



جامعة الموصل

كلية التربية للعلوم الصرفة

تأثير بعض عوامل الإجهاد اللاأحيائية في صفات كالس
الجاتروفا *Jatropha curcas L.* وأحماضه الدهنية وتقييم
فعالية مركباته الفينولية المضادة للبكتريا

أنفال زهير إبراهيم حمو الحياي

أطروحة دكتوراه

علوم الحياة

بإشراف

الأستاذ الدكتور

قتيبة شعيب محمد صالح النعمة

الخلاصة

يتميز نبات الجاتروفا *Jatropha curcas* L. باحتوائه على نسبة مرتفعة من الزيت وقدرته على النمو في ظروف مختلفة، ويعد من النباتات المهمة طبياً فقد استخدم لعلاج العديد من الأمراض لاحتوائه على مجموعة من المركبات الفعالة وأهمها الفينولات. كما يلعب دوراً هاماً في تحقيق التنمية المستدامة من خلال كونه مصدراً للوقود الحيوي، ومساهمته في مكافحة التصحر، وتحسين خصوبة التربة. هدفت الدراسة الحالية إلى تطوير أساليب فعالة لزراعة الأنسجة باستخدام هذا النبات ونجحت في محورها الأول في استحداث الكالس من أجزائه النباتية (الأوراق الفلجية، الأوراق الحقيقية والسويق الجنيني) في وسط موراشيخ وسكوج (MS) الحاوي على تراكيز متداخلة من 6-Benzyladenine (BA) وNaphthalene Acetic Acid (NAA)، فقد تفوق الوسط الحاوي على 0.5 ملغم لتر⁻¹ لكل من المنظمين في إعطاء أعلى نسبة استحداث للأجزاء النباتية المستخدمة مقارنة بالتداخلات الأخرى. وافرزت الدراسة نجاح إدامة كالس الأجزاء النباتية في الوسط السائل بوجود ورق الترشيح بشكل حرف M التي تعد من الخطوات المهمة في التغلب على بعض المعوقات التي تواجه نمو الكالس بوجود الأكار. كما تمكنت الدراسة الحالية في أحد جوانبها المهمة من تكوين الأفرع الخضرية بمرحلة واحدة من كالس السويق الجنيني في الوسط السائل بوجود تراكيز مختلفة من BA ونجاح نقل هذه الأفرع إلى أوساط صلبة وتجديرها، فقد تفوق الوسط الحاوي على 0.5 ملغم لتر⁻¹ NAA على بقية الأوساط من حيث مدة التجدير وعدد الجذور المتكونة. وعلى الرغم من صعوبة أقلمتها فقد أسهمت هذه الدراسة في حل مشكلة تمايز كالس هذا النوع النباتي المهم.

عززت النتائج المتحققة في المحور الثاني من هذه الدراسة قدرة تحمل كالس الأجزاء النباتية الثلاثة للجاتروفا لعوامل الإجهاد اللاأحيائية المستخدمة (السكرور، كلوريد الصوديوم، التايروسين، السوربيتول، دقائق اوكسيد الخارصين النانوية) بتركيزها المختلفة وتأثيرها في قيم صفات الكالس المدروسة (هيئة الكالس، الوزن الرطب، الكلوروفيل والكاروتين، الأنثوسيانين، الحامض الأميني البرولين، المحتوى البروتيني) وتركيز الأحماض الدهنية (palmitic acid)

(Linolenic acid ،Linoleic acid ،Oleic acid ،Stearic acid ،Palmitoleic acid
المفصولة منها والمشخصة بتقنية كروماتوغرافيا الغاز (GC) Gas Chromatography
وأظهرت النتائج تباين قيم صفات كالس الأجزاء النباتية الثلاثة في جميع المعاملات. وتفق
معدل الحامض الدهني Palmitoleic acid في جميع المعاملات لأنواع الكالس المستخدم
بتركيزها المختلفة.

ومن النتائج الجديرة بالاهتمام والمتحققة في هذه الدراسة تفوق الحامض الدهني Oleic
acid لكالس الأوراق الحقيقية في المعاملات (6 غم لتر⁻¹ كلوريد الصوديوم، 60 ملغم لتر⁻¹
التايروسين، 10 و 30 غم لتر⁻¹ سوربيتول) بتركيز مرتفع (6.105، 5.445، 4.177،
6.439) ملغم لتر⁻¹ على التوالي وبزمن احتجاز (16.567، 16.557، 16.047، 17.087)
دقيقة على التوالي عند مقارنته مع الحامض الدهني الموجود في البذور بتركيز
(4.118) ملغم لتر⁻¹ وفي زمن احتجاز (15.833) دقيقة.

وقد تحققت في المحور الثالث من هذه الدراسة بعض النتائج البارزة فقد تباين وجود وتركيز
وفعالية المركبات الفينولية (Vanillic ،Kaempferol ،Rutin ،Gallic acid ،Pyrogallol)
acid ،Caffeic acid ،Cinnamic acid ،Catechol ،4-hydroxy benzoic acid ،
Quercetin ،Cinnamaldehyde ،Eugenol ،Lignans ،Chlorogenic) المفصولة من
المستخلص الإيثانولي الخام والفينولي لكالس الأجزاء الثلاثة والمشخصة بتقنية كروماتوغرافيا
السائل عالي الأداء (HPLC) ضد أنواع مختلفة من البكتريا الممرضة للإنسان والنبات
(*Bacillus cereus*، *Staphylococcus aureus*، *Salmonella typhimurium*،
Klebsiella pneumoniae، *Proteus mirabilis*، *Escherichia coli*،
Agrobacterium rhizogenes ATCC 13332، *A. rhizogenes* ATCC 25818، *A.*
tumefaciens، *A. rhizogenes* 15834) إذ تفوق المستخلص الفينولي لكالس السويق
الجيني ضد البكتريا الممرضة للإنسان *K. pneumoniae* بقطر تثبيط 30 ملم، وكذلك
ضد البكتريا الممرضة للنبات *A. tumefaciens* بقطر تثبيط 29 ملم. كما ظهر المركب
الفينولي 4-hydroxy benzoic acid بأعلى تركيز في المستخلصين الإيثانولي الخام والفينولي
في كالس الأجزاء الثلاثة.

تأثير بعض عوامل الإجهاد اللاأحيائية في صفات كالس الجatroفا *Jatropha curcas L.* وأحماضه الدهنية وتقييم فعالية مركباته الفينولية المضادة للبكتريا

الباحثة: انفال زهير إبراهيم حمو الحيايلى

المشرف: أ.د. قتيبة شعيب محمد صالح النعمة

الناشر : جامعة الموصل

النتائج	الملخص البياني																																																																																																																															
	<p>الجدول (10): استحداث الكالس من الأجزاء النباتية للجatroفا <i>Jatropha curcas L.</i> النامية على وسط MS الصلب المدعم بتداخلات من NAA و BA</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">وسط MS + BA / NAA ملغم لتر⁻¹</th> <th colspan="2">الأوراق الفلجية</th> <th colspan="2">الأوراق الحقيقية</th> <th colspan="2">السويق الجيني</th> </tr> <tr> <th>نسبة الاستحداث يوم</th> <th>مدة الاستحداث يوم</th> <th>نسبة الاستحداث (%)</th> <th>مدة الاستحداث يوم</th> <th>نسبة الاستحداث (%)</th> <th>مدة الاستحداث يوم</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0.0 / 0.0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td></tr> <tr><td>0.0 / 0.1</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td></tr> <tr><td>0.0 / 0.5</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td></tr> <tr><td>0.0 / 1.0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td></tr> <tr><td>0.1 / 0.0</td><td>7</td><td>10</td><td>10</td><td>10</td><td>0</td><td>0</td></tr> <tr><td>0.5 / 0.0</td><td>7</td><td>20</td><td>10</td><td>10</td><td>0</td><td>0</td></tr> <tr><td>1.0 / 0.0</td><td>7</td><td>20</td><td>10</td><td>10</td><td>5</td><td>10</td></tr> <tr><td>0.1 / 0.1</td><td>7</td><td>40</td><td>8</td><td>30</td><td>5</td><td>10</td></tr> <tr><td>0.5 / 0.5</td><td>6</td><td>100</td><td>8</td><td>80</td><td>3</td><td>100</td></tr> <tr><td>1.0 / 1.0</td><td>5</td><td>70</td><td>8</td><td>50</td><td>4</td><td>20</td></tr> </tbody> </table>	وسط MS + BA / NAA ملغم لتر ⁻¹	الأوراق الفلجية		الأوراق الحقيقية		السويق الجيني		نسبة الاستحداث يوم	مدة الاستحداث يوم	نسبة الاستحداث (%)	مدة الاستحداث يوم	نسبة الاستحداث (%)	مدة الاستحداث يوم	0.0 / 0.0	0	0	0	0	0	0	0.0 / 0.1	0	0	0	0	0	0	0.0 / 0.5	0	0	0	0	0	0	0.0 / 1.0	0	0	0	0	0	0	0.1 / 0.0	7	10	10	10	0	0	0.5 / 0.0	7	20	10	10	0	0	1.0 / 0.0	7	20	10	10	5	10	0.1 / 0.1	7	40	8	30	5	10	0.5 / 0.5	6	100	8	80	3	100	1.0 / 1.0	5	70	8	50	4	20	<p>الجدول (31): صفات كالس الأجزاء النباتية للجatroفا <i>Jatropha curcas L.</i> تحت تأثير عوامل الإجهاد اللاأحيائية المختلفة في عينة المقارنة السالبة</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>صفات الكالس</th> <th>*الأوراق الفلجية</th> <th>الأوراق الحقيقية</th> <th>السويق الجيني</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>هيئة الكالس</td><td>متماثل لين</td><td>متماثل لين</td><td>متماثل لين</td></tr> <tr><td>لون كالس</td><td>بنى غامق</td><td>بنى غامق</td><td>بنى غامق</td></tr> <tr><td>الوزن الرطب</td><td>0.257</td><td>0.286</td><td>0.105</td></tr> <tr><td>كلوفيل a</td><td>0.273</td><td>0.062</td><td>0.189</td></tr> <tr><td>كلوفيل b</td><td>0.359</td><td>0.086</td><td>0.154</td></tr> <tr><td>كلوفيل الكلى</td><td>0.632</td><td>0.149</td><td>0.330</td></tr> <tr><td>الكروتين</td><td>0.011</td><td>0.003</td><td>0.011</td></tr> <tr><td>الأثوسيانين</td><td>0.062</td><td>0.108</td><td>0.100</td></tr> <tr><td>الحامض الأميني البرولين</td><td>0.392</td><td>0.223</td><td>0.130</td></tr> <tr><td>المحتوى البروتيني</td><td>0.033</td><td>0.040</td><td>0.034</td></tr> </tbody> </table>	صفات الكالس	*الأوراق الفلجية	الأوراق الحقيقية	السويق الجيني	هيئة الكالس	متماثل لين	متماثل لين	متماثل لين	لون كالس	بنى غامق	بنى غامق	بنى غامق	الوزن الرطب	0.257	0.286	0.105	كلوفيل a	0.273	0.062	0.189	كلوفيل b	0.359	0.086	0.154	كلوفيل الكلى	0.632	0.149	0.330	الكروتين	0.011	0.003	0.011	الأثوسيانين	0.062	0.108	0.100	الحامض الأميني البرولين	0.392	0.223	0.130	المحتوى البروتيني	0.033	0.040
وسط MS + BA / NAA ملغم لتر ⁻¹	الأوراق الفلجية		الأوراق الحقيقية		السويق الجيني																																																																																																																											
	نسبة الاستحداث يوم	مدة الاستحداث يوم	نسبة الاستحداث (%)	مدة الاستحداث يوم	نسبة الاستحداث (%)	مدة الاستحداث يوم																																																																																																																										
0.0 / 0.0	0	0	0	0	0	0																																																																																																																										
0.0 / 0.1	0	0	0	0	0	0																																																																																																																										
0.0 / 0.5	0	0	0	0	0	0																																																																																																																										
0.0 / 1.0	0	0	0	0	0	0																																																																																																																										
0.1 / 0.0	7	10	10	10	0	0																																																																																																																										
0.5 / 0.0	7	20	10	10	0	0																																																																																																																										
1.0 / 0.0	7	20	10	10	5	10																																																																																																																										
0.1 / 0.1	7	40	8	30	5	10																																																																																																																										
0.5 / 0.5	6	100	8	80	3	100																																																																																																																										
1.0 / 1.0	5	70	8	50	4	20																																																																																																																										
صفات الكالس	*الأوراق الفلجية	الأوراق الحقيقية	السويق الجيني																																																																																																																													
هيئة الكالس	متماثل لين	متماثل لين	متماثل لين																																																																																																																													
لون كالس	بنى غامق	بنى غامق	بنى غامق																																																																																																																													
الوزن الرطب	0.257	0.286	0.105																																																																																																																													
كلوفيل a	0.273	0.062	0.189																																																																																																																													
كلوفيل b	0.359	0.086	0.154																																																																																																																													
كلوفيل الكلى	0.632	0.149	0.330																																																																																																																													
الكروتين	0.011	0.003	0.011																																																																																																																													
الأثوسيانين	0.062	0.108	0.100																																																																																																																													
الحامض الأميني البرولين	0.392	0.223	0.130																																																																																																																													
المحتوى البروتيني	0.033	0.040	0.034																																																																																																																													
<p>الكلمات المفتاحية</p> <p>عوامل الإجهاد اللاأحيائية</p> <p><i>Jatropha curcas L.</i></p> <p>صفات الكالس</p> <p>الأحماض الدهنية</p> <p>المركبات الفينولية</p>	<p>هدفت الدراسة الحالية إلى تطوير أساليب فعالة لزراعة الأنسجة باستخدام هذا النبات ونجحت في محورها الأول في استحداث الكالس من أجزائه النباتية (الأوراق الفلجية، الأوراق الحقيقية والسويق الجيني) في وسط موراشيغ وسكوج (MS) الحاوي على تراكيز متداخلة من 6-Benzyladenine (BA) و Naphthalene Acetic Acid (NAA)، فقد تفوق الوسط الحاوي على 0.5 ملغم لتر⁻¹ لكل من المنظمين في إعطاء أعلى نسبة استحداث لأجزاء النباتية المستخدمة مقارنة بالتداخلات الأخرى. وافرزت الدراسة نجاح إدامة كالس الأجزاء النباتية في الوسط السائل بوجود ورق الترشيح بشكل حرف M التي تعد من الخطوات المهمة في التغلب على بعض المعوقات التي تواجه نمو الكالس بوجود الأكار. كما تمكنت الدراسة الحالية في أحد جوانبها المهمة من تكوين الأفرع الخضرية بمرحلة واحدة من كالس السويق الجيني في الوسط السائل بوجود تراكيز مختلفة من BA ونجاح نقل هذه الأفرع إلى أوساط صلبة وتجديدها، فقد تفوق الوسط الحاوي على 0.5 ملغم لتر⁻¹ NAA على بقية الأوساط من حيث مدة التجذير وعدد الجذور المتكونة. وعلى الرغم من صعوبة أقمتهما فقد أسهمت هذه الدراسة في حل مشكلة تمايز كالس هذا النوع النباتي المهم.</p> <p>عززت النتائج المتحققة في المحور الثاني من هذه الدراسة قدرة تحمل كالس الأجزاء النباتية الثلاثة للجatroفا لعوامل الإجهاد اللاأحيائية المستخدمة (السكروز، كلوريد الصوديوم، التايروسين، السوربيتول، دقاتق اوكسيد الخارصين النانوية) بتركيبتها المختلفة وتأثيرها في قيم صفات الكالس المدروسة (هيئة الكالس، الوزن الرطب، الكلوفيل والكروتين، الأثوسيانين، الحامض الأميني البرولين، المحتوى البروتيني) وتركيز الأحماض الدهنية (palmitic acid، palmitoleic acid، Stearic acid، Oleic acid، Linoleic acid، Linolenic acid) المفصلة منها والمشخصة بتقنية كروماتوغرافيا الغاز (GC) Gas Chromatography. وأظهرت النتائج تباين قيم صفات كالس الأجزاء النباتية الثلاثة في جميع المعاملات. وتفوق معدل الحامض الدهني Palmitoleic acid في جميع المعاملات لأنواع الكالس المستخدم بتركيبتها المختلفة.</p> <p>ومن النتائج الجديرة بالاهتمام والمتحققة في هذه الدراسة تفوق الحامض الدهني Oleic acid لكالس الأوراق الحقيقية في المعاملات (6 غم لتر⁻¹ كلوريد الصوديوم، 60 ملغم لتر⁻¹ التايروسين، 10 و 30 غم لتر⁻¹ سوربيتول) بتركيز مرتفع (6.105، 5.445، 4.177، 6.439) ملغم لتر⁻¹ على التوالي وبزمن احتجاز (17.087، 16.047، 16.557، 16.567) دقيقة على التوالي عند مقارنته مع الحامض الدهني الموجود في البذور بتركيز (4.118) ملغم لتر⁻¹ وفي زمن احتجاز (15.833) دقيقة.</p> <p>وقد تحققت في المحور الثالث من هذه الدراسة بعض النتائج البارزة فقد تبين وجود وتركيز وفعالية المركبات الفينولية (Gallic، Pyrogallol، 4-hydroxy benzoic acid، Catechol، Cinnamic acid، Caffeic acid، Vanillic acid، Kaempferol، Rutin، acid، Quercetin، Chlorogenic، Lignans، Eugenol، Cinnamaldehyde) المفصلة من المستخلص الإيثانولي الخام والفينولي لكالس الأجزاء الثلاثة والمشخصة بتقنية كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC) ضد أنواع مختلفة من البكتريا الممرضة للإنسان والنبات (<i>Bacillus cereus</i>، <i>Staphylococcus aureus</i>، <i>Salmonella typhimurium</i>، <i>Klebsiella pneumoniae</i>، <i>Proteus mirabilis</i>، <i>Escherichia coli</i>، <i>Agrobacterium rhizogenes</i> ATCC 13332، <i>A. rhizogenes</i> ATCC 25818، <i>A. tumefaciens</i>، <i>A. rhizogenes</i> 15834) إذ تفوق المستخلص الفينولي لكالس السويق الجيني ضد البكتريا الممرضة للإنسان <i>K. pneumoniae</i> بقطر تثبيط 30 ملم، وكذلك ضد البكتريا الممرضة للنبات <i>A. tumefaciens</i> بقطر تثبيط 29 ملم. كما ظهر المركب الفينولي 4-hydroxy benzoic acid بأعلى تركيز في المستخلصين الإيثانولي الخام والفينولي في كالس الأجزاء الثلاثة.</p>																																																																																																																															

<https://uomosul.edu.iq/libcentral>

E-Mail : central_library@uomosul.edu.iq

Abstract

Jatropha curcas L. is characterized by its high oil content and ability to grow in different conditions. It is also an important medicinal plant, as its leaves have been used to treat many diseases. They contain a group of active compounds, including phenols. It also plays an important role in achieving sustainable development by being a source of biofuel, contributing to combating desertification, and improving soil fertility. The present study aimed to develop an effective tissue culture method for *Jatropha* and successfully achieved its initial objective by stimulating the formation of callus from explants (cotyledons, true leaves, and embryonic peduncles) on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with overlapping concentrations of 6-Benzyladenine (BA) and Naphthaleneacetic Acid (NAA). The medium containing 0.5 mg L⁻¹ of each of BA and NAA was superior in the highest rate for the used explants compared to other interventions. The study demonstrated the efficacy of callus propagation of explants in liquid media supplemented with M-shaped filter paper, representing a substantial progression in addressing challenges linked to callus development in agar-based systems. One of the important aspects of the current study was the regeneration of the callus in a single stage from the embryonic peduncle in liquid media with different concentrations of BA. The successful establishment of these branches to solid media and their rooting. In terms of rooting time and number of roots, the medium containing 0.5 mg L⁻¹ NAA outperformed other media that were formed. Although acclimatization is difficult, this study contributed to solving the callus differentiation problem of this important plant species.

The results achieved in the second axis of this study enhanced the tolerance of *Jatropha* callus from three explants to the abiotic stress factors used (sucrose, sodium chloride, tyrosine, sorbitol, zinc oxide nanoparticles) at their different concentrations and their effect on the values of the studied callus characteristics (Callus structure, fresh weight estimation, chlorophyll and carotene estimation, anthocyanin estimation, proline amino acid estimation, protein content estimation) and fatty acid concentration (palmitic acid, Palmitoleic acid, Stearic acid, Oleic acid, ‘

Linoleic acid (Linolenic acid) were separated from them and characterized by Gas Chromatography (GC). The presented results showed that the values of callus characteristics of the three explants varied with all treatments. Palmitoleic acid was superior in all parameters for the callus types used at different concentrations.

A particularly noteworthy result achieved in this study was the superiority of the fatty acid Oleic acid from true leaves callus in the treatments (6 g L⁻¹ sodium chloride, 60 mg L⁻¹ tyrosine, 10 and 30 g L⁻¹ sorbitol) at a high concentration (6.105, 5.445, 4.177, 6.439) mg L⁻¹ respectively and with a retention time of (17.087, 16.047, 16.557, 16.567) minutes respectively compared with the fatty acid present in the seeds at a concentration of (4.118) mg L⁻¹ and with a retention time of (15.833) minutes.

Additionally, in the third axis of this study, some notable findings were achieved in concentration, and the effectiveness of phenolic compounds varied (Pyrogallol, Gallic acid, Rutin, Kaempferol, Vanillic acid, Caffeic acid, Cinnamic acid, Catechol, 4-hydroxy benzoic acid, Quercetin, Cinnamaldehyde, Eugenol, Lignans, Chlorogenic). The three explants were separated from the crude ethanolic and phenolic extract of callus and characterized by high-performance liquid chromatography (HPLC) against diverse bacterial pathogens of humans and plants (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Agrobacterium rhizogenes* ATCC 13332, *A. rhizogenes* ATCC 25818, *A. tumefaciens*, *A. rhizogenes* 15834). The phenolic extract of embryonic peduncle callus was superior against the human pathogenic bacterium *K. pneumoniae* with a diameter of 30 mm of inhibition zone, Also against the plant pathogenic bacterium *A. tumefaciens* with a diameter of 29 mm of inhibition zone.. The phenolic compound 4-hydroxy benzoic acid appeared in the highest concentration in both the crude and phenolic extracts in the callus of three parts.

**University of Mosul
College of Education
for Pure Science**



**Effect of Some Abiotic Stress Factors in Callus
Characteristics and Fatty Acids of *Jatropha Curcas* L.
and Evaluation The Antibacterial Activity of its
Phenolic Compounds**

Anfal Zuhair Ibrahim Hammo Al-Hayali

Ph.D.Thesis

Biology

Supervised by

Prof.

Dr. Qutaiba Shuaib Mohammed Salih Al-Nema

2025 A.D.

1447 A.H.