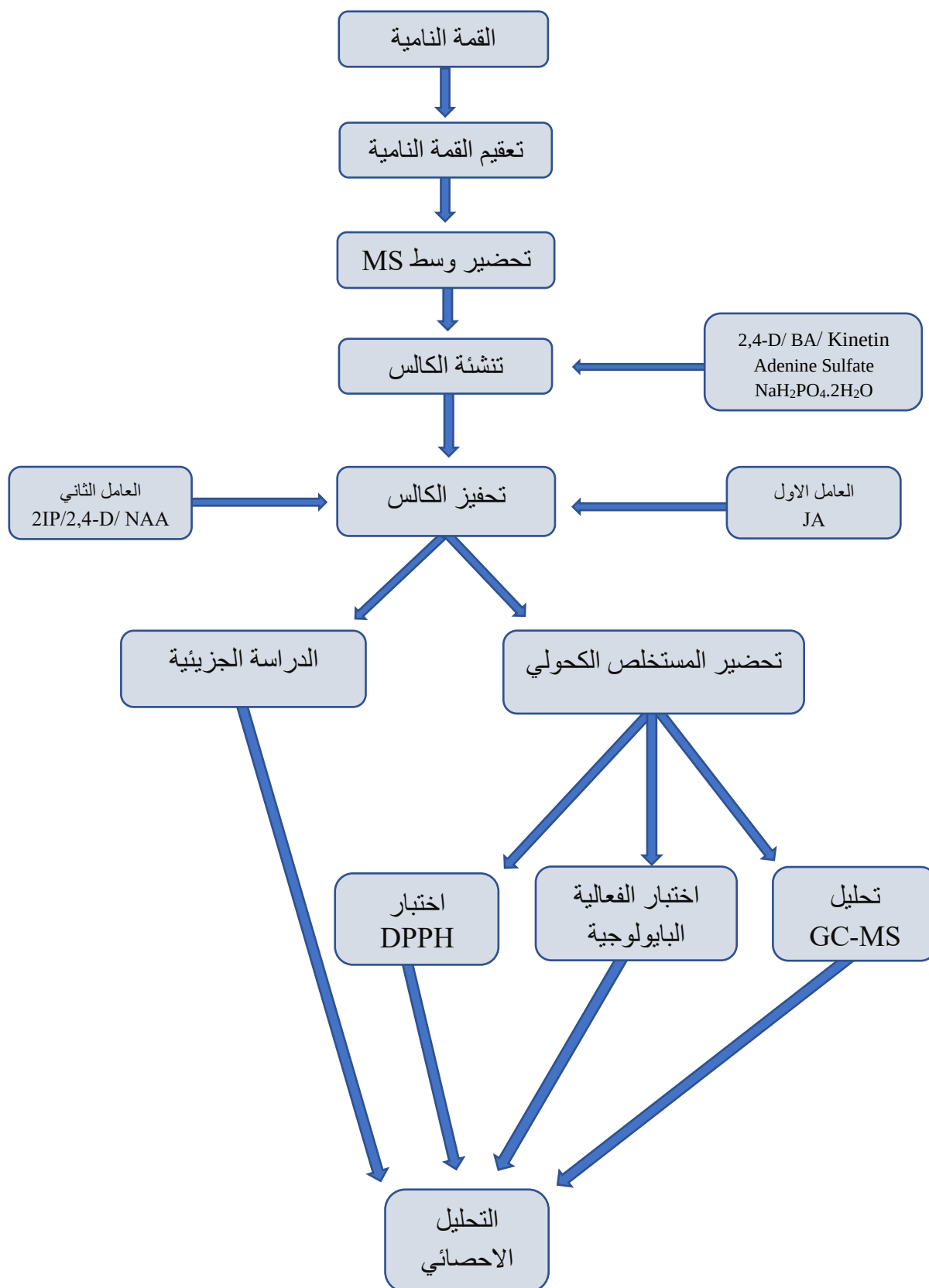
| المنشأ      | الشركة                             | الجهاز                                            | ت  |
|-------------|------------------------------------|---------------------------------------------------|----|
| German      | SMG-Stuart                         | Hot plate magnetic stirrer                        | 1  |
| British     | priorclave                         | Autoclave                                         | 2  |
| German      | Heratherm                          | Oven                                              | 3  |
| Kritish     | F.S.T                              | Sterilizer                                        | 4  |
| Korean      | Lab Tech                           | Laminar Air flow cabinet                          | 5  |
| Singaporean | Eutech instruments                 | pH meter                                          | 6  |
| American    | KERN                               | Sensitive electronic scale                        | 7  |
| German      | Hettich E-35A                      | Centrifuge                                        | 8  |
| German      | Bichrom –<br>Libra S22-<br>UK/2005 | Spectrophotometer                                 | 9  |
| Japanese    | Shimadzu GC-<br>MS 2010            | GC-Mass                                           | 10 |
| Indonesian  | Esstell                            | Distillation apparatus                            | 11 |
| American    | LAB-LINE<br>instruments inc        | Refrigerator for preserving<br>media and hormones | 12 |
| German      | Eppendorff                         | whatman No2                                       | 13 |
| German      | Eppendorff                         | mpu 0.22 Filter                                   | 14 |
| German      | Eppendorff                         | Racks                                             | 15 |
| German      | Eppendorff                         | Glass petri dishes                                | 16 |
| German      | Eppendorff                         | Cylinders                                         | 17 |
| German      | Eppendorff                         | Conical flasks                                    | 18 |
| German      | Eppendorff                         | Flasks                                            | 19 |
| German      | Eppendorff                         | Tissue culture tubes                              | 20 |
| British     | Analar                             | Tubes                                             | 21 |
| Korean      | Lab Tech                           | water bath                                        | 22 |

جدول (2-3): المواد الكيميائية التي اعتمدت في تنفيذ الدراسة.

| المنشأ   | الشركة     | المادة              | ت  |
|----------|------------|---------------------|----|
| American | Caisson    | MS medium           | 1  |
| British  | BDH        | Tween-20            | 2  |
| American | Caisson    | 2,4-D, IAA, NAA ,JA | 3  |
| Italian  | Biochemica | Agar-Agar           | 4  |
| Italian  | Biochemica | Sucrose             | 5  |
| Iraqi    | Fas        | Sodium hypochlorite | 6  |
| Indian   | Labort     | Chloroform          | 7  |
| Indian   | Labort     | 100% Ethanol        | 8  |
| Indian   | Labort     | Hydrochloric acid   | 9  |
| Indian   | Labort     | Sodium hydroxide    | 10 |
| German   | Merck      | Acetone             | 11 |
| German   | Merck      | Hexane              | 12 |
| German   | Merck      | Methanol            | 13 |

### 2.3. تصميم التجربة      Experimental Design

صممت تجربة الدراسة حسب التصميم العشوائي الكامل (CRD) Complete Random Design وبعاملين الاول حامض الجاسمونيك بتركيز (0 ، 2 ، 4 ملغم لتر<sup>-1</sup>) والعامل الثاني منظمات النمو 2ip , 2,4-D , NAA و بتوليفتين هما (2 و 8 و 40 ملغم لتر<sup>-1</sup>) و (4 و 12 و 60 ملغم لتر<sup>-1</sup>) بالتتابع كما موضح في الشكل (2-3).



شكل (2-3): يوضح تصميم التجربة وعوامل الدراسة.

### 3.3. تحضير وسط الزراعة النسيجية لاستحثاث الكالس

#### Preparing tissue culture medium for Callus induction

تم تحضير وسط الزراعة النباتي باستخدام وسط (MS) الجاهز وفقاً (Murashige and Skoog 1962)، والمُصنع من قبل شركة Caisson الأمريكية (ملحق 4)، بتركيز 4.44 غم لتر<sup>-1</sup>. أُضيف إلى الوسط الغذائي توليفة الهرمونات لغرض تنشئة الكالس هي 2,4-D 100 ملغم لتر<sup>-1</sup> و 6-benzyl aminopurine (BA) بتركيز 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> و 6-frufuryl aminopurine (Kinetin) بتركيز 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> وبعد ذلك أُضيف Adenine Sulfate (adenine hemisulfate dehydrate) بتركيز 40 ملغم لتر<sup>-1</sup> و Sodium NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O (dehydrogen phosphate dehydrate) بتركيز 200 ملغم لتر<sup>-1</sup> ثم إضافة السكر بتركيز 30 غم لتر<sup>-1</sup> كمصدر للكربون، تم بعد ذلك استكمال الحجم الكلي إلى لتر واحد باستخدام الماء المقطر، ثم ضبط الرقم الهيدروجيني للوسط إلى 6 باستخدام محلول NaOH أو HCl حسب الحاجة، أُضيف الآجار بتركيز 8 غم لتر<sup>-1</sup> كمادة مثخنة. وتم تسخين الوسط باستخدام سخان مغناطيسي (Hot plate magnetic stirrer) مزود بمحرك تقليب مغناطيسي حتى ذابت جميع المكونات بشكل كامل. بعد التحضير، تم توزيع الوسط في أوعية زجاجية بمقدار 25 مل لكل وعاء زجاجي وعقمت في المعقم البخاري (Autoclave) على درجة حرارة 121 °C وضغط 1.04 كغم / سم<sup>2</sup> لمدة 20 دقيقة.

### 4.3. التعقيم

#### 1.4.3. تعقيم الأدوات المستخدمة في الزراعة النسيجية

#### Sterilization of tools used in tissue culture

تم تعقيم منضدة انسياب الهواء الطبقي بالأشعة فوق البنفسجية UV وكحول الأيثانول 70% في حين تم تعقيم الملاقط والشفرات الجراحية عن طريق لفها بورق الألمنيوم، اما الاطباق الزجاجية (Petri dishes) فقد وضعت في الحاويات المعدنية الخاصة بها (Canisters) ثم عقمت جميعها في جهاز المعقم البخاري (Autoclave) على درجة حرارة 121 °C وضغط 1.04 كغم/سم<sup>2</sup> لمدة 30 دقيقة، بالإضافة إلى ذلك، خضعت هذه الأدوات لتعقيم حراري باستخدام فرن التعقيم (Oven) بدرجة حرارة 140 °C، وتم التعامل مع الأدوات الحساسة كالملاقط والشفرات بتعقيمها بالكحول الإيثيلي بتركيز 99%، ثم تعريضها للهب مصباح بنزن بعد كل عملية نقل وزرع لضمان أقصى درجات التعقيم. كما تم تعقيم الأيدي بالكحول الإيثيلي بتركيز 70% قبل بدء العمل لضمان بيئة معقمة تماماً.

### 2.4.3. التعقيم السطحي للأجزاء النباتية Surface Sterilization of explants

تمت تهيئة الأجزاء النباتية المستخدمة في الزراعة النسيجية، والتي تشمل القمم النامية لنخيل التمر صنف البرحي من خلال سلسلة دقيقة من خطوات التنظيف والتعقيم لضمان خلوها من الملوثات السطحية والداخلية، خضعت الأجزاء النباتية لتعقيم أولي باستخدام الكحول الإيثيلي بتركيز 70% لمدة 30 ثانية. تلا ذلك تعقيم كيميائي باستخدام محلول هيبوكلوريت الصوديوم (NaOCl) بتركيز 6% (نوع فاس – عراقى المنشأ)، مضافاً إليه عدة قطرات من المادة الناشرة Tween-20 لتحسين تغلغل المعقم داخل الأنسجة النباتية، وتمت معاملة الأجزاء النباتية بها لمدة 20 دقيقة مع التحريك المستمر باستخدام جهاز الخلط المغناطيسي الحراري (Hot plate magnetic stirrer).

بعد هذه الخطوات، خضعت الأجزاء النباتية لتعقيم نهائي باستخدام محلول كلوريد الزئبق ( $HgCl_2$ ) بتركيز 1% لمدة 3 دقائق، نظراً لفعاليتها العالية كمطهر قوي للقضاء على الملوثات الدقيقة العميقة داخل الأنسجة النباتية. مباشرة بعد هذه المعاملة، تم غسل الأجزاء النباتية عدة مرات بالماء المقطر المعقم لضمان إزالة بقايا كلوريد الزئبق السام تماماً (Omar *et al.*, 1992).

وأجريت جميع خطوات التعقيم والغسيل النهائية داخل كابينة تدفق الهواء الصفحي (Laminar flow cabinet) وتحت ظروف معقمة، لتكون الأجزاء النباتية بذلك جاهزة للزراعة في الوسط الغذائي (Ghose *et al.*, 2022).

### 5.3. زراعة الأجزاء النباتية وأستحثاث الكالس

#### Cultivation of plant explants and callus induction

أجريت عملية الزراعة في منضدة انسياب الهواء الطبقي من خلال تجزئة البراعم القمية طولياً إلى أربعة أجزاء ثم زرعت في الوسط الغذائي الذي تم تحضيره انفا وبعد الانتهاء من عملية الزراعة نقلت الأجزاء النباتية إلى غرفة النمو Growth Chamber، وحضنت في الظلام على درجة حرارة الغرفة 25 م ± 2°C لمدة ستة لغرض الحصول على الكمية المطلوبة من كالس نخيل التمر صنف البرحي. وتمت عملية التنشئة في قسم بحوث النجف الأشرف / دائرة البحوث الزراعية / وزارة الزراعة وبعد الحصول على الكالس المطلوب تم إجراء الخطوة الثانية من الدراسة.

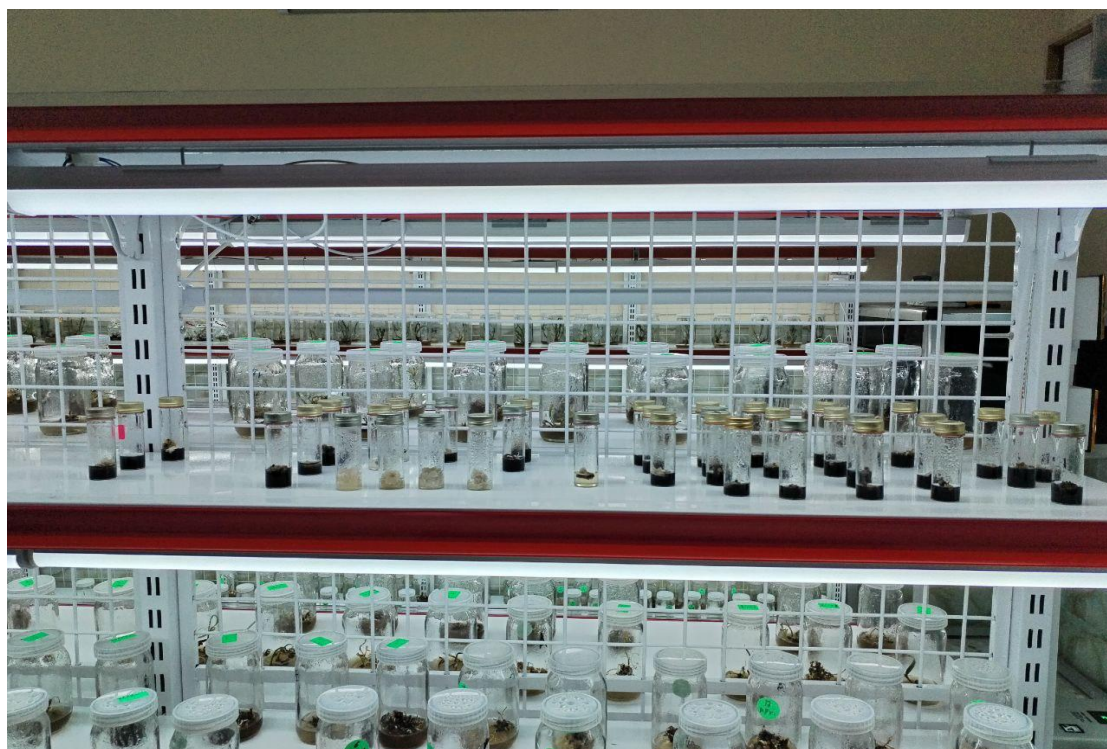
### 6.3. تحفيز نمو الكالس باستخدام منظمات النمو وحامض الجاسمونيك (JA) في وسط MS Stimulation of callus growth using growth regulators and jasmonic acid (JA) in MS medium

تم تحضير وسط (MS) وأضيفت إليه منظمات النمو وحامض الجاسمونيك بتركيزات مختلفة. استُخدمت هذه المركبات كعوامل محفزة بهدف دراسة تأثيرها التكاملي في دعم نمو الأنسجة النباتية وتحفيز إنتاج المركبات الثانوية. شملت معاملات الدراسة استخدام تراكيز مختلفة من حامض الجاسمونيك (JA) وهي (0، 2، و 4 ملغم لتر<sup>-1</sup>). كما تم إعداد ثلاث معاملات لمنظمات النمو: المعاملة الأولى تضمن إضافة 2ip بتركيز 2، 4 ملغم لتر<sup>-1</sup>، في حين تضمنت المعاملة الثانية 2,4-D بتركيز 8 و 12 ملغم لتر<sup>-1</sup>، أما المعاملة الثالثة فتضمنت NAA بتركيز 40 و 60 ملغم لتر<sup>-1</sup>. كما موضح في الجدول (3-3)، وتضمنها إلى الوسط الغذائي (MS) الحاوي على السكروز والأكار كما تم تدعيم الوسط بإضافة الفحم النشط (Activated Charcoal) لما له من دور في امتصاص المركبات الفينولية السامة التي قد تُفرز من الأنسجة عند الجرح، الأمر الذي يُقلل من التأثيرات السمية ويُحسن من كفاءة النمو. بالإضافة إلى ذلك، يساعد الفحم النشط على امتصاص بقايا الهرمونات الزائدة ويوفر بيئة مظلمة جزئياً، مما يُعزز الاستجابات الفسيولوجية في الأنسجة. أُخضع الوسط المحضر لعملية تعقيم باستخدام جهاز الأوتوكليف عند درجة حرارة 121 °C وضغط 1.04 كغم/سم<sup>2</sup> لمدة 20 دقيقة. بعد الانتهاء من التعقيم، تُركت الأنابيب لتبرد في درجة حرارة الغرفة، وأصبحت جاهزة لزراعة الكالس المستحث (Park, 2021).

وتمت زراعة الكالس في اوعية زجاجية تحتوي على الوسط الغذائي المعامل بمنظمات النمو. ثم نُقلت الزروع إلى غرفة النمو كما في الشكل (3-3)، حيث خُضعت لظروف بيئية قياسية تضمنت إضاءة صناعية بقوة 1000 لوكس لمدة 16 ساعة يومياً، يليها 8 ساعات من الظلام، مع تثبيت درجة حرارة الغرفة 25 ± 2 °C. وتمت عملية تحفيز الكالس في مختبر الزراعة النسيجية / قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة القادسية.

الجدول (3-3): تركيز حامض الجاسمونيك و منظمات النمو الاخرى المضافة لوسط الزراعة MS.

| Treatment | JA (mg L <sup>-1</sup> ) | 2iP (mg L <sup>-1</sup> ) | 2,4-D (mg L <sup>-1</sup> ) | NAA (mg L <sup>-1</sup> ) |
|-----------|--------------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| A         | 0                        | 2                         | 8                           | 40                        |
| B         | 2                        | 2                         | 8                           | 40                        |
| C         | 4                        | 2                         | 8                           | 40                        |
| D         | 0                        | 4                         | 12                          | 60                        |
| E         | 2                        | 4                         | 12                          | 60                        |
| F         | 4                        | 4                         | 12                          | 60                        |



شكل (3-3): غرفة نمو الزراعة النسيجية خلال مرحلة تحفيز تكون الكالس لنخيل البرحي.

استمرت الزراعة لمدة شهرين، مع متابعة التغيرات المورفولوجية والفسولوجية بشكل دوري، بهدف تقييم تأثير المعاملات المختلفة على نمو وتطور الأنسجة النباتية وعلى قدرتها في إنتاج المركبات الثانوية الفعالة كما موضح في شكل (3-4).



شكل (3-4): الكالس ضمن الوسط MS المحفز باحماض الجاسمونيك ومنظمات النمو.

### 7.3. تحضير المستخلص الكحولي للكالس

#### Preparation of alcoholic extract of callus tissue

تم تحضير المستخلص الكحولي للكالس اعتماداً على الطريقة الموضحة في Muhit *et al.* (2010)، حيث تم وزن 1 غم من الكتلة الطرية للكالس لكل توليفة على حدة، وأضيف إليها الميثانول بتركيز 99%. بعد ذلك، خضعت العينات لعملية هرس دقيقة باستخدام جفنة وهاون خزفيين لضمان تجانس المزيج واكمل الحجم الى 10 مل للحصول على المستخلص الخام بتركيز 100 ملغم لتر<sup>-1</sup>. تُركت العينات بعد التحضير في درجة حرارة الغرفة لمدة 24 ساعة لاستخلاص المركبات الفعالة.

بعد فترة النقع، تم ترشيح الراشح الأولي باستخدام ورق ترشيح من نوع Whatman No.2، تلاه ترشيح ثانوي باستخدام مرشح دقيق مثبت ضمن مرشح حقني معقم ذات فتحات بحجم 0.22 مايكرومتر، وذلك لضمان تنقية المستخلص من أي شوائب دقيقة. حُفظت العينات المستخلصة في الثلاجة عند درجة حرارة 4 °C لحين إجراء التحاليل اللازمة.

### 8.3. تحضير تراكيز المستخدمة في اختبارات الدراسة.

#### Preparation of the concentrations used in the study assays

بعد الحصول على المستخلص الخام بتركيز 100 ملغم لتر<sup>-1</sup>. اخذ 2 مل المستخلص الخام وترك ليتبخر الكحول منه الى ان يصل الى 1 مل وبذلك نحصل على مستخلص بتركيز 200 ملغم لتر<sup>-1</sup>. وأيضاً اخذ 3 مل من المستخلص الخام وترك ليتبخر الكحول لنحصل على مستخلص بتركيز 300 ملغم لتر<sup>-1</sup>. حيث استخدمت هذه التراكيز في اختبار الفعالية المضادة للبكتريا. واما التراكيز المستخدمة في اختبار DPPH فقد حضرت بأستخدام قانون التخفيف  $C_1V_1 = C_2V_2$ . اخذ 50 مايكرو ليتر من المستخلص الخام ويكمل بكحول الميثانول الى 5 مل لنحصل على تركيز 1 ملغم مل<sup>-1</sup>. وكذلك اخذ (25 , 12.5 , 6.25) مايكرو ليتر من المستخلص الخام ويكمل بكحول الميثانول الى 5 مل لنحصل على تركيز (0.125, 0.25, 0.5) ملغم مل<sup>-1</sup> بالتتابع ثم تحول الوحدات فتصبح التراكيز (120 , 250 , 500 , 1000) ملغم لتر<sup>-1</sup>.

### 9.3. تحليل المركبات الثانوية باستخدام جهاز GC-MS

#### Analysis of secondary compounds using GC-MS

تم إجراء تحليل المركبات الثانوية المستخلصة من كالس *Phoenix dactylifera* صنف البرحي باستخدام جهاز كروماتوغرافيا الغاز المقترن بمطياف الكتلة (GC-MS) من نوع Shimadzu GC-MS 2010، في مختبر قسم الكيمياء – كلية العلوم – جامعة القادسية. الجهاز

مزود بنظام Auto Sampler [AOC-20i+s] ووحدة تحديد تلقائي للمركبات، ويعمل باستخدام عمود كروماتوغرافي شعري من نوع DB-5MS مخصص لفصل المركبات غير القطبية، خاصة الزيوت والمركبات العضوية المتطايرة.

بدأ التحليل بحقن 1 ميكرو لتر من العينة (مخففة بنسبة 1:1) في وعاء الحقن رقم 1. تم ضبط درجة حرارة وحدة الحقن على 250 درجة مئوية، وتم استخدام وضع التقسيم Split Mode بنسبة 1:20 لتقليل الحمل على العمود. استخدم الجهاز غاز ناقل (هيليوم أو نيتروجين) بضغط 52.1 كيلو باسكال، بمعدل تدفق 0.80 مل/دقيقة، وسرعة خطية 32.6 سم/ثانية.

تمت برمجة الفرن الحراري للبدء عند 60 °C، والارتفاع بمعدل 6 °C دقيقة حتى الوصول إلى 250 °C، مع التثبيت عند هذه الدرجة لمدة 5 دقائق، ليكون زمن التحليل الكلي من الدقيقة 3 إلى الدقيقة 43:30. كما تم ضبط حرارة مصدر الأيونات على 230 °C ودرجة حرارة الواجهة على 250 °C، وتم تفعيل زمن قطع المذيب 2 دقيقة لمنع تداخل إشارات المذيب.

أطلق وضع المسح (Scan Mode) لتسجيل الأطياف ضمن مدى m/z من 34 إلى 550، بسرعة مسح 2000 وحدة/ثانية، بزمن كشف 0.30 ثانية/مسح، مع تعيين جهد الكاشف على 1.14 كيلو فولت، وإزاحة كهربائية +0.70 كيلو فولت، وعتبة إشارة 0.

تمت معالجة النتائج باستخدام برنامج GC-MS Solutions لتحليل الأطياف وتعريف المركبات. تم الاعتماد في التعرف على المركبات الفعالة على قواعد البيانات القياسية المعتمدة لدى المعهد الوطني للقياس والتكنولوجيا (NIST)، والتي تحتوي على أكثر من 62,000 نمط طيفي. تمت مقارنة الأطياف الناتجة مع المكتبة المرجعية للتأكد من اسم المركب، وزنه الجزيئي، وتركيبه البنوي.

### 10.3. عزل العينات البكتيرية وتعقيم المستلزمات

#### Isolation of bacterial samples and sterilization of supplies

جرى جمع عزلات بكتيرية من مرضى في مستشفى القاسم العام بمحافظة بابل. شملت العينات البولية عزلات من *S. aureus* من مرضى يعانون من التهابات المسالك البولية، وكذلك عينات برازية لعزل *E. Coli* من مرضى مصابين بإسهال حاد.

تم إجراء بعض الفحوصات الكيميائية الحيوية الأولية، وتم تأكيد التشخيص باستخدام جهاز Vitek في مختبر الصحة العامة لتحديد الأجناس البكتيرية قيد الدراسة. زُرعت السلالات البكتيرية في أوساط زرع انتقائية، ثم خزنت عند درجة حرارة 4 °C لحين الاستخدام في التجارب

اللاحقة. كما تم تعقيم جميع الأوساط الزرعية المستخدمة في الدراسة باستخدام جهاز الأوتوكلاف (Autoclave) عند درجة حرارة 121 °C وضغط 1.04 كغم/سم<sup>2</sup> لمدة 15 دقيقة. كما جرى تعقيم الزجاجيات المستخدمة في الدراسة بواسطة الحرارة الجافة في فرن كهربائي عند 180 °C لمدة ساعتين.

### 1.10.3. التشخيص المجهرى Microscopic Diagnosis

بعد نمو العزلات البكتيرية على وسط MacConkey agar لمدة تتراوح بين 18 إلى 24 ساعة، تم أخذ كمية صغيرة من المستعمرة باستخدام عود معقم، ونُقلت إلى شريحة زجاجية أُضيفت إليها قطرات قليلة من محلول ملحي فسيولوجي معقم (NaCl)، ثم نُشرت العينة بلطف على سطح الشريحة لتكوين طبقة رقيقة مناسبة للفحص. ثم عُرضت الشريحة للهب لعدة ثوانٍ بغرض تثبيت البكتيريا وبعدها صُبغت العينة بصبغة غرام القياسية (Gram staining).

تم فحص الشريحة تحت المجهر الضوئي باستخدام العدسة الزيتية ذات قوة التكبير 100×، حيث جرى تشخيص الخلايا البكتيرية من خلال ملاحظة شكلها، لونها بعد التلوين، وطريقة تجمعها.

### 2.10.3. الاختبارات الكيموحيوية Biochemical Tests

أُجري عدد من الفحوصات الكيموحيوية بغرض التعرف على الخصائص الأيضية والإنزيمية للعزلات البكتيرية قيد الدراسة، حيث تم اعتماد بروتوكولات قياسية لتفسير نتائج هذه الفحوصات.

#### 1.2.10.3. الاختبارات الخاصة بعزلة *S. aureus*

#### Tests for the isolation of *S. aureus*

##### 1.1.2.9.3. اختبار الكاتاليز Catalase Test

استُخدم اختبار الكاتاليز للكشف عن وجود إنزيم الكاتاليز في العزلات البكتيرية باستخدام طريقة الشريحة. نُقلت كمية صغيرة من مستعمرة بعمر 24 ساعة إلى شريحة مجهرية نظيفة باستخدام عود خشبي معقم، ثم أُضيفت قطرة من بيروكسيد الهيدروجين (3%) فوق العينة دون مزج. تم رصد تكون الفقاعات فورًا كدلالة على نتيجة موجبة، في حين يدل غيابها على نتيجة سالبة (Reiner, 2010).

## 2.1.2.10.3. اختبار تخمير المانيتول Mannitol Fermentation Test

أُجري الاختبار باستخدام وسط Mannitol Salt Agar (MSA) الذي يحتوي على تركيز مرتفع من كلوريد الصوديوم لتثبيط نمو معظم البكتيريا عدا المكورات العنقودية، وسكر المانيتول كمصدر للكربون، ومؤشر الفينول الأحمر لتحديد التغير في الأس الهيدروجيني. بعد التحضير والتعقيم، صُب الوسط في أطباق بتري وزُرعت العزلات بطريقة الخط المستقيم، ثم احتُضنت عند  $35 \pm 2^\circ \text{C}$  لمدة 24–48 ساعة. يشير تغير لون الوسط من الأحمر إلى الأصفر إلى نتيجة موجبة لتخمير المانيتول، بينما يدل ثبات اللون أو تحوله إلى الوردي على نتيجة سالبة (Shields and Tsang, 2006).

## 3.1.2.10.3. اختبار التجلط Coagulase Test

أُجري اختبار التجلط للكشف عن إنزيم coagulase المنتج من قبل العزلات البكتيرية، باستخدام طريقة الأنبوب التي تُعد الأكثر موثوقية لتحديد النوع. نُقلت كمية مناسبة من مستعمرة ناضجة بعمر أقل من 24 ساعة إلى أنبوب يحتوي على 0.5 مل من بلازما الأرنب المعالجة بـ EDTA، ثم خلطت العينة بلطف وحضنت عند  $37^\circ \text{C}$ . تم فحص الأنبوب بعد 4 ساعات، ويُعد تكوّن جلطة مرئية تغطي جدار الأنبوب أو تبقى ثابتة عند انقلابه دليلاً على نتيجة موجبة، بينما يُعد عدم التجلط بعد 24 ساعة نتيجة سالبة (Katz, 2010).

## 4.1.2.10.3. اختبار تحليل الجيلاتين Gelatin Hydrolysis Test

تم تحضير وسط الجيلاتين الغذائي (Nutrient Gelatin) للكشف عن نشاط إنزيم الجيلاتيناز، وذلك بإذابة 5 غم من البيبتون، و3 غم من مستخلص اللحم البقري، و120 غم من الجيلاتين في لتر واحد من الماء المقطر، ثم ضبط الرقم الهيدروجيني إلى  $6.8 \pm 0.2$  عند  $25^\circ \text{C}$ . سُخِّن الوسط حتى الذوبان بشكل كامل، و عُقِم في الأوتوكلاف عند  $121^\circ \text{C}$  لمدة 15 دقيقة، وُصب في أنابيب اختبار (2–3 مل لكل أنبوب) وترك ليبرد في وضع عمودي. بعد التحضير، زُرعت العزلات البكتيرية بواسطة غرز إبرة معقمة بشكل عمودي في وسط الأنبوب (stab-inoculation)، ثم احتُضنت الأنابيب عند  $25^\circ \text{C}$ ، وتم فحصها يومياً لمدة تصل إلى 14 يوماً. لتأكيد نتيجة التحلل، وُضعت الأنابيب في حمام جليدي لمدة 15–30 دقيقة، ثم أميلت الأنابيب لملاحظة سيولة الوسط. تُعد النتيجة موجبة عند بقاء الوسط سائلاً بعد التبريد، بينما يُعد تصلب الوسط دلالة على نتيجة سالبة (Dela Cruz and Torres, 2012).

### 2.2.10.3. الاختبارات الخاصة بعزلة *E.coli*      Tests for *E.coli* isolation

#### 1.2.2.10.3. اختبار الاندول      Indole Test

يعتمد اختبار الاندول لتحديد قدرة العزلات البكتيرية على إنتاج مركب الاندول، حيث تُنقل مستعمرة بكتيرية عمرها 24 ساعة إلى وسط Peptone Water باستخدام أداة تلقیح معقمة. يُحضن الوسط عند 37 درجة مئوية لمدة يوم كامل. ويُعد ظهور طبقة ذات لون أحمر في الجزء العلوي من الأنبوب بعد إضافة كاشف Kovac's دليلاً على إنتاج الاندول من قبل البكتيريا (MacFaddin, 2000).

#### 2.2.2.10.3. اختبار الميثيل الأحمر      Methyl red test

يستخدم اختبار الميثيل الأحمر لتحديد قدرة البكتيريا على التحلل الكامل للكلوكوز وإنتاج أحماض ثابتة. يتم تلقیح وسط الاختبار بعزلة بكتيرية بعمر 24 ساعة باستخدام أداة معقمة، ثم يُحضن الأنبوب عند 37 درجة مئوية. ويُشير ظهور اللون الأحمر إلى نتيجة إيجابية تدل على إنتاج حموضة عالية من تخمير الكلوكوز (Murray et al., 1999).

#### 3.2.2.10.3. اختبار السترات      Citrate Test

يستخدم اختبار السترات للتحقق من قدرة البكتيريا على استخدام سترات الصوديوم كمصدر وحيد للكربون. تم استخدام وسط Simmons Citrate Agar الذي يحتوي على كاشف الأس الهيدروجيني Bromothymol blue. تم تلقیح سطح الوسط المائل بعزلة بكتيرية نقية عمرها 24 ساعة باستخدام إبرة تلقیح معقمة، مع تجنّب التلقیح الكثيف لتفادي النتائج الكاذبة. حُضنت الأنابيب عند  $35 \pm 2$  درجة مئوية لمدة تتراوح بين 24 إلى 48 ساعة، مع ترك الغطاء غير محكم لضمان تهوية مناسبة. تُعد النتيجة إيجابية عند ظهور نمو وتغيّر لون الوسط من الأخضر إلى الأزرق، نتيجة إنتاج مركبات قلوية ترفع pH الوسط. أما غياب النمو أو تغيّر اللون فيُعد دلالة على نتيجة سلبية، وتشير إلى عدم قدرة البكتيريا على استخدام السترات كمصدر للكربون والطاقة (MacWilliams, 2009).

#### 4.2.2.10.3. اختبار الأوكسيداز      Oxidase Test

استخدم اختبار الأوكسيداز للتحري عن وجود إنزيم cytochrome c oxidase في العزلات البكتيرية، وذلك باستخدام كاشف Kovács oxidase reagent بتركيز 1%. تم اختيار مستعمرة

نقيّة بعمر 24 ساعة من وسط غني لا يحتوي على سكريات زائدة، ونُقل جزء منها بواسطة عود معقم إلى ورقة ترشيح مشبعة بالكاشف. تمت ملاحظة التغير اللوني خلال فترة زمنية محددة. ويُعد ظهور لون بنفسجي غامق خلال 10 ثوانٍ دلالة على نتيجة إيجابية (Shields and Cathcart, 2010).

### 11.3. تقييم النشاط المضاد للبكتيريا باستخدام اختبار الحفر

#### Evaluation of Antibacterial Activity Using the Well Diffusion Assay

تم تقييم الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية ضد نوعين من البكتيريا *S. aureus* و *E. coli* باستخدام طريقة الحفر في وسط آكار مولر هينتون. وُزعت المزارع البكتيرية بشكل متجانس على الأطباق المعقمة، ثم تُركت لمدة 15–20 دقيقة لتثبيت النمو البكتيري على سطح الوسط.

تم إنشاء أربع حفر متساوية في كل طبق باستخدام أداة تعقيم معقمة بقطر 6 ملم، وملئت كل حفرة بـ 100 ميكروليتر من المستخلص النباتي بثلاث تراكيز مختلفة (100، 200، 300 ملغم/مل-1) أما الحفرة الأخيرة كانت للسيطرة. حُضنت الأطباق في درجة حرارة 37 °C لمدة 24 ساعة. بعد الحضنة، تم قياس أقطار التثبيط حول الحفر (بالمليمتر) باستخدام مسطرة شفافة، وتم احتساب المتوسط من ثلاث مكررات.

استخدم DMSO بنسبة 1% كمجموعة ضابطة سلبية، بينما استُخدم قرص تجاري من المضاد الحيوي (Amoxyclav (Amoxicillin 20 µg + Clavulanic acid 10 µg)، من شركة HiMedia، كمجموعة ضابطة إيجابية لتقييم كفاءة المستخلصات النباتية.

### 12.3. تقييم النشاط المضاد للأوكسدة للمستخلصات الكحولية باستخدام اختبار DPPH

#### Determination of the Antioxidant Activity of Alcoholic Extracts Using the DPPH Assay.

تم تقدير الفعالية المضادة للأوكسدة للمستخلصات الكحولية الناتجة من كالس نخيل التمر صنف البرحي والمعاملة بحامض الجاسمونيك ومنظمات النمو باستخدام اختبار الجذر الحر DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) بطريقة غير إنزيمية، استناداً إلى البروتوكول المعتمد من Lee et al., (2015) مع تعديلات بسيطة تتناسب مع طبيعة المستخلص النباتي.

تم تحضير محلول DPPH في الميثانول، وأضيف منه حجم 200 مايكرو لتر إلى البئر الأول من صفيحة microplate مكونة من 96 بئراً بوصفه مجموعة سيطرة سالبة. أما بقية الآبار فقد

تمت معالجتها بمزج 100 مايكرو لتر من محلول DPPH مع 100 مايكرو لتر من كل مستخلص كحولي تم تحضيره بأربعة تراكيز مختلفة هي: 1000، 500، 250، و 125 ميكرو غرام/مل. وحضنت في الظلام عند درجة حرارة الغرفة ولمدة 30 دقيقة لضمان استقرار التفاعل بين الجذر الحر DPPH والمركبات الفعالة في المستخلص. بعد انتهاء فترة التحضين، تم قياس الامتصاصية عند الطول الموجي 514 نانومتر باستخدام جهاز قارئ ELISA من نوع (Graz) TECAN، (النمسا). واستُخدم الميثانول النقي بنسبة 100% كمجموعة ضابطة لغرض المعايرة.

تم احتساب النسبة المئوية لتثبيط الجذر الحر DPPH كمؤشر على الفعالية المضادة للأكسدة وفق المعادلة التالية:

$$\text{النشاط المضاد للأكسدة (\%)} = \left[ \frac{\text{(السيطرة - العينة)}}{\text{السيطرة}} \right] \times 100$$

و تُعد القيم الأعلى من التثبيط دلالة على قدرة أكبر للمستخلص على تحييد الجذور الحرة، وبالتالي فعالية مضادة للأكسدة أعلى.

### 13.3. الدراسة الجزيئية Molecular study

#### 1.13.3. استخلاص DNA DNA extraction

تم استخلاص الحامض النووي الجينومي (Genomic DNA) من أنسجة نبات نخيل التمر (الكالس) باستخدام بروتوكول شركة Promega (Wizard® Genomic DNA Purification Kit)، تهدف هذه الخطوة إلى الحصول على حامض نووي عالي النقاوة لاستخدامه في التحاليل الجزيئية اللاحقة.

#### 2.13.3. خطوات استخلاص DNA DNA extraction steps

1. تم طحن 0.5 غم من نسيج النبات باستخدام الهاون والمدقة في النتروجين السائل وانقل المسحوق إلى أنبوب طرد مركزي صغير.
2. إضافة 600 مايكرو لتر من محلول تحليل النوى (Nuclei Lysis Solution). ويمزج باستخدام جهاز الخلط لمدة 1-3 ثوانٍ لترطيب النسيج.
3. يحضن الأنبوب عند 65 °C لمدة 15-30 دقيقة.
4. يترك الأنبوب يبرد إلى درجة حرارة الغرفة.
5. إضافة 3 مايكرو لتر من محلول RNase وتمزج العينة بواسطة قلب الأنبوب 2-5 مرات.

6. يحضن الأنبوب عند 37 °C لمدة 15-30 دقيقة.
7. تترك العينة تبرّد إلى درجة حرارة الغرفة.
8. إضافة 200 مايكرو لتر من محلول ترسيب البروتين (Protein Precipitation Solution) ويمزج بشدة لمدة 20 ثانية.
9. يطرّد مركزياً عند قوة  $13,000 \times g - 16,000$  لمدة 5 دقائق. يجب أن يتشكل راسب أبيض يحتوي على البروتينات.
10. ينقل الطاف المحتوي على الحامض النووي بعناية إلى أنبوب نظيف يحتوي على 600 مايكرو لتر من كحول الأيزوبروبانول.
11. يمزج المحلول بواسطة تقليب الأنبوب برفق. يجب أن يظهر الحامض النووي كتلة مرئية.
12. يطرّد مركزياً مرة أخرى عند  $13,000 \times g - 16,000$  لمدة 1-2 دقيقة لترسيب الحامض النووي.
13. تخلص من الطاف بعناية ويغسل راسب الحامض النووي بـ 600 مايكرو لتر من إيثانول 70%.
14. تترك الرواسب لتجف في الهواء وأعد ترطيب الحامض النووي باستخدام محلول إعادة ترطيب الحامض النووي (DNA Rehydration Solution).
15. خزّن الحامض النووي عند 2-8 °C.

### 3.13.3 فحص نقاوة الحامض النووي DNA DNA purity testing

تم تقدير نقاوة الحامض النووي DNA المستخلص من الكالس لنخيل البرحي باستخدام UV/Vis Spectrophotometer. حيث تم قياس الامتصاصية لعينة DNA بعد معايرة الجهاز باستخدام محلول TE كمحلول التصفير (Blank solution). وقد تم تحديد نسبة النقاوة من خلال قياس الامتصاص عند الطولين الموجيين 260 و 280 نانومتر، واحتُسبت النسبة 280/260 كمؤشر على نقاوة العينة. ووفقاً لتعليمات مجموعة الاستخلاص، تُعد النسبة التي تقارب 1.8 مؤشراً على نقاوة جيدة للحامض النووي وخلوه من الملوثات البروتينية.

### 4.13.3 تحضير البودائ Primers Preparation

حضرت البودائ الموضحة في الجدول (3-4) بإذابتها باستخدام محلول TE، للحصول على محلول الاصيلي بتركيز 100 بيكومول، تم أخذ 10 ميكرو لتر من المحلول الاصيلي، وأضيف له 90 ميكرو لتر من الماء المقطر منزوع الأيونات (D.D.W) ليُستكمل الحجم إلى 100 ميكرو لتر. أصبح المحلول الناتج جاهزاً للاستخدام كمحلول عمل بتركيز 10 مايكرو لتر في تفاعل الـ RAPD-PCR.

الجدول (4-3): مجموعة البودائ المستخدمة في تفاعل RAPD

| Primer | Base sequence (5'-3') | Molecular weight (bp) |
|--------|-----------------------|-----------------------|
| A9     | GGGTAA CGCC           | 3053                  |
| A10    | GTGATCGCAG            | 3068                  |
| I 14   | TGACGGCGGT            | 3084                  |
| I 16   | TCTCCGCCCT            | 2915                  |

### 5.13.3 تفاعل PCR PCR reaction

تم استخدام تفاعل سلسلة البلمرة (PCR) لتضخيم أجزاء من الحامض النووي باستخدام مجموعة (i-Taq) Maxime PCR PreMix (Intronbio/كوريا). تمت إضافة الحامض النووي القالب (Template DNA)، البادئات، وماء خالٍ من إنزيم RNase إلى أنبوب PCR، الذي يحتوي على إنزيم i-Taq DNA polymerase، وخليط dNTP، ومحلول التفاعل المخلوط معاً كما في الجدول (5-3).

الجدول (5-3): مكونات خليط تفاعل PCR.

| الحجم (مايكرو لتر) | مكونات خليط التفاعل |
|--------------------|---------------------|
| 12.5               | Master Mix          |
| 4                  | Template DNA        |
| 2                  | primer (10 pmol/μl) |
| حتى 25 مايكرو لتر  | Nuclease free water |

### 6.13.3 ظروف التفاعل الحراري لتقنية RAPD-PCR

#### Thermal Reaction Conditions for RAPD-PCR Technique

تم تنفيذ تفاعل سلسلة البلمرة المتسلسل (PCR) باستخدام بادئات RAPD قصيرة التسلسل لتضخيم الحامض النووي المستخلص من الكالس لنخيل التمر صنف البرحي. وقد تم إجراء التفاعل باستخدام جهاز التدوير الحراري (Thermal Cycler) وفق البرنامج الحراري الموضح في جدول (6-3).

الجدول (6-3): البرنامج الحراري لتفاعل RAPD-PCR لنخيل التمر صنف البرحي.

| عدد الدورات | المدة الزمنية | درجة الحرارة °C | الخطوة             |
|-------------|---------------|-----------------|--------------------|
| 1           | دقيقة 5       | 94              | التمسخ الابتدائي   |
| 40          | ثانية 30      | 94              | التمسخ             |
| 40          | دقيقة 1       | 36              | التهجين            |
| 40          | دقيقة 2       | 72              | الاستطالة          |
| 1           | دقيقة 8       | 72              | الاستطالة النهائية |
| حتى التحليل | مستمر         | 4               | الحفظ النهائي      |

### 7.13.3. تحليل نواتج تفاعل RAPD-PCR بواسطة الترحيل الكهربائي على هلام الأكاروز Analysis of RAPD-PCR Reaction Products by Agarose Gel Electrophoresis

تم إجراء تحليل الترحيل الكهربائي باستخدام هلام الأكاروز. حضر هلام الأكاروز بتركيز 1.5% من خلال إذابة 1.5 غم من مسحوق الأكاروز في 100 مل من محلول  $TBE \times 1$ ، ثم تم تسخينه في جهاز المايكروويف حتى تمام الذوبان وشفافية المحلول. بعد ذلك، تُرك المحلول ليبرد إلى درجة حرارة تتراوح بين 50–55 درجة مئوية، وأضيف إليه 5 مايكرو لتر من صبغة Simply Safe بتركيز 10 ملغم مل-1 لغرض إظهار الحزم. صُب الهلام في قالب الترحيل الكهربائي بعد تثبيت المشط المناسب، وُترك عند درجة حرارة الغرفة إلى أن تجمد تمامًا. حُمِلت العينات في الحفر بإضافة 5 مايكرو لتر من ناتج تفاعل PCR بعد خلطها مع 2 مايكرو لتر من صبغة التحميل، كما تم تحميل سلم جزيئي (DNA Ladder) يتراوح بين 100 إلى 1500 زوج قاعدي في إحدى الحفر لغرض تقدير أحجام الحزم. تم تنفيذ الترحيل الكهربائي باستخدام جهاز UVP UVsolo touch المزود بوحدة إضاءة UVP Transilluminator، وذلك بجهد كهربائي 70 فولت لمدة 45 دقيقة. بعد انتهاء الترحيل، تمت ملاحظة الحزم الناتجة تحت إضاءة الأشعة فوق البنفسجية بطول موجي 366 نانومتر، وتم تصويرها باستخدام الكاميرا الرقمية المدمجة بالجهاز.

### 14.3. التحليل الإحصائي

تمت تحليل البيانات إحصائياً باستخدام تحليل التباين (ANOVA) لاختبار الفروق الكلية بين المعاملات ثم جرى تطبيق اختبار أقل فرق معنوي Reversed Least Significant Difference (RLSD) عند مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$ . واما اختبار الفعالية البايولوجية للمستخلصات الكحولية ضد البكتريا تمت مقارنتها عند مستوى احتمالية  $P \leq 0.01$ .



---

## الفصل الرابع

---

[النتائج والمناقشة]

#### 4. النتائج والمناقشة:

##### 1.4. تحليل عدد المركبات الكيميائية في المعاملات المختلفة.

أظهرت نتائج التحليل الكيميائي النوعي للمستخلصات الناتجة من الكالس المجهر تحت تأثير منظمات النمو وحامض الجاسمونيك (JA) باستخدام تقنية الكروماتوغرافيا الغازية (GC-MS)، بهدف تحديد تأثير المعاملات المختلفة في تنوع المحتوى الكيميائي للأنسجة المستزرعة. حيث بلغ عدد المركبات الكلية المكتشفة 138 مركبا كانت موزعة بين المعاملات. وبينت النتائج الموضحة في الجدول (1-4) أن عدد المركبات الكيميائية في المعاملات تراوحت بين 32 إلى 50 مركبًا باختلاف المعاملة المستخدمة. وكان 35 مركبا (جدول 4-2) مشترك في معاملتين على الأقل بينما كان 8 مركبات منها مشتركة في جميع العينات.

وقد سُجل أعلى عدد للمركبات الكيميائية في معاملة B (الشكل 4-2، ملحق 14) والتي تضمنت إضافة تركيز معتدل من حامض الجاسمونيك بتركيز 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> إلى تركيبة من منظمات النمو (2iP، 2,4-D، NAA) بتركيزات مختلفة (2، 8، 40) ملغم لتر<sup>-1</sup> بالتتابع. حيث بلغ عدد المركبات في هذه المعاملة 50 مركبا وبنسبة بلغت 36.23%.

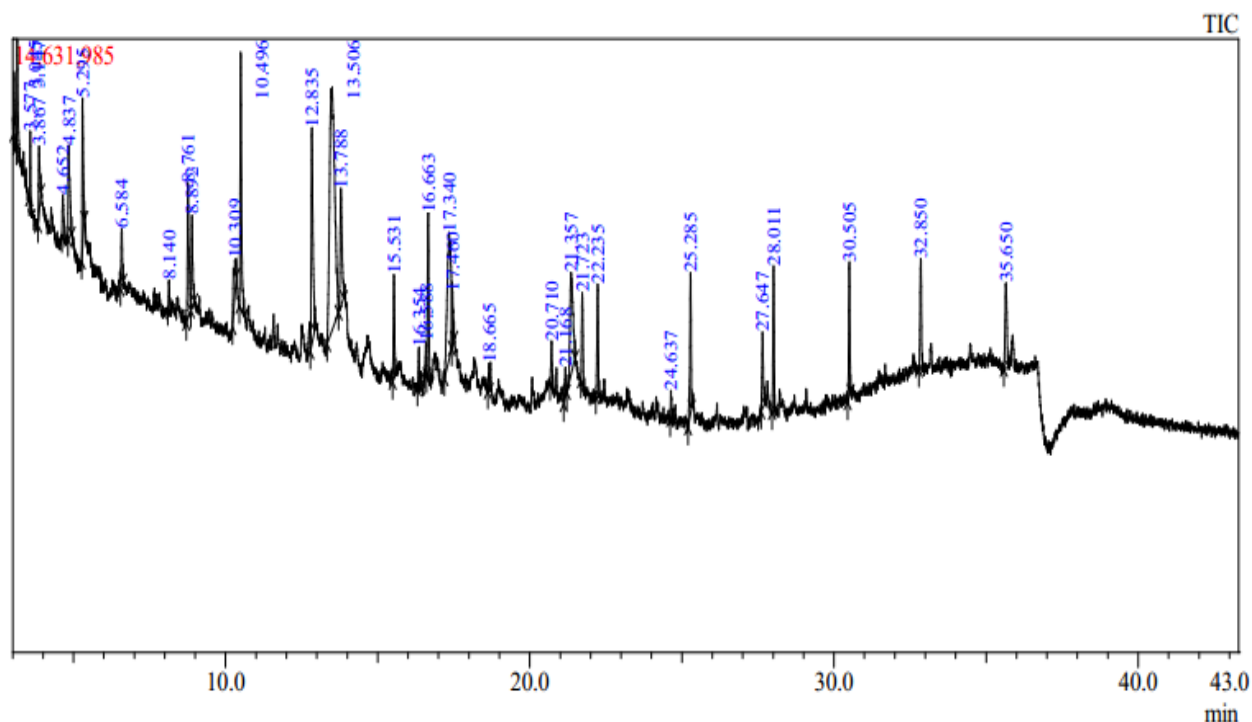
في المقابل، سجلت معاملة A (شكل 4-1، ملحق 13) أقل عدد من المركبات بـ 32 مركبًا وبنسبة 23.18%، حيث كان تركيز حامض الجاسمونيك 0 ملغم لتر<sup>-1</sup>، مع تراكيز قليلة من منظمات النمو (2iP، 2,4-D، NAA) حيث كانت بتركيز (2، 8، 40) ملغم لتر<sup>-1</sup> بالتتابع. أما المعاملة C (الشكل 4-3، ملحق 15) التي احتوت على تركيز أعلى 4 ملغم لتر<sup>-1</sup> من حامض JA مع نفس التركيبة الهرمونية للمعاملة B التي كانت بتركيز (2، 8، 40) ملغم لتر<sup>-1</sup> بالتتابع، فقد أظهرت زيادة قليلة في عدد المركبات إلى 35 مركبًا وبنسبة بلغت 25.36%. وفيما يخص المعاملات D و E و F، الشكل (4-4) و (4-5) و (4-6)، ملحق (16، 17، 18) والتي تضمنت تراكيز أعلى من منظمات النمو (4، 12، 60) ملغم لتر<sup>-1</sup> بالتتابع، فقد سجلت جميعها 40 مركبًا وبنسب مئوية متساوية 28.99%، أما تركيز JA فكان 0 ملغم /لتر<sup>-1</sup> في المعاملة D و 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> في المعاملة E و 4 ملغم لتر<sup>-1</sup> في المعاملة F.

جدول (1-4): يمثل عدد المركبات الكيميائية ونسبها المئوية لمستخلص كالس نخيل البرحي لجميع المعاملات.

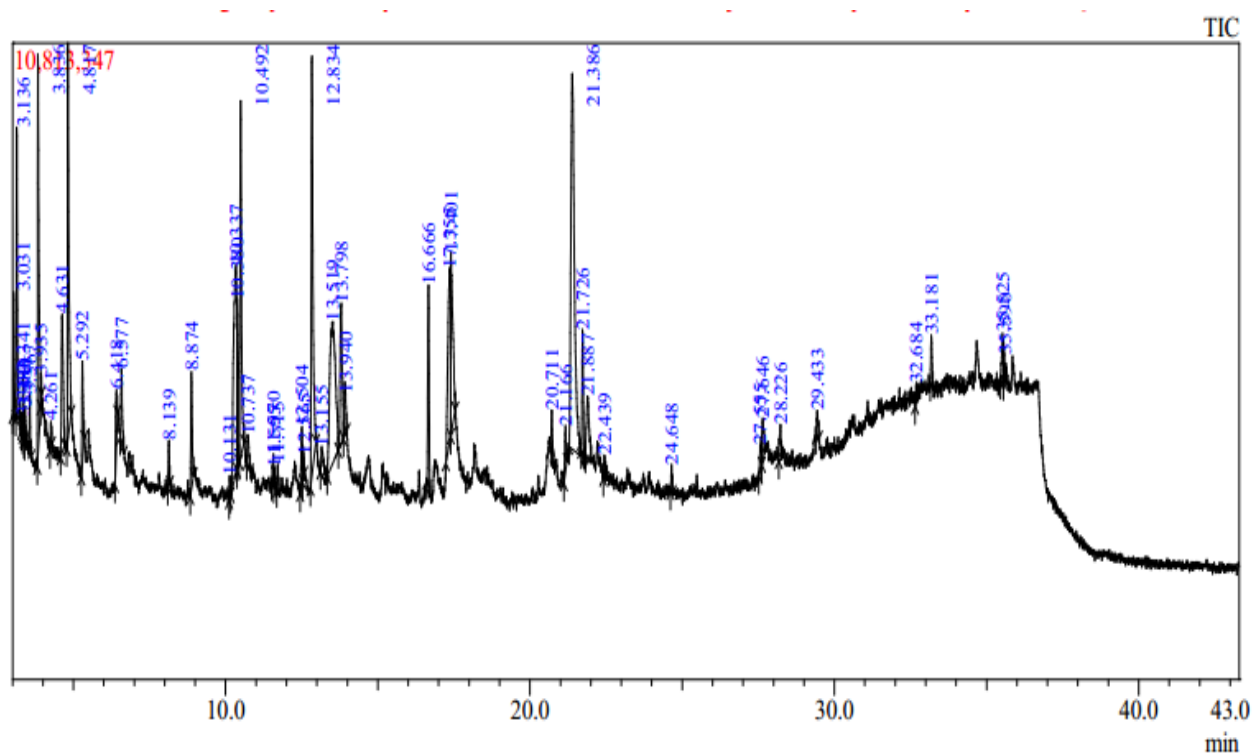
| النسبة المئوية (%) | عدد المركبات الكيميائية | العينة |
|--------------------|-------------------------|--------|
| 23.18              | 32                      | A      |
| 36.23              | 50                      | B      |
| 25.36              | 35                      | C      |
| 28.99              | 40                      | D      |
| 28.99              | 40                      | E      |
| 28.99              | 40                      | F      |

جدول(2-4) : يوضح بعض المركبات الكيميائية المشتركة لمستخلص كالس نخيل البرحي لاغلب المعاملات.

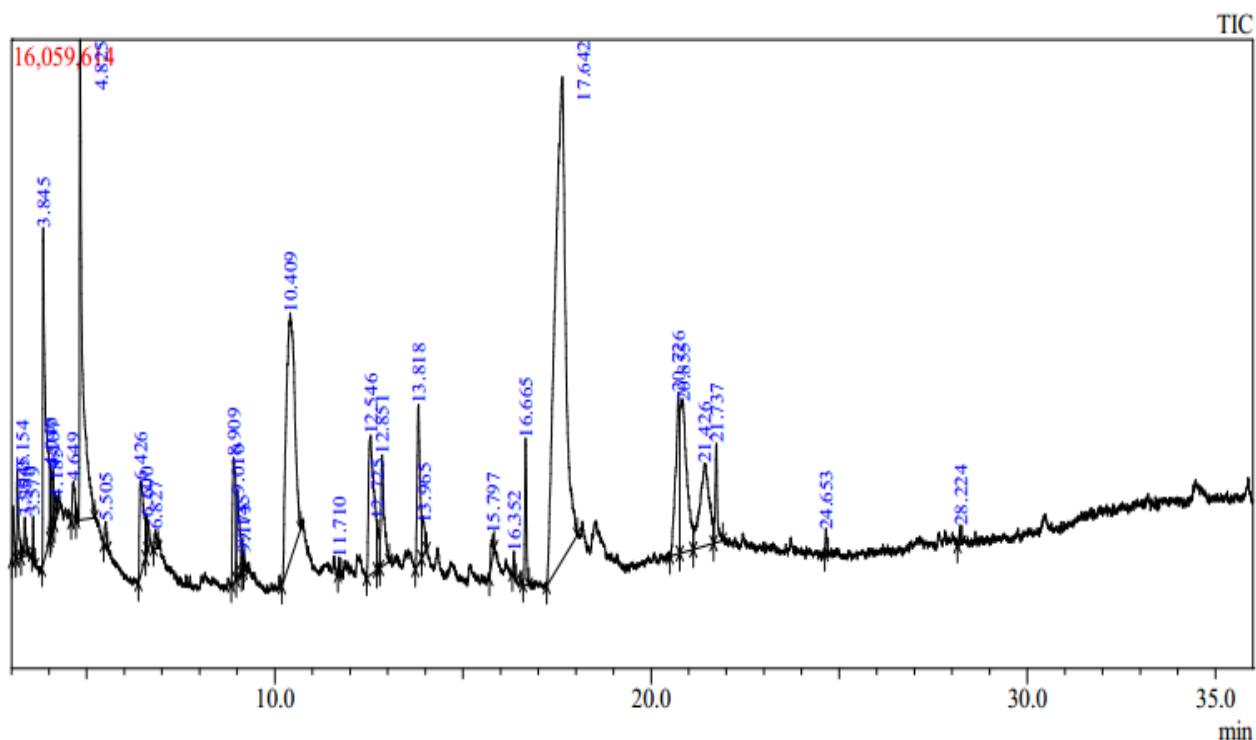
| No. | Compound Name                                       | A     | B     | C     | D     | E     | F     |
|-----|-----------------------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1   | 1,2,3-Propanetriol, 1-acetate                       | 5.98  | 7.52  | 2.12  | 9.55  | 9.02  | 2.07  |
| 2   | 2-(Isobutoxymethyl)oxirane                          | 8.24  | 4.87  | 31.25 | 8.22  | 14.62 | 32.03 |
| 3   | 2,2'-Bioxirane                                      | 1.02  | 1.41  | 0.44  | 0.98  | 0.89  | 0.57  |
| 4   | 2-Propanone, 1-hydroxy-                             | 1.95  | 3.02  | 0.99  | 1.86  | 2.24  | 0.94  |
| 5   | Benzophenone                                        | 2.11  | 1.75  | 1.31  | 1.62  | 1.58  | 1.07  |
| 6   | Dichloroxylenol                                     | 3.81  | 2.72  | 1.45  | 1.97  | 1.48  | 1.1   |
| 7   | Glyceraldehyde                                      | 1.4   | 5.59  | 6.09  | 0.75  | 2.54  | 0.09  |
| 8   | Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester                | 1.05  | 2.47  | 0.43  | 0.5   | 0.5   | 0.25  |
| 9   | 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl- | 5.83  | 6.05  | 0.38  | 8.25  | 7.95  |       |
| 10  | Dihydroxyacetone                                    |       | 5.63  | 8.59  | 1.12  | 4.62  | 7.22  |
| 11  | Glycerin                                            |       | 0.82  | 12.81 | 2.94  | 2.56  | 14.93 |
| 12  | 2,4-Dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furan-3-one        | 1.15  | 1.01  |       | 1.27  | 1.44  |       |
| 13  | 2-Furanmethanol                                     |       | 0.25  |       | 0.34  | 0.36  | 0.16  |
| 14  | Butyrolactone                                       | 3     | 1.35  |       | 2.3   | 1.1   |       |
| 15  | Diethoxymethyl acetate                              | 0.93  | 0.4   | 0.24  |       | 0.42  |       |
| 16  | Ethyl .alpha.-d-glucopyranoside                     | 5.01  | 14.39 |       | 17.72 | 11.91 |       |
| 17  | Heptanoic acid, 6-oxo-                              |       |       | 2.8   | 8.25  | 6.27  | 2.98  |
| 18  | Methylpyruvate                                      |       | 0.71  | 0.6   |       | 0.75  | 0.73  |
| 19  | n-Hexadecanoic acid                                 | 1.69  | 0.76  |       | 1.32  |       | 0.19  |
| 20  | Pentanoic acid, 4-oxo-                              | 0.48  | 0.43  |       | 0.65  | 0.43  |       |
| 21  | 1-Hexadecanol                                       | 0.68  | 0.58  | 3.83  |       |       |       |
| 22  | 2(3H)-Furanone, dihydro-4-hydroxy-                  |       | 0.5   |       |       | 0.69  | 0.66  |
| 23  | 5-Hydroxymethylfurfural                             |       |       | 4.68  |       | 0.74  | 2.65  |
| 24  | Cyclopentane, 1-acetyl-1,2-epoxy-                   | 1.93  |       | 2.29  |       | 1.31  |       |
| 25  | (S)-(-)-1,2,4-Butanetriol, 2-acetate                |       |       |       | 3.16  | 3.29  |       |
| 26  | .alpha.-Terpineol                                   |       | 0.32  | 0.14  |       |       |       |
| 27  | .beta.-D-Glucopyranose, 1,6-anhydro-                |       |       |       |       | 2.12  | 2.12  |
| 28  | 1,3-Methylene-d-arabitol                            |       | 0.49  |       | 3.82  |       |       |
| 29  | 3-Deoxy-d-mannonic lactone                          |       |       | 6.15  |       |       | 6.94  |
| 30  | 3-Deoxy-d-mannonic acid                             |       |       | 4.8   |       |       | 4.49  |
| 31  | 6-(Hydroxymethyl)-2,4-dihydro-1,4-benzoxazin-3-one  |       |       |       | 0.51  | 0.33  |       |
| 32  | Cyclopentanone, 2-methyl-                           |       |       |       |       | 0.35  | 0.29  |
| 33  | Propanoic acid, 3-(acetylthio)-2-methyl-            | 20.57 | 8.54  |       |       |       |       |
| 34  | Pyrimidine, 1,4,5,6-tetrahydro-1,2-dimethyl-        |       |       |       | 0.17  |       | 0.43  |
| 35  | Triethyl phosphate                                  |       | 0.17  |       | 0.3   |       |       |



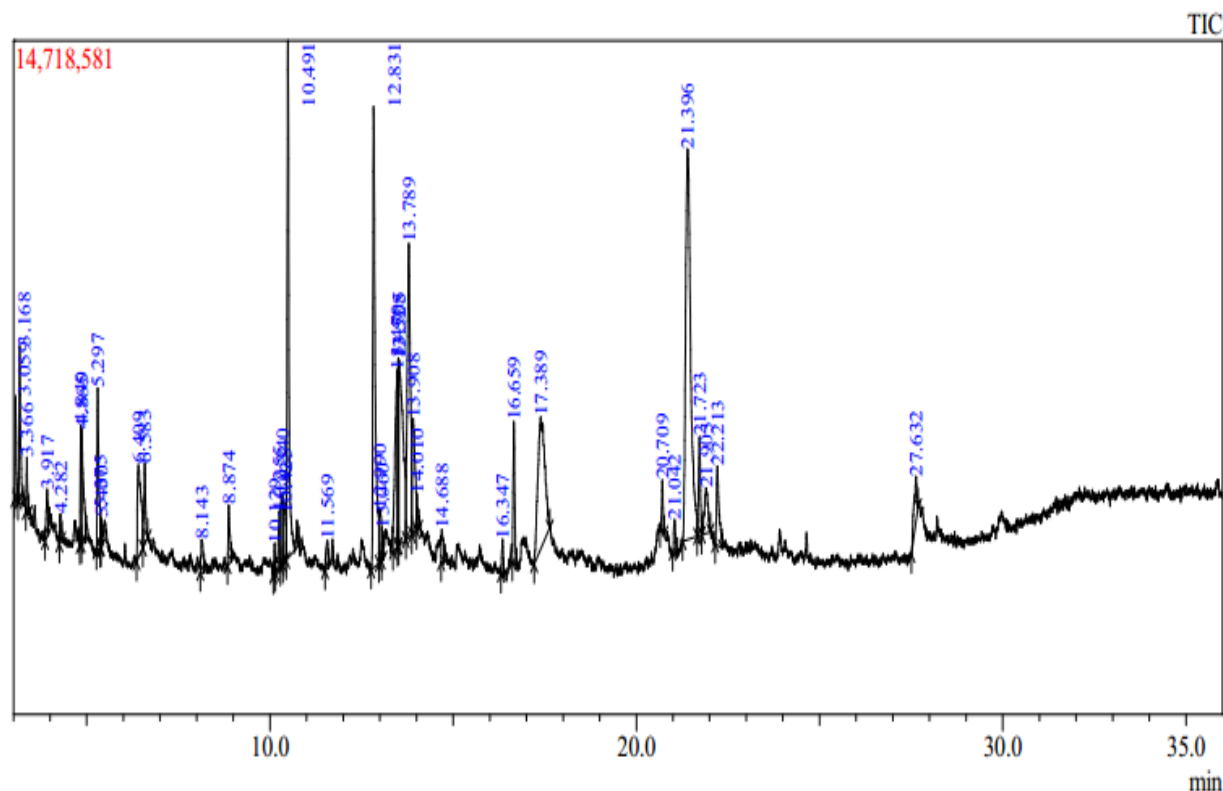
الشكل (4-1): المركبات الكيميائية التي ظهرت في تحليل GC-MS لمستخلص كالس نخيل التمر للعينة A بتوليفة (JA:0+2iP:2 +2,4-D:8 +NAA:40) ملغم لتر<sup>-1</sup>).



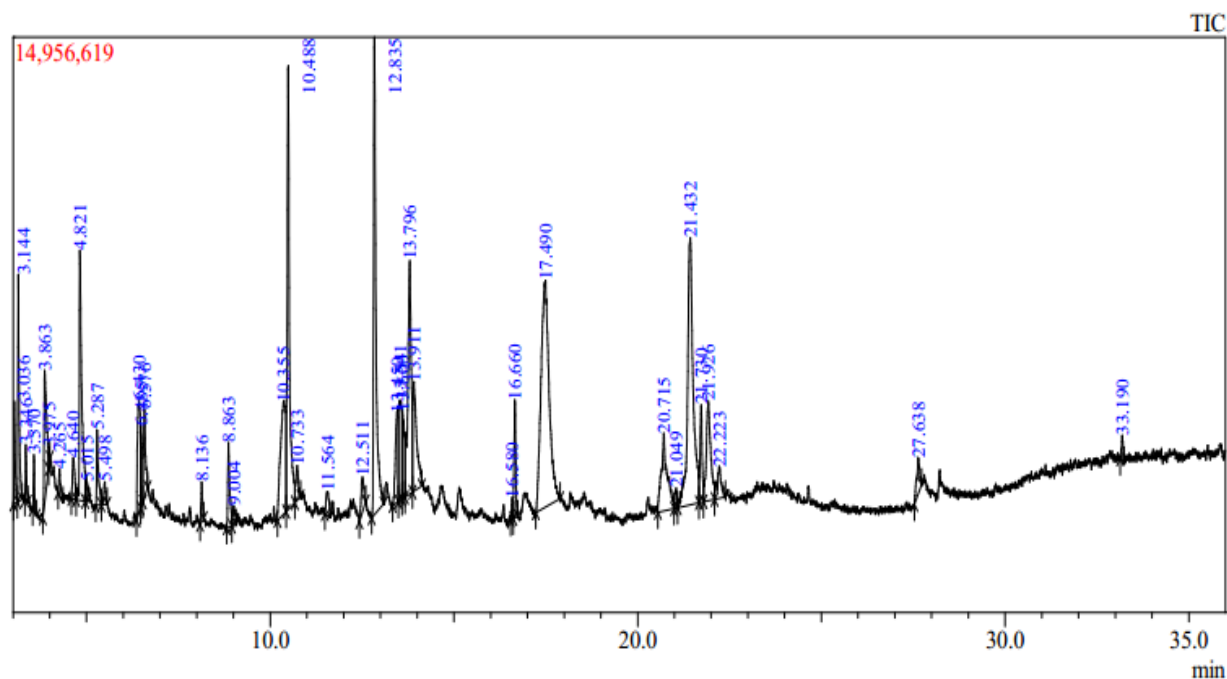
الشكل (4-2): المركبات الكيميائية التي ظهرت في تحليل GC-MS لمستخلص كالس نخيل التمر للعينة B بتوليفة (JA:2+2iP:2 +2,4-D:8 +NAA:40) ملغم لتر<sup>-1</sup>).



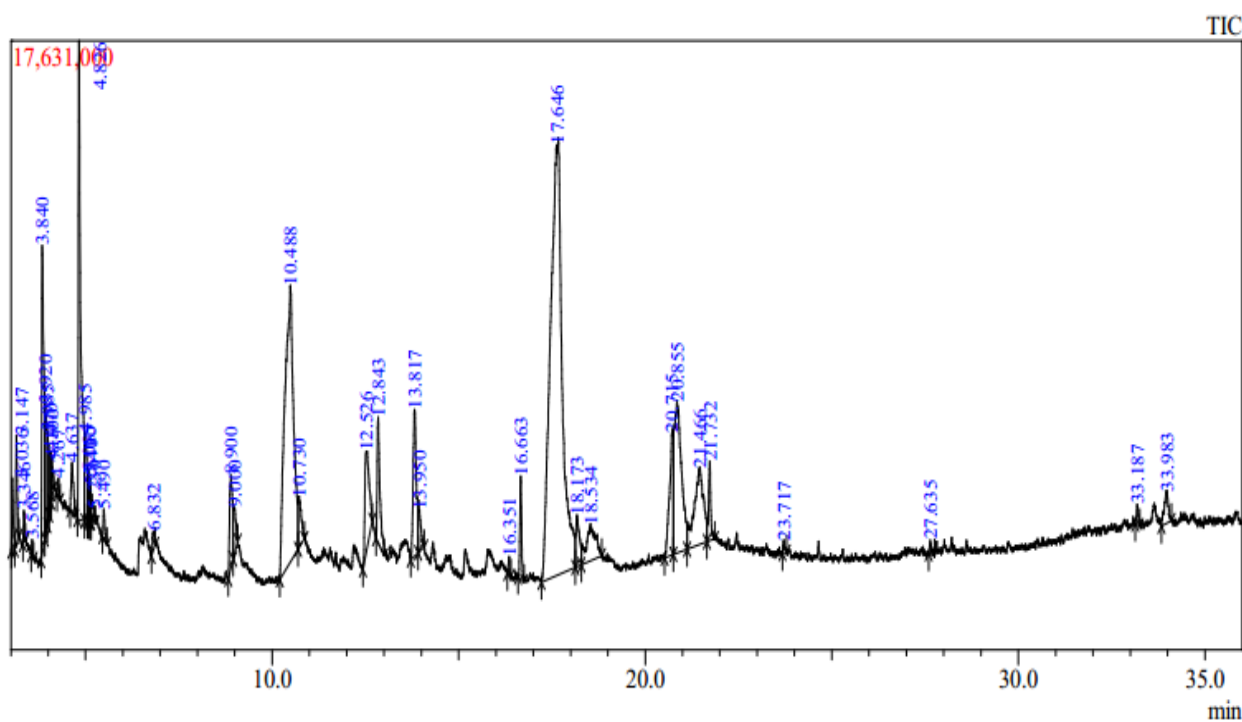
الشكل (3-4): المركبات الكيميائية التي ظهرت في تحليل GC-MS لمستخلص كالس نخيل التمر للعينة C بتوليفة (JA:4+2iP:2 +2,4-D:8 +NAA:40) ملغم لتر<sup>-1</sup>).



الشكل (4-4): المركبات الكيميائية التي ظهرت في تحليل GC-MS لمستخلص كالس نخيل التمر للعينة D بتوليفة (JA:0+2iP:4 +2,4-D:12 +NAA:60) ملغم لتر<sup>-1</sup>).



الشكل (4-5): المركبات الكيميائية التي ظهرت في تحليل GC-MS لمستخلص كالس نخيل التمر للعينة E بتوليفة (JA:2+2iP:4 + 2,4-D:12 + NAA:60) ملغم لتر<sup>-1</sup>).



الشكل (4-6): المركبات الكيميائية التي ظهرت في تحليل GC-MS لمستخلص كالس نخيل التمر للعينة F بتوليفة (JA:4+2iP:4 + 2,4-D:12 + NAA:60) ملغم لتر<sup>-1</sup>).

## 2.4. تأثير منظمات النمو وحامض الجاسمونيك على المعاملات وتحليلها بجهاز GC-MS لكالس نخيل البرحي.

بين التحليل الكمي للمركبات الكيميائية الناتجة في الكالس المتكون من زراعة أنسجة نخيل التمر تحت تأثير معاملات مختلفة من منظمات النمو وحامض الجاسمونيك، وذلك باستخدام تقنية GC-MS. حيث أظهرت النتائج في الجدول (3-4) أن هناك ثمانية مركبات رئيسية مشتركة بين جميع العينات المعالجة (A-F)، مع اختلاف ملحوظ في المساحات النسبية (Area%) لهذه المركبات، مما يعكس التباين في تأثير المعاملات الهرمونية على الأنماط الأيضية داخل الكالس.

أظهرت العينة B أعلى القيم التراكمية للمساحة النسبية لهذه المركبات المشتركة، حيث سجلت نسباً مرتفعة في هذه المعاملة، والتي تضمنت: Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester (2.47%)، مما يجعل العينة B الأكثر تميزاً من حيث الكم الإجمالي لتراكم المركبات المشتركة.

في المقابل، أظهرت العينات الأخرى مثل C, F، تميزاً في تراكم مركب واحد بنسب مرتفعة، وهو مركب 2-(Isobutoxymethyl)oxirane، حيث بلغت نسبته 31.25% في العينة C و 32.03% في العينة F، لكن دون وجود توازن واضح في بقية المركبات مما يعكس نمطاً أيضاً تراكمياً أحادي الاتجاه.

جدول (3-4): تأثير منظمات النمو وحامض الجاسمونيك على المساحات النسبية للمركبات الكيميائية المشتركة في كالس نخيل البرحي.

| Compound                             | A<br>Area<br>% | B<br>Area<br>% | C<br>Area<br>% | D<br>Area<br>% | E<br>Area<br>% | F<br>Area<br>% |
|--------------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| 1,2,3-Propanetriol, 1-acetate        | 5.98           | 7.52           | 2.12           | 9.55           | 9.02           | 2.07           |
| 2-(Isobutoxymethyl)oxirane           | 8.24           | 4.87           | 31.25          | 8.22           | 14.62          | 32.03          |
| 2,2'-Bioxirane                       | 1.02           | 1.41           | 0.44           | 0.98           | 0.89           | 0.57           |
| 2-Propanone, 1-hydroxy-              | 1.95           | 3.02           | 0.99           | 1.86           | 2.24           | 0.94           |
| Benzophenone                         | 2.11           | 1.75           | 1.31           | 1.62           | 1.58           | 1.07           |
| Dichloroxylenol                      | 3.81           | 2.72           | 1.45           | 1.97           | 1.48           | 1.1            |
| Glyceraldehyde                       | 1.4            | 5.59           | 6.09           | 0.75           | 2.54           | 0.09           |
| Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester | 1.05           | 2.47           | 0.43           | 0.5            | 0.5            | 0.25           |

كما أظهرت العينة C أعلى مجموع نسبي لتراكم هذه المركبات، إذ بلغ إجمالي المساحات النسبية للمركبات المشتركة فيها 44.08%، كما بلغت النسبة 38.12% في F، و 32.87% في E، و 29.35% في B، و 25.56% في A، في حين بلغت في العينة D 25.45%.

3.4. نتائج تأثير إضافة منظمات النمو وحامض الجاسمونيك على المساحات النسبية للمركبات المشتركة لكالس نخيل التمر.

1.3.4. تأثير إضافة منظمات النمو وحامض الجاسمونيك (JA) وتداخلهما في كمية مركب 2,2'-Bioxirane في مستخلص كالس نبات نخيل التمر صنف البرحي.

اظهر الكشف عن مركب 2,2'-Bioxirane لمستخلص كالس نخيل البرحي باستخدام جهاز GC-MS بزمن احتجاز بلغ 3.045 دقيقة. حيث بينت النتائج في جدول (4-4) أن التغير في تراكيز منظمات النمو (2ip، 2,4-D، NAA) أدى إلى فروقات عددية في المساحة النسبية هذا المركب، حيث سجلت المعاملة التي تضمنت التراكيز (2 ملغم لتر<sup>-1</sup> 2ip، 8 ملغم لتر<sup>-1</sup> 2,4-D، 40 ملغم لتر<sup>-1</sup> NAA) أعلى معدل بلغ 1.04%، مقارنةً بالمعاملة ذات التراكيز الأعلى (4 : 2ip، 12 : 2,4-D : 60 : NAA) ملغم لتر<sup>-1</sup> التي سجلت 0.81%. وعلى الرغم من هذا الفرق العددي (0.23)، إلا أنه لم يكن هنالك فرقاً معنوياً إحصائياً.

أما بالنسبة لتأثير الجاسمونيك فقد أظهرت النتائج أن استخدام تركيز 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> أدى إلى زيادة غير معنوية في المساحة النسبية للمركب بلغت 1.28%، مقارنةً بالمعاملة التي لم يستخدم فيها حامض الجاسمونيك والذي بلغ المساحة النسبية للمركب 1%. بينما عند التركيز 4 ملغم لتر<sup>-1</sup> كانت هنالك زيادة معنوية.

فيما يخص التداخل بين منظمات النمو والجاسمونيك، فقد تفوقت معنوياً معاملة التداخل التي جمعت بين التراكيز المتوسطة (2 : 2ip، 8 : 2,4-D، 40 : NAA مع 2 : JA) ملغم لتر<sup>-1</sup> بتسجيلها أعلى مساحة نسبية بلغت 1.41%، مقارنةً بأقل مساحة نسبية 0.44% التي جمعت بين التراكيز المتوسطة لمنظمات النمو مع التركيز العالي لحامض الجاسمونيك.

الجدول (4-4): تأثير إضافة منظمات النمو وحامض الجاسمونيك وتداخلاتهما في كمية مركب 2,2'-Bioxirane لمستخلص كالس نخيل التمر صنف البرحي.

| تركيز منظمات النمو<br>ملغم لتر <sup>-1</sup> | تركيز الجاسمونيك JA |              |                 | معدل تأثير منظمات النمو |
|----------------------------------------------|---------------------|--------------|-----------------|-------------------------|
|                                              | 0                   | 2            | 4               |                         |
| 2ip : 2 , 2,4-D : 8 , NAA : 40               | 1.02                | 1.41         | 0.44            | 1.04                    |
| 2ip: 4 , 2,4-D: 12 , NAA: 60                 | 0.98                | 0.89         | 0.57            | 0.81                    |
| معدل تأثير الجاسمونيك                        | 1                   | 1.28         | 0.51            |                         |
| قيمة RLSD                                    | الجاسمونيك          | منظمات النمو | التداخل الثنائي |                         |
| عند مستوى معنوية 0.05                        | 0.36                | 0.30         | 0.51            |                         |

### 2.3.4. تأثير إضافة منظمات النمو وحامض الجاسمونيك (JA) وتداخلهما في كمية مركب 2-Propanone, 1-hydroxy- في مستخلص كالس نبات نخيل التمر صنف البرحي.

بينت نتائج جهاز GC-MS لمستخلص كالس البرحي التي وردت في الجدول (4-5) ان مركب 2-Propanone, 1-hydroxy- الذي بلغ زمن احتجازه 3.147 دقيقة ان التغير في تراكيز منظمات النمو (2ip, 2,4-D, NAA) أدى إلى فروقات معنوية في المساحة النسبية هذا المركب، حيث سجلت المعاملة التي تضمنت التراكيز (2 : 2ip, 8 : 2,4-D, 40 : NAA) ملغم لتر<sup>-1</sup> اعلى معدل بلغ 1.99%، مقارنةً بالمعاملة ذات التراكيز الأعلى (4 : 2ip, 12 : 2,4-D, 60 : NAA) ملغم لتر<sup>-1</sup> التي سجلت 1.68%.

وعند اضافة الجاسمونيك بتركيز 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> أدى إلى زيادة معنوية في المساحة النسبية للمركب بلغت 2.63%، بينما عند التركيز 4 ملغم لتر<sup>-1</sup> أدى الى انخفاض معنوي في المساحة النسبية للمركب التي بلغت 0.97%. عند مقارنتها بالمعاملة التي لم يستخدم فيها حامض الجسمونك والتي بلغت فيها المساحة النسبية للمركب (1.91%).

بينما كان التداخل بين منظمات النمو والجاسمونيك له تأثيرا معنويا، فقد تفوقت معنويا معاملة التداخل التي جمعت بين التراكيز المتوسطة (2 : 2ip, 8 : 2,4-D, 40 : NAA مع 2 : JA) ملغم لتر<sup>-1</sup> بتسجيلها اعلى المساحة النسبية بلغ 3.02%، مقارنة مع اقل مساحة نسبية التي جمعت بين التراكيز العالية لمنظمات النمو وحامض الجاسمونيك حيث بلغت 0.94%.

الجدول (4-5): تأثير اضافة منظمات النمو وحامض الجسمونك وتداخلتهما في كمية مركب 2-Propanone, 1-hydroxy- لمستخلص كالس نخيل التمر صنف البرحي.

| تركيز منظمات النمو<br>ملغم لتر <sup>-1</sup> | تركيز الجاسمونيك JA |              |                 | معدل تأثير منظمات النمو |
|----------------------------------------------|---------------------|--------------|-----------------|-------------------------|
|                                              | 0                   | 2            | 4               |                         |
| 2ip : 2 , 2,4-D : 8 ,NAA : 40                | 1.95                | 3.02         | 0.99            | 1.99                    |
| 2ip: 4 , 2,4-D: 12 ,NAA: 60                  | 1.86                | 2.24         | 0.94            | 1.68                    |
| معدل تأثير الجاسمونيك                        | 1.91                | 2.63         | 0.97            |                         |
| قيمة RLSD                                    | الجاسمونيك          | منظمات النمو | التداخل الثنائي |                         |
| عند مستوى معنوية 0.05                        | 0.32                | 0.26         | 0.46            |                         |

### 3.3.4. تأثير إضافة منظمات النمو وحامض الجاسمونيك (JA) وتداخلهما في كمية مركب Glycer aldehyde في مستخلص كالس نبات نخيل التمر صنف البرحي.

اوضح الكشف بجهاز GC-MS لمستخلص كالس البرحي أن مركب Glycer aldehyde ، الذي كان زمن احتجازه 3.867 دقيقة كما موضح بالجدول (4-6) وجود فروقات معنوية بالنسبة لتراكيز منظمات النمو ، اذ تفوقت المعاملة (2ip : 2 ، 2,4-D : 8 ، NAA: 40) ملغم لتر<sup>-1</sup> على المعاملات الاخرى بتسجيلها اعلى مساحة نسبية بلغت (4.36 %) بالمقارنة مع المعاملة ذات التراكيز الأعلى (4ip : 4 ، 2,4-D : 12 ، NAA: 60) ملغم لتر<sup>-1</sup> التي سجلت 1.13%.

كما أظهرت النتائج أن استخدام الجاسمونيك بتركيز 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> أدى إلى زيادة معنوية في المساحة النسبية للمركب حيث بلغ 4.07% ، مقارنة بالمعاملة التي لم يستخدم فيها حامض الجسمونك والذي بلغ المساحة النسبية للمركب 1.08%.

اما التداخل بين منظمات النمو والجاسمونيك، فقد تفوقت معنويا معاملة التداخل التي جمعت بين التراكيز المتوسطة لمنظمات النمو (2ip: 2 ، 2,4-D: 8 ، NAA: 40) ملغم لتر<sup>-1</sup> مع التركيز العالي لحامض الجسمونك 4 ملغم لتر<sup>-1</sup> بتسجيلها اعلى المساحة النسبية بلغ 6.09%، مقارنة مع اقل مساحة نسبية (0.09 %) عند التراكيز العالية من منتظمات النمو مع الجاسمونيك.

الجدول (4-6): تأثير اضافة منظمات النمو وحامض الجسمونك وتداخلاتهما في كمية مركب Glycer aldehyde لمستخلص كالس نخيل التمر صنف البرحي.

| تركيز منظمات النمو<br>ملغم لتر <sup>-1</sup> | تركيز الجاسمونيك JA |              |                 | معدل تأثير منظمات النمو |
|----------------------------------------------|---------------------|--------------|-----------------|-------------------------|
|                                              | 0                   | 2            | 4               |                         |
| 2ip : 2 , 2,4-D : 8 , NAA : 40               | 1.4                 | 5.59         | 6.09            | 4.36                    |
| 2ip: 4 , 2,4-D: 12 , NAA: 60                 | 0.75                | 2.54         | 0.09            | 1.13                    |
| معدل تأثير الجاسمونيك                        | 1.08                | 4.07         | 3.09            |                         |
| قيمة RLSD                                    | الجاسمونيك          | منظمات النمو | التداخل الثنائي |                         |
| عند مستوى معنوية 0.05                        | 1.80                | 1.47         | 2.55            |                         |

#### 4.3.4. تأثير إضافة منظمات النمو وحامض الجاسمونيك (JA) وتداخلهما في كمية مركب Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester في مستخلص كالس نبات نخيل التمر صنف البرحي.

بينت نتائج جهاز GC- MS لمستخلص كالس البرحي التي وردت في الجدول (4-7) ان مركب Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester الذي بلغ زمن احتجازه 4.652 دقيقة ان التغير في تراكيز منظمات النمو (2ip, 2,4-D, NAA) أدى إلى فروقات معنوية في المساحة النسبية لهذا المركب، حيث سجلت المعاملة التي تضمنت التراكيز (2 : 2ip, 8 : 2,4-D, 40 : NAA) ملغم لتر<sup>-1</sup> أعلى مساحة نسبية بلغت 1.32%، مقارنةً بالمعاملة ذات التراكيز الأعلى (4 : 2ip, 12 : 2,4-D, 60 : NAA) ملغم لتر<sup>-1</sup> التي سجلت 0.42%.

ان اضافة الجاسمونيك بتركيز 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> أدى إلى زيادة معنوية في المساحة النسبية للمركب بلغت 1.49%، بينما ادى اضافة 4 ملغم لتر<sup>-1</sup> من الجسمونك الى انخفاض غير معنوية. مقارنة بالمعاملة التي لم يستخدم فيها حامض الجسمونك والتي بلغت المساحة النسبية للمركب 0.78%.

بينما كان لتداخل منظمات النمو والجاسمونيك اثرا معنويا ، فقد تفوقت معاملة التداخل التي جمعت بين التراكيز المتوسطة (2 : 2ip, 8 : 2,4-D, 40 : NAA مع 2 : JA) ملغم لتر<sup>-1</sup> بتسجيلها أعلى مساحة نسبية والتي بلغت 2.47%، مقارنة مع أقل مساحة نسبية (0.25%) عند التراكيز العالية.

الجدول (4-7): تأثير اضافة منظمات النمو وحامض الجسمونك وتداخلتهما في كمية مركب Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester لمستخلص كالس نخيل التمر صنف البرحي.

| تركيز منظمات النمو<br>ملغم لتر <sup>-1</sup> | تركيز الجاسمونيك JA |              |                | معدل تأثير منظمات النمو |
|----------------------------------------------|---------------------|--------------|----------------|-------------------------|
|                                              | 0                   | 2            | 4              |                         |
| 2ip : 2 , 2,4-D : 8 , NAA : 40               | 1.05                | 2.47         | 0.43           | 1.32                    |
| 2ip: 4 , 2,4-D: 12 ,NAA: 60                  | 0.5                 | 0.5          | 0.25           | 0.42                    |
| معدل تأثير الجاسمونيك                        | 0.78                | 1.49         | 0.34           |                         |
| قيمة RLSD                                    | الجاسمونيك          | منظمات النمو | التداخل الثاني | عند مستوى معنوية 0.05   |
|                                              | 0.65                | 0.53         | 0.92           |                         |

#### 5.3.4. تأثير إضافة منظمات النمو وحامض الجاسمونيك (JA) وتداخلهما في كمية مركب 1,2,3-Propanetriol, 1-acetate في مستخلص كالس نبات نخيل التمر صنف البرحي.

أظهرت نتائج جهاز G-C Mass لمستخلص كالس البرحي التي وردت في الجدول (4-8) أن مركب 1,2,3-Propanetriol, 1-acetate الذي بلغ زمن احتجازه 12.835 دقيقة أن التغير في تراكيز منظمات النمو (2ip, 2,4-D, NAA) أدت إلى فروقات معنوية في المساحة النسبية لهذا المركب، حيث سجلت المعاملة التي تضمنت التراكيز (4 : 2ip, 12 : 2,4-D, 60 : NAA) ملغم لتر<sup>-1</sup> أعلى مساحة نسبية بلغت 6.88%، مقارنة مع المعاملة ذات التراكيز (2 : 2ip, 4 : 2,4-D, 40 : NAA) ملغم لتر<sup>-1</sup> التي سجلت 5.21%.

أما بالنسبة لتأثير الجاسمونيك فقد أظهرت النتائج أن استخدام تركيز 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> أدى إلى زيادة غير معنوية في المساحة النسبية للمركب بلغت 8.27%، بينما أدى تركيز 4 ملغم لتر<sup>-1</sup> من الجسمونك إلى انخفاض معنوي في المساحة النسبية للمركب والتي بلغت 2.10% مقارنة بالمعاملة التي لم يستخدم فيها حامض الجاسمونيك والتي بلغت فيها المساحة النسبية للمركب 7.77%. أما التداخل فأن إضافة الجسمونك بتركيز 4 ملغم لتر<sup>-1</sup> إلى منظمات النمو انخفاض معنوي في المساحة النسبية للمركب حيث بلغت 2.07%، مقارنة مع أكبر مساحة نسبية عند عدم إضافة الجسمونك حيث سجلت مساحات نسبية بلغت 9.55% عند التراكيز (4 : 2ip, 12 : 2,4-D, 60 : NAA) ملغم لتر<sup>-1</sup>.

الجدول (4-8): تأثير إضافة منظمات النمو وحامض الجسمونك وتداخلتهما في كمية مركب 1,2,3-Propanetriol, 1-acetate لمستخلص كالس نخيل التمر صنف البرحي.

| تركيز منظمات النمو<br>ملغم لتر <sup>-1</sup> | تركيز الجاسمونيك JA |              |                | معدل تأثير منظمات النمو |
|----------------------------------------------|---------------------|--------------|----------------|-------------------------|
|                                              | 0                   | 2            | 4              |                         |
| 2ip : 2 , 2,4-D : 8 , NAA : 40               | 5.98                | 7.52         | 2.12           | 5.21                    |
| 2ip : 4 , 2,4-D : 12 , NAA : 60              | 9.55                | 9.02         | 2.07           | 6.88                    |
| معدل تأثير الجاسمونيك                        | 7.77                | 8.27         | 2.10           |                         |
| قيمة RLSD                                    | الجاسمونيك          | منظمات النمو | التداخل الثاني | عند مستوى معنوية 0.05   |
|                                              | 1.22                | 0.99         | 1.72           |                         |

### 6.3.4. تأثير إضافة منظمات النمو وحامض الجاسمونيك (JA) وتداخلهما في كمية مركب 2-(Isobutoxymethyl)oxirane في مستخلص كالس نبات نخيل التمر صنف البرحي.

بينت النتائج الواردة في الجدول (4-9) في جهاز GC- MS لمستخلص كالس البرحي ان مركب 2-(Isobutoxymethyl)oxirane الذي بلغ زمن احتجازه 17.34 دقيقة ان التغير في تراكيز منظمات النمو (2ip، 2,4-D، NAA) أدت إلى فروقات معنوية في المساحة النسبية لهذا المركب، حيث سجلت المعاملة التي تضمنت التراكيز (4 : 2ip، 12 : 2,4-D، 60 : NAA) ملغم لتر<sup>-1</sup> أعلى مساحة نسبية بلغت 18.29%، مقارنة مع المعاملة ذات التراكيز (2 : 2ip، 4 : 2,4-D، 40 : NAA) التي سجلت 14.79%.

كما وجد أن استخدام الجاسمونيك بتركيز 4 ملغم لتر<sup>-1</sup> أدى إلى زيادة معنوية في المساحة النسبية للمركب حيث بلغ 31.64%، مقارنة بالمعاملة التي لم يستخدم فيها حامض الجسمونك والتي بلغت المساحة النسبية للمركب 8.23%.

اما التداخل بين منظمات النمو والجاسمونيك، فقد تفوقت معنويا معاملة التداخل التي جمعت بين التراكيز العالية لمنظمات النمو وحامض الجاسمونيك بمساحة نسبية بلغت 32.03% مقارنة مع اقل مساحة نسبية 4.87% عند التراكيز المتوسطة.

الجدول (4-9): تأثير اضافة منظمات النمو وحامض الجسمونك وتداخلاتهما في كمية مركب 2-(Isobutoxymethyl)oxirane لمستخلص كالس نخيل التمر صنف البرحي.

| تركيز منظمات النمو<br>ملغم لتر <sup>-1</sup> | تركيز الجاسمونيك JA |              |                 | معدل تأثير منظمات النمو |
|----------------------------------------------|---------------------|--------------|-----------------|-------------------------|
|                                              | 0                   | 2            | 4               |                         |
| 2ip : 2 , 2,4-D : 8 , NAA : 40               | 8.24                | 4.87         | 31.25           | 14.79                   |
| 2ip: 4 , 2,4-D: 12 , NAA: 60                 | 8.22                | 14.62        | 32.03           | 18.29                   |
| معدل تأثير الجاسمونيك                        | 8.23                | 9.745        | 31.64           |                         |
| قيمة RLSD                                    | الجاسمونيك          | منظمات النمو | التداخل الثنائي | عند مستوى معنوية 0.05   |
|                                              | 3.60                | 2.94         | 5.10            |                         |

#### 7.3.4. تأثير إضافة منظمات النمو وحامض الجاسمونيك (JA) وتداخلهما في كمية مركب Benzophenone في مستخلص كالس نبات نخيل التمر صنف البرحي.

بين الكشف عن مركب Benzophenone باستخدام جهاز GC-MS بزمن احتجاز بلغ 21.723 دقيقة. حيث بينت النتائج في جدول (4-10) أن التغير في تراكيز منظمات النمو (2ip، 2,4-D، NAA) أدى إلى فروقات معنوية في المساحة النسبية لهذا المركب، حيث سجلت المعاملة التي تضمنت التراكيز (2 : 2ip، 8 : 2,4-D، 40 : NAA) ملغم لتر<sup>-1</sup> مساحة نسبية بلغت 1.72%، مقارنة مع المعاملة ذات التراكيز الأعلى (4 : 2ip، 12 : 2,4-D، 60 : NAA) ملغم لتر<sup>-1</sup> التي سجلت 1.42%.

وأظهرت النتائج أن استخدام الجاسمونيك بتركيزين (2، 4) ملغم لتر<sup>-1</sup> أدى إلى انخفاض معنوي في المساحة النسبية للمركب حيث بلغت 1.67% و 1.19% بالتتابع، مقارنة بالمعاملة التي لم يستخدم فيها حامض الجاسمونيك والتي بلغت فيها المساحة النسبية للمركب 1.87%.

أما إضافة الجاسمونيك بتركيزين 4، 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> إلى منظمات النمو سبب انخفاض معنوي في المساحة النسبية للمركب، فكانت المساحة النسبية عند التركيز 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> من الجاسمونيك هي 1.75% و 1.31% بالتتابع وعند التركيز 4 ملغم لتر<sup>-1</sup> كانت المساحة النسبية 1.58% و 1.07% بالتتابع وهي أقل معنويًا عند المقارنة مع أكبر مساحة نسبية عند عدم إضافة الجاسمونيك حيث سجلت مساحات نسبية بلغت 2.11% عند التراكيز (2 : 2ip، 8 : 2,4-D، 40 : NAA) ملغم لتر<sup>-1</sup>.

الجدول (4-10): تأثير إضافة منظمات النمو وحامض الجاسمونيك وتداخلتهما في كمية مركب Benzophenone لمستخلص كالس نخيل التمر صنف البرحي.

| تركيز منظمات النمو<br>ملغم لتر <sup>-1</sup> | تركيز الجاسمونيك JA |              |                 | معدل تأثير منظمات النمو |
|----------------------------------------------|---------------------|--------------|-----------------|-------------------------|
|                                              | 0                   | 2            | 4               |                         |
| 2ip : 2 , 2,4-D : 8 , NAA : 40               | 2.11                | 1.75         | 1.31            | 1.72                    |
| 2ip : 4 , 2,4-D : 12 , NAA : 60              | 1.62                | 1.58         | 1.07            | 1.42                    |
| معدل تأثير الجاسمونيك                        | 1.87                | 1.67         | 1.19            |                         |
| قيمة RLSD                                    | الجاسمونيك          | منظمات النمو | التداخل الثنائي | عند مستوى معنوية 0.05   |
|                                              | 0.20                | 0.17         | 0.29            |                         |

### 8.3.4. تأثير إضافة منظمات النمو وحامض الجاسمونيك (JA) وتداخلهما في كمية مركب Dichloroxylenol في مستخلص كالس نبات نخيل التمر صنف البرحي.

اظهرت نتائج الكشف عن مركب Dichloroxylenol باستخدام جهاز GC-MS بزمان احتجاز بلغ 16.663 دقيقة. حيث بينت النتائج في جدول (4-11) أن التغير في تراكيز منظمات النمو (2ip، 2,4-D، NAA) أدى إلى فروقات معنوية في المساحة النسبية هذا المركب، حيث تفوقت معنويا المعاملة التي تضمنت التراكيز (2 : 2ip، 8 : 2,4-D، 40 : NAA) ملغم لتر<sup>-1</sup> بمساحة نسبية بلغت 2.66%، مقارنة مع المعاملة ذات التراكيز الأعلى (4 : 2ip، 12 : 2,4-D، 60 : NAA) ملغم لتر<sup>-1</sup> التي سجلت 1.52%.

كما أدى استخدام الجاسمونيك بتركيزين (2، 4) ملغم لتر<sup>-1</sup> إلى انخفاض معنوي في المساحة النسبية للمركب حيث بلغت 2.10% و 1.28% بالتتابع، مقارنة بالمعاملة التي لم يستخدم فيها حامض الجسمونك والتي بلغت فيها المساحة النسبية للمركب 2.89%.

اما اضافة الجسمونك الى منظمات النمو في جميع التراكيز سبب انخفاض معنوي في المساحة النسبية للمركب، فكانت المساحة النسبية عند التركيز 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> من الجسمونك هي 2.72% و 1.48% بالتتابع. وعند التركيز 4 ملغم لتر<sup>-1</sup> كانت المساحة النسبية 1.45% و 1.10% بالتتابع وهي اقل معنويا عند المقارنة مع اكبر مساحة نسبية عند عدم اضافة الجسمونك حيث سجلت مساحات نسبية بلغت 3.81% عند التراكيز (2 : 2ip، 8 : 2,4-D، 40 : NAA) ملغم لتر<sup>-1</sup>.

الجدول (4-11): تأثير اضافة منظمات النمو وحامض الجسمونك وتداخلتهما في كمية مركب Dichloroxylenol لمستخلص كالس نخيل التمر صنف البرحي.

| تركيز منظمات النمو<br>ملغم لتر <sup>-1</sup> | تركيز الجاسمونيك JA |              |                | معدل تأثير منظمات النمو |
|----------------------------------------------|---------------------|--------------|----------------|-------------------------|
|                                              | 0                   | 2            | 4              |                         |
| 2ip : 2 , 2,4-D : 8 , NAA : 40               | 3.81                | 2.72         | 1.45           | 2.66                    |
| 2ip : 4 , 2,4-D : 12 , NAA : 60              | 1.97                | 1.48         | 1.10           | 1.52                    |
| معدل تأثير الجاسمونيك                        | 2.89                | 2.10         | 1.28           |                         |
| قيمة RLSD                                    | الجاسمونيك          | منظمات النمو | التداخل الثاني |                         |
| عند مستوى معنوية 0.05                        | 0.53                | 0.43         | 0.74           |                         |

## 4.4. التحليل النوعي والكمي لبنية المركبات باستخدام التجميع الهرمي.

عند مقارنة عدد المركبات المشتركة الموضحة في جدول (4-12) بين كل عينة والعينة A، وُجد أن B احتفظت بأكثر عدد من المركبات المشتركة مع A (17 مركبًا)، تلتها العينات (15 E مركبًا)، D (14 مركبًا)، (12 C مركبًا)، بينما كانت F الأقل (9 مركبات فقط). ومن جهة أخرى، أظهرت العينة B أيضا أعلى عدد من المركبات الفريدة كما وردت في جدول (4-13) مقارنةً بالعينة A، إذ بلغ عدد المركبات التي ظهرت فقط في B ولم تُرصد في A نحو 33 مركبًا، متقدمة بذلك على F (31 مركبًا)، D (26 مركبًا)، E (25 مركبًا)، و C (23 مركبًا).

جدول(4-12): المركبات الكيميائية المشتركة بين كل عينة والعينة A لكالس نخيل البرحي.

| No. | A/B                                      | A/C                                                 | A/D                                                 | A/E                                                 | A/F                                  |
|-----|------------------------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|--------------------------------------|
| 1   | Dichloroxylene                           | 2-Propanone, 1-hydroxy-                             | Dichloroxylene                                      | Dichloroxylene                                      | Dichloroxylene                       |
| 2   | Butyrolactone                            | Diethoxymethyl acetate                              | 2,2'-Bioxirane                                      | 2,2'-Bioxirane                                      | 2,2'-Bioxirane                       |
| 3   | 2,2'-Bioxirane                           | 2-(Isobutoxymethyl)oxirane                          | Butyrolactone                                       | Butyrolactone                                       | Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester |
| 4   | 1-Hexadecanol                            | Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester                | Ethyl .alpha.-d-glucopyranoside                     | Ethyl .alpha.-d-glucopyranoside                     | 1,2,3-Propanetriol, 1-acetate        |
| 5   | Ethyl .alpha.-d-glucopyranoside          | 1-Hexadecanol                                       | Pentanoic acid, 4-oxo-                              | Pentanoic acid, 4-oxo-                              | n-Hexadecanoic acid                  |
| 6   | Pentanoic acid, 4-oxo-                   | 1,2,3-Propanetriol, 1-acetate                       | Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester                | Cyclopentane, 1-acetyl-1,2-epoxy-                   | 2-(Isobutoxymethyl)oxirane           |
| 7   | Propanoic acid, 3-(acetylthio)-2-methyl- | 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl- | 1,2,3-Propanetriol, 1-acetate                       | Diethoxymethyl acetate                              | Glyceraldehyde                       |
| 8   | Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester     | Glyceraldehyde                                      | n-Hexadecanoic acid                                 | Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester                | 2-Propanone, 1-hydroxy-              |
| 9   | 1,2,3-Propanetriol, 1-acetate            | Benzophenone                                        | 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl- | 1,2,3-Propanetriol, 1-acetate                       | Benzophenone                         |
| 10  | Diethoxymethyl acetate                   | Cyclopentane, 1-acetyl-1,2-epoxy-                   | 2-(Isobutoxymethyl)oxirane                          | 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl- |                                      |
| 11  | n-Hexadecanoic acid                      | 2,2'-Bioxirane                                      | 2,4-Dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furan-3-one        | 2-(Isobutoxymethyl)oxirane                          |                                      |

|    |                                                     |                 |                         |                                              |
|----|-----------------------------------------------------|-----------------|-------------------------|----------------------------------------------|
| 12 | 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl- | Dichloroxylenol | Glyceraldehyde          | 2,4-Dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furan-3-one |
| 13 | 2-(Isobutoxymethyl)oxirane                          |                 | 2-Propanone, 1-hydroxy- | Glyceraldehyde                               |
| 14 | 2,4-Dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furan-3-one        |                 | Benzophenone            | 2-Propanone, 1-hydroxy-                      |
| 15 | Glyceraldehyde                                      |                 |                         | Benzophenone                                 |
| 16 | 2-Propanone, 1-hydroxy-                             |                 |                         |                                              |
| 17 | Benzophenone                                        |                 |                         |                                              |

جدول (4-13): المركبات الكيميائية الفريدة بين كل عينة والعينة A لكالس نخيل البرحي.

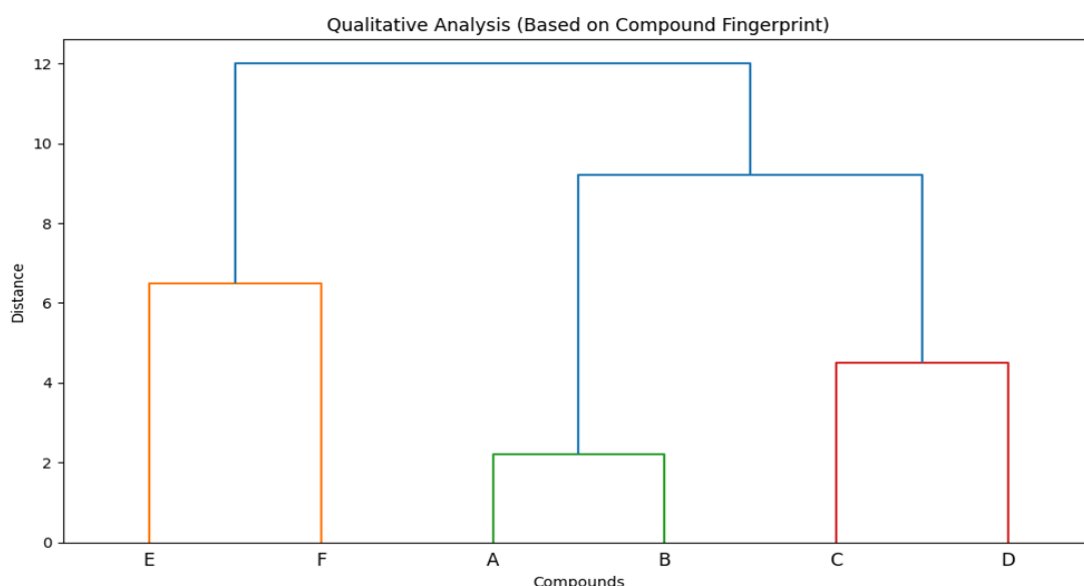
| No. | A/B                                | A/C                                               | A/D                                                | A/E                                                | A/F                                     |
|-----|------------------------------------|---------------------------------------------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 1   | Methyl pyruvate                    | 3-Hexanol, 2-methyl-                              | 1,3-Methylene-d-arabitol                           | Methyl pyruvate                                    | Methyl pyruvate                         |
| 2   | 1,3-Methylene-d-arabitol           | 2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl-                  | Glycerin                                           | 2-Propenoic acid, 1-methylundecyl ester            | .beta.-D-Glucopyranose, 1,6-anhydro-    |
| 3   | azetidine, 1-methyl-3,3-dipentyl-  | Heptanoic acid, 6-oxo-                            | (S)-(-)-1,2,4-Butanetriol, 2-acetate               | Glycerin                                           | Propylene Carbonate                     |
| 4   | n-Propyl acetate                   | 1-Tetradecanol                                    | Decanal                                            | (S)-(-)-1,2,4-Butanetriol, 2-acetate               | Tridecanol, 2-ethyl-2-methyl-           |
| 5   | 5-Cyclopropyl-1,3,4-oxadiazol-2-ol | Cyclopropanem ethanol, 2,2,3,3-tetramethyl-       | Glycyl-dl-alanine                                  | 3-Trifluoroacetox ydodecane                        | Glycerin                                |
| 6   | Glycerin                           | Pentanoic acid, 3-hydroxy-4-methyl-, methyl ester | Oxime-, methoxy-phenyl_                            | (2S,3S)-(-)-3-Propyloxiranem ethanol               | N,N-Dimethylhydroxyl amine              |
| 7   | Hexahydrofuro[3,2-b]furan-3,6-diol | Glycerine                                         | 6-(Hydroxymethyl)-2,4-dihydro-1,4-benzoxazin-3-one | 6-(Hydroxymethyl)-2,4-dihydro-1,4-benzoxazin-3-one | 3-Deoxy-d-mannonic acid                 |
| 8   | Butanoic acid, 3-oxo-, 2-          | Cyanothioacetamide                                | 2-Furanmethanol                                    | Undecanoic acid                                    | 2-Propanol, 2-nitroso-, acetate (ester) |

|    |                                                     |                                          |                                                                                          |                                                                |                                                            |
|----|-----------------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
|    | methylester                                         |                                          |                                                                                          |                                                                |                                                            |
| 9  | Propanedioic acid, propyl-                          | Methylpyruvate                           | Pentanoic acid, heptyl ester                                                             | 2-Furanmethanol                                                | 2-Pentanethiol                                             |
| 10 | 2,3-Butanediol                                      | .alpha.-Terpineol                        | Butyl 2-acetoxyacetate                                                                   | Butanoic acid, 3-oxo-, propyl ester                            | 2-Furanmethanol                                            |
| 11 | 2-Furanmethanol                                     | Trichloroacetic acid, tridecyl ester     | 2-Hexanone, 3-methyl-4-methylene-                                                        | Heptanoic acid, 6-oxo-                                         | 1-Tetradecene                                              |
| 12 | 3-Hepten-2-one, (Z)-                                | 2-Pentanone, 5,5-diethoxy-               | Heptanoic acid, 6-oxo-                                                                   | Propanoic acid, 2-mercapto-, methyl ester                      | Glycerol, 1,2-O-methylene-                                 |
| 13 | Heptane, 1-(ethenylthio)-                           | Glycerin                                 | Acetic acid, heptyl ester                                                                | Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-1-[(trimethylsilyl)oxy]-       | 5,6-Dihydro-2,4,6-trimethyl-4H-1,3,5-dithiazine            |
| 14 | .alpha.-Terpineol                                   | 2-Hydroxy-gamma-butyrolactone            | Cyclohexanamine, N-methyl-N-nitroso-                                                     | Carbonic acid, dihexyl ester                                   | 1,3-Dioxane-4,6-dione, 2,2-dimethyl-                       |
| 15 | Acetic acid, 1-(2-methyltetrazol-5-yl)ethenyl ester | 2-Propanol, 1-chloro-3-(1-methylethoxy)- | 3,7-Diacetamido-7H-s-triazolo[5,1-c]-s-triazoles                                         | Pentanoic acid, 3-hydroxy-5,5-dimethoxy-3-methyl-, ethyl ester | 5-Octadecene, (E)-                                         |
| 16 | N.omega.-Nitro-L-arginine                           | 6-Oxa-bicyclo[3.1.0]hexan-3-one          | Triethyl phosphate                                                                       | .beta.-D-Glucopyranose, 4-O-.beta.-D-galactopyranosyl-         | Pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione, 5-amino-6-nitroso-            |
| 17 | 6-Dimethyl(trimethylsilyl)silyloxytetradecane       | 3-Deoxy-d-mannonic lactone               | .alpha.-L-Galactopyranoside, methyl 6-deoxy-2-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate | 1-Pentanol, 5-chloro-, acetate                                 | Heptanoic acid, 6-oxo-                                     |
| 18 | 3-Acetoxydodecane                                   | Dihydroxyacetone                         | 3-Piperidinol                                                                            | 2(3H)-Furanone, dihydro-4-hydroxy-                             | Pyrimidine, 1,4,5,6-tetrahydro-1,2-dimethyl-               |
| 19 | 1,3-Dioxane, 4,6-diethyl-, trans-                   | 3-Deoxy-d-mannonic acid                  | Pyrimidine, 1,4,5,6-tetrahydro-1,2-dimethyl-                                             | Cyclopentanone, 2-methyl-                                      | Phosphoric triamide, N,N',N''-tris(dimethylamino)carbamyl- |
| 20 | Triethyl phosphate                                  | Hexadecyl trichloroacetate               | 3-Hexadecene, (Z)-                                                                       | 5-Hydroxymethylfurfural                                        | 2-Propenoic acid, oxiranylmethyl ester                     |
| 21 | Butane, 1,2,4-trimethoxy-                           | N,N'-Dibutylidenehydrazine               | Ethyl 1-thio-.alpha.-D-arabinofuranoside                                                 | Dihydroxyacetone                                               | 2-Butanone, 4-hydroxy-3-methyl-                            |

|    |                                                                                                            |                                                               |                                           |                                        |                                    |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------|
| 22 | D-erythro-Pentose, 2-deoxy-                                                                                | 6H-Pyrazolo[1,2-a][1,2,4,5]tetrazine, hexahydro-2,3-dimethyl- | Decyl trifluoroacetate                    | Pyranone                               | 3-Deoxy-d-mannonic lactone         |
| 23 | Hydroxyurea                                                                                                | 5-Hydroxymethylfurfural                                       | Butane, 1-(1-methylethoxy)-               | 2-Butene-1,4-diol, 2TMS derivative     | 1,3,5-Triazine-2,4,6-triamine      |
| 24 | Heptadecane, 2,6,10,15-tetramethyl-                                                                        |                                                               | Butanal, 3-methyl-                        | 2-Cyclohexenol, 4-acetamido-, E\trans- | 1-Hexacosene                       |
| 25 | 2-(2',4',4',6',6',8',8'-Heptamethyltetrasiloxan-2'-yloxy)-2,4,4,6,6,8,8,10,10-nonamethylcyclopentasiloxane |                                                               | Dihydroxyacetone                          | Heneicosane, 3-methyl-                 | 2(3H)-Furanone, dihydro-4-hydroxy- |
| 26 | Dichloroacetic acid, heptadecyl ester                                                                      |                                                               | 1,3,5-Triazine, 2,4,6-tris(cyanomethoxy)- |                                        | Phytol                             |
| 27 | 2(3H)-Furanone, dihydro-4-hydroxy-                                                                         |                                                               |                                           |                                        | m-Dioxan-4-ol, 2,6-dimethyl-       |
| 28 | Pentopyranose                                                                                              |                                                               |                                           |                                        | Cyclopentanone, 2-methyl-          |
| 29 | Dihydroxyacetone                                                                                           |                                                               |                                           |                                        | 5-Hydroxymethylfurfural            |
| 30 | 2H-Pyran, 2-(3-butynyloxy)tetrahydro-                                                                      |                                                               |                                           |                                        | Dihydroxyacetone                   |
| 31 | 3,4-Dihydroxymandelic acid, 4TMS derivative                                                                |                                                               |                                           |                                        | Tetradecane, 1-chloro-             |
| 32 | 2-Nitro-tertiary butanol                                                                                   |                                                               |                                           |                                        |                                    |
| 33 | Tridecanal                                                                                                 |                                                               |                                           |                                        |                                    |

#### 1.4.4. التحليل النوعي للمركبات الكيميائية.

يوضح الشكل (4-7) المخطط الشجري للتحليل النوعي لبصمة المركبات للمعاملات ان أقوى تشابه كان بين (A) و (B) حيث تشتركان في أعلى عدد من المركبات (أكبر تشابه في "بصمة" أو "هوية" المركبات الموجودة)، مما يشير إلى أن إضافة حامض الجاسمونيك (JA) بتركيز 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> في B لم تغير بشكل جذري نوعية المركبات مقارنة بالعينة (A). اما المجموعة الثانية (A, B, D) تشير إلى أن هذه المعاملات الثلاثة تشترك في عدد كبير من المركبات نفسها. بينما المجموعة الثالثة (C, E, F) التي اظهرت المعاملات فيها أنماط وجود وغياب متشابهة، ولكنها مختلفة عن المجموعة الأولى. هذا يشير إلى أن التراكيز العالية من JA (4 ملغم لتر<sup>-1</sup>) أو التفاعل بين JA والهرمونات العالية أدى إلى ظهور أو اختفاء مجموعة متميزة من المركبات، مما أنشأ "بصمة" كيميائية فريدة.

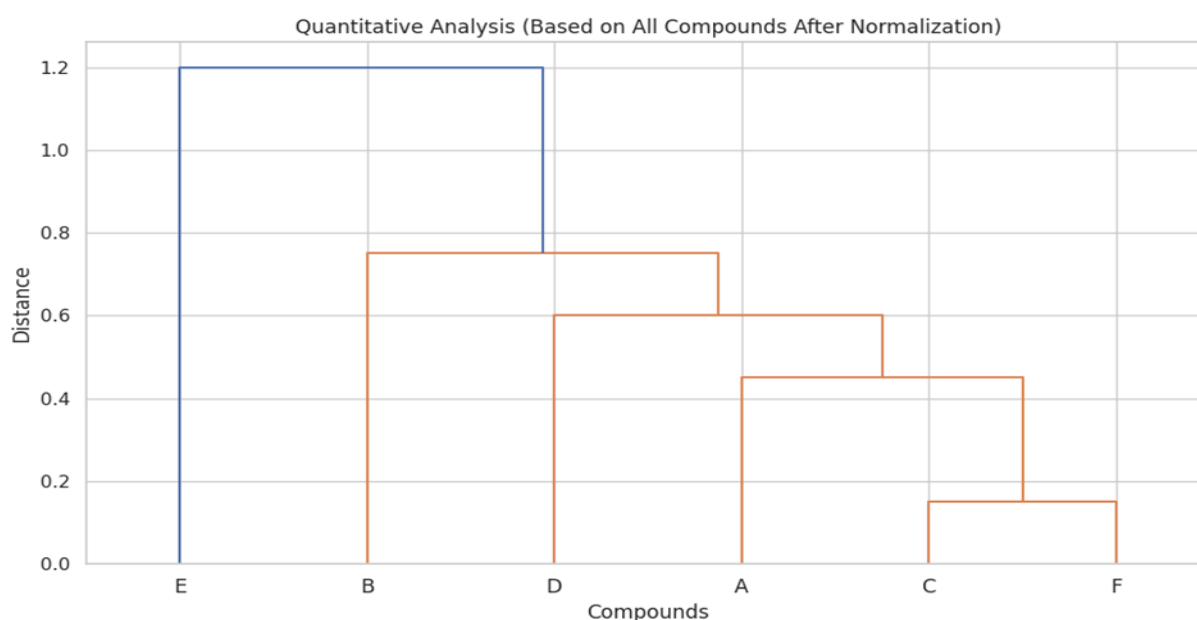


شكل (4-7): المخطط الشجري لتحليل المركبات الكيميائية المستخلصة من كالس نخيل التمر نوعيا.

#### 2.4.4. التحليل الكمي للمركبات الكيميائية.

اظهر المخطط الشجري للتحليل الكمي شكل (4-8) ان المعاملتان C و F هما الأكثر تشابهاً كميّاً؛ هذا لا يعود فقط إلى كمية مركب (Isobutoxymethyl)oxirane-2 العالية، ولكن إلى تشابه نمط التعبير العام لجميع المركبات بينهما. كلاهما تتمتعان بتركيز عالٍ من JA (4 ملغم لتر<sup>-1</sup>)، مما يولد استجابة أيضية متشابهة جداً. اما المجموعة الثانية التي تضمنت المعاملة (A) JA 0 ملغم لتر<sup>-1</sup>، مع هرمونات منخفضة (كمجموعة فرعية تالية). يمثل ملفها الكمي النمط "الأساسي"

أو "غير المحفز" للإنتاج الأيضي. بينما المجموعة الثالثة التي تمثلت بالمعاملة (D) JA 2 ملغم لتر<sup>-1</sup>، مع هرمونات عالية (تشكل مجموعة منفصلة). يظهر هذا أن زيادة تركيز الهرمونات يؤد ملفاً أيضاً مميزاً يختلف عن المعاملة الأقل (A). المجموعة الرابعة والمتمثلة بالمعاملة (B) JA 2 ملغم لتر<sup>-1</sup>، مع هرمونات منخفضة هي الأكثر تميزاً كميّاً بين هذه المجموعات. حيث إن ملفها الكيميائي فريد ومتوازن، مما يجعله يختلف عن نمط الاستجابة "الانفجارية" لـ JA العالي (C, F) ونمط الاستجابة للهرمونات العالية (D). واما المجموعة الخامسة (E) JA 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> هي الأكثر اختلافاً عن جميع المعاملات الأخرى وهذا يشير إلى أن التفاعل بين تركيز JA الحالي والهرمونات العالية يخلق حالة بصمة فريدة جداً وغير متوازنة، تختلف حتى عن تلك التي يسببها JA المتوسط أو الهرمونات العالية وحدها.



شكل (8-4): المخطط الشجري لتحليل المركبات الكيميائية المستخلصة من كالس نخيل التمر كميّاً.

أظهرت نتائج التحليل الكمي أن المعاملة B (JA 2 ملغم لتر<sup>-1</sup>) سجلت أعلى تنوع كمي (50 مركباً) وأعلى مجموع للمساحات النسبية (30.820%)، بينما كشف التحليل النوعي أن المعاملة B كانت الأقرب إلى العينة (A)، حيث شاركتها في معظم المركبات (17 مركباً). وهذا يدل على أن إضافة JA بتركيز 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> لم تُغيّر بشكل جذري هوية المركبات المنتجة، بل كميّتها. مما يعكس كفاءة هذه التركيبة في تحفيز المسارات الإيجابية بشكل متوازن دون إجهاد الخلايا (Al-Khayri, 2013). و أظهرت بعض الدراسات أن استخدام تراكيز منخفضة من حامض الجاسمونيك ساهم في تعزيز نمو الكالس سواء في الظروف الاعتيادية أو تحت الإجهاد (Galal, 2013).

Al-Qatrani *et al.*, 2021; (2012). وايضا أشارت دراسة Kamińska, (2021) إلى أن الجاسمونات تسهم في تنظيم التعبير الجيني للعديد من الإنزيمات المشاركة في تخليق المركبات الفينولية والتربينويدية، ضمن حدود فسيولوجية مناسبة. كذلك بين Nafie *et al.*, (2011) أن معاملة مزارع خلايا *Cucumis melo L.* بحامض الجاسمونيك أدت إلى تحفيز إنتاج مركبات ثانوية نشطة مثل حامض الأسكوربيك والكومارين وحامض الكوماريك، دون أن تؤثر سلباً على النمو الخلوي، وهو ما يؤكد دور الجاسمونيك في تنظيم الأيض الأولي والثانوي.

في المقابل أدت التراكيز العالية من JA (4 ملغم/لتر) في المعاملة C و F إلى إنتاج كميات كبيرة من مركب واحد (Isobutoxymethyl)oxirane - 2 بنسبة (23.32%) على حساب تنوع المركبات الأخرى، مما يشير إلى استجابة إجهاد مضغوط (Al-Khayri, 2013). فقد بين Krzyzanowska *et al.*, (2012) من خلال دراسة مزارع الخلايا المعلقة لنبات *Mentha piperita* ×، حيث أدى التحفيز بالجاسمونيك بتركيز عالي إلى تثبيط النمو وانخفاض الفعالية الأيضية، وهو ما يُعزى على الأرجح إلى أن التركيز العالي الذي يؤدي إلى تثبيط بعض المسارات الأيضية بدلاً من تحفيزها أو تحفيز مسار على حساب المسارات الأخرى.

كما تلعب منظمات النمو النباتية دوراً أساسياً في زراعة الأنسجة النباتية، ليس فقط في نمو الخلايا وتكوينها الشكلي وتجديدها، ولكن أيضاً في تراكم المستقلبات (Adil *et al.*, 2018; Teixeira *et al.*, 2019). وقد أظهرت نتائج الدراسة أن استخدام منظمات النمو مثل 2,4-D و 2iP و NAA ساهم في زيادة تراكم المركبات الفعالة داخل الكالس المستحث. ويعزى هذا التأثير إلى قدرة منظمات النمو على تهيئة بيئة خلوية مثالية من خلال تنشيط الانقسام الخلوي وتحفيز إنتاج البروتينات والأحماض الأمينية، مما يؤدي إلى تعزيز المسارات الأيضية المسؤولة عن تخليق المركبات الثانوية (Rahman Al-Saeedi *et al.*, 2022; Chavan *et al.*, 2014). إضافة إلى ذلك، تلعب منظمات النمو دوراً مهماً في تنشيط النشاط الإنزيمي وتعزيز معدل انقسام الخلايا، مما يساهم في رفع كفاءة التراكم الحيوي للمركبات الفعالة (Abu Zaid, 2003). وكما تعمل منظمات النمو كجزيئات الإشارة الرئيسية التي تشارك بنشاط في تخليق المستقلبات الثانوية للنبات، وكذلك في تنظيم نموه وتطوره (Zhao *et al.*, 2005).

كما أوضحت دراسة Naik and Al-Khayri, (2017) على نخيل التمر أن استخدام 2iP بتركيز 1.5 ملغم لتر<sup>-1</sup> مع NAA بتركيز 10 ملغم لتر<sup>-1</sup> في مزارع الخلايا المعلقة أدى إلى تحفيز تراكم مركبات فينولية وفلافونويدية مهمة، مثل الكاتيشين وحامض الكافيك. ما يؤكد فعالية

توازن منظمات النمو و تنظيم البيئة الهرمونية يعد عاملاً حاسماً في تحفيز المسارات الأيضية المسؤولة عن إنتاج المركبات الفعالة.

ايضا اشارت النتائج إلى وجود علاقة تفاعلية معقدة بين حامض الجاسمونيك وتراكيز منظمات النمو في التأثير على إنتاج المركبات الثانوية في أنسجة النبات المزروعة نسيجياً. إذ أظهرت المعاملات التي تضمنت تركيزاً معتدلاً من حامض الجاسمونيك، إلى جانب مستويات معتدلة من منظمات النمو (المعاملة B) زيادة واضحة في عدد المركبات الكيميائية المكتشفة. من ناحية أخرى أن تراكيز منظمات النمو المرتفعة قد تساهم في تعزيز النشاط الأيضي ولكن بصورة اقل مما لو حفزت بالإضافة تراكيز معتدلة من JA، مما يُرجح احتمال حدوث تداخل في التأثيرات الهرمونية بين المركبات عند التراكيز العالية من منظمات النمو. وقد يُعزى هذا الانخفاض المحتمل إلى تكوّن مركبات جديدة بتراكيز مرتفعة كما في المعاملة (C,F)، مما أدى إلى تغيير التوزيع النسبي للمركبات الأخرى ضمن العينة (Al-Rekaby and mohsin Atiyah, 2020).

وبالتالي أن العينة B كانت افضل من بين جميع المعاملات حيث حافظت نوعياً على تنوع المركبات الأساسية مع العينة A. واما كيميا فقد انتجت توازناً فريداً من هذه المركبات مختلف عن (A) مما أدى الى فعالية حيوية عالية دون الدخول في حالة الاجهاد المفرط التي أدت الى انتاج المكثف لمركب واحد في C و F.

#### 5.4. نتائج تأثير الفعالية البايولوجية للمستخلصات النباتية في نمو البكتريا.

##### 1.5.4. الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي بتركيز 300 ملغم / مل في تثبيط نمو بكتريا *E.Coli*.

تبين النتائج الواردة في الجدول (4-14) تأثير الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي المعامل بتركيز 300 ملغم مل-1 بحامض الجاسمونيك ومنظمات النمو بتراكيز مختلفة على تثبيط نمو بكتيريا *E. coli*. وقد أظهرت النتائج وجود فروقات معنوية في أقطار التثبيط بين المعاملات المختلفة بالنسبة لتراكيز منظمات النمو حيث تفوقت معاملة اضافة منظمات النمو بتراكيز (2 : 2ip، 8 : 2,4-D، 40 : NAA) ملغم لتر<sup>-1</sup> معنوياً بتسجيل اعلى معدل تثبيط بلغ 20.33 ملم، بالمقارنة مع المعاملة التي استخدمت تراكيز (4 : 2ip، 12 : 2,4-D، 60 : NAA) ملغم لتر<sup>-1</sup> والتي سجلت 15.67 ملم.

أما بالنسبة لتأثير الجاسمونيك فقد بينت النتائج أن المعاملة التي استخدمت تركيز 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> JA سجلت أعلى قطر تثبيط بلغ 22 ملم، متفوقة بذلك معنوياً على بقية التراكيز، بالمقارنة مع أقل معدل قطر تثبيط والذي بلغ 15.5 ملم عند عدم إضافة الجاسمونيك.

وفيما يتعلق بالتداخل الثنائي بين منظمات النمو والجاسمونيك، فقد تفوقت معنوياً معاملة التداخل التي جمعت بين (2ip: 2، 2,4-D: 8، NAA: 40 مع JA: 2) ملغم لتر<sup>-1</sup> على جميع المعاملات الأخرى، إذ سجلت أعلى معدل قطر تثبيط بلغ 30 ملم، مقارنة بأقل معدل تثبيط والتي بلغت 15 ملم.

الجدول (4-14): الفعالية البيولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي بتركيز 300 ملغم / مل في تثبيط نمو بكتريا *E.Coli*.

| تركيز منظمات النمو<br>ملغم لتر <sup>-1</sup> |  | تركيز الجاسمونيك JA |    |              | معدل تأثير<br>منظمات النمو |                 | معاملي المقارنة |
|----------------------------------------------|--|---------------------|----|--------------|----------------------------|-----------------|-----------------|
|                                              |  | 0                   | 2  | 4            |                            |                 |                 |
| 2ip:2/ 2,4-D:8/NAA:40                        |  | 15                  | 30 | 16           | 20.33                      | DMSO            | AMC             |
| 2ip:4/ 2,4-D:12/NAA:60                       |  | 16                  | 14 | 17           | 15.67                      | 0               | 17              |
| معدل تأثير الجاسمونيك                        |  | 15.5                | 22 | 16.50        |                            |                 |                 |
| قيمة RLSD<br>عند مستوى معنوية 0.01           |  | الجاسمونيك          |    | منظمات النمو |                            | التداخل الثنائي |                 |
|                                              |  | 5.42                |    | 4.42         |                            | 7.66            |                 |

2.5.4. الفعالية البيولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي بتركيز 200 ملغم / مل في تثبيط نمو بكتريا *E.Coli*.

أظهرت النتائج الواردة في الجدول (4-15) تأثير الفعالية البيولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي المعامل بتركيز 200 ملغم مل-1 بحامض الجاسمونيك ومنظمات النمو بتركيز مختلفة على تثبيط نمو بكتيريا *E. coli*. وقد أظهرت النتائج وجود فروقات غير معنوية في أقطار التثبيط بين المعاملتين بالنسبة لتركيز منظمات النمو رغم تفوق معاملة إضافة منظمات النمو بتركيز (2ip : 2، 2,4-D : 8، NAA: 40) ملغم لتر<sup>-1</sup> بتسجيل أعلى معدل تثبيط بلغ 13.33 ملم، بالمقارنة مع المعاملة التي استخدمت تراكيز (4ip : 2، 2,4-D : 12، NAA : 60) ملغم لتر<sup>-1</sup> والتي سجلت 12.33 ملم.

أما بالنسبة لتأثير الجاسمونيك فقد بينت النتائج أن إضافة الجاسمونيك بكلا التركيزين لم يحدث فرقا معنوياً.

بينما التداخل الثنائي بين منظمات النمو والجاسمونيك، فقد تفوقت معنوياً معاملة التداخل التي جمعت بين (2ip: 2، 2,4-D: 8، NAA: 40 مع JA: 2) ملغم لتر<sup>-1</sup> على جميع المعاملات الأخرى، إذ سجلت أعلى معدل قطر تثبيط بلغ 20 ملم، مقارنة بأقل معدل تثبيط والتي بلغت 10 ملم.

الجدول (4-15): الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي بتركيز 200 ملغم / مل في تثبيط نمو بكتريا *E. Coli*.

| تركيز منظمات النمو<br>ملغم لتر <sup>-1</sup> |  | تركيز الجاسمونيك JA |    |       | معدل تأثير<br>منظمات النمو |      | معاملي المقارنة |
|----------------------------------------------|--|---------------------|----|-------|----------------------------|------|-----------------|
|                                              |  | 0                   | 2  | 4     |                            |      |                 |
| 2ip:2/ 2,4-D:8/NAA:40                        |  | 10                  | 20 | 10    | 13.33                      | DMSO | AMC             |
| 2ip:4/ 2,4-D:12/NAA:60                       |  | 10                  | 12 | 15    | 12.33                      | 0    | 17              |
| معدل تأثير الجاسمونيك                        |  | 10                  | 16 | 12.50 |                            |      |                 |
| قيمة RLSD                                    |  | الجاسمونيك          |    |       | منظمات النمو               |      | التداخل الثنائي |
| عند مستوى معنوية 0.01                        |  | 6.05                |    |       | 4.94                       |      | 8.55            |

3.5.4. الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي بتركيز 100 ملغم / مل في تثبيط نمو بكتريا *E. Coli*.

وضحت النتائج الواردة في الجدول (4-16) تأثير الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي المعامل بتركيز 100 ملغم مل-1 بحامض الجاسمونيك ومنظمات النمو بتركيز مختلفة على تثبيط نمو بكتيريا *E. coli*. وقد أظهرت النتائج وجود فروقات غير معنوية في أقطار التثبيط بين المعاملات المختلفة بالنسبة لتركيز منظمات النمو رغم تفوق معاملة اضافة منظمات النمو بتركيز (2ip : 2، 2,4-D : 8، NAA: 40) ملغم لتر<sup>-1</sup> بتسجيل أعلى معدل تثبيط بلغ 8.67 ملم، بالمقارنة مع المعاملة التي استخدمت تركيز (4ip : 2، 2,4-D : 12، NAA: 60) ملغم لتر<sup>-1</sup> والتي سجلت 8.33 ملم.

أما بالنسبة لتأثير الجاسمونيك فقد بينت النتائج أن المعاملة التي استخدمت تركيز 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> JA<sup>1</sup> تفوقت معنوياً حيث سجلت أعلى قطر تثبيط بلغ 14 ملم، بالمقارنة مع أقل معدل قطر تثبيط والذي بلغ 0.5 ملم عند عدم إضافة الجاسمونيك.

بالنسبة للتداخل الثنائي بين منظمات النمو والجاسمونيك، فقد تفوقت معنوياً معاملة التداخل التي جمعت بين (2ip: 2، 2,4-D: 8، NAA: 40 مع JA: 2) ملغم لتر<sup>-1</sup>، إذ سجلت أعلى معدل قطر تثبيط بلغ 18 ملم، مقارنة بأقل معدل تثبيط والتي كانت 0 ملم.

الجدول (4-16): الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي بتركيز 100 ملغم / مل في تثبيط نمو بكتريا *E.Coli*.

| تركيز منظمات النمو     |  | تركيز الجاسمونيك JA |    |    | معدل تأثير   |            | معاملتي المقارنة |
|------------------------|--|---------------------|----|----|--------------|------------|------------------|
| ملغم لتر <sup>-1</sup> |  | 0                   | 2  | 4  | منظمات النمو | معدل تأثير |                  |
| 2ip:2/ 2,4-D:8/NAA:40  |  | 0                   | 18 | 8  | 8.67         |            | AMC DMSO         |
| 2ip:4/ 2,4-D:12/NAA:60 |  | 1                   | 10 | 14 | 8.33         |            | 17 0             |
| معدل تأثير الجاسمونيك  |  | 0.5                 | 14 | 11 |              |            |                  |
| قيمة RLSD              |  | الجاسمونيك          |    |    | منظمات النمو |            | التداخل الثنائي  |
| عند مستوى معنوية 0.01  |  | 5.69                |    |    | 4.64         |            | 8.04             |

4.5.4. الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي بتركيز 300 ملغم / مل في تثبيط نمو بكتريا *S. aureus*.

تبين النتائج الواردة في الجدول (4-17) تأثير الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي المعامل بتركيز 300 ملغم مل-1 بحامض الجاسمونيك ومنظمات النمو بتركيز مختلفة على تثبيط نمو بكتيريا *S. aureus* وقد أظهرت النتائج وجود فروقات معنوية في أقطار التثبيط بين المعاملات المختلفة بالنسبة لتركيز منظمات النمو حيث تفوقت معاملة إضافة منظمات النمو بتركيز (2 : 2ip ، 8 : 2,4-D ، 40 : NAA) ملغم لتر<sup>-1</sup> معنوياً بتسجيل أعلى معدل تثبيط بلغ 21 ملم، بالمقارنة مع المعاملة التي استخدمت تركيز (4 : 2ip ، 12 : 2,4-D ، 60 : NAA) ملغم لتر<sup>-1</sup> والتي سجلت 14.33 ملم.

أما بالنسبة لتأثير الجاسمونيك فقد بينت النتائج أن إضافة الجاسمونيك بكلا التركيزين لم يحدث فرقاً معنوياً.

وبينما يتعلق بالتداخل الثنائي بين منظمات النمو والجاسمونيك، فقد تفوقت معنوياً معاملة التداخل التي جمعت بين (2 : 2ip ، 8 : 2,4-D ، 40 : NAA مع 2 : JA) ملغم لتر<sup>-1</sup> ، إذ سجلت أعلى معدل قطر تثبيط بلغ 29 ملم، مقارنة بأقل معدل تثبيط 13 ملم عند التركيزات العالية من منظمات النمو مع 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> من الجاسمونيك.

الجدول (4-17): الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي بتركيز 300 ملغم / مل في تثبيط نمو بكتريا *S. aureus*.

| تركيز منظمات النمو     |  | تركيز الجاسمونيك JA |    |       | معدل تأثير منظمات النمو |      | معاملتي المقارنة |
|------------------------|--|---------------------|----|-------|-------------------------|------|------------------|
| ملغم لتر <sup>-1</sup> |  | 0                   | 2  | 4     |                         |      |                  |
| 2ip:2/ 2,4-D:8/NAA:40  |  | 14                  | 29 | 20    | 21                      | DMSO | AMC              |
| 2ip:4/ 2,4-D:12/NAA:60 |  | 14                  | 13 | 16    | 14.33                   | 0    | 15               |
| معدل تأثير الجاسمونيك  |  | 14                  | 21 | 18.00 |                         |      |                  |
| قيمة RLSD              |  | الجاسمونيك          |    |       | منظمات النمو            |      | التداخل الثنائي  |
| عند مستوى معنوية 0.01  |  | 7.30                |    |       | 5.96                    |      | 10.32            |

#### 5.5.4. الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي بتركيز 200 ملغم / مل في تثبيط نمو بكتريا *S. aureus*.

تبين النتائج الواردة في الجدول (4-18) تأثير الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي المعامل بتركيز 200 ملغم مل-1 بحامض الجاسمونيك ومنظمات النمو بتركيز مختلفة على تثبيط نمو بكتيريا *S. aureus* وقد أظهرت النتائج وجود فروقات معنوية في أقطار التثبيط بين المعاملات المختلفة بالنسبة لتركيز منظمات النمو حيث تفوقت معاملة إضافة منظمات النمو بتركيز (2ip : 2، 2,4-D : 8، NAA : 40) ملغم لتر<sup>-1</sup> معنوياً بتسجيل أعلى معدل تثبيط بلغ 15 ملم، بالمقارنة مع المعاملة التي استخدمت تركيز (4ip : 2، 2,4-D : 12، NAA : 60) ملغم لتر<sup>-1</sup> والتي سجلت 9 ملم.

أما بالنسبة لتأثير الجاسمونيك فقد بينت النتائج أن المعاملة التي استخدمت تركيز 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> JA سجلت أعلى قطر تثبيط بلغ 14.5 ملم، تفوقت معنوياً عند المقارنة مع أقل معدل قطر تثبيط والذي بلغ 9 ملم عند عدم إضافة الجاسمونيك.

أما التداخل الثنائي بين منظمات النمو والجاسمونيك، فقد تفوقت معنوياً معاملة التداخل التي جمعت بين (2ip: 2، 2,4-D: 8، NAA: 40 مع 2 JA) ملغم لتر<sup>-1</sup>، إذ سجلت أعلى معدل قطر تثبيط بلغ 20 ملم، مقارنة بأقل معدل تثبيط والذي بلغ 9 ملم.

الجدول (4-18): الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي بتركيز 200 ملغم / مل في تثبيط نمو بكتريا *S. aureus*.

| تركيز منظمات النمو     |  | تركيز الجاسمونيك JA |      |       | معدل تأثير   |            | معاملتي المقارنة |
|------------------------|--|---------------------|------|-------|--------------|------------|------------------|
| ملغم لتر <sup>-1</sup> |  | 0                   | 2    | 4     | منظمات النمو | معدل تأثير |                  |
| 2ip:2/ 2,4-D:8/NAA:40  |  | 9                   | 20   | 16    | 15           | 15         | AMC DMSO         |
| 2ip:4/ 2,4-D:12/NAA:60 |  | 9                   | 9    | 9     | 9            | 0          | 15               |
| معدل تأثير الجاسمونيك  |  | 9                   | 14.5 | 12.50 |              |            |                  |
| قيمة RLSD              |  | الجاسمونيك          |      |       | منظمات النمو |            | التداخل الثنائي  |
| عند مستوى معنوية 0.01  |  | 4.81                |      |       | 3.93         |            | 6.80             |

6.5.4. الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي بتركيز 100 ملغم / مل في تثبيط نمو بكتريا *S. aureus*.

بينت النتائج الواردة في الجدول (4-19) تأثير الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي المعامل بتركيز 100 ملغم مل-1 بحامض الجاسمونيك ومنظمات النمو بتركيز مختلفة على تثبيط نمو بكتيريا *S. aureus*. وقد أظهرت النتائج وجود فروقات غير معنوية في أقطار التثبيط بين المعاملات المختلفة بالنسبة لتركيز منظمات النمو رغم تفوق معاملة اضافة منظمات النمو بتركيز (2ip : 2، 2,4-D : 8، NAA: 40) ملغم لتر<sup>-1</sup> بتسجيل أعلى معدل تثبيط بلغ 9.67 ملغم، بالمقارنة مع المعاملة التي استخدمت تركيز (4 : 2ip، 12 : 2,4-D، 60 : NAA) ملغم لتر<sup>-1</sup> والتي سجلت 7.33 ملغم.

عند اضافة الجاسمونيك بتركيزين 2، 4 ملغم لتر<sup>-1</sup> فقد اظهرت النتائج زيادة معنوية في قطار التثبيط بلغت عند 12.5 ملغم لكلا التركيزين، بالمقارنة مع اقل معدل قطر تثبيط والذي بلغ 0.5 ملغم.

اما تأثير التداخل الثنائي بين منظمات النمو والجاسمونيك، فقد تفوقت معنويًا معاملة التداخل التي جمعت بين (2ip: 2، 2,4-D: 8، NAA: 40 مع JA: 2) ملغم لتر<sup>-1</sup>، إذ سجلت أعلى معدل قطر تثبيط بلغ 16 ملغم، مقارنة بأقل معدل تثبيط والذي بلغ 0 ملغم.

الجدول (4-19): الفعالية البايولوجية للمستخلص الكحولي لكالس نخيل البرحي بتركيز 100 ملغم / مل في تثبيط نمو بكتريا *S. aureus*.

| تركيز منظمات النمو     |  | تركيز الجاسمونيك JA |      |      | معدل تأثير   |            | معاملتي المقارنة |
|------------------------|--|---------------------|------|------|--------------|------------|------------------|
| ملغم لتر <sup>-1</sup> |  | 0                   | 2    | 4    | منظمات النمو | معدل تأثير |                  |
| 2ip:2/ 2,4-D:8/NAA:40  |  | 0                   | 16   | 13   | 9.67         | DMSO       | AMC              |
| 2ip:4/ 2,4-D:12/NAA:60 |  | 1                   | 9    | 12   | 7.33         | 0          | 15               |
| معدل تأثير الجاسمونيك  |  | 0.5                 | 12.5 | 12.5 |              |            |                  |
| قيمة RLSD              |  | الجاسمونيك          |      |      | منظمات النمو |            | التداخل الثنائي  |
| عند مستوى معنوية 0.01  |  | 3.57                |      |      | 2.91         |            | 5.04             |

#### 6.4. تقييم الفعالية البايولوجية للمركبات الكيميائية للمستخلصات ضد البكتريا.

تمت مقارنة الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية الموضحة في جدول (4-20) مع قرص المضاد الحيوي (AMC Amoxyclav بتركيز 30 ميكروغرام / قرص) ضد بكتريا *E. coli* و *S. aureus*. وبلغت أقطار التثبيط للمضاد القياسي 17 ملم ضد *E. coli* و 15 ملم ضد *S. aureus* واعتمد كمجموعة سيطرة إيجابية كما في الشكل (4-9)، بينما استخدام DMSO بنسبة 1% كمجموعة سيطرة سلبية ولم تُظهر أي نشاط تثبيط.

سُجّلت العينة B أعلى فعالية بين جميع العينات ضد *E. coli*، بلغت أقطار التثبيط 18، 20، و 30 ملم عند التراكيز 100، 200، و 300 ملغم-مل-1 بالتتابع. أما ضد *S. aureus*، فقد بلغت 16، 20، و 29 ملم كما موضحه في شكل (4-11). هذه القيم تشير إلى تأثير تركيزي واضح، وتُظهر أن هذا المستخلص يمتلك فعالية تتجاوز تأثير المضاد الحيوي عند التركيز العالي.

في العينة C، بلغت أقطار التثبيط ضد *E. coli* 8، 10، و 16 ملم، بينما كانت ضد *S. aureus* 13، 16، و 20 ملم عند التراكيز نفسها كما في الشكل (4-12). رغم أن التأثير أقل من العينة B، إلا أن هناك استجابة تركيزية جيدة، خاصة ضد *S. aureus* عند التركيز 300 ملغم-مل-1.

وكانت هنالك فعالية معتدلة للعينة F حيث كانت أقطار التثبيط ضد *E. coli* هي 14، 15، و 17 ملم، وهي قريبة جدًا من فعالية Amoxyclav، بينما بلغت ضد *S. aureus* 12، 13، و 16 ملم الموضحة في شكل (4-15). يُلاحظ أيضًا استجابة تصاعدية مع التركيز، مما يشير إلى تأثير حيوي للمركبات الفعالة في هذا المستخلص. أما في العينة E، كانت الأقطار ضد *E. coli* 10، 12، و 14 ملم، بينما سجلت ضد *S. aureus* 9، 12، و 13 ملم الموضحه في شكل (4-14). التأثير هنا أقل من المضاد الحيوي القياسي، لكنه واضح خصوصًا عند التركيز 300 ملغم-مل-1.

العينة D سجلت فعالية محدودة عند التركيز الأول (1 ملم ضد كلا النوعين)، وارتفعت تدريجياً إلى 10 و 13 ملم عند 200 ملغم مل<sup>-1</sup> ضد *E. coli* و *S. aureus*، ثم إلى 16 و 14 ملم عند 300 ملغم مل<sup>-1</sup> بالتتابع كما في الشكل (4-13). فعالية المستخلص كانت أفضل ضد *E. coli* في التركيز الأعلى.

بينما العينة A، فكانت الأقل فعالية بين جميع العينات. لم تُظهر أي نشاط عند 100 ملغم مل<sup>-1</sup>، بينما بلغت أقطار التثبيط ضد *E. coli* 10 و 15 ملم، وضد *S. aureus* 9 و 14 ملم عند التراكيزين 200 و 300 ملغم مل<sup>-1</sup> بالتتابع الموضحة في شكل (4-10). هذه النتائج تؤكد أن فعالية هذا المستخلص تبقى أقل من تأثير Amoxyclav حتى في أعلى تركيز. يشير ذلك إلى ضعف قدرة هذا المستخلص على التأثير التثبيطي، والذي قد يُعزى إلى انخفاض محتواه من المركبات الفعالة حيويًا أو إلى محدودية نفاذيتها عبر الجدار الخلوي للبكتيريا المستهدفة.

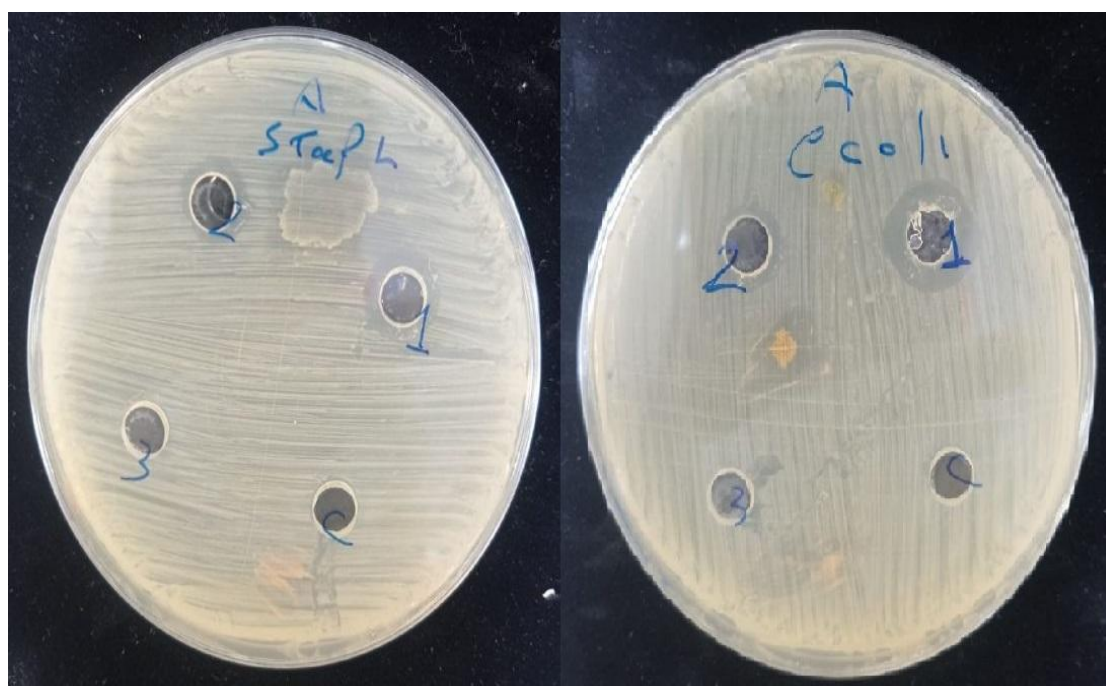
بصورة عامة، أظهرت العينة B أعلى فعالية بكتيرية في كلا النوعين، وتفوقت على المضاد الحيوي القياسي عند التركيز العالي (300 ملغم مل<sup>-1</sup>)، في حين تراوحت فعالية بقية العينات بين متوسطة وضعيفة، مع وضوح الارتباط بين زيادة التركيز وفعالية التأثير التثبيطي.

جدول (4-20): أقطار مناطق التثبيط (بالمليمتر) الناتجة عن تأثير المستخلصات النباتية المختلفة مقارنةً بالمضاد الحيوي Amoxyclav ضد *E. coli* و *S. aureus* عند تراكيز مختلفة.

| البكتريا                    | التراكيز (ملغم لتر <sup>-1</sup> ) |         |         | العينة |
|-----------------------------|------------------------------------|---------|---------|--------|
|                             | (3) 100                            | (2) 200 | (1) 300 |        |
| <i>E.coli</i>               | 0                                  | 10      | 15      | A      |
| <i>S.aures</i>              | 0                                  | 9       | 14      |        |
| <i>E.coli</i>               | 18                                 | 20      | 30      | B      |
| <i>S.aures</i>              | 16                                 | 20      | 29      |        |
| <i>E.coli</i>               | 8                                  | 10      | 16      | C      |
| <i>S.aures</i>              | 13                                 | 16      | 20      |        |
| <i>E.coli</i>               | 1                                  | 10      | 16      | D      |
| <i>S.aures</i>              | 1                                  | 13      | 14      |        |
| <i>E.coli</i>               | 10                                 | 12      | 14      | E      |
| <i>S.aures</i>              | 9                                  | 12      | 13      |        |
| <i>E.coli</i>               | 14                                 | 15      | 17      | F      |
| <i>S.aures</i>              | 12                                 | 13      | 16      |        |
| (بتركيز 30 ميكروغرام / قرص) |                                    |         |         |        |
| <i>E.coli</i>               |                                    | 17      |         | AMC    |
| <i>S.aures</i>              |                                    | 15      |         |        |



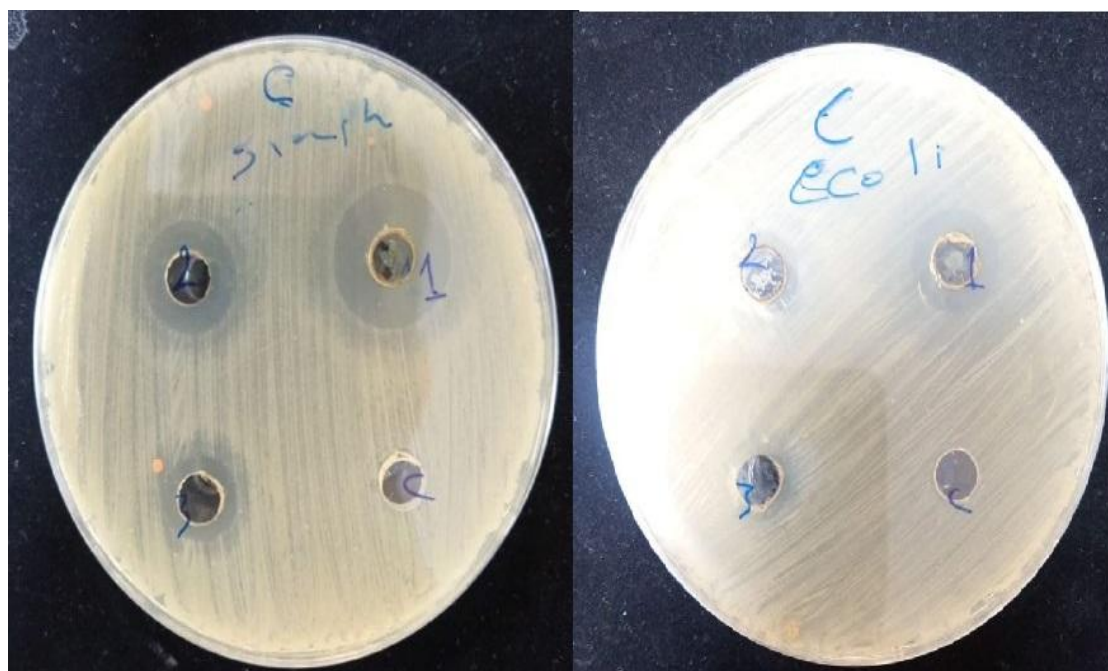
شكل (4-9): فعالية قرص المضاد الحيوي AMC (بتركيز 30 ميكروغرام / قرص) ضد بكتيريا *E. coli* و *S. aureus*.



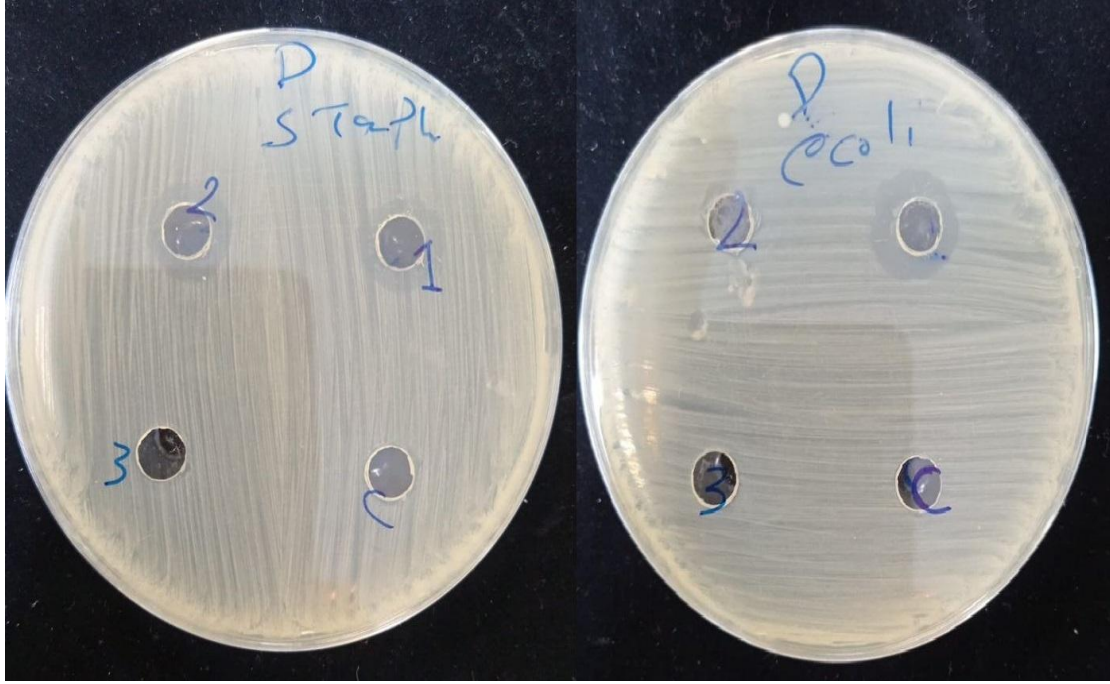
شكل (4-10): فعالية المستخلص النباتي للعينه A (JA:0 + 2iP:2 + 2,4-D:8 + NAA:40) ملغم لتر<sup>-1</sup> ( بثلاث تراكيز (100,200,300) ملغم مل<sup>-1</sup> بالتتابع ضد *E. coli* و *S. aureus*. و استخدام DMSO بنسبة 1% كمجموعة سيطرة سلبية.



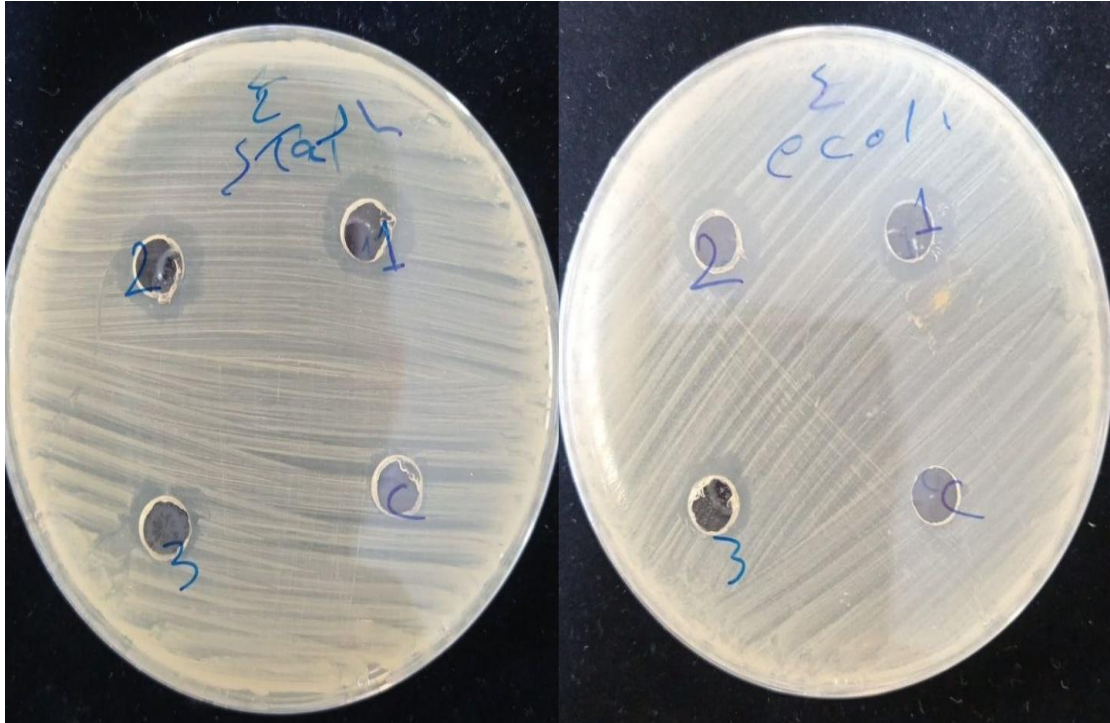
شكل (4-11): فعالية المستخلص النباتي للعينة B (JA:2 + 2iP:2 + 2,4-D:8 + NAA:40) ملغم لتر<sup>-1</sup> ( بثلاث تراكيز (100,200,300) ملغم مل<sup>-1</sup> بالتتابع ضد *E. coli* و *S. aureus*. و استخدام DMSO بنسبة 1% كمجموعة سيطرة سلبية.



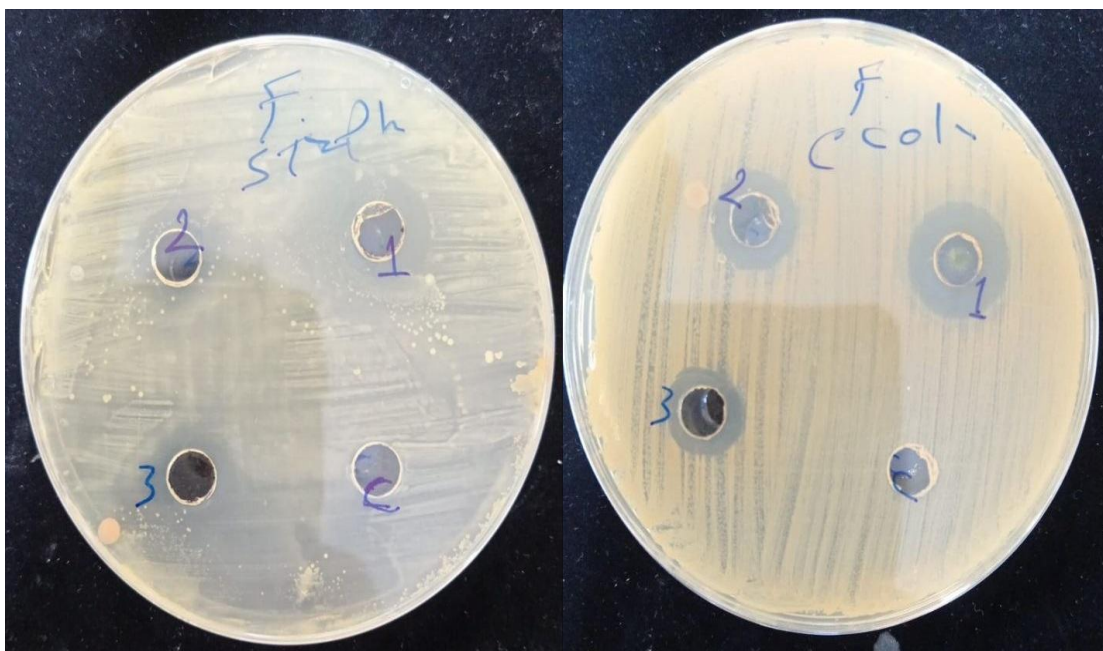
شكل (4-12): فعالية المستخلص النباتي للعينة C (JA:4 + 2iP:2 + 2,4-D:8 + NAA:40) ملغم لتر<sup>-1</sup> ( بثلاث تراكيز (100,200,300) ملغم مل<sup>-1</sup> بالتتابع ضد *E. coli* و *S. aureus*. و استخدام DMSO بنسبة 1% كمجموعة سيطرة سلبية.



شكل (4-13): فعالية المستخلص النباتي للعينة D (JA:0+2iP:4 +2,4-D:12 +NAA:60) ملغم لتر<sup>-1</sup> بثلاث تراكيز (100,200,300) ملغم مل<sup>-1</sup> بالتتابع ضد *E. coli* و *S. aureus*. و استخدام DMSO بنسبة 1% كمجموعة سيطرة سلبية.



شكل (4-14): فعالية المستخلص النباتي للعينة E (JA:2+2iP:4 +2,4-D:12 +NAA:60) ملغم لتر<sup>-1</sup> بثلاث تراكيز (100,200,300) ملغم مل<sup>-1</sup> بالتتابع ضد *E. coli* و *S. aureus*. و استخدام DMSO بنسبة 1% كمجموعة سيطرة سلبية.



شكل (4-15): فعالية المستخلص النباتي للعينة F (JA:4+2iP:4 +2,4-D:12 +NAA:60) (ملغم لتر<sup>-1</sup>) بثلاث تراكيز (100,200,300) ملغم مل<sup>-1</sup> بالتتابع ضد *E. coli* و *S. aureus*. و استخدام DMSO بنسبة 1% كمجموعة سيطرة سلبية.

أوضحت الدراسة الحالية أن المستخلصات الكحولية الناتجة عن استخدام منظمات النمو وحامض الجاسمونيك، وكذلك تأثير التداخل بينهما، قد أظهرت تبايناً في قدرتها على تثبيط نمو *E. coli* (بكتيريا سالبة لصبغة الغرام)، إلى جانب *S. aureus* (بكتيريا موجبة لصبغة الغرام)، مما يشير إلى كفاءة هذه المعاملات في الحد من انتشار سلالات بكتيرية مختلفة.

تُعزى فعالية المستخلصات الكحولية في تثبيط نمو البكتيريا إلى احتوائها على مركبات ذات نشاط بايولوجي، والتي تم تحديدها من خلال تحليل جهاز (GC-MS) وقد أظهر هذا التحليل اختلافاً في نوعية وتركيز المركبات الكيميائية باختلاف المعاملات المستخدمة، مما يعكس تأثير التداخلات بين منظمات النمو وحامض الجاسمونيك على إنتاج هذه المركبات. وقد كشفت النتائج عن وجود مجموعة متنوعة من المركبات الفعالة أبرزها الفينولات والأحماض الدهنية. وهذا يتفق مع دراسة (Ammar et al., 2025) التي بينت أن أنسجة الكالس لصنف البرحي أظهرت محتوى أعلى من المركبات الفينولية الكلية مقارنة بأنسجة الأجنة الجسدية المستحثة من نفس الصنف، إذ تشير الدراسة إلى أن الكالس يمثل مرحلة نسيجية نشطة في إنتاج المركبات الفينولية، والتي تُعرف بدورها في حماية الخلايا النباتية من الإجهاد التأكسدي، مما يدعم استخدام الكالس كمصدر مهم للمركبات الفعالة في التطبيقات الحيوية. و أيضاً بين (Hammami et al., 2025) إلى أن صنف البرحي يمتلك تركيبة غنية من الأحماض الدهنية الحيوية، والتي تُعد من العناصر المهمة في تعزيز

الخصائص الغذائية والوظيفية. وقد لوحظ أن زيت بذوره يحتوي على توازن جيد بين الدهون المشبعة وغير المشبعة، مما يعزز من قابليته للاستخدام في التطبيقات الغذائية والصحية.

حيث أظهرت المركبات الفينولية الموجودة في المستخلصات النباتية فعالية ملحوظة في تثبيط نمو البكتيريا، ويُعتقد أن آلية تأثيرها تعود إلى بنيتها الكيميائية القادرة على إحداث تغييرات مورفولوجية في الخلايا البكتيرية، بما في ذلك تلف الجدار الخلوي والتأثير في تكوين الأغشية الحيوية (Biofilm). إضافةً إلى ذلك، فإنها تؤثر في العمليات الحيوية مثل تخليق البروتين، وتحدث اضطراباً في إنتاج الـ ATP والـ DNA من خلال تثبيط إنزيم DNA gyrase. ويُعزى هذا التأثير إلى ما تتمتع به هذه المركبات من خصائص مضادة للأكسدة ومضادة للبكتيريا، مما يجعلها بديلاً واعدًا للمركبات الكيميائية الحافظة في مكافحة البكتيريا الممرضة والمُسببة للفساد (Efenberger-Szmechtyk et al., 2021).

أما الأحماض الدهنية الحرة (FFAs) فتظهر طيفاً واسعاً من الأنشطة البيولوجية الفعالة، خاصة في قدرتها على قتل أو تثبيط نمو البكتيريا. ويُعتقد أن الآلية الأساسية لعملها تستهدف الغشاء الخلوي للبكتيريا، حيث تؤدي إلى تعطيل سلسلة نقل الإلكترون وعملية الفسفرة التأكسدية، مما يعيق إنتاج الطاقة داخل الخلية. كما تتداخل هذه الأحماض مع النشاط الإنزيمي وامتصاص العناصر الغذائية، وتنتج مركبات مؤكسدة سامة تؤدي إلى تحلل مباشر في الخلايا البكتيرية. وتُعد خصائصها الواسعة النطاق وغير النوعية جذابة لتطبيقات متعددة كمضادات بكتيرية بديلة في المجالات الطبية والزراعية وحفظ الأغذية، خصوصاً في الحالات التي يُعد فيها استخدام المضادات التقليدية غير مرغوب فيه أو محظوراً (Desbois and Smith, 2010).

أيضاً أظهرت النتائج وجود عدد من المركبات النشطة بايولوجياً التي قد يعود السبب لها في فعاليتها في تثبيط نمو البكتيريا ومن أهم هذه المركبات:

يعد 2,2'-Bioxirane من المركبات الفعالة بايولوجياً، نظراً لما يتمتع به من خصائص مضادة للبكتيريا والأكسدة وفعالية محتملة كمضاد لمرض السكري. وقد بين Sharma et al., (2024) في دراسة أجريت على مستخلص لنبات *Euphorbia hirta* أن هذا المركب كان الأعلى نسبة بين المركبات المكتشفة، إذ شكّل نحو 36% من التركيب الكلي، كما ارتبط وجوده بتسجيل فعالية واضحة للمستخلص في الاختبارات الحيوية، مما يشير إلى دوره الرئيسي في إحداث هذه التأثيرات.

وأظهر مركب  $\alpha$ -Terpineol فعالية بايولوجية ملحوظة كمضاد للبكتيريا ضد مجموعة من البكتيريا الممرضة المنقولة غذائياً، منها *S. aureus* و *E. coli* إذ أدى إلى تقليل عدد الخلايا

البكتيرية بشكل كبير خلال فترة زمنية قصيرة. وقد أشارت نتائج الفحوصات المورفولوجية والطيفية إلى أن الآلية الأساسية لفعاليتها تعود إلى تدميره لغشاء الخلية البكتيرية، واختلال وظيفة الغشاء البلازمي، وانخفاض سيولة الغشاء، وتكوّن أنواع الأوكسجين التفاعلية (ROS)، مما يؤدي إلى انهيار الجهد الغشائي وفقدان طاقة ATP داخل الخلية. تؤدي هذه التأثيرات مجتمعة إلى تعطيل العمليات الخلوية الحيوية للبكتيريا وبالتالي موتها، مما يجعل  $\alpha$ -Terpineol مرشحا واعدا كمضاد ميكروبي طبيعي في التطبيقات الطبية والغذائية (Yang et al., 2023).

مركب (Acetol) 2-Propanone, 1-hydroxy من المركبات الحيوية الفعالة، وقد ثبتت قدرته على إظهار نشاط مضاد للبكتيريا في دراسات سابقة، وهذا يتفق مع (Rashid, 2021) التي وثقت دراسته تأثيره التثبيطي ضد بكتيريا *Xanthomonas vesicatoria*. وظهوره ضمن مركبات العينات في هذه الدراسة يشير إلى احتمالية مساهمته في النشاط التثبيطي ضد البكتيريا المختبرة، مما يعزز من دوره كعنصر مؤثر في تعزيز الفعالية الحيوية للمستخلصات المدروسة.

مركب Benzophenone الذي يعد البنزوفينونات الطبيعية سواء المستخلصة من النباتات أو من الفطريات والكائنات الدقيقة، والتي اظهرت نشاطا مضادا للبكتيريا والفطريات، بما في ذلك السلالات المقاومة مثل *S. aureus* و *Enterococcus faecium* وقد لوحظ أن بعض هذه المركبات تقترب في فعاليتها من المضادات الحيوية التقليدية. يُعزى هذا النشاط إلى بنيتها الكيميائية المميزة، والتي قد تتضمن روابط بيروكسيد أو ذرات كلور أو تكون على هيئة مركبات ثنائية. كما أظهرت قدرة على تثبيط سلالات متعددة المقاومة، مما يجعلها من المضادات الميكروبية الطبيعية الفعالة (Wu et al., 2014).

مركب Dichloroxylenol، وهو أحد المركبات الفينولية التي تتميز بفعاليتها التثبيطية ضد البكتيريا وهذا يتفق مع دراسة (Aboh et al., 2013) التي أوضحت فعالية هذا المركب ضد بكتيريا *S. aureus* و *E. coli* إذ بينت النتائج أن المنتجات التي تحتوي على هذا المركب بتركيز 2% قادرة على إحداث إبادة كاملة للخلايا البكتيرية خلال فترة قصيرة لا تتجاوز 5 دقائق من التلامس، مما يشير إلى كفاءته العالية كمضاد للبكتيريا موجبة وسالبة الغرام على حد سواء. ويُعزى هذا التأثير إلى قدرته على اختراق جدار الخلية والتأثير على العمليات الحيوية داخلها، مما يؤدي إلى موت الخلايا. كما مركب Dichloroxylenol فعالية بايولوجية متفاوتة تجاه الأنواع البكتيرية المختبرة، إذ بينت الدراسة تفوق نشاطه ضد *S. aureus* مقارنةً بفعاليتها ضد *E. coli* و *Salmonella typhi* وقد أشارت النتائج إلى وجود دور محتمل لجدار الخلية في تحديد درجة

استجابة البكتيريا لهذا المركب، مما قد يفسر اختلاف التأثير بين الأنواع الموجبة والسالبة لصبغة غرام (Grillo and Ojo, 2013).

مركب Butyrolactone هو أحد المركبات اللاكتونية ذات الفعالية البايولوجية ، وقد أظهرت الدراسات أنه يمتلك نشاطا تثبيطيا ملحوظا ضد البكتيريا الموجبة لصبغة غرام، مثل *Bacillus subtilis*. ويعزى هذا التأثير إلى طبيعة البنية الكيميائية للاكتونات، والتي تمكنها من التداخل مع العمليات الحيوية في الخلية البكتيرية، مما يعزز من إمكانية استخدامها كمركبات مضادة للميكروبات (Mazur and Masłowiec, 2022).

كما يعد مركب n-Hexadecanoic acid من المركبات الفعالة بايولوجيًا، حيث أظهر نشاطًا واضحًا ضد البكتيريا المسببة للأمراض، ومنها *S. aureus*، كما بينت نتائج دراسة Shaaban *et al.* (2021) وتتمثل آلية تأثير هذا المركب في استهداف غشاء الخلية البكتيرية، والذي يعد من المواقع الحيوية الرئيسية لتفاعل المركبات المضادة للبكتيريا. يعمل n-Hexadecanoic acid على تغيير تركيب الغشاء الخلوي والتأثير في بنيته، مما يؤدي إلى خلل في وظائفه الحيوية، مثل نقل المغذيات والتخلص من الفضلات، وبالتالي التسبب في تلف الغشاء وزيادة نفاذيته، مما يؤدي إلى تدمير الخلية البكتيرية (Idris, 2022). إضافة إلى ذلك، قد يؤثر هذا المركب في بعض الإنزيمات المشاركة في عمليات أيض الطاقة داخل الخلية البكتيرية، حيث يسهم تثبيط تلك الإنزيمات في تقليل قدرة البكتيريا على استخدام مواردها، مما يحد من نموها. وقد دعمت هذه النتائج دراسة أجريت بواسطة Ferraz *et al.* (2020)، والتي اختبرت فعالية n-Hexadecanoic acid ضد مجموعة من البكتيريا الممرضة، وأظهرت أن له تأثيرًا تثبيطيًا ملحوظًا ضد سلالات مثل *E. coli* و *S. aureus*، مما يعزز من دوره كمركب واعد في مكافحة العدوى البكتيرية.

#### 7.4. تقييم فعالية المستخلصات النباتية كمضاد للأكسدة.

##### 1.7.4. تأثير اضافة الجاسمونيك ومنظمات النمو على الفعالية المضادة للأكسدة باختبار DPPH عند التركيز 120 ملغم لتر<sup>-1</sup>.

أظهرت نتائج اختبار الفعالية المضادة للأكسدة المقاسة باختبار DPPH عند التركيز 120 ملغم لتر<sup>-1</sup> والموضح في جدول (4-21). ان التغير في تراكيز منظمات النمو (NAA، 2,4-D، 2ip) أدى إلى فروقات غير معنوية في النشاط المضاد للأكسدة.

اما بالنسبة لحامض الجاسمونيك فأن إضافة بتركيز 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> أدى الى زيادة غير معنوية، اما عند إضافة بتركيز 4 ملغم لتر<sup>-1</sup> أدى الى انخفاض معنوي عند مقارنة التركيزين بالمعاملة التي لم يضاف لها الجاسمونيك 70.95%.

بينما التداخل بين حامض الجاسمونيك ومنظمات النمو فقد تفوقت معنويا المعاملة التي جمعت بين منظمات النمو (2ip : 2 , 2,4-D : 8 , NAA : 40) وحامض الجاسمونيك 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> والتي بلغ فيها النشاط المضاد للأكسدة 72.36% عند مقارنتها بأقل نشاط مضاد عند المعاملة التي سجلت 68.26%.

جدول (4-21): تأثير اضافة الجاسمونيك ومنظمات النمو على الفعالية المضادة للأكسدة بأختبار DPPH عند التركيز 120 ملغم لتر<sup>-1</sup>.

| تركيز منظمات النمو<br>ملغم لتر <sup>-1</sup> | تركيز الجاسمونيك JA |              |                 | معدل تأثير منظمات النمو |
|----------------------------------------------|---------------------|--------------|-----------------|-------------------------|
|                                              | 0                   | 2            | 4               |                         |
| 2ip : 2 , 2,4-D : 8 , NAA : 40               | 70.31               | 72.36        | 68.26           | 70.31                   |
| 2ip: 4 , 2,4-D: 12 , NAA: 60                 | 71.59               | 69.92        | 70.30           | 70.60                   |
| معدل تأثير الجاسمونيك                        | 70.95               | 71.14        | 69.28           |                         |
| قيمة RLSD                                    | الجاسمونيك          | منظمات النمو | التداخل الثنائي |                         |
| عند مستوى معنوية 0.05                        | 0.92                | 0.79         | 1.31            |                         |

2.7.4. تأثير اضافة الجاسمونيك ومنظمات النمو على الفعالية المضادة للأكسدة بتقنية DPPH عند التركيز 250 ملغم لتر<sup>-1</sup>.

أظهرت نتائج اختبار الفعالية المضادة للأكسدة المقاسة باختبار DPPH عند التركيز 250 ملغم لتر<sup>-1</sup> والموضح في جدول (4-22). ان التغير في تراكيز منظمات النمو (2ip، 2,4-D، NAA) أدى إلى فروقات غير معنوية في النشاط المضاد للأكسدة.

اما بالنسبة لحامض الجاسمونيك فأن إضافة بكلا التركيزين 2,4 ملغم لتر<sup>-1</sup> أدى الى انخفاض معنوي، عند مقارنة التركيزين بالمعاملة التي لم يضاف لها الجاسمونيك 73.88%.

بينما التداخل بين حامض الجاسمونيك ومنظمات النمو فقد تفوقت معنويا المعاملة التي جمعت بين منظمات النمو (2ip : 2 , 2,4-D : 8 , NAA : 40) وحامض الجاسمونيك 0 ملغم لتر<sup>-1</sup> والتي بلغ فيها النشاط المضاد للأكسدة 74.17% عند مقارنتها بأقل نشاط مضاد عند المعاملة التي سجلت 68.52% أي ان تداخل الجاسمونيك مع منظمات النمو يؤدي انخفاض النشاط المضاد للأكسدة.

جدول (4-22): تأثير اضافة الجاسمونيك ومنظمات النمو على الفعالية المضادة للأكسدة بتقنية DPPH عند التركيز 250 ملغم لتر<sup>-1</sup>.

| تركيز منظمات النمو<br>ملغم لتر <sup>-1</sup> | تركيز الجاسمونيك JA |              |                 | معدل تأثير منظمات النمو |
|----------------------------------------------|---------------------|--------------|-----------------|-------------------------|
|                                              | 0                   | 2            | 4               |                         |
| 2ip : 2 , 2,4-D : 8 ,NAA : 40                | 74.17               | 73.30        | 68.52           | 72.00                   |
| 2ip: 4 , 2,4-D: 12 ,NAA: 60                  | 73.59               | 71.07        | 71.88           | 72.18                   |
| معدل تأثير الجاسمونيك                        | 73.88               | 72.19        | 70.20           |                         |
| قيمة RLSD                                    | الجاسمونيك          | منظمات النمو | التداخل الثنائي |                         |
| عند مستوى معنوية 0.05                        | 1.01                | 0.88         | 1.60            |                         |

3.7.4. تأثير اضافة الجاسمونيك ومنظمات النمو على الفعالية المضادة للأكسدة بتقنية DPPH عند التركيز 500 ملغم لتر<sup>-1</sup>.

أظهرت نتائج اختبار الفعالية المضادة للأكسدة المقاسة باختبار DPPH عند التركيز 500 ملغم لتر<sup>-1</sup> والموضح في جدول (4-23). ان التغير في تراكيز منظمات النمو (2ip، 2,4-D، NAA) أدى إلى فروقات غير معنوية في النشاط المضاد للأكسدة. اما بالنسبة لحمض الجاسمونيك فإن إضافة كلا التركيزين 2,4 4 ملغم لتر<sup>-1</sup> أدى الى انخفاض معنوي، عند مقارنة التركيزين بالمعاملة التي لم يضاف لها الجاسمونيك 73.97%. بينما التداخل بين حامض الجاسمونيك ومنظمات النمو فقد تفوقت معنويا المعاملة التي جمعت بين منظمات النمو (2ip : 2 , 2,4-D : 8 ,NAA : 40) وحامض الجاسمونيك 0 ملغم لتر<sup>-1</sup> والتي بلغ فيها النشاط المضاد للأكسدة 74.29 % عند مقارنتها بأقل نشاط مضاد عند المعاملة التي سجلت 70.86 % أي ان تداخل الجاسمونيك مع منظمات النمو يؤدي انخفاض النشاط المضاد للأكسدة.

جدول (4-23): تأثير اضافة الجاسمونيك ومنظمات النمو على الفعالية المضادة للأكسدة بتقنية DPPH عند التركيز 500 ملغم لتر<sup>-1</sup>.

| تركيز منظمات النمو<br>ملغم لتر <sup>-1</sup> | تركيز الجاسمونيك JA |              |                 | معدل تأثير منظمات النمو |
|----------------------------------------------|---------------------|--------------|-----------------|-------------------------|
|                                              | 0                   | 2            | 4               |                         |
| 2ip : 2 , 2,4-D : 8 ,NAA : 40                | 74.29               | 73.69        | 70.86           | 72.94                   |
| 2ip: 4 , 2,4-D: 12 ,NAA: 60                  | 73.65               | 71.42        | 72.28           | 72.45                   |
| معدل تأثير الجاسمونيك                        | 73.97               | 72.55        | 71.57           |                         |
| قيمة RLSD                                    | الجاسمونيك          | منظمات النمو | التداخل الثنائي |                         |
| عند مستوى معنوية 0.05                        | 1.10                | 0.91         | 1.73            |                         |

#### 4.7.4. تأثير اضافة الجاسمونيك ومنظمات النمو على الفعالية المضادة للأكسدة بتقنية DPPH عند التركيز 1000 ملغم لتر<sup>-1</sup>.

أظهرت نتائج اختبار الفعالية المضادة للأكسدة المقاسة باختبار DPPH عند التركيز 1000 ملغم لتر<sup>-1</sup> والموضح في جدول (4-24). ان التغير في تراكيز منظمات النمو (2,4-D، 2ip، NAA) أدى إلى فروقات معنوية في النشاط المضاد للأكسدة. حيث سجلت المعاملة التي تضمنت التراكيز (2 : 2ip، 8 : 2,4-D، 40 : NAA) ملغم لتر<sup>-1</sup> نشاط مضاد بلغ 74.13% مقارنة بالمعاملة ذات التراكيز الأعلى والتي بلغ النشاط المضاد للأكسدة فيها 73.27%.

اما بالنسبة لحامض الجاسمونيك فأن إضافة التراكيزين 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> أدى الى انخفاض غير معنوي، بينما اضافة بتركيز 4 ملغم لتر<sup>-1</sup> أدى الى انخفاض معنوي عند مقارنة التراكيزين بالمعاملة التي لم يضاف لها الجاسمونيك 74.56%.

بينما التداخل بين حامض الجاسمونيك ومنظمات النمو فقد تفوقت معنويا المعاملة التي جمعت بين منظمات النمو (40 : NAA، 8 : 2,4-D، 2 : 2ip) وحامض الجاسمونيك 0 ملغم لتر<sup>-1</sup> والتي بلغ فيها النشاط المضاد للأكسدة 74.90% عند مقارنتها بأقل نشاط مضاد عند المعاملة التي سجلت 72.79 أي ان تداخل الجاسمونيك مع منظمات النمو يؤدي انخفاض النشاط المضاد للأكسدة.

جدول (4-24): تأثير اضافة الجاسمونيك ومنظمات النمو على الفعالية المضادة للأكسدة بتقنية DPPH عند التركيز 1000 ملغم مل<sup>-1</sup>.

| تركيز منظمات النمو<br>ملغم لتر <sup>-1</sup> | تركيز الجاسمونيك JA |              |                | معدل تأثير منظمات النمو |
|----------------------------------------------|---------------------|--------------|----------------|-------------------------|
|                                              | 0                   | 2            | 4              |                         |
| 2ip : 2 , 2,4-D : 8 , NAA : 40               | 74.90               | 74.71        | 72.77          | 74.13                   |
| 2ip : 4 , 2,4-D : 12 , NAA : 60              | 74.22               | 72.79        | 72.80          | 73.27                   |
| معدل تأثير الجاسمونيك                        | 74.56               | 73.75        | 72.79          |                         |
| قيمة RLSD                                    | الجاسمونيك          | منظمات النمو | التداخل الثاني |                         |
| عند مستوى معنوية 0.05                        | 1.01                | 0.83         | 1.22           |                         |

أظهرت النتائج في الجداول (4-21 إلى 4-24) أنّ التغير في تراكيز منظمات النمو (2ip، 2,4-D، NAA) لم يُحدث فروقات معنوية في معظم التراكيز المختبرة (120، 250، 500) ملغم لتر<sup>-1</sup> من حيث النشاط المضاد للأكسدة، باستثناء التركيز الأعلى (1000) ملغم لتر<sup>-1</sup> حيث تفوقت معنويا عند المعاملة ذات التراكيز المنخفضة (2 : 2ip، 8 : 2,4-D، 40 : NAA) باستجيلها على

قيمة نشاط مضاد للأكسدة بلغ 74.13% مقارنة بالمعاملة ذات التراكيز الأعلى التي بلغ فيها النشاط المضاد 73.27%.

وقد يعود السبب الى مع ما ذكره (Al-Khayri and Naik, 2022) في دراستهم على نخيل التمر ان استخدام التراكيز المعتدلة من منظمات النمو، 5 ملغم لتر<sup>-1</sup> من 2,4-D و 2.5 ملغم لتر<sup>-1</sup> من 2ip، ساعدت في تعزيز المسارات الأيضية الدفاعية وزيادة تراكم المستقلبات الثانوية ذات النشاط المضاد للأكسدة في نخيل التمر. في المقابل، أدت المستويات الأعلى من هذه المنظمات إلى اختلال في التوازن الهرموني وانخفاض الكفاءة الأيضية، وهو ما يفسر تراجع النشاط المضاد للأكسدة في معالجات التراكيز المرتفعة.

اما إضافة حامض الجاسمونيك (JA) لم تُظهر تأثيراً تحفيزياً واضحاً على النشاط المضاد للأكسدة في معظم التراكيز المدروسة. فعند التركيز المنخفض (120) ملغم لتر<sup>-1</sup> سجلت المعاملة بتركيز 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> JA أعلى قيمة للنشاط (71.14%)، إلا أن الفارق لم يكن معنوياً مقارنة بالمعاملة التي لم يضاف لها الجاسمونيك (70.95%). بينما أدى رفع تركيز الجاسمونيك إلى 4 ملغم لتر<sup>-1</sup> إلى انخفاض معنوي في النشاط (69.28%). وعند التراكيز الأعلى من المستخلص (250، 500، 1000) ملغم لتر<sup>-1</sup> تسببت إضافة الجاسمونيك بتركيزيه (2,4) ملغم لتر<sup>-1</sup> في انخفاض معنوي أو غير معنوي في النشاط المضاد للأكسدة مقارنة بعدم الإضافة، إذ بلغت قيم النشاط 73.75–72.19% عند 2 ملغم لتر<sup>-1</sup>، وانخفضت إلى 72.79–70.20% عند 4 ملغم لتر<sup>-1</sup>. في حين سجلت المعاملات التي لم يضاف لها الجاسمونيك (0 ملغم لتر<sup>-1</sup> JA) أعلى القيم تراوحت بين 74.56–73.88%.

وتتفق هذه النتيجة مع ما توصل إليه (Al-Qatrani et al. 2023) في تجارب الزراعة النسيجية لنخيل التمر، حيث بينت المعاملات بتركيزات معتدلة من الجاسمونيك (25–50 µM) تحسناً في المؤشرات الفسيولوجية والإنزيمية المضادة للأكسدة، بينما أظهر التركيز الأعلى (75 µM) استجابة أقل، ما يشير إلى أن الجرعات العالية قد تخلّ بتوازن الأيض وتقلل من الكفاءة الدفاعية.

ايضا أوضحت النتائج أن التداخل بين منظمات النمو وحامض الجاسمونيك قد أظهر سلوكاً متبايناً تبعاً لتركيز المستخلص. فعند التركيز المنخفض من المستخلص (120) ملغم لتر<sup>-1</sup> سجلت المعاملة (B) التي جمعت بين منظمات النمو بتركيزاتها المنخفضة (2ip:2، 2,4-D:8، NAA:40) ملغم لتر<sup>-1</sup> وحامض الجاسمونيك بتركيز 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> أعلى نشاط مضاد للأكسدة (72.36%) مقارنة بالمعاملة الأقل نشاطاً (68.26%). في المقابل، وعند التراكيز الأعلى من المستخلص (250، 500، 1000) ملغم لتر<sup>-1</sup> كانت المعاملة نفسها (2ip:2، 2,4-D:8،

(NAA:40) ولكن دون إضافة الجاسمونيك هي الأكثر تفوقاً، حيث سجلت قيم النشاط 74.17%، و74.29%، و74.90% على التوالي، بينما أدى إضافة الجاسمونيك إلى خفض النشاط المضاد للأوكسدة. ويعكس ذلك أن فعالية التداخل بين منظمات النمو والجاسمونيك قد تكون إيجابية في المستويات المنخفضة، لكنها تصبح مثبطة عند التراكيز الأعلى. يعكس التداخل بين الجاسمونيك ومنظمات النمو في نتائج هذه الدراسة تعقيداً واضحاً في الشبكات الهرمونية النباتية، كما وصفه Yang et al. (2019) بأن الجاسمونيك يتفاعل مع Auxin و Cytokinin لتنظيم النمو والدفاع العكسي حسب الظروف. وفقاً لهذا الإطار، فإن التأثير التحفيزي عند 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> JA قد ينبع من تناعم مع منظمات النمو، في حين أن التأثير المثبط عند 4 ملغم لتر<sup>-1</sup> JA قد يُعزى إلى تداخل تفاضلي أو تنافسي بين حامض الجاسمونيك والإشارات الهرمونية الأخرى.

وبشكل عام تتوافق نتائج هذه الدراسة مع نتائج دراسة Ammar et al., (2025) حيث أن أنسجة الكالس لصنف البرحي تُظهر نشاطاً ملحوظاً كمضاد للأوكسدة، إذ بيّنت التجارب الحيوية أن مستخلص الكالس يمتلك قدرة على تثبيط الجذور الحرة. كما أثبتت دراسات أخرى أن مستخلصات بذور البرحي تُظهر نشاطاً مضاداً للأوكسدة ملحوظاً باستخدام اختبارات بيولوجية معتمدة، مما يؤكد فعاليته في تثبيط الجذور الحرة والحد من الأضرار الناتجة عن الإجهاد التأكسدي. ويعزى هذا التأثير إلى احتواء الصنف على نسب مرتفعة من المركبات الفينولية النشطة. وهذا يشير إلى إمكانية استخدامه كمصدر طبيعي لمركبات مضادة للأوكسدة تدخل في الصناعات العلاجية أو الغذائية (Hammami et al., 2025; Zarie et al., 2023).

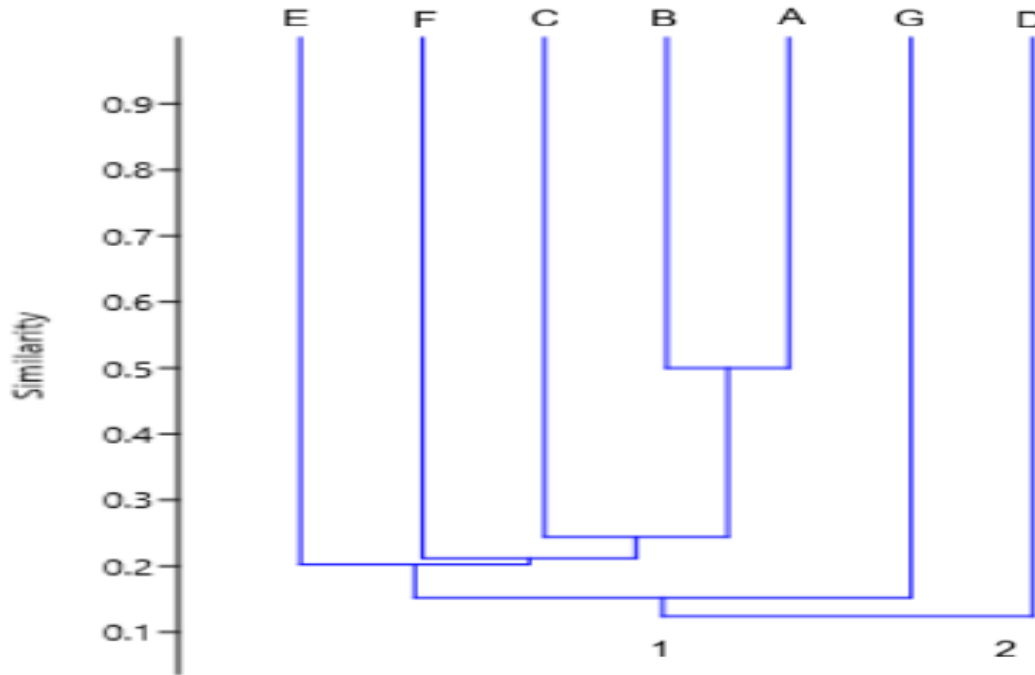
#### 8.4. التحليل الجزيئي لتقييم التباين الوراثي في كالس نخيل التمر صنف البرحي باستخدام مؤشرات RAPD تحت تأثير منظمات النمو.

1.8.4. شجرة القرابة الوراثية Dendrogram بين الأصل (النبات الأم) والكالس الناتج من الزراعة خارج الجسم الحي باستخدام مؤشرات التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال لسلسلة الدنا RAPD.

أظهرت نتائج الشكل (4-15) مخطط التحليل العنقودي (Cluster Analysis) للعينات المدروسة بين الأصل الوراثي (النبات الأم) للعينة G والكالس الناتج من الزراعة خارج الجسم الحي لصنف النخيل البرحي للعينات من (F-A) استناداً إلى مؤشرات RAPD واعتماداً على نتائج أربعة بواديء قد توزعت في مجموعتين رئيسيتين 1 و 2 والتي شملت العينة (D) التي تتصل ببقية العينات وبضمنها الأصل الوراثي (G) عند مستوى تشابه منخفض جداً بلغ حوالي 15% في حين سجلت المعاملتين (A, B) أعلى مستوى تشابه حوالي 50% والتي انضمت إلى

العينة (C) لتمثل المجموعة الأكبر في التشابه الوراثي بلغ حوالي 25% . اظهرت المعاملتين F و E تشابها وراثيا فيما بينهما بلغ حوالي 21%، ولكنه أقل بكثير من التشابه بين المعاملتين (A,B). هذا يعني أنهما أقرب إلى بعضهما البعض من بقية العينات لكنهما لا يزالان يظهران بعض التباين.

نستنتج من ذلك ان العينة (D) هي الأكثر أختلافا وراثيا عن جميع العينات الأخرى، بما في ذلك الأصل الوراثي (G) وقد يعزى سبب ذلك الى توليفة الهرمونات وخصوصا منظم النمو 2,4-D التي تعرضت لها هذه العينة قد أدت الى اكبر قدر ممكن من الطفرات او التغيرات الجينية .



الشكل (4-16): شجرة القرابة الوراثية Dendrogram لستة معاملات (F-A) من كالس نخيل التمر (البرحي) مع معاملة الأصل الوراثي (G) حسب طريقة (UPGMA) Pair –Group Method using an arithmetic Average اعتمادا على نتائج اربعة بواديء لمؤشرات التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال RAPD.

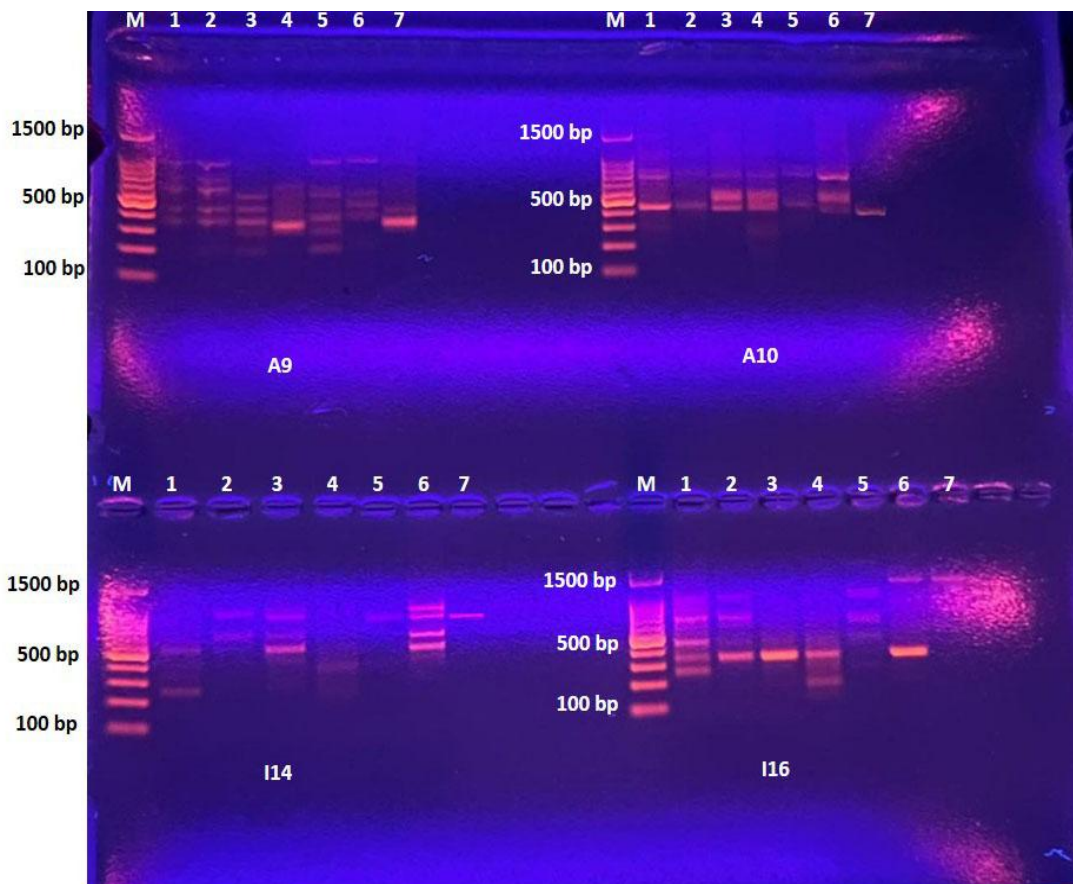
#### 2.8.4. قيم التشابه الوراثي اعتمادا على مؤشرات RAPD

تشير النتائج الموضحة في الجدول (4-22) إلى قيم التشابه الوراثي بين الأصل الوراثي لنخيل التمر (البرحي) ومعاملات الكالس المنتج من الزراعة النسيجية للصنف نفسه فقد وجد أن أعلى تشابه بلغ 0.5 بين معاملي الكالس A و B مما يؤكد ان التركيز المعتدل من الجاسمونيك مع منتظمات النمو لم تسبب تغييرات وراثية كبيرة. في حين بينت نتائج الجدول نفسه ان أقل تشابه وراثي بلغ 0.05 بين معاملة الأصل الوراثي (G) ومعاملة الكالس (D) مما يشير الى تغييرات

هرمونية كبيرة بسبب استخدام تراكيز عالية من منظمات النمو وخاصة 2,4-D. ان نتائج الدراسة الحالية أوضحت بأن قيم التشابه الوراثي بين الأصل الوراثي ومعاملات الكالس المنتج من الزراعة خارج الجسم الحي كانت متفاوتة حسب توليفات الهرمونات المستخدمة في الدراسة وقد يعزى سبب ذلك الى الطفرات الوراثية او التغيرات الجينية.

جدول (4-22): قيم التشابه الوراثي بأستخدام مؤشرات RAPD بين معاملة الأصل الوراثي لنخيل التمر صنف البرحي ومعاملات الكالس الناتجة من الزراعة خارج الجسم الحي .

| المعاملات | A    | B    | C    | D    | E    | F    | G |
|-----------|------|------|------|------|------|------|---|
| A         | 1    |      |      |      |      |      |   |
| B         | 0.50 | 1    |      |      |      |      |   |
| C         | 0.21 | 0.28 | 1    |      |      |      |   |
| D         | 0.14 | 0.12 | 0.20 | 1    |      |      |   |
| E         | 0.25 | 0.18 | 0.18 | 0.07 | 1    |      |   |
| F         | 0.19 | 0.21 | 0.24 | 0.17 | 0.19 | 1    |   |
| G         | 0.14 | 0.16 | 0.21 | 0.05 | 0.09 | 0.17 | 1 |



الشكل (4-17): نواتج الـ PCR لمؤشرات RAPD بأستعمال أربعة بواديء (9 و A10 و I14 و I16) لستة عينات لكالس النخيل البرحي (A-F) مع عينة الأصل الوراثي (G).

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما ورد في دراسة Baklouti *et al.*, (2022) التي أثبتت أن استخدام منظم النمو 2,4-D في الزراعة النسيجية لنخيل البرحي يؤدي إلى إحداث تغيرات جينية في الأنسجة النباتية المستزرعة. وقد أظهرت المؤشرات الجزيئية في تلك الدراسة ظهور حزم متعددة الأشكال عند استخدام تراكيز مختلفة من 2,4-D، مما يشير إلى حصول تغيرات على مستوى تسلسل الحامض النووي. وتُعزى هذه التغيرات إلى تأثير 2,4-D في تحفيز الانقسام الخلوي غير المنتظم، وما يصاحبه من اضطرابات في استقرار المادة الوراثية، خصوصاً تحت ظروف الإجهاد. وكذلك تراكم واضح لمركب البرولين ابتداءً من التركيز 5 ملغم لتر<sup>-1</sup> من 2,4-D، حيث سُجلت زيادة تدريجية في محتواه بالتوازي مع زيادة تركيز 2,4-D.

وتعد التراكيز المرتفعة من منظمات النمو النباتية (PGRs) من العوامل المحفزة لحالة الإجهاد الفسيولوجي في الأنسجة النباتية، والتي غالباً ما ترتبط بتراكم الحامض الأميني البرولين كاستجابة وقائية (Siddique *et al.*, 2018). حيث يعد البرولين من المركبات الحيوية المهمة التي تتراكم في الأنسجة النباتية استجابةً لظروف الإجهاد، ويُستخدم على نطاق واسع كمؤشر فسيولوجي للتكيف مع الظروف غير المثلى. وقد ارتبط تراكمه ببدء حدوث التغيرات الخلوية والجزيئية. وبذلك، فإن وجود البرولين يمكن اعتباره علامة حيوية أولية تسبق أو تتزامن مع التغيرات الوراثية المحفزة بواسطة منظمات النمو مثل (Baklouti *et al.*, 2022). وقد أكدت دراسات متعددة وجود علاقة طردية بين تراكم البرولين وشدة الإجهاد في النبات (Al Mayahi and Fayadh, 2015).



---

# الاستنتاجات والتوصيات

---

## الاستنتاجات Conclusions

1. أثبتت زراعة أنسجة نخيل التمر صنف البرحي كفاءتها في تحفيز إنتاج المركبات الثانوية، إذ تم الكشف عن 138 مركبًا باستخدام GC-MS، مما يدل على نجاح المعاملات الهرمونية في توجيه الأيض الثانوي.
2. كانت المعاملة B (JA:2 + 2iP:2 + 2,4-D:8 + NAA:40) ملغم لتر<sup>-1</sup> (الأفضل من حيث العدد الكلي للمركبات (50 مركبًا)، إضافة إلى أعلى نسبة تراكم للمركبات المشتركة والفريدة، ما يدل على تفوق هذه التركيبة في التنوع والنشاط الأيضي.
3. كانت التراكيز العالية من JA المعاملة 4 ملغم لتر<sup>-1</sup> أقل كفاءة من التراكيز المعتدلة 2 ملغم لتر<sup>-1</sup> مما يشير إلى وجود حد مثالي للتركيز التحفيزي للجسمونيك.
4. تفوقت المعاملة B أيضًا في الفعالية البايولوجية، حيث سجل المستخلص الكحولي الناتج عنها أعلى أقطار تثبيط ضد *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli*، خاصة عند تركيز 300 ملغم-مل<sup>-1</sup>. كما أظهرت التراكيز الأقل (100 و 200 ملغم-مل<sup>-1</sup>) فعالية جزئية، مما يؤكد وجود علاقة طردية بين تركيز المستخلص والنشاط الحيوي.
5. المعاملات التي اعتمدت فقط على منظمات النمو دون JA كانت أقل فعالية كيميائيًا وبايولوجيًا، مما يُبرز الدور المحوري للجسمونيك كمحفز حيوي رئيسي.
6. أظهرت جميع المعاملات فعالية مضادة للأكسدة من خلال اختبار DPPH.
7. ان استخدام منظمات النمو بتركيز عالية تؤدي إلى تغيرات جينية متفاوتة.

| التوصيات                                                                                                                                                                                                               | Recommendations                                                                                                                                                                                                        |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. يُوصى باعتماد المعاملة B (2 ملغم لتر <sup>-1</sup> JA) مع تراكيز معتدلة من 2ip، 2,4-D، NAA كتركيبية مثالية لتحفيز إنتاج المركبات الثانوية الفعالة في زراعة كالس نخيل التمر.                                         | 1. يُوصى باعتماد المعاملة B (2 ملغم لتر <sup>-1</sup> JA) مع تراكيز معتدلة من 2ip، 2,4-D، NAA كتركيبية مثالية لتحفيز إنتاج المركبات الثانوية الفعالة في زراعة كالس نخيل التمر.                                         |
| 2. التركيز على استخدام التراكيز المعتدلة من حامض الجاسمونيك في دراسات مستقبلية، لما أظهره من فعالية واضحة في تنشيط المسارات الأيضية مقارنة بالتراكيز العالية.                                                          | 2. التركيز على استخدام التراكيز المعتدلة من حامض الجاسمونيك في دراسات مستقبلية، لما أظهره من فعالية واضحة في تنشيط المسارات الأيضية مقارنة بالتراكيز العالية.                                                          |
| 3. دراسة العلاقة بين التعبير الجيني للإنزيمات الرئيسية مثل (PAL) وبين تراكم المركبات الفينولية والعضوية استجابة للمعاملات المختلفة.                                                                                    | 3. دراسة العلاقة بين التعبير الجيني للإنزيمات الرئيسية مثل (PAL) وبين تراكم المركبات الفينولية والعضوية استجابة للمعاملات المختلفة.                                                                                    |
| 4. اختبار محفزات أخرى غير الجاسمونيك (مثل حامض الساليسيليك أو حامض الأبسيسيك) ضمن تجارب مستقبلية للمقارنة في تأثيرها على إنتاج المركبات الثانوية.                                                                      | 4. اختبار محفزات أخرى غير الجاسمونيك (مثل حامض الساليسيليك أو حامض الأبسيسيك) ضمن تجارب مستقبلية للمقارنة في تأثيرها على إنتاج المركبات الثانوية.                                                                      |
| 5. استخدام تراكيز منخفضة من منظمات النمو، ولا سيما 2,4-D، لتقليل احتمالية إحداث تغيرات وراثية، نظراً لما لهذه المواد من تأثيرات محتملة على تنظيم الجينات واستقرار المادة الوراثية في الأنسجة المزروعة خارج الجسم الحي. | 5. استخدام تراكيز منخفضة من منظمات النمو، ولا سيما 2,4-D، لتقليل احتمالية إحداث تغيرات وراثية، نظراً لما لهذه المواد من تأثيرات محتملة على تنظيم الجينات واستقرار المادة الوراثية في الأنسجة المزروعة خارج الجسم الحي. |



---

## المصادر

---

---

**Reference:**


---

- Abbasi, S., Niazvand, F., Jomehzadeh, N., Koolivand, Z., Chamkouri, N., 2023.** Synthesis of silver-zinc oxide nanocomposites from cellulose of Barhi date palm (*Phoenix dactylifera* L.) seeds and assessing their phytochemicals, antibacterial activity, and cytotoxicity. Qom University of Medical Sciences Journal 17, 404-419.
- Abdelbaky, A. S., Tammam, M. A., Ali, M. Y., Sharaky, M., Selim, K., Semida, W. M., & Diab, Y. M., 2023 .** Antioxidant and anticancer assessment and phytochemical investigation of three varieties of date fruits. *Metabolites*, 13(7), 816.
- Abdulkareem, A. A., Ghaffoori, A. T., & Alsabte, A. A., 2024.** In vitro propagation of date Palm using bioreactor technology. *Journal of Kirkuk University for Agricultural Sciences*, 15(1).
- Aboh, M. I., Oladosu, P., & Ibrahim, K., 2013.** Antimicrobial activities of some brands of household disinfectants marketed in Abuja municipal area council, Federal capital territory, Nigeria. *American Journal of Research Communication*, 1(8), 172-183.
- Abu Zaid, A. N. ,2003.** Plant Hormones and Agricultural Applications. Arab House of Publishing and Distribution. Arab Republic of Egypt. Arabic. pp, 351.
- Abul-Soad, A.A., Jain, S.M., Jatoi, M.A., 2017.** Biodiversity and conservation of date palm. Biodiversity and conservation of woody plants, 313-353.
- Abu-Reidah, I.M., Gil-Izquierdo, Á., Medina, S., Ferreres, F., 2017.** Phenolic composition profiling of different edible parts and by-products of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) by using HPLC-DAD-ESI/MSn. *Food Research International* 100, 494-500.
- Adil, M., Ren, X., Kang, D.I., Thi, L.T., Jeong, B.R., 2018.** Effect of explant type and plant growth regulators on callus induction, growth and secondary metabolites production in *Cnidium officinale* Makino. *Molecular biology reports* 45, 1919-1927.
- Afrin, S., Huang, J.-J., Luo, Z.-Y., 2015.** JA-mediated transcriptional regulation of secondary metabolism in medicinal plants. *Science Bulletin* 60, 1062-1072.
- Ahloowalia, B., Prakash, J., Savangikar, V., Savangikar, C., 2004.** Plant tissue culture. Low cost options for tissue culture technology in developing countries. International Atomic Energy Agency, Vienna, 3-11.
- Ahmad, Z., Waraich, E.A., Tariq, R.M.S., Iqbal, M.A., Ali, S., Soufan, W., Hassan, M.M., Islam, M.S., El Sabagh, A., 2021.** Foliar applied salicylic acid ameliorates water and salt stress by improving gas exchange and photosynthetic pigments in wheat. *Pak. J. Bot* 53, 1553-1560.

- Akula, R., Ravishankar, G.A., 2011.** Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant signaling & behavior* 6, 1720-1731.
- Al Kaabi, H., Zaid, A., Ainsworth, C., 2005.** Plant-offtypes in tissue culture-derived date palm (*Phoenix dactylifera* L), Proceedinds of International workshop on True-to-typeness of date palm tissue culture-derived plants. National Institute of Agronomic Research, Morocco, pp. 14-26.
- Al Mayahi, M. Z., & Fayadh, M. H., 2015.** Effect of exogenous proline application on salinity tolerance of *Cordia myxa* L. Seedlings. Effect on vegetative and physiological characteristics. *Journal of Natural Sciences Research*, 5(24), 118-125.
- Aladele, S., Fajimi, O., Adetunji, O., Gidado, R., Solomon, B., Okere, A., Odofin, W., 2010.** Cultivation of *Phoenix dactylifera* L.(date palm) for combating desertification and enhanced livelihood: NACGRAB R and D Focus, IV International Date Palm Conference 882, pp. 81-87.
- Al-Badri, B., 2010.** An economical study about dates production in Iraq. 1980-2008. Blessed Tree Magazine. Abo-Dhabi 6, 26-33.
- Alem, C., Ennassir, J., Benlyas, M., Mbark, A.N., Zegzouti, Y.F., 2017.** Phytochemical compositions and antioxidant capacity of three date (*Phoenix dactylifera* L.) seeds varieties grown in the South East Morocco. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 16, 350-357.
- Al-Farsi, M., Alasalvar, C., Morris, A., Baron, M., Shahidi, F., 2005.** Comparison of antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, and phenolics of three native fresh and sun-dried date (*Phoenix dactylifera* L.) varieties grown in Oman. *Journal of agricultural and food chemistry* 53, 7592-7599.
- Al-Farsi, M.A., Lee, C.Y., 2008.** Nutritional and functional properties of dates: a review. *Critical reviews in food science and nutrition* 48, 877-887.
- Al-Habsi, N., 2025.** Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Fruit: Strategic Crop for Food Security, Nutritional Benefits, Postharvest Quality, and Valorization into Emerging Functional Products. *Sustainability*, 17(16), 7491.
- Ali, A.M.A., El-Nour, M.E.M., Yagi, S.M., 2018.** Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) rhizome, callus and callus treated with some elicitors. *Journal of genetic engineering and biotechnology* 16, 677-682.
- Al-Karmadi, A., & Okoh, A. I., 2024.** An overview of date (*Phoenix dactylifera*) fruits as an important global food resource. *Foods*, 13(7), 1024.

- Al-Karmadi, A., & Okoh, A. I., 2024.** An overview of date (*Phoenix dactylifera*) fruits as an important global food resource. *Foods*, 13(7), 1024.
- Al-Karmadi, A., & Okoh, A. I., 2024.** An overview of date (*Phoenix dactylifera*) fruits as an important global food resource. *Foods*, 13(7), 1024.
- Al-Khalifah, N.S., Askari, E., 2006.** Early detection of genetic variation in date palms propagated from tissue culture and offshoots by DNA fingerprinting, III International Date Palm Conference 736, pp. 105-112.
- Alkhateeb, A., Ali-Dinar, H., 2002.** date palm in Kingdom of Saudi Arabia: cultivation, production and processing. translation, authorship and publishing center, King Faisal University, Kingdom of Saudi ....
- Al-Khayri, J. M., 2013.** In vitro selection of date palm for abiotic stress tolerance. In S. M. Jain (Ed.), *Date Palm Biotechnology* (pp. 227–240). Springer.
- Al-Khayri, J., 2010.** Somatic embryogenesis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) improved by coconut water. *Biotechnology* 9, 477-484.
- Al-Khayri, J.M., 2005.** Date palm *Phoenix dactylifera* L, Protocol for somatic embryogenesis in woody plants, Springer, pp. 309-319.
- Al-Khayri, J.M., 2011.** Influence of yeast extract and casein hydrolysate on callus multiplication and somatic embryogenesis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Scientia horticulturae* 130, 531-535.
- Al-Khayri, J.M., Naik, P.M., 2022.** Influence of 2iP and 2, 4-D Concentrations on Accumulation of Biomass, Phenolics, Flavonoids and Radical Scavenging Activity in Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Cell Suspension Culture. *Horticulturae* 8, 683.
- Al-Mayahi, A.M.W., 2014.** Thidiazuron-induced in vitro bud organogenesis of the date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Hillawi. *African Journal of Biotechnology* 13.
- Alqahtani, N. K., 2024.** Valorization of the potential use of date press cake (date syrup by-product) in food and non-food applications: a review. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 7, 1340727.
- Al-Qatrani, M. K., Khalifa, A. A. A., & Obaid, N. A., 2023.** In vitro response of shoots multiplications of date palm *Phoenix dactylifera* L. Cv Shakar to Jasmonic acid application under salinity stress. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2475, No. 1, p. 030007). AIP Publishing LLC.
- Al-Qatrani, M.K., Al Khalifa, A.A., Obaid, N.A., 2021.** Effect of jasmonic acid on stimulating the growth and development of date palm callus (*Phoenix dactylifera* L.) cultivar shukar in

- vitro under salt stress conditions, IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, IOP Publishing, p. 012017.
- Al-Rekaby, L.S., mohsin Atiyah, K., 2020.** Effect of Nano and bio fertilizer on production of bioactive compounds of *Solidago canadensis* L, Journal of Physics: Conference Series, IOP Publishing, p. 012120.
- Al-Samarai, A., Al-Salihi, F., Al-Samarai, R., 2016.** Phytochemical constituents and nutrient evaluation of date palm (*Phoenix dactylifera*, L.) pollen grains. Tikrit journal of pure science 21, 56-62.
- Al-Samarrai, R.R., Al-Samarrai, A.-M.H., Al-Salihi, F.G., 2017.** Identification of flavonoids in Iraqi date palm pollen by HPLC. Orient. J. Chem 33, 985-988.
- Alsoufi, A.S.M., Pączkowski, C., Długosz, M., Szakiel, A., 2019.** Influence of selected abiotic factors on triterpenoid biosynthesis and saponin secretion in marigold (*Calendula officinalis* L.) in vitro hairy root cultures. Molecules 24, 2907.
- Alum, E. U., 2024.** The role of indigenous knowledge in advancing the therapeutic use of medicinal plants: challenges and opportunities. Plant signaling & behavior, 19(1), 2439255.
- Ammar, M. A., Qahtan, A. A., Al-Khayri, J. M., Algabr, M. N., Al-Dossary, O. M., & Alsubaie, B., 2025.** Enhancing phytochemical content and bioactive aspects in somatic embryogenesis developed from callus of *Phoenix dactylifera* L. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 53(2), 14374-14374.
- Arias, E., Hodder, A.J., Oihabi, A., 2016.** FAO support to date palm development around the world: 70 years of activity. Emirates Journal of Food and Agriculture 28, 1.
- Arip, M., Selvaraja, M., R, M., Tan, L. F., Leong, M. Y., Tan, P. L., ... & Jubair, N., 2022.** Review on plant-based management in combating antimicrobial resistance-mechanistic perspective. Frontiers in Pharmacology, 13, 879495.
- Awuchi, C.G., 2019.** The biochemistry, toxicology, and uses of the pharmacologically active phytochemicals: alkaloids, terpenes, polyphenols, and glycosides. Journal of Food and Pharmaceutical Sciences, 131-150.
- Azzam, E.R., Radif, W.T., 2024.** Synergistic Effectiveness of *Phoenix dactylifera* Seed Extract with Some Antibiotics on *Staphylococcus aureus* Bacteria In-vitro. Egyptian Journal of Veterinary Sciences 55, 1949-1954.
- Baklouti, E., Beulé, T., Nasri, A., Ben Romdhane, A., Drira, R., Doubeau, S., ... & Fki, L., 2022.** 2, 4-D induction of somaclonal variations in in vitro grown date palm (*Phoenix dactylifera* L. cv Barhee). Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 150(1), 191-205.

- Bengtsson-Palme, J., Kristiansson, E., & Larsson, D. J., 2018.** Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. *FEMS microbiology reviews*, 42(1), fux053.
- Beyl, C.A., 2011.** PGRs and their use in micropropagation. *Plant tissue culture, development, and biotechnology*, Trigiano, RN, Gray, DJ (eds). CRC Press, Taylor & Francis Group, 33-56.
- Bhaskar, R., Xavier, L. S. E., Udayakumaran, G., Kumar, D. S., Venkatesh, R., & Nagella, P., 2022.** Biotic elicitors: A boon for the in-vitro production of plant secondary metabolites. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 149(1), 7-24.
- Bhaskaracharya, R. K., Bhaskaracharya, A., & Stathopoulos, C., 2023.** A systematic review of antibacterial activity of polyphenolic extract from date palm (*Phoenix dactylifera* L.) kernel. *Frontiers in pharmacology*, 13, 1043548.
- Bhunia, A. K., & Bhunia, A. K., 2018.** *Staphylococcus aureus*. *Foodborne Microbial Pathogens: Mechanisms and Pathogenesis*, 181-192.
- Biglari, F., AlKarkhi, A.F., Easa, A.M., 2008.** Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. *Food chemistry* 107, 1636-1641.
- Buer, C.S., Imin, N., Djordjevic, M.A., 2010.** Flavonoids: new roles for old molecules. *Journal of integrative plant biology* 52, 98-111.
- Chavan, J. J., Gaikwad, N. B., Umdale, S. D., Kshirsagar, P. R., Bhat, K. V., & Yadav, S. R., 2014.** Efficiency of direct and indirect shoot organogenesis, molecular profiling, secondary metabolite production and antioxidant activity of micropropagated *Ceropegia santapaui*. *Plant Growth Regulation*, 72, 1-15.
- Constabel, F., 2012.** Callus culture: induction and maintenance. *Laboratory Procedures and Their Applications*, Academic Press, New York, 27-35.
- Cseke, L.J., Kirakosyan, A., Kaufman, P.B., Warber, S., Duke, J.A., Briemann, H.L., 2016.** *Natural products from plants*. CRC press.
- Daoud, A., Malika, D., Bakari, S., Hfaiedh, N., Mnafigui, K., Kadri, A., Gharsallah, N., 2019.** Assessment of polyphenol composition, antioxidant and antimicrobial properties of various extracts of Date Palm Pollen (DPP) from two Tunisian cultivars. *Arabian Journal of Chemistry* 12, 3075-3086.
- Davies, P. J. (Ed.), 2004.** *Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action!*. Springer Science & Business Media.
- Dela Cruz, T.E.E., Torres, J.M.O., 2012.** Gelatin hydrolysis test protocol. *Am Soc Microbiol* 1, 1-10.

- Desbois, A. P., & Smith, V. J., 2010.** Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. *Applied microbiology and biotechnology*, 85, 1629-1642.
- Efenberger-Szmechtyk, M., Nowak, A., & Czyzowska, A., 2021.** Plant extracts rich in polyphenols: Antibacterial agents and natural preservatives for meat and meat products. *Critical reviews in food science and nutrition*, 61(1), 149-178.
- El Hadrami, A., Al-Khayri, J.M., 2012.** Socioeconomic and traditional importance of date palm. *Emirates Journal of food and Agriculture* 24, 371.
- El Sheikh, D.M., El-Kholany, E.A., Kamel, S.M., 2014.** Nutritional value, cytotoxicity, anti-carcinogenic and beverage evaluation of roasted date pits. *World J. Dairy Food Sci* 9, 308-316.
- El-Sharabasy, S., Ghazzawy, H., 2019.** Effect of Natural Additives as Coconut Milk on the Shooting and Rooting Media of in vitro Barhi Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Materials Research Proceedings* 11.
- Farman, S., Mushtaq, A., Azeem, M.W., 2019.** Plant growth regulators (PGRs) and their applications: A review. *Int. J. Chem. Biochem. Sci* 15, 94-103.
- Fatima, Z., Charles, M. R., Maurya, J., & Pratap, P., 2023.** A Systematic Reviews Of Terpenes & Terpenoids & Their Roles In Human Health. *Era's Journal of Medical Research*, 10(2).
- Fazili, M. A., Bashir, I., Ahmad, M., Yaqoob, U., & Geelani, S. N., 2022.** In vitro strategies for the enhancement of secondary metabolite production in plants: a review. *Bulletin of the National Research Centre*, 46(1), 35.
- Ferguson, L., Grafton-Cardwell, E.E., 2014.** Citrus production manual. UCANR Publications.
- Ferraz, V. P., Martins, B. A., De Carvalho Neto, M. F., De Melo, A. C. G. R., Ribeiro, P. R. E., & De Melo-Filho, A. A., 2020.** Antibacterial, total phenols, antioxidant, and fatty acids of the lyophilized body fat of *Podocnemis expansa* (Schweigger, 1812) from farm in Acre State, Brazil. *Journal of Medicinal Plants Research*, 14(9), 458-467.
- Ferreira, M. D. S., Rocha, A. D. J., Nascimento, F. D. S., Oliveira, W. D. D. S., Soares, J. M. D. S., Rebouças, T. A., ... & Amorim, E. P., 2023.** The role of somaclonal variation in plant genetic improvement: A systematic review. *Agronomy*, 13(3), 730.
- Ferreira, M. L. F., Serra, P., & Casati, P., 2021.** Recent advances on the roles of flavonoids as plant protective molecules after UV and high light exposure. *Physiologia plantarum*, 173(3), 736-749.
- Flasiński, M., Hąc-Wydro, K., 2014.** Natural vs synthetic auxin: Studies on the interactions between plant hormones and biological membrane lipids. *Environmental research* 133, 123-134.

- Gaba, V.P., 2005.** Plant growth regulators in plant tissue culture and development. Plant development and biotechnology, 87-99.
- Galal, A., 2012.** Improving effect of salicylic acid on the multipurpose tree *Ziziphus spina-christi* (L.) Willd tissue culture. American Journal of Plant Sciences 3, 947-952.
- George, E. F., Hall, M. A., & De Klerk, G. J. (Eds.), 2007.** Plant propagation by tissue culture: volume 1. the background (Vol. 1). Springer Science & Business Media.
- Ghasemi Pirbalouti, A., Sajjadi, S.E., Parang, K., 2014.** A review (research and patents) on jasmonic acid and its derivatives. Archiv der Pharmazie 347, 229-239.
- Ghnimi, S., Almansoori, R., Jobe, B., Hassan, M., Afaf, K., 2015.** Quality evaluation of coffee-like beverage from date seeds (*Phoenix dactylifera*, L.).
- Ghose, A. K., Abdullah, S. N. A., Md Hatta, M. A., & Megat Wahab, P. E. ,2022.** In vitro regeneration of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) and evaluation of the impacts of growth media nutrients on the biosynthesis of steviol glycosides (SGs). *Agronomy*, 12(8), 1957.
- Giri, C.C., Zaheer, M., 2016.** Chemical elicitors versus secondary metabolite production in vitro using plant cell, tissue and organ cultures: recent trends and a sky eye view appraisal. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC) 126, 1-18.
- Grillo, J. A., & Ojo, O. Y.,2013.** Evaluation of activity of dichloroxylenol (1.2% w/v) on *Staphylococcus aureus* Oxoid 701/1 Lot 610254 and clinical isolates of *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*. African J Microbiol Res, 7, 4265-4270.
- Guerriero, G., Berni, R., Muñoz-Sanchez, J.A., Apone, F., Abdel-Salam, E.M., Qahtan, A.A., Alatar, A.A., Cantini, C., Cai, G., Hausman, J.-F., 2018.** Production of plant secondary metabolites: Examples, tips and suggestions for biotechnologists. Genes 9, 309.
- Gutierrez-Valdes, N., Häkkinen, S. T., Lemasson, C., Guillet, M., Oksman-Caldentey, K. M., Ritala, A., & Cardon, F., 2020.** Hairy root cultures—a versatile tool with multiple applications. Frontiers in plant science, 11, 33.
- Hadrami, A.E., Daayf, F., Hadrami, I.E., 2011.** Secondary metabolites of date palm. Date palm biotechnology, 653-674.
- Haghighi, Z., Karimi, N., Modarresi, M., Mollayi, S., 2012.** Enhancement of compatible solute and secondary metabolites production in *Plantago ovata* Forsk. by salinity stress.
- Hammami, B., Ghannay, S., Arraouadi, S., Hajlaoui, H., & Kadri, A.,2025.** Fatty acid profiling and bioactive potential of date palm (*Phoenix dactylifera*) seed oil: antioxidant... of Barhi cultivar. Discover Applied Sciences.

- Haq, Q., Hussain, T., Kumar, A., 2016.** Molecular markers: A tool to identify hidden science with especial emphasis on agricultural crops. *Int. J. Biol. Res* 1, 50-59.
- He, S., Zhu, J., Zi, J., Zhou, P., Liang, J., Yu, R., 2015.** A novel terpenoid indole alkaloid derived from catharanthine via biotransformation by suspension-cultured cells of *Catharanthus roseus*. *Biotechnology letters* 37, 2481-2487.
- He, X. ; Guo, Mocek, U. ; Floss, H. G. ; Cáceres, A. ; Girón, L. ; Buckley, H. ; Cooney, G. ; Manns, J; and Wilson, B. W., 1994.** An antifungal compound from *solanum nigrescens*. *Journal of ethnopharmacology*,43(3),173–177.
- Hegazy, A., Nasr, M., Ibrahim, I., El-Bastawissy, H., 2009.** Micropropagation of date palm cv. malakaby through somatic embryogenesis 2-Effect of adenine hemisulfate, glutamine and glutathione. *Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology* 34, 1613-1628.
- Hussein, R.A., El-Anssary, A.A., 2019.** Plants secondary metabolites: the key drivers of the pharmacological actions of medicinal plants. *Herbal medicine* 1.
- Ibn Awadh, H., & Ahmed, M., 2025.** In vitro antibacterial activity of selected plant extracts against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacterial strains. *Discover Applied Sciences*, 7(4), 287.
- Idris, I., Ado, A., Adamu, H., 2017.** Evaluation of inhibitory effect of *phoenix dactylifera* ethanol seeds extract against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Nigerian Journal of Chemical Research* 22, 1-7.
- Idris, N., 2022.** Potential of Hexadecanoic Acid as Antimicrobials in Bacteria and Fungi that Cause Decay in Mustard Greens *Brassica juncea* L. *International Journal of Applied Biology*, 6(2), 36-42.
- Ikeuchi, M., Sugimoto, K., Iwase, A., 2013.** Plant callus: mechanisms of induction and repression. *The plant cell* 25, 3159-3173.
- Integrated Taxonomic Information System.,2025.** *Phoenix dactylifera* Linnaeus. Integrated Taxonomic Information System. Retrieved 2025-09-02, from [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=42458#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=42458#null).
- Jaiti, F., Verdeil, J.L., El Hadrami, I., 2009.** Effect of jasmonic acid on the induction of polyphenoloxidase and peroxidase activities in relation to date palm resistance against *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 74, 84-90.
- Kalachova, T. A., Iakovenko, O. M., Kretinin, S. V., & Kravets, V. S., 2012.** Effects of salicylic and jasmonic acid on phospholipase D activity and the level of active oxygen species in

- soybean seedlings. Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology, 6, 243-248.
- Kamińska, M., 2021.** Role and activity of jasmonates in plants under in vitro conditions. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 146(3), 425-447.
- Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L., 2004.** Pathogenic escherichia coli. Nature reviews microbiology, 2(2), 123-140.
- Karakoti, H., Mahawer, S. K., Kabdal, T., Kumar, R., & Prakash, O., 2023.** Alkaloids as Botanical Pesticides for Plants Protection. Nova Science Publishers, Inc.: Hauppauge, NY, USA, 219-236.
- Karam, M.A., Sabbour, A.M., Khalil, M.K., Aly, A.-H.S., Amal, F.Z.E.D., 2017.** In vitro morphogenesis of direct organs in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Siwy. International Journal of Advances in Agricultural Science and Technology 4, 1-12.
- Katz, D.S., 2010.** Coagulase test protocol. American society for microbiology 11.
- Khafagi, I.K., 2007.** Variation of callus induction and active metabolite accumulation in callus cultures of two varieties of *Ricinus communis* L.
- Khan, S., Bi, T.B., 2012.** Direct shoot regeneration system for date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Dhakki as a means of micropropagation. Pak. J. Bot 44, 1965-1971.
- Khierallah, H.S., Bader, S.M., 2006.** Micropropagation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) var. Maktoom through direct organogenesis, III International Date Palm Conference 736, pp. 213-224.
- Klekowski, E.J., 1985.** Mutations, apical cells, and vegetative reproduction. Proceedings of the Royal Society of Edinburgh, Section B: Biological Sciences 86, 67-73.
- Klessig, D.F., Choi, H.W., Dempsey, D.M.A., 2018.** Systemic acquired resistance and salicylic acid: past, present, and future. Molecular plant-microbe interactions 31, 871-888.
- Kovaleva, L., Zakharova, E., Minkina, Y.V., 2007.** Auxin and flavonoids in the progame phase of fertilization in petunia. Russian Journal of Plant Physiology 54, 396-401.
- Krishna, H., Alizadeh, M., Singh, D., Singh, U., Chauhan, N., Eftekhari, M., Sadh, R.K., 2016.** Somaclonal variations and their applications in horticultural crops improvement. 3 Biotech 6, 54.
- Krzyzanowska, J., Czubacka, A., Pecio, L., Przybys, M., Doroszevska, T., Stochmal, A., Oleszek, W., 2012.** The effects of jasmonic acid and methyl jasmonate on rosmarinic acid

- production in *Mentha* × *piperita* cell suspension cultures. Plant cell, tissue and organ culture (pctoc) 108, 73-81.
- Kumar, N.S., Gurusubramanian, G., 2011.** Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers and its applications. Sci Vis 11, 116-124.
- Kurup, S.S., Hedar, Y.S., Al-Dhaheer, M.A., El-Heawiety, A.Y., Aly, M.A., Alhadrami, G., 2009.** Morpho-physiological evaluation and RAPD markers-assisted characterization of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) varieties for salinity tolerance. Journal of Food, Agriculture & Environment 7, 503-507.
- Lee, E.-K., Jin, Y.-W., Park, J.H., Yoo, Y.M., Hong, S.M., Amir, R., Yan, Z., Kwon, E., Elfick, A., Tomlinson, S., 2010.** Cultured cambial meristematic cells as a source of plant natural products. Nature biotechnology 28, 1213-1217.
- Lee, K. J., Oh, Y. C., Cho, W. K., & Ma, J. Y., 2015.** Antioxidant and anti-inflammatory activity determination of one hundred kinds of pure chemical compounds using offline and online screening HPLC assay. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2015(1), 165457.
- Li, C., Zha, W., Li, W., Wang, J., & You, A., 2023.** Advances in the biosynthesis of terpenoids and their ecological functions in plant resistance. *International journal of molecular sciences*, 24(14), 11561.
- Loyola-Vargas, V.M., De-la-Peña, C., Galaz-Avalos, R.M., Quiroz-Figueroa, F.R., 2008.** Plant tissue culture. Molecular biotechnology handbook, 875-904.
- Loyola-Vargas, V.M., Ochoa-Alejo, N., 2018.** An introduction to plant tissue culture: advances and perspectives. Plant cell culture protocols, 3-13.
- Lyu, X., Lyu, Y., Yu, H., Chen, W., Ye, L., Yang, R., 2022.** Biotechnological advances for improving natural pigment production: A state-of-the-art review. Bioresources and Bioprocessing 9, 8.
- Macfaddin, J. J. P., PA., 2000.** Biochemical Tests For Identification Of Medical Bacteria, Williams And Wilkins. 113(7).
- MacWilliams, M.P., 2009.** Citrate test protocol. American Society for Microbiology, 1-7.
- Makowski, W., Tokarz, K.M., Tokarz, B., Banasiuk, R., Witek, K., Królicka, A., 2020.** Elicitation-based method for increasing the production of antioxidant and bactericidal phenolic compounds in *Dionaea muscipula* J. Ellis tissue. Molecules 25, 1794.

- Maria, A.A., Salem, R.H., Salama, M.A., Khalil, A.M., 2024.** Antioxidant-Rich Biodegradable Films: Incorporating Date Phenolic Extracts into Polyvinyl Alcohol Biofilms for Strawberry Preservation. *Journal of Food and Dairy Sciences* 15, 203-217.
- Mazri, M.A., 2015.** Role of cytokinins and physical state of the culture medium to improve in vitro shoot multiplication, rooting and acclimatization of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Boufeggous. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology* 24, 268-275.
- Mazur, M., & Maslowiec, D., 2022.** Antimicrobial activity of lactones. *Antibiotics*, 11(10), 1327.
- McCubbin, M., Zaid, A., Van Stade, J., 2004.** A southern African survey conducted for off-types on date palms produced using somatic embryogenesis. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 8-14.
- Melnyk, C. W., 2023.** Quantitative regeneration: Skoog and Miller revisited. *Quantitative Plant Biology*, 4, e10.
- Mishra, S., Ekka, S. K., Kushwaha, A., & Kujur, R., 2024.** A review on plant tissue culture. *Asian J. Biol*, 20(2), 14-18.
- Morikawa, K., Takemura, A. J., Inose, Y., Tsai, M., Nguyen Thi, L. T., Ohta, T., & Msadek, T., 2012.** Expression of a cryptic secondary sigma factor gene unveils natural competence for DNA transformation in *Staphylococcus aureus*. *PLoS pathogens*, 8(11), e1003003.
- Motolinía-Alcántara, E.A., Castillo-Araiza, C.O., Rodríguez-Monroy, M., Román-Guerrero, A., Cruz-Sosa, F., 2021.** Engineering considerations to produce bioactive compounds from plant cell suspension culture in bioreactors. *Plants* 10, 2762.
- Mrabet, A., Rodríguez-Arcos, R., Guillén-Bejarano, R., Chaira, N., Ferchichi, A., Jiménez-Araujo, A., 2012.** Dietary fiber from Tunisian common date cultivars (*Phoenix dactylifera* L.): Chemical composition, functional properties, and antioxidant capacity. *Journal of agricultural and food chemistry* 60, 3658-3664.
- Muhit, M. A., Khanam, S. S., Islam, M. S., Rahman, M. S., Begum, B., 2010.** Phytochemical and biological investigations of *Pterospermum acerifolium* wild bark. *Journal of Pharmacy Research*, 3(11), 2643-2646.
- Murashige, T., Skoog, F., 1962.** A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum* 15.
- Murray, P. Baron, E. Pfaller, M. Tenover, F. Tenover, R. J. D. A. S. F. C. M., 1999.** Manual Of Clinical Microbiology 7 Edition Washington.

- Nafie, E., Hathout, T., Al Mokadem, A.S., 2011.** Jasmonic acid elicits oxidative defense and detoxification systems in *Cucumis melo* L. cells. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 23, 161-174.
- Naik, P.M., Al-Khayri, J.M., 2016.** Abiotic and biotic elicitors-role in secondary metabolites production through in vitro culture of medicinal plants. Abiotic and biotic stress in plants—recent advances and future perspectives. Rijeka: InTech, 247-277.
- Naik, P.M., Al-Khayri, J.M., 2017.** Extraction and estimation of secondary metabolites from date palm cell suspension cultures. *Date Palm Biotechnology Protocols Volume I: Tissue Culture Applications*, 319-332.
- Naik, P.M., Al-Khayri, J.M., 2018.** Cell suspension culture as a means to produce polyphenols from date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Ciência e Agrotecnologia* 42, 464-473.
- Niazi, S., Khan, I.M., Pasha, I., Rasheed, S., Ahmad, S., Shoaib, M., 2017.** Date palm: composition, health claim and food applications. *Int J Pub Health Health Sys* 2, 9-17.
- Nimavat, N., & Parikh, P., 2024.** Innovations in Date palm (*Phoenix dactylifera* L.) micropropagation: Detailed review of in vitro culture methods and plant growth regulator applications. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 159(1), 6.
- Ochoa-Villarreal, M., Howat, S., Jang, M.O., Kim, I.S., Jin, Y.-W., Lee, E.-K., Loake, G.J., 2015.** Cambial meristematic cells: a platform for the production of plant natural products. *New biotechnology* 32, 581-587.
- Okonkwo, C. E., Samad, N., Mohamed, H., O'Connor, M. J., Varghese, S., Al-Marzouqi, A. H., ... & Kamal-Eldin, A., 2025.** Characterization of dietary fiber and soluble carbohydrates in date fruits (*Phoenix dactylifera* L.). *Scientific Reports*, 15(1), 31616.
- Omar, M. S., Hameed, M. K., & Al-Rawi, M. S., 1992.** Micropropagation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). In *High-Tech and Micropropagation II* (pp. 471-492). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Ouamnina, A., Alahyane, A., Elateri, I., Boutasknit, A., & Abderrazik, M., 2024.** Relationship between phenolic compounds and antioxidant activity of some Moroccan date palm fruit varieties (*Phoenix dactylifera* L.): a two-year study. *Plants*, 13(8), 1119.
- Ozyigit, I. I., Dogan, I., Hocaoglu-Ozyigit, A., Yalcin, B., Erdogan, A., Yalcin, I. E., & Kaya, Y., 2023 .** Production of secondary metabolites using tissue culture-based biotechnological applications. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1132555.
- Park, S., 2021.** *Plant tissue culture: techniques and experiments*. Academic Press.

- Per, T.S., Khan, M.I.R., Anjum, N.A., Masood, A., Hussain, S.J., Khan, N.A., 2018.** Jasmonates in plants under abiotic stresses: Crosstalk with other phytohormones matters. *Environmental and experimental botany* 145, 104-120.
- Perveen, K., Bokahri, N.A., 2020.** Comparative analysis of chemical, mineral and in-vitro antibacterial activity of different varieties of date fruits from Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences* 27, 1886-1891.
- Phillips, G.C., Garda, M., 2019.** Plant tissue culture media and practices: an overview. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* 55, 242-257.
- Phillips, K.M., Carlsen, M.H., Blomhoff, R., 2009.** Total antioxidant content of alternatives to refined sugar. *Journal of the American Dietetic Association* 109, 64-71.
- Poirel, L., Madec, J. Y., Lupo, A., Schink, A. K., Kieffer, N., Nordmann, P., & Schwarz, S., 2018.** Antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. *Microbiology spectrum*, 6(4), 10-1128.
- Qiu, Y.-X., Zong, M., Yao, Y., Chen, B.-L., Zhou, X.-L., Chen, Z.-L., Fu, C.-X., 2009.** Genetic variation in wild and cultivated rhizoma corydalis revealed by ISSRs markers. *Planta medica* 75, 94-98.
- Qiu, Z., Guo, J., Zhu, A., Zhang, L., Zhang, M., 2014.** Exogenous jasmonic acid can enhance tolerance of wheat seedlings to salt stress. *Ecotoxicology and environmental safety* 104, 202-208.
- Rademacher, W., 2015.** Plant growth regulators: backgrounds and uses in plant production. *Journal of plant growth regulation* 34, 845-872.
- Rahman Al-Saedi, A. A., & Al-Rekaby, L. S., 2022.** Effect of growth regulators and chitosan on the production of callus biomass and active compounds of rosemary in vitro. *International Journal of Agricultural & Statistical Sciences*, 18(2).
- Ramchoun, M., Alem, C., Ghafoor, K., Ennassir, J., Zegzouti, Y.F., 2017.** Functional composition and antioxidant activities of eight Moroccan date fruit varieties (*Phoenix dactylifera* L.). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 16, 257-264.
- Ranilla, L.G., Kwon, Y.-I., Genovese, M.I., Lajolo, F.M., Shetty, K., 2008.** Antidiabetes and antihypertension potential of commonly consumed carbohydrate sweeteners using in vitro models. *Journal of Medicinal Food* 11, 337-348.
- Rashid, T.S., 2021.** Bioactive metabolites from tomato endophytic fungi with antibacterial activity against tomato bacterial spot disease. *Rhizosphere* 17, 100292.

- Rehman, M., Saeed, M. S., Fan, X., Salam, A., Munir, R., Yasin, M. U., ... & Gan, Y., 2023.** The multifaceted role of jasmonic acid in plant stress mitigation: an overview. *Plants*, 12(23), 3982.
- Reiner, K., 2010.** Catalase test protocol. *American society for microbiology* 1, 1-9.
- Saad, A.I., Elshahed, A.M., 2012.** Plant tissue culture media. *Recent advances in plant in vitro culture*, 30-40.
- Sahraroo, A., Mirjalili, M.H., Corchete, P., Babalar, M., Fattahi Moghadam, M.R., 2016.** Establishment and characterization of a *Satureja khuzistanica* Jamzad (Lamiaceae) cell suspension culture: a new in vitro source of rosmarinic acid. *Cytotechnology* 68, 1415-1424.
- Salhi, S., Rahim, A., Chentouf, M., Harrak, H., Bister, J. L., Hamidallah, N., & El Amiri, B., 2024.** Reproductive enhancement through phytochemical characteristics and biological activities of date palm pollen: A comprehensive review on potential mechanism pathways. *Metabolites*, 14(3), 166.
- Salunke, P., & Koche, D., 2023.** Role of phenolic compounds in plant defense mechanism: an updated review. *Indian J. Appl. Pure Bio*, 38(3), 1199-1215.
- Sanyal, R., Nandi, S., Pandey, S., Chatterjee, U., Mishra, T., Datta, S., Prasanth, D.A., Anand, U., Mane, A.B., Kant, N., 2022.** Biotechnology for propagation and secondary metabolite production in *Bacopa monnieri*. *Applied microbiology and biotechnology* 106, 1837-1854.
- Saura-Calixto, F., 2011.** Dietary fiber as a carrier of dietary antioxidants: an essential physiological function. *Journal of agricultural and food chemistry* 59, 43-49.
- Seca, A.M., Pinto, D.C., 2018.** Plant secondary metabolites as anticancer agents: successes in clinical trials and therapeutic application. *International journal of molecular sciences* 19, 263.
- Shaaban, M. T., Ghaly, M. F., & Fahmi, S. M., 2021.** Antibacterial activities of hexadecanoic acid methyl ester and green-synthesized silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria. *Journal of basic microbiology*, 61(6), 557-568.
- Shakya, P., Marslin, G., Siram, K., Beerhues, L., Franklin, G., 2019.** Elicitation as a tool to improve the profiles of high-value secondary metabolites and pharmacological properties of *Hypericum perforatum*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 71, 70-82.
- Sharma, A.D., Kaur, I., Kaur, N., Chuhan, A., 2024.** Milky Latex from Wildly Growing *Euphorbia hirta* with Diverse Anti-oxidant, Anti-diabetic and Anti-bacterial Activities: Chemical Profiling and in vitro Studies. *Russian Agricultural Sciences* 50, 310-323.

- Shetty, S. S. Deekshit. V. K. Jazeela. K. Vittal. R. Rohit, A. Chakraborty, A.Karunasagar. I. J. I. J .O. M. R., 2019.** Plasmid-Mediated Fluoroquinolone Resistance Associated With Extra-Intestinal Escherichia Coli Isolates From Hospital Samples. 149(2), 192-198 .
- Shi, Q., Hui, S., Zhang, A.-H., Hong-Ying, X., Guang-Li, Y., Ying, H., Xi-Jun, W., 2014.** Natural alkaloids: basic aspects, biological roles, and future perspectives. Chinese Journal of Natural Medicines 12, 401-406.
- Shields, P., Cathcart, L., 2010.** Oxidase test protocol. American Society for Microbiology 4, 1-9.
- Shields, P., Tsang, A.Y., 2006.** Mannitol salt agar plates protocols. Available from the MicrobeLibrary website: [http://www. microbelibrary. org/library/laboratory-test/3034-mannitol-salt-agar-plates-protocols](http://www.microbelibrary.org/library/laboratory-test/3034-mannitol-salt-agar-plates-protocols).
- Siddique, A., Kandpal, G., & Kumar, P.,2018.** Proline accumulation and its defensive role under diverse stress condition in plants: An overview. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 12(3), 1655-1659.
- Sidik, N. J., Agha, H. M., Alkamil, A. A., Alsayadi, M. M. S., & Mohammed, A. A.,2024.** A Mini review of plant tissue culture: the role of media optimization, growth regulators in modern agriculture, callus induction and the applications. *AUIQ Complementary Biological System*, 1(2), 96-109.
- Sidik, N. J., Agha, H. M., Alkamil, A. A., Alsayadi, M. M. S., & Mohammed, A. A. ,2024.** A Mini review of plant tissue culture: the role of media optimization, growth regulators in modern agriculture, callus induction and the applications. *AUIQ Complementary Biological System*, 1(2), 96-109.
- Sirisena, S., Ng, K., Ajlouni, S., 2015.** The emerging Australian date palm industry: Date fruit nutritional and bioactive compounds and valuable processing by-products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 14, 813-823.
- Tamirat, F., Adane, W. D., Tessema, M., Tesfaye, E., & Tesfaye, G., 2024.** Determination of major and trace metals in date palm fruit (*Phoenix dactylifera*) samples using flame atomic absorption spectrometry and assessment of the associated public health risks. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2024(1), 9914300.
- Tang, Z.X., Shi, L.E., Aleid, S.M., 2013.** Date fruit: chemical composition, nutritional and medicinal values, products. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 93, 2351-2361.
- Teixeira, M.G., Carvalho, M., Leite, M.A., Barbosa, S., Santos filho, P.R.d., Santos, B.R., 2019.** Effect of salicylic acid, 2, 4-D and 2i-P on the production of secondary metabolites in *Garcinia brasiliensis* Mart. Callus. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 62, e19170303.

- Tong, S. Y., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., & Fowler Jr, V. G., 2015.** Staphylococcus aureus infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical microbiology reviews*, 28(3), 603-661.
- Tong, S. Y., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., & Fowler Jr, V. G., 2015.** Staphylococcus aureus infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical microbiology reviews*, 28(3), 603-661.
- Vanholme, R., Demedts, B., Morreel, K., Ralph, J., Boerjan, W., 2010.** Lignin biosynthesis and structure. *Plant physiology* 153, 895-905.
- Vayalil, P.K., 2012.** Date fruits (*Phoenix dactylifera* Linn): an emerging medicinal food. *Critical reviews in food science and nutrition* 52, 249-271.
- Vayalil, P.K., 2013.** Bioactive compounds, nutritional and functional properties of date fruit. *Dates: postharvest science, processing technology and health benefits*, 285-303.
- Vijay Kumar, V.K., Deep Rashmi, D.R., Madhuparna Banerjee, M.B., 2014.** Callus induction and plant regeneration in *Solanum tuberosum* L. cultivars (Kufri Chipsona 3 and MP-97/644) via leaf explants.
- Wang, S. Zhao. S. Zhou, Y. Jin, S. Ye. T.Pan. X. J. B. O., 2023.** Antibiotic Resistance Spectrum Of E. Coli Strains From Different Samples And Age-Grouped Patients: A 10-Year Retrospective Study. 13(4), E067490 .
- Wawrosch, C., & Zotchev, S. B., 2021.** Production of bioactive plant secondary metabolites through in vitro technologies—status and outlook. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(18), 6649-6668.
- Werbrouck, S.P., Strnad, M., Van Onckelen, H.A., Debergh, P.C., 1996.** Meta-topolin, an alternative to benzyladenine in tissue culture? *Physiologia plantarum* 98, 291-297.
- Williams, J.G., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., Tingey, S.V., 1990.** DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic acids research* 18, 6531-6535.
- Wirgin, I.I., Waldman, J.R., 1994.** What DNA can do for you. *Fisheries* 19, 16-27.
- Woo, H.-H., Kuleck, G., Hirsch, A.M., Hawes, M.C., 2002.** Flavonoids: signal molecules in plant development. *Flavonoids in Cell Function*, 51-60.
- Wu, S.-B., Long, C., Kennelly, E.J., 2014.** Structural diversity and bioactivities of natural benzophenones. *Natural product reports* 31, 1158-1174.
- Yang, J., Duan, G., Li, C., Liu, L., Han, G., Zhang, Y., & Wang, C., 2019.** The crosstalks between jasmonic acid and other plant hormone signaling highlight the involvement of

- jasmonic acid as a core component in plant response to biotic and abiotic stresses. *Frontiers in plant science*, 10, 1349.
- Yang, L., Wen, K.-S., Ruan, X., Zhao, Y.-X., Wei, F., Wang, Q., 2018.** Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules* 23, 762.
- Yang, X., Zhao, S., Deng, Y., Xu, W., Wang, Z., Wang, W., ... & Liu, D., 2023.** Antibacterial activity and mechanisms of  $\alpha$ -terpineol against foodborne pathogenic bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107(21), 6641-6653.
- Yoon, S. H., Jeong, H., Kwon, S. K., & Kim, J. F., 2009.** Genomics, biological features, and biotechnological applications of *Escherichia coli* B: "Is B for better?!". *Systems biology and biotechnology of Escherichia coli*, 1-17.
- Yue, W., Ming, Q.-l., Lin, B., Rahman, K., Zheng, C.-J., Han, T., Qin, L.-p., 2016.** Medicinal plant cell suspension cultures: pharmaceutical applications and high-yielding strategies for the desired secondary metabolites. *Critical reviews in biotechnology* 36, 215-232.
- Zaid, A., De Wet, P., 1999.** Chapter V Date palm propagation. *FAO Plant Production and Protection Papers*, 74-106.
- Zaid, A., El-Korchi, B., Visser, H., 2011.** Commercial date palm tissue culture procedures and facility establishment. *Date palm biotechnology*, 137-180.
- Zarie, A. A., Hassan, A. B., Alshammari, G. M., Yahya, M. A., & Osman, M. A., 2023.** Date industry by-product: date seeds (*Phoenix dactylifera* L.) as potential natural sources of bioactive and antioxidant compounds. *Applied Sciences*, 13(21), 11922.
- Zhao, J., Davis, L.C., Verpoorte, R., 2005.** Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology advances* 23, 283-333.



---

الملاحق

---



ملحق (1): إزالة الأجزاء الخارجية من فسيلة نخيل البرحي بعمر 3-4 سنوات للحصول على نسيج القمة النامية (الجمار).



ملحق (2): إزالة الانسجة النباتية المتميزة حول نسيج القمة النامية الغير متميز.



ملحق (3): تعقيم القمة النامية لنخيل البرحي باستخدام كلوريد الزنك قبل زراعة نسيجيا.



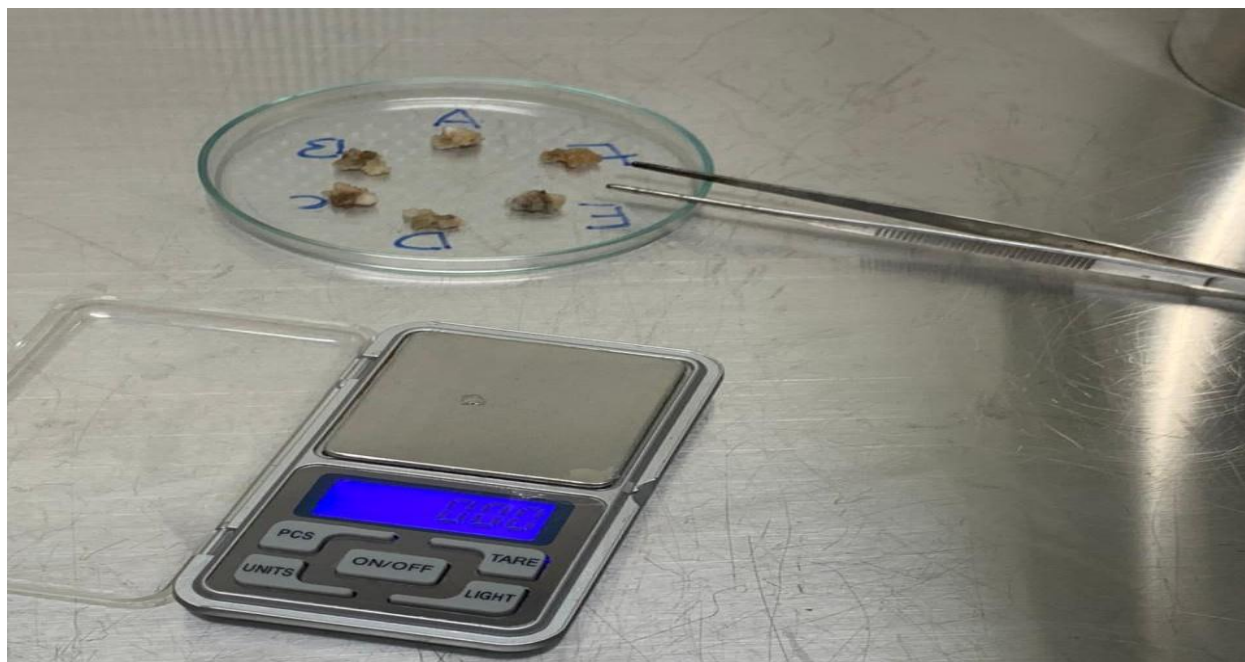
ملحق (4): مكونات وسط MS لغرض زراعة القمة النامية.



ملحق (5): غرفة نمو الزراعة النسيجية لغرض استحثاث الكالس المعامل بمنظمات النمو وحمض الجاسمونيك.



ملحق (6): عمل نقل الكالس لغرض التنشئة والحصول على كميات كافية لغرض اكمل العمل.



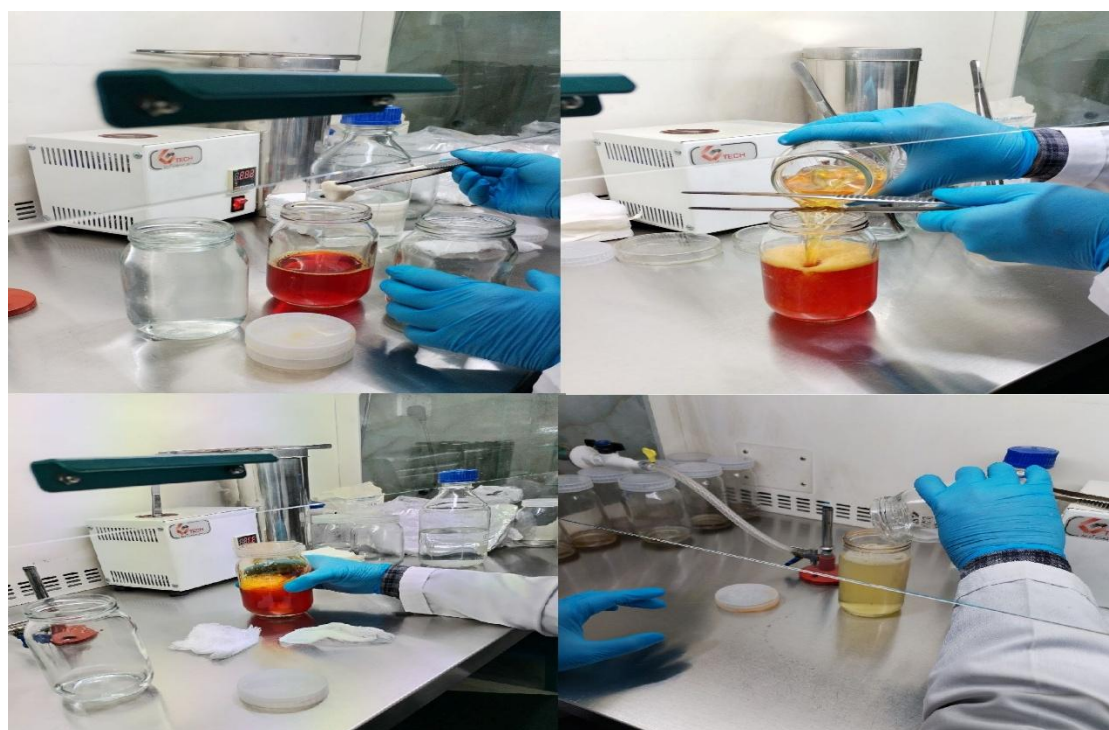
ملحق (7): قياس وزن الكالس باستخدام الميزان الحساس لملاحظة تأثير منظمات النمو وحامض الجاسمونيك على الكتلة الحيوية للكالس.



ملحق (8): الكالس بعد تحفيزه بمنظمات النمو وحامض الجاسمونيك في وسط MS وضمن ظروف التجربة.



ملحق (9): تحضير وسط MS لأستحثاث كالس نخيل التمر صنف البرحي.



ملحق (10): تعقيم الأجزاء النباتية باستخدام محلول كلوريد الزنك وغسلها بالماء المقطر.



ملحق (11): تخزين الأجزاء النباتية المزروعة نسيجياً في الظلام عند درجة حرارة الغرفة.



ملحق (12): جهاز GC-MS المستخدم لتحليل عينات الكالس ومعرفة محتواها من المركبات الكيميائية.

ملحق (13): المركبات الكيميائية الناتجة من تحليل كالس نخيل التمر صنف البرحي بجهاز GC-MS للمعاملة A بتوليفة JA:0+2iP:2 +2,4-D:8 +NAA:40 ملغم لتر<sup>-1</sup>).

| NO | Compound Name                                       | R.T/min | Area % | CID    | Category of Compound                | Molecular weight | Formula                                       |
|----|-----------------------------------------------------|---------|--------|--------|-------------------------------------|------------------|-----------------------------------------------|
| 1  | 2,2'-Bioxirane                                      | 3.045   | 1.02   | 11254  | اثير حلقي                           | 86               | C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>  |
| 2  | 2-Propanone, 1-hydroxy-                             | 3.147   | 1.95   | 8299   | أكاسيد<br>الاحماض<br>الكيتونية      | 74.08            | C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>  |
| 3  | Diethoxymethyl acetate                              | 3.577   | 0.93   | 84166  | استر                                | 162.18           | C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub> |
| 4  | Glyceraldehyde                                      | 3.867   | 1.4    | 751    | سكر ألدوزي<br>ثلاثي                 | 90.07            | C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>  |
| 5  | Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester                | 4.652   | 1.05   | 11748  | استر                                | 102.08           | C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>  |
| 6  | Ethanimidic acid, ethyl ester                       | 4.837   | 2.48   | 65066  | إستر إيميدي                         | 87.12            | C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NO              |
| 7  | Butyrolactone                                       | 5.295   | 3      | 7302   | لاكتون                              | 86.08            | C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>  |
| 8  | 2,4-Dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furan-3-one        | 6.584   | 1.15   | 538757 | كيتول لاكتون                        | 144.12           | C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>  |
| 9  | Pentanoic acid, 4-oxo-                              | 8.14    | 0.48   | 11579  | حامض كيتوني                         | 116.11           | C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>  |
| 10 | Phenol, 2-methyl-                                   | 8.761   | 3.47   | 335    | فينول                               | 108.13           | C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O               |
| 11 | Cyclopentane, 1-acetyl-1,2-epoxy-                   | 8.892   | 1.93   | 537123 | إيبوكسيد كيتوني                     | 126.15           | C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> |
| 12 | 1,2,4,5-Tetrazine, hexahydro-1,2,4,5-tetramethyl-   | 10.309  | 1.57   | 140744 | مركب عضوي<br>حلقي نيتروجيني<br>مشبع | 144.22           | C <sub>6</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> |
| 13 | 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl- | 10.496  | 5.83   | 119838 | كيتول لاكتون                        | 144.12           | C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>  |
| 14 | 1,2,3-Propanetriol, 1-acetate                       | 12.835  | 5.98   | 33510  | استر                                | 134.13           | C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub> |

|    |                                                  |        |       |          |                              |        |               |
|----|--------------------------------------------------|--------|-------|----------|------------------------------|--------|---------------|
| 15 | Propanoic acid, 3-(acetylthio)-2-methyl-         | 13.506 | 20.57 | 118073   | حامض كربوكسيلي               | 162.21 | C6H10O3S      |
| 16 | 6-Oxoheptanoic acid                              | 13.788 | 3.79  | 98810    | حامض كيتوني                  | 144.17 | C7H12O3       |
| 17 | Phenol, 2-methoxy-3-(2-propenyl)-                | 15.531 | 2.1   | 596373   | فينول                        | 164.20 | C10H12O2      |
| 18 | 1-Hexadecanol                                    | 16.354 | 0.68  | 2682     | كحول                         | 242.44 | C16H34O       |
| 19 | L-Asparagine, 2TMS derivative                    | 16.588 | 0.46  | 91692150 | مركب عضوي مشتق من حامض أميني | 276.48 | C10H24N2O3Si2 |
| 20 | Dichloroxylenol                                  | 16.663 | 3.81  | 8621     | فينول                        | 191.05 | C8H8Cl2O      |
| 21 | 2-(Isobutoxymethyl)oxirane                       | 17.34  | 8.24  | 98155    | إيبوكسيد ايثر حلقي           | 130.18 | C7H14O2       |
| 22 | Cyclohexanecarboxamide, N-(4-morpholylcarbonyl)- | 17.46  | 1.23  | 544021   | حامض كاربوكسيلي              | 240.30 | C12H20N2O3    |
| 23 | Octadecane, 5-methyl-                            | 18.665 | 0.38  | 520183   | ألكان متفرع                  | 268.5  | C19H40        |
| 24 | 1-Tridecene                                      | 20.71  | 0.97  | 17095    | ألكين                        | 182.35 | C13H26        |
| 25 | Dodecanal                                        | 21.168 | 0.62  | 8194     | الديهيد                      | 184.32 | C12H24O       |
| 26 | Ethyl .alpha.-d-glucopyranoside                  | 21.357 | 5.01  | 91694274 | كليكوسايد                    | 208.21 | C8H16O6       |
| 27 | Benzophenone                                     | 21.723 | 2.11  | 3102     | كيتون عطري                   | 182.22 | C13H10O       |
| 28 | Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl-               | 22.235 | 2.34  | 11170    | سيلكون عضوي                  | 593.2  | C16H48O8Si8   |
| 29 | 2-Hexadecanol                                    | 24.637 | 0.53  | 85779    | كحول                         | 242.44 | C16H34O       |
| 30 | Cyclononasiloxane, octadecamethyl-               | 25.285 | 2.9   | 11172    | سيلكون عضوي                  | 667.4  | C18H54O9Si9   |
| 31 | n-Hexadecanoic acid                              | 27.647 | 1.69  | 985      | حامض كربوكسيلي               | 256.42 | C16H32O2      |
| 32 | Octasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,         | 28.011 | 2.74  | 6329087  | سيلوكسان                     | 577.2  | C16H48O7Si8   |

|                             |  |  |  |  |  |  |  |
|-----------------------------|--|--|--|--|--|--|--|
| 13,13,15,15-hexadecamethyl- |  |  |  |  |  |  |  |
|-----------------------------|--|--|--|--|--|--|--|

ملحق (14): المركبات الكيميائية الناتجة من تحليل كالس نخيل التمر صنف البرحي بجهاز GC-MS للمعاملة B بتوليفة (JA:2+2iP:2 +2,4-D:8 +NAA:40) ملغم لتر<sup>-1</sup>).

| NC | Name                                 | Ret. Time | Area % | CID    | Category of Compound           | Molecular weight | Formula |
|----|--------------------------------------|-----------|--------|--------|--------------------------------|------------------|---------|
| 1  | 2,2'-Bioxirane                       | 3.031     | 1.41   | 11254  | اثير حلقي                      | 86               | C4H6O2  |
| 2  | 2-Propanone, 1-hydroxy-              | 3.136     | 3.02   | 8299   | أكاسيد<br>الاحماض<br>الكيتونية | 74.08            | C3H6O2  |
| 3  | Butane, 1,2,4-trimethoxy-            | 3.3       | 0.17   | 542483 | الإثيرات<br>العضوية            | 148.20           | C7H16O3 |
| 4  | Methyl pyruvate                      | 3.341     | 0.71   | 11748  | إستر كيتوني                    | 102.09           | C4H6O3  |
| 5  | Heptane, 1-(ethenylthio)-            | 3.38      | 0.13   | 534213 | اثير                           | 158.31           | C9H18S  |
| 6  | 2,3-Butanediol                       | 3.411     | 0.39   | 262    | كحول                           | 90.12            | C4H10O2 |
| 7  | Diethoxymethyl acetate               | 3.567     | 0.4    | 84166  | استر عضوي                      | 162.18           | C7H14O4 |
| 8  | Glyceraldehyde                       | 3.836     | 5.59   | 751    | سكر ألدوزي<br>ثلاثي            | 90.07            | C3H6O3  |
| 9  | Propanedioic acid, propyl-           | 3.935     | 0.12   | 12027  | استر                           | 146.14           | C6H10O4 |
| 10 | 2-Furanmethanol                      | 4.261     | 0.25   | 7361   | كحول أروماتي<br>غير متجانس     | 98.10            | C5H6O2  |
| 11 | Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester | 4.631     | 2.47   | 11748  | استر                           | 102.09           | C4H6O3  |
| 12 | Dihydroxyacetone                     | 4.817     | 5.63   | 670    | سكر كيتوني<br>بسيط             | 90.08            | C3H6O3  |
| 13 | Butyrolactone                        | 5.292     | 1.35   | 7302   | لاكتون                         | 86.08            | C4H6O2  |

|    |                                                     |        |      |              |                           |        |          |
|----|-----------------------------------------------------|--------|------|--------------|---------------------------|--------|----------|
| 14 | Glycerin                                            | 6.418  | 0.82 | 753          | كحول متعدد الهيدروكسيل    | 92.09  | C3H8O3   |
| 15 | 2,4-Dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furan-3-one        | 6.577  | 1.01 | 538757       | لاكتون                    | 144.12 | C6H8O4   |
| 16 | Pentanoic acid, 4-oxo-                              | 8.139  | 0.43 | 11579        | حامض كربوكسيلي            | 116.11 | C5H8O3   |
| 17 | Acetic acid, 1-(2-methyltetrazol-5-yl)ethenyl ester | 8.874  | 1.67 | 538650       | استر                      | 168.15 | C6H8N4O2 |
| 18 | Triethyl phosphate                                  | 10.131 | 0.17 | 6535         | إستر فوسفات ثلاثي الإيثيل | 182.15 | C6H15O4P |
| 19 | Pentopyranose                                       | 10.337 | 7.01 | 229          | سكر أحادي حلقي            | 150.13 | C5H10O5  |
| 20 | 2H-Pyran, 2-(3-butynyloxy)tetrahydro-               | 10.38  | 2.47 | 142440       | إيثر غير مشبع             | 154.21 | C9H14O2  |
| 21 | 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl- | 10.492 | 6.05 | 119838       | كيتول لاکتون              | 144.12 | C6H8O4   |
| 22 | 2(3H)-Furanone, dihydro-4-hydroxy-                  | 10.737 | 0.5  | 95652        | هيدروكسي لاکتون           | 102.09 | C4H6O3   |
| 23 | 1,3-Dioxane, 4,6-diethyl-, trans-                   | 11.57  | 0.33 | 2221476<br>7 | إيثر حلقي                 | 144.21 | C8H16O2  |
| 24 | Butanoic acid, 3-oxo-, 2-methylpropyl ester         | 11.595 | 0.09 | 522677       | إستر كيتوني               | 158.19 | C8H14O3  |
| 25 | .alpha.-Terpineol                                   | 11.715 | 0.32 | 17100        | تيربين أحادي              | 154.25 | C10H18O  |
| 26 | 5-Cyclopropyl-1,3,4-oxadiazol-2-ol                  | 12.504 | 0.75 | 1987636<br>5 | كحول                      | 126.11 | C5H6N2O2 |
| 27 | 3-Hepten-2-one, (Z)-                                | 12.565 | 0.37 | 5364577      | كيتون                     | 112.17 | C7H12O   |
| 28 | 1,2,3-Propanetriol, 1-acetate                       | 12.834 | 7.52 | 33510        | استر                      | 134.13 | C5H10O4  |
| 29 | n-Propyl acetate                                    | 13.155 | 0.73 | 7997         | كحول                      | 102.13 | C5H10O2  |

|    |                                          |        |       |              |                       |        |             |
|----|------------------------------------------|--------|-------|--------------|-----------------------|--------|-------------|
| 30 | Propanoic acid, 3-(acetylthio)-2-methyl- | 13.519 | 8.54  | 118073       | حامض كربوكسيلي        | 162.21 | C6H10O3S    |
| 31 | 3-Acetoxydodecane                        | 13.798 | 3.22  | 537256       | استر                  | 228.37 | C14H28O2    |
| 32 | 2-Nitro-tertiary butanol                 | 13.94  | 1.03  | 95101        | كحول                  | 119.12 | C4H9NO3     |
| 33 | Dichloroxylenol                          | 16.666 | 2.72  | 8621         | فينول                 | 191.05 | C8H8Cl2O    |
| 34 | 2-(Isobutoxymethyl)oxirane               | 17.355 | 4.87  | 98155        | إيبوكسيد<br>اثير حلقي | 130.18 | C7H14O2     |
| 35 | Hexahydrofuro[3,2-b]furan-3,6-diol       | 17.401 | 3.99  | 99937        | كحول                  | 146.14 | C6H10O4     |
| 36 | 1-Hexadecanol                            | 20.711 | 0.58  | 2682         | كحول                  | 242.44 | C16H34O     |
| 37 | Tridecanal                               | 21.166 | 0.61  | 25311        | الدهايد               | 198.34 | C13H26O     |
| 38 | Ethyl .alpha.-d-glucopyranoside          | 21.386 | 14.39 | 9169427<br>4 | كليكوسيد              | 208.21 | C8H16O6     |
| 39 | Benzophenone                             | 21.726 | 1.75  | 3102         | كيتون                 | 182.22 | C13H10O     |
| 40 | D-erythro-Pentose, 2-deoxy-              | 21.887 | 1.78  | 5460005      | سكر ألدهيدي           | 134.13 | C5H10O4     |
| 41 | N.omega.-Nitro-L-arginine                | 22.439 | 0.33  | 440005       | حامض اميني            | 219.20 | C6H13N5O4   |
| 42 | Dichloroacetic acid, heptadecyl ester    | 24.648 | 0.28  | 546049       | استر                  | 367.4  | C19H36Cl2O2 |
| 43 | 1,3-Methylene-d-arabitol                 | 27.555 | 0.49  | 541801       | كحول                  | 164.16 | C6H12O5     |
| 44 | n-Hexadecanoic acid                      | 27.646 | 0.76  | 985          | حامض كربوكسيلي        | 256.42 | C16H32O2    |
| 45 | azetidine, 1-methyl-3,3-dipentyl-        | 28.226 | 0.55  | 2181482<br>5 | أمين حلقي مشبع        | 211.39 | C14H29N     |
| 46 | 3,4-Dihydroxymandelic                    | 29.433 | 0.38  | 530207       | فينول                 | 472.9  | C20H40O5Si4 |

|    |                                                                                                            |        |      |        |                     |        |                                                                 |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|------|--------|---------------------|--------|-----------------------------------------------------------------|
|    | acid, 4TMS derivative                                                                                      |        |      |        |                     |        |                                                                 |
| 47 | Hydroxyurea                                                                                                | 32.684 | 0.12 | 3657   | أميد                | 76.055 | CH <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                   |
| 48 | Heptadecane, 2,6,10,15-tetramethyl-                                                                        | 33.181 | 0.65 | 41209  | ألكان متفرع         | 296.6  | C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>                                 |
| 49 | 2-(2',4',4',6',6',8',8'-Heptamethyltetrasiloxan-2'-yloxy)-2,4,4,6,6,8,8,10,10-nonamethylcyclopentasiloxane | 35.525 | 0.68 | 551986 | السيليكونات العضوية | 653.3  | C <sub>16</sub> H <sub>48</sub> O <sub>10</sub> Si <sub>9</sub> |
| 50 | 6-Dimethyl(trimethylsilyl)silyloxytetradecane                                                              | 35.59  | 0.42 | 590061 | سيليكون عضوي        | 344.7  | C <sub>19</sub> H <sub>44</sub> O <sub>Si</sub> <sub>2</sub>    |

ملحق (15): المركبات الكيميائية الناتجة من تحليل كالس نخيل التمر صنف البرحي بجهاز GC-MS للمعاملة C بتوليفة (JA:4+2iP:2 +2,4-D:8 +NAA:40) ملغم لتر<sup>-1</sup>).

| NO | Name                                 | Ret. Time | Area % | CID   | Category of Compound     | Molecular weight | Formula                                       |
|----|--------------------------------------|-----------|--------|-------|--------------------------|------------------|-----------------------------------------------|
| 1  | 2,2'-Bioxirane                       | 3.045     | 0.44   | 11254 | اثير حلقي                | 86               | C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>  |
| 2  | 2-Propanone, 1-hydroxy-              | 3.154     | 0.99   | 8299  | أكاسيد الاحماض الكيتونية | 74.08            | C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>  |
| 3  | Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester | 3.356     | 0.43   | 11748 | استر                     | 102.08           | C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>  |
| 4  | Diethoxymethyl acetate               | 3.579     | 0.24   | 84166 | استر                     | 162.18           | C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub> |
| 5  | Glyceraldehyde                       | 3.845     | 6.09   | 751   | سكر ألدوزي ثلاثي         | 90.07            | C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>  |

|    |                                                               |        |       |         |                      |        |         |
|----|---------------------------------------------------------------|--------|-------|---------|----------------------|--------|---------|
| 6  | Pentanoic acid, 3-hydroxy-4-methyl-, methyl ester             | 4.04   | 0.46  | 537733  | استر                 | 146.18 | C7H14O3 |
| 7  | 2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl-                              | 4.107  | 0.76  | 31256   | كحول كيتوني          | 116.16 | C6H12O2 |
| 8  | Cyanothioacetamide                                            | 4.185  | 0.27  | 1416277 | ثيوأميد نيتريلي      | 100.14 | C3H4N2S |
| 9  | Methylpyruvate                                                | 4.649  | 0.6   | 11748   | استر                 | 102.09 | C4H6O3  |
| 10 | Dihydroxyacetone                                              | 4.825  | 8.59  | 670     | كيتون ثلاثي الكحول   | 90.08  | C3H6O3  |
| 11 | 6-Oxa-bicyclo[3.1.0]hexan-3-one                               | 5.505  | 0.26  | 535532  | كيتون حلقي           | 98.10  | C5H6O2  |
| 12 | .alpha.,.alpha.'-Diglycerol                                   | 6.426  | 2.37  | 42953   | كحول                 | 166.17 | C6H14O5 |
| 13 | 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-           | 6.6    | 0.38  | 119838  | كيتول لاكتون         | 144.12 | C6H8O4  |
| 14 | 2-Hydroxy-gamma-butyrolactone                                 | 6.827  | 0.23  | 545831  | لاكتون               | 102.09 | C4H6O3  |
| 15 | Cyclopentane, 1-acetyl-1,2-epoxy-                             | 8.909  | 2.29  | 537123  | كيتون                | 126.15 | C7H10O2 |
| 16 | 3-Hexanol, 2-methyl-                                          | 9.01   | 1.74  | 12040   | كحول                 | 116.20 | C7H16O  |
| 17 | 2-Pentanone, 5,5-diethoxy-                                    | 9.145  | 0.27  | 536886  | كيتون                | 174.24 | C9H18O3 |
| 18 | 6H-Pyrazolo[1,2-a][1,2,4,5]tetrazine, hexahydro-2,3-dimethyl- | 9.175  | 0.08  | 144438  | مركب حلقي غير متجانس | 156.23 | C7H16N4 |
| 19 | Glycerin                                                      | 10.409 | 12.81 | 753     | كحول                 | 92.09  | C3H8O3  |
| 20 | .alpha.-Terpineol                                             | 11.71  | 0.14  | 17100   | تربينويد             | 154.25 | C10H18O |

|    |                                            |        |       |         |                        |        |             |
|----|--------------------------------------------|--------|-------|---------|------------------------|--------|-------------|
| 21 | 5-Hydroxymethylfurfural                    | 12.546 | 4.68  | 237332  | ألدهيد كحولي           | 126.11 | C6H6O3      |
| 22 | Cyclopropanemethanol, 2,2,3,3-tetramethyl- | 12.725 | 0.58  | 544179  | كحول                   | 128.21 | C8H16O      |
| 23 | 1,2,3-Propanetriol, 1-acetate              | 12.851 | 2.12  | 33510   | إستر متعدد الهيدروكسيل | 134.13 | C5H10O4     |
| 24 | Heptanoic acid, 6-oxo-                     | 13.818 | 2.8   | 98810   | حامض كيتوني            | 144.17 | C7H12O3     |
| 25 | 2-Propanol, 1-chloro-3-(1-methylethoxy)-   | 13.965 | 0.61  | 94290   | كحول                   | 152.62 | C6H13ClO2   |
| 26 | N,N'-Dibutylidenehydrazine                 | 15.797 | 0.39  | 9578454 | مركب نيتروجيني عضوي    | 140.23 | C8H16N2     |
| 27 | 1-Tetradecanol                             | 16.352 | 0.2   | 2682    | كحول                   | 242.44 | C16H34O     |
| 28 | Dichloroxylenol                            | 16.665 | 1.45  | 8621    | فينول                  | 191.05 | C8H8Cl2O    |
| 29 | 2-(Isobutoxymethyl)oxirane                 | 17.642 | 31.25 | 98155   | إيبوكسيد<br>اثير حلقي  | 130.18 | C7H14O2     |
| 30 | 1-Hexadecanol                              | 20.726 | 3.83  | 2682    | كحول                   | 242.44 | C16H34O     |
| 31 | 3-Deoxy-d-mannonic lactone                 | 20.855 | 6.15  | 541561  | لاكتون                 | 162.14 | C6H10O5     |
| 32 | 3-Deoxy-d-mannonic acid                    | 21.426 | 4.8   | 10350   | حامض<br>كربوكسيلي      | 180.16 | C6H12O6     |
| 33 | Benzophenone                               | 21.737 | 1.31  | 3102    | كيتون عطري             | 182.22 | C13H10O     |
| 34 | Trichloroacetic acid, tridecyl ester       | 24.653 | 0.21  | 522533  | إستر                   | 345.7  | C15H27Cl3O2 |
| 35 | Hexadecyl trichloroacetate                 | 28.224 | 0.18  | 522536  | إستر                   | 387.8  | C18H33Cl3O2 |

ملحق (16): المركبات الكيميائية الناتجة من تحليل كالس نخيل التمر صنف البرحي بجهاز GC-MS للمعاملة D بتوليفة JA:0+2iP:4 +2,4-D:12 +NAA:60). (ملغم لتر<sup>-1</sup>).

| NO | Name                                         | Ret. Time | Area % | CID     | Category of Compound           | Molecular weight | Formula                                                     |
|----|----------------------------------------------|-----------|--------|---------|--------------------------------|------------------|-------------------------------------------------------------|
| 1  | 2,2'-Bioxirane                               | 3.059     | 0.98   | 11254   | ايثر حلقي                      | 86               | C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>                |
| 2  | 2-Propanone, 1-hydroxy-                      | 3.168     | 1.86   | 8299    | أكاسيد<br>الاحماض<br>الكيتونية | 74.08            | C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>                |
| 3  | Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester         | 3.366     | 0.5    | 11748   | استر                           | 102.08           | C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>                |
| 4  | Glyceraldehyde                               | 3.917     | 0.75   | 751     | سكر ألدوزي<br>ثلاثي            | 90.07            | C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>                |
| 5  | 2-Furanmethanol                              | 4.282     | 0.34   | 7361    | كحول أروماتي<br>غير متجانس     | 98.10            | C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>                |
| 6  | Dihydroxyacetone                             | 4.84      | 1.12   | 670     | سكر كيتوني<br>بسيط             | 90.08            | C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>                |
| 7  | Oxime-, methoxy-phenyl-                      | 4.865     | 1.91   | 9602988 | الدهايد                        | 151.16           | C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>               |
| 8  | Butyrolactone                                | 5.297     | 2.3    | 7302    | لاكتون                         | 86.08            | C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>                |
| 9  | 1,3,5-Triazine, 2,4,6-tris(cyanomethoxy)-    | 5.375     | 0.24   | 120443  | ايثر                           | 246.18           | C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> N <sub>6</sub> O <sub>3</sub> |
| 10 | Pyrimidine, 1,4,5,6-tetrahydro-1,2-dimethyl- | 5.4       | 0.17   | 77953   | قلويد                          | 112.17           | C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub>               |
| 11 | Glycerin                                     | 6.409     | 2.94   | 753     | كحول متعدد<br>الهيدروكسيل      | 92.09            | C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>                |
| 12 | 2,4-Dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furan-3-one | 6.583     | 1.27   | 538757  | لاكتون                         | 144.12           | C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>                |
| 13 | Pentanoic acid, 4-oxo-                       | 8.143     | 0.65   | 11579   | حامض<br>كربوكسيلي              | 116.11           | C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>                |

|    |                                                     |        |      |          |                           |        |           |
|----|-----------------------------------------------------|--------|------|----------|---------------------------|--------|-----------|
| 14 | 2-Hexanone, 3-methyl-4-methylene-                   | 8.874  | 0.92 | 536968   | كيتون                     | 126.20 | C8H14O    |
| 15 | Triethyl phosphate                                  | 10.129 | 0.3  | 6535     | إستر فوسفات ثلاثي الإيثيل | 182.15 | C6H15O4P  |
| 16 | Butane, 1-(1-methylethoxy)-                         | 10.255 | 1.22 | 137240   | إيثر                      | 116.20 | C7H16O    |
| 17 | Butanal, 3-methyl-                                  | 10.34  | 1.17 | 11552    | الدهايد                   | 86.13  | C5H10O    |
| 18 | Cyclohexanamine, N-methyl-N-nitroso-                | 10.425 | 1.25 | 20269    | الامينات                  | 142.2  | C7H14N2O  |
| 19 | 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl- | 10.491 | 8.25 | 119838   | كيتول لاكتون              | 144.12 | C6H8O4    |
| 20 | Decanal                                             | 11.569 | 0.52 | 8175     | الدهايد                   | 156.26 | C10H20O   |
| 21 | 1,2,3-Propanetriol, 1-acetate                       | 12.831 | 9.55 | 33510    | إستر                      | 134.13 | C5H10O4   |
| 22 | Pentanoic acid, heptyl ester                        | 12.99  | 1.07 | 79544    | إستر                      | 200.32 | C12H24O2  |
| 23 | 3-Piperidinol                                       | 13.06  | 0.33 | 23293    | كحول أميني                | 101.15 | C5H11NO   |
| 24 | 1,3-Methylene-d-arabitol                            | 13.47  | 3.82 | 541801   | كحول                      | 164.16 | C6H12O5   |
| 25 | Butyl 2-acetoxyacetate                              | 13.505 | 1.8  | 3020580  | إستر                      | 174.19 | C8H14O4   |
| 26 | 3,7-Diacetamido-7H-s-triazolo[5,1-c]-s-triazoles    | 13.528 | 6.82 | 536650   | مركبات حلقية غير متجانسة  | 223.19 | C7H9N7O2  |
| 27 | Heptanoic acid, 6-oxo-                              | 13.789 | 8.25 | 98810    | حامض كيتوني               | 144.17 | C7H12O3   |
| 28 | (S)-(-)-1,2,4-Butanetriol, 2-acetate                | 13.908 | 3.16 | 13442868 | كحول متعدد الهيدروكسيل    | 148.16 | C6H12O4   |
| 29 | Glycyl-dl-alanine                                   | 14.01  | 0.32 | 98153    | ببتيد                     | 146.14 | C5H10N2O3 |

|    |                                                                                          |        |       |              |                           |        |                                                               |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------|--------|-------|--------------|---------------------------|--------|---------------------------------------------------------------|
| 30 | Acetic acid, heptyl ester                                                                | 14.688 | 0.55  | 8159         | استر                      | 158.24 | C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>                 |
| 31 | Decyl trifluoroacetate                                                                   | 16.347 | 0.44  | 520628       | استر                      | 254.29 | C <sub>12</sub> H <sub>21</sub> F <sub>3</sub> O <sub>2</sub> |
| 32 | Dichloroxylenol                                                                          | 16.659 | 1.97  | 8621         | فينول                     | 191.05 | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>2</sub> O               |
| 33 | 2-(Isobutoxymethyl)oxirane                                                               | 17.389 | 8.22  | 98155        | إيبوكسيد<br>اثير حلقي     | 130.18 | C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>                 |
| 34 | 3-Hexadecene, (Z)-                                                                       | 20.709 | 0.61  | 5364494      | ألكين                     | 224.42 | C <sub>16</sub> H <sub>32</sub>                               |
| 35 | 6-(Hydroxymethyl)-2,4-dihydro-1,4-benzoxazin-3-one                                       | 21.042 | 0.51  | 1845244<br>3 | كحول                      | 179.17 | C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>                 |
| 36 | Ethyl .alpha.-d-glucopyranoside                                                          | 21.396 | 17.72 | 9169427<br>4 | كحول                      | 208.21 | C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>                 |
| 37 | Benzophenone                                                                             | 21.723 | 1.62  | 3102         | كيتون عطري                | 182.22 | C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> O                             |
| 38 | Ethyl 1-thio-.alpha.-d-arabinofuranoside                                                 | 21.903 | 1.46  | 2221252<br>6 | كلوكوسايد                 | 194.25 | C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub> S               |
| 39 | .alpha.-L-Galactopyranoside, methyl 6-deoxy-2-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate | 22.213 | 1.81  | 9169658<br>6 | كحول متعدد<br>الهيدروكسيل | 274.20 | C <sub>11</sub> H <sub>23</sub> BO <sub>5</sub> Si            |
| 40 | n-Hexadecanoic acid                                                                      | 27.632 | 1.32  | 985          | حامض<br>كربوكسيلي         | 256.42 | C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>                |

ملحق (17): المركبات الكيميائية الناتجة من تحليل كالس نخيل التمر صنف البرحي بجهاز GC-MS للمعاملة E بتوليفة JA:2+2iP:4 +2,4-D:12 +NAA:60). (ملغم لتر<sup>-1</sup>).

| NO | Name                                    | Ret. Time | Area % | CID    | Category of Compound           | Molecular weight | Formula                                        |
|----|-----------------------------------------|-----------|--------|--------|--------------------------------|------------------|------------------------------------------------|
| 1  | 2,2'-Bioxirane                          | 3.036     | 0.89   | 11254  | ايثر حلقي                      | 86               | C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>   |
| 2  | 2-Propanone, 1-hydroxy-                 | 3.144     | 2.24   | 8299   | أكاسيد<br>الاحماض<br>الكيتونية | 74.08            | C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>   |
| 3  | Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester    | 3.346     | 0.5    | 11748  | استر                           | 102.09           | C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>   |
| 4  | Diethoxymethyl acetate                  | 3.57      | 0.42   | 84166  | استر                           | 162.18           | C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>  |
| 5  | Glyceraldehyde                          | 3.863     | 2.54   | 751    | سكر ألدوزي<br>ثلاثي            | 90.07            | C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>   |
| 6  | 2-Cyclohexenol, 4-acetamido-, E\\trans- | 3.975     | 0.1    | 564    | مشتق أميدي<br>حلقي             | 141.18           | C <sub>8</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub> |
| 7  | 2-Furanmethanol                         | 4.265     | 0.36   | 7361   | كحول أروماتي<br>غير متجانس     | 98.10            | C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>   |
| 8  | Methyl pyruvate                         | 4.64      | 0.75   | 11748  | استر                           | 102.09           | C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>   |
| 9  | Dihydroxyacetone                        | 4.821     | 4.62   | 670    | سكر كيتوني<br>بسيط             | 90.08            | C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>   |
| 10 | 2-Propenoic acid, 1-methylundecyl ester | 5.015     | 0.37   | 543296 | استر                           | 240.38           | C <sub>15</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub> |
| 11 | Butyrolactone                           | 5.287     | 1.1    | 7302   | لاكتون                         | 86.08            | C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>   |
| 12 | Cyclopentanone, 2-methyl-               | 5.498     | 0.35   | 14265  | كيتون                          | 98.14            | C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O               |
| 13 | Glycerin                                | 6.43      | 2.56   | 753    | كحول متعدد<br>الهيدروكسيل      | 92.09            | C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>   |

|    |                                                                |        |      |          |                |        |          |
|----|----------------------------------------------------------------|--------|------|----------|----------------|--------|----------|
| 14 | Propanoic acid, 2-mercapto-, methyl ester                      | 6.485  | 0.88 | 103858   | استر           | 120.17 | C4H8O2S  |
| 15 | 2,4-Dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furan-3-one                   | 6.576  | 1.44 | 538757   | كيتول لاكتون   | 144.12 | C6H8O4   |
| 16 | Pentanoic acid, 4-oxo-                                         | 8.136  | 0.43 | 11579    | حامض كربوكسيلي | 116.11 | C5H8O3   |
| 17 | Cyclopentane, 1-acetyl-1,2-epoxy-                              | 8.863  | 1.31 | 537123   | كيتون          | 126.15 | C7H10O2  |
| 18 | (2S,3S)-(-)-3-Propyloxiranemethanol                            | 9.004  | 0.4  | 10313120 | كحول           | 116.16 | C6H12O2  |
| 19 | Pyranone                                                       | 10.355 | 4.77 | 8369     | لاكتون         | 126.11 | C6H6O3   |
| 20 | 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-            | 10.488 | 7.95 | 119838   | كيتول لاكتون   | 144.12 | C6H8O4   |
| 21 | 2(3H)-Furanone, dihydro-4-hydroxy-                             | 10.733 | 0.69 | 95652    | لاكتون         | 102.09 | C4H6O3   |
| 22 | Carbonic acid, dihexyl ester                                   | 11.564 | 0.56 | 522576   | استر           | 230.34 | C13H26O3 |
| 23 | 5-Hydroxymethylfurfural                                        | 12.511 | 0.74 | 237332   | ألدهيد كحولي   | 126.11 | C6H6O3   |
| 24 | 1,2,3-Propanetriol, 1-acetate                                  | 12.835 | 9.02 | 33510    | استر           | 134.13 | C5H10O4  |
| 25 | Pentanoic acid, 3-hydroxy-5,5-dimethoxy-3-methyl-, ethyl ester | 13.45  | 1.98 | 554346   | استر           | 220.26 | C10H20O5 |
| 26 | Butanoic acid, 3-oxo-, propyl ester                            | 13.541 | 2.5  | 74507    | استر           | 144.17 | C7H12O3  |

|    |                                                          |        |       |              |                       |        |                  |
|----|----------------------------------------------------------|--------|-------|--------------|-----------------------|--------|------------------|
| 27 | 1-Pentanol, 5-chloro-, acetate                           | 13.6   | 1.41  | 88521        | استر                  | 164.63 | C7H13ClO2        |
| 28 | Heptanoic acid, 6-oxo-                                   | 13.796 | 6.27  | 98810        | حامض كيتوني           | 144.17 | C7H12O3          |
| 29 | (S)-(-)-1,2,4-Butanetriol, 2-acetate                     | 13.911 | 3.29  | 1344286<br>8 | كحول                  | 148.16 | C6H12O4          |
| 30 | 2-Butene-1,4-diol, 2TMS derivative                       | 16.58  | 0.25  | 5366600      | كحول                  | 232.47 | C10H24O2Si2      |
| 31 | Dichloroxylenol                                          | 16.66  | 1.48  | 8621         | فينول                 | 191.05 | C8H8Cl2O         |
| 32 | 2-(Isobutoxymethyl)oxirane                               | 17.49  | 14.62 | 98155        | إيبوكسيد<br>إيثر حلقي | 130.18 | C7H14O2          |
| 33 | 3-Trifluoroacetoxydecano                                 | 20.715 | 3.61  | 534402       | استر                  | 282.34 | C14H25F3O2       |
| 34 | 6-(Hydroxymethyl)-2,4-dihydro-1,4-benzoxazin-3-one       | 21.049 | 0.33  | 1845244<br>3 | كحول                  | 179.17 | C9H9NO3          |
| 35 | Ethyl .alpha.-d-glucopyranoside                          | 21.432 | 11.91 | 9169427<br>4 | كليكوسايد             | 208.21 | C8H16O6          |
| 36 | Benzophenone                                             | 21.73  | 1.58  | 3102         | كيتون                 | 182.22 | C13H10O          |
| 37 | .beta.-D-Glucopyranose, 4-O-.beta.-D-galactopyranosyl-   | 21.926 | 3.5   | 294          | كاربوهيدرات           | 342.30 | C12H22O11        |
| 38 | Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-1-[(trimethylsilyl)oxy]- | 22.223 | 1.08  | 5895165<br>6 | إيثر سيليكوني         | 324.29 | C14H18BrNO<br>Si |
| 39 | Undecanoic acid                                          | 27.638 | 0.88  | 8180         | حامض<br>كربوكسيلي     | 186.29 | C11H22O2         |

|    |                        |       |      |        |       |       |        |
|----|------------------------|-------|------|--------|-------|-------|--------|
| 40 | Heneicosane, 3-methyl- | 33.19 | 0.34 | 522120 | الكان | 310.6 | C22H46 |
|----|------------------------|-------|------|--------|-------|-------|--------|

ملحق (18): المركبات الكيميائية الناتجة من تحليل كالس نخيل التمر صنف البرحي بجهاز GC-MS للمعاملة F بتوليفة  
JA:4+2iP:4 +2,4-D:12 +NAA:60 ملغم لتر<sup>-1</sup>).

| NO | Name                                            | Ret. Time | Area % | CID    | Category of Compound           | Molecular weight | Formula  |
|----|-------------------------------------------------|-----------|--------|--------|--------------------------------|------------------|----------|
| 1  | 2,2'-Bioxirane                                  | 3.036     | 0.57   | 11254  | ايثر حلقي                      | 86               | C4H6O2   |
| 2  | 2-Propanone, 1-hydroxy-                         | 3.147     | 0.94   | 8299   | أكاسيد<br>الاحماض<br>الكيتونية | 74.08            | C3H6O2   |
| 3  | Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester            | 3.346     | 0.25   | 11748  | استر                           | 102.09           | C4H6O3   |
| 4  | Glyceraldehyde                                  | 3.568     | 0.09   | 751    | سكر ألدوزي<br>ثلاثي            | 90.07            | C3H6O3   |
| 5  | N,N-Dimethylhydroxylamine                       | 3.84      | 3.99   | 27970  | امينات                         | 61.08            | C2H7NO   |
| 6  | 1,3-Dioxane-4,6-dione, 2,2-dimethyl-            | 3.92      | 1.47   | 16249  | لاكتون                         | 144.12           | C6H8O4   |
| 7  | Pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione, 5-amino-6-nitroso- | 3.985     | 0.79   | 536741 | البيريميدين                    | 156.10           | C4H4N4O3 |
| 8  | 2(3H)-Furanone, dihydro-4-hydroxy-              | 4.07      | 0.66   | 95652  | لاكتون                         | 102.09           | C4H6O3   |
| 9  | 2-Propanol, 2-nitroso-, acetate (ester)         | 4.1       | 0.32   | 537433 | استر                           | 131.13           | C5H9NO3  |
| 10 | 2-Furanmethanol                                 | 4.267     | 0.16   | 7361   | كحول أروماتي<br>غير متجانس     | 98.10            | C5H6O2   |
| 11 | Methyl pyruvate                                 | 4.637     | 0.73   | 11748  | إستر كيتوني                    | 102.09           | C4H6O3   |

|    |                                                             |        |       |        |                      |        |            |
|----|-------------------------------------------------------------|--------|-------|--------|----------------------|--------|------------|
| 12 | Dihydroxyacetone                                            | 4.826  | 7.22  | 670    | كيتون                | 90.08  | C3H6O3     |
| 13 | 2-Pentanethiol                                              | 4.985  | 1.14  | 62424  | الكان                | 104.22 | C5H12S     |
| 14 | Pyrimidine, 1,4,5,6-tetrahydro-1,2-dimethyl-                | 5.085  | 0.43  | 77953  | قلويد                | 112.17 | C6H12N2    |
| 15 | 5,6-Dihydro-2,4,6-trimethyl-4H-1,3,5-dithiazine             | 5.11   | 0.24  | 12518  | مركب حلقي غير متجانس | 163.3  | C6H13NS2   |
| 16 | Phosphoric triamide, N,N',N''-tris(dimethylamino carbamyl)- | 5.14   | 0.16  | 266908 | فوسفوراميد           | 353.32 | C9H24N9O4P |
| 17 | m-Dioxan-4-ol, 2,6-dimethyl-                                | 5.23   | 0.34  | 107329 | كحول حلقي            | 132.16 | C6H12O3    |
| 18 | Cyclopentanone, 2-methyl-                                   | 5.49   | 0.29  | 14265  | كيتون                | 98.14  | C6H10O     |
| 19 | Propylene Carbonate                                         | 6.832  | 0.23  | 7924   | كربونات حلقيّة       | 102.09 | C4H6O3     |
| 20 | 1,3,5-Triazine-2,4,6-triamine                               | 8.9    | 1.71  | 7955   | مركب حلقي غير متجانس | 126.12 | C3H6N6     |
| 21 | 2-Propenoic acid, oxiranylmethyl ester                      | 9      | 0.69  | 7836   | استر                 | 128.13 | C6H8O3     |
| 22 | Glycerin                                                    | 10.488 | 14.93 | 753    | كحول                 | 92.09  | C3H8O3     |
| 23 | Glycerol, 1,2-O-methylene-                                  | 10.73  | 0.96  | 21618  | ايثر                 | 104.10 | C4H8O3     |
| 24 | 5-Hydroxymethylfurfural                                     | 12.526 | 2.65  | 237332 | كحول                 | 126.11 | C6H6O3     |
| 25 | 1,2,3-Propanetriol, 1-acetate                               | 12.843 | 2.07  | 33510  | استر                 | 134.13 | C5H10O4    |
| 26 | Heptanoic acid, 6-oxo-                                      | 13.817 | 2.98  | 98810  | الأحماض الكربوكسيلية | 144.17 | C7H12O3    |

|    |                                      |        |       |         |                       |        |          |
|----|--------------------------------------|--------|-------|---------|-----------------------|--------|----------|
| 27 | 2-Butanone, 4-hydroxy-3-methyl-      | 13.95  | 0.72  | 18829   | كيتون                 | 102.13 | C5H10O2  |
| 28 | 1-Tetradecene                        | 16.351 | 0.14  | 14260   | الكين                 | 196.37 | C14H28   |
| 29 | Dichloroxylenol                      | 16.663 | 1.1   | 8621    | فينول                 | 191.05 | C8H8Cl2O |
| 30 | 2-(Isobutoxymethyl)oxirane           | 17.646 | 32.03 | 98155   | إيبوكسيد<br>ايثر حلقي | 130.18 | C7H14O2  |
| 31 | Tetradecane, 1-chloro-               | 18.173 | 1.14  | 17043   | كلورو ألكان           | 232.83 | C14H29Cl |
| 32 | .beta.-D-Glucopyranose, 1,6-anhydro- | 18.534 | 2.12  | 2724705 | ايثر حلقي             | 162.14 | C6H10O5  |
| 33 | 5-Octadecene, (E)-                   | 20.715 | 2.88  | 5364598 | الكين                 | 252.5  | C18H36   |
| 34 | 3-Deoxy-d-mannonic lactone           | 20.855 | 6.94  | 541561  | لاكتون                | 162.14 | C6H10O5  |
| 35 | 3-Deoxy-d-mannonic acid              | 21.466 | 4.49  | 10350   | حامض<br>كربوكسيل      | 180.16 | C6H12O6  |
| 36 | Benzophenone                         | 21.732 | 1.07  | 3102    | كيتون                 | 182.22 | C13H10O  |
| 37 | Phytol                               | 23.717 | 0.13  | 5280435 | كحول                  | 296.5  | C20H40O  |
| 38 | n-Hexadecanoic acid                  | 27.635 | 0.19  | 985     | حامض<br>كربوكسيل      | 256.42 | C16H32O2 |
| 39 | Tridecanol, 2-ethyl-2-methyl-        | 33.187 | 0.22  | 545928  | كحول                  | 242.44 | C16H34O  |
| 40 | 1-Hexacosene                         | 33.983 | 0.82  | 29303   | الكين                 | 364.7  | C26H52   |

## Abstract:

---

Date palm *Phoenix dactylifera* L. is one of the most important economic, nutritional, and medicinal trees in Iraq and the Arab region due to its content of primary and secondary metabolites with broad biological activity. However, the production of these metabolites from plant tissues faces challenges related to slow growth and environmental restrictions. Plant tissue culture techniques represent an effective approach to overcome these challenges, while jasmonic acid and plant growth regulators are considered the main factors in stimulating secondary metabolic pathways and increasing the production of bioactive compounds.

This study was conducted during 2023 and 2024 in the Plant Tissue Culture Laboratory, College of Science – University of Al-Qadisiyah, in collaboration with the Najaf Research Department / Agricultural Research Directorate / Ministry of Agriculture. The study aimed to evaluate the effect of plant growth regulators in interaction with jasmonic acid on callus induction and secondary metabolite production in date palm cv. Barhi (*Phoenix dactylifera* L. cv. Barhi) using tissue culture techniques.

The experiment was designed according to the Complete Randomized Design (CRD) with two factors: the first factor was jasmonic acid at concentrations of (0, 2, and 4) mg l<sup>-1</sup>, and the second factor was plant growth regulators (2iP, 2,4-D, NAA) at two combinations: (2, 8, and 40 mg l<sup>-1</sup>) and (4, 12, and 60 mg l<sup>-1</sup>), respectively.

Shoot tips were cultured on MS media supplemented with the different hormonal combinations (A–F). After callus induction, alcoholic extracts were prepared from the callus tissues derived from Barhi date palm shoot tips to identify the secondary metabolites produced under the influence of interactions between jasmonic acid and

plant growth regulators. GC-MS analysis revealed that the total number of detected compounds across all treatments was 138 secondary metabolites belonging to various classes (fatty acids, alcohols, ketones, phenols, epoxides, and organic phosphates). Among these, 35 compounds were recorded as common to at least two treatments, while only 8 compounds appeared in all six treatments (A–F).

The results showed that the highest number of compounds was found in treatment B, with 50 compounds representing (36.23%) of the total. Treatment A recorded only 32 compounds (23.18%), representing the lowest chemical diversity. Treatment C recorded 35 compounds (25.36%), while treatments D, E, and F each recorded 40 compounds, all at an equal percentage of 28.99%.

The inhibitory activity of the alcoholic extracts of Barhi date palm callus was compared with the antibiotic Amoxyclav (AMC) at 30 µg disc<sup>-1</sup> against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The inhibition zones of the standard antibiotic were 17 mm and 15 mm, respectively, while the negative control (DMSO 1%) did not record any activity. Treatment B showed the highest activity among all treatments: against *E. coli* the inhibition zones were 18, 20, and 30 mm, and against *S. aureus* they were 16, 20, and 29 mm at 100, 200, and 300 mg ml<sup>-1</sup>, respectively. Treatment C recorded lower, yet relatively good activity, especially against *S. aureus* at 300 mg ml<sup>-1</sup>, where the inhibition zone reached 20 mm. Treatment F showed moderate activity, with inhibition zones ranging between 14–17 mm against *E. coli* and 12–16 mm against *S. aureus*. Treatment E recorded lower zones, ranging between 10–14 mm and 9–13 mm against the two species, respectively. Treatment D, despite its limited effect at low concentrations of growth regulators, showed gradual increases at higher concentrations, especially against *E. coli*. Treatment A was the least effective, showing no inhibition at 100 mg ml<sup>-1</sup>, and reaching maximum values of 15 mm against *E. coli* and 14 mm against *S. aureus* at 300 mg ml<sup>-1</sup>. These results

indicate a clear correlation between concentration and activity, with treatment B demonstrating superior antibacterial potential, while the other treatments showed variable activity ranging from moderate to weak.

The results also showed that changes in the concentrations of growth regulators (2iP, 2,4-D, NAA) did not cause significant differences at most of the tested concentrations (120, 250, 500 mg L<sup>-1</sup>) in terms of antioxidant activity, except at the highest concentration (1000 mg L<sup>-1</sup>), where the treatment with the lower levels of growth regulators (2iP: 2; 2,4-D: 8; NAA: 40 mg L<sup>-1</sup>) recorded the highest antioxidant activity value (74.13%) compared to the higher-level treatment (4, 12, 60 mg L<sup>-1</sup>) which recorded 73.27%.

Molecular analysis using RAPD markers proved its efficiency in evaluating the genetic stability of tissue-cultured samples compared to the mother plant. The results showed that samples A and B recorded a genetic similarity of 0.50, which is relatively low and indicates significant genetic changes. Sample D was the least genetically similar to the mother plant, with a similarity of 0.05, indicating major DNA-level alterations. These results demonstrate that all samples underwent varying degrees of genetic variation as a result of the influence of growth regulators.

In conclusion, the study indicates that the interaction between jasmonic acid and plant growth regulators is an effective strategy to stimulate the production of secondary metabolites in Barhi date palm, while enhancing biological activities (antibacterial and antioxidant), thus opening promising perspectives for future pharmaceutical and biomedical applications.

**Republic of Iraq**  
**The Ministry of Higher Education and Scientific**  
**Research**  
**Qadisiyah University**  
**College of Science**  
**Biology Department**



# **The Effect Of Some Growth Regulation On The Production And Biological Activity Of Some Bioactive Compounds In Date Palm Callus**

**A thesis**

**Submitted to council of college of science University of AL**  
**Qadisiyah in a partial fulfillment of requirements for the degree**  
**of Doctor of Philosophy of science in Biology**

**By**

**Hussam Saad Hussein Kanoo**

**B.Sc. in Biology – University of Babylon**

**2015**

**M.Sc. in Biology – University of Babylon**

**2021**

**Supervised by**

**Prof. Dr.**

**Layth Sareea Al-Rekaby**

**Dr.**

**Abdulkadhim J.Musa**

**2025 A.D**

**1447 A.H**