جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الموصل / كلية العلوم

التحفيز الفيزيائي لجين *TPs* المسؤول عن بناء مركب Thymol في انسجة نبات الزعتر *Thymus vulgaris* L. وقياس محتواه الزيتي

جمانة عبد الجبار أحمد مصطفى

رسالة ماجستير

علوم الحياة / علم النبات

بإشراف

الأستاذ المساعد

الدكتورة رنا طارق يحيى قاسم

١٤٤٧هـ

2025 م

الخلاصة

نجحت الدراسة الحالية في بيان دور المجال المغناطيسي على عدد من المؤشرات المورفولوجية والفسيولوجية والكيميائية نباتات الزعتر *Thymus vulgaris* L.، من خلال دراسة تأثيره في إنبات البذور، ونمو البادرات وفي استحداث ونمو مزارع الكالس ومحتواها من الزيت وشملت الدراسة عدة معاملات للبذور، وحققت البذور المنقوعة في الماء المقطر لمدة ساعة والمعرّضة للمجال المغناطيسي لمدة ساعة أيضا وبقوة ٥٠ μT أعلى نسبة إنبات بلغت ٩٥٪ مقارنة بالبذور الجافة غير المعرّضة (المقارنة) والتي بلغت نسبة انباتها ٨٠٪، كما أظهرت ذات المعاملة تفوقًا واضحًا في النمو الخضري والجذري للبادرات النابتة منها مقارنة بمقاييسها للبادرات النابتة من البذور الجافة(المقارنة).

واظهر تعريض الكالس المستحدث من قطع سيقان البادرات الناتجة من بذور جافة (المقارنة) والنامية على وسط الاستحداث (Murashige, and SKoog, 1962 ,MS) الصلب الحاوي 0.5 ملغم/ لتر من Kinetin (Kin) + 1.0 ملغم / لتر من 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) للمجال المغناطيسي لمدة ٣٠، ٦٠، ٩٠ دقيقة دوراً إيجابياً في استحداثه ونموه، و اظهر وقت التعريض ٦٠ دقيقة أفضل نسبة استحداث بلغت ٩٥٪ وأعلى معدل للوزن الطري ومحتواه من البروتينات والأحماض النووية Deoxyribonucleic Acid (DNA) و Ribonucleic acid (RNA) بلغت ٥.٥٦ غم، ١.٧٢، ١٠.٤٥، ٨٠.٤٣ مايكروغرام / غم على التوالي. كما كشفت فحوصات المجهر الإلكتروني الماسح Scanning Electron Microscope تغييرات مورفولوجية ملحوظة في التركيب الخلوي لخلايا انسجة البادرات والكالس بعد التعريض للمجال المغناطيسي مقارنة بترتيب وشكل الخلايا في الانسجة غير المعرضة.

وبينت نتائج استخلاص زيت بادرات نباتات الزعتر بوساطة جهاز Soxhlet أن البادرات النابتة من بذور منقوعة بالماء المقطر لمدة ساعة ومعرّضة للمجال المغناطيسي لمدة ساعة أيضا أعطت اعلى محتوى زيتي بلغ 2.88% مقارنة بمحتواه في البادرات المقارنة والبالغ 1.14%. في حين بلغ محتواه في الكالس المستحدث من قطع سيقان البادرات والمعرض للمجال المغناطيسي لمدة ٦٠ دقيقة اعلى نسبة للمحتوى الزيتي بلغت 3.49 % مقارنة مع كالس المقارنة والبالغة1.94 %. واشارت نتائج فحوصات تحليل المحتوى الزيتي باستخدام تقنية كروماتوغرافيا الغاز (Gas Chromatography Technique,GC) أن عينات البادرات والكالس المعرضة للمجال المغناطيسي سجلت أعلى تركيز من مركب الثايمول، حيث بلغ تركيزه في البادرات النابتة من بذور منقوعة في الماء ومعرضة للمجال

المغناطيسي ٤٩.٠٦٠٪ والذي تفوق على كميته في البادرات النابتة من البذور الجافة (المقارنة) والبالغ ٤٢.٣٣٦ %. كما أعطت نتائج تحليل زيت الكالس بتقانة GC تباينا واضحا في كميات الثايمول المحسوبة وتفوق الكالس المعرض لمدة ٦٠ دقيقة اذ بلغ تركيز الثايمول 42.01% مقارنة ب38.98 % للكالس غير المعرض (المقارنة).

أما على المستوى الجزيئي، فقد أظهرت نتائج تحليل نشاط التعبير الجيني بتقنية التفاعل التضاعفي الكمي Quantitative Real-Time PCR (qPCR) وجود زيادة ملحوظة في نشاط التعبير الجيني للجين *terpene synthase* (*TPs*) المسؤول عن تحفيز بناء مركب الثايمول كمركب أساسي من المحتوى الزيتي للزعتر وسجل أعلاه في البادرات النابتة من البذور المنقوعة بالماء المقطر لمدة ساعة معرضة للمجال المغناطيسي لمدة ساعة أيضا بنسبة 6.2.

وأعطت نتائج التشخيص الجزيئي لأنواع البادرات النابتة من البذور المعاملة وغير المعاملة تأثرها بالمجال المغناطيسي. وبعد تحديد تسلسل القواعد النيتروجينية للأحماض النووية المستخلصة من عيناتها ومطابقتها مع المسجلة في بنك الجينات العالمي التابع للمركز العالمي للتكنولوجيا الحيوية National Center for Biotechnology Information (NCBI)، سجلت لأول مرة بأربعة أصناف جديدة لنباتات الزعتر وكالاتي:

Thymus caespititius cultivar with the accession number PV454434.
Thymus caespititius cultivar with the accession number PV454435.
Thymus caespititius cultivar with the accession number PV454436.
Thymus caespititius cultivar with the accession number PV454437.

Abstract

The current investigation find the effect of magnetic fields on various physiological, morphological, and chemical indicators of thyme plant *Thymus vulgaris* L. through study the influence of magnetic fields on seed germination seedling growth, callus induction and growth, and its essential oil content. The study included many treatments on the seeds, the seeds soaKed in distilled water for one hour and exposed to a magnetic field of 50 μT for one hour achieved the highest germination rate 95%, compared to 80% in the untreated dry seeds (control). The same treatment also showed a significant improvement in the vegetative and root growth of the produced seedlings compared to the seedlings from untreated dry seeds.

Exposing the callus induced from stem segments of seedlings germinated from dry seeds (control), and cultured on solid MS medium (Murashige and SKoog, 1962, MS) containing 0.5 mg/mL of Kinetin (Kin) and 0.1 mg/mL of 2,4-D Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), to magnetic fields for (30, 60, 90) minutes had a positive effect on its induction and growth and the 60-minute exposure gave the highest callus induction rate 95% and the highest fresh weight and content of proteins, DNA, and RNA, reaching 5.56 g, 1.72 μg/g, 10.45 μg/g, and 80.43 μg/g, respectively. Also Scanning Electron Microscope (SEM) examination revealed notable morphological changes in the cellular structure of both seedling and callus tissues exposed to the magnetic field, compared to the cell arrangement and shapes in unexposed tissues.

The results of oil extraction from thyme seedlings using a Soxhlet apparatus showed that seedlings produced from seeds soaked in distilled water for one hour then exposed to magnetic fields for one hour also yielded the highest oil content reached to 2.88% compared to the control seedlings 1.14%. The callus derived from stem segments exposed to the magnetic field for 60 minutes also yielded the highest oil content that reached to 3.49% compared to the control callus at 1.94%.

Gas Chromatography (GC) data of the essential oil revealed that seedlings and callus exposed to magnetic fields had higher concentrations of the

compound thymol that recorded concentration in seedlings from water-soaKed and magnetically treated seeds of 49.060%, compared to 42.336% supervised to its content in the control seedlings. Similarly, GC analysis of callus oil showed a clear variation in thymol content, with supervised the 60-minute treated callus reaching 42.01% compared to 38.98% in the untreated callus (control).

At the molecular level, Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) analysis indicated a significant increase in the gene expression activity of the terpene synthase gene (*TPs*), responsible for the biosynthesis of thymol as a major component of thyme essential oil. The highest expression level was recorded in seedlings from water-soaKed seeds for one hour and exposed to magnetic fields for one hour also, at 6.2.

Furthermore, molecular identification of the seedling from treated and untreated seeds demonstrated genetic variability influenced by magnetic exposure. Sequencing of the extracted nucleic acids and comparison with the National Center for Biotechnology Information (NCBI) resulted in the registration of four new thyme cultivars for the first time as flows:

Thymus caespititius cultivar with the accession number **PV454434**.

Thymus caespititius cultivar with the accession number **PV454435**.

Thymus caespititius cultivar with the accession number **PV454436**.

Thymus caespititius cultivar with the accession number **PV454437**.

University of Mosul

College of Science

Dep.of Biology

Physical stimulation of the *TPs* gene responsible for synthesis a thymol compound in the thyme *Thymus vulgaris* L. plant tissues and measuring its oil content.

Jomana abduljabbar ahmad mustafa

M.Sc. Thesis

Biology /Botany

Supervised By

Assist. Prof. Dr. Rana Tariq Yahya Qasim

144٧ A.H **2025 A.D**