جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة كربلاء - كلية الزراعة
قسم البستنة وهندسة الحدائق

تأثير استخدام UV وحامض السالسليك في انتاج بعض المركبات الفعالة لنبات إكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* L. خارج الجسم الحي

رسالة مقدمة إلى مجلس كلية الزراعة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في العلوم الزراعية/ البستنة وهندسة الحدائق

من قبل

الحسن علي محمد حسين نصرالله

بإشراف

أ.م.د. سراب عبد الهادي محمد حسين المختار

2023 م 1444 هـ

بسم الله الرَّحْمٰنِ الرَّحِيمِ

﴿ وَهُوَ الَّذِي أَنْشَأَ جَنَّاتٍ مَعْرُوشَاتٍ وَغَيْرَ مَعْرُوشَاتٍ وَالنَّخْلَ وَالزَّرْعَ مُخْتَلِفًا أُكُلُهُ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُتَشَابِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ كُلُوا مِنْ ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَآتُوا حَقَّهُ يَوْمَ حَصَادِهِ وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة الأنعام- آية (141)

إقرار المشرف

أشهد أن اعداد الرسالة الموسومة (تأثير استخدام **UV** وحامض السالسليك في انتاج بعض المركبات الفعالة لنبات إكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* L. خارج الجسم الحي) جرت تحت اشرافي في قسم البستنة وهندسة الحدائق / كلية الزراعة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير / علوم في الزراعة – البستنة وهندسة الحدائق.

التوقيع:

اسم المشرف العلمي: د. سراب عبد الهادي المختار

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: كلية الزراعة – جامعة كربلاء

التاريخ: / / 2023

توصية رئيس قسم البستنة وهندسة الحدائق ورئيس لجنة الدراسات العليا

بناءً على التوصية المقدمة من قبل الأستاذ المشرف أرشح هذه الرسالة للمناقشة العلمية.

التوقيع:

الاسم: د. كاظم محمد عبد الله

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: كلية الزراعة – جامعة كربلاء

التاريخ: / / 2023

اقرار لجنة المناقشة

نشهد بأننا اعضاء لجنة المناقشة قد اطلعنا على الرسالة الموسومة : **تاثير استخدام UV وحامض السالسليك في انتاج بعض المركبات الفعالة لنبات إكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* L. خارج الجسم الحي** وناقشنا الطالب في محتوياتها ووجدنا انها جديرة بالقبول لنيل شهادة الماجستير / علوم في الزراعة – البستنة و هندسة الحدائق .

رئيسًا

الاسم : د. مسلم عبد علي عبد الحسين
المرتبة العلمية : استاذ
العنوان : كلية الزراعة - جامعة الكوفة

التاريخ : / /2023

عضوًا

الاسم : د. صباح عبد فليح قنبر
المرتبة العلمية : استاذ مساعد
العنوان : كلية الزراعة -جامعة كربلاء

عضوًا

الاسم :.د زيد خليل كاظم
المرتبة العلمية : مدرس
العنوان : كلية الزراعة -جامعة كربلاء

عضوًا ومشرفًا

الاسم : د. سراب عبد الهادي محمد حسين
المرتبة العلمية :استاذ مساعد
العنوان : كلية الزراعة -جامعة كربلاء

صدقت الرسالة في مجلس كلية الزراعة – جامعة كربلاء

أ.د. ثامر كريم خضير

العميد وكالة

كلية الزارعة / جامعة كربلاء

2023 . 7 . 10

الإهداء

الى الذي ندعوه في السراء والضراء...الى الذي وفقني وأنار لي دربي ...الى الذي رحمته وسعت كل شيء

خالقي" الله عز وجل"

إلى صاحب الخلق العظيم ...الى صاحب الوسيلة والشفاعة.... الى الذي فضلنا على نفسه وقال أمتي أمتي

نبينا محمد صلى الله عليه وعلى آله الميامين

إلى ارواح من عشقوا تراب هذا الوطن الى رموز الايثار الى من وضعوا اسس الحضارات

شهدائنا الأبرار

إلى من تعطي ولا تنتظر الجزاء... الى سبيل الحنان وشفاء الجروح وبلسم العمر وظلي الظليل

امي حفظها الله

إلى من علَّمني كيف أقف بكل ثبات فوق الأرض... إلى من علمني العطاء دون انتظار ... إلى من أحمل اسمه بكل افتخار

أبي العزيز حماه الله

إلى الذين اشدد بهم أزري...وأشركهم في أمري

إخوتي وأخواتي عزتي وشموخي

الى من تربته اغلى من الذهب ... الى من عزته اعلى من الجبل

وطني الغالي والحبيب العراق العظيم

إلى اساتذتي واهل الفضل علي الذين غمروني بالتضحية والتوجيه والإرشاد

إلى كل من دعا لي بالخير أهديكم ذلك العمل المتواضع

الحسن علي نصر الله

الشكر والتقدير

الحمد لله كفاء نعمه ومبلغ رضاه ووفاء حقه والصلاة النامية الزاكية على سيد الأدلاء محمد وعلى مدينة علمه وآلة المنتجبين الأطهار.

بعد أن وفقني الله سبحانه وتعالى على إتمام رسالتي هذه وانا اضع اللمسات الاخيرة وامتثالاً لحديث نبينا الكريم (من لم يشكر المخلوق لم يشكر الخالق). أتقدم بشكري الجزيل معطراً بخاص الامتنان إلى استاذتي المشرفة أ.م.د. سراب عبدالهادي محمد حسين المختار لتفضلها بإقتراح موضوع البحث وما قدمته من دعم علمي ومعنوي و لما بذلته من جهد طيلة مدة دراستي في سبيل إظهار الرسالة بالمستوى العلمي الرصين ومشورتها العلمية وآرائها السديدة لإيصال البحث إلى يوم المناقشة . كما اتقد بالشكر الجزيل الى رئيس قسم البستنة وهندسة الحدائق الدكتور كاظم محمد عبدالله والى مقرر القسم الدكتور زيد خليل كاظم والسادة أعضاء اللجنة العلمية في تسهيل عقبات انجاز هذا البحث .

شكري وامتناني الى اخوتي واخواتي زملاء الدراسة حسام حسين - احمد الشريفي – محمد محمود – محمد صاحب – حيدر الموسوي – احمد الموسوي – منتظر الموسوي – عمار الكواز – رعد عباس – شروق – دعاء – حنين - نور الهدى – شهلاء – امال – نعمت .

كما أتوجه بالشكر والتقدير إلى كل من مد لي يد العون من بعيد أو قريب وساعدني في إكمال دراستي واخص بالذكر د. محمود ناصر و د. محمد ابريهي ود. صباح غازي كما اتقدم بالشكر الى كل من المقوم العلمي د. ياسر صايل ورئيس باحثين زينب عبد الجبار والمقوم اللغوي د. قحطان هادي والمقوم الاحصائي أ. سلام مرزة كما اتقدم بوافر الشكر والامتنان الى رئيس وأعضاء لجنة مناقشتي الدكتور مسلم عبد علي والدكتور صباح عبد فليح والدكتور زيد خليل لما قدموه من ملاحظات مفيدة وتقويم الرسالة بشكل علمي فلهم مني كل الشكر والتقدير .

ختاماً شكري وتقديري لكل من ساعدني في انجاز البحث ولو بكلمة او دعاء خالص ولم تسعفني ذاكرتي في ذكر اسمه

الحسن نصر الله

التسلسل	العنوان	رقم الصفحة
	الخلاصة باللغة العربية	XIII
1	المقدمة Introduction	1
2	استعراض المراجع literature review	4
1-2	الموطن الاصلي والوصف النباتي لنبات إكليل الجبل	4
2-2	التصنيف العلمي لنبات إكليل الجبل	5
3-2	التسمية والاستعمالات الشائعة لنبات إكليل الجبل	6
4-2	المواد الفعالة لنبات إكليل الجبل	7
5-2	تقانة زراعة الانسجة النباتية	9
5-2	تعقيم الاجزاء النباتية	10
6-2	منظمات النمو النباتية	11
1-6-2	تأثير الجزء النباتي ومنظمات النمو في نشوء و تضاعف الأفرع الخضرية	12
2-6-2	تأثير الجزء النباتي ومنظمات النمو في استحثاث الكالس	13
7-2	مركبات الايض الثانوي	14
1-7-2	انتاج مركبات الايض الثانوي خارج الجسم الحي	15
2-7-2	الزيوت الطيارة	17
3-7-2	المركبات الفينولية	18
1-3-7-2	حامض الروزمارنك Rosmarinc acid	19
8-2	حامض السالسليك Salicylic acid	20

1-8-2	تأثير اضافة حامض السالسليك SA في انتاج المركبات الثانوية	21
9-2	الأشعة فوق البنفسجية Ultra Violet	24
1-9-2	التأثيرات الفسلجية للأشعة فوق البنفسجية	25
2-9-2	تأثير الأشعة فوق البنفسجية في زيادة انتاج مركبات الايض الثانوي	27
10-2	التشخيص الكمي والنوعي للمركبات الفعالة باستخدام تقانة HPLC	28
3	المواد وطرائق العمل Materials and Methods	30
1-3	مصدر الاجزاء النباتية	30
2-3	تحضير الوسط الغذائي	31
3-3	التعقيم	32
1-3-3	تعقيم كابينة الهواء الطبقي	32
2-3-3	تعقيم أدوات العمل	32
3-3-3	تعقيم الأوساط الغذائية	32
4-3-3	التعقيم السطحي للأجزاء الخضري	32
4-3	زراعة الاجزاء النباتية	33
5-3	مرحلة النشوء Initionation stage	33
6-3	مرحلة التضاعف Multiplication stage	33
7-3	تجربة تحفيز انتاج مركبات الايض الثانوي في مزارع الأفرع الخضرية	34
8-3	تجربة استحثاث الكالس	35
9-3	فصل مكونات زيت نبات إكليل الجبل باستعمال جهاز كروماتوغرافيا السائل ذي الأداء العالي	36
10-3	التصميم التجريبي و التحليل الاحصائي	37

38	النتائج والمناقشة Results and discussion	4
38	تأثير تراكيز هايبوكلورات الصوديوم وفترة التعقيم في النسبة المئوية لتلوث نبات إكليل الجبل	1-4
40	تأثير نوع الجزء النباتي و تراكيز BA في نشوء الزروعات	2-4
43	تأثير تراكيز BA و NAA والتداخل بينهما في معدل عدد الأفرع الخضرية لنبات إكليل الجبل	3-4
44	تأثير تراكيز BA و NAA والتداخل بينهما في معدل طول الأفرع الخضرية لنبات إكليل الجبل	4-4
45	تأثير تراكيز BA و NAA والتداخل بينهما في معدل عدد الاوراق لنبات إكليل الجبل	5-4
46	تأثير تراكيز BA و NAA والتداخل بينهما في معدل الوزن الطري للمجموع الخضري(ملغم) لنبات إكليل الجبل	6-4
47	تأثير تراكيز BA و NAA والتداخل بينهما في معدل الوزن الجاف للمجموع الخضري(ملغم) لنبات إكليل الجبل	7-4
50	تأثير الـ Salicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV)و التداخل بينهما على معدل عدد الأفرع	8-4
51	تأثيرSalicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV)و التداخل بينهما على معدل طول الأفرع الخضرية	9-4
52	تأثيرSalicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV)و التداخل بينهما على معدل عدد الاوراق	10-4
54	تأثيرSalicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV)و التداخل بينهما على معدل الوزن الطري للمجموع الخضري	11-4
55	تأثيرSalicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV)و التداخل بينهما على معدل الوزن الجاف للمجموع الخضري	12-4
56	تأثيرSalicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV) والتداخل بينهما على معدل تركيز الكلوروفيل	13-4

14-4	تأثيرSalicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV) و التداخل بينهما على معدل تركيز الكاربوهيدرات في المجموع الخضري	57
15-4	تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الزيت الطيارα- pinene (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري لنبات إكليل الجبل	60
16-4	تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ 1-8Cinole (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري لنبات إكليل الجبل	61
17-4	تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Camphor (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري لنبات إكليل الجبل	62
18-4	تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Verbene (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري لنبات إكليل الجبل	63
19-4	تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Rosmaric acid (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري لنبات إكليل الجبل	64
20-4	تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Broneal (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري لنبات إكليل الجبل	65
21-4	تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Geranal (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري لنبات إكليل الجبل	66
22-4	تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Linolool (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري لنبات إكليل الجبل	67
23-4	تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في	68

	معدل تركيز الـ Cymene (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري لنبات إكليل الجبل	
24-4	تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ ά-Terpinol (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري لنبات إكليل الجبل	69
25-4	تأثير تراكيز 2,4-D و BA في النسبة المئوية لاستجابة القمة النامية لاستحثاث الكالس	70
26-4	تأثير تراكيز 2,4- D و BA في النسبة المئوية لاستجابة الورقة لاستحثاث الكالس	71
27-4	تأثير تراكيز 2,4- D و BA في معدل الوزن الطري للكالس المستحث من القمة النامية	74
28-4	تأثير تراكيز 2,4- D و BA في معدل الوزن الجاف للكالس المستحث من القمة النامية	75
29-4	تأثير تراكيز SA و الأشعة فوق البنفسجية في معدل الوزن الطري للكالس	78
30-4	تأثير تراكيز SA و الأشعة فوق البنفسجية في معدل الوزن الجاف للكالس	80
31-4	تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ ά-pinene (مايكروغرام مل$^{-1}$) لكالس نبات إكليل الجبل	81
32-4	تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ 1-8cinole (مايكروغرام مل$^{-1}$) لكالس نبات إكليل الجبل	82
33-4	تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Camphor (مايكروغرام مل$^{-1}$) لكالس نبات إكليل الجبل	83
34-4	تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في	84

	معدل تركيز الـ Verbene (مايكروغرام مل$^{-1}$) لكالس نبات إكليل الجبل	
35-4	تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Rosmaric acid (مايكروغرام مل$^{-1}$) لكالس نبات إكليل الجبل	85
36-4	تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Broneal (مايكروغرام مل$^{-1}$) لكالس نبات إكليل الجبل	86
37-4	تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Geranal (مايكروغرام مل$^{-1}$) لكالس نبات إكليل الجبل	87
38-4	تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Linolool (مايكروغرام مل$^{-1}$) لكالس نبات إكليل الجبل	88
39-4	تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Cymene (مايكروغرام مل$^{-1}$) لكالس نبات إكليل الجبل	89
40-4	تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Terpinol (مايكروغرام مل$^{-1}$) لكالس نبات إكليل الجبل	90
5	الاستنتاجات والتوصيات Conclusions and Recommendation	93
1-5	الاستنتاجات	93
2-5	التوصيات	94
6	المصادر references	95
1-6	المصادر العربية	95

2-6	المصادر الاجنبية	98
7	الملاحق	132
	الخلاصة باللغة الانكليزية	XVI

قائمة الجداول

الرقم	العنوان	الصفحة
1	مكونات وسط MS من الاملاح اللاعضوية المستخدمة في تحضير الوسط الغذائي	31
2	تأثير تراكيز هايبوكلورات الصوديوم وفترة التعقيم في النسبة المئوية لتلوث النموات الخضرية لنبات إكليل الجبل بعد 15 يوم من الزراعة على وسط MS	39
3	تأثير نوع الجزء النباتي و تراكيز BAوالتداخل بينهما في استجابة الاجزاء الخضرية للنشوء (%) بعد اربعة اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	42
4	تأثير تراكيز BA و NAA و التداخل بينهما في معدل عدد الأفرع الخضرية (فرع نبات$^{-1}$) بعد أربعة أسابيع من الزراعة على الوسط MS	44
5	تأثير الـ BA والـ NAA والتداخل بينهما في معدل طول الأفرع الخضرية (سم) لنبات إكليل الجبل بعد اربعة اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	45
6	تأثير الـ BA والـ NAA والتداخل بينهما في معدل عدد الاوراق(ورقة نبات$^{-1}$) لنبات إكليل الجبل بعد اربعة اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	46
7	تأثير الـ BA والـ NAA والتداخل بينهما في معدل الوزن الطري للمجموع الخضري(ملغم) لنبات إكليل الجبل بعد اربعة اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	47
8	تأثير الـ BA والـ NAA والتداخل بينهما في معدل الوزن الجاف للمجموع الخضري(ملغم)لنبات إكليل الجبل بعد اربعة اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	48
9	تأثير الـ Salicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV)و التداخل بينهما بوجود تركيز ثابت من BA و NAAعلى معدل عدد الأفرع الخضرية بعد أربعة أسابيع من الزراعة على الوسطMS	51
10	تأثيرSalicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV)والتداخل بينهما بوجود تركيز ثابت من BA و NAAعلى معدل طول الأفرع الخضرية (سم) بعد أربعة أسابيع من الزراعة على الوسط MS	52
11	تأثيرSalicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV)والتداخل بينهما بوجود تركيز ثابت من BA و NAAعلى معدل عدد الاوراق (ورقة. نبات $^{-1}$) بعد أربعة أسابيع من الزراعة على الوسطMS	53
12	تأثيرSalicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV) والتداخل بينهما بوجود تركيز ثابت من BA و NAAعلى الوزن الطري للأفرع الخضرية (ملغم) بعد أربعة أسابيع من الزراعة على الوسط MS	54
13	تأثيرSalicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV) والتداخل بينهما بوجود تركيز ثابت من BA و NAAعلى الوزن الجاف للأفرع الخضرية (ملغم) بعد أربعة أسابيع من الزراعة على الوسط MS	55
14	تأثيرSalicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV) و التداخل بينهما على معدل تركيز الكلوروفيل (ملغم) في المجموع الخضري بعد أربعة أسابيع من الزراعة على الوسطMS	56
15	تأثيرSalicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV) والتداخل بينهما على معدل تركيز	57

	الكاربوهيدرات (ملغم) في المجموع الخضري بعد أربعة أسابيع من الزراعة على الوسطMS	
16	تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ ά -pinene (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري بعد شهر من الزراعة على وسط MS	60
17	تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ 1-8cinole (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري بعد شهر من الزراعة على وسط MS	61
18	تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Camphor (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري بعد شهر من الزراعة على وسط MS	62
19	تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Verbene(مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري بعد شهر من الزراعة على وسط MS	63
20	تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Rosmaric acid(مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري بعد شهر من الزراعة على وسط MS	64
21	تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Broneal (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري بعد شهر من الزراعة على وسط MS	65
22	تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Geranal (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري بعد شهر من الزراعة على وسط MS	66
23	تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Linolool (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري بعد شهر من الزراعة على وسط MS	67
24	تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Cymene (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري بعد شهر من الزراعة على وسط MS	68
25	تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ ά-Terpinol (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري بعد شهر من الزراعة على وسط MS	69
26	تأثير تراكيز الـ 2,4-D والـ BA في النسبة المئوية لاستجابة القمم النامية لاستحثاث الكالس بعد 4 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	70
27	تأثير تراكيز الـ 2,4-D والـ BA في النسبة المئوية لاستجابة الورقة لاستحثاث الكالس بعد 4 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	72
28	تأثير تراكيز 2,4- D و BA في معدل الوزن الطري للكالس (ملغم) المستحث من القمة النامية بعد 4 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	75
29	تأثير تراكيز 2,4- D و BA في معدل الوزن الجاف للكالس (ملغم) المستحث من القمة النامية بعد 4 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	76
30	تأثير تراكيز SA و الأشعة فوق البنفسجية في معدل الوزن الطري للكالس (ملغم) بعد 4 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	79
31	تأثير تراكيز SA و الأشعة فوق البنفسجية في معدل الوزن الجاف للكالس (ملغم) بعد 4 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	80
32	تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ ά-pinene (مايكروغرام مل$^{-1}$) للكالس بعد شهر من الزراعة على وسط MS	82
33	تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ -1 8cinole	83

	(مايكروغرام مل$^{-1}$) للكالس بعد شهر من الزراعة على وسط MS	
34	تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Camphor (مايكروغرام مل$^{-1}$) للكالس بعد شهر من الزراعة على وسط MS	84
35	تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Verbene(مايكروغرام مل$^{-1}$) للكالس بعد شهر من الزراعة على وسط MS	85
36	تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Rosmaric acid (مايكروغرام مل$^{-1}$) للكالس بعد شهر من الزراعة على وسط MS	86
37	تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Broneal (مايكروغرام مل$^{-1}$) للكالس بعد شهر من الزراعة على وسط MS	87
38	تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Geranal (مايكروغرام مل$^{-1}$) للكالس بعد شهر من الزراعة على وسط MS	88
39	تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Linolool (مايكروغرام مل$^{-1}$) للكالس بعد شهر من الزراعة على وسط MS	89
40	تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Cymene (مايكروغرام مل$^{-1}$) للكالس بعد شهر من الزراعة على وسط MS	90
41	تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Terpinol (مايكروغرام مل$^{-1}$) للكالس بعد شهر من الزراعة على وسط MS	91

قائمة الاشكال

الرقم	العنوان	الصفحة
1	الوصف النباتي لنبات إكليل الجبل	5
2	بناء الانواع الرئيس لمركبات الايض الثانوية من مركبات الايض الاولية	15
3	مسار البناء الحيوي لحامض الروزمارنك	20
4	نباتات إكليل الجبل الام المستخدمة في البحث	30
5	موت الاجزاء النباتية بعد استخدام تركيز عالي من المادة المعقمة	40
6	زراعة الاجزاء النباتية على وسط MS المدعم بالBA في مرحلة نشوء الزروعات	42
7	استجابة القمة النامية والبرعم الجانبي لتركيز ال BA المستخدم في مرحلة النشوء	43
8	تأثير حامض السالسليك والأشعة فوق البنفسجية على القمم النامية لنبات إكليل الجبل	53
9	استجابة القمة النامية واوراق نبات إكليل الجبل لاستحثاث الكالس عند التركيز 2 ملغم لتر$^{-1}$ من 2,4-D مع 0.2 ملغم لتر$^{-1}$ من BA	73
10	تأثير حامض السالسليك والأشعة فوق البنفسجية على كالس نبات إكليل الجبل	79

قائمة المختصرات

BA	**Benzyl adenine**
CRD	**Completely Randomized Design**
2,4-D	**Dichlorophenoxyacetic acid**
HPLC	**High- Performance Liquid Chromatography**
HOCl	**Hypochlorous acid**
LSD	**Least Significant Difference**
MS	**Murashige and Skoog medium (1962)**
NAA	**Naphthalene Acetic Acid**
pH	**potenz Hydrogen**
SA	**Salicylic Acid**
NaOCl	**Sodium Hypochlorite**
STR	**Strictosidine Synthase**
TDC	**Tryptophan Decarboxylase**
UV	**Ultra Violet Ray**

الخلاصة

نفذت هذه الدراسة في مختبر زراعة الانسجة النباتية التابع لكلية الزراعة - جامعة كربلاء واكملت تحاليل الـ HPLC في شركة الحقول البيضاء للاستثمارات والدراسات البيئية والهندسية /بغداد/العراق للمدة من اب 2021 لغاية ايار 2022. تضمنت الدراسة استخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية لإنشاء مزارع الأفرع الخضرية ومزارع الكالس لنبات إكليل الجبل وتحفيزه على زيادة انتاج الزيوت الطيارة والمركبات الفينولية ذات الاهمية الطبية. نفذت الدراسة في مرحلتين بعد اجراء عملية التعقيم: شملت الأولى تأسيس مزارع الأفرع الخضرية ومزارع الكالس باستخدام توليفات مختلفة من منظمات النمو النباتية (الاوكسينات والسايتوكانينات) ونفذت المرحلة الثانية بتعريض مزارع الأفرع الخضرية و الكالس الى فترات زمنية (0-10-20)دقيقة من الأشعة فوق البنفسجية وتركيز (0-10-20-30) ملغم لتر $^{-1}$ من حامض السالسليك لتحفيزه على زيادة انتاج الايض الثانوي في تجارب عاملية مستقلة ضمن التصميم العشوائي الكامل (CRD)، يمكن تلخيص النتائج بالآتي :

1- إن أفضل معاملة في تعقيم الاجزاء النباتية هي هايبوكلورات الصوديوم NaOCl بتركيز 2 % لمدة 15 دقيقة.
2- اعطت القمم النامية كجزء نباتي استخدم في مرحلة النشوء اعلى استجابة بلغت 90% عند التركيز 1 ملغم لتر$^{-1}$ من BA في حين اعطت البراعم الجانبية اعلى استجابة بلغت 70% عند التركيز ذاته.
3- ان الوسط الغذائي المجهز بالـ BA وبالتركيز 2 ملغم لتر$^{-1}$ كان الافضل في زيادة عدد الأفرع وطولها بلغ 4.74 فرع نبات$^{-1}$ و 4.12 سم على التتابع، بينما حقق التركيز 3 ملغم لتر$^{-1}$ اعلى معدل لعدد الاوراق والوزن الطري والجاف للمجموع الخضري بلغت 15.24 ورقة نبات$^{-1}$ و 2986 ملغم و 1823 ملغم على التتابع.
4- حقق التركيز 0.2 ملغم لتر$^{-1}$ من NAA اعلى معدل لعدد الأفرع والاوراق والوزن الجاف بلغ 4.16 فرع نبات$^{-1}$ و14.21 ورقة نبات$^{-1}$ و 1594 ملغم على التتابع، وحقق التركيز 0.4 ملغم لتر$^{-1}$ منه اعلى معدل لطول الأفرع بلغ 3.74 سم في حين حقق التركيز 0.1 ملغم لتر$^{-1}$ اعلى معدل للوزن الطري بلغ 2606 ملغم.

5- أدت معاملة النموات الخضرية بحامض السالسليك الى تفوق التركيز 10 ملغم لتر$^{-1}$ منه في تحقيق اعلى معدل للصفات المدوسة والتي شملت عدد وطول الأفرع الخضرية حيث بلغت 7.45 فرع نبات$^{-1}$ و3.63 سم على التتابع، وتفوق التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ منه في معدل عدد الاوراق والوزن الطري والجاف للمجموع الخضري وكذلك معدل تركيز الكلوروفيل والكاربوهيدرات بلغت 16.86 ورقة نبات$^{-1}$ ، 3424 و 2373 ملغم ، 3.57 و 4.28 ملغم غم$^{-1}$ على التتابع.

6- حققت معاملة التشعيع بالأشعة فوق البنفسجية UV عند الدقيقة 20 اعلى معدل لعدد وطول الأفرع وعدد الاوراق والوزن الطري والجاف للمجموع الخضري وكذلك معدل وزن الكلوروفيل والكاربوهيدرات في المجموع الخضري بلغ (7.24 فرع نبات$^{-1}$, 4.04 سم , 16.89 ورقة نبات$^{-1}$, 3374 و 2141 ملغم , 3.67 و 4.32 ملغم غم$^{-1}$) على التتابع.

7- ادت معاملة النموات الخضرية بتراكيز مختلفة من حامض السالسليك الى وجود فروقات معنوية في مقدار المركبات الفعالة التي تم قياسها حيث حقق التركيز 10 ملغم لتر$^{-1}$ اعلى معدل تركيز لمركب الـ Geranal بلغ 30.677 مايكروغرام غم$^{-1}$ وحقق التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ اعلى معدل تركيز لمركب الـ ά-pinene و Camphor و Verbene وBroneal بلغ 33.28 و 30.443 و31.933 و 29.820 مايكروغرام غم$^{-1}$ على التتابع، في حين حقق التركيز 30 ملغم لتر$^{-1}$ اعلى معدل تركيز لمركب الـ 1-8cinole و Rosmaric acid وLinolool و Cymene و ά-Terpinol بلغ 30.130 و 62.82 و 34.430 و 31.3400 و 33.377 مايكروغرام غم$^{-1}$ على التتابع.

8- اعطت معاملة التشعيع عند الدقيقة 20 اعلى معدل للمركبات الـ a-pinene و 1-8cinole و Camphor و Verbene و Rosmaric acid و Broneal وGeranal و Linolool و Cymene و ά-Terpinol بلغت 39.60 و 36.495 و 33.548 و 34.745 و 62.75 و 28.582 و 29.657 و 31.102 و 35.0375 و 32.743 مايكروغرام غم$^{-1}$ على التتابع.

9- تفوقت القمة النامية معنوياً على الأوراق في تحقيق اعلى نسبة استجابة لاستحثاث الكالس بلغت 100% عند جميع توليفات الـ 2,4-D مع BA.

10- حقق التركيز 2 ملغم لتر$^{-1}$ من 2,4-D اعلى معدل وزن طري وجاف للكالس المستحث من القمة النامية بلغ (156.78و 15.66) ملغم على التتابع، في حين حقق التركيز 0.2

ملغم.لتر$^{-1}$ BA اعلى معدل وزن للصفات ذاتها بلغ (150.19 و 12.464) ملغم على التتابع.

11- ادى معاملة الكالس المستحث من القمة النامية بتراكيز مختلفة من حامض السالسليك حيث حقق التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ اعلى معدل للوزن الطري والجاف للكالس بلغ (308.47 و 27.30) ملغم على التتابع، كما حققت معاملة التشعيع عند الدقيقة 20 اعلى معدل للصفات ذاتها بلغت (291.44 و 25.44) ملغم على التتابع.

12- عند معاملة مزارع الكالس بتراكيز مختلفة من حامض السالسليك حقق التركيز 10 ملغم لتر$^{-1}$ اعلى معدل تركيز لمركب الـ Geranal بلغ 26.8967 مايكروغرام غم$^{-1}$ وحقق التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ اعلى معدل تركيز لمركب الـ Verbene بلغ 28.693 مايكروغرام غم$^{-1}$ ، في حين حقق التركيز 30 ملغم لتر$^{-1}$ اعلى معدل تركيز لمركب الـ α-pinene و 1-8cinole و Camphor وRosmaric acid و Broneal و α-Terpinol و Linolool وCymene و Terpinol بلغ 30.07 و 28.99 و 28.86 و 49.68 و 25.09 و 29.753 و26.77 و 28.263 مايكروغرام غم$^{-1}$ على التتابع.

13- حققت معاملة التشعيع عند الدقيقة 20 اعلى معدل للمركبات الـ a-pinene و 1-8cinole و Camphor و Verbene و Rosmaric acid و Broneal و Geranal و Linolool و Cymene و α-Terpinol بلغت 34.80 و 34.50 و 29.450 و 29.112 و 45.240 و 25.342 و 23.5475 و 28.305 و 28.26 و 25.878 مايكروغرام غم$^{-1}$ على التتابع.

1- المقدمة (Introduction)

كانت وما تزال النباتات الطبية وسيلة مهمة وناجحة من وسائل العلاج لدى الحكماء والاطباء والمختصين . وقد تزايد الطلب تجاريا على النباتات الطبية في مختلف انحاء العالم بتزايد البحوث العلمية الهادفة عليها بسبب كثرة الاضرار الجانبية للأدوية الكيميائية المستعملة وتعاظم مخاطرها حيث ازدادت نسب استعمال النباتات الطبية في معظم دول العالم . وقد استعملت النباتات الطبية في العراق منذ القدم اذ اشارت المدونات الكتابية الى ان السومريين والكلدانيين في الالف الثالث قبل الميلاد قد استعملوها في العلاج فضلا عن استعمال النباتات المخدرة في العمليات الجراحية ، وورث البابليون والاشوريون الحضارة السومرية فقد عثر على اسطوانات حجرية والواح طينية دونت عليها ما يزيد على 250 نبات استعمل في التداوي والعلاج (Zielińska و Matkowski ،2014). اما العرب والمسلمون فقد كان لهم السبق في مجال التداوي بالنباتات الطبية اذْ ان مؤلفاتهم كانت وما تزال مراجع طبية قيمة للمختصين في هذا المجال، ان كل نبات طبي في حقيقته علاج شاف لأكثر من حالة مرضية تصيب الانسان لكثرة المركبات والمعادن والفيتامينات التي يحتويها .ومن اهم هذه النباتات نبات إكليل الجبل الذي يحتوي على زيوت طيارة Volatile Oils ومركبات فينولية التي تعد إحدى أهم المنتجات الثانوية التي تفرزها أو تنتجها النباتات طبيعياً (de Elguea-Culebras واخرون ،2022)

يعد نبات إكليل الجبل .*Rosmarinus officinalis* L من النباتات المهمة طبياً وهو نبات عشبي شجيري معمر دائم الخضرة عطري يتبع العائلة الشفوية Lamiaceae الاسم الانكليزي Rosemary و الاسم العربي إكليل الجبل او ما يعرف بعشبة المعجزة فضلاً عن ذلك يسمى حصا البان و حشيشة العرب وهنالك اسماء اقل تداولا" مثل إكليل النفساء و ندى البحر المخزني (Hammer وJunghanns ،2020)، استمد اسم الروزمري من الروزمرينز وهو يعني ندى البحر وتعد جنوب اوربا والبحر المتوسط الموطن الاصلي لهذا النبات وانتشرت زراعته من هناك الى انحاء العالم مثل تونس والجزائر والمغرب العربي والشرق الاوسط وايضا" فرنسا وايطاليا والبرتغال وروسيا وصربيا واسبانيا وتركيا والولايات المتحدة الامريكية(peter ، 2006)، جاءت اهميته من استعماله في معالجة التهاب المفاصل و المغص والاكتئاب و فقدان الذاكرة و الصداع النصفي ومنع تساقط الشعر والسعال والإنفلونزا ومرض السكري (Offord واخرون ، 1995) ويحفز عمل المرارة والعضلات الملساء في الجهاز الهضمي (Halder واخرون، 2018).

عادة ما تزرع النباتات الطبية في الحقل للحصول على المركبات الفعالة وهذا يتطلب مساحة من الارض وعمليات خدمة ووقتا طويلا نسبيا حتى اكتمال نضج النبات فضلا عن مخاطر الزراعة الحقلية المتمثلة في الظروف البيئية والمناخية غير المضمونة التي تؤثر سلبا في نمو هذه النباتات وحاصلها ومن ثم كمية المواد الفعالة المنتجة ونوعها وهذا دفع بعض الباحثين الى انتاج بعض المركبات الفعالة طبيا ذات الاستعمالات المتعددة عن طريق زراعة الانسجة, ومن هنا تبرز اهمية زراعة الانسجة التي تعد احدى التقانات الحيوية التي لعبت وما زالت تلعب دورا مهما في خدمة الانسان ولاسيما في مجال اكثار انواع عدة من النباتات لما تمتاز به هذه الطريقة من ميزات لعل من اهمها امكانية انتاج نباتات خالية من الامراض الفايروسية والمشابهة للنبات الام في وقت قصير نسبيا وفي اي وقت من اوقات السنة ، فضلا عن استعمال هذه التقانة في مجالات بحثية وتطبيقية منها تربية وتحسين النبات وانتاج العقاقير الطبية والادوية ودراسة الجوانب الاساس لنمو وتطور النبات والايض الثانوي (Evans واخرون ، 2020). كما اظهرت تقانة زراعة الانسجة في حالات كثيرة انتاجا عاليا من المواد الايضية الثانوية مقارنة بالنبات الاصلي, وهذا الانتاج يمكن ان ينظم بوساطة استخدام منظمات النمو النباتية التي تعد احدى المحاور التي تعمل على زيادة انقسام الخلايا وبناء البروتينات ونقل المغذيات وتنشيط الانزيمات وبذلك تزيد المجموع الخضري الذي سيعمل على زيادة قدرة النبات في تصنيع اكبر كمية ممكنة من مركبات الايض الاولية التي بدورها تتحول الى انتاج اكبر كمية من مركبات الايض الثانوي (Chandran واخرون ، 2020).

ولأهمية النباتات الطبية بصورة عامة ونبات إكليل الجبل بصورة خاصة اصبح من الضروري زيادة نموه وانتاج المركبات الفعالة بطريقة زراعة الأنسجة باعتماد نظم وعمليات مختلفة ومنها العوامل الفيزيائية مثل الأشعة فوق البنفسجية UV او الكيميائية مثل حامض السالسليك SA (Taiz واخرون، 2017)

على ضوء ما ذكر انفا ولأهمية النبات طبياً وقلة الدراسات المتعلقة بإكثاره نسيجياً فضلا عن انتاج المركبات الفعالة لذا هدفت الدراسة الى :-

1- دراسة تأثير منظمات النمو النباتية من الأوكسينات و السايتوكاينينات في نشوء وتضاعف الأفرع الخضرية وتحفيز نشوء الكالس لنبات إكليل الجبل .
2- دراسة تأثير مدة التعرض لأشعة UV وتركيز حامض السالسليك SA في تضاعف الأفرع الخضرية ونمو الكالس

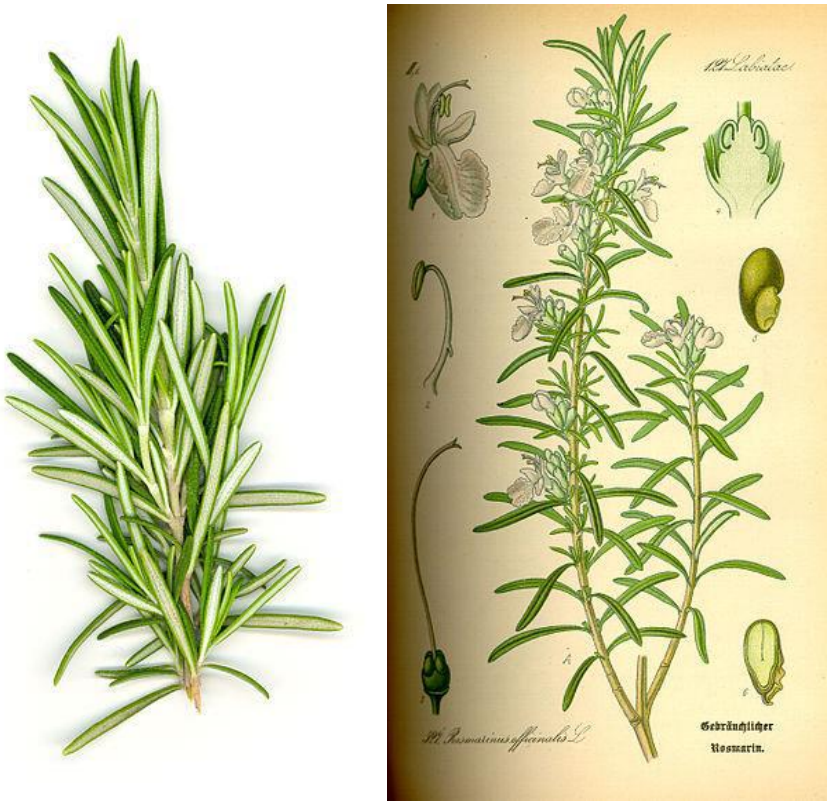
3- دراسة تأثير مدة التعرض لأشعة UV وتركيز حامض السالسليك SA في زيادة تحفيز انتاج مركبات الايض الثانوي في مزارع الأفرع الخضرية و كالس نبات إكليل الجبل.

2- استعراض المراجع (literature review)

2-1 الموطن الاصلي والوصف النباتي لنبات إكليل الجبل

ينتمي نبات إكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* إلى العائلة الشفوية Labiatae تسميتها منسوبة الى شكل تويجها الشفوي وتسمى Lamiacaea نسبة الى اشهر اجناسها Lamium (Begum واخرون ، 2013)، ينمو النبات في المناطق الدافئة لذلك كانت منطقة البحر الأبيض المتوسط وآسيا هي موطنه الأصلي، لكنه قد يتواجد بشكل قليل في المناطق ذات الطقس البارد و لديه القدرة العالية على تحمل الجفاف ونقص المياه لفترات طويلة (Peter ، 2006)، ولأهمية هذا النبات اهتمت بعض الدول بإنتاجه كونه اصبح واسع الاستعمال بالعالم واهم الدول المنتجة لزيته هي الولايات المتحدة واسبانيا والمغرب (Baker و Grant، 2018).

إكليل الجبل نبات عشبي خشبي دائم الخضرة كثيف النمو يتفرع بصورة متعامدة الى فروع قوية مترامية الاطراف كما في الشكل (1)، يتراوح معدل طول النبات من 1,5 متر إلى 2 متر أوراقه دائمة الخضرة ذات لون اخضر من الأعلى وابيض من الأسفل مكسوة بشعيرات كثيفة وقصيرة كما تمتاز بعدم احتوائها على عنق وهي بسيطة والعرق الوسطي بارز من السطح السفلي وتخرج الاوراق على شكل مجاميع كل مجموعة تتضمن ثلاث وريقات وهذه المجاميع متعامدة ومتقابلة على الفرع, ذات طبيعة راتنجية دبقة، يشبه شكلها الإبر بحيث تكون ضيقة وطويلة يتراوح طولها من 2-4 سم وعرضها من 2-5 ملم ، اما الازهار أنبوبية الشكل ذات لون ازرق داكن ونادرا ما تكون بيضاء او وردية تظهر في نورات زهرية اي ذات مجموعة راسيمية وتظهر في المعتاد خلال الربيع وان الاجزاء الخضرية هي الاجزاء المستعملة في العلاج التقليدي و لاسيما الاوراق وكذلك تستخدم الجذور (ابو كبدة، 2021).



شكل (1) الوصف النباتي لنبات إكليل الجبل

2-2 التصنيف العلمي لنبات إكليل الجبل اعتمادا على ما ذكره Marchiori (2004) :-

الاســـــــم العلمـــــــــي	*Rosmarinus officinails* **L.**
القسم	**Magnoliophta (Angiospermae)**
الصف	**Magnoliopsida (Dicotyledoneae)**
تحت الصف	**Asteridae**
الرتبة	**Solanales (Tubiflorae)**
تحت الرتبة	**Verbeninae**
العائلة	**Lamiaceae**
تحت العائلة	**Saturejoidae**
الجنس	***Romarinus***
النوع	***Officinalis***

3-2 التسمية والاستعمالات الشائعة لنبات إكليل الجبل

اشتق اسم Rosmarinus من Ros- Marinus وتعني ندى البحر نسبة الى الموطن الاصلي للنبات البحر الابيض المتوسط (Nair، 2022) ويسمى إكليل الجبل في الوطن العربي بأسماء عديدة مثل : حصا البان، حشيشة العرب، عشب البوصلة، إكليل النفساء، الازير والنبات القطبي(Hammer و Junghanns، 2020)، سميَ نبات إكليل الجبل من قبل الرابطة الدولية للأعشاب بعشبة العام لسنة 2000 لما لهذا النبات من فوائد طبية، كما عرف باسم عشبة الذكريات لما لها من أهمية كبيرة في منع فقدان الذاكرة اذ استعمل النبات من قبل اليونانيين لتحسين ذاكرة طلابهم بحرقه قرب مساكنهم قبل بدأ الامتحانات (Sulung و Aulia، 2018).

يعد نبات إكليل الجبل أحد مكونات الصيدلية الاساس في عصر النهضة حيث تكمن أهميته في المحافظة على الكبد وعلاج عسر الهضم وتنظيم اضطرابات الدورة الدموية وتخفيف ألم المفاصل ومدر للبول وعلاج الصداع والصداع النصفي ونزلات البرد ويعمل مهدأ للأعصاب ويقلل أعراض التوتر، كما يرفع ضغط الدم ويحفز ضعف القلب ويعالج رائحة الفم الكريهة واضطراب المعدة وعلاج اللدغات واللسعات (Ghavam، 2022)، ويذكر ان ايزابيلا ملكة المجر استطاعت ان تستعيد جمالها ونشاط بدنها عن عمر يناهز 72 سنة باستعمال الماء المجري Hungarian Water وهو عبارة عن المنقوع الكحولي للقمم النامية لهذا النبات وذلك لدوره في مكافحة الشيخوخة والتجاعيد وتحفيز خلايا البشرة(González- Minero واخرون ،2020)، كما اعتقد الكُتاب السابقون ما أن يتم شم النبات سوف يكفي ذلك لإبقاء الشخص شاباً وقوياً (داود، 2014).

ذكرت العديد من المصادر الى استعمال زيته العطري لفعاليته البيولوجية في تحفيز بصيلات الشعر لتجديد نشاطها ومعالجة تساقط الشعر و إعادة اشراقه و تشجيع نموه لتنشيط جريان الدم في فروة الرأس و بهذا يدخل في صناعة الشامبو و الصابون (Uronnachi واخرون، 2022). اشار Nowak وآخرون (2013) بأن إكليل الجبل هو من أنسب المستحضرات المفيدة للشعر الدهني والشعر كثير القشرة فضلا عن كونه يقوي من لون الشعر المصبوغ. اشار Begum وآخرون،(2013) إلى استعماله كمزيل للاحتقان ومعالجة عرق النسا ومشاكل المفاصل وحفظ الاطعمة وصناعة مستحضرات التجميل و الصابون والكريمات و العطور وفي الصناعات الدوائية، ونظرا لاحتواء النبات على مركب camphene فقد

اثبتت عدة دراسات امكانية استخدامه مضاداً للأكسدة والميكروبات فضلاً عن اعطائه النكهة المميزة للأطعمة (Zhao واخرون ، 2022).

استخدم نبات إكليل الجبل لمحاربة الالتهابات ويحافظ على صحة الجهاز التنفسي وازالة السموم من الجسم وله خصائص مضادة للروماتزم وللجراثيم ومطهر ويساعد على تخفيف التوتر والقلق، كما استعملت الأوراق والقمم النامية في معالجة الكآبة والضعف العصبي وفي تنشيط الدورة الدموية و ما يصحبها من حالات الضعف و الأغماء و تحسين الهضم و في معالجة البرد و الزكام (Nakisa و Ghasemzadeh Rahbardar ،2022 و Mansouri Torghabeh واخرون ،2022) . كما ان لمستخلص اوراقه تأثيرا مضاداً للميكروبات (Al-Hayali واخرون ،2022) .

يعد إكليل الجبل طاردا جيدا للغازات لاحتوائه على flavonoids ومضاد للكآبة و التشنجات لاحتوائه على الزيوت الطيارة كما استعمل في المروخات المحمرة لاحتوائه على phenolic ومضاد للأمراض الميكروبية لاحتوائه على diterpenes ويعمل على زيادة الطمث لاحتوائه على حامض Oleanolic acid ومضاد للالتهابات لاحتوائه على Carnosol و يعد من موانع الاصابة بالأمراض السرطانية ومضادات تشمع الكبد عند استخدام الخلاصة الكحولية للنبات كاملة و لاسيما مادة Carnosol (Lorenzo واخرون، 2021)، وقد اثبتت الدراسات دوره الفعال في علاج سرطان البروستات وسرطان الدم من خلال تدمير الخلايا السرطانية والتأثير على تمثيلها الغذائي ومحاربة الجذور الحرة (Ghanbari واخرون، 2021)، هذا واستعمل شراب الخلاصة الحارة للأوراق الجافة على خفض مستوى الكلوكوز في الدم (Freidman، 2015). أشار Lenz وآخرون (2020) أن لبخار ماء إكليل الجبل المستنشق دوراً كبيراً في علاج المرضى المصابين بفيروس كورونا (كوفيد 19) إذ يؤدي إلى تقليل انتشار وتوسع الفيروس داخل القصبات الهوائية من خلال خفض معدل تكاثره كما يعمل على تقوية عضلات القلب ويقي من الذبحة الصدرية، والزيت الطيار لنبات إكليل الجبل يكون مضاد للأكسدة والالتهابات لذا فهو من المواد المهمة طبيا وكذلك فهو مضاد للبكتريا والفايروسات (Chaqroune و Taleb، 2022).

2- 4 المواد الفعالة لنبات إكليل الجبل

تحتوي النباتات الطبية ومنها نبات إكليل الجبل على عدد من المركبات العضوية المعقدة تسمى بالمركبات الايضية الثانوية او المركبات الكيميائية النباتية او المركبات الطبيعية ويعتقد أنها تنتج كوسيلة دفاعية لحماية النبات من المؤثرات الخارجية فضلا عن ذلك هي مواد جاذبة للملقحات (Hanson ،2003)، قدر الباحثون آلاف المركبات الايضية الثانوية ذات الأهمية العلاجية وتدخل في الصناعات الدوائية والعقاقير الطبية

(Cardoso واخرون ،2019) من اهمها الفينولات، القلويدات، التربينات والزيوت الطيارة، حيث أن أكثر الادوية المنتجة في العالم خلال السنوات الاخيرة هي مشتقة من مركبات ثانوية (Fazili واخرون، 2022) فقد كشفت الأبحاث دور بعض مواد الايض الثانوي كمواد حافظة للأغذية والوقاية من السرطانات والعديد من الامراض المزمنة مثل امراض القلب والأوعية الدموية والسكري، كما تستعمل كملونات والياف وزيوت وعوامل منكهة وعطور (Barbosa واخرون، 2015) وتعتبر مصادر مختلفة للأدوية الطبيعية الجديدة والمضادات الحيوية والمبيدات الحشرية ومبيدات الأعشاب (Barak، 2022). يحتوي نبات إكليل الجبل على الكثير من المركبات العضوية معقدة التركيب تعرف بالمستقبلات الثانوية أو المنتجات الثانوية وهي مركبات تنتج بصورة طبيعية (Diyabalanage، 2022) والتي تنتج من مركبات ايضية اولية (كربوهيدرات، بروتينات، الدهون) والتي تعتبر مهمة في العملية الفسيولوجية للنبات مثل النمو والتطور والتمثيل الضوئي والتنفس (Dhaniaputri واخرون ، 2022). يعتقد أن المنتجات الثانوية في النبات لها وظيفة كوسيلة دفاعية لحماية النبات من المؤثرات الخارجية ومسببات الامراض ومكافحة الحشرات وكذلك مواد جاذبة للملقحات (Hatcher واخرون، 2020).

توجد المركبات الفعالة لنبات إكليل الجبل في القمم الزهرية والاوراق ومنها الزيوت الطيارة أو الاساسية وهي عبارة عن خليط معقد من المركبات المتميزة بعطرها القوي والتي يتراوح عددها بين 20-60 مركباً وبتراكيز مختلفة فقد يكون خليطاً من الاسترات و الكحولات و الالدهيدات و الكيتونات و التربينات , وهذه المركبات تتجمع لتكون الزيوت الطيارة داخل النبات (Nguyen ، 2022)، تتركز الزيوت الطيارة في القنوات الافرازية والخلايا الدهنية وبمجرد تعرض هذه الزيوت للهواء المباشر تتحول الى مواد راتنجية (Alvi واخرون ، 2019). من أهم المركبات الرئيسة التي تتشكل منها الزيوت العطرية في نبات إكليل الجبل هي Camphenen و Limonene و Penene وCamphor و Cymene و Linalool و Merycenen و Linderol و Terpinene و Sabinene (Barreto واخرون، 2014).

تحتوي الأوراق على مواد أُخرى اثبتت فعاليتها في مختلف الدراسات مثل المركبات الفينولية ومن أهم هذه المركبات حامض Rosemarinic acid و caffeic acid وcarnosic acid و rosmanol و rosmaricine، وتحتوي الاوراق ايضا على التانينات و الفلافونيدات (Alvi واخرون ، 2019)، ولكون الزيت الطيار لنبات إكليل الجبل مضاداً للأكسدة والالتهابات لذا يعد من المواد المهمة طبيا ذات الخصائص الوقائية المضادة للجراثيم (Mohammed واخرون ، 2022).

تؤدي المركبات الفينولية دوراً فعالاً في نمو وتكاثر النباتات وايضا حمايتها من الاصابة بالأمراض والحشرات لذا فهي تعد عوامل مقاومة طبيعية للنبات وتمتاز بفعالية علاجية قوية ومضادة للمايكروبات والفطريات (Tungmunnithum واخرون، 2018) ومضادة للإلتهابات والسرطانات (Mutha واخرون، 2021) و مضادة للأورام والاكسدة (Nardini، 2022) .

يعد حامض Rosmarinic من الحوامض الطبية المهمة لقدرتهُ الوقائية في علاج العديد من الأمراض خاصة بعد الضرورة التي دعت للبحث عن مركبات نباتية نشطة مضادة للفيروسات كخطوة مهمة لإيجاد بدائل علاجية للأمراض الفيروسية نظراً لمقاومة المسببات المرضية (الفيروسات والبكتيريا) للعقاقير الكيميائية ومنها فيروس كورونا (كوفيد-19). إذ دخل هذا الحامض من ضمن البرنامج الوقائي للعلاج والتخفيف من الأثر الضار لهذا الفيروس (Daglia واخرون ، 2023 وChen واخرون،2023).

أفاد Den Hartogh وآخرون (2022) في دراسة حول التأثيرات الوقائية لمكونات نبات إكليل الجبل مثل حامض Rosmarinic وحامض Carnosic وحامض carnosol أن لهما فعاليّة ضد مرض السكري ، إذ ساهما في إحداث حالة من التوازن في مستوى السكر في مصل الدم من خلال قدرتهما على خفض مستويات الكلوكوز والكولسترول كما اظهر الحامضين تأثيراً مضاداً للأكسدة والسكريات.

5-2 تقانة زراعة الانسجة النباتية

يعبر عن مفهوم زراعة الانسجة النباتية Plant tissue culture بأنه نمو خلايا او انسجة نباتية مختلفة في اوعية زجاجية تحتوي على بيئات مغذية صناعية تتكون من العناصر الغذائية التي يحتاجها النبات تحت ظروف كاملة التعقيم في ظروف بيئية مسيطر عليها (Coleman واخرون ، 2020) . كما ويعرفها بعضهم بأنها العلم الذي يختص بزراعة خلايا النبات او الأنسجة او الأعضاء المفصولة من النبات الام تحت ظروف خالية من المسببات المرضية وتعقيمهُ وزراعتهُ في أوساط غذائية اصطناعية معقمة وتحضين الجزء المزروع في ظروف مسيطر عليها من درجة حرارة , ضوء و رطوبة ويتبع ذلك تطور الجزء المزروع باتجاه الهدف المطلوب من زراعتهُ (Anis و Ahmad،2016).

أكدت العديد من الدراسات أن حصاد كميات كبيرة من النباتات البرية قد يهدد بشكل خطير الأنواع النادرة والحساسة والتنوع البيولوجي للنبات بشكل عام ومن ثم يوصى بشدة بتجنب هذا النوع من الاستغلال المفرط والاستخدامات غير الحكيمة للموارد النباتية لذلك يجب أن تركز الاهتمامات البحثية على تطوير طرق إكثار جديدة وأكثر كفاءة من أجل إنتاج كمية كبيرة من النباتات الطبية المخصصة لاستخراج مركبات

الايض الثاني إن الحصول على مركبات الايض الثانوية تواجهها الكثير من الصعوبات منها ان كمية المركب الفعال في المستخلص النباتي قليلة فمن الصعب استخلاصه لذا فنحتاج في هذه الحالة الى كمية كبيرة من النباتات , وكذلك قد تنمو بعض النباتات في مناطق يصعب الوصول اليها لذلك التجأ الى استخدام تقنية الزراعة خارج الجسم الحي لغرض انتاج مركبات الايض الثانوي تحت ظروف مسيطر عليها ومن خلال هذه التقنية ايضا امكانية تنظيم نمو الخلايا من خلال التحكم بمكونات الوسط الغذائي (Pistelli واخرون ،2013).

خلال الثلاثين سنة الاخيرة شغل هذا العلم الحديث العديد من الباحثين والعلماء حول العالم، واجريت العديد من الابحاث العلمية كانت نتيجتها زيادة الفهم عن كيفية نمو وتكوين الاعضاء أو الأجزاء النباتية المفصولة والمنماة في بيئات صناعية معقمة وتطوير وزيادة الانتاج الزراعي والتغلب على المشاكل التي تواجه انتاج الكثير من النباتات الاقتصادية المهمة (Trigiano و Gray، 2016)، كذلك لها اهمية كبيرة في انتاج العقاقير والمواد الايضية الثانوية المهمة طبيا ؛ لأن قسم من المركبات الايضية لا يمكن تحضيرها مختبريا لذلك لابد من استخراجها من النباتات التي تحتويها (Isah واخرون ، 2018)، وايضا تُعد حجر الأساس الذي يعمل على تحقيق الامن الغذائي وحماية البيئة حيث يتم من خلالها انتاج اعداد كبيرة من النباتات خلال فترات زمنية قصيرة وانتاج الازهار والثمار الجيدة بتكلفة منخفضة، وانتاج نباتات من البذور التي لديها فرص منخفضة بالنمو كما هو الحال في نبات إكليل الجبل (Mehalaine و Chenchouni، 2021)، وتتميز هذه التقانة بان نباتاتها قادرة على النمو على مدار العام ولا تتأثر بالطقس أو موسم محدد (Naik و Buckseth ، 2018).

1-5-2 تعقيم الاجزاء النباتية

يعد تعقيم الجزء النباتي المستخدم في الزراعة النسيجية من أهم الخطوات التي يعتمد عليها نجاح برنامج زراعة الانسجة. تعني عمليه التعقيم القضاء على بعض الاحياء المجهرية التي يمكن أن ترتبط بنمو الجزء المزروع على وسط غذائي وتؤدي الى هلاكه اما بسبب نموها السريع ومنافسة الجزء المزروع على المواد الغذائية او نتيجة لقيامها بإفراز بعض المواد السامة التي يؤدي امتصاصها الى قتل ذلك الجزء ومن ثم فشل عملية الزراعة النسيجية ويتطلب العمل مهاره ودقة عالية في عمليات التعقيم (Babu واخرون ، 2022) . تعد عملية التخلص من الملوثات من الامور المهمة جداً لصعوبة تحقيق التوازن بين التخلص نهائياً من الكائنات الحية الدقيقة مع المحافظة على حيوية الجزء النباتي في الوقت نفسة . لذا فأن الهدف الرئيسي لهذه المرحلة هو الحصول على مزرعة نسيجية تحتوي على الجزء النباتي المفصول من النبات

الأم بصورة معقمة بحيث لا يحتوي هذا الجزء على اي ملوثات مرضية ويكون محتفظاً بحيويته التي تمكنه من النمو في هذه المرحلة ثم التطور في المراحل اللاحقة (شكري و المعيقل،2013).

يعتمد اختيار المادة الكيمياوية المستخدمة وتركيزها والفترة الزمنية اللازمة للتعقيم على الاجزاء النباتية المراد تعقيمها وتحدد حسب ظروف التجربة، ومن أهم شروط اختيار المادة المعقمة هي درجة فعاليتها في التعقيم وسهولة ازالتها بعد انتهاء فترة التعقيم (Johns ، 2019)، ومن خلال مراجعة الدراسات السابقة فان هناك عدة معقمات تستخدم لتعقيم الاجزاء النباتية وهي هايبوكلورات الصوديوم، هايبوكلورات الكالسيوم، بيروكسيد الهيدروجين، كلوريد الزئبق، نترات الفضة، الكحول الاثيلي والمضادات الحيوية (Al Ghasheem واخرون، 2018)، اكثر المعقمات استخداما هو محلول هايبوكلورات الصوديوم الذي يتحلل ويعطي الكلور وهو العامل الفعال في التعقيم ويعطي هيدروكسيد الصوديوم الذي يمكن ازالته بسهولة فضلا عن توفره بالأسواق (Sathyanarayana و Varghese، 2007).

أشارALMasoody و Stanica (2015 a) الى ان تعقيم القمم النامية لنبات إكليل الجبل باستخدام تراكيز ومدد مختلفة من هايبوكلورات الصوديوم، وجد ان التركيز 3% لمدة 15 دقيقة ومن ثم الغسل بالماء المقطر المعقم للتخلص من اثار المادة المعقمة أعطت نتائج جيدة، و وجد ALMasoody و Stanica ، (2015 b) أن تركيز 1% من هايبوكلورات الصوديوم لمدة 15 دقيقة كان فعالاً في القضاء على الملوثات المتواجدة على السطح الخارجي لأوراق نبات إكليل الجبل، وفي دراسة اجريت من قبل (Husain و Jawad، 2019) على نبات إكليل الجبل تمت معاملة الجزء النباتي (البرعم القمي والبرعم الطرفي) بهايبوكلورات الصوديوم بتراكيز مختلفة لمدة 15 دقيقة، وجد ان التركيز 2% من المادة المعقمة اعطت اقل نسبة تلوث دون أن تؤثر على حيوية الجزء النباتي، وبين Coskun واخرون (2019) ان التركيز 2% من NaOCl ولمدة 10 دقيقة ثم الغسل عدة مرات بالماء المقطر المعقم كان فعالا في التعقيم السطحي لأجزاء نباتية مختلفة من نبات إكليل الجبل لغرض استحثاث الكالس.

6-2 منظمات النمو النباتية

منظمات النمو النباتي هي مركبات عضوية غير غذائية تصنع طبيعيا أو صناعيا تسبب تغيرا في نمو النبات وتطوره ، وهي إما أن تكون محفزات أو مثبطات نمو فعرفت منظمات النمو النباتية بسيطرتها على العمليات الفسيولوجية والكيموحيوية من خلال عمليات الأيض الاولية والثانوية وتستخدم منظمات النمو النباتية حاليا بشكل كبير للسيطرة على (تحفيز أو تأخير) عمليات النضج والشيخوخة في النبات (Rademacher، 2015) . كما ان منظمات النمو النباتية المضافة الى الوسط الغذائي تؤدي دورا

رئيسيا في تحديد الهدف المطلوب من زراعة الأنسجة النباتية ولا سيما عمليات التشكل خارج الجسم الحي (in vitro morphogenesis) (Aliyu ،2005).

تعرف الاوكسينات بأنها مجموعة من الأحماض العضوية ذات الأوزان الجزيئية العالية ، تحدث تأثيراً كبيراً في العمليات الفسلجية في النبات عند استخدامها بتراكيز قليلة جداً وذلك عبر تشجيع أو تثبيط أو تحوير احدى العمليات الفسلجية في النبات، وتُعد المرستيمات القمية والبراعم الجانبية والأوراق الفتية أهم مراكز بناء الاوكسينات ، تشتمل الاوكسينات على انواع عدة، منها الطبيعية مثل Indole Acetic Acid (IAA) والصناعية مثل Naphthalene Acetic Acid (NAA) وIndole Butric Acid (IBA) وDichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) (Davies ،2010).، ولها عمل في تحفيز الأنزيمات المسؤولة عن بناء الجدار الخلوي وتحلله ومن ثم التأثير في الخصائص الميكانيكية له (Taiz و Zeiger ،2010) و تحفيز ليونة الجدار الخلوي من طريق كسر روابط الجدار الخلوي واعادتها تحت تأثير الضغط الانتفاخي مما يسهم في زيادة حجم الخلية واتساعها (Hopkins و Hiiner، 2009) واستطالة الخلايا وتطور الأعضاء أو تكوينها (Depuydt و Hardtke ، 2011) و لها دور في تكوين الجذور (Roychoudhry و Kepinski ، 2022).

تعد السايتوكانينات قواعد نتروجينية ذات أوزان جزيئية عالية لها تأثيرات فسيولوجية عديدة في النبات (Hluska واخرون،2021)، إذ انها تشجع انقسام الخلايا النباتية وتمايزها ونمو البراعم الابطية وتعمل على تحويل الخلايا البرنكيمية إلى خلايا مرستيمية (Jacqmard واخرون، 2019)، وقد أشارت الدراسات العلمية إلى أن السايتوكاينينات تنتج في النبات طبيعياً مثل الزياتين والكاينتين او تصنع مختبرياً مثل Benzyl Adenine (BA) وThidiazuron (TDZ) (Wybouw وDe Rybel ، 2019).

2- 6 -1 تأثير الجزء النباتي ومنظمات النمو في نشوء و تضاعف الأفرع الخضرية

تختلف الأجزاء النباتية التي يتم اختيارها لنشوء مزارع الأفرع الخضرية أو استحثاث الكالس باختلاف مصادرها، فقد أشارت الدراسات السابقة إلى أن الغرض من اختيار الاجزاء النباتية المختلفة اما لإنتاج نباتات او لإنتاج المركبات الايضية. حيث أكد الكثير من الباحثين في مجال زراعة الانسجة على العلاقة الوثيقة بين تركيز السايتوكاينينات و الاوكسينات في الوسط الغذائي المستخدم من جهة وبين طبيعة نمو الجزء النباتي المزروع في ذلك الوسط وتخصصه من جهة اخرى فالاوكسينات مسؤولة عن استطالة الخلايا وتطور الاعضاء او تكوينها كما لها دور في تكوين الجذور و تؤدي السايتوكاينينات وظيفة مهمة في زراعة الأنسجة إذ أنها تشجع

الانقسام الخلوي للأنسجة النباتية وتمايزها ونمو البراعم الابطية (Gaspar واخرون ،1996). ولبيان دور الاوكسينات والسايتوكاينينات في زراعة الانسجة وتضاعف الزروعات اجريت العديد من الدراسات حول ذلك. ففي دراسة لوحظ أن BA هو الأفضل في زيادة عدد التفرعات الناتجة من كالس نبات المريمية *saivia officinalis* (Tawfik و Mohamed ، 2007) ويعد BA الأكثر كفاءة في اعطاء فروع لنبات الترنجان *Melissa officinalis* مقارنةً مع NAA وIBA (Meftahizade واخرون،2010).وفي دراسة على نبات الترنجان Melissa officinalis اوصى Mohebalipour واخرون (2012) باستعمال توليفة الى الوسط MS تحتوي على تركيز 3ملغم لتر$^{-1}$ BA و NAA بتركيز 1 ملغم لتر$^{-1}$ لزراعة قمم نامية لنبات الترنجان خارج الجسم الحي للحصول على عدة تفرعات وقد وجد Leelavathi و Kuppan (2013) عند اكثار نبات إكليل الجبل خارج الجسم الحي ان استخدام BA بتركيز 8.88 مايكرومول مع 2.85مايكرومول من IAA كانت مناسبة جدا لتحفيز نمو وتضاعف الأفرع الخضرية الناتجة من الزراعة النسيجية للبرعم القمي والابطي. بينت Husain و Jawad (2019) ان أفضل استجابة لنشوء القمم النامية وتضاعفها كانت باستخدام الـBA بتركيز 0.5 ملغم لتر$^{-1}$ مع الـNAA بتركيز 0.1 ملغم لتر$^{-1}$ لتأسيس المزرعة النسيجية مقارنة مع البراعم الجانبية.

2-6-2 تأثير الجزء النباتي ومنظمات النمو في استحثاث الكالس

ان الغاية من انتاج الكالس هي التي تحدد بقاء الكالس المستحث من دون تمايز ويتم نقله الى أوساط غذائية جديدة من أجل نموه وديمومته أو يتمايز الكالس مكوناً أجزاء خضرية وجذور بعد نقله الى أوساط غذائية اخرى مناسبة لهذا الغرض (George اخرون، 2007). فإضافة التراكيز العالية من الاوكسينات في مرحلة الاستحثاث تؤدي الى انخفاض نسبة التمايز في الكثير من النباتات، وان اضافة السايتوكاينينات مع الاوكسينات في مرحلة الاستحثاث تزيد من قابلية تمايز الكالس الى نموات خضرية، وأكثر الاوكسينات استعمالاً لاستحثاث الكالس هي 2,4-D , IAA, NAA ولكن يعد 2,4-D أكثرها تحفيزاً في استحثاث الكالس (George ،1996) .يمكن الحصول على مظاهر مختلفة للكالس فقد يكون صلبا او هش القوام ، وأحيانا يبدو الكالس ذا لون اصفر أو ابيض أو اخضر اعتمادا على القطعة النباتية المستخدمة في استحثاثه (Coleman ،2020)، ويعد اختيار الجزء النباتي المناسب اساسا لنجاح الزراعة النسيجية، وللحصول على الكالس يراعى اختيار الجزء النباتي وحجمه ومصدره وعمره البيولوجي، من الممكن اخذ الجزء النباتي من السلاميات Internods أو العقد Nodes أو الاوراق Leaves أو الفلق Cotyledons أو السويقة الجنينية تحت الفلق Hypocotyle أو الجذور Roots أو المتك Anther أو البويضات

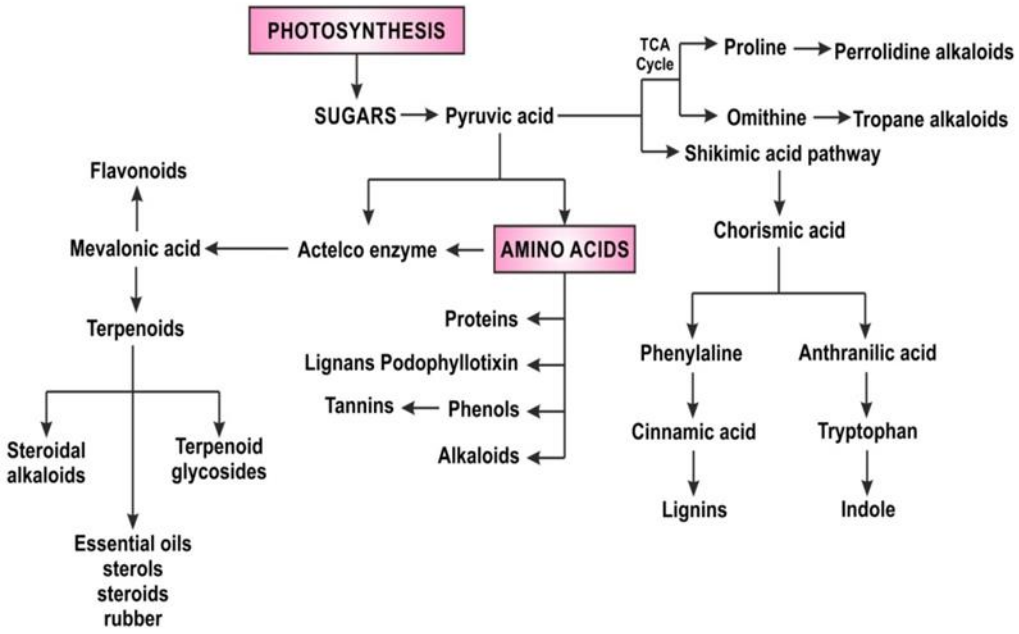
Ovules أو حبوب اللقاح Pollen grains أو غيرها (George واخرون، 2008). كما ان النسبة بين السايتوكاينين والاوكسين تسيطر أو تتحكم في نشوء الاعضاء من انسجة الكالس وكلاهما ضروري للمحافظة على مزارع الكالس, فعند وجود الاوكسين لوحده أو أن نسبة الاوكسين إلى السايتوكاينين عالية فأن مزارع الكالس تكُون جذور والعكس يكُون أفرع او يشجع على تكوين الأفرع (HopkinsوHùner، 2009).

في دراسة قام بها المرسومي (2010) لاستحثاث الكالس من أوراق نبات المريمية*Salvia officinalis* وحصل على أعلى وزن طري بلغ 0.32 غم عند اضافة 1 ملغم لتر$^{-1}$ من الـ D-2,4 و 0.2 من الـ BA الى الوسط MS ، وجدDong واخرون (2012) عند استخدام اوراق نبات إكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* لغرض استحثاث الكالس ان افضل نسبة كانت هي 50% عند استخدام التركيز 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ من BA مع 0.5 ملغم لتر$^{-1}$ من NAA ، كما وجد Leelavathi وKuppan (2013) عند اكثار نبات إكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* خارج الجسم الحي ان استخدام BA بتركيز 8.88 مايكرومول مع 2,4-D بتركيز 4.52 مايكرومول كانت مناسبة جدا لاستحثاث ونمو الكالس من الزراعة النسيجية للبرعم القمي ، بين الصميدعي (2017) أن مزارع الكالس لنبات إكليل الجبل انتجت Thymol بنسبة زيادة ستة اضعاف مقارنة مع النبات النامي في الحقل وكذلك مركب Apigenin سبعة اضعاف عند استخدام مزارع المعلقات الخلوية لإكليل الجبل بالمقارنة مع النبات النامي.

2-7 مركبات الايض الثانوي

وهي مركبات عضوية معقدة ذات أوزان جزيئية منخفضة توجد في بعض النباتات دون البعض الآخر أو قد توجد في جميع النباتات ولكن بنسب مختلفة تعرف بالمواد الايضية الثانوية Secondary metabolitesوهي نواتج عرضية لعمليات الايض الاولي كما يشير له شكل (2) تنتج النباتات عدداً كبيراً ومتغايراً من مركبات الأيض الثانوي تصل الى 100000 مركب تختلف عن بعضها في الوظيفة التي تقوم بها كوسيلة دفاعية أو دعامة ميكانيكية أو جذب الحشرات الملقحة أو مهاجمتها للأحياء الدقيقة المرضية او النباتات الطفيلية وآكلات الاعشاب (Taiz و Zeiger، 2006) (Taiz و اخرون ، 2017) . وتشير الدراسات الى الاهمية الواسعة لمركبات الايض الثانوي في صناعة الادوية والعقاقير الطبية ، وان اكثر من ربع الادوية المنتجة في العالم في العالم اخر ثلاثين سنة مشتقة من مركبات الايض الثانوي (Anand ، واخرون ، 2019) لقد اثبتت الدراسات الى امكانية تحفيز انتاج المركبات الثانوية في الاجزاء النباتية

المزروعة عن تعرضها للإجهاد الذي يتمثل بإضافة بعض المركبات الى الوسط الغذائي (Ramawat ، 2004) فقد تمكنت Skrypnik واخرون (2019) من تحسين انتاج المركبات الفينولية ومحتوى الزيت العطري والخصائص المضادة للأكسدة للريحان الحلو.*Ocimum basilicum* L عند اضافة السلينيوم اليه ،وقد تمكنت Ahmed واخرون (2020) من زيادة انتاج بعض مركبات الايض الثانوي لنبات العاگول *Silybum marianum* من خلال اضافة تراكيز معينة من حامض السالسليك .



شكل (2) بناء الانواع الرئيس لمركبات الايض الثانوية من مركبات الايض الاولية (Ramawat ،2004)

1-7-2 انتاج مركبات الايض الثانوي خارج الجسم الحي

أتاحت تقنية زراعة الانسجة فرصا عديدة لإنتاج مركبات الايض الثانوي بشكل مستمر و على مدار السنة اعتماداً على أنتاج مركبات ايضية مختلفة خارج الجسم الحي *In Vitro* (Raj وSaudagar ،2019). تتمكن الأجزاء المزروعة من انتاج مركبات ايضية مختلفة بنفس قيمتها النوعية لتلك المنتجة من النباتات الام (Tripathi واخرون ، 2019) وذلك لإمكانية السيطرة على الظروف البيئية ومكونات الوسط الغذائي

الذي يحتاجه الجزء النباتي المزروع (Schlatmann واخرون ،2020)،تشير الدراسات الى امكانية زيادة كمية المركبات الفعالة ذات الاستخدامات الطبية التي تنتجها أنسجة الكالس المستحثة من الاجزاء النباتية المفصولة والمزروعة خارج الجسم الحي. ففي عام 1998 قام Alves-Pereira و Fernandes-Ferreira باستخلاص الزيوت العطرية من الكالس المستحث من اوراق نبات المردقوش *Origanum Vulgare*. تمكنKaram واخرون (2003) من استخلاص rosmarinic acid من الخلايا المعلقة لنبات المريمية اليونانية *Salvia fruticosa* وحصل على أكبر كمية من Rosmarinic acid 5.1ملغم لكل 100 ملغم باستخدام الوسط MS المجهز ب 6.9 µM من TDZ و3 µM من IAA . قام Krajewska-Patan واخرون (2007) من استخلاص Phenolic acid من كالس نبات *Salvia milthiorrhiza* المستحث من الاوراق. اما الجبوري فقد تمكنت في عام 2006 من زيادة كمية التربينات المتكونة من كالس نبات المريمية *Salvia officinalis* المستحث من الاوراق والساق باستعمال الوسط MS المضاف اليه 0.05 ملغم لتر$^{-1}$ من 2,4-D و0.5 ملغم لتر$^{-1}$ من Kin و 100 مليمول من كلوريد الصوديوم. و تمكن Lee واخرون (2008) من استخلاص rosmarinic acid من كالس نبات *Agastacherugosa* المستحث من الاوراق باستعمال وسط MS مضاف اليه 2 ملغم لتر$^{-1}$ من 2,4-D . فيما تمكن Grzegorczyk وWysokinska (2008) من استخلاص Diterpenoid و Rosmaric acidمن الأفرع المتكونة خارج الجسم الحي عند زراعتها على وسط MSمضافا اليه 0.1 ملغم لتر$^{-1}$ من IAA و 0.45 ملغم لتر$^{-1}$ من BA من نبات المريمية *Salvia officinalis* . كما قام Kuźma واخرون (2009) باستخلاص الزيوت العطرية من نبات *Salvia sclarea*باستخدام تقنية زراعة الانسجة .

قام Bekircan واخرون (2018) بدراسة تأثير منظمات النمو النباتية في زيادة انتاج المركبات الطيارة و الفينولية لنبات الزعتر ابيض الشعر *Thymus leucotrichus* خارج الجسم الحي وقد لوحظ زيادة انتاج بعض المركبات الرئيسة مثل Rosmarinic acid للنباتات المضاعفة في المختبر وقد سجلت تركيز أعلى من محتوى النباتات البرية عند اضافة منظمات النمو .

كما اشارYao واخرون (2022) الى ان اضافة المثل جاسمونيت Methyl Jasmonate للمعلق الخلوي لنبات إكليل الجبل Rosmarinus officinalis قد زاد من تركيز حامض الروزمارنك Rosmarinic acid والكارنوسيك Carnosic acid.

2-7-2 الزيوت الطيارة

الزيوت الطيارة هي مستخلصات زيتية سهلة التطاير يمكن الحصول عليها من أوارق أو أزهار النباتات أو اجزاء منها المسؤولة عن إعطاء الرائحة المميزة للنبات وتتميز بسهولة فصلها من الاجزاء النباتية الحاوية عليها من خلال طريقة التقطير وطرق الاستخلاص الأخرى.

تعد الزيوت الطيارة مركبات هيدروكاربونية وهي خليط من مواد عضوية عديدة متفاوتة التركيب مثل الهيدروكاربونات والالديهايدات والكيتونات والكحولات والاسترات وغيرها، تتطاير في درجة حرارة الغرفة، بعضها يوجد في صورة حرة سائلة والقليل منها غير حر وصلب بسبب ارتباطها مع مركبات كلايكوسيدية أو راتنجية، منها ما هو عطري الاستخدام ومنها ما هو دوائي كما ليس لها القدرة على التصوبن مع القلويات (Butnariu ، 2021). ان الزيوت الطيارة تتميز بعطرها القوي ذات رائحة مميزه وطعم يشبه الكافور وتصنف على انها مركبات ثانوية في النبات وهي عديمة اللون أو مصفر (Yingngam، 2022) .

تعرف الزيوت الطيارة بالزيوت الايثرية نسبة لذوبانها في الإيثر وهي زيوت تتبخر أو تتطاير من دون أن تتحلل وهو ما يميزها عن الزيوت الثابتة (Hailemariam ، 2016)، أو تعرف بالزيوت العطرية لروائحها الزكية ويستثنى منها قلة من الزيوت كزيت الليمون الذي يحتوي على مكونات غير متطايرة Fixed Oils ، وسميت بالزيوت الاساس Essential Oil لان الجسم يحتاجها ولا تستطيع المنظومة الأنزيمية الخلوية في جسم الإنسان من تصنعيها وتتكون الزيوت الطيارة بشكل رئيسي من التربينات الأحادية التي تعرف بأنها مواد أيضية تنتج خلال الأيض الثانوي للنبات بواسطة التمثيل الحيوي من Mevalonic acid و Methyl erthitol phosphate (Dhifi وآخرون ،2016)، تستعمل بعض النباتات الحاوية على الزيوت الطيارة كمواد مشهية كتوابل مثل الكزبرة والكمون والهيل (Kaushik وBarmanray ، 2022)، كما إن بعض الزيوت الطيارة لها خاصية طرد الحشرات كما في الزيت المستخرج من الكركم (Vineesh واخرون ، 2023) او استخدامها كمبيدات حشرية كما في الزيت المستخرج من اوراق الاوكالبتوس (Dhaouadi واخرون ، 2023)، كما تضاف الزيوت الطيارة إلى المشروبات الغازية والحلوى ولبعض الأطعمة والمأكولات لإعطاها نكهة جيدة (Brud ، 2020) ، بعض الزيوت الطيارة لها فعالية ضد البكتريا والفطريات والميكروبات الأخرى التي تصيب المواد الغذائية، لذا تستعمل لحفظ الأغذية (Al-Maqtari واخرون ،2022) ، الزيت الطيار لنبات إكليل الجبل يعد مهماً

طبياً ؛لأنه مضاد للأكسدة ومضاد للالتهابات ومضاد للجراثيم(Lešnik واخرون ، 2021).وتستعمل أيضاً في بعض المستحضرات الصيدلانية ؛ وذلك لإكسابها طعما لذيذاً ورائحة مقبولة ولا سيما في أدوية الأطفال وفي العلاج الطبي وذلك لقلة تأثيرها الجانبي الناتج من استخدامها بالمقارنة مع العلاجات والأدوية الكيمياوية بالإضافة الى احتوائها على مواد ذات تأثير طبي وغذائي جيد في صحة الانسان (Rani و Sharma،2022).

إن أماكن تخليق الزيوت الطيارة تختلف باختلاف الاجزاء النباتية , إذ انها تتكون كناتج عرضي لعمليات الايض, ففي نباتات العائلة الشفوية توجد في شعيرات غدية (الدركزلي ، 2005).و الشعيرات الغدية الموجودة على سطح البشرة تعطي النباتات الحاوية عليها خاصية دفاعية ضد الحشرات والامراض التي تهاجمها كما تتجمع التربينات الثنائية والثلاثية في داخل هذه الغدد وخارجها على سطح البشرة (Taiz و Zeiger، 2010).وتختلف تراكيز الزيوت الطيارة باختلاف الانسجة النباتية ونوع النبات وفي بعض الاحيان يرافق تكون الزيوت الطيارة داخل النبات تراكم المواد الراتنجية (Evans وTrease ،2002).

ويتم استخلاص الزيت بعدة طرائق اما عن طريق التقطير البخاري او التقطير المائي وهما الاكثر شيوعاً و استخداماً(Řebíčková واخرون ،2020),اوعن طريق استخدام أشعة المايكرويف او طريقة الفصل باستخدام الضغط العالي ، او الضغط الواطئ (Ferhat واخرون ، 2007). ان الزيوت الطيارة في بداية فصلها تكون عديمة اللون وعند حفظها بعد مدة تترسب او تتأكسد منها مواد راتنجية و قد يسْوّد لونها قليلاً لذا يجب حفظها في اماكن باردة وفي قنانٍ ملونة غامقة ويحكم غلقها بعد ملئها بالزيت لمنع اسودادها، وتتميز بقابليتها المحدودة على الذوبان في الماء ولكنها تذوب في الكحول (الشماع، 1989 و Okoh ،2010).ولاستخلاص الزيت الطيار من نبات إكليل الجبل (Rosemary) تم أتباع طريقة التقطير المائي Water distillation منذ عام 1330م من Rimodosloulous (Borges و آخرون ، 2019).

3-7-2 المركبات الفينولية

المركبات الفينولية واحدة من اكثر المركبات الثانوية شيوعا وانتشارا في المملكة النباتية , تمتلك في تركيبها البنائي(C_6H_5OH) على حلقة سداسية تحمل مجموعة واحدة أو أكثر من مجاميع الهيدروكسيل (Rappoport ، 2004) ، قسم ابو زيد (1986) الفينولات النباتية الى ثلاثة انواع تبعا لعدد مجموعات الهيدروكسيل التي تحتويها وهي كما يأتي :-

أ- الفينولات الأحادية Monophenols

ب- الفينولات الثنائية Diphenols

جـ - الفينولات المتعددة polyphenols

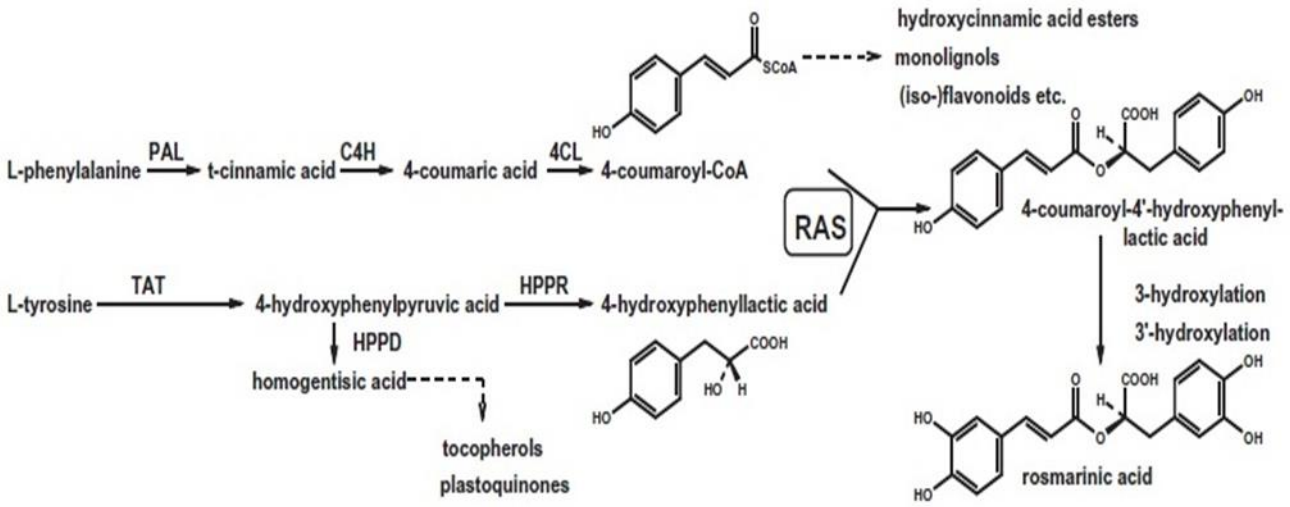
توجد المركبات الفينولية في النبات فقط وتكون على شكل استرات esters او كلايكوسيدات glycosides (اتحاد جزيئتين احداهما سكر كلوكوز ويسمى الجزء السكري glycon والاخر غير سكري aglycon الذي يكون عادة جزيئة فينول أو مواد أخرى (Kandar ،2021). تتباين المركبات الفينولية النباتية في تركيبها الكيميائي فبعضها يذوب في المذيبات العضوية فقط والاخر يذوب في الماء مثل الاحماض الكاربوكسلية و الكلايكوسيدات ومجموعة اخرى من الفينولات تكون على شكل بوليمرات غير ذائبة , والمركبات الفينولية لها ادوار دفاعية ضد الحيوانات والمسببات المرضية والطفيليات و يمكن ان تضيف اللون والطعم والرائحة للنباتات التي تحتويها (Taizو Zeige ،2010) , وهناك عدد من المركبات الفينولية الموجودة في النباتات لها نشاطات مانعة للتأكسد (مضادة للسرطان) ومضادة للجراثيم ولها خصائص وقائية للجلد (Zeng وآخرون ، 2022) .

1-3-7-2 حامض الروزمارنك Rosmarinc acid

يعد حامض الروزمارنك المركب الرئيس المشترك بين أعضاء العائلة الشفوية (Lamiaceae) والخيمية(Apiaceae) ونبات لسان الثور (Boraginaceae) (Ramawat وMerillon،2008) اضافة الى 12 عائلة نباتية اخرى تحتوي على هذا المركب المهم حيث يتراكم حامض الروزمارنك في خلايا الكالس والمعلق الخلوي في نباتات العائلة الشفوية، ففي دراسة قام بها الباحث Perra وآخرون (2022) بينوا ان المركب الرئيس المستخلص من نبات اللافندر *Lavendola angustifolia* L. هو حامض الروزمارنك فضلاً عن حوامض اخرى تتواجد بكميات قليلة جداً مقارنة بهذا المركب المهم.

وبناءً على ما جاء به بعض الباحثين (Soraki واخرون، 2021 و Ramawat وMerillon، 2013) حيث أشاروا إلى أن حامض الروزمارنك يتم تخليقه من كل من الفنيل الانين والتايروسين (شكل 3) أشارت عدد من الدراسات الى أن زراعة المعلق الخلوي لنبات المريمية *Salvia officinalis* يؤدي الى زيادة في كمية الحامض المنتجة تحت ظروف محفزة مثل اضافة السالسليك اسد ، وتوصل عدد من الباحثين عند اجراء تجاربهم على نباتي إكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* والمريمية *Salvia officinalis*

بهدف الوصول الى الجزء النباتي المناسب لإنتاج اكبر كمية ممكنة من حامض الروزمارنك الى ان انتاج الحامض كان اعلى ما يمكن في طريقة زراعة المعلق الخلوي Cell suspension culture تليها النموات الخضرية Shoot ومن ثم الكالس Callus (Kuhlmann و Rohl ، 2006 و Khojasteh و آخرون،2020).



شكل (3) مسار البناء الحيوي لحامض الروزمارنك (Petersen و اخرون ،2009).

8-2 حامض السالسليك Salicylic acid

السالسليك او 2-hydroxybenzoic acid هو حامض عضوي فينولي ذو طبيعة هرمونية ينتج بشكل طبيعي في قلف واوراق شجرة الصفصاف Salix tree ويستعمل كمنظم نمو طبيعي , وقد اشتق اسمه من الكلمة اللاتينية Salix وهي اسم الجنس لأشجار الصفصاف Salix spp. , وحامض السالسليك ذو الصيغة الكيميائية $C_6H_4(OH)COOH$ يكون على شكل بلورات ذات لون شاحب يشتق من عمليات الايض لمركب Salicin ويكون مشابهاً للأسبرين Aspirin (وهو الاسم التجاري لمركب Acetyl salicylic acid) من الناحية الكيميائية الا ان فعاليته لا تشابه فعالية الاسبرين (الخفاجي ، 2014). ويعمل على زيادة قدرة النبات على تحمل الاجهادات الناتجة عن الارتفاع والانخفاض الشديد في درجة الحرارة (Saeed وآخرون ، 2023) وارتفاع الملوحة (Youssef وآخرون ، 2023) والعناصر الثقيلة (Talabany وAlbarzinji ، 2023). كما ان للسالسليك دوراً مهماً في مقاومة النباتات للمسببات المرضية (Li واخرون ،2023). وله تأثير حافظ للثمار لغرض اطالة فترة الخزن (Meng واخرون

،2023) كذلك له تأثيرات مهمة على العمليات الفسيولوجية المتعلقة بنمو وتطور النباتات تحت الظروف الاعتيادية (من دون اجهاد) منها السيطرة على امتصاص وانتقال الايونات ونفاذية الاغشية الخلوية والاسراع في تكوين صبغات الكلوروفيل والكاروتين وتسريع عملية البناء الكربوني وزيادة نشاط بعض الانزيمات المهمة (Hayat وآخرون ،2007). استعمل السالسليك محفزاً فعالاً في تكوين المركبات الثانوية داخل النباتات (Rodas-Junco واخرون ،2020)ولحامض السالسليك دوراً مهماً في بناء الفينولات وذلك من خلال زيادة نشاط الانزيم Phenylalanine ammonia-Lyase (PAL) الذي يؤدي الى زيادة تراكم المركبات الفينولية واللكنين (Sharma وآخرون ، 2023) . أشار Banu (2013) الى ان حامض السالسليك يزيد من محتوى الاوكسينات والسايتوكاينينات مما ينعكس على زيادة قوة النمو الخضري فهو يمنع اي انخفاض بالسايتوكاينينات و الاوكسينات ويعمل على تراكم الكلوروفيل .

1-8-2 تأثير اضافة حامض السالسليك SA في انتاج المركبات الثانوية

بينت العديد من الدراسات وجود علاقة بين حامض السالسليك وقدرة النباتات على تحمل الإجهادات المختلفة الحيوية وغير الحيوية (Wahab واخرون ،2022) ، فله دور في عملية تنظيم الإشارة SignalTransduction في أثناء عملية التعبير الجيني Gene Expression (Vernooij وآخرون، 1994) ، فهو يحسن معدل التحول الغذائي للكربون تحت الضغط الأسموزي ،ففي وجود الحامض سيحصل تراكم مواد مختلفة مثل السكريات والكحولات والبرولين (Miura وTada، 2014). إن التجهيز الخارجي لحامض السالسليك يؤدي إلى اختزال التأثيرات الضارة للشد ويحث مقاومة النباتات للإجهاد البيئي (Tariqو Ahmed ،2023).كما أن له دوراً في غلق الثغور في اثناء الاجهادات (Malamy واخرون ،1990)، كما ذكر في عدد من الدراسات التي أوضحت أن الاضافة الخارجية لحامض السالسليك تؤدي إلى تشجيع النمو والتقليل من تثبيط النمو الناتج عن ظروف الشد البيئي اللاحيوي A Boitic Stress في عدد من المحاصيل الزراعية (Hara وآخرون،2012 و Vaishnav و Chowdhury ،2023).

ان تركيب الوسط الغذائي له تأثيرات عميقة على نمو الخلايا وتراكم نواتج الايض الثانوي لكن العديد من هذه النواتج لا ترتبط بنمو الخلايا ، وان Elicitiation التي تعني معاملة الخلايا النباتية مع مواد نازعة حية أو غير حية (عوامل اجهاد) ، حيث تعتبر وسيلة فاعلة لتحسين إنتاج مواد الايض الثانوي في زراعة الأنسجة النباتية ، هذه الاستراتيجية تعمل على أساس أن هذا التراكم هو جزء من ردود فعل دفاعية للنباتات

ضد الإصابات المرضية والاجهادات البينية ، ويعد SA من العوامل التي تحفز استجابة النبات الدفاعية أي انه يعمل عامل إجهاد حيث يحفز انتاج المركبات الثانوية (Nazir واخرون ،2021) ولحامض السالسليك دور مهم في بناء الفينولات وذلك من خلال زيادة نشاط الانزيم Phenylalanine ammonia-Lyase (PAL) الذي يؤدي الى زيادة تراكم المركبات الفينولية واللكنين (Ejtahed وآخرون ، 2015) . بين Yao و Tian (2005) ان حامض السالسليك حفز تكوين المركبات الفينولية وبناء مواد متعددة الفينولات polyphenolic في ثمار نبات الكرز الحلو sweet cherry.

اشار Abdolahzadehzaviehjakواخرون (2012) الى ان اضافة حامض السالسليك على ثلاث نباتات من العائلة الشفوية وهي كل من إكليل الجبل والميرمية والنعناع قد ادى الى وجود زيادة عالية المعنوية لكمية الزيت الاساسي بين المعاملة بالسالسليك ومعاملة المقارنة وقد عزى ذلك إلى أن حمض السالسليك قد يغير مستوى الزيت الأساسي عن طريق التحكم في مسارات التمثيل الغذائي.

وأكد Ali وHawa (2012) إن حامض السالسليك يحفز إنتاج المركبات الفينولية في نبات الزنجبيل *Zingiber officinale*، وله تأثير سلبي في نمو المزارع الخلوية وهذا ما أكده(Bulgakov وآخرون، 2002).ان التراكيز العالية للسالسليك تؤثر سلبا في العمليات الفسيولوجية إذ أن زيادة تراكيزه في الوسط الغذائي تؤدي إلى انخفاض الوزن الجاف والرطب للأفرع.

اشار Ghasemzadeh و اخرون (2012) في دراستهم لمعرفة تأثير حامض السالسليك بتركيز(0 , 90 , 140ملغم لتر$^{-1}$) في نبات الزنجبيل *Zingiber officinale* الى ان زيادة تركيز الحامض من 90ملغم.لتر$^{-1}$ الى 140ملغم.لتر$^{-1}$ادت الى زيادة محتوى النبات من الفلافونيدات وكذلك الى زيادة معدل الكربوهيدرات الذائبة .

اشار Banu(2013) الى أن اضافة حامض السالسليك ستؤدي الى زيادة انتاج مركبات Withanolides من نبات سم الفراخ .*Withania somnifera* L، إذ ان التراكيز العالية من الحامض تعمل على زيادة الوزن الجاف لأوراق نبات سم الفراخ، إذ كلما زاد الوزن الجاف للمجموع الخضري زادت كمية المركبات الفعالة في مستخلص الأوراق المعاملة بحامض السالسليك .

لاحظ Al-Oubaidi و Ameen (2014) في دراسة لبيان إضافة حامض السالسليك بتركيز (200 ملغم لكل لتر) على نبات الاقحوان *Calendula officinalis* ان هناك تأثيراً معنوياً على صفات الايض الثانوي (الزيوت الاساس) عند هذه الاضافة خارج الجسم الحي .

بينت El-Housini وآخرون (2014) ان التركيز100 ملغم.لتر$^{-1}$ من حامض السالسليك الذي رش بأربعة تراكيز (0او50او75او100ملغم لتر$^{-1}$) على نبات ورق السكر *Stevia rebaudiana* أعطى أعلى قيم معنوية في عدد الأفرع وعدد الاوراق و المساحة الورقية والوزن الطري والجاف للأوراق , كذلك أعطى زيادة معنوية في النسبة المئوية لمركب stevioside في الأوراق.

لاحظ Al-Abbasi وآخرون (2015) عند رش نبات الزينيا *Zinnia elegans* بحامض السالسليك (0 او 25 او 50 ملغم. لتر$^{-1}$) ، لاحظ ان التركيز 50 ملغم. لتر$^{-1}$ اعطى زيادة معنوية في صفة ارتفاع النبات وعدد الاوراق و المساحة الورقية و الوزن الجاف للأوراق ومعدل الكلوروفيل و عدد الجذور و الوزن الجاف للجذور وعدد الأزهار.

بين Golkar واخرون (2019) تأثير اضافة حامض السالسليك بتركيز 50 و 100 ملغ لتر$^{-1}$ الى الوسط الغذائي لغرض زيادة مركبات الايض الثانوي لكالس نبات العصفر safflower حيث ادى الى زيادة تركز الفينولات و الفلافونيدات فيه .

كما بين Salih Abbass واخرون (2019) ازدياد تركيز اغلب المركبات الكلايكوسيدية الانثراكينونية قيد الدراسة لنبات الاوليفيرا *Aloe vera* عند اضافة حامض السالسليك بسبب كون حامض السالسليك قد زاد من نشاط النبات وقوة نموه الخضري من خلال تأثيره في عملية فتح وغلق الثغور وتنظيم عمل الانزيمات والاغشية الخلوية ومقاومة الاجهاد البيئي وحماية النبات من عوامل الاكسدة .

كما بين Skrypnik واخرون (2022) إلى أن الاضافة الخارجية لحامض السالسليك على ثمانية أنواع نباتية عائدة للعائلة الشفوية Lamiaceae ادى الى زيادة المركبات الفينولية لسبعة أنواعٍ منها وزيادة حامض هيدروكسي سيناميك hydroxycinnamic acids في ستة انواع منها وقد سجل نبات اللافندر Lavender اعلى استجابة لحامض السالسليك للأنواع قيد الدراسة .

اشارAli وAl-atrakchii (2022) الى ان رش نبات إكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* بحامض السالسليك بتركيز 300 ملغم لتر$^{-1}$ قد زاد من تركيز الزيوت الطيارة .

9-2 الأشعة فوق البنفسجية Ultra Violet

الأشعة فوق البنفسجية (Ultra-violet (UVعبارة عن أشعة غير مؤينة تمتلك فوتوناتها طاقة عالية تكفي لحدوث انتقال الإلكترونات بيـــــن مدارات ذرات الجزيئات المكونة للمادة التي تعرضت للإشعاع، وبذلك تنتقل هذه الذرات من الحالة الأصلية إلى الحالة المتهيجة وتقسم الأشعة فوق البنفسجية إلى ثلاث فئات الأولى هي UV -A طولها الموجي (315 – 400 نانوميتر) والثانية UV -B طولها الموجي (280-315 نانوميتر) ولهاتين الفئتين تأثيرات بايولوجية عديدة في النبات، أما الفئة الثالثة فهي UV-C طولها الموجي (< 280 نانوميتر) وهي لا تؤثر بيئياً بسبب امتصاصها من قبل اوكسجين وأوزون الجو (Stapleton ، 1992). علماً بأن هناك العديد من العوامل التي تسيطر على فعالية هذه الأشعة منها زمن التعريض وشدة الأشعة ونفوذية المادة المُشَعَعَة (Kovacs وKeresztes ، 2002). ان طيف الأشعة فوق البنفسجية له تأثيرات مفيدة أو مضرة للنباتات فقد تمكن العلماء من تحديد كيفية تخريب الأشعة فوق البنفسجية للنباتات .اذ انها تدمر المادة الوراثية في الخلية النباتية، فيفقد النبات مخزونه من الشفرات السرية التي تنظم عملياته الحيوية، وفضلاً عن ذلك فان تلك الأشعة تحطم صبغة الكلوروفيل التي بدونها لا يستطيع النبات استقبال طاقة الشمس الضرورية لإتمام عملية البناء الضوئي ومن ثم يؤثر في نمو الخلايا النباتية ومن ثم يكون النقص في الانتاج وللتقليل من التأثير المدمر للأشعة فوق البنفسجية فان بعض النباتات يعمل على انتاج كميات كبيرة من مركبات عديمة اللون لها القدرة الكبيرة على امتصاص الأشعة فوق البنفسجية وحماية النبات منها .هناك مجموعة أخرى من النباتات لها أوراق مغطاة بمادة شمعية تعكس الأشعة الشمسية فلا تتأثر بها كثيراً، ومجموعة ثالثة من النباتات يغطي نفسه بزوائد تشبه الزغب أو الوبر تعمل على امتصاص جزء كبير من الأشعة وتجنب النبات تأثيرها الضار، أما المجموعة الرابعة فقد وفرت لنفسها سلاحا كيمائيا ضد الأشعة فوق البنفسجية اذ أنها تفرز مركبات كيمياوية تعمل من خلال تفاعلات معقدة على اصلاح ما أفسدته الأشعة واعادة صلاحية جزيئات مادة الحامض النووي(Hollósy ،2002)، وللأشعة فوق البنفسجية تأثيرات نافعة يمكن ان يستغلها النبات منها تقليل المساحة الورقية وزيادة سمك الورقة وهنا بالرغم من قلة مساحة الورقة الا أن الانتاج يزداد نتيجة لزيادة سمك الورقة ومن ثم زيادة المواد الغذائية .والمعاملة بالأشعة فوق البنفسجية يقلل من مساحة الخلايا ويزيد عددها ومن ثم يزيد من سمكها وتحدث العملية السابقة نتيجة لتأثير الأشعة فوق البنفسجية في نشاط البيروكسيديز ، ان زيادة نشاط الأشعة فوق البنفسجية يؤثر في توسع الخلية ليؤثر ذلك بالتبعية في الخواص الميكانيكية للجدار الخلوي ومن ثم يؤدي التعرض الزائد للأشعة فوق البنفسجية الى نقص المساحة الخلوية وبالتالي تقليل استطالة الساق .وذلك لتأثير تلك الأشعة على الهرمونات الداخلية في النبات ومن ثم يمكن اعتبار الأشعة فوق البنفسجية أداة لتقسية النبات لعملها

على زيادة السمك وتقلل الطول وزيادة التفريع(Robson واخرون ، 2019) ، كما تزيد من انتاج مركبات الايض الثانوي في الخلايا عن طريق تحفيز الخلايا على الانتاج مع زيادة القدرة على الحفظ وزيادة الكتلة الحيوية ومحصول الزيت مع جعل الطعم أقوى وأفضل .ويأمل بعض العلماء أن ينجحوا في استخدام تقانات الزراعة النسيجية على النباتات لتكتسب القدرة على حماية نفسها من خطر الأشعة فوق البنفسجية وبالوقت نفسه الاستفادة منها لتحفيز النباتات وزيادة الانتاج(Alyas واخرون ،2023) .

وجدFrohnmeyer وStaiger (2003) أن تعريض النبات لجرع منخفضة (تحفيزية) من الأشعة (UV) عمل على تنظيم العمليات المورفولوجية والفسلجية، فالجرع الواطئة تحفز نمو جينات الحماية من الأشعة فوق البنفسجية مثل الجينات المسؤولة عن تكوين الفلافونيدات وغيرها من المركبات الفينولية التي تتراكم في طبقة البشرة وتوفر الحماية للنبات، اما المستويات العالية من الأشعة فتؤدي إلى ذبول النبات لقلة انتفاخ الخلايا وتقليل المحتوى المائي نتيجة لتقليل عدد وحجم أوعية الخشب ومن ثم تقليل الماء الممتص (Zlatev وآخرون، 2012). تمتلك النباتات آليات حماية للتقليل من أضرار الأشعة فوق البنفسجية نوع UV-B التي تصل إلى طبقة النسيج المتوسط Mezophyll منها تراكم الفلافونيدات التي تُعد مضاداً لتخفيف تأثير الأشعة، إذ تتكون الفلافينويدات في فجوات خلايا البشرة التي يتحفز تكوينها بكل من الضوء المرئي والأحمر والأزرق (Saewan وJimtaisong، 2013)، ومن وسائل الحماية الأخرى أنتاج النبات إنزيمات مضادة للأكسدة مثل Catalases و Peroxidases وSuperoxide dismutases من اجل كسح الجذور الحرة ROS وحماية الكيان الخلوي (Aitken وآخرون، 2007) . وقد أثبتت التجارب العلمية وجود نوعين من الإشارات التي تسببها الأشعة UV-B، أشارات غير محددة (Non-specific UV-B signaling) التي تؤدي إلى زيادة أنتاج صبغات الايزوفلافينويد والكومسترول، وإشارات محددة (SpecificUV-B) وبمسالك حيوية تؤدي الى حصول استجابات مورفولوجية ضوئية (Photomorphogenic responses) تختلف في تأثيرها عن الاستجابة التي تحدث نتيجة عمل الاجهادات (Brosche وStrid، 2003).

1-9-2 التأثيرات الفسلجية للأشعة فوق البنفسجية

تخفِف طبقة الغلاف الجوي (O_3) Stratospheric من وصول الأشعة فوق البنفسجية بطول أقل من 310 نانوميتر من الوصول إلى الأرض، وأن نقصان سمك هذه الطبقة سوف يسمح بنفاذ كمية أكبر للأشعة خاصة الحزمة UV-B للوصول إلى سطح الأرض. وعلى الرغم من أن نسبة أشعة UV-B تبلغ 0.5% من مجموع الإشعاع الشمسي، إلا أن الزيادة البسيطة في كمية ونوعية هذه النسبة تتسبب في انخفاض واضح في النمو والعمليات الفسلجية للعديد من النباتات الحساسة، فقد وجد أن نباتات C3 تكون أكثر حساسية لهذه الأشعة من نباتات C4 بسبب تقسية أو تخشب Sclerification أنسجة الورقة والترتيب

المتعامد للأوراق ووجود أغماد الأوراق التي تحميها أيضا، ويلاحظ في معظم الأنواع النباتية أن 70% من هذه الأشعة التي تصل إلى سطح الورقة تخفف قبل أن تصل إلى طبقة النسيج المتوسط Mezophyll (Kumari واخرون ، 2023). وتظهر النباتات الصحراوية Xerophytes درجة عالية من قدرتها على تخفيف أشعة UV-B بواسطة طبقة البشرة، وتعتمد قدرة البشرة في ترشيح هذه الأشعة على محتواها من الفلافونيدات التي يعمل تراكمها كمضاد جيد لهذه الأشعة (Kulandaivelu وآخرون،1991). تتكون الفلافونيدات في فجوات خلايا البشرة ويتحفز تكوينها بشكل كبير بكل من الضوء المرئي والأحمر والأزرق (Huang واخرون ،2022).وتمتلك النباتات آليات مختلفة لحماية الخلايا من التأثير الضار المتسبب عن الأكسدة الضوئية Photo-oxidation كتكوين الجزيئات الكابتة Quencher molecules والجذور الحرة Free radicals مثل $(O_2)^-$ و H_2O_2 و HO^-التي تزال بواسطة طرق انزيمية كإنزيماتSuperoxide- dismutase و Peroxidase و Catalase و Glutathione reductase أو بطرق غير انزيمية كتكوين Ascorbic acid و Glutathioneوكذلك تكوين الفينولات التي تعطي حماية من ضرر UV-B (Elstner،1982 و Wusigale وآخرون، 2021).. ووجد أن تعريض النبات لجرع منخفضة غير ضارة تحفز وتنظم العديد من التغيرات المورفولوجية والفسلجية والأحيائية فيه ، فالجرع الواطئة من هذه الأشعة تحفز تعبير العديد من الجينات بضمنها جينات الحماية من الأشعة فوق البنفسجية مثل الجينات المسؤولة عن تكوين الفلافونيدات وغيرها من المركبات الفينولية التي تتراكم في طبقة البشرة وتحمي النبات من الأشعة فوق البنفسجية (Lee و اخرون ، 2022). ومن أهم التأثيرات الفسلجية لتعرض النبات إلى الأشعة فوق البنفسجية هو انخفاض لبيـــدات أغشية الكلوروبلاست مثل Galactolipids عند تعرض العديد من النباتات لهذه الأشعة(Bornman،1989)، وتهدم منظم النمو IAAداخل النبات، وتحفيز إنزيمات الأكسدة المساهمة في استجابات النمو ، إضافة إلى تحفيز تلف الغشاء الخلوي الذي يحدث بسبب تكوين الجذور الحرة الداخلية التي تتسبب في أكسدة الدهون. في حين تتسبب المستويات العالية من أشعة UV-Bفي ذبول النبات بسبب قلة انتفاخ الخلايا Turgidity وقلة المحتوى المائي وتقليل عدد وحجم أوعية الخشب وبالنتيجة تقليل كمية الماء الممتص (Caldwell وآخرون، 2007) و يتقزم النبات وينخفض الضوء الفعال في التمثيل الكاربوني Photosynthetically active radiation(PAR) بسبب قصر المسافة بين العقد وتقليل عدد العقد وربما يعود السبب إلى تراكم الفلافينياتFlavins التي تقوم كمستقبلات ضوئية Photoreceptors لأشعة UV-Bالمسؤولة عن تثبيط نمو السلاميات (Ballareوآخرون،1995).وهناك احتمال حدوث تغيرات أو تلف في أجزاء من DNA الخلايا خاصة تلك التي تمتلك آليات ضعيفة لإصلاح نفسها أو حدوث تغيرات في استنساخ DNA الخلايا

عند التعرض لهذه الأشعة، وقد تحدث هذه التغيرات في وقت سريع ، وأن بعض مستويات هذا التغير يحدث خلال تعرض النبات للأشعة فوق البنفسجية لمدة ساعة واحدة(Kravets وآخرون، 2023) .
تعتبر الـ DNA من أكثر أجزاء الخلية تضرراً بهذه الأشعة بسبب وقوع طيف امتصاصها في منطقة الأشعة فوق البنفسجية، وأن جرع قليلة من هذه الأشعة كفيلة بقتل بعض الطفرات Mutant التي لها آلية ضعيفة لإصلاح الـ DNA المتضرر(Rastogi وآخرون، 2010). كما وتتسبب في تلف الأحماض النووية والبروتين (Xie و اخرون، 2019).

2-9-2 تأثير الأشعة فوق البنفسجية في زيادة انتاج مركبات الايض الثانوي

عند الرغبة في زيادة إنتاجية النسيج النباتي لمركب ما أو مجموعة من المركبات باستخدام الأشعة فوق البنفسجية UV يعتمد ذلك على عوامل عدة منها النوع النباتي و نوع النسيج المعرض للأشعة، وعلى المركب أو مجموعة المركبات المطلوب زيادتها وعلى شدة الأشعة ومدة تعريض النسيج النباتي لها أضافة لعوامل فسلجية أخرى كالمحتوى الرطوبي للنسيج النباتي (Piri وآخرون،2011).

وجد Hikosaka واخرون (2010) عند تعرض نبات النعناع الياباني *Mentha arvensis* L. var. piperascens المزروع باستخدام تقنية الزراعة المائية Hydroponics لأشعة UV-A/UV-B لمدة ساعتين باليوم خلال فترة الضوء ولمدة اسبوع الى زيادة المركبات الثانوية مثل المنثول l-menthol والليمونين limonene والقدرة الكلية المضادة للأكسدة(TAC) في الاوراق العلوية مقارنة مع معاملة المقارنة كما اشاروا الى ان زيادة مدة تعرض النباتات للأشعة فوق البنفسجية يزيد من كمية الزيت العطري والTAC للأوراق .
بينت Jaiswal وAgrawal (2021) عند دراسة تأثير الأشعة فوق البنفسجية UV-B على نوعين من نبات الكركم (C.caesia Roxb. and *C.* longa L.) حصول زيادة في تكوين الزيوت العطرية مثل 1,8-cineole .
بينت Semenova واخرون (2022) عند دراستها تأثير الأشعة فوق البنفسجية UV-A/UV-B على نبات الريحان الحلو *Ocimum basilicum* ان الاشعة سببت تحفيز في نمو الريحان و زيادة في كمية الزيوت الطيارة فضلا عن زيادة كل من α-guaiene و β-cubebene و α-bulnesene في حين سببت الأشعة UV-C تغيير تركيبة الزيت العطري.
كما اشار Aghdasi واخرون (2023) الى أن تعرض كالس نبات الخس المتموج *Lactuca undulata* الى الأشعة فوق البنفسجية من نوع B ادى الى تحقيق أعلى كميات من إجمالي الفينول

Total phenol وحمض السيكوريك Cichoric acid وحمض الكلوروجينيك Chlorogenic acid وحمض الكافيين Caffeic acid في عينات الكالس التي عولجت ب 20 و 40 دقيقة من الأشعة فوق البنفسجية B لمدة 10 أيام.

وجد Luis واخرون (2007) أن 31 كيلو جول م من الأشعة فوق البنفسجية UV-B (تعرض يومي مرتفع جدا) ضاعف تقريبا إجمالي محتوى الفينول لنباتات إكليل الجبل مقارنة بالنباتات المزروعة بدون الأشعة فوق البنفسجية UV-B. تضاعفت محتويات النارينجين Naringin وحامض الروزمارنك Rosemarinic acid والسيرسيماريتين Cirsimaritin وحامض الكارنوسيك Carnosic acid ، بينما أظهر الكارنوسول Carnosol زيادة بمقدار خمسة أضعاف. كان حمض الكافيين غائبا عمليا عن النباتات غير المشعة ، ولكنه كان موجودا بتركيز 3 ملغ غرام $^{-1}$ من الوزن الطازج في النباتات المشعة.

10-2 التشخيص الكمي والنوعي للمركبات الفعالة باستخدام تقانة HPLC

ان اكتشاف الفعالية الحيوية لمركبات الايض الثانوي والمستخلصات وعملية تشخيص موادها الفعالة تعتبر عملية مكلفة وتتحدد بالوقت إذ انها يمكن ان تأخذ اسابيع او اشهر او سنين وذلك اعتمادا على درجة تعقيد المركب المنشود، الا ان هذه العملية حاليا اصبحت سريعة بسبب التطور السريع الذي طرأ على الاجهزة المختبرية التي تساعد في عمليات اكتشاف وتشخيص هذه المركبات مثل جهاز(HPLC)

High performance liquid chromatography انسجاما مع التطور في جهاز Mass spectrometry وغيره من الاجهزة .تعد هذه التقنية كوسيلة لتقدير كمية ونوعية المركبات الأيضية الثانوية ومن ضمنها الزيوت الطيارة و الفينولات نظراً لقابلية هذه المنظومة على فصل مكونات مستخلص أجزاء النبات أو الكالس إلى مكوناتها مما يمكن من التعرف على المواد المطلوبة مقارنة بالعينات القياسية، حيث تستخدم المحاليل القياسية لمركبات الزيوت الطيارة والفينولات ،إذ حقنت في جهازHPLC لغرض تحديد زمن الاحتجاز Retention time ومساحة العينة Peak area وارتفاع الحزم على نحو منفرد لكل نموذج للتأكد على عدم وجود تداخل بينها تحت ظروف الفصل المستعملة حيث يتم قياس المركبات الموجودة في العينات عن طريق مقارنة مساحات حزم العينات مع مساحات الحزم للمادة القياسية وحسب تركيز المركبات (Meyer ،2013).

بين Almela واخرون (2006) امكانية تحليل المواد الفينولية لنبات إكليل الجبل باستخدام جهاز HPLC حيث استخدم عمود فصل Ultrabase C-18 25cm X4.6mm و mobile phase

(methanol, acetonitrile) ، كما امكن التعرف على المركبات الفعالة في نبات إكليل الجبل مثل Rosemarinic acid و Carnosic acid و Carnosol من قبل Choi واخرون (2019) بواسطة Column 4.6mm X 250mm ، و mobile phase يحتوي على 1% من Acetic acid و 99% من Water و سرعة جريان Flow rate 1 ml/min ، كما بين Li واخرون (2019) الكشف عن المركبات الفعالة مثل rosmarinic acid، carnosol، carnosic acid ، oleanolic acid ، ursolic acid في نبات إكليل الجبل باستخدم عمود فصل بأبعاد 4.6mm× 250 mm, 5 µm وmobile phase يحتوي على methanol و0.6% acetic acid in water و سرعة الجريان flow rate 1 mL/min .

3- المواد وطرائق العمل (Materials and methods)

أُجريت هذه الدراسة في مختبر زراعة الانسجة النباتية التابع لقسم البستنة وهندسة الحدائق كلية الزراعة - جامعة كربلاء للفترة من شهر اب 2021 الى شهر ايار2022 .

3-1 مصدر الاجزاء النباتية

تم الحصول على شتلات نبات إكليل الجبل من مشتل العتبة الحسينية المقدسة الواقعة في منطقة الحافظ لمحافظة كربلاء المقدسة بعمر سنة ونصف كما في الشكل (4) اختيرت الاجزاء الخضرية (القمم النامية – البراعم الجانبية) من النبات الام لغرض اجراء عملية الاكثار النسيجي .

شكل (4) نباتات إكليل الجبل الام المستخدمة في البحث

2-3 تحضير الوسط الغذائي :-

استخدم الوسط الجاهز MS (Murashige و Skoog، 1962) والمبينة مكوناته في الجدول رقم(1) المنتج من شركة Caisson Labs الامريكية الحاوي على المغذيات الكبرى والدقيقة والمدعم بالفيتامينات والكلايسين وبوزن 4.43غم .لتر$^{-1}$ في جميع مراحل التجربة. واضيف السكروز بمقدار 30 غم لتر$^{-1}$, واضيفت منظمات النمو النباتية بعد ان تم تحضير محاليل اساس حسب نوع التجربة ثم عدلت الدالة الهيدروجينية pH (potenz Hydrogen) الى 5,7 ± 1 وذلك باستخدام حامض الهيدروكلوريك HCL Hydrochloric واحد عياري او هيدروكسيد الصوديوم Sodium hydroxide NaOH ثم ُاكمل الحجم الى لتر وأضيف اكار من نوع (Agar-Agar) بمقدار 7 غم لتر$^{-1}$ الى الوسط ولغرض تجانس المكونات وذوبان الاكار سخن الوسط الغذائي باستخدام جهاز التسخين الهزاز Hot plate magnetic stirrer لحين التجانس ووزع بعد ذلك في أنابيب الزراعة (vialus) لغاية 10 مل وغطيت بالأغطية المناسبة لها.

جدول (1) مكونات وسط MS من الاملاح اللاعضوية المستخدمة في تحضير الوسط الغذائي

المجموعة	اسم المركب	الصيغة الكيميائية	التركيز(ملغم .لتر$^{-1}$)
النترات	نترات الامونيوم	NH_4NO_3	1650
	نترات البوتاسيوم	KNO_3	1900
الكبريتات	كبريتات المغنيسيوم المائية	$MgSO_4.7H_2O$	370
	كبريتات المنغنيز المائية	$MnSO_4.4H_2O$	22.3
	كبريتات الخارصين المائية	$ZnSO_4.7H_2O$	8.6
	كبريتات النحاس المائية	$CuSO_4.5H_2O$	0.025
الهاليدات	كلوريد الكالسيوم المائي	$CaCl_2.2H_2O$	440
	كلوريد الكوبلت المائي	$CoCl_2.6H_2O$	0.025
	ايوديد البوتاسيوم	KI	0.83
B-P-Mo	فوسفات البوتاسيوم	KH_2PO_4	170
	مولبيدات الصوديوم المائية	$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
	حامض البوريك	H_3BO_3	6.2
الحديد المخلبي	كبريتات الحديدوز المائية	$FeSO_4.7H_2O$	27.8
	المادة المخلبية	$EDTA-Na_2$	37.3

3-3 التعقيم

من الشروط الاساس لنجاح عملية زراعة الأنسجة النباتية التعقيم لكل ما يتعلق بعملية الزرع من الأجهزة والأدوات والأوساط الغذائية والأجزاء النباتية .

3-3-1 تعقيم كابينة الهواء الطبقي Laminar air flow cabinet :-

تم تعقيمها برش جدرانها الداخلية وأرضيتها بمادة الايثانول (70%) ومسحها بالقطن الطبي وبعد ذلك تم تشغيل شمعة الأشعة فوق البنفسجية UV لمدة 30 دقيقة قبل استخدام الكابينة لغرض الزراعة .

3-3-2 تعقيم أدوات العمل :-

جرى تعقيم جميع الأدوات المستعملة في عملية الزراعة من ملاقط ومشارط وزجاجيات بجهاز المؤصدة (Autoclave) بدرجة حرارة 121مْ وتحت ضغط 1,04 كغم/ سم^2 لمدة 20 دقيقة وبعد إخراجها وضعت الملاقط والمشارط في فرن التجفيف (Dryer oven) على درجة حرارة 50ºم ولمدة 24 ساعة .

عند الزراعة تم إدخال جميع متطلبات العمل داخل كابينة انسياب الهواء الطبقي المعقمة مسبقاً, أما الشفرات والملاقط فتعقم قبل البدء بالعمل و أثناء العمل باستخدام الكحول الأثيلي تركيز 98% مع الحرق, ويُستَعمل الكحول الاثيلي تركيز 70% في تعقيم الأيدي.

3-3-3 تعقيم الأوساط الغذائية :-

بعد تحضير الأوساط الغذائية وتوزيعها في أوعية الزراعة المخصصة لها ، عقمت بجهاز المؤصدة (Autoclave) على درجة حرارة 121 مْ وضغط 1.04 كغم/سم^2 لمدة 15 دقيقة وحفظت داخل منضدة انسياب الهواء الطبقي لحين الاستعمال .

3-3-4 التعقيم السطحي للأجزاء الخضرية:-

وضعت الاجزاء الخضرية (القمم النامية والبراعم الجانبية) تحت تيار من الماء الجاري لمدة 30 دقيقة في دورق زجاجي ومن ثم غُسلت بالماء و الصابون السائل (الزاهي) وبعدها غُسلت بالماء الجاري لضمان التخلص من الاتربة وبعض الملوثات السطحية ثم غسلت بعدها مرة واحدة بالماء المقطر بعدها نقلت الى كابينة انسياب الهواء الطبقي Laminar air flow cabinet. (تحت ظروف معقمة تماماً) . بعدها عقمت الاجزاء النباتية سطحياً بالكحول الاثيلي بتركيز 95% لمدة ثلاث ثوانٍ مع التحريك المستمر بعد ذلك غسلت مرة واحدة بالماء المقطر المعقم لمدة خمس دقائق مع التحريك المستمر لغرض ضمان ازالة تأثير الكحول الضار بعدها عقمت باستعمال القاصر التجاري (فاس) الحاوي على هايبوكلورات الصوديوم NaOCL بتركيز 6% وحُضرت منه تراكيز مختلفة عبر التخفيف و كانت التراكيز المستخدمة 1, 2, 3% وللمدد

5, 10, 15 دقيقة مع التحريك المستمر ثم غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات لضمان ازالة تأثير القاصر .

4-3 زراعة الاجزاء النباتية :-

قُطعت نهايات الاجزاء الخضرية لغرض ازالة الجزء المتضرر من مواد التعقيم ثم زرعت الاجزاء النباتية على وسط MS الخالي من منظمات النمو بواقع 10 مكررات لكل جزء نباتي و تركيز و حُضنت الزروعات في غرفة النمو بشدة اضاءة 1000 لوكس لمدة 16 ساعة / يوم على درجة حرارة 25 ± 2 سجلت النتائج المتمثلة بنسبة التلوث بعد اسبوعين من الزراعة.

5-3 مرحلة النشوء Initionation stage :-

بعد الحصول على افضل تركيز ومدة للتعقيم من نتائج التجربة السابقة (NaOCl بالتركيز 2% ولمدة 15 دقيقة) تم زراعة الاجزاء النباتية على وسط MS المجهز بتراكيز مختلفة من BA (0, 1, 2, 3) ملغم لتر$^{-1}$ بواقع 10 مكررات لكل جزء نباتي ، تم حضن الزروعات في غرفة النمو growth room على درجة حرارة 25مْ ± 2 واضاءة 1000 لوكس لمدة 16 ساعة يوم$^{-1}$ ، اخذت النسبة المئوية للاستجابة (نسبة البراعم المتفتحة) بعد 30 يوم من الزراعة وتم حسابها وفق المعادلة الاتية:-

$$\text{نسبة الاستجابة\%} = \frac{\text{عدد البراعم النامية}}{\text{العدد الكلي للبراعم المزروعة}} \times 100\%$$

6-3 مرحلة التضاعف Multiplication stage :-

بالاعتماد على نتائج المرحلة السابقة تم اختيار القمة النامية واستبعدت البراعم الجانبية لكونها الجزء النباتي الاكثر استجابة وتقطيع الأفرع بمعدل 2 سم وزراعتها على وسط MS المجهز بالـ BA (0, 1, 2, 3) ملغم لتر$^{-1}$ بالتداخل مع NAA (0, 0.1, 0.2, 0.4) ملغم لتر$^{-1}$ بواقع 10 مكررات لكل تركيز، تم حفظ الزروعات تحت الظروف نفسها المشار اليها سابقا ، اؤخذ مؤشرات الدراسة بعد خمسة اسابيع والتي تشمل

- عدد الأفرع (فرع نبات$^{-1}$)
- طول الأفرع (سم)
- عدد الاوراق (ورقة نبات $^{-1}$)
- الوزن الطري (ملغم)
- الوزن الجاف (ملغم)

7-3 تجربة تحفيز انتاج مركبات الايض الثانوي في مزارع الأفرع الخضرية :-

بعد اربعة اسابيع وبالاعتماد على افضل توليفة من مرحلة التضاعف تم تقطيع الأفرع بطول 2سم واعادة زراعتها subculture للحصول على اكبر عدد من النبيتات لغرض تنفيذ تجربة تحفيز انتاج مركبات الايض الثانوي

تم تعريض النبيتات الى أشعة UV نوع B للمدد (0, 10, 20) دقيقة وزراعتها على وسط MS المجهز بحامض السالسليك اسد بالتراكيز (0, 10, 20, 30) ملغم لتر$^{-1}$ وبوجود تركيز ثابت من الـ BA اذ بلغت 2ملغم لتر$^{-1}$ و NAA بتركيز 0.2ملغم لتر$^{-1}$ بواقع 10 مكررات لكل تركيز, تم حفظ الزروعات تحت الظروف نفسها المشار اليها سابقا ، واخذت مؤشرات الدراسة بعد خمسة اسابيع والتي تشمل:-

- عدد الأفرع (فرع نبات$^{-1}$)
- طول الأفرع (سم)
- عدد الاوراق (ورقة نبات $^{-1}$)
- الوزن الطري (ملغم)
- الوزن الجاف (ملغم)
- تقدير الكلوروفيل (ملغم)

قدرت صبغة الكلوروفيل باتباع طريقة (Goodwin، 1976) وكالاتي :

اخذ 1 غم من النموات الخضرية النامية في مجال زراعة الانسجة ووضعت في هاون خزفي وأضيف لها 9 مل من الاسيتون 85 % ثم سحقت الأنسجة النباتية لحين الحصول على بقايا عديمة اللون ، رشح المحلول بورق الترشيح الى انبوبة حجمية واكمل الى الحجم 10 مل باستخدام الاسيتون نفسه ، سحب 1مل من المحلول واجري له التخفيف المناسب ، سجل الامتصاص الضوئي للمحلول على طول موجتين 663 و 645 نانوميتر باستخدام جهاز ال Spectrophotometer ، حسب المحتوى الكلي للكلوروفيل وحسب المعادلة الآتية : Total chlorophyll mg / l = 20.2D (645) + 8.02D (663)

حيث ان D = قراءة الجهاز

- تقدير نسبة السكريات الكلية (ملغم)

اتبعت طريقة Herbert واخرين (1971) المسماة طريقة الفينول حامض الكبريتيك . حيث اخذ 0.1 غم من العينات المطحونة ووضعت في انبوبة اختبار جافة واضيف لها 10 مل من الكحول الاثيلي تركيز

70 % ، وبعد الرج الجيد وضعت الانابيب في جهاز الطرد المركزي لمدة 10 دقائق وعلى سرعة 1500 دورة / دقيقة ، اخذ 1 مل من الراشح الى انبوبة اختبار واضيف له 1 مل من كاشف الفينول ذي تركيز 5 % مع 5 مل من حامض الكبريتيك 99 % . مزج الخليط جيدا وحضن في حمام مائي على درجة حرارة (25- 30) م لمدة 20 دقيقة ، تركت الانابيب لتبرد وقدر تركيز الكاربوهيدرات بقياس شدة اللون بواسطة جهاز المقياس الطيفي عند الطول الموجي 488 نانوميتر وبواقع ثلاثة مكررات لكل معاملة وتركيز وقورنت مع المنحني القياسي للكاربوهيدرات

- التقدير الكمي والنوعي لمركبات الايض الثانوي باستخدام تقانة الـ HPLC(High- Performance Liquid Chromatography) (مايكرو غرام مل$^{-1}$) حيث تم قياس كل من (**1-، ά- pinene ، Linolool، Geranal، Broneal، Rosmaric acid، Verbene، Camphor، 8Cinole (ά- Terpinol، Cymene**

8-3 تجربة استحثاث الكالس :-

أ- تجربة استحثاث الكالس

تم استئصال الاجزاء النباتية (قمم نامية, اوراق) من الأفرع الخضرية من تجربة التضاعف وزراعتها على وسط MS المعد لاستحثاث الكالس والمجهز بالـ 2,4,D بالتراكيز (0, 1, 2, 3, 4) ملغم لتر$^{-1}$ و BA بالتراكيز (0, 0.1, 0.2, 0.4) ملغم لتر$^{-1}$ بواقع 10 مكررات لكل تركيز, تم حفظ الزروعات في الظلام , واؤخذ مؤشرات الدراسة بعد اربعة اسابيع والتي تشمل:

- النسبة المئوية لاستحثاث الكالس % = $\frac{\text{عدد النبيتات المكونة للكالس}}{\text{العدد الكلي للاجزاء المزروعة}} \times 100\%$
- الوزن الطري للكالس (ملغم)
- الوزن الجاف للكالس (ملغم)

قيس الوزن الطري والجاف للكالس بعد اربعة أسابيع من الزراعـة باستخدام ميزان حساس ، إذ استخرجت قطع الكالس الطري ووضعت على ورق ترشيح وأزيلت بقايا الوسط الغذائي الملتصقة بالكالس باستخدام الشفرة الجراحية وحسب الوزن الطري للكالس . جففت قطع الكالس الطري في فرن كهربائي (Oven) على درجة حرارة 70 م ووزنت عند ثبات الوزن (الصحاف ، 1989) .

ب- ادامة الكالس

بعد اربعة اسابيع وبالاعتماد على افضل توليفة من تجربة استحثاث الكالس تم تقطيع واعادة زراعة subculture للحصول على اكبر كمية من الكالس لغرض تنفيذ تجربة تحفيز انتاج مركبات الايض الثانوي

ج- تحفيز انتاج المركبات الايضية

اخذ وزن ثابت من الكالس 100 ملغم وعُرض الى أشعة UV للمدد (0, 10, 20) دقيقة وزراعته على وسط MS المجهز بتراكيز مختلفة من حامض السالسليك بتركيز(0, 10, 20, 30) ملغم لتر$^{-1}$ بعد ان تم تحضير محلول اساس منه بوجود تركيز ثابت من 2,4-D و BA التي تم الحصول عليها من تجربة استحثاث الكالس وبواقع 10 مكررات لكل تركيز ومدة تم حفظ الزروعات في الظلام ثم اخذت مؤشرات الدراسة بعد اربعة اسابيع والتي تشمل:

- الوزن الطري للكالس (ملغم)
- الوزن الجاف للكالس (ملغم)
- التقدير الكمي والنوعي للمركبات الايضية الثانوية باستخدام تقانة الـ HPLC (مايكرو غرام مل$^{-1}$) .

9-3 فصل مكونات زيت نبات إكليل الجبل باستعمال جهاز كروماتوغرافيا السائل ذي الأداء العالي

(High – Performance Liquid Chromatography) (HPLC)

استعملت طريقة الفصل والتقدير الكروماتوغرافية (HPLC) لتقدير كمية ونوعية الزيت الطيار في الأفرع الخضرية والكالس لنبات إكليل الجبل بوصف هذه الطريقة من الطرق الحديثة والفعالة لكفاءتها العالية ودقتها وسرعتها فقد استعملت في فصل الزيوت الطيارة والحصول على تقدير كمي ونوعي في آن واحد (Tawfeeq ،2017 ,Li واخرون ،2019)

نوع الجهاز : HPLC

الشركة والموديل :Shimadzu 10 AV- LC

عمود الفصل Stationary phase

تم استخدام عمود فصل نوع C-18 COLUMN (USA) بأبعاد (50 X 4.6 mm) ، اذ كانت مادة الفصل في العمود (الطور الثابت) هي Octadecyl Silane (ODSI) المرتبطة كيمياويا بمادة silica gelوقطر الجزيئات 3 مايكرو ميتر وعند درجة حرارة 20 مْ .

الطور المتحرك Mobile phase

تم تحضير هذا الطور بمزج methanolمع dionized water بنسبة 0.1% phosphoric acid (V/V, 88:12:0.1) .

سرعة الجريان Flow rate

اعتمد معدل الجريان 1.2 مل / دقيقة وتم حساب تركيز المركبات الفعالة في المستخلصات وفق المعادلة الاتية :-

$$\text{تركيز المجهول } (g/\mu g) = \frac{\text{مساحة حزمة النموذج}}{\text{مساحة حزمة القياس}} \times \text{تركيز القياس} \times \text{عدد مرات التخفيف}$$

وعليه تم معرفة تركيز كل واحد من هذه المركبات وفي كل النماذج المشخصة .

تم تشخيص نوعية وكمية الزيوت الطيارة في العينات باستعمال جهاز (HPLC) اعتماداً على نماذج قياسية خارجية تم الحصول عليها من مصادر علمية مختلفة . اذ تمّ حقن الجهاز بتراكيز معلومة مقدارها (5 ميكروغرام / مل) لكل نموذج قياسي . تمّ قياس زمن الاحتجاز ومساحات الحزم وكذلك ارتفاع الحزم مقدر بـ (الميكروفولت) للنماذج القياسية على نحو منفرد لكل نموذج وكخليط أيضا لكل المركبات القياسية للتأكد من عدم وجود تداخل بينها تحت ظروف الفصل المستعملة. بعد ذلك حضر محلول النموذج المطلوب تحليله وحقن في الجهاز تحت الظروف نفسها ومن ثم تم القياس الكمي للمركبات الموجودة في النماذج عبر مقارنة مساحات الحزم المجهولة للنموذج مع مساحات الحزم المعلومة للمادة القياسية المطلوبة . كررت العملية على كل نماذج العينات التي تم تشخيصها وتحت ظروف الفصل نفسها.

10-3 التصميم التجريبي والتحليل الاحصائي

نفذت التجارب جميعها باستخدام التصميم تام التعشية CRD (Completely Randomized Design) بتجارب عاملية وبواقع 10 مكررات لكل معاملة (الساهوكي و وهيب، 1990) وحللت النتائج باستخدام البرنامج الاحصائي Genstat وتم مقارنة المتوسطات وفق اختبار اقل فرق معنوي LSD وعلى مستوى احتمال 0.05 .

4- النتائج و المناقشة (Results and discussion)

4-1 : تأثير تراكيز هايبوكلورات الصوديوم وفترة التعقيم في النسبة المئوية لتلوث نبات إكليل الجبل.

ان عملية التعقيم السطحي للأجزاء النباتية من اهم الخطوات التي يتوقف عليها نجاح برامج الزراعة النسيجية، وفيها يتم استخدام مواد مختلفة مثل هايبوكلورات الصوديوم والكالسيوم او كلوريد الزئبق او الكحول الاثيلي او بيروكسيد الهيدروجين. وتختلف تراكيز هذه المواد باختلاف درجة نظافة الجزء المراد زراعته وظروف نمـوه ومن المعروف ان اكثر المواد استخداماً في تعقيم الاجزاء النباتية هي هايبوكلورات الصوديوم.

يبين الجدول (2) تأثير تراكيز هايبوكلورات الصوديوم المستخدمة و فترة التعقيم في تقليل نسبة تلوث الاجزاء الخضرية لنبات إكليل الجبل المزروع على الوسط الغذائي MS الخالي من منظمات النمو النباتية، بلغت نسبة التلوث 100% في معاملة المقارنة ولجميع المدد، وبزيادة تركيز القاصر انخفضت نسبة التلوث معنويا لتصل الى (46.66، 33.33، 23.33)% عند التراكيز (1، 2، 3) % على التتابع. وسجلت فترة نقع الاجزاء الخضرية بالمحلول فروقات معنوية اذ انخفضت نسبة التلوث الى ادنى مستوى عندما تركت الاجزاء الخضرية مدة 15 دقيقة في المحلول حيث اصبحت 27.50 %، بينما كانت 85.00 % عندما كانت مدة التعقيم خمس دقائق.

كان تأثير التداخل بين تراكيز هايبوكلورات الصوديوم وفترة التعقيم معنويا في تقليل معدل تلوث الاجزاء الخضرية، سجلت معاملة المقارنة نسبة تلوث 100% مع اختلاف مدة التعقيم. فيما اعطت المعاملات 2 و3 % لمدة نقع 15 دقيقة نبيتات خالية تماما من التلوث (0.0 %). كما اعطى التركيز 3% لمدة 10 دقائق نسبة تلوث 0.0%. ولوحظ كما في الشكل (ان زيادة التركيز الى 3% من هايبوكلورات الصوديوم وعند جميع المدد (10 و 15) دقيقة قد ادى الى ظهور نبيتات بيضاء اللون خالية من الكلوروفيل واخرى ميتة مقارنة بالتركيز 2% من هايبوكلورات الصوديوم وعند المدة 15 دقيقة الذي اعطى اقل نسبة تلوث بلغت 0.0% دون التأثير على حيوية الاجزاء النباتية. ان تأثير هايبوكلورات الصوديوم وعمله كمادة معقمة للأنسجة النباتية يعود الى حامض Hypoclorous (HOCl) الذي يعد مادة مؤكسدة قوية.

اذ يتكون هذا الحامض نتيجة ذوبان الكلور بالماء كما في المعادلة الاتية:

$$Cl_2+H_2O \rightarrow HCl + HOCl$$

وهذه النتائج تتفق مع ما توصلت اليه (العامري ، 2000) حيث اشارت الى ان التراكيز العالية من هايبوكلورات الصوديوم تكون فعالة للحد من التلوث السطحي للأجزاء النباتية المزروعة خارج الجسم الحي الا انها تؤدي الى موت الاجزاء النباتية كما يبين الشكل (6).

جدول (2) تأثير تراكيز هايبوكلورات الصوديوم وفترة التعقيم في النسبة المئوية لتلوث النموات الخضرية لنبات إكليل الجبل بعد 15 يوم من الزراعة على وسط MS.

الزمن (دقيقة)	تركيز هايبوكلورات الصوديوم %				المعدل
	0	1	2	3	
5	100	90.00	80.00	70.00	85.00
10	100	40.00	20.00	00.00	40.00
15	100	10.00	00.00	00.00	27.50
$L.S.D_{0.05}$	9.72				4.86
المعدل	100	46.66	33.33	23.33	
$L.S.D_{0.05}$	5.61				

شكل (5) موت الاجزاء النباتية بعد استخدام تركيز عالي من المادة المعقمة .

4- 2- تأثير نوع الجزء النباتي و تراكيز BA في نشوء الزروعات

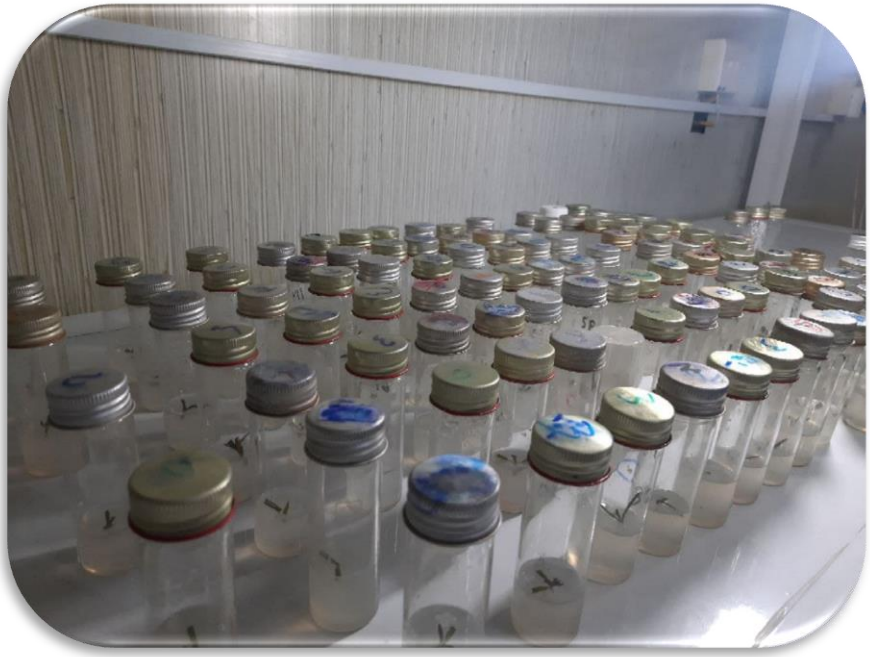
يلعب الجزء النباتي دوراً مهماً في الزراعة خارج الجسم الحي لأي نوع نباتي بسبب تحديد امكانية الأخلاف ومعدل تضاعف الأفرع ومن ثم الحالة الفسلجية وحساسية الانواع النباتية للمسببات التلوث المختلفة . فقد اظهرت نتائج جدول (3) والشكل (7) والشكل (8) استجابة القمم النامية المزروعة على وسط MS في تحقيق اعلى نسبة استجابة بلغت 57.50 % مقارنة مع البراعم الجانبية التي سجلت نسبة استجابة بلغت 37.50%, اما عن تأثير تراكيز الـ BA فكان لها الاثر الواضح في زيادة نسبة الاستجابة اذ تفوق التركيز 1ملغم لتر$^{-1}$ معنويا على بقية التراكيز اذ اعطى اعلى نسبة استجابة بلغت 80% ، اما المستويات المرتفعة من الـ BA فإنها سببت تناقص في معدل النمو وهذا ما حصل عند التركيز 2 و 3 ملغم لتر$^{-1}$ التي سجلت نسبة استجابة بلغت 65 و 30% على التتابع في حين حققت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 15%. وتؤكد النتائج ان التداخلات الثنائية جميعها اثرت معنويا في نسبة الاستجابة، ففي حالة التداخل بين الجزء النباتي المزروع وتراكيز الـ BA فان اعلى نسبة استجابة سجلتها القمة النامية عند التركيز 1 ملغم لتر$^{-1}$BA بلغ 90% واقل نسبة استجابة سجلتها البراعم الجانبية عند معاملة المقارنة التي بلغت 10%. مما تقدم ونتيجة لقلة استجابة البراعم الجانبية لتجارب النشوء مقارنة مع القمم النامية اعتمدت القمم النامية في تجارب النشوء والمراحل الاخرى. ان سبب تفوق اطراف الأفرع ربما يعود الى وجود الاوكسين في القمم

المرستيمية لأطراف الأفرع بشكل أكبر مما هو عليه في العقد المفردة ؛ لأن القمم المرستيمية للأفرع تعد المركز الرئيسي لتصنيعه في النبات وبذلك يحدث تأثيره في انقسام الخلايا واستطالتها بشكل أكبر في أطراف الأفرع (Hartmann واخرون، 2002) او قد يعزى السبب الى ان القمم النامية تمتلك عدداً من البراعم الابطية والتي تمتلك فرصة اكبر للبقاء على قيد الحياة والنمو بسرعة (Rasool واخرون، 2013).او قد يعود السبب الى عوامل فسلجية تتعلق بمحتوى الانسجة الغذائي والهرموني الذي يعد عامل محدد للاستجابة حيث تتجمع المواد الغذائية والهرمونية في أنسجة القمة النامية مقارنة بالأجزاء الاخرى، او قد يعزى سبب تفوق القمة النامية الى سرعة انقسام خلاياها لكونها خلايا غير متخصصة وغير متمايزة وفي المراحل التطورية الاولية (حمود ومجيد، 2017)، تتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه عدد من الباحثين (Aswath واخرون ، 2003 ؛ Aswath و Wazeen ، 2004 ؛ Kumar و Kanwar ، 2008) الذين سجلوا عند استخدامهم قمم الأفرع في الاكثار خارج الجسم الحي نجاحا كبيرا ، وكذلك تتفق مع ما توصلت اليه التميمي (2018) حيث بينت أن للجزء النباتي تأثيراً معنوياً في زيادة النسبة المئوية لنشوء الزروعات اذ تفوقت القمم النامية معنوياً على البراعم الجانبية اذ اعطت اعلى نسبة بلغت 62.2% في حين اعطت البراعم الجانبية 42.5%.

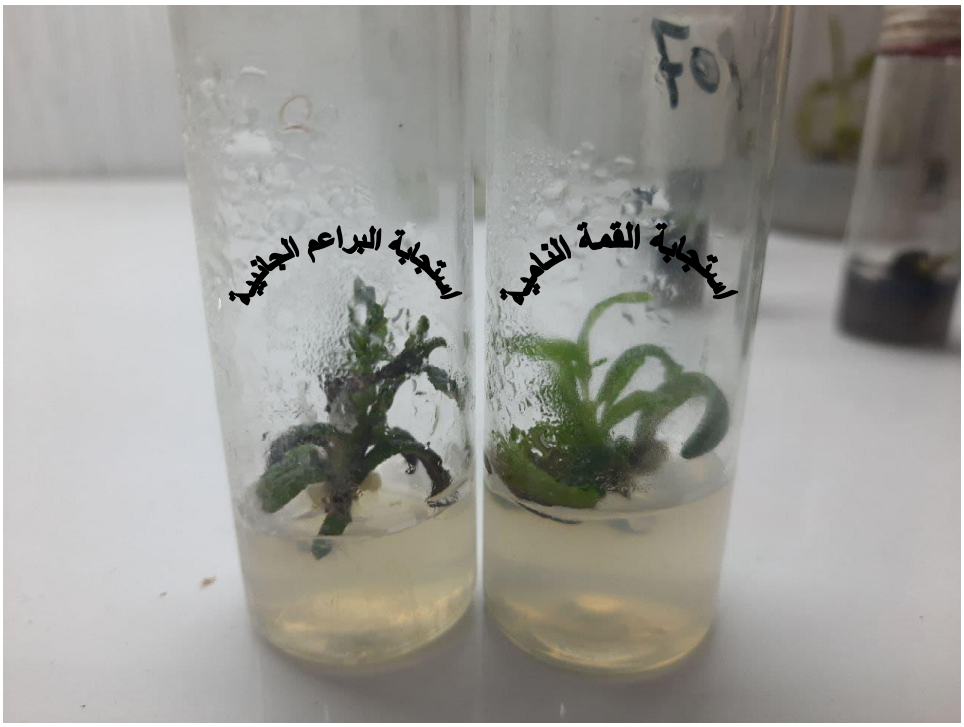
ان الفعل التحفيزي لتراكيز الـ BA يعزى الى الفعل التحفيزي للسايتوكانين في حث خلايا الأفرع المزروعة على الانقسام والتمايز وينتج عن تمايز البراعم افرع خضرية فضلا عن ذلك اشار العديد من الباحثين الى دور السايتوكاينين بالتراكيز الملائمة في الزراعة النسيجية (Hairuddin و اخرون ، 2023). يتفق هذا مع ما توصل اليه Soni واخرون (2011) و Nowakowska واخرون (2022) في ان للسايتوكاينينات دورا مهما في نشوء الزروعات كما ان انخفاض معدلات النمو عند التراكيز المرتفعة من البنزل ادنين قد يعزى الى حدوث اضطراب في العمليات الحيوية داخل الانسجة النباتية الذي ادى الى اخلال التوازن الهرموني ومن ثم انخفاض معدلات نمو الاجزاء النباتية وان هذا الانخفاض ليس بالضرورة ان يكون موت خلية ولكن عادة يكون نتيجة اعاقة النمو (Devlin و Witham، 1998).

جدول (3) تأثير نوع الجزء النباتي و تراكيز BAوالتداخل بينهما في استجابة الاجزاء الخضرية للنشوء (%) بعد اربعة اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

نوع الجزء النباتي	تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	1	2	3	
القمة النامية	20	90	80	40	57.5
البراعم الجانبية	10	70	50	20	37.5
$L.S.D_{0.05}$	16				8.1
المعدل	15	80	65	30	
$L.S.D_{0.05}$	11				



شكل (6) زراعة الاجزاء النباتية على وسط MS المدعم بالBA في مرحلة نشوء الزروعات



شكل (7) استجابة القمة النامية والبرعم الجانبي لتركيز ال BA المستخدم في مرحلة النشوء

4-3- تأثير تراكيز BA و NAA والتداخل بينهما في معدل عدد الأفرع الخضرية لنبات إكليل الجبل

احدى الصفات التي دُرست هي تأثير التراكيز المختلفة من الـ BA وNAA و التداخل بينهما في عملية التضاعف الخضري الذي تم ملاحظته من الجدول (4) تفوق الـ BA معنويا بالتركيز 2 ملغم لتر$^{-1}$ بإعطائه اعلى معدل لعدد الأفرع بلغ 4.74 فرع جزء نباتي$^{-1}$, ثم قلت الاستجابة عند التركيز 3 ملغم لتر$^{-1}$ الذي حقق معدل بلغ 4.25 فرع جزء$^{-1}$, في حين كان اقل معدل عند معاملة المقارنة الذي بلغ 1.99 فرع جزء$^{-1}$. كما اشار الجدول ذاته تفوق الـ NAA عند التركيز 0.2 ملغم لتر$^{-1}$ معنويا الذي اعطى اعلى معدل بلغ 4.16 فرع جزء نباتي$^{-1}$ثم قلت الاستجابة عند التركيز 0.4ملغم لتر$^{-1}$الذي حقق معدل بلغ 3.49 فرع جزء نباتي$^{-1}$مقارنة بمعاملة المقارنة التي اعطت اقل معدل بلغ 3.41 فرع جزء نباتي$^{-1}$. اما بالنسبة لتأثير التداخل بين تراكيز الـ BA و NAA فقد اختلفت قيمه معنويا عن بعضها اذ اعطى التركيز 2 ملغم لتر$^{-1}$ من الـ BA وبالتداخل مع التركيز 0.1 و 0.2 ملغم لتر$^{-1}$ من NAA اعلى معدل لعدد الأفرع بلغ 5.33 فرع جزء نباتي$^{-1}$ بينما حقق الوسط الخالي من منظمات النمو(معاملة المقارنة) اقل استجابة لعدد الأفرع بلغت 1.33 فرع جزء نباتي$^{-1}$.

جدول (4) تأثير تراكيز BA و NAA و التداخل بينهما في معدل عدد الأفرع الخضرية (فرع نبات$^{-1}$) بعد أربعة أسابيع من الزراعة على الوسط MS .

تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز NAA (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	0.1	0.2	0.4	
0	1.33	1.67	2.33	2.64	1.99
1	4.00	4.33	4.33	3.67	4.08
2	4.33	5.33	5.33	4.00	4.74
3	4.00	4.67	4.67	3.67	4.25
$L.S.D_{0.05}$	0.28				0.14
المعدل	3.41	4.00	4.16	3.49	
$L.S.D_{0.05}$	0.14				

4- 4- تأثير تراكيز BA و NAA والتداخل بينهما في معدل طول الأفرع الخضرية لنبات إكليل الجبل.

تبين نتائج الجدول(5) هناك زيادة معنويه في معدل طول الأفرع الخضرية لنبات إكليل الجبل بزيادة تراكيز الـ BA من 1الى 2 ملغم لتر$^{-1}$ المضافة للوسط الغذائي والتي اعطت معدل بلغ 3.57 و 4.12 سم على التتابع ثم قلت الاستجابة بزيادة تركيز الـBA الى 3 ملغم لتر$^{-1}$ الذي اعطى اقل معدل بلغ 2.45 سم, في حين اعطت معاملة المقارنة معدل بلغ 3.01 سم.

وعن تأثير تراكيز NAA فقد تفوق التركيز 0.4 ملغم لتر$^{-1}$ معنويا في معدل طول الفرع اذ بلغ 3.74 سم, في حين حققت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 2.42 سم. اما بالنسبة لتأثير التداخل بين تراكيز الـ BA و الـ NAA فيلاحظ ان اعلى معدل تحقق عند الوسط الغذائي MS الذي يحتوي تركيز 2 ملغم لتر$^{-1}$ من الـ BA مع 0.1 ملغم لتر$^{-1}$ من الـ NAA حيث بلغ 4.63 سم والذي تفوق معنويا عن بقية المعاملات, اما اقل معدل لطول الأفرع حصل عند معاملة المقارنة الذي بلغ 1.09 سم.

جدول (5) تأثير الـ BA والـ NAA والتداخل بينهما في معدل طول الأفرع الخضرية (سم) لنبات إكليل الجبل بعد اربعة اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

BA تركيز (ملغم لتر$^{-1}$)	NAA تركيز (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	0.1	0.2	0.4	
0	1.09	2.61	4.04	4.29	3.01
1	3.08	3.78	3.91	3.51	3.57
2	3.59	4.63	3.99	4.26	4.12
3	1.93	2.77	2.20	2.91	2.45
$L.S.D_{0.05}$	0.30				0.15
المعدل	2.42	3.45	3.54	3.74	
$L.S.D_{0.05}$	0.15				

4- 5- تأثير تراكيز BA و NAA والتداخل بينهما في معدل عدد الاوراق لنبات إكليل الجبل.

توضح نتائج الجدول (6) تفوق التركيز 3 ملغم لتر$^{-1}$ معنويا في تسجيل اعلى معدل لعدد الاوراق بلغ 15.24 ورقة نبات$^{-1}$والذي لم يختلف معنويا عن التركيز 2 ملغم لتر$^{-1}$اذ حقق معدل بلغ 15.03 ورقة نبات$^{-1}$ في حين كان اقل معدل لعدد الاوراق في معاملة المحايد والذي بلغ 9.84 ورقة نبات$^{-1}$. كما اظهرت النتائج تفوق NAA عند التركيز 0.2 ملغم لتر$^{-1}$ معنويا في تحقيق اعلى معدل بلغ 14.21 ورقة نبات$^{-1}$مقارنة بمعاملة المقارنة التي بلغ معدل عدد الاوراق عندها 12.20 ورقة نبات$^{-1}$. اما بالنسبة لتأثير التداخل بين تراكيز الـ BA و الـ NAA فيلاحظ من نتائج الجدول تفوق الـ BA معنويا عند التركيز 2ملغم لتر$^{-1}$ وبالتداخل مع الـ NAA عند التركيز 0.2 ملغم لتر$^{-1}$ في تحقيق اعلى معدل بلغ 17.50 ورقة نبات$^{-1}$ مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت معدل بلغ 8.67 ورقة نبات$^{-1}$.

جدول (6) تأثير الـ BA والـ NAA والتداخل بينهما في معدل عدد الاوراق(ورقة نبات$^{-1}$) لنبات إكليل الجبل بعد اربعة اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

BA تركيز (ملغم لتر$^{-1}$)	NAA تركيز (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	0.1	0.2	0.4	
0	8.67	9.00	10.70	11.00	9.84
1	12.60	14.33	12.33	11.33	12.64
2	12.30	16.68	17.50	13.65	15.03
3	15.25	15.75	16.33	13.65	15.24
$L.S.D_{0.05}$	1.40				0.70
المعدل	12.20	13.94	14.21	12.40	
$L.S.D_{0.05}$	0.70				

4- 6- تأثير تراكيز BA و NAA والتداخل بينهما في معدل الوزن الطري للمجموع الخضري(ملغم) لنبات إكليل الجبل.

عن تأثير تراكيز الـ BA و NAA المضافة للوسط الغذائي في صفة الوزن الطري لمجموع الخضري فقد اشارت بيانات التحليل الاحصائي المدونة في الجدول (7) تفوق التركيز 3 ملغم لتر$^{-1}$BAمعنويا في تسجيل اعلى معدل وزن طري بلغ 2986 ملغم والذي لم يختلف معنويا عن التركيز 2 ملغم لتر$^{-1}$اذ حقق معدل بلغ 2870 ملغم في حين كان اقل معدل للوزن الطريفي معاملة المقارنة بلغ 1324 ملغم. كما اظهرت النتائج تفوق NAA عند التركيز 0.1 ملغم لتر$^{-1}$ معنويا في تحقيق اعلى معدل بلغ 2606 ملغم والذي لم يختلف معنويا عن التركيز 0.2 ملغم لتر$^{-1}$الذي حقق معدل بلغ 2553 ملغم، مقارنة مع معاملة المقارنة التي حققت اقل معدل بلغ 2037 ملغم. اما بالنسبة لتأثير التداخل بين تراكيز الـ BA و الـ NAA فيلاحظ من نتائج الجدول تفوق الـ BA معنويا عند التركيز 2ملغم لتر$^{-1}$ وبالتداخل مع الـ NAA عند التركيز 0.2 ملغم لتر$^{-1}$ في تحقيق اعلى معدل بلغ 3621 ملغم بينما حققت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 946 ملغم.

جدول (7) تأثير الـ BA والـ NAA والتداخل بينهما في معدل الوزن الطري للمجموع الخضري(ملغم) لنبات إكليل الجبل بعد اربعة اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

BA تركيز (ملغم لتر$^{-1}$)	NAA تركيز (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	0.1	0.2	0.4	
0	946	1220	1395	1735	1324
1	2082	2884	2044	1952	2241
2	2035	3220	3621	2605	2870
3	3087	3100	3155	2605	2986
$L.S.D_{0.05}$	294				147
المعدل	2037	2606	2553	2224	
$L.S.D_{0.05}$	147				

4- 7- تأثير تراكيز BA و NAA والتداخل بينهما في معدل الوزن الجاف للمجموع الخضري(ملغم) لنبات إكليل الجبل.

اشارت بيانات التحليل الاحصائي المدونة في الجدول (8) الى وجود اختلافات معنوية في معدل صفة الوزن الجاف للمجموع الخضري باختلاف تراكيز الـ BA و NAA المضافة للوسط الغذائي، اذ تفوق التركيز 3 ملغم لتر$^{-1}$BAمعنويا في تسجيل اعلى معدل وزن جاف بلغ 1823 ملغم والذي لم يختلف معنويا عن التركيز 3 ملغم لتر$^{-1}$اذ حقق معدل بلغ 1823 ملغم في حين كان اقل معدل للوزن الجاف عند معاملة المقارنة بلغ 641 ملغم. كما اظهرت نتائج الجدول ذاته تفوق NAA عند التركيز 0.2 ملغم لتر$^{-1}$ معنويا في تحقيق اعلى معدل بلغ 1594 ملغم والذي لم يختلف معنويا عن التركيز 0.1ملغم لتر$^{-1}$الذي حقق معدل بلغ 1514ملغم، مقارنة مع معاملة المقارنة التي حققت اقل معدل بلغ1112 ملغم. اما بالنسبة لتأثير التداخل بين تراكيز الـ BA و الـ NAA فيلاحظ من نتائج الجدول تفوق الـ BA معنويا عند التركيز 2ملغم لتر$^{-1}$ وبالتداخل مع الـ NAA عند التركيز 0.2 ملغم لتر$^{-1}$ في تحقيق اعلى معدل بلغ 2540 ملغم بينما حققت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 330 ملغم.

جدول (8) تأثير الـ BA والـ NAA والتداخل بينهما في معدل الوزن الجاف للمجموع الخضري(ملغم)لنبات إكليل الجبل بعد اربعة اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

BA تركيز (ملغم لتر$^{-1}$)	NAA تركيز (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0.0	0.1	0.2	0.4	
0	330	654	750	833	641
1	1061	1240	1018	987	1076
2	1015	2110	2540	1128	1698
3	2040	2055	2070	1128	1823
$L.S.D_{0.05}$	274				137
المعدل	1112	1514	1594	1019	
$L.S.D_{0.05}$	137				

تبين مما تقدم عرضه من نتائج الجداول (4-8) بشكل عام تفوق منظم النمو BA في الصفات المدروسة والتي شملت عدد وطول الأفرع الخضرية وعدد الاوراق والوزن الطري والجاف للمجموع الخضري مقارنة بمعاملة المقارنة وقد يعزى السبب الى الدور الذي يؤديه التوازن بين منظمات النمو المستعملة (السايتوكانينات BA والاوكسينات NAA) في تحديد نمط التمايز الخلوي وتكوين الاعضاء خارج الجسم الحي، اذ يؤدي وجود تراكيز عالية من السايتوكانينات وواطئة من الاوكسينات في الوسط الغذائي الى تكوين براعم خضرية تنمو الى افرع خضرية ، وتشير الدراسات الى ان الاوكسين يؤدي الى تحفيز الجينات التي يقوم السايتوكاينين بالسيطرة على تعبيرها الجيني وان نواتج التعبير الجيني تؤدي دورا اساسيا في العمليات البيولوجية مثل انقسام الخلايا وتطوير الكلوروبلاست وايض العناصر المغذية (Schmulling واخرون، 1997). وقد يعود السبب في هذه التأثيرات (الصفات المدروسة) الى الفعل التحفيزي للسايتوكانين في حث الخلايا على الانقسام والتمايز وينتج عن ذلك نمو البراعم الى افرع خضرية كما ذكر كثير من الباحثين ان استخدام السايتوكانينات ولا سيما الـ BA في الزراعة النسيجية يعود الى كونها مركبات مستقرة لعدم تحللها بسهولة وكفاءتها العالية في كسر السيادة القمية اذ تعمل على تكشف واتساع الاوعية الناقلة لكل من الخشب واللحاء, ومنع تحلل الكلوروفيل, وتحفيز انقسام الخلايا وزيادة انتاج الاحماض النووية (ابو زيد، 2000 و Mok واخرون، 2000 و Schmulling، 2004)، او قد يعود السبب الى عمل الـ BA على حدوث التوازن الهرموني للنسيج النباتي في المناطق المرستيمية الغنية بالاوكسينات لإحداث الاستجابة المطلوبة مما يسبب كسر السيادة القمية

وانتقال المغذيات من خلال دفع الجزء النباتي في تحفيز نمو الأفرع الخضرية في اباط الاوراق (Cavallaro واخرون، 2022)، اما المستويات المرتفعة منها فأنها تسبب تناقصا في معدلات النمو بسبب اضطراب العمليات الحيوية داخل الانسجة نتيجة اختلال التوازن الهرموني فيها الامر الذي يؤدي الى انخفاض معدلات النمو للأجزاء النباتية وهذا الانخفاض لا يعني بالضرورة موت الخلايا ولكنه عادة ما يكون نتيجة اعاقة للنمو (Devlin و Withman ، 1983). وهذا يتفق مع ما وجده Meftahizade واخرون (2010) إذ وجدوا في نتائجهم أن تركيز BA المناسب لتشجيع عملية التضاعف للأفرع تقع عند 1 ملغم لتر$^{-1}$فما فوق .

ومع ما وجده المختار(2015) عند تنمية مزارع الأفرع الخضرية لنبات *Digitalis lanata*وذلك من خلال زراعة اطراف افرع الشتلات المعقمة على وسط MS المجهز بتراكيز مختلفة من منظمات النمو BA وTDZ، اظهرت النتائج تفوق الوسط الغذائي المدعم بـ BA بتراكيزه المختلفة معنويا في معدل صفات النمو الخضري المدروسة.

كما يلاحظ من بيانات الجداول ذاتها تفوق الـ BA وبالتركيز 2ملغم/ لتر في عدد وطول الأفرع المتضاعفة وعدد الاوراق وقد يعزى السبب الى الفعل التحفيزي للسايتوكانين في حث الخلايا على الانقسام والتمايز وينتج عن ذلك نمو البراعم الى افرع خضرية كما اشار كثير من الباحثين الى الدور الذي يؤديه السايتوكاينين وبالتراكيز الملائمة في الزراعة النسيجية من حيث فعله في كسر السيادة القمية وانشائه مناطق جذب في البراعم الجانبية وهذا يحفز من سرعة انتقال المغذيات اليها والتي ينتج عنها تحفيز نمو البراعم ومن ثم تفوق عدد الأفرع ، وقد وضعت نظريات عدة لتفسير هذه الظاهرة منها ان السايتوكاينين المضاف يتحرك من الاسفل الى الاعلى عبر البراعم الابطية ويلغي بذلك تأثير الاوكسين المتكون في البراعم الطرفية والمتحرك سفليا والذي قد يتجمع بتراكيز عالية في البراعم الابطية ويعيق نموها بتثبيطه للتمايز في الانسجة الوعائية الجانبية في هذه البراعم, وبهذا سيكون دور السايتوكاينين المتحرك نحو الاعلى احداث عملية تمايز الانسجة الخشبية والحزم الوعائية للبراعم الابطية لترتبط مع مثيلاتها في الساق وبعد ذلك ستسهل عملية نقل الماء والمغذيات الى هذه البراعم ومن ثم تحفيزها على النمو والتطور وتكوين الأفرع الجانبية (الخفاجي ، 2014, عبدول ، 1987 و Devlin وWitham ،1998), اما المستويات المرتفعة منها فأنها تسبب تناقصا في معدلات النمو بسبب اضطراب العمليات الحيوية داخل الانسجة نتيجة اختلال التوازن الهرموني فيها الامر الذي يؤدي الى انخفاض معدلات النمو للأجزاء النباتية وهذا الانخفاض لا يعني بالضرورة موت الخلايا ولكنه عادة ما يكون نتيجة اعاقة للنمو (Skooge وMeller، 1957 و Devlin و Withman، 1983).

كما يلاحظ من بيانات الجداول السابقة تفوق الـ BA وبالتركيز 3ملغم لتر$^{-1}$ في معدل الوزن الطري والجاف وقد يعزى الى ان هذه المعاملة كانت قد تفوقت في معدل عدد وطول الأفرع مما ادى الى زيادة الكتلة الحية مما انعكس على الوزن الطري والجاف لهذه الكتلة, ان هذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه Perez-Alonso واخرون(2009) بان اعلى معدل للوزن الطري والجاف للأفرع المتضاعفة بلغ (106.2 و 5.82) ملغم على التتابع تم الحصول عليه عند زراعة اطراف افرع *Digitalis purpurea* على وسط MS المجهز بـ 2ملغم لتر$^{-1}$BA مع 0.2 ملغم لتر$^{-1}$IAA. كما اتفقت النتائج مع ما توصل اليه (العبيدي واخرون, 2009) عند اجراء تجربة التضاعف الخضري لنبات الزعرور *Crategus japan* اذ اعطى التركيز 2ملغم لتر$^{-1}$من الـ BA اعلى معدل للوزن الطري والجاف بلغ (345.0 و 102.5) ملغم على التتابع. وكذلك اتفقت مع ما توصل اليه (الحجيمي ، 2010) في صفات الوزن الطري والجاف للنموات الخضرية لنبات عين البزون *Catharanthus roseus* المزروعة على وسط MS والمجهز بـ 2ملغم لتر$^{-1}$من الـ BA مع 0.2 ملغم/ لتر من الـ NAA التي اعطت اعلى معدل للوزن الطري والجاف بلغا (793.0 و 432.3) ملغم على التتابع. مما تقدم من نتائج الجداول السابقة فقد اعتمد التركيز 2ملغم لتر$^{-1}$ BA و التركيز 0.2 ملغم لتر$^{-1}$ NAA في تنفيذ التجارب اللاحقة.

4- 8- تأثير الـ Salicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV)و التداخل بينهما على معدل عدد الأفرع.

يلاحظ من الجدول (9) أنه في حالة إضافة Salicylic Acidإلى الوسط الغذائي بتركيز 30 ملغم لتر$^{-1}$ قد حقق اقل معدل لعدد الأفرع بلغ 4.23 فرع نبات$^{-1}$، ولكن في حال تقليل التركيز حدثت الاستجابة وبدأت البراعم الابطية بالنمو والتضاعف وقد تفوق التركيز 10ملغم لتر$^{-1}$ في تحقيق اعلى معدل بلغ 7.45 فرع نبات$^{-1}$ والذي لم يختلف معنويا عن التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ الذي حقق معدل بلغ 7.06 فرع نبات$^{-1}$ ،كما كان للأشعة فوق البنفسجية تأثير واضح في معدل عدد الأفرع فقد حققت الدقيقة 20 اعلى معدل بلغ 7.24 فرع نبات$^{-1}$ مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل معدل بلغ 3.59 فرع نبات$^{-1}$ ، اما عن تأثير التداخل بين تراكيز Salicylic Acidوالأشعة فوق البنفسجية فقد تفوقت معاملة التركيز 10ملغم لتر عند الدقيقة 20 في تحقيق اعلى معدل بلغ 10.11 فرع نبات$^{-1}$ في حين اعطت معاملة المقارنة معدل بلغ 2.35فرع نبات$^{-1}$.

جدول (9) تأثير الـ Salicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV)و التداخل بينهما بوجود تركيز ثابت من BA و NAAعلى معدل عدد الأفرع الخضرية بعد أربعة أسابيع من الزراعة على الوسطMS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيزSalicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	2.35	3.40	4.45	4.17	3.59
10	5.50	8.86	8.25	4.28	6.72
20	6.13	10.11	8.50	4.25	7.24
$L.S.D_{0.05}$	1.23				0.60
المعدل	4.66	7.45	7.06	4.23	
$L.S.D_{0.05}$	0.63				

4- 9- تأثيرSalicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV)و التداخل بينهما على معدل طول الأفرع الخضرية.

تشير نتائج الجدول (10) الى وجود اختلافات معنوية بين تراكيز Salicylic Acidالمضافة للوسط الغذائي في معدل طول الأفرع اذ تفوق التركيز 10 ملغم لتر$^{-1}$ في تحقيق اعلى معدل بلغ 3.63 سم الذي لم يختلف معنويا عن التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ الذي حقق معدل بلغ 3.62 سم في حين حققت المعاملة بالتركيز 30 ملغم لتر $^{-1}$ اقل معدل بلغ 3.00 سم. ويظهر من نتائج الجدول نفسه الى تفوق الأشعة فوق البنفسجية عند الدقيقة 20 في اعطاء اعلى معدل طول للأفرع بلغ 4.04 سم الذي تفوق معنوياً عن الدقيقة 10 ومعاملة المقارنة إذ بلغ 3.71 و 2.39 سم على التتابع . وعن تأثير التداخل الثنائي فقد اشارت نتائج الجدول نفسه ان الوسط الغذائي المجهز بالتركيز10 ملغم لتر$^{-1}$ من Salicylic Acid والمعرض للأشعة فوق البنفسجية عند الدقيقة 20 كان له تأثير معنوي في معدل طول الأفرع بلغ 4.90 سم مقارنة بمعاملة المقارنة التي حققت اقل معدل بلغ 2.10 سم.

جدول (10)تأثيرSalicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV)والتداخل بينهما بوجود تركيز ثابت من BA و NAAعلى معدل طول الأفرع الخضرية (سم) بعد أربعة أسابيع من الزراعة على الوسطMS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA)(ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	2.10	2.50	2.71	2.25	2.39
10	3.77	3.50	4.00	3.60	3.71
20	3.95	4.90	4.16	3.15	4.04
$L.S.D_{0.05}$	0.38				0.18
المعدل	3.27	3.63	3.62	3.00	
$L.S.D_{0.05}$	0.20				

4- 10- تأثيرSalicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV)و التداخل بينهما على معدل عدد الاوراق.

تؤدي زيادة عدد الأوراق بتأثير العوامل الفيزيائية التحفيزية إلى زيادة عدد الاوراق, ومن ثم زيادة عملية التمثيل الكاربوني ونواتجها وانعكاس ذلك إيجابياً على النمو . فقد بينت نتائج الجدول (11) وجود فروق معنوية بين تراكيز Salicylic Acid في تأثيرها بصفة معدل عدد الأوراق، إذ تفوقت معاملة التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ معنوياً بإعطائها اعلى معدل عدد أوراق بلغ16.86 ورقة نبات $^{-1}$ التي لم تختلف معنويا عن معاملة التركيز 10 ملغم لتر$^{-1}$ بلغت 16.15 ورقة نبات $^{-1}$ثم قلت الاستجابة عند معاملة التركيز 30 ملغم لتر$^{-1}$ التي حققت اقل معدل بلغ 14.44 ورقة نبات $^{-1}$، في حين حققت معاملة المقارنة معدل بلغ 15.14 ورقة نبات $^{-1}$. كذلك نجد أن هذه الصفة قد تأثرت معنويا بمدد التعرض للأشعة فوق البنفسجية إذ أعطت المدة 20 دقيقة أعلى معدل عدد أوراق بلغ 16.89 ورقة نبات $^{-1}$ قياساً مع النبيتات غير المعاملة بلغ 14.21 ورقة نبات $^{-1}$.انعكست التأثيرات المعنوية للمعاملات على تأثير التداخل في هذه الصفة، إذ بلغ أعلى معدل عند التركيز 10 ملغم لتر$^{-1}$ والمدة 20 دقيقة من الأشعة بلغت 18.60ورقة نبات $^{-1}$في حين اعطت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 13.75ورقة نبات $^{-1}$.

جدول (11)تأثيرSalicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV)والتداخل بينهما بوجود تركيز ثابت من BA و NAAعلى معدل عدد الاوراق (ورقة نبات $^{-1}$) بعد أربعة أسابيع من الزراعة على الوسطMS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	13.75	14.11	15.00	14.00	14.21
10	15.25	15.75	17.70	14.67	15.84
20	16.44	18.60	17.88	14.67	16.89
$L.S.D_{0.05}$	1.90				0.90
المعدل	15.14	16.15	16.86	14.44	
$L.S.D_{0.05}$	0.95				

شكل (8) تأثير حامض السالسليك والأشعة فوق البنفسجية على القمم النامية لنبات إكليل الجبل .

4-11- تأثيرSalicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV)و التداخل بينهما على معدل الوزن الطري للمجموع الخضري.

تشير النتائج في الجدول (12) إلى أن الوزن الطري للمجموع الخضري قد تأثر معنوياً بتراكيز Salicylic Acid المضافة للوسط الغذائي، إذ تفوقت معاملة التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ معنوياً عن معاملات التراكيز الباقية وبأعلى وزن طري بلغ 3424 ملغم نبات $^{-1}$ في حين سجلت معاملة المقارنة وزن طري بلغ 2951 ملغم نبات $^{-1}$. وكانت لمدد التعرض للأشعة فوق البنفسجية تأثير معنوي في هذه الصفة اذ اعطت المدة20 دقيقة اعلى وزن طري بلغ 3374ملغم نبات $^{-1}$ قياساً مع النبيتات غير المعاملة التي سجلت ادنى وزن طري بلغ 2810ملغم نبات $^{-1}$. وانعكست التأثيرات المعنوية لتراكيز Salicylic Acid والأشعة فوق البنفسجية على معاملات التداخل الثنائي، إذ سجلت معاملة التركيز 10 ملغم لتر$^{-1}$ وعند الدقيقة 20 من التعرض للأشعة اعلى وزن طري بلغ 3825 ملغم نبات $^{-1}$ بينما انخفضت هذه الصفة الى 2611ملغم نبات $^{-1}$عند معاملة المقارنة.

جدول (12) تأثيرSalicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV) والتداخل بينهما بوجود تركيز ثابت من BA و NAAعلى الوزن الطري للأفرع الخضرية (ملغم نبات $^{-1}$) بعد أربعة أسابيع من الزراعة على الوسط MS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	2611	2830	3000	2800	2810
10	3085	3100	3633	2875	3173
20	3158	3825	3640	2875	3374
$L.S.D_{0.05}$	326				160
المعدل	2951	3251	3424	2850	
$L.S.D_{0.05}$	166				

4-12- تأثيرSalicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV)و التداخل بينهما على معدل الوزن الجاف للمجموع الخضري.

تكمن أهمية الوزن الجاف في كونه من أهم الدلائل التي تؤكد على قوة نمو النبات أو ضعفه عبرَ قدرة النبات على التمثيل الغذائي وتراكم نواتج التمثيل الكاربوني في أنسجة النبات التي تعتمد بدورها على مدى تأثرها بظروف بيئية النمو والعوامل التحفيزية .تبين نتائج الجدول (13) وجود تأثيرات معنوية لتراكيز Salicylic Acid في صفة الوزن الجاف للمجموع الخضري، إذ أعطت معاملة التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$معدل وزن جاف بلغ 2373 ملغم نبات $^{-1}$ مقارنة مع أدنى وزن جاف عند معاملة التركيز 30 ملغم لتر$^{-1}$ بلغت 1226 ملغم نبات $^{-1}$في حين حققت معاملة المقارنة معدل بلغ 1765 ملغم نبات $^{-1}$. وكان لمستويات التعرض للأشعة فوق البنفسجية الأثر المعنوي في زيادة هذه الصفة إذ سجلت معاملة المدة 20 دقيقة أعلى وزن جاف بلغ 2141 ملغم نبات $^{-1}$ بينما سجلت معاملة المقارنة أدنى قيمة بلغت 1366 ملغم نبات $^{-1}$من الوزن الجاف للنبات . وتفوقت معاملة التداخل 10ملغم لتر$^{-1}$ Salicylic Acid عند الدقيقة 20 من الأشعة فوق البنفسجية بإعطائها أعلى وزن جاف للنبات بلغ 2620 ملغم نبات $^{-1}$ مقارنةً مع اقل وزن جاف عند معاملة المقارنة التي بلغت 1120 ملغم نبات $^{-1}$.

جدول (13)تأثيرSalicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV) والتداخل بينهما بوجود تركيز ثابت من BA و NAAعلى الوزن الجاف للأفرع الخضرية (ملغم نبات $^{-1}$) بعد أربعة أسابيع من الزراعة على الوسط MS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	1120	1128	2008	1210	1366
10	2025	2050	2550	1235	1965
20	2150	2620	2561	1235	2141
$L.S.D_{0.05}$	32				14
المعدل	1765	1932	2373	1226	
$L.S.D_{0.05}$	18				

4- 13- تأثيرSalicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV) والتداخل بينهما على معدل تركيز الكلوروفيل.

تشير البيانات المدرجة في الجدول (14) الى وجود فروق معنوية بين المعاملات في معدل تركيز الكلوروفيل بزيادة تراكيز Salicylic Acid المضافة للوسط الغذائي MS, اذ تفوق التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ في تحقيق اعلى معدل بلغ 3.57 ملغم غم$^{-1}$ ثم تلاه التراكيز (30 و 10) ملغم لتر$^{-1}$ التي حققت معدل بلغ (3.23 و 3.14) ملغم غم$^{-1}$ على التتابع في حين حققت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 2.95ملغم غم$^{-1}$، كما كان لأشعة UV تأثير معنوي في معدل تركيز الكلوروفيل اذ اعطت معاملة UV بالدقيقة 20 اعلى معدل بلغ 3.67 ملغم غم$^{-1}$ ثم تلتها معاملة الـ 10 دقائق التي بلغت 3.43 ملغم غم$^{-1}$ واقلها كان عند معاملة المقارنة التي حققت اقل معدل بلغ 2.56 ملغم غم$^{-1}$. اما عن تأثير التداخل فقد تفوق التركيز 10 ملغم لتر$^{-1}$ من السالسليك اسد عند الدقيقة 20 من أشعة UV في تحقيق اعلى معدل بلغ 3.98 ملغم غم$^{-1}$ مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل معدل بلغ 2.20 ملغم غم$^{-1}$.

جدول (14) تأثيرSalicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV) و التداخل بينهما على معدل تركيز الكلوروفيل (ملغم غم$^{-1}$) في المجموع الخضري بعد أربعة أسابيع من الزراعة على الوسطMS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	2.20	2.38	3.20	2.48	2.56
10	3.25	3.35	3.67	3.48	3.43
20	3.40	3.98	3.85	3.48	3.67
$L.S.D_{0.05}$	0.18				0.08
المعدل	2.95	3.23	3.57	3.14	
$L.S.D_{0.05}$	0.10				

4- 14- تأثيرSalicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV) و التداخل بينهما على معدل تركيز الكاربوهيدرات في المجموع الخضري.

عن تأثير تراكيز Salicylic Acid وأشعة UV في معدل تراكيز الكاربوهيدرات المقدرة في المجموع الخضري لنبات إكليل الجبل المزروع على الوسط الغذائي MS فقد اشارت البيانات الموضحة في الجدول (15) الى وجود تفوق معنوي بزيادة تراكيز Salicylic Acid اذ تفوق التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ في تحقيق اعلى معدل بلغ 4.28 ملغم غم$^{-1}$ ثم تلاه التراكيز 10 ملغم لتر$^{-1}$ الذي حقق معدل بلغ 4.11ملغم غم$^{-1}$في حين حقق التركيز 30 ملغم غم$^{-1}$ اقل معدل بلغ 3.59 ملغم غم$^{-1}$مقارنة بمعاملة المقارنة التي حققت معدل بلغ 3.77ملغم غم$^{-1}$، كما كان لأشعة UV تأثير معنوي في معدل تركيز الكاربوهيدرات اذ اعطت معاملة UV بالدقيقة 20 اعلى معدل بلغ 4.32 ملغم غم$^{-1}$ ثم تلتها معاملة الـ 10 دقائق والي بلغت 4.12 ملغم غم$^{-1}$ واقلها كان عند معاملة المقارنة التي حققت اقل معدل بلغ 3.38 ملغم غم$^{-1}$. اما عن تأثير التداخل فقد تفوق التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ من السالسليك عند الدقيقة 20 من أشعة UV في تحقيق اعلى معدل بلغ 4.70 ملغم غم$^{-1}$ مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل معدل بلغ 2.89 ملغم غم$^{-1}$.

جدول (15)**تأثيرSalicylic Acid (SA) و الأشعة فوق البنفسجية (UV) والتداخل بينهما على معدل تركيز الكاربوهيدرات (ملغم غم$^{-1}$) في المجموع الخضري بعد أربعة أسابيع من الزراعة على الوسطMS.**

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	2.89	3.45	3.80	3.38	3.38
10	4.10	4.18	4.50	3.70	4.12
20	4.33	4.70	4.55	3.70	4.32
$L.S.D_{0.05}$	0.18				0.08
المعدل	3.77	4.11	4.28	3.59	
$L.S.D_{0.05}$	0.10				

مما تقدم عرضه من نتائج الجداول (9- 15) والشكل (9) تبين ان هنالك عوامل اخرى اثرت في نمو وتطور الجزء النباتي المزروع فضلا عن وجود التركيز الثابت من السايتوكاينين والاوكسين في الوسط الغذائي وما سيكون لذلك انعكاس على سير العمليات الايضية داخل الاجزاء النباتية النامية ومن هذه

العوامل وجود حامض الـ SA بتراكيزه المختلفة الذي كان له دور فاعل في تحسين مؤشرات النمو الخضرية والفسلجية ،إن حامض السالسليك هرمون نباتي جديد يلعب دوراً مهمً في تنظيم نمو النبات وتطوره، فقد وجِد أن SA شجع النمو الخضري والتضاعف وتكوين الجذور (Sakhanokho و Kelley، 2009)، وأشارت العديد من الدراسات إلى عدم وجود تأثيرات سلبية للـ SA ومنها ما ذكره Ghanem وآخرون، 2010 عن صفات النمو الجيدة لنبات الديجيتالس*D. lanata* النامي على وسط MS المزود بحامض السالسليك، وهذا قد يعود لدوره في تحفيز الهرمونات الداخلية (IAA و GA_3 والسايتوكاينينات) وزيادة بناءها ومنع تهدمها (El-Bassiouny وآخرون،2014 و Talaat و Shawky، 2022) ومما انعكس ذلك في زيادة عدد الفروع الجانبية كما تؤدي الإضافة الخارجية من حامض السالسليك الى التأثير الايجابي في دخول الايونات وانتقالها وكذلك في العمليات الفسيولوجية (Marchiosi وآخرون، 2020) كما ان حامض السالسليك يعمل على تحسين النمو ومعدل النتح وتنظيم فتح وغلق الثغور والبناء الضوئي وامتصاص ونقل العناصر داخل النبات (Khan واخرون، 2003) وربما يعود ذلك إلى التأثير التعاضدي الذي تنتجه بعض المركبات الفينولية وبما ان حامض السالسليك يعتبر مركب فينولي واسع الانتشار في النبات فانه يسهم بشكل مباشر في تنظيم العمليات الفسيولوجية مع منظمات النمو الأخرى مثل IAA التي لها دور في عملية انقسام وكبر حجم الخلايا واستطالتها (Hayet و اخرون،2007 و An و Mou ، 2011) ومن ثم أدى ذلك الى زيادة في طول الفروع واتفق ذلك مع ما توصل اليه Alam واخرون (2012) الذي حصل على زيادة في طول النبات مما يشير ذلك إلى الدور الايجابي الذي يقوم به حامض السالسليك في تحسين النمو ومعدل النتح وتنظيم عملية التمثيل الكاربوني، وعملية فتح وغلق الثغور وامتصاص ونقل العناصر المغذية داخل النبات (Ashraf واخرون، 2010) وانسجم ذلك مع ما أشار إليه Dias (2019) إذ بين الدور الفاعل الذي تؤديه منظمات النمو في زيادة عدد الفروع خلال فترة قصيرة .

أما بالنسبة لدوره في تحسين المؤشرات الفسلجية فان حامض السالسليك كان له دور في زيادة محتوى الاوراق من الكلوروفيل ، ربما يعود ذلك الى تنشيط تكوين صبغة الكلوروفيل من طريق تحفيزه تكوين صفائح الكرانا وتطور البلاستيدات الخضراء فضلاً عن ذلك تثبيطه لانزيمchlorophylase الذي يعمل على هدم صبغة الكلوروفيل ومن ثم زيادة كفاءة التمثيل الكاربوني (Arteca ، 1996)، أو ربما يعزى السبب الى دور حامض السالسليك الفاعل في زيادة صبغات التمثيل الكاربوني والهرمونات المساعدة التي تعد وسيلة حماية من خلال التأثير في تفاعلات النظام الضوئي الثاني ونتيجة لذلك يمنع هبوط كفاءة الطاقة الكيميائية الضوئية

photochemical ومن ثم يمنع تصدر النسيج وتوفر الحماية للبلاستيدات الخضراء والتراكيب الخلوية الأخرى، اذ يحفز أنتاج الإنزيمات المسؤولة عن بناء صبغات التمثيل الكاربوني وتثبيط نشاط أنزيمات الهدم (AL-Mafargy وآخرون،2020) كما انه يسهم في تشجيع أنتاج منظمي النمو IAA وABA والحث على أنتاج عدد من الأمينات المتعددة والمنظمات الاوزموزية ومنها الكلايسين وتحفيزه على تكوين الكرانا وتطور البلاستيدات الخضراء فضلا عن دور السالسليك في تحسين النمو تحت ظروف الإجهاد وذلك من خلال تنظيم العمليات الفسيولوجية وتقليل الأكسدة الحاصلة للأغشية الخلوية وبالتالي تحسين نفاذية العناصر المغذية، إذ يسهم في زيادة فعالية أنزيم peroxidase لاسيما تحت ظروف الإجهاد مما ينعكس ذلك على تحسين النمو الخضري ومن ثم زيادة الوزن الطري والجاف كذلك يسهم في زيادة تصنيع الكربوهيدرات وزيادة انقسام الخلايا في المرستيم القمي ونتيجة لذلك تحصل تراكم في المادة الجافة خلال تطور الأعضاء الخازنة (Sheteiwy واخرون ، 2019 و Younis واخرون، 2023).

وهذا يتفق مع Karlidag واخرون (2009) اذ حصلوا على زيادة في اغلب صفات النمو الخضري لنبات الشليك ولاسيما الوزن الطري والجاف وكمية الكلوروفيل ومحتوى الاوراق من العناصر المعدنية وذلك عند رش الشتلات بحامض السالسليك بالتركيزين 0.5 و 1 مليمول.

أن المعاملة بالتراكيز العالية من حامض السالسليك (اعلى من 20 ملغم لتر $^{-1}$) يؤثر سالباً في الوزن الطري نتيجة لتأثره في نمو وحيوية الخلايا كذلك يعمل حامض السالسليك على زيادة المركبات الثانوية من خلال تحفيزه للتعبير الجيني وتنظيم انتقال الاشارة Singal transduction أثناء عملية التعبير الجيني gene expression (Piatczak وآخرون، 2016).

4-15- تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيزالزيت الطيارα- pinene (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري لنبات إكليل الجبل.

تشير البيانات المدرجة في الجدول (16) الى وجود فروق معنوية بين المعاملات في معدل تركيز الـ a-pinene بزيادة تراكيز SA المضافة للوسط الغذائي MS, اذ حققت معاملة المقارنة معدل تركيز بلغ 19.280 مايكروغرام. مل$^{-1}$ ثم

زادت الاستجابة بزيادة التركيز الى 10 و 20 ملغم لتر$^{-1}$ التي حققت معدل بلغ 26.617 و 33.277 مايكروغرام. مل$^{-1}$على التتابع ثم قلت الاستجابة عند التركيز 30 ملغم لتر$^{-1}$ بلغت 32.087 مايكروغرام. مل$^{-1}$، كما كان لأشعة UV تأثير معنوي في معدل تركيز الـ a-pinene اذ اعطت معاملة UV عند الدقيقة 20 اعلى معدل بلغ 39.600 مايكروغرام مل$^{-1}$ ثم تلتها معاملة الـ 10 دقائق والتي بلغت 27.160 مايكروغرام.غم$^{-1}$ واقلها كان عند معاملة المقارنة والتي حققت اقل معدل بلغ 18.935 مايكروغرام مل$^{-1}$. اما عن تأثير التداخل فقد تفوق التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ SA عند الدقيقة 20 من أشعة UV في تحقيق اعلى معدل بلغ 46.83 مايكروغرام مل$^{-1}$ مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل معدل بلغ 10.50 مايكروغرام مل$^{-1}$.

جدول (16) تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ ά -pinene (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري بعد شهر من الزراعة على وسط MS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	10.50	20.15	22.34	22.75	18.94
10	16.39	28.45	30.66	33.14	27.16
20	30.95	40.25	46.83	40.37	39.60
$L.S.D_{0.05}$	0.27				0.13
المعدل	19.28	29.62	33.28	32.09	
$L.S.D_{0.05}$	0.15				

16-4- تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ 1-8Cinole (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري لنبات إكليل الجبل.

وعن تأثير تراكيز SA وأشعة UV في معدل تركيز مركب الـ 1-8Cinole المقدر في المجموع الخضري والمزروع على الوسط الغذائي MS فقد اشارت البيانات الموضحة في الجدول (17) الى وجود تفوق معنوي بزيادة تراكيز SA (10، 20، 30) ملغم لتر$^{-1}$ والتي حققت معدل بلغ (27.563، 29.383، 30.130) مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع ،

في حين حققت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 16.070 مايكروغرام غم$^{-1}$، كما كان لأشعة UV تأثير معنوي في معدل تركيز مركب الـ 1-8Cinole اذ اعطت معاملة UV بالدقيقة 20 اعلى معدل بلغ 36.495 مايكروغرام مل$^{-1}$ ثم تلتها معاملة الـ 10 دقائق والي بلغت 24.145 مايكروغرام مل$^{-1}$ واقلها كان عند معاملة المقارنة والتي حققت اقل معدل بلغ 16.720 مايكروغرام مل$^{-1}$. اما عن تأثير التداخل فقد تفوق التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ SA عند الدقيقة 20 من أشعة UV في تحقيق اعلى معدل بلغ 40.80 مايكروغرام مل$^{-1}$ مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل معدل بلغ 7.13 مايكروغرام مل$^{-1}$.

جدول (17) تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ 1-8cinole (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري بعد شهر من الزراعة على وسط MS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	7.13	18.43	21.22	20.10	16.720
10	15.19	25.09	26.13	30.17	24.145
20	25.89	39.17	40.80	40.12	36.495
$L.S.D_{0.05}$	0.50				0.252
المعدل	16.070	27.563	29.383	30.130	
$L.S.D_{0.05}$	0.290				

4-17- تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Camphor (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري لنبات إكليل الجبل.

تشير البيانات المدونة في الجدول (18) إلى وجود فروق معنوية في معدل تركيز الـ Camphor عند اضافة الـ SA بتراكيزه المختلفة الى الوسط الغذائي MS، إذ تفوق التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ وأعطى أعلى تركيز للمركب بلغ 30.443 مايكروغرام مل$^{-1}$ والذي أختلف معنوياً عن بقية المعاملات مقارنة بمعاملة المقارنة التي سجلت اقل تركيز بلغ 13.878 مايكروغرام مل$^{-1}$ ، وتشير نتائج الجدول نفسه إلى وجود فروق معنوية في معدل تركيز الـ Camphor باختلاف الفترة

الزمنية لتعريض مزارع الأفرع الخضرية لأشعة UV ، فقد تفوقت الفترة الزمنية 20 دقيقة في تحقيق اعلى تركيز للمركب ذاته بلغ 33.548 مايكروغرام مل$^{-1}$ ثم قلت الاستجابة عند الفترة 10 دقيقة اذ بلغ 25.492 مايكروغرام مل$^{-1}$ واقلها كان عند معاملة المقارنة والذي بلغ 16.862 مايكروغرام مل$^{-1}$. اما عن تأثير التداخل الثنائي فقد حقق التركيز 30 ملغم لتر$^{-1}$ SA عند الدقيقة 20 اعلى تركيز بلغ 40.76 مايكروغرام مل$^{-1}$ في حين اعطت معاملة المقارنة اقل تركيز بلغ 6.27 مايكروغرام مل$^{-1}$.

جدول (18) تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Camphor (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري بعد شهر من الزراعة على وسط MS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	6.27	17.60	22.50	21.08	16.86
10	15.09	28.00	30.73	28.15	25.49
20	20.28	35.06	38.10	40.76	33.55
$L.S.D_{0.05}$	0.85				0.42
المعدل	13.88	26.89	30.44	30.00	
$L.S.D_{0.05}$	0.49				

4-18- تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Verbene (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري لنبات إكليل الجبل.

وعن تأثير تراكيز SA وأشعة UV في معدل تركيز مركب الـ Verbene المقدر في المجموع الخضري لنبات إكليل الجبل المزروع على الوسط الغذائي MS فقد اشارت البيانات الموضحة في الجدول (19) الى وجود تفوق معنوي بزيادة تراكيز SA المضافة للوسط الغذائي اذ تفوق التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ في تحقيق اعلى معدل تركيز بلغ 31.933 مايكروغرام مل$^{-1}$ ثم قلت الاستجابة عند التركيز 30 ملغم لتر$^{-1}$ محقق معدل بلغ 31.293 مايكروغرام مل$^{-1}$ ، في حين حققت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 14.293 مايكروغرام مل$^{-1}$، كما كان لأشعة UV تأثير معنوي في معدل تركيز

مركب الـ Verbene اذ اعطت معاملة UV بالدقيقة 20 اعلى معدل بلغ 34.745 مايكروغرام مل$^{-1}$ ثم تلتها معاملة الـ 10 دقائق والي بلغت 26.352 مايكروغرام مل$^{-1}$ واقلها كان عند معاملة المقارنة والتي حققت اقل معدل بلغ 16.962 مايكروغرام مل$^{-1}$. اما عن تأثير التداخل الثنائي فقد تفوق التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ SA عند الدقيقة 20 من أشعة UV في تحقيق اعلى معدل بلغ 42.00 مايكروغرام مل$^{-1}$ مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل معدل بلغ 6.01 مايكروغرام مل$^{-1}$.

جدول (19) تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Verbene(مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري بعد شهر من الزراعة على وسط MS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	6.01	17.01	21.66	23.17	16.96
10	15.17	27.50	32.14	30.60	26.35
20	21.70	35.17	42.00	40.11	34.75
$L.S.D_{0.05}$	0.69				0.35
المعدل	14.29	26.56	31.93	31.29	
$L.S.D_{0.05}$	0.40				

4-19- تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Rosmaric acid (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري لنبات إكليل الجبل.

تشير البيانات المدرجة في الجدول (20) الى وجود فروق معنوية بين المعاملات في تركيز Rosmaric acid بزيادة تراكيز SA المضافة للوسط الغذائي MS, اذ تفوق التركيز 30 ملغم لتر$^{-1}$ في تحقيق اعلى معدل بلغ 62.82 مايكروغرام مل$^{-1}$ في حين حققت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 24.40 مايكروغرام مل$^{-1}$ ، كما كان لأشعة UV تأثير معنوي في تركيز المركب ذاته اذ اعطت معاملة UV بالدقيقة 20 اعلى معدل بلغ 62.75 مايكروغرام مل$^{-1}$ ثم تلتها معاملة الـ 10 دقائق والتي بلغت 47.82 مايكروغرام مل$^{-1}$ واقلها كان عند معاملة المقارنة والتي بلغت 39.84

مايكروغرام مل$^{-1}$ ، اما عن تأثير التداخل الثنائي فقد تفوق التركيز 30 ملغم لتر$^{-1}$ SA عند الدقيقة 20 من أشعة UV في تحقيق اعلى معدل بلغ 73.41 مايكروغرام مل$^{-1}$ مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل معدل بلغ 18.01 مايكروغرام مل$^{-1}$.

جدول (20) تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Rosmaric acid(مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري بعد شهر من الزراعة على وسط MS.

المدة الزمنية لأشعة UV(دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	18.01	40.10	46.21	55.04	39.84
10	31.11	59.40	58.76	60.00	47.82
20	42.08	65.43	70.10	73.41	62.75
$L.S.D_{0.05}$	4.99				2.49
المعدل	24.40	54.98	58.36	62.82	
$L.S.D_{0.05}$	2.88				

4-20- تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Broneal (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري لنبات إكليل الجبل.

تشير البيانات المدرجة في الجدول (21) الى وجود فروق معنوية بين المعاملات في معدل تركيز Broneal بزيادة تراكيز SA المضافة للوسط الغذائي MS, اذ تفوق التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ في تحقيق اعلى معدل بلغ 29.820 مايكروغرام مل$^{-1}$ ثم قلت الاستجابة عند التراكيز 30 ملغم لتر$^{-1}$ بلغت 27.857 مايكروغرام مل$^{-1}$ في حين حققت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 10.900 مايكروغرام مل$^{-1}$ ، كما كان لأشعة UV تأثير معنوي في معدل تركيز Broneal اذ اعطت معاملة UV بالدقيقة 20 اعلى معدل بلغ 28.582 مايكروغرام مل$^{-1}$ ثم تلتها معاملة الـ 10 دقائق والي بلغت 26.300 مايكروغرام مل$^{-1}$ واقلها كان عند معاملة المقارنة والتي بلغت 15.920 مايكروغرام مل$^{-1}$ اما

عن تأثير التداخل الثنائي فقد تفوق التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ SA عند الدقيقة 20 من أشعة UV في تحقيق اعلى معدل بلغ 38.12 مايكروغرام مل$^{-1}$ مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل معدل بلغ 5.81 مايكروغرام مل$^{-1}$.

جدول (21) تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Broneal (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري بعد شهر من الزراعة على وسط MS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	5.81	17.30	20.27	20.30	15.920
10	16.76	27.17	31.07	30.20	26.300
20	10.13	33.01	38.12	33.07	28.582
$L.S.D_{0.05}$	0.69				0.346
المعدل	10.900	25.827	29.820	27.857	
$L.S.D_{0.05}$	0.400				

4-21- تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Geranal (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري لنبات إكليل الجبل.

توضح البيانات المبينة في الجدول (22) الى وجود فروق معنوية بين المعاملات في معدل تركيز Geranalبزيادة تراكيز SA المضافة للوسط الغذائي MS اذ تفوق التركيز 10 ملغم لتر$^{-1}$ وحقق معدل تركيز بلغ 30.677 مايكروغرام مل$^{-1}$ والذي لم يختلف معنويا عن التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ اذ بلغ 30.457 مايكروغرام مل$^{-1}$ ثم قلت الاستجابة عند التركيز 30 ملغم لتر$^{-1}$ والذي بلغ 26.240 مايكروغرام مل$^{-1}$ في حين حققت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 11.163 مايكروغرام مل$^{-1}$ ، كما كان لأشعة UV تأثير معنوي في معدل تركيز Geranal اذ اعطت معاملة UV بالدقيقة 20 اعلى معدل بلغ 29.657 مايكروغرام مل$^{-1}$ ثم تلتها معاملة الـ 10 دقائق والتي بلغت 24.882 مايكروغرام مل$^{-1}$ واقلها كان عند معاملة المقارنة والتي بلغت 19.362 مايكروغرام مل$^{-1}$ اما عن تأثير التداخل الثنائي

فقد تفوق التركيز 10 ملغم لتر$^{-1}$ SA عند الدقيقة 20 من أشعة UV في تحقيق اعلى معدل بلغ 38.03 مايكروغرام مل$^{-1}$ مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل معدل بلغ 7.01 مايكروغرام مل$^{-1}$.

جدول (22) تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Geranal (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري بعد شهر من الزراعة على وسط MS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	7.01	21.10	25.83	23.51	19.362
10	11.38	32.90	30.25	25.00	24.882
20	15.10	38.03	35.29	30.21	29.657
$L.S.D_{0.05}$	0.51				0.254
المعدل	11.163	30.677	30.457	26.240	
$L.S.D_{0.05}$	0.293				

4-22- تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Linolool (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري لنبات إكليل الجبل.

تشير البيانات المبينة في الجدول (23) الى وجود فروق معنوية بين المعاملات في معدل تركيز Linolool بزيادة تراكيز SA 10 و20 و 30 ملغم لتر$^{-1}$ المضافة للوسط الغذائي MS بلغت 27.963 و 31.357 و 34.430 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع، في حين حققت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 13.223 مايكروغرام مل$^{-1}$ ، كما كان لأشعة UV تأثير معنوي في معدل تركيز Linolool اذ اعطت معاملة UV بالدقيقة 20 اعلى معدل بلغ 31.102 مايكروغرام مل$^{-1}$ ثم تلتها معاملة الـ 10 دقائق والتي بلغت 28.100 مايكروغرام مل$^{-1}$ واقلها كان عند معاملة المقارنة والتي بلغت 21.027 مايكروغرام مل$^{-1}$ اما عن تأثير التداخل الثنائي فقد تفوق التركيز 30 ملغم لتر$^{-1}$ SA عند الدقيقة 20 من أشعة UV في تحقيق اعلى معدل بلغ 38.39 مايكروغرام مل$^{-1}$ مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل معدل بلغ 5.78 مايكروغرام مل$^{-1}$.

جدول (23) تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Linolool (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري بعد شهر من الزراعة على وسط MS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	5.78	20.14	28.11	30.08	21.027
10	13.37	28.46	35.75	34.82	28.100
20	20.52	35.29	30.21	38.39	31.102
$L.S.D_{0.05}$	0.49				0.246
المعدل	13.223	27.963	31.357	34.430	
$L.S.D_{0.05}$	0.284				

4-23- تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Cymene (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري لنبات إكليل الجبل.

تشير البيانات المدرجة في الجدول (24) الى وجود فروق معنوية بين المعاملات في معدل تركيز Cymene بزيادة تراكيز SA 10 و20 و 30 ملغم لتر$^{-1}$ المضافة للوسط الغذائي MS بلغت 27.716 و 30.176 و 31.340 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع، في حين حققت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 15.060 مايكروغرام مل$^{-1}$ ، وعن تأثير أشعة UV في معدل تركيز Cymene فقد تفوقت معاملة UV بالدقيقة 20 بتحقيق اعلى معدل بلغ 35.037 مايكروغرام مل$^{-1}$ ثم تلتها معاملة الـ 10 دقائق والتي بلغت 25.967 مايكروغرام مل$^{-1}$ واقلها كان عند معاملة المقارنة والتي بلغت 17.215 مايكروغرام مل$^{-1}$ اما عن تأثير التداخل الثنائي فقد تفوق التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ SA عند الدقيقة 20 من أشعة UV في تحقيق اعلى معدل بلغ 40.20 مايكروغرام مل$^{-1}$ مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل معدل بلغ 6.50 مايكروغرام مل$^{-1}$.

جدول (24) تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Cymene (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري بعد شهر من الزراعة على وسط MS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	6.50	19.07	20.13	23.16	17.2150
10	13.68	27.91	30.20	32.08	25.9675
20	25.00	36.17	40.20	38.78	35.0375
$L.S.D_{0.05}$	0.09				0.0454
المعدل	15.0600	27.7167	30.1767	31.3400	
$L.S.D_{0.05}$	0.0524				

4-24- تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ α-Terpinol (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري لنبات إكليل الجبل.

توضح البيانات المبينة في الجدول (25) الى وجود فروق معنوية بين المعاملات في معدل تركيز α-Terpinol بزيادة تراكيز SA 10 و20 و 30 ملغم لتر$^{-1}$ المضافة للوسط الغذائي MS بلغت 25.410 و 29.410 و 33.377 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع، في حين حققت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 13.443 مايكروغرام مل$^{-1}$ ، وعن تأثير أشعة UV في معدل تركيز α-Terpinol فقد تفوقت معاملة UV بالدقيقة 20 بتحقيق اعلى معدل بلغ 32.743 مايكروغرام مل$^{-1}$ ثم تلتها معاملة الـ 10 دقائق والتي بلغت 25.577 مايكروغرام مل$^{-1}$ واقلها كان عند معاملة المقارنة والتي بلغت 18.022 مايكروغرام مل$^{-1}$ اما عن تأثير التداخل الثنائي فقد تفوق التركيز 30 ملغم لتر$^{-1}$ SA عند الدقيقة 20 من أشعة UV في تحقيق اعلى معدل بلغ 40.98 مايكروغرام مل$^{-1}$ مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل معدل بلغ 7.17 مايكروغرام مل$^{-1}$.

جدول (25) تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ ά-Terpinol (مايكروغرام مل$^{-1}$) للمجموع الخضري بعد شهر من الزراعة على وسط MS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	7.17	15.60	22.17	27.15	18.022
10	12.11	30.20	28.00	32.00	25.577
20	21.05	30.88	38.06	40.98	32.743
$L.S.D_{0.05}$	0.13				0.064
المعدل	13.443	25.560	29.410	33.377	
$L.S.D_{0.05}$	0.074				

4- 25- تأثير تراكيز 2,4-D و BA في النسبة المئوية لاستجابة القمة النامية لاستحثاث الكالس.

تشير النتائج في الجدول (26) والشكل (3) الى تأثير التراكيز المختلفة من الاوكسين 2,4-D والسايتوكانين BA في النسبة المئوية للكالس المستحث من القمه النامية، حيث يلاحظ استجابة القمم النامية عند جميع تراكيز الـ 2,4-D بالتداخل مع تراكيز الـ BA وبجميع المكررات لنشوء الكالس في حين لم تعطِ معاملة مقارنة الـ 2,4-D وبالتداخل مع جميع تراكيز BA اي استجابة تذكر.

هذه النتائج تتفق مع Ramawat (2008) الذي صرح بذلك يفضل تعريض الكالس في عدد من الأنواع النباتية الى الأوكسينات أعلى من السايتوكينينات.

جدول (26) تأثير تراكيز الـ 2,4-D والـ BA في النسبة المئوية لاستجابة القمم النامية لاستحثاث الكالس بعد 4 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

تركيز 2,4-D (ملغم .لتر$^{-1}$)	تركيز BA (ملغم .لتر$^{-1}$)	عدد المكررات	عدد المكررات الناجحة	نسبة الاستجابة%
0	0	10	0	0
	0.1	10	0	0
	0.2	10	0	0

0	0	10	0.4	
100	10	10	0	1
100	10	10	0.1	
100	10	10	0.2	
100	10	10	0.4	
100	10	10	0	2
100	10	10	0.1	
100	10	10	0.2	
100	10	10	0.4	
100	10	10	0	3
100	10	10	0.1	
100	10	10	0.2	
100	10	10	0.4	
100	10	10	0	4
100	10	10	0.1	
100	10	10	0.2	
100	10	10	0.4	

4- 26- تأثير تراكيز 2,4- D و BA في النسبة المئوية لاستجابة الورقة لاستحثاث الكالس.

بينت نتائج الجدول (27) والشكل (10) تأثير التراكيز المختلفة من الاوكسين 2,4-D والسايتوكانين BA في النسبة المئوية للكالس المستحث من ورقة نبات إكليل الجبل ، حيث يلاحظ استجابة الورقة لنشوء الكالس عند التوليفة 2 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D و 0.1 و0.2 و0.4 ملغم لتر$^{-1}$ BA بنسبة بلغت 1 و 2 و 3 % على التتابع، في حين لم تعطِ جميع التراكيز الاخرى اي استجابة تذكر.

جدول (27) تأثير تراكيز الـ 2,4-D والـ BA في النسبة المئوية لاستجابة الورقة لاستحثاث الكالس بعد 4 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

تركيز 2,4-D (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)	عدد المكررات	عدد المكررات الناجحة	نسبة الاستجابة%
0	0	10	0	0
	0.1	10	0	0
	0.2	10	0	0
	0.4	10	0	0
1	0	10	0	0
	0.1	10	0	0
	0.2	10	0	0
	0.4	10	0	0
2	0	10	0	0
	0.1	10	1	10
	0.2	10	2	20
	0.4	10	3	30
3	0	10	0	0
	0.1	10	0	0
	0.2	10	0	0
	0.4	10	0	0
4	0	10	0	0
	0.1	10	0	0
	0.2	10	0	0
	0.4	10	0	0

شكل (9) استجابة القمة النامية واوراق نبات إكليل الجبل لاستحثاث الكالس عند التركيز 2 ملغم لتر$^{-1}$ من 2,4-D مع 0.2 ملغم لتر$^{-1}$ من BA .

من هذا يستدل بأن القمة النامية هي الجزء الأفضل لاستحثاث الكالس وقد يعزى السبب إلى كون خلاياها مرستيمية نشطة وكذلك الى محتواها العالي من الأوكسينات الداخلية مقارنة بالأوراق (محمد وعمر، 1990)، كما ذكر دفلن وويذام (1998) إن أعلى تراكيز الأوكسين تكون في القمة النامية للنبات، وإن انتشاره وتوزيعه خلال النبات يكون من خلال انتقاله من المناطق المرستيمية لهذا فأن تركيز الأوكسين يتناقص باستمرار كلما ابتعدنا عن القمة النامية وهذا سينعكس على استجابة القمة النامية وتفوقها على بقية الأجزاء الأخرى في استحثاث الكالس تتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه Leelavathi وKuppan (2013) عند استحثاث الكالس من

القمة النامية لنبات إكليل الجبل من خلال استخدام توليفة مكونة من BAP (8.88 µM) + IAA (5.70 µM) . كذلك اتفقت النتائج مع ما توصل اليه El-Beltagi واخرون (2011) عند تنمية القمم النامية لنبات إكليل الجبل على وسط MS لغرض استحثاث الكالس باستعمال توليفة من منظمات النمو BA وNAA .

على ضوء نتائج الجداول (25 و 26) فقد تم الاعتماد على القمة النامية كجزء نباتي لاستحثاث وادامة الكالس في تنفيذ تجربة التحفيز اللاحقة.

4- 27- تأثير تراكيز 2,4- D و BA في معدل الوزن الطري للكالس المستحث من القمة النامية.

تبين نتائج الجدول (28) إلى وجود فروق معنوية عند اضافة الـ 2,4-D بتراكيزه المختلفة الى الوسط الغذائي المعد لاستحثاث الكالس من القمم النامية لنبات إكليل الجبل، إذ تفوق الـ 2,4- D عند التركيز 2 ملغم لتر$^{-1}$ وأعطى أعلى معدل وزن طري للكالس بلغ 181.8 ملغم الذي أختلف معنوياً عن بقية المعاملات ثم قلت الاستجابة بزيادة تركيز الاوكسين الى 3 و 4 ملغم لتر$^{-1}$ الذي اعطى اقل معدل بلغ (161.8 و 148) ملغم على التتابع مقارنة بمعاملة المقارنة التي سجلت اقل معدل بلغ 143.6 ملغم ، وتشير نتائج الجدول نفسه إلى وجود فروق معنوية في معدل وزن الكالس باختلاف تراكيز الـ BA المضافة للوسط الغذائي فقد تفوق التركيز 0.2ملغم لتر$^{-1}$ معنويا في تحقيق افضل معدل بلغ 150.2 ملغم مقارنة مع اقل معدل كان عند معاملة المقارنة الذي بلغ 104.8 ملغم. اما عن تأثير التداخل ما بين تراكيز الاوكسين السايتوكاينين في معدل الوزن الطري للكالس فقد حقق التركيز 2 ملغم لتر$^{-1}$ من 2,4-D عند التركيز 0.2 ملغم لتر$^{-1}$ من BA اعلى معدل بلغ 230.6 ملغم في حين لم تحقق معاملة المقارنة للاوكسين وعند التراكيز المختلفة من السايتوكانينات اي استجابة تذكر.

جدول (28) **تأثير تراكيز 2,4- D و BA في معدل الوزن الطري للكالس (ملغم) المستحث من القمة النامية بعد 4 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.**

تركيز 2,4-D (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	0.1	0.2	0.4	
0	0	0	0	0	0
1	80.39	151.08	187.13	155.95	118.64
2	142.66	193.05	230.64	160.75	156.78
3	150.75	166.17	185.10	145.22	136.81
4	150.00	138.70	148.10	155.00	122.95
$L.S.D_{0.05}$	3.82				1.91
المعدل	104.76	49.80	150.19	123.38	
$L.S.D_{0.05}$	1.71				

4- 28- تأثير تراكيز 2,4- D و BA في معدل الوزن الجاف للكالس المستحث من القمة النامية.

تشير البيانات المدونة في الجدول (29) إلى وجود فروق معنوية عند اضافة الـ 2,4-D بتراكيزه المختلفة الى الوسط الغذائي MS، إذ تفوق التركيز 2 ملغم لتر$^{-1}$ وأعطى أعلى معدل وزن جاف للكالس بلغ 15.66 ملغم الذي أختلف معنوياً عن بقية المعاملات ثم قلت الاستجابة بزيادة تركيز الاوكسين الى 3 و 4 ملغم لتر$^{-1}$ الذي اعطى اقل معدل بلغ 13.93 و 13.12 ملغم على التتابع مقارنة بمعاملة المقارنة التي سجلت اقل معدل بلغ 11.76 ملغم، ، وتشير نتائج الجدول نفسه إلى وجود فروق معنوية في معدل الوزن الجاف للكالس باختلاف تراكيز الـ BA المضافة للوسط الغذائي فقد تفوق التركيز 0.2 ملغم لتر$^{-1}$ معنويا في تحقيق افضل معدل بلغ 12.46 ملغم ثم قلت الاستجابة عند التركيز 0.4 ملغم لتر$^{-1}$ بلغ 11.17 ملغم والتي لا تختلف معنويا عن التركيز 0.1 ملغم الذي بلغ 11.31 ملغم مقارنة مع اقل معدل كان عند معاملة المقارنة والذي بلغ 8.63 ملغم. اما عن تأثير التداخل ما بين تراكيز الاوكسين السايتوكاينين في معدل الوزن الطري للكالس فقد حقق التركيز 2 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D عند

التركيز 0.2 ملغم لتر$^{-1}$ اعلى معدل بلغ 18.75 ملغم في حين لم تحقق معاملة المقارنة للاوكسين وعند التراكيز المختلفة من السايتوكاينين اي استجابة تذكر.

على ضوء نتائج الجداول (28 و 29) فقد تم الاعتماد على التركيزين 2 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D و 0.2 ملغم لتر$^{-1}$ من BA في تنفيذ تجربة التحفيز اللاحقة.

جدول (29) **تأثير تراكيز 2,4- D و BA في معدل الوزن الجاف للكالس (ملغم) المستحث من القمة النامية بعد 4 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.**

تركيز 2,4-D (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	0.1	0.2	0.4	
0	0	0	0	0	0
1	5.44	12.65	15.32	13.65	11.765
2	11.60	16.55	18.75	15.75	15.663
3	13.10	14.68	14.85	13.10	13.932
4	13.00	12.70	13.40	13.38	13.120
$L.S.D_{0.05}$	0.65				0.32
المعدل	8.63	11.316	12.464	11.176	
$L.S.D_{0.05}$	0.29				

تفسر عملية استحداث الكالس على القطعة النباتي على أساس أن القطعة النباتية تمر بتغيرات معينة عند استحداث الكالس مثل التغير في الحجم والتركيب، فضلاً عن الزيادة في بعض العمليات البنائية المهمة، مثل بناء البروتين والحوامض النووية ففي مرحلة التحفيز تحدث تغيرات مهمة واساس في الخلايا لتعدها لعملية الانقسام، وتحدث فيها العمليات البنائية مثل بناء البروتين وتضاعف الحامض النووي DNA، ومدة انجاز هذه المرحلة يعتمد بصورة رئيسة على عدة عوامل منها نوع النسيج للقطعة النباتية ، الوسط الغذائي، الظروف البيئية، يتبع هذه المرحلة تغير متتابع في الفعاليات الحيوية لهذه الخلايا تنتهي بانقسامها، وتكوين كتلة من خلايا الكالس تغطي معظم أجزاء القطعة النباتية (Huda واخرون، 2020). ربما يعزى سبب استحثاث الكالس على سطح القطعة النباتية الى دور منظم النمو 2,4-D الذي يشجع تكوين الكالس وزيادة نموه كونه احد الاوكسينات التي لها دورٌ مهمٌ في تكوين ونمو الكالس، وأن زيادة التركيز تؤدي إلى تكوين الكالس وصولا للتركيز الأمثل وإن زيادة التركيز عن

الحد الأمثل تؤدي إلى تأثيرات عكسية إذ أن إضافة منظمات النمو للوسط الغذائي تحفز استمرار الانقسام لنسيج الكالس، وان النسيج الخلوي بعد زراعته على الوسط الغذائي سوف يكون قادرا على تأسيس نظام هرموني داخلي، هذا النظام يحدد اتجاه التطور اللاحق بالتداخل مع منظمات النمو المضافة للوسط التي تكون بعد ذلك مسؤولة عن المحافظة على استمرار نشاط الانقسام الخلوي (Neumann وآخرون، 2009 وCavallaro واخرون ،2022).

ان الاوكسينات بشكل عام ضرورية لاستحثاث انسجة الكالس من الاجزاء النباتية المزروعة خارج الجسم الحي , اذ تشير المصادر إلى أن المعاملة بالاوكسين تؤثر في الحالة الفسلجية للخلايا وتغير من نمط التمايز في الخلايا المستجيبة له , اذ وجد ان المعاملة بالاوكسين قد جعلت الخلايا المتمايزة Differentiated cells للجزء النباتي تعاني من حالة فقدان التمايز Dedifferentiation وتسرع بالانقسام لتكوين انسجة الكالس (George واخرون ، 2008 و Neumanm واخرون ، 2009) , وقد يعود السبب في هذه التأثيرات (زيادة الوزن الطري والجاف للكالس) الى ان السايتوكاينينات وخاصة البنزل ادنين BA شجع في استقطاب المغذيات الى الخلايا المعاملة بها وتحفيز انقسام الخلايا فضلا عن اعاقة هدم البروتين الذي ينعكس اثاره في تشجيع عملية الانقسام خاصة عندما تصل حالة التوازن المثالية . كما يؤدي ايضا الى زيادة بناء الـ RNA والبروتينات والانزيمات داخل الخلية (الرفاعي والشوبكي ، 2002).

كما اشار عدد من الباحثين ان الزيادة في الوزن الطري والجاف للكالس هي انعكاس للتغيرات في المحتويات المختلفة لخلايا الجزء النباتي المزروع معتمدة على نموه في الوسط الغذائي المستعمل الذي يعتمد بالأساس على منظمات النمو المضافة , اذ يرافق عملية انقسام خلايا الكالس زيادة في المحتويات المهمة لإدامة الانقسام والنمو مثل الكربوهيدرات والبروتينات والاحماض الامينية مع تغيرات داخلية تؤدي الى انقسام الخلايا (Endress و Endress ، 1994 وBulya واخرون ، 2023).

إن فشل تكوين الكالس عند معاملة المقارنة قد يعود إلى أن محتوى الأجزاء النباتية من الهرمونات النباتية كانت قليلة لا تساعد على استمرارية انقسام الخلايا واستحداث الكالس، وقد يعود سبب تكوين الكالس عند المعاملة المجهزة بالتركيز 2 ملغم لتر$^{-1}$ و 0.2 ملغم لتر$^{-1}$ BA إلى حصول حالة توازن هرموني ما بين المنظمات المضافة إلى الوسط مع الهرمونات الداخلية الموجودة داخل الجزء النباتي، وأن هذا المنظم ساعد على بدء انقسام الخلايا في منطقة تلامس القطعة النباتية مع الوسط الغذائي، ولاسيما الخارجية منها مع توافر العناصر الغذائية

والأوكسجين الذي يساعد على عملية التنفس وتوفير الطاقة اللازمة لعملية الانقسام، إذ تعد هذه العوامل الرئيسة لإستحداث الكالس (Sandoval واخرون،2010 و Park واخرون،2020).

اتفقت هذه النتائج مع ما توصل اليه AL MASOODY و STĂNICĂ (2015b) حيث اشارا الى ان افضل حجم كالس تم الحصور عليه من خلال زراعة القمة النامية لنبات إكليل الجبل على وسط MS المجهز ب2 ملغم لتر$^{-1}$ من BA بالتداخل مع 1.5 ملغم لتر$^{-1}$ من NAA .

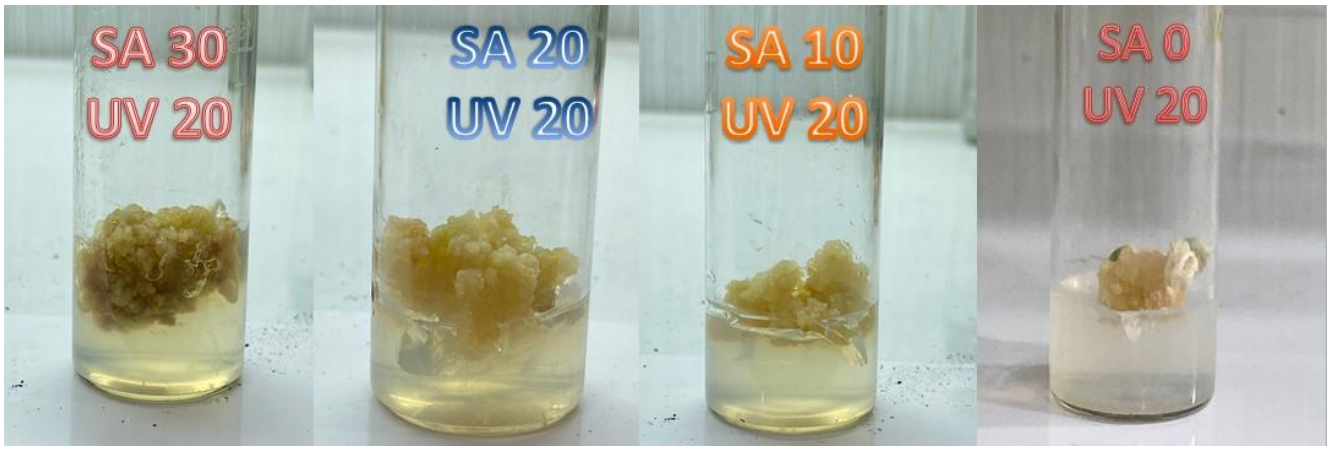
كما اشار العديد من الباحثين الى أهمية التحضين بالظلام ومنهم (Altaf واخرون ، 2009 وAlmukhtar ،2017 و Nazir واخرون ،2020 و Kadasa واخرون ، 2022) وهذا يعود الى دور الظلام في منع اكسدة بعض المركبات الحساسة للضوء مثل الاوكسينات إذ يعمل الضوء على تنشيط انزيم IAA-Oxidase كذلك إن التحضين في الظلام ربما يؤدي الى تثبيط أكسدة المواد الفينولية بواسطة انزيمات الاكسدة التي يحفزها الضوء , كما يعتقد بأن تحضين الاجزاء النباتية في الظلام يؤدي الى زيادة رقة الجدران الخلوية وقلة سمكها مما يؤدي الى زيادة نفاذية المواد لاسيما منظمات النمو الى داخل الانسجة المزروعة ومن ثم إستجابة هذه الأجزاء لاستحثاث الكالس (Hamad و Majid ، 2017) . تتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه El-Naggar (2006) عند حضن كالس نبات إكليل الجبل في الظلام .

4- 29- تأثير تراكيز SA و الأشعة فوق البنفسجية في معدل الوزن الطري للكالس.

تبين نتائج الجدول (30) وجود تفوق معنوي في معدل الوزن الطري للكالس المزروع على الوسط الغذائي MS المجهز بتركيز ثابت 2 ملغم لتر$^{-1}$ من 2,4-D و 0.2 ملغم لتر$^{-1}$ من BA، بزيادة تراكيز SA المضافة للوسط، إذ تفوق التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ وأعطى أعلى معدل وزن طري للكالس بلغ 308.47 ملغم والذي أختلف معنوياً عن بقية المعاملات ثم قلت الاستجابة بزيادة التركيز الى 30 ملغم لتر$^{-1}$ الذي اعطى معدل بلغ 256.24 ملغم، مقارنة بمعاملة المقارنة التي حققت اقل معدل بلغ 163.41 ملغم، كما تشير نتائج الجدول نفسه إلى وجود فروق معنوية في معدل وزن الكالس باختلاف مدد التعرض للأشعة فوق البنفسجية اذ حققت الفترة الزمنية 20 دقيقة اعلى معدل بلغ 291.44 ملغم مقارنة مع اقل معدل كان عند معاملة المقارنة والذي بلغ 219.76ملغم. اما عن تأثير التداخل الثنائي فقد تفوق الوسط الغذائي المجهز بالتركيز 10 ملغم لتر$^{-1}$ SA عند الدقيقة 20 من الأشعة فوق البنفسجية في تحقيق اعلى معدل للوزن الطري للكالس بلغ 335.70 ملغم مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل معدل بلغ 125.12 ملغم.

جدول (30) **تأثير تراكيز** SA **و الأشعة فوق البنفسجية في معدل الوزن الطري للكالس (ملغم) بعد 4 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS بتركيز ثابت 2 ملغم لتر$^{-1}$ من 2,4-D و 0.2 ملغم لتر$^{-1}$ من BA .**

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز SA (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	125.12	255.27	280.00	218.65	219.76
10	170.10	248.13	320.37	240.08	244.67
20	195.00	335.70	325.05	310.00	291.44
$L.S.D_{0.05}$	9.78				4.89
المعدل	163.41	279.70	308.47	256.24	
$L.S.D_{0.05}$	5.65				



شكل(10) تأثير حامض السالسليك والأشعة فوق البنفسجية على كالس نبات إكليل الجبل .

4- 30- تأثير تراكيز SA و الأشعة فوق البنفسجية في معدل الوزن الجاف للكالس.

تبين نتائج الجدول (31) وجود تفوق معنوي في معدل الوزن الجاف للكالس المزروع على الوسط الغذائي MS المجهز بتركيز ثابت 2 ملغم لتر$^{-1}$ من 2,4-D و 0.2 ملغم لتر$^{-1}$ من BA، بزيادة تراكيز SA المضافة للوسط، إذ تفوق التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ وأعطى أعلى معدل وزن جاف للكالس بلغ 27.30 ملغم والذي أختلف معنوياً عن بقية المعاملات ثم قلت الاستجابة بزيادة التركيز الى 30 ملغم لتر$^{-1}$ الذي اعطى معدل وزن بلغ 22.39 ملغم، مقارنة بمعاملة المقارنة التي حققت اقل معدل بلغ 14.30 ملغم، كما تشير نتائج الجدول نفسه إلى وجود فروق معنوية في معدل وزن الكالس باختلاف مدد التعرض للأشعة فوق البنفسجية اذ حققت الفترة الزمنية 20 دقيقة اعلى معدل بلغ 25.44 ملغم مقارنة مع اقل معدل كان عند معاملة المقارنة والذي بلغ 19.98 ملغم. اما عن تأثير التداخل الثنائي فقد تفوق الوسط الغذائي المجهز بالتركيز 10 ملغم لتر$^{-1}$ SA عند الدقيقة 20 من الأشعة فوق البنفسجية في تحقيق اعلى معدل للوزن الطري للكالس بلغ 30.10 ملغم مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت معدل بلغ 10.60.

جدول (31) **تأثير تراكيز SA و الأشعة فوق البنفسجية في معدل الوزن الجاف للكالس (ملغم) بعد 4 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS بتركيز ثابت 2 ملغم لتر$^{-1}$ من 2,4-D و 0.2 ملغم لتر$^{-1}$ من BA .**

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز SA (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	10.60	23.70	24.85	20.77	19.98
10	14.80	22.35	27.20	22.08	21.61
20	17.50	30.10	29.84	24.33	25.44
$L.S.D_{0.05}$	0.50				0.25
المعدل	14.30	25.38	27.30	22.39	
$L.S.D_{0.05}$	0.29				

مما تقدم عرضه من نتائج الجداول (30 و 31) والشكل (11) تبين ان لحامض السالسليك اسد SA تأثير ايجابي في معدل الوزنين الطري والجاف لكالس نبات إكليل الجبل وقد يعزى السبب الى دوره الكبير في نمو الكالس وزيادة حجمه ووزنه (زيادة الكتلة الحية) وذلك من خلال دوره في زيادة الماء في الخلية أو النبات عموما، ويعمل على زيادة أيض الخلية للاستفادة من المحيط والمغذيات، ويبدأ بالتراكم عند وصول الخلية إلى مستوى الذروة في الأيض الخلوي، وهذا التراكم قد يكون هو الشرط لبناء الأوكسينات والسايتوكاينين، وأن حامض السالسليك له تأثير في زيادة نشاط الأوكسينات والسايتوكاينين اللذين لهما دور في انقسام خلايا الكالس المستحدث (Ye واخرون، 2020)، وأن نمو الكالس كما في عمليات النمو الاساس في النباتات تشمل عمليتين رئيستين الانقسام الخلوي والاتساع الخلوي، وبما أن هاتين العمليتين متلازمتان، فلابد للخلية أن تتسع إلى حجم معين حتى يمكن أن تحدث عملية الانقسام الخلوي، غير أن بعض الخلايا تتسع كي تتخصص لأداء وظيفة معينة وإن حياة النباتات تبدأ بخلية واحدة تنقسم عدة انقسامات مايتوزية متكررة تنتهي بتكوين النبات الكامل، أما الاتساع الخلوي فهو زيادة في حجم الخلية نتيجة لحدوث تغييرات في الخصائص الميكانيكية للجدار الخلوي مما يؤدي إلى ضعف في الروابط التي تربط مختلف المركبات الكيميائية المعقدة التي تكون الجدار الخلوي، وبعد ذلك اندفاع الماء إلى داخل الخلية نتيجة انخفاض الجهد المائي في الخلية (ياسين، 2001).

4- 31 - تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ α-pinene (مايكروغرام مل$^{-1}$) لكالس نبات إكليل الجبل.

يبين الجدول (32) ان استخدام الـ SA بتراكيزه المختلفة 10 و 20 و 30 ملغم لتر$^{-1}$ ادى الى حدوث فروق معنوية في تركيز مركب الـ α-pinene المقدر في كالس نبات إكليل الجبل والتي بلغت 24.8433 و 28.8433 و 30.0700 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع في حين اعطت معاملة المقارنة اقل تركيز بلغ 16.50 مايكروغرام مل$^{-1}$ ، كما اشارت نتائج التحليل الإحصائي في الجدول ذاته إلى تفوق معاملة التعريض للأشعة فوق البنفسجية لمدة20 دقيقة في رفع تركيز α-pinene في الكالس إلى معدل 34.80 مايكروغرام مل$^{-1}$ تلتها وبفرق معنوي فترة التعريض لمدة10دقائق بتركيز25.47 مايكروغرام مل$^{-1}$ أما اقل تركيز فبلغ 14.82 مايكروغرام مل$^{-1}$ عند معاملة المقارنة. اما عن تأثير التداخل الثنائي فقد تفوقت معاملة التركيز 30 ملغم لتر $^{-1}$ SA عند الدقيقة 20 من الاشعة فوق البنفسجية في اعطاء اعلى تركيز بلغ 39.11 مايكروغرام مل$^{-1}$ واقلها بلغ 8.13 مايكروغرام مل$^{-1}$ عند معاملة المقارنة.

جدول (32) تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ ά-pinene (مايكروغرام مل$^{-1}$) للكالس بعد شهر من الزراعة على وسط MS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	8.13	11.01	19.68	20.49	14.83
10	15.07	27.40	28.80	30.61	25.47
20	26.30	35.75	38.05	39.11	34.80
L.S. $D_{0.05}$	0.09				0.05
المعدل	16.50	24.84	28.84	30.07	
L.S. $D_{0.05}$	0.05				

4-32- تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ 1-8cinole (مايكروغرام مل$^{-1}$) لكالس نبات إكليل الجبل.

اشارت بيانات الجدول (33) إلى أنَّ اضافة الـ SA بتراكيزه المختلفة 10 و 20 و 30 ملغم لتر$^{-1}$ للوسط الغذائي المزروع بكالس نبات إكليل الجبل ادى الى حدوث فروق معنوية في تركيز مركب الـ 1-8cinole بلغت 25.21 و 27.21 و 28.99 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع في حين اعطت معاملة المقارنة اقل تركيز بلغ 15.26 مايكروغرام مل$^{-1}$ ، كما اشارت نتائج التحليل الإحصائي في الجدول ذاته إلى تفوق معاملة التعريض للأشعة فوق البنفسجية لمدة 20 دقيقة في رفع تركيز 1-8cinole في الكالس إلى معدل 34.50 مايكروغرام مل$^{-1}$ تلتها وبفرق معنوي فترة التعريض لمدة10دقائق بتركيز22.16 مايكروغرام مل$^{-1}$ أما اقل تركيز فبلغ 15.83 مايكروغرام مل$^{-1}$ عند معاملة المقارنة. اما عن تأثير التداخل الثنائي فقد تفوقت معاملة التركيز 30 ملغم لتر $^{-1}$ SA عند الدقيقة 20 من الاشعة فوق البنفسجية في اعطاء اعلى تركيز بلغ 37.99 مايكروغرام مل$^{-1}$ واقلها بلغ 6.28 مايكروغرام مل$^{-1}$ عند معاملة المقارنة.

جدول (33) تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ 1- 8cinole (مايكروغرام مل$^{-1}$) للكالس بعد شهر من الزراعة على وسط MS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	6.28	17.00	19.75	20.30	15.83
10	14.20	20.55	24.98	28.94	22.17
20	25.30	38.08	36.90	37.74	34.51
$L.S.D_{0.05}$	0.70				0.35
المعدل	15.26	25.21	27.21	28.99	
$L.S.D_{0.05}$	0.41				

4-33- تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Camphor (مايكروغرام مل$^{-1}$) لكالس نبات إكليل الجبل.

توضح البيانات المدرجة في الجدول (34) الى وجود زيادة في معدل تركيز Camphor بزيادة تراكيز SA المضافة للوسط الغذائي اذ حقق التركيز 30 ملغم لتر$^{-1}$ منه اعلى معدل تركيز بلغ 28.86 مايكروغرام مل$^{-1}$ والذي لم يختلف معنويا عن التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ الذي اعطى معدل تركيز بلغ 28.84 مايكروغرام مل$^{-1}$، في حين حققت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 11.35 مايكروغرام مل$^{-1}$ ، وعن تأثير أشعة UV في معدل تركيز Camphor فقد تفوقت معاملة UV بالدقيقة 20 بتحقيق اعلى معدل بلغ 29.45 مايكروغرام مل$^{-1}$ ثم تلتها معاملة الـ 10 دقائق التي بلغت 22.95 مايكروغرام مل$^{-1}$ واقلها كان عند معاملة المقارنة والتي بلغت 16.31 مايكروغرام مل$^{-1}$ اما عن تأثير التداخل الثنائي فقد تفوق التركيز 30 ملغم لتر$^{-1}$ SA عند الدقيقة 20 من أشعة UV في تحقيق اعلى معدل بلغ 36.04 مايكروغرام مل$^{-1}$ مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل معدل بلغ 5.15 مايكروغرام مل$^{-1}$.

جدول (34) تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Camphor (مايكروغرام مل$^{-1}$) للكالس بعد شهر من الزراعة على وسط MS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	5.15	15.86	21.70	22.55	16.32
10	12.00	22.13	29.67	28.00	22.95
20	16.92	29.67	35.17	36.04	29.45
$L.S.D_{0.05}$	0.70				0.35
المعدل	11.36	22.55	28.85	28.86	
$L.S.D_{0.05}$	0.40				

4-34- تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Verbene (مايكروغرام مل$^{-1}$) لكالس نبات إكليل الجبل.

تشير البيانات المبينة في الجدول (35) الى وجود فروق معنوية بين المعاملات في معدل تركيز Verbeneبزيادة تراكيز SA المضافة للوسط الغذائي MS 10 و 20 ملغم لتر$^{-1}$ بلغت 23.90 و 28.69 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع ثم قلت الاستجابة عند التراكيز 30 ملغم لتر$^{-1}$ بلغت 27.81 مايكروغرام مل$^{-1}$ في حين حققت معاملة المقارنة اقل معدل بلغ 10.88 مايكروغرام مل$^{-1}$ ، كما كان لأشعة UV تأثير معنوي في معدل تركيز Verbene اذ اعطت معاملة UV بالدقيقة 20 اعلى معدل بلغ 29.11 مايكروغرام مل$^{-1}$ ثم تلتها معاملة الـ 10 دقائق التي بلغت 25.09 مايكروغرام مل$^{-1}$ واقلها كان عند معاملة المقارنة التي بلغت 14.26 مايكروغرام مل$^{-1}$ اما عن تأثير التداخل الثنائي فقد تفوق التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ SA عند الدقيقة 20 من أشعة UV في تحقيق اعلى معدل بلغ 38.36 مايكروغرام مل$^{-1}$ مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل معدل بلغ 4.30 مايكروغرام مل$^{-1}$.

جدول (35) تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Verbene(مايكروغرام مل$^{-1}$) للكالس بعد شهر من الزراعة على وسط MS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	4.30	15.35	17.27	20.15	14.27
10	12.70	26.18	30.45	31.03	25.09
20	15.63	30.19	38.36	32.27	29.11
$L.S.D_{0.05}$	0.50				0.25
المعدل	10.89	23.91	28.69	27.82	
$L.S.D_{0.05}$	0.29				

4-35- تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Rosmaric acid (مايكروغرام مل$^{-1}$) لكالس نبات إكليل الجبل.

تشير بيانات الجدول (36) ان اضافة الـ SA بتراكيزه المختلفة 10 و 20 و 30 ملغم لتر$^{-1}$ للوسط الغذائي المزروع بكالس نبات إكليل الجبل ادى الى حدوث فروق معنوية في تركيز مركب الـ Rosmaric acid بلغت 33.79 و 38.46 و 49.68 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع في حين اعطت معاملة المقارنة اقل تركيز بلغ 23.52 مايكروغرام مل$^{-1}$ ، كما اشارت نتائج التحليل الإحصائي في الجدول ذاته إلى تفوق معاملة التعريض للأشعة فوق البنفسجية لمدة 20 دقيقة في رفع تركيز Rosmaric acid في الكالس إلى معدل 45.24 مايكروغرام مل$^{-1}$ تلتها وبفرق معنوي فترة التعريض لمدة 10 دقائق بتركيز34.54 مايكروغرام مل$^{-1}$ أما اقل تركيز فبلغ 29.31 مايكروغرام مل$^{-1}$ عند معاملة المقارنة. اما عن تأثير التداخل الثنائي فقد تفوقت معاملة التركيز 30 ملغم لتر $^{-1}$ SA عند الدقيقة 20 من أشعة UVفي اعطاء اعلى تركيز بلغ 57.78 مايكروغرام مل$^{-1}$ واقلها بلغ 14.27 مايكروغرام مل$^{-1}$ عند معاملة المقارنة.

جدول (36) تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Rosmaric acid (مايكروغرام مل$^{-1}$) للكالس بعد شهر من الزراعة على وسط MS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	14.27	28.23	31.74	43.00	29.31
10	26.16	33.01	30.75	48.26	34.55
20	30.15	40.13	52.90	57.78	45.24
$L.S.D_{0.05}$	0.51				0.26
المعدل	23.53	33.79	38.46	49.68	
$L.S.D_{0.05}$	0.29				

4-36- تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Broneal (مايكروغرام مل$^{-1}$) لكالس نبات إكليل الجبل.

اشارت بيانات التحليل الاحصائي المبينة في الجدول (37) ان اضافة الـ SA بتراكيزه المختلفة 10 و 20 و 30 ملغم لتر$^{-1}$ للوسط الغذائي MS المزروع بكالس نبات إكليل الجبل ادى الى حدوث فروق معنوية في تركيز مركب الـ Broneal بلغت 21.99 و 24.76 و 25.09 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل تركيز بلغ 10.33 مايكروغرام مل$^{-1}$ ، كما اشارت نتائج الجدول ذاته إلى تفوق معاملة التعريض للأشعة فوق البنفسجية لمدة 20 دقيقة في رفع تركيز Broneal في الكالس إلى معدل 25.34 مايكروغرام مل$^{-1}$ تلتها وبفرق معنوي فترة التعريض لمدة 10 دقائق بتركيز23.52 مايكروغرام مل$^{-1}$ أما اقل تركيز فبلغ 12.76 مايكروغرام مل$^{-1}$ عند معاملة المقارنة. اما عن تأثير التداخل الثنائي فقد تفوقت معاملة التركيز 30 ملغم لتر $^{-1}$ SA عند الدقيقة 20 من أشعة UV في اعطاء اعلى تركيز بلغ 33.10 مايكروغرام مل$^{-1}$ واقلها بلغ 4.01 مايكروغرام مل$^{-1}$ عند معاملة المقارنة.

جدول (37) تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Broneal (مايكروغرام مل$^{-1}$) للكالس بعد شهر من الزراعة على وسط MS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	4.01	13.89	17.10	16.07	12.77
10	13.00	28.01	27.00	26.10	23.53
20	14.00	24.07	30.20	33.10	25.34
$L.S.D_{0.05}$	0.85				0.43
المعدل	10.34	21.99	24.77	25.09	
$L.S.D_{0.05}$	0.49				

4-37- تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Geranal (مايكروغرام مل$^{-1}$) لكالس نبات إكليل الجبل.

عن تأثير تراكيز الـ SA في معدل تركيز مركب الـ Geranal الذي تم تقديره في كالس نبات إكليل الجبل فقد اشارت بيانات الجدول (38) إلى تفوق التركيز 10 ملغم لتر$^{-1}$ في تحقيق اعلى معدل بلغ 26.89 مايكروغرام مل$^{-1}$ ثم قلت الاستجابة عند التراكيز 20 و 30 ملغم لتر$^{-1}$ بلغت 24.47 و 22.61 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل تركيز بلغ 9.10 مايكروغرام مل$^{-1}$ ، كما اشارت نتائج الجدول ذاته إلى تفوق معاملة التعريض للأشعة فوق البنفسجية لمدة 20 دقيقة في رفع تركيز Geranal في الكالس إلى معدل 23.54 مايكروغرام مل$^{-1}$ تلتها وبفرق معنوي فترة التعريض لمدة 10 دقائق بتركيز22.27 مايكروغرام مل$^{-1}$ أما اقل تركيز فبلغ 16.49 مايكروغرام مل$^{-1}$ عند معاملة المقارنة. اما عن تأثير التداخل الثنائي فقد تفوقت معاملة التركيز 10 ملغم لتر $^{-1}$ SA عند الدقيقة 20 من أشعة UV في اعطاء اعلى تركيز بلغ 28.64 مايكروغرام مل$^{-1}$ واقلها بلغ 6.12 مايكروغرام مل$^{-1}$ عند معاملة المقارنة.

جدول (38) تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Geranal (مايكروغرام مل$^{-1}$) للكالس بعد شهر من الزراعة على وسط MS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	6.12	21.94	19.43	18.49	16.50
10	10.11	30.11	28.04	20.83	22.27
20	11.08	28.64	25.95	28.52	23.55
$L.S.D_{0.05}$	0.07				0.04
المعدل	9.10	26.90	24.47	22.61	
$L.S.D_{0.05}$	0.04				

4-38- تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Linolool (مايكروغرام مل$^{-1}$) لكالس نبات إكليل الجبل.

اوضحت بيانات الجدول (39) ان تزويد الوسط الغذائي MS بتراكيز مختلفة 10 و 20 و 30 ملغم لتر$^{-1}$ من الـ SA أدى الى حدوث زيادة معنوية في تركيز مركب الـ Linolool المقدرة في كالس نبات إكليل الجبل بلغت 23.75 و 27.47 و 29.75 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل تركيز بلغ 11.04 مايكروغرام مل$^{-1}$ ، كما اشارت نتائج الجدول ذاته إلى تفوق معاملة التعريض للأشعة فوق البنفسجية لمدة 20 دقيقة في رفع تركيز Linolool في الكالس إلى معدل 28.30 مايكروغرام مل$^{-1}$ تلتها وبفرق معنوي فترة التعريض لمدة 10 دقائق بتركيز23.16 مايكروغرام مل$^{-1}$ أما اقل تركيز فبلغ 17.55 مايكروغرام مل$^{-1}$ عند معاملة المقارنة. اما عن تأثير التداخل الثنائي فقد تفوقت معاملة التركيز 30 ملغم لتر $^{-1}$ SA عند الدقيقة 20 من أشعة UV في اعطاء اعلى تركيز بلغ 35.19 مايكروغرام مل$^{-1}$ واقلها بلغ 5.08 مايكروغرام مل$^{-1}$ عند معاملة المقارنة.

جدول (39) تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Linolool (مايكروغرام مل$^{-1}$) للكالس بعد شهر من الزراعة على وسط MS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	5.08	18.10	23.15	23.89	17.56
10	10.03	22.15	30.28	30.18	23.16
20	18.02	31.01	29.00	35.19	28.31
$L.S.D_{0.05}$	0.50				0.25
المعدل	11.04	23.75	27.48	29.75	
$L.S.D_{0.05}$	0.29				

4-39- تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Cymene (مايكروغرام مل$^{-1}$) لكالس نبات إكليل الجبل.

وعن تقدير تركيز مركب الـ Cymene فقد اشارت بيانات الجدول (40) هناك زيادة معنوية في تركيزه بزيادة تراكيز الـ SA المضافة للوسط الغذائي MS فقد تفوق التركيز 30 ملغم لتر$^{-1}$ في تحقيق اعلى معدل تركيز للمركب بلغ 26.77 مايكروغرام مل$^{-1}$ والذي لم يختلف معنويا عن التركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ بلغ 25.97 مايكروغرام مل$^{-1}$ مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل تركيز بلغ 12.73 مايكروغرام مل$^{-1}$ ، كما اشارت نتائج الجدول ذاته إلى تفوق معاملة التعريض للأشعة فوق البنفسجية لمدة 20 دقيقة في رفع تركيز Cymene في الكالس إلى معدل 28.26 مايكروغرام مل$^{-1}$ تلتها وبفرق معنوي فترة التعريض لمدة 10 دقائق بتركيز21.80 مايكروغرام مل$^{-1}$ أما اقل تركيز فبلغ 15.11 مايكروغرام مل$^{-1}$ عند معاملة المقارنة. اما عن تأثير التداخل الثنائي فقد تفوقت معاملة التركيز 20 ملغم لتر $^{-1}$ SA عند الدقيقة 20 من أشعة UV في اعطاء اعلى تركيز بلغ 34.00 مايكروغرام مل$^{-1}$ واقلها بلغ 7.03 مايكروغرام مل$^{-1}$ عند معاملة المقارنة.

جدول (40) تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Cymene (مايكروغرام مل$^{-1}$) للكالس بعد شهر من الزراعة على وسط MS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	7.03	15.20	18.21	20.00	15.11
10	12.35	20.89	25.70	28.26	21.80
20	18.80	28.19	34.00	32.05	28.26
$L.S.D_{0.05}$	4.89				2.45
المعدل	12.73	21.43	25.97	26.77	
$L.S.D_{0.05}$	2.82				

4-40- تأثير Salicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Terpinol (مايكروغرام مل$^{-1}$) لكالس نبات إكليل الجبل.

اوضحت بيانات الجدول (41) ان تزويد الوسط الغذائي MS بتراكيز مختلفة 10 و 20 و 30 ملغم لتر$^{-1}$ من الـ SA ادى الى حدوث زيادة معنوية في تركيز مركب الـ Terpinol المقدرة في كالس نبات إكليل الجبل بلغت 21.05 و 25.28 و 28.26 مايكروغرام مل$^{-1}$ على التتابع مقارنة مع معاملة المقارنة التي اعطت اقل تركيز بلغ 11.18 مايكروغرام مل$^{-1}$ ، كما اشارت نتائج الجدول ذاته إلى تفوق معاملة التعريض للأشعة فوق البنفسجية لمدة 20 دقيقة في رفع تركيز Terpinol في الكالس بلغ 25.87 مايكروغرام مل$^{-1}$ تلتها وبفرق معنوي فترة التعريض لمدة 10 دقائق بتركيز22.61 مايكروغرام مل$^{-1}$ أما اقل تركيز فبلغ 15.84 مايكروغرام مل$^{-1}$ عند معاملة المقارنة. اما عن تأثير التداخل الثنائي فقد تفوقت معاملة التركيز 30 ملغم لتر $^{-1}$ SA عند الدقيقة 20 من أشعة UV في اعطاء اعلى تركيز بلغ 30.87 مايكروغرام مل$^{-1}$ واقلها بلغ 6.00 مايكروغرام مل$^{-1}$ عند معاملة المقارنة.

جدول (41) تأثيرSalicylic Acid (SA) والأشعة فوق البنفسجية (UV) في معدل تركيز الـ Terpinol (مايكروغرام مل$^{-1}$) للكالس بعد شهر من الزراعة على وسط MS.

مدة التعرض للأشعة فوق البنفسجية (UV) (دقيقة)	تركيز Salicylic Acid (SA) (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	10	20	30	
0	6.00	12.29	20.10	25.00	15.85
10	10.16	25.01	26.35	28.92	22.61
20	17.40	25.85	29.39	30.87	25.88
$L.S.D_{0.05}$	0.69				0.35
المعدل	11.19	21.05	25.28	28.26	
$L.S.D_{0.05}$	0.40				

إستنادا لما سبق عرضة من نتائج الجداول (32 - 41) بشكل عام يظهر هناك تفوق معنوي بتراكيز المركبات الايضية عند اضافة حامض السالسليك مقارنة مع معاملة المقارنة حيث تشير الدراسات الى دور حامض السالسليك في تنظيم العمليات الفسلجية داخل النبات وتقليل عمليات الأكسدة التي قد تحصل في الأغشية و حماية الخلايا من الاكسدة كون ان حامض السالسليك يحفز التعبير الجيني في البناء الحيوي للأنزيمات المضادة للأكسدة فيزداد تراكمها في الاوراق او الكالس ومن ثم الاستفادة منها في عمليات الأيض المختلفة ، و منها مركبات الأيض الثانوي وتؤدي الى إرتفاع النشاطات الفسيولوجية والتطورية التي تحصل في النباتات ، اذ يعمل بالتداخل مع الاوكسين الداخلي في تنشيط الجينات وتكوين البروتينات والمحافظة على DNA لتكوين RNA والبروتينات ومن ثم نقل هذه المواد في مجرى اللحاء لتصل الى الاعضاء النشطة ومنها الازهار حيث تعمل على اطالة بقائها وقلة تدهورها (محمد ،1985). او قد يكون تأثير حامض السالسليك من خلال تثبيط انزيم الـCatalase (Rao واخرون ، 1997) حيث يؤدي هذا التثبيط الى زيادة نسبة الـH_2O_2 وهذه المركب الاخير يعمل على زيادة تحفيز انزيم الـ TDC والـ STR ومن ثم زيادة بناء المواد الفعالة (Davies ،2019). وهذا يتفق مع ما ذكره كل من Mateo واخرون (2006) و Lattanzio واخرون (2009) من أن حامض السالسليك ينظم عمل الانزيمات والاغشية الخلوية وتثبيت غاز CO2 فضلاً عن زيادة مستوى مركبات الايض الثانوي بما يتوافق مع الحالة الفسلجية والتغذوية للنبات.

كما أن هنالك دراسات عدة توصلت الى دور الحامض في الحفاظ على الجزيئات الكلوروفيل في حالتها السليمة من خلال الحفاظ على تركيب البلاستيدات الخضراء و لا سيما أغشية الثايلوكويد مما يؤثر إيجابيا في زيادة كفاءة عملية البناء الضوئي وتنشيط دور الانزيمات المشتركة بهذه العملية مما يساهم في زيادة مركبات الايض الثانوي واتفقت النتائج مع Kazemi (2013) عند رش نباتات الشليك بحامض السالسليك اذ ازدادت كمية فيتامين C من 20.12 ملغم 100 غم وزن طري$^{-1}$ الى 30.12 ملغم. 100 غم وزن طري$^{-1}$ مع زيادة الفينولات الكلية الى الضعف قياساً بعدم الرش.

كما يتضح مما سبق عرضه في الجداول ذاتها الدور الفاعل للأشعة فوق البنفسجية (UV) في زيادة تركيز المركبات الأيضية في النموات الخضرية وكالس نبات اكليل الجبل وربما يعود السبب في ذلك إلى التأثير التحفيزي للأشعة فوق البنفسجية إضافة إلى إن الجرع التحفيزية للأشعة تعمل على تعطيل عمل بعض الأنزيمات المثبطة لبعض العمليات الحياتية في النبات، ويعتقد أيضا إن ظاهرة التنشيط الإشعاعي تؤدي إلى تغير في الخصائص الفسلجية في السايتوبلازم وهذا يسبب زيادة في العمليات الفسلجية والتفاعلات الحياتية فيه (Yangواخرون ،2018).

هذا وقد يكون تأثير عاملي البحث في زيادة الزيوت الطيارة والمواد الفينولية عن طريق زيادة محتوى النبات من الهورمونات اما عن طريق تحفيز البناء الحيوي للهورمونات او منع تهدم هذه الهورمونات (Dawood واخرون، 2012) ان تأثير حامض السالسليك والأشعة فوق البنفسجية في زيادة الزيوت الطيارة والمواد الفينولية ربما يعود الى دورهما في بناء مركبي الـ Phenylalanine و tyrosin اللذين يمثلان الخطوة الاولى في بناء المركبات الثانوية ومنها الفينولات والزيوت الطيارة اذ انهما يعملان كبادئين Precursors لمدى واسع من المنتجات الثانوية (Pedranzani وVigliocco ، 2017).

كما يساعد حامض السالسليك على حماية النباتات من عوامل الاكسدة ومنع نفوذ الأشعة فوق البنفسجية (Prevent the penetration of UV – radiation) و فضلاً عن ذلك فان حامض السالسليك ربما يسهم بشكل غير مباشر في بناء المركبات الثانوية ولا سيما الفينولية منها وكذلك الفيتامينات من خلال منع اكسدة الصبغات ولاسيما الكاروتينات والزانثوفيلات والكلورفيل b.a بالأشعة فوق البنفسجية مما يزيد من كفاءة عملية البناء الضوئي ومن ثم زيادة المركبات الثانوية الناتجة عن هذه العملية(Mahdvian واخرون، 2008).

5- الاستنتاجات والتوصيات (Conclusions and Recommendation)

5-1 الاستنتاجات

في ضوء النتائج التي تم التوصل اليها من الدراسة التي اجريت على نبات إكليل الجبل يمكن استنتاج ما يأتي:-

- حددت طريقة التعقيم بـ NaOCl بالتركيز 2% ولمدة 15 دقيقة كأفضل توليفة لتعقيم الاجزاء النباتية واعتمادها كمنطلق في برنامج انشاء مزارع الأفرع الخضرية واستحثاث الكالس لنبات إكليل الجبل.
- تفوقت القمم النامية على البراعم الجانبية باستجابتها العالية واعطائها اعلى نسبة استجابة للنمو الخضري واستحثاث مزارع الكالس مقارنة مع الورقة.
- وجد عند اضافة منظمات النمو الى الوسط الغذائي MS بتراكيز مختلفة وصولا الى التركيز الأمثل قد حقق اعلى تأثيراً ايجابياً للهدف المنشود، فقد وجد ان التداخل بين BA و NAA اعطى اعلى معدل لعدد الأفرع الخضرية والاوراق وكذلك الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري، كما وجد ان التداخل بين 2,4-D و BA اعطى اعلى معدلاً للوزن الطري للكالس.
- لوحظ ان تجهيز الوسط الغذائي MS بحامض السالسليك بتراكيزه المختلفة كان له دور معنوي في زيادة مؤشرات النمو الخضري والكالس ومركبات الايض الثانوي.
- استنتج ان تعرض مزارع الأفرع الخضرية ومزارع كالس نبات إكليل الجبل للأشعة فوق البنفسجية (UV) له دور ايجابي في تحسين مؤشرات النمو مما انعكس ذلك في محتوى النبات من المركبات الايضية الثانوية.
- كان هنالك اثر ايجابي وتعاضدي بين SA و UV في التداخل بين جميع الصفات المدروسة.

2-5 التوصيات

- توظيف تقانة زراعة الانسجة النباتية في اكثار نباتات طبية اخرى يصعب اكثارها بالحقل وزيادة محتواها من المركبات الايضية ذات الاهمية الصيدلانية.
- دراسة تأثير أوساط غذائية اخرى مثل الوسط B5 في نشوء مزارع الأفرع الخضرية والكالس وتراكم المواد الفعالة فيها.
- المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية وبفترات زمنية اعلى من 20 دقيقة لما لها من تأثير واضح في مؤشرات نمو مزارع الأفرع الخضرية والكالس وزيادة المركبات الايضية.
- دراسة تأثير منظمات النمو الاخرى المضافة للوسط الغذائي على محتوى النبات من المركبات الايضية وزيادة تراكيزها.
- دراسة تأثير محفزات فيزيائية اخرى مثل أشعة كاما ، الليزر ، درجة الحموضة العالية أو المنخفضة ، الضوء المختلف الشدة ، نوعية الاضاءة و درجات الحرارة المختلفة .
- تعريض مزارع الأفرع الخضرية والكالس لمطفرات كيميائية ودراسة تأثيرها على تراكيز المواد الفعالة المنتجة.
- اجراء دراسة حول المقارنة بين النموات الخضرية والكالس من حيث انتاج المركبات الثانوية .
- اجراء دراسة لبيان مدى تأثير التشعيع في استحثاث التغيرات الوراثية مستقبلاً .
- تقدير الانزيمات و مضادات الأكسدة.
- اجراء دراسة تشريحية لنبات اكليل الجبل المنتج من الزراعة النسيجية .

6 – المصادر References

6-1 : المصادر العربية

أبو زيد ، الشحات نصر (1986). النباتات و الأعشاب الطبية. دار البحار. بيروت . لبنان.

ابو زيد، الشحات نصر .(2000) .الهرمونات النباتية والتطبيقات الزراعية. الطبعة الثانية . الدار العربية للنشر و التوزيع . مصر.

ابو كبدة ، ايمان بشير (2021) . موسوعة التداوي بالأعشاب / إكليل الجبل . الجزء الخامس .ص22 .

التميمي، زينب مهدي عبدالحسين .(2018). تأثير المجال المغناطيسي ومنظمات النمو النباتية في اكثار وتركيز الزيوت الطيارة لنبات إكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* خارج الجسم الحي .رسالة ماجستير –كلية الزراعة- جامعة بغداد .

الجبوري، اسراء ازهر سلمان. (2006) . دراسة بعض نواتج الايض الثانوي خارج الجسم الحي في نبات السالفيا *Salvia officinalis* وتأثيرها في تثبيط نمو بعض انواع البكتريا . رسالة ماجستير-كلية العلوم-جامعة النهرين.

الحجيمي ،احسان جالي اذبيب . (2010) .استعمال تقنية زراعة الانسجة في انتاج الفنكرستين والفنبلاساين في كالس نبات عين البزون*Catharanthusroseus*المتحمل للاجهاد الملحي ، رسالة ماجستير ، كلية الزراعة ، جامعة الكوفة .

الخفاجي، مكي علوان .(2014) . منظمات النمو النباتية - تطبيقاتها واستعمالاتها البستنية - وزارة التعليم العالي والبحث العلمي - كلية الزراعة - جامعة بغداد .

الدركزلي، علاء الدين عبد المنعم عباس. (2005). تأثير التسميد النايتروجيني والفوسفاتي في النمو الخضري لنبات إكليل الجبل .*Rosmarinus officinalis* L رسالة ماجستير. كلية الزراعة.جامعة بغداد.العراق.

الرفاعي، عبد الرحيم توفيق وسمير عبد الرزاق الشوبكي .(2002) . تقنيات القرن 21 لتحسين النبات باستخدام زراعة الأنسجة- دار الفكر العربي - القاهرة - جمهورية مصر.

الساهوكي، مدحت مجيد وكريمة وهيب (1990). تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب. دار الحكمة للطباعة والنشر. الموصل.

المختار، سراب عبد الهادي. (2015) . إكثار وإنتاج المركبات الكلايكوسيدية القلبية من نبات الديجتالس الصوفي *DigtialisLanata* خارج الجسم الحي . أطروحة دكتوراه - كلية الزراعة - جامعة بغداد .

المرسومي، حيدر عماد محمد . (2010). تأثير مكونات الوسط الغذائي والجزء النباتي المزروع في تكوين الكالس وانتاج بعض المركبات ذات الاستعمالات االطبية في نبات المريمية *Salvia officinalis*. رسالة ماجستير .كلية الزا رعة .جامعة بغداد.

الشماع، علي عبد الحسين . (1982) . علم العقاقير وكيمياء النباتات الطبية- كلية الصيدلة. جامعة بغداد.

الصميدعي ، كاظم محمد ابراهيم .(2017) . تطبيقات في التقانات الاحيائية . جامعة النهرين ،وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ،العراق.

العامري ، لمياء خليفة جواد. (2000).اكثار بعض الاصول والطعوم والتطعيم الدقيق خارج الجسم الحي .رسالة ماجستير .كلية الزراعة - جامعة بغداد .العراق.

العبيدي، هاشم كاظم محمد وأحمد، ميساء حامد و ابراهيم، كاظم محمد .(2009) . إكثار الزعرور *Crategus japan*L خارج الجسم الحي .مجلة علوم المستنصرية . مجلد (20) العدد (5) الصفحات (1-8).

حمود، علي خلف ومجيد ، بيان حمزة. (2017) . تأثير البنزل ادنين وحامض السالسليك في النمو وانتاج القلويدات الكلية لنبات الاشواجندا (*WithaniaSomnifera*L.) خارج الجسم الحي . مجلة العلوم الزراعية العراقية -48(3):700-690 .

داود، رونق محمد . (2014) . تأثير مواقيت الجني والتظليل في محتوى ونوعية الزيت الطيار والمستخلص الكحولي لنباتات إكليل الجبل . رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة بغداد.

ديفلين، روبرت م . وفرانسيس هـ . ويذام . (1998). فسيولوجيا النبات . الطبعة الثانية ترجمة محمد محمود شراقي، عبد الهادي خضر وعلي سعد الدين سلامة ونادية كامل . الدار العربية للنشر والتوزيع . مصر.

شكري ، وفاء محمد و المعيقل ، ريم محمد .(2013) . زراعة الخلايا والأنسجة النباتية. مكتبة المتنبي . الدمام - المملكة العربية السعودية .

عبدول ،كريم صالح ,(1987) . منظمات النمو النباتية . الجزء الاول . جامعة صلاح الدين . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . العراق .

محمد ، عبد العظيم كاظم (1985) . علم فسلجة النبات ، الجزء الثالث ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة الموصل ، العراق .

محمد، **عبد المطلب سيد و مبشر صالح عمر. (1990).** المفاهيم الرئيسية في زراعة الخلايا والأنسجة والأعضاء للنبات، جامعة الموصل، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. العراق.

ياسين، بسام طه (2001). أساسيات فسيولوجيا النبات. لجنة التعريب - جامعة قطر - الدوحة.

2-6 : المصادر الاجنبية

Abdolahzadehzaviehjak, A., Baek, J. P., & Craker, L. E. (2012). Essential oil content of rosemary, golden sage, and spearmint treated with salicylic acid. Planta Medica, 78(11), PI424.

Aghdasi, M., Mofid Bojnoordi, M., Ramezannezhad, R., & Fatemi, M. (2023). Production of Phenolic Acids Improved in Callus Cultures of *Lactuca undulata* by Ultraviolet-B Irradiation. International Journal of Horticultural Science and Technology, 10(2), 9-16.

Ahmed, H. S., Moawad, A. S., AbouZid, S. F., & Owis, A. I. (2020). Salicylic acid increases flavonolignans accumulation in the fruits of hydroponically cultured *Silybum marianum*. Saudi Pharmaceutical Journal, 28(5), 593-598.

Aitken, G. R., Henderson, J. R., Chang, S. C., McNeil, C. J., & Birch-Machin, M. A. (2007). Direct monitoring of UV-induced free radical generation in HaCaT keratinocytes. Clinical and Experimental Dermatology: Experimental dermatology, 32(6), 722-727.

Al Ghasheem, N., STĂNICĂ, F., PETICILĂ, A. G., & Venat, O. (2018). In vitro effect of various sterilization techniques on peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) explants. Scientific Papers, 227.

Al-Abbasi, A. M., Abbas, J. A., & Al-Zurfi, M. T. (2015). Effect of spraying thiamin and salicylic acid on growth and flowering of *Zinnia elegans* L. Advances in Agriculture & Botanics, 7(1), 44-50.

Alam, M. M., M. Naeem, M. Idrees, M. Masroor A. Khan, Moinuddin (2012) Augmentation of Photosynthesis, Crop Productivity, Enzyme Activities and Alkaloids Production in Sadabahar (*Catharanthus Roseus* L.) Through Application of Diverse Plant Growth Regulators. J. Crop Sci. Biotech.15 (2); 117-129.

Al-Hayali, O. Z., AL-Marjani, M. F., & Maleki, A. (2022). Controlling the heterogeneous vancomycin intermediated Staphylococcus aureus (hVISA) through the use of *Rosmarinus officinalis* L. leaves extract. Karbala International Journal of Modern Science, 8(4), 640-650.

Ali, G., & Hawa, Z. J. (2012). Effect of salicylic acid application on biochemical changes in ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). Journal of Medicinal Plants Research, 6(5), 790-795.

Ali, W. N., & Al-atrakchii, A. O. (2022). Effect of Gibberellic, Salicylic Acids, and NPK Fertilizers on growth and chemical constituents of Rosemary plants (*Rosmarinus officinalis* L.). Journal of Pharmaceutical Negative Results, 1842-1850.

Aliyu, O. M. (2005). Application of tissue culture to cashew (*Anacardium occidentale* L.) breeding: An appraisal. African Journal of Biotechnology, 4(13).

AL-Mafargy, O. K., Mohammed, H. A., & Omar, D. G. (2020). The spraying effect of zinc and salicylic acid and their combination on the growth and production of cherry tomato plant. Plant Arch, 20(1), 2349-2354.

Al-Maqtari, Q. A., Rehman, A., Mahdi, A. A., Al-Ansi, W., Wei, M., Yanyu, Z., ... & Yao, W. (2022). Application of essential oils as preservatives in food

systems: challenges and future prospectives–a review. Phytochemistry Reviews, 21(4), 1209-1246.

Al Masoody, M. M. M., & Stanica, F. (2015a). Effect of growth regulators for the induction of Callus from the apical bud on In Vitro of Rosemary Plant (*Rosmarinus officinalis* L.). Bull. UASVM Hortic, 72, 131-137.

Al Masoody, M. M. M., & Stanica, F. (2015b). Effect of growth regulators on in vitro callus formation of rosemary plant (*Rosmarinus officinalis* L.). Bull. UASVM Hortic, 72, 131-137.

Almela, L., Sánchez-Muñoz, B., Fernández-López, J. A., Roca, M. J., & Rabe, V. (2006). Liquid chromatograpic–mass spectrometric analysis of phenolics and free radical scavenging activity of rosemary extract from different raw material. Journal of Chromatography A, 1120(1-2), 221-229.

Almukhtar, S. A. (2017). EFFECT OF GROWTH REGULATORS AND SUCROSE ON THE INDUCTION AND PRODUCTION OF FLAVONOIDS IN CALLUS OF *VITIS VINIFERA* (L) IN VITRO. Pakistan Journal of Biotechnology, 14(4), 803-809.

Al-Oubaidi, H. K. M., & Ameen, A. S. M. (2014). Increasing secondary metabolites of *Calendula officinalis* L. using salicylic acid in vitro. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences (WJPPS), 3(5), 1146-1155.

Altaf, N., Khan, A. R., Ali, L., & Bhatti, I. A. (2009). Tissue culture of gerbera. Pak. J. Bot, 41(1), 7-10.

Alves-Pereira, I. M., & Fernandes-Ferreira, M. (1998). Essential oils and hydrocarbons from leaves and calli of *Origanum vulgare* ssp. virens. Phytochemistry, 48(5), 795-799.

Alvi, S. S., Ahmad, P., Ishrat, M., Iqbal, D., & Khan, M. S. (2019). Secondary metabolites from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.): Structure, biochemistry and therapeutic implications against neurodegenerative diseases. In Natural Bio-active Compounds (pp. 1-24). Springer, Singapore.

Alyas, J., Khalid, N., Ishaque, S., Fatima, H., Hashim, M., Hassan, S., ... & Anjum, S. (2023). Light (High Light/UV Radiation) Modulates Adaptation Mechanisms and Secondary Metabolite Production in Medicinal Plants. In Medicinal Plants: Their Response to Abiotic Stress (pp. 363-390). Singapore: Springer Nature Singapore.

An, C., & Mou, Z. (2011). Salicylic acid and its function in plant immunity F. Journal of integrative plant biology, 53(6), 412-428.

Anand, U., Jacobo-Herrera, N., Altemimi, A., & Lakhssassi, N. (2019). A comprehensive review on medicinal plants as antimicrobial therapeutics: potential avenues of biocompatible drug discovery. Metabolites, 9(11), 258.

Anis, M., & Ahmad, N. (Eds.). (2016). Plant tissue culture: propagation, conservation and crop improvement. Springer Singapore.

Arteca, R. N. (1996). Plant growth substances: principles and applications. Springer Science & Business Media.

Ashraf, M., Akram, N. A., Arteca, R. N., & Foolad, M. R. (2010). The physiological, biochemical and molecular roles of brassinosteroids and salicylic acid in plant processes and salt tolerance. Critical Reviews in Plant Sciences, 29(3), 162-190.

Aswath,C. and S.Wazeen. (2004). An improved method for in vitro propagation of Gerbera. Jou. Of Orn. Hort. 7:141-146.

Aswath,C.; S. M. Deepa and M.L. Choudhary .(2003). Commercial multiplication of Gerbera Gerbera jamesonii Boius through in vitro shoot tip culture . Jou .Orn .Hort., 6:303-309.

Babu, G. A., Mosa Christas, K., Kowsalya, E., Ramesh, M., Sohn, S. I., & Pandian, S. (2022). Improved Sterilization Techniques for Successful In Vitro Micropropagation. In Commercial Scale Tissue Culture for Horticulture and Plantation Crops (pp. 1-21). Springer, Singapore.

Baker, B. P., & Grant, J. A. (2018). Rosemary & Rosemary Oil Profile.

Ballaré, C. L., Barnes, P. W., & Flint, S. D. (1995). Inhibition of hypocotyl elongation by ultraviolet-B radiation in de-etiolating tomato seedlings. I. The photoreceptor. Physiologia Plantarum, 93(4), 584-592.

Banu, U. (2013). The Influence of Salicylic Acid on Withanolide Accumulation in Invitro Roots and Leaves of Withania somnifera (Doctoral dissertation, M. Sc Thesis, avinashilingam instiute for home science and higher education for woman coinbatore).

Barak, D. (2022). Role of plant metabolites in plant protection and their potential in integrated pest management.

Barbosa, L. N., da Silva Probst, I., Andrade, B. F. M. T., Alves, F. C. B., Albano, M., de Souza, M. D. L. R., ... & Júnior, A. F. (2015). In vitro antibacterial and chemical properties of essential oils including native plants from Brazil against pathogenic and resistant bacteria. Journal of oleo science, 64(3), 289-298.

Barreto, H. M., Silva Filho, E. C., Lima, E. D. O., Coutinho, H. D., Morais-Braga, M. F., Tavares, C. C., ... & Lopes, J. A. D. (2014). Chemical composition and possible use as adjuvant of the antibiotic therapy of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. Industrial Crops and products, 59, 290-294.

Begum, A., Sandhya, S., Vinod, K. R., Reddy, S., & Banji, D. (2013). An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). Acta scientiarum polonorum Technologia alimentaria, 12(1), 61-74.

Bekircan, T., Yaşar, A., Yıldırım, S., Sökmen, M., & Sökmen, A. (2018). Effect of cytokinins on in vitro multiplication, volatiles composition and rosmarinic acid content of *Thymus leucotrichus* Hal. shoots. 3 Biotech, 8(3), 1-9.

Borges, R. S., Ortiz, B. L. S., Pereira, A. C. M., Keita, H., & Carvalho, J. C. T. (2019). *Rosmarinus officinalis* essential oil: A review of its phytochemistry, anti-inflammatory activity, and mechanisms of action involved. Journal of ethnopharmacology, 229, 29-45.

Bornman, J. F. (1989). New trends in photobiology: Target sites of UV-B radiation in photosynthesis of higher plants. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 4(2), 145-158.

Brosché, M., & Strid, Å. (2003). Molecular events following perception of ultraviolet-B radiation by plants. Physiologia Plantarum, 117(1), 1-10.

Brud, W. S. (2020). Industrial uses of essential oils. In Handbook of Essential Oils (pp. 1029-1040). CRC Press.

Bulgakov, V. P., Tchernoded, G. K., Mischenko, N. P., Khodakovskaya, M. V., Glazunov, V. P., Radchenko, S. V., ... & Zhuravlev, Y. N. (2002). Effect of salicylic acid, methyl jasmonate, ethephon and cantharidin on anthraquinone production by Rubia cordifolia callus cultures transformed with the rolB and rolC genes. Journal of biotechnology, 97(3), 213-221.

Bulya, T. E., Glukhareva, T. V., & Kovaleva, E. G. (2023). Obtaining Cell Cultures of Medicinal Plants. In Recent Research and Advances in Soilless Culture. IntechOpen.

Butnariu, M. (2021). Plants as Source of Essential Oils and Perfumery Applications. Bioprospecting of Plant Biodiversity for Industrial Molecules, 261-292.

Caldwell, M. M., Bornman, J. F., Ballaré, C. L., Flint, S. D., & Kulandaivelu, G. (2007). Terrestrial ecosystems, increased solar ultraviolet radiation, and interactions with other climate change factors. Photochemical & Photobiological Sciences, 6(3), 252-266.

Cardoso, J. C., Oliveira, M. E., & Cardoso, F. D. C. (2019). Advances and challenges on the in vitro production of secondary metabolites from medicinal plants. Horticultura Brasileira, 37, 124-132.

Cavallaro, V., Pellegrino, A., Muleo, R., & Forgione, I. (2022). Light and plant growth regulators on in vitro proliferation. Plants, 11(7), 844.

Chandran, H., Meena, M., Barupal, T., & Sharma, K. (2020). Plant tissue culture as a perpetual source for production of industrially important bioactive compounds. Biotechnology Reports, 26, e00450.

Chaqroune, A., & Taleb, M. (2022). Effects of Extraction Technique and Solvent on Phytochemicals, Antioxidant, and Antimicrobial Activities of Cultivated and Wild Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) from Taounate Region. Biointerface Res. Appl. Chem, 12, 8441-8452.

Chen, T. H., Tsai, M. J., Chang, C. S., Xu, L., Fu, Y. S., & Weng, C. F. (2023). The exploration of phytocompounds theoretically combats SARS-CoV-2 pandemic against virus entry, viral replication and immune evasion. Journal of Infection and Public Health, 16(1), 42-54.

Choi, S. H., Jang, G. W., Choi, S. I., Jung, T. D., Cho, B. Y., Sim, W. S., ... & Lee, O. H. (2019). Development and validation of an analytical method for carnosol, carnosic acid and rosmarinic acid in food matrices and evaluation of the antioxidant activity of rosemary extract as a food additive. Antioxidants, 8(3), 76.

Coleman, J., Evans, D., & Kearns, A. (2020). Plant cell culture. Taylor & Francis.

Coskun, Y., Duran, R. E., & Kilic, S. (2019). Striking effects of melatonin on secondary metabolites produced by callus culture of rosemary (Rosmarinus officinalis L.). Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 138(1), 89-95.

Daglia, M., Pasdaran, A., Ahandani, E. A., & Selamoglu, Z. (2023). Medicinal plants as a hopeful therapeutic approach against COVID-19 infection. Central Asian Journal of Medical and Pharmaceutical Sciences Innovation, 3(1), 12-21.

Davies, M. (2019). Optimization of de novo 10-hydroxygeraniol production in Saccharomyces cerevisiae (Doctoral dissertation, Concordia University).

Davies, P. J. (2010). The plant hormones: their nature, occurrence, and functions. In Plant hormones (pp. 1-15). Springer, Dordrecht.

Dawood, M. G., M. S. Sadak and M. Hozayen .(2012). Physiological Role of Salicylic Acid in Improving Performance, Yield and Some Biochemical Aspects of Sunflower Plant Grown Under Newly Reclaimed Sandy Soil. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 6(4); 82-89.

de Elguea-Culebras, G. O., Bravo, E. M., & Sánchez-Vioque, R. (2022). Potential sources and methodologies for the recovery of phenolic compounds from distillation residues of Mediterranean aromatic plants. An approach to the valuation of by-products of the essential oil market–A review. Industrial Crops and Products, 175, 114261.

Den Hartogh, D. J., Vlavcheski, F., Giacca, A., MacPherson, R. E., & Tsiani, E. (2022). Carnosic acid attenuates the free fatty acid-induced insulin resistance in muscle cells and adipocytes. Cells, 11(1), 167.

Depuydt, S., & Hardtke, C. S. (2011). Hormone signalling crosstalk in plant growth regulation. Current biology, 21(9), R365-R373.

Devlin, R . M . and F. H. Withman . (1983) . Plant Physiology 4th . ed. Wadsworth publishing company. Belmont California.

Devlin, R.M. and F.H. Witham. (1998). Plant physiology. Forth ed.Wadsworth publishing Company Belmont California.

Dhaniaputri, R., Suwono, H., Amin, M., & Lukiati, B. (2022, May). Introduction to Plant Metabolism, Secondary Metabolites Biosynthetic Pathway, and In-Silico Molecular Docking for Determination of Plant Medicinal Compounds: An Overview. In 7th International Conference on Biological Science (ICBS 2021) (pp. 373-382). Atlantis Press.

Dhaouadi, F., Bargougui, A., Maamer, S., Amri, I., Msaad Guerfali, M., Hamrouni, L., ... & Mejri, N. (2023). Chemical composition and insecticidal activity of two Eucalyptus essential oils against the Mediterranean fruit fly, Ceratitis capitata (Wiedemann)(Diptera: Tephritidae). Journal of Plant Diseases and Protection, 1-11.

Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W. (2016). Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review. Medicines, 3(4), 25.

Dias, J. P. T. (2019). Plant growth regulators in horticulture: practices and perspectives. Biotecnología Vegetal, 19(1), 3-14.

Diyabalanage, T. (2022). Plant secondary metabolites as prospective pharmaceuticals and cosmeceuticals. Chemistry of Natural Products: Phytochemistry and Pharmacognosy of Medicinal Plants, 19.

Dong, Y., Wang, R., Li, Z., Qi, C., Liu, B., Duan, R., & Liu, Y. (2012). Callus induction and plant regeneration from rosemary leaves. Bioscience Methods, 3.

Ejtahed, R. S., Radjabian, T., & Hoseini Tafreshi, S. A. (2015). Expression analysis of phenylalanine ammonia lyase gene and rosmarinic acid production in Salvia officinalis and Salvia virgata shoots under salicylic acid elicitation. Applied biochemistry and biotechnology, 176, 1846-1858.

El-Bassiouny, H. S. M., Bakry, B. A., Attia, A. A. E. M., & Abd Allah, M. M. (2014). Physiological role of humic acid and nicotinamide on improving plant growth, yield, and mineral nutrient of wheat (Triticum durum) grown under newly reclaimed sandy soil. Agricultural Sciences, 2014.

El-Beltagi, H. S., Ahmed, O. K., & El-Desouky, W. (2011). Effect of low doses γ-irradiation on oxidative stress and secondary metabolites production of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) callus culture. Radiation Physics and chemistry, 80(9), 968-976.

El-Housini, E. A., Ahmed, M. A., Hassanein, M. S., & Tawfik, M. M. (2014). Effect of salicylic acid (SA) on growth and quality of stevia (*Stevia rebaudiana* Bert.) under salt stress. American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences, 14(4), 275-281.

El-Naggar, H. M. (2006). Using biotechnology to improve the production of rosmarinic acid from rosemary plants. The University of Nebraska-Lincoln.

Elstner, E. F. (1982). Oxygen activation and oxygen toxicity. Annual review of plant physiology, 33(1), 73-96.

Endress, R., & Endress, R. (1994). Plant cell biotechnology (p. 35). Berlin: Springer-Verlag.

Evans, D. E., Coleman, J. O., & Kearns, A. (2020). Plant cell culture. Taylor & Francis.

Evans, W. C., & Trease, G. E. (2002). Pharmacognosy (pp. 25-26). London: Saunders.

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), 1-12.

Ferhat, M. A., Meklati, B. Y., & Chemat, F. (2007). Comparison of different isolation methods of essential oil from Citrus fruits: cold pressing, hydrodistillation and microwave 'dry'distillation. Flavour and Fragrance Journal, 22(6), 494-504.

Friedman, T. (2015). The effect of Rosmarinic acid on immunological and neurological system: A basic science and clinical review. J. Restorative Med., 4: 50–60.

Frohnmeyer, H., & Staiger, D. (2003). Ultraviolet-B radiation-mediated responses in plants. Balancing damage and protection. Plant physiology, 133(4), 1420-1428.

Gaspar, T., Kevers, C., Penel, C., Greppin, H., Reid, D. M., & Thorpe, T. A. (1996). Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 32(4), 272-289.

George, E. F. (1996). Plant propagation by tissue culture. Part 2: in practice (No. Ed. 2). Exegetics limited.

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.

George, E. F., Hall, M. A., & Klerk, G. J. D. (2008). Plant tissue culture procedure-background. In Plant propagation by tissue culture (pp. 1-28). Springer, Dordrecht.

Ghanbari, M., Davar, F., & Shalan, A. E. (2021). Effect of rosemary extract on the microstructure, phase evolution, and magnetic behavior of cobalt ferrite nanoparticles and its application on anti-cancer drug delivery. Ceramics International, 47(7), 9409-9417.

Ghanem, S. A., Aboul-Enein, A. M., El-Sawy, A., Rady, M. R., & Ibrahem, M. M. (2010). In vitro propagation and cardiac glycosides content of Digitalis lanata. Int J Acad Res, 2(6), 349-356.

Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z., & Karimi, E. (2012). Involvement of salicylic acid on antioxidant and anticancer properties, anthocyanin production and

chalcone synthase activity in ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) varieties. International Journal of Molecular Sciences, 13(11), 14828-14844.

Ghavam, M. (2022). In vitro biological potential of the essential oil of some aromatic species used in Iranian traditional medicine. Inflammopharmacology, 1-20.

Golkar, P., Taghizadeh, M., & Yousefian, Z. (2019). The effects of chitosan and salicylic acid on elicitation of secondary metabolites and antioxidant activity of safflower under in vitro salinity stress. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 137(3), 575-585.

González-Minero, F. J., Bravo-Díaz, L., & Ayala-Gómez, A. (2020). *Rosmarinus officinalis* L.(Rosemary): An ancient plant with uses in personal healthcare and cosmetics. Cosmetics, 7(4), 77.

Goodwin, T. W. (1976). Chemistry & Biochemistray of Plant Pigment. 2 nd Academic. Press. London. NewYork. San Francisco, 373, 1-10.

Grzegorczyk, I., & Wysokinska, H. (2008). Liquid shoot culture of *Salvia officinalis* L. for micropropagation and production of antioxidant compounds; effect of triacontanol. Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 77(2).

Hailemariam, S. (2016). Extraction and Characterization of Essential Oil from Rosemary Leaves. ADDIS ABABA UNIVERSITY ADDIS ABABA.

Hairuddin, R., Idris, M. Y., & Nur, K. (2023). Organogenesis of corn plants (Zea mays L.) at various concentrations of auxin and cytokinin plant growth

regulators in vitro. Asian Journal of Agriculture and Rural Development, 13(1), 91-97.

Halder, D., Barik, B. B., Dasgupta, R. K., & Saumendu, D. (2018). Aroma therapy: An art of healing. Indian Research Journal of Pharmacy and Science, 17, 1540-58.

Hamad, M. S., & Majid, N. B. (2017). INFLUENCE OF EXPLANT AND GROWTH REGULATORS IN THE INDUCTION OF CALLUS OF Annona Muricata IN VITRO. Euphrates Journal of Agriculture Science, 9(4), 1-12.

Hammer, M., & Junghanns, W. (2020). *Rosmarinus officinalis* L.: Rosemary. In Medicinal, Aromatic and Stimulant Plants (pp. 501-521). Springer, Cham.

Hanson, J. R. (2003). Natural products: the secondary metabolites (Vol. 17). Royal Society of Chemistry.

Hara, M., Furukawa, J., Sato, A., Mizoguchi, T., & Miura, K. (2012). Abiotic stress and role of salicylic acid in plants. Abiotic stress responses in plants, 235-251.

Hartmann, H. T.; D. E. Kester ; F. T. Davies and R. L. Geneve .(2002). Plant. Propagation Principles and Practices . 7th. ed. Perntice Hall. Inc . New Jersey. USA.

Hatcher, C. R., Ryves, D. B., & Millett, J. (2020). The function of secondary metabolites in plant carnivory. Annals of Botany, 125(3), 399-411.

Hayat, S. ; B. Ali and A. Ahmad .(2007). Salicylic acid: Biosynthesis, Metabolism and Physiological Role in Plants. In: S. Hayat and A. Ahmad : Salicylic acid: A plant hormone , Springer , Nether land ; pp. 1-14.

Herbert, D., Phipps, P. J., & Strange, R. E. (1971). Chapter III chemical analysis of microbial cells. In Methods in microbiology (Vol. 5, pp. 209-344). Academic press.

Hikosaka, S., Ito, K., & Goto, E. (2010). Effects of ultraviolet light on growth, essential oil concentration, and total antioxidant capacity of Japanese mint. Environmental Control in Biology, 48(4), 185-190.

Hluska, T., Hlusková, L., & Emery, R. N. (2021). The Hulks and the Deadpools of the cytokinin universe: A dual strategy for cytokinin production, translocation, and signal transduction. Biomolecules, 11(2), 209.

Hollósy, F. (2002). Effects of ultraviolet radiation on plant cells. Micron, 33(2), 179-197.

Hopkins, W. G. and N.P.A. Hiiner. (2009). Introduction to Plant physiology. Fourth Edition . John Wiley and Sons, Inc.

Huang, J., Liu, X., Yang, Q., Lei, B., Zheng, Y., Bian, Z., ... & Xu, Y. (2022). UVA Enhanced Promotive Effects of Blue Light on the Antioxidant Capacity and Anthocyanin Biosynthesis of Pak Choi. Horticulturae, 8(9), 850.

Huda, M. F.; Indriyani, S. and Widoretno, W. (2020). Effect of Benzyl Adenine Concentration on Callus Induction of Geranium Plants (*Pelargonium*

graveolens L'Her) from Petiole and Leaf Explants. The Journal of Experimental Life Science, 10(1): 20-23.

Husain, Z. M. A., & Jawad, L. K. (2019). Effect of some growth regulators on the multiplication and stimulating the production of the volatile oil of *Rosemary officinalis* in vitro. Plant Arch, 19, 1773-1782.

Isah, T., Umar, S., Mujib, A., Sharma, M. P., Rajasekharan, P. E., Zafar, N., & Frukh, A. (2018). Secondary metabolism of pharmaceuticals in the plant in vitro cultures: strategies, approaches, and limitations to achieving higher yield. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 132(2), 239-265.

Jacqmard, A., Houssa, C., & Bernier, G. (2019). Regulation of the cell cycle by cytokinins. Cytokinins, 197-216.

Jaiswal, D., & Agrawal, S. B. (2021). Ultraviolet-B induced changes in physiology, phenylpropanoid pathway, and essential oil composition in two Curcuma species (C. caesia Roxb. and C. longa L.). Ecotoxicology and Environmental Safety, 208, 111739.

Johns, A. E. (2019). Lessons for Plant Micropropagation. Educreation Publishing.

Kadasa, N. M., Metwali, E. M., Soliman, H. I., & Alshehri, W. A. (2022). Creation of borer pests resistance genetically engineering peach (*Prunus persica* L.) plants by constitutively overexpressing the cry1Ab gene. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 1-13.

Kandar, C. C. (2021). Secondary metabolites from plant sources. In Bioactive natural products for pharmaceutical applications (pp. 329-377). Springer, Cham.

Karam, N. S., Jawad, F. M., Arikat, N. A., & Shibl, R. A. (2003). Growth and rosmarinic acid accumulation in callus, cell suspension, and root cultures of wild *Salvia fruticosa*. Plant cell, tissue and organ culture, 73(2), 117-121.

Karlidag, H., Yildirim, E., & Turan, M. (2009). Salicylic acid ameliorates the adverse effect of salt stress on strawberry. Scientia Agricola, 66, 180-187.

Kaushik, N., & Barmanray, A. (2022). Potential Health Promoting Attributes of Indian Seed Spices. Journal of Science and Technology, 7(05).

Kazemi, M. (2013). Foliar application of salicylic acid and calcium on yield, yield component and chemical properties of strawberry. Bull. Env. Pharmacol. Life Sci, 2(11), 19-23.

Khan, W., B. Prithiviraj, D.L. Smith . (2003). Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. J Plant Physiol. 160; 485-492.

Khojasteh, A., Mirjalili, M. H., Alcalde, M. A., Cusido, R. M., Eibl, R., & Palazon, J. (2020). Powerful plant antioxidants: a new biosustainable approach to the production of rosmarinic acid. Antioxidants, 9(12), 1273.

Kovacs, E., & Keresztes, A. (2002). Effect of gamma and UV-B/C radiation on plant cells. Micron, 33(2), 199-210.

Krajewska-Patan, A., DReGeR, M., GóRSKA-PAuKSztA, M., Mścisz, A., MielcAReK, S., BARAniAK, M., ... & MRoziKieWicz, P. M. (2007). *Salvia milthiorrhiza* Bunge in vitro cultivation in callus cultures. Herba Pol, 53, 88-96.

Kravets, E. A., Plokhovska, S. G., Yemets, A. I., & Blume, Y. B. (2023). UV-B Stress and Plant Sexual Reproduction. In UV-B Radiation and Crop Growth (pp. 293-317). Singapore: Springer Nature Singapore.

Kuhlmann, A., & Röhl, C. (2006). Phenolic antioxidant compounds produced by in vitro. Cultures of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and their anti-inflammatory effect on lipopolysaccharide-activated microglia. Pharmaceutical biology, 44(6), 401-410.

Kulandaivelu G, Nedunchezhian N, Annamalainathan K (1991). Ultraviolet-B (280–320nm) radiation induced changes in photochemical activities and polypeptide components of C3 and C4 chloroplasts. Photosynthetica 25, 333–339.

Kumar, S. and J.K. Kanwar. (2008). In vitro propagation of Gerbera-A Review. Hort. Sci. 35(1):35-44.

Kumari, P., Thakur, R., Singh, N., Rastogi, A., & Yadav, S. (2023). Relationships of Oxidative Stress and Ultraviolet-B Radiation in Plants. In UV-B Radiation and Crop Growth (pp. 277-291). Singapore: Springer Nature Singapore.

Kuźma, Ł., Kalemba, D., Różalski, M., Różalska, B., Więckowska-Szakiel, M., Krajewska, U., & Wysokińska, H. (2009). Chemical composition and biological activities of essential oil from *Salvia sclarea* plants regenerated in vitro. Molecules, 14(4), 1438-1447.

Lattanzio, V., Cardinali, A., Ruta, C., Fortunato, I. M., Lattanzio, V. M., Linsalata, V., & Cicco, N. (2009). Relationship of secondary metabolism

to growth in oregano (*Origanum vulgare* L.) shoot cultures under nutritional stress. Environmental and Experimental Botany, 65(1), 54-62.

Lee, J. H., Tanaka, S., & Goto, E. (2022). Growth and Biosynthesis of Phenolic Compounds of Canola (*Brassica napus* L.) to Different Ultraviolet (UV)-B Wavelengths in a Plant Factory with Artificial Light. Plants, 11(13), 1732.

Lee, S. Y., Xu, H., Kim, Y. K., & Park, S. U. (2008). Rosmarinic acid production in hairy root cultures of *Agastache rugosa* Kuntze. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 24(7), 969-972.

Leelavathi, D., & Kuppan, N. (2013). IN VITRO REGENERATION FROM APICAL BUD EXPLANT OF ROSMARINUS OFFICINALIS L.-AN IMPORTANT MEDICINAL PLANT. Banat's Journal of Biotechnology, 4(8), 14.

Lenz, E.; C. Muller; A. Mostafa; J. Dzieciolowski; P. Kanrai; S. Dam; U. Cwientzek; L. Prenner and Pleschka, S. (2020). Authorized medicinal product Aspecton oral drops containing thyme extract KMTv24497 shows antiviral activity against viruses which cause respiratory infections. Journal of herbal medicine. 13: 26–33.

Lešnik, S., Furlan, V., & Bren, U. (2021). Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.): extraction techniques, analytical methods and health-promoting biological effects. Phytochemistry Reviews, 20(6), 1273-1328.

Li, P., Liu, A., Li, Y., Yuan, B., Xiao, W., Liu, Z., ... & Lin, H. (2019). Development and validation of an analytical method based on HPLC-ELSD for the simultaneous determination of rosmarinic acid, carnosol,

carnosic acid, oleanolic acid and ursolic acid in rosemary. Molecules, 24(2), 323.

Li, W., He, J., Wang, X., Ashline, M., Wu, Z., Liu, F., ... & Chang, M. (2023). PBS3: a versatile player in and beyond salicylic acid biosynthesis in Arabidopsis. New Phytologist, 237(2), 414-422.

Lorenzo, J. M., Munekata, P. E. S., Pateiro, M., Domínguez, R., Alaghbari, M. A., & Tomasevic, I. (2021, October). Preservation of meat products with natural antioxidants from rosemary. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 854, No. 1, p. 012053). IOP Publishing.

Luis, J. C., Pérez, R. M., & González, F. V. (2007). UV-B radiation effects on foliar concentrations of rosmarinic and carnosic acids in rosemary plants. Food Chemistry, 101(3), 1211-1215.

Mahdavian, K., Kalantari, K. M., Ghorbanli, M., & Torkzade, M. (2008). The effects of salicylic acid on pigment contents in ultraviolet radiation stressed pepper plants. Biologia Plantarum, 52, 170-172.

Malamy, J., Carr, J. P., Klessig, D. F., & Raskin, I. (1990). Salicylic acid: a likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection. Science, 250(4983), 1002-1004.

Mansouri Torghabeh, F., Rostamzadeh, P., Davoudi, S., Keivan, M., & Shokri-Asl, V. (2022). Effects of Rosmarinus officinalis on orchitis following spermatic cord torsion-detorsion in male mice with emphasis on anti-inflammatory and antioxidant properties. Andrologia, 54(1), e14252.

Marchiori, V. F. (2004). Rosmarinus officinalis. Monografia de *Rosmarinus officinalis*–autora: Vanderlí F. Marchiori–Fitomedicina Herbarium–julho, 5.

Marchiosi, R., dos Santos, W. D., Constantin, R. P., de Lima, R. B., Soares, A. R., Finger-Teixeira, A., ... & Ferrarese-Filho, O. (2020). Biosynthesis and metabolic actions of simple phenolic acids in plants. Phytochemistry Reviews, 19, 865-906.

Mateo, A., Funck, D., Mühlenbock, P., Kular, B., Mullineaux, P. M., & Karpinski, S. (2006). Controlled levels of salicylic acid are required for optimal photosynthesis and redox homeostasis. Journal of Experimental Botany, 57(8), 1795-1807.

Meftahizade, H., Lotfi, M., & Moradkhani, H. (2010). Optimization of micropropagation and establishment of cell suspension culture in Melissa officinalis L. African Journal of Biotechnology, 9(28), 4314-4321.

Mehalaine, S., & Chenchouni, H. (2021). New insights for the production of medicinal plant materials: Ex vitro and in vitro propagation of valuable Lamiaceae species from northern Africa. Current Plant Biology, 27, 100216.

Meng, X., Fang, J., Fu, M., Jiao, W., Ren, P., & Yang, X. (2023). The Role of 1-methylcyclopropylene (1-MCP) and Salicylic Acid (SA) in Induced Resistance of Postharvest Fruits. Horticulturae, 9(1), 108.

Meyer, V. R. (2013). Practical high-performance liquid chromatography. John Wiley & Sons.

Miura, K., & Tada, Y. (2014). Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid. Frontiers in plant science, 5, 4.

Mohammed, H. A., Qureshi, K. A., Ali, H. M., Al-Omar, M. S., Khan, O., & Mohammed, S. A. (2022). Bio-Evaluation of the Wound Healing Activity of Artemisia judaica L. as Part of the Plant's Use in Traditional Medicine; Phytochemical, Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Antibiofilm Properties of the Plant's Essential Oils. Antioxidants, 11(2), 332.

Mohebalipour, N., Aharizad, S., Mohammadi, S. A., Motallebiazar, A. R., & Arefi, H. M. (2012). Effect of plant growth regulators BAP and IAA on micropropagation of Iranian lemon balm (*Melissa officinalis* L.) landraces. JOURNAL OF FOOD AGRICULTURE & ENVIRONMENT, 10(1), 280-286.

Mok, M. C.; R. C. Martin and W. S. Mok .(2000). Cytokinins : Biosynthesis. Metabolism and Perception. In vitro Cell. Dev. Biol. Plant. 36: 102-107.

Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia plantarum, 15(3), 473-497.

Mutha, R. E., Tatiya, A. U., & Surana, S. J. (2021). Flavonoids as natural phenolic compounds and their role in therapeutics: An overview. Future journal of pharmaceutical sciences, 7(1), 1-13.

Naik, P. S., & Buckseth, T. (2018). Recent advances in virus elimination and tissue culture for quality potato seed production. Biotechnologies of Crop Improvement, Volume 1, 131-158.

Nair, K. P. (2022). Rosemary. In Herbal and Acidulant Tree Spices (pp. 113-117). Springer, Cham.

Nakisa, N., & Ghasemzadeh Rahbardar, M. (2022). Therapeutic potential of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) on sports injuries: a patent review. Res J Pharmacogn, 9(3), 71-83.

Nardini, M. (2022). Phenolic compounds in food: Characterization and health benefits. Molecules, 27(3), 783.

Nazir, M., Asad Ullah, M., Mumtaz, S., Siddiquah, A., Shah, M., Drouet, S., ... & Abbasi, B. H. (2020). Interactive effect of melatonin and UV-C on phenylpropanoid metabolite production and antioxidant potential in callus cultures of purple basil (*Ocimum basilicum* L. var purpurascens). Molecules, 25(5), 1072.

Nazir, S., Jan, H., Zaman, G., Ahmed, N., Drouet, S., Hano, C., & Abbasi, B. H. (2021). Synergistic effects of salicylic acid and light stress on bioactive metabolites in basil callus cultures. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 37, 102176.

Neumann, K. H., Kumar, A., & Imani, J. (2009). Plant cell and tissue culture: a tool in biotechnology (Vol. 12). Berlin: Springer.

Nguyen, M. M. (2020). Investigation of the Effectiveness of Selected Essential Oils and Enriched Variants as Functional Ingredients, and of Their Enzymatic Modification. McGill University (Canada).

Nowak K, Jaworska M, Ogonowski J. (2013). Rozmaryn – roślina bogata w związki biologicznie czynne. Chemik;67(2):11-13.

Nowakowska, K., Pińkowska, A., Siedlecka, E., & Pacholczak, A. (2022). The effect of cytokinins on shoot proliferation, biochemical changes and genetic stability of Rhododendron 'Kazimierz Odnowiciel'in the in vitro cultures. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 1-10.

Offord, E. A., Macé, K., Ruffieux, C., Malnoë, A., & Pfeifer, A. M. (1995). Rosemary components inhibit benzo [a] pyrene-induced genotoxicity in human bronchial cells. Carcinogenesis, 16(9), 2057-2062.

Okoh, O. O. (2010). CHEMICAL TRANSFORMATIONS AND PHYTOCHEMICAL STUDIES OF BIOAC-TIVE COMPONENTS FROM EXTRACTS OF (Doctoral dissertation, University of Fort Hare).

Paridaen,A. (2009). Investigating the use of plant growth regulators in New Zealand and Australia. Australian University, Crops Competition New Zealand Study Tour Project Report.

Park, J. S. ; Seong, Z. K. ; Kim, M. S. ; Ha, J. H. ; Moon, K. B. ; Lee, H. J. and Kim, H. S. (2020). Production of Flavonoids in Callus Cultures of Sophora flavescens Aiton. Plants, 9(6):688.

Pedranzani, H., & Vigliocco, A. (2017). Regulation of jasmonic acid and salicylic acid levels in abiotic stress tolerance: past and present. New York, NY: Nova Science Publishers, 329-70.

Perez-Alonso, N. ; A. Capote-Perez ; E. Jime´nez ; D. Wilken ; A. Gerth ; A. Jahn; H. M. Nitzsche and G. Kerns (2009). Cardiotonic glycosides from biomass of *Digitalis purpurea* L. cultured in temporary immersion systems. Plant Cell Tissue. Organ Culture. 99:151–156.

Perra, M., Fancello, L., Castangia, I., Allaw, M., Escribano-Ferrer, E., Peris, J. E., ... & Manconi, M. (2022). Formulation and Testing of Antioxidant and Protective Effect of Hyalurosomes Loading Extract Rich in Rosmarinic Acid Biotechnologically Produced from *Lavandula angustifolia* Miller. Molecules, 27(8), 2423.

Peter, K. V. (Ed.). (2006). Handbook of herbs and spices: volume 3. Woodhead publishing.

Petersen, M., Abdullah, Y., Benner, J., Eberle, D., Gehlen, K., Hücherig, S., ... & Wolters, S. (2009). Evolution of rosmarinic acid biosynthesis. Phytochemistry, 70(15-16), 1663-1679.

Piatczak, E., Kuzma, L., & Wysokinska, H. (2016). The influence of methyl jasmonate and salicylic acid on secondary metabolite production in Rehmannia glutinosa Libosch. hairy root culture. Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanica, 58(1).

Piri, E., Babaeian, M., Tavassoli, A., & Esmaeilian, Y. (2011). Effects of UV irradiation on plants. African Journal of Microbiology Research, 5(14), 1710-1716.

Pistelli, L., Noccioli, C., D'Angiolillo, F., & Pistelli, L. (2013). Composition of volatile in micropropagated and field grown aromatic plants from Tuscany Islands. Acta Biochimica Polonica, 60(1).

Rademacher, W. (2015). Plant growth regulators: backgrounds and uses in plant production. Journal of plant growth regulation, 34(4), 845-872.

Raj, S., & Saudagar, P. (2019). Plant cell culture as alternatives to produce secondary metabolites. In Natural bio-active compounds (pp. 265-286). Springer, Singapore.

Ramawat, K. G. (2004). Plant Biotechnology Printed in India ,pp:1-265.

Ramawat, K. G., & Mérillon, J. M. (2008). Bioactive molecules and medicinal plants (pp. 22-18). Berlin: Springer.

Ramawat, K. G., & Mérillon, J. M. (Eds.). (2013). Natural products: phytochemistry, botany and metabolism of alkaloids, phenolics and terpenes (pp. 1541-2662). Berlin: Springer.

Rani, R., & Sharma, S. (2022). Recent advances in medicinal applications of essential oil. Materials Today: Proceedings.

Rao, M.V., G. Paliyath, D.P. Ormrod, D.P. Murr, C.B. Watkins (1997) Influence of salicylic acid on H2O2 production, oxidative stress and H2O2 metabolizing enzymes. Plant Physiol. 115; 137-149.

Rappoport, Z. (2004). The chemistry of phenols. John Wiley & Sons.

Rasool, R.; Ganai B. A.;Kamili ; A.N. Akbar; S,Masood A. (2013). Artemisia amygdalina(Asteraceae), a critically endangered plant of Kashmir.pak.J. Bot.;45(2):629-634.

Rastogi, R. P., Kumar, A., Tyagi, M. B., & Sinha, R. P. (2010). Molecular mechanisms of ultraviolet radiation-induced DNA damage and repair. Journal of nucleic acids, 2010.

Řebíčková, K., Bajer, T., Šilha, D., Ventura, K., & Bajerová, P. (2020). Comparison of chemical composition and biological properties of essential oils obtained by hydrodistillation and steam distillation of Laurus nobilis L. Plant Foods for Human Nutrition, 75(4), 495-504.

Robson, T. M., Aphalo, P. J., Banaś, A. K., Barnes, P. W., Brelsford, C. C., Jenkins, G. I., ... & Jansen, M. A. (2019). A perspective on ecologically relevant plant-UV research and its practical application. Photochemical & Photobiological Sciences, 18(5), 970-988.

Rodas-Junco, B. A., Nic-Can, G. I., Muñoz-Sánchez, A., & Hernández-Sotomayor, S. T. (2020). Phospholipid signaling is a component of the salicylic acid response in plant cell suspension cultures. International Journal of Molecular Sciences, 21(15), 5285.

Roychoudhry, S., & Kepinski, S. (2022). Auxin in root development. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 14(4), a039933.

Saeed, F., Rasul, S., Batool, S., Zafar, Z. U., & Manzoor, H. (2023). Exogenous applications of salicylic acid alleviate the damaging effects of heat stress in chili (*Capsicum frutescens* L.) through improved antioxidant defense system. International Journal of Applied and Experimental Biology, 2(1), 59-68.

Saewan, N., & Jimtaisong, A. (2013). Photoprotection of natural flavonoids. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 3(9), 129-141.

Sakhanokho, H. F., & Kelley, R. Y. (2009). Influence of salicylic acid on in vitro propagation and salt tolerance in Hibiscus acetosella and Hibiscus moscheutos (cv 'Luna Red'). African Journal of Biotechnology, 8(8).

Salih Abbass, I., Faraj Jumaa, F., & Abid Fulaih, S. (2019). Effect of adding Salicylic acid and Fertilizer on some Anthraqunion Glycosides content in the leaves of *Aloe vera* L. Cactis. Journal of Kerbala for Agricultural Sciences, 2(3), 136-147.

Sandoval, F., Méndez, C., and Cardador, A. (2010). preliminary study of the indican production in tissue cultures of Indigofera suffruticosa mill. e-gnosis, 8: 1-7.

Sathyanarayana, B. N., & Varghese, D. B. (2007). Plant tissue culture: practices and new experimental protocols. IK International Pvt Ltd.

Schlatmann, J. E., ten Hoopen, H. J., & Heijnen, J. J. (2020). Large-scale production of secondary metabolites by plant cell cultures. In Plant cell culture secondary metabolism (pp. 11-60).

Schmülling, T. (2004). CytokininsIn Encyclopedia of BiologicalChemistry. Academic Press/Elsevier Science.

Schmülling, T., Schäfer, S., & Romanov, G. (1997). Cytokinins as regulators of gene expression. Physiologia Plantarum, 100(3), 505-519.

Semenova, N. A., Smirnov, A. A., Ivanitskikh, A. S., Izmailov, A. Y., Dorokhov, A. S., Proshkin, Y. A., ... & Chilingaryan, N. O. (2022). Impact of Ultraviolet Radiation on the Pigment Content and Essential Oil Accumulation in Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.). Applied Sciences, 12(14), 7190.

Sharma, K., Kumar, M., & Chandran, D. (2023). Ameliorative Effects of Phenolics in Oxidative Stress Management in Plants. In Plant Phenolics in Abiotic Stress Management (pp. 369-390). Springer, Singapore.

Sheteiwy, M. S., An, J., Yin, M., Jia, X., Guan, Y., He, F., & Hu, J. (2019). Cold plasma treatment and exogenous salicylic acid priming enhances salinity tolerance of Oryza sativa seedlings. Protoplasma, 256, 79-99.

Singh, A., & Dwivedi, P. (2018). Methyl-jasmonate and salicylic acid as potent elicitors for secondary metabolite production in medicinal plants: a review. J Pharmacogn Phytochem, 7(1), 750-757.

Skoog ,F.and C.O. MiLLer . (1957). Chemical regulation of growth and organ formation on plant tissue cultivated in vitro :In Biological Action of growth substances . 11 th . symp . soc.Exp . Biol. U. k. 11:118- 131.

Skrypnik, L., Golovin, A., & Savina, T. (2022). Effect of salicylic acid on phenolic compounds, antioxidant and antihyperglycemic activity of Lamiaceae plants grown in a temperate climate. Frontiers in Bioscience-Elite, 14(1), 3.

Skrypnik, L., Novikova, A., & Tokupova, E. (2019). Improvement of phenolic compounds, essential oil content and antioxidant properties of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) depending on type and concentration of selenium application. Plants, 8(11), 458.

Soni,M; M. Thak and M, Modgil. (2011). In vitro multiplication of Merton I.793-an apple rootstock suitable for replantation. Indian Journal of Biotechnology .10(7):362-368.

Soraki, R. K., Gerami, M., & Ramezani, M. (2021). Effect of graphene/metal nanocomposites on the key genes involved in rosmarinic acid biosynthesis pathway and its accumulation in Melissa officinalis. BMC Plant Biology, 21(1), 1-14.

Stapleton, A. E. (1992). Ultraviolet radiation and plants: burning questions. The Plant Cell, 4(11), 1353.

Sulung, N., & Aulia, F. F. (2018). Effect Of Rosemary Aromatherapy (Rosmarinus Officinalis) To Memory Of Short-Term Memory In Elderly. Jurnal Endurance: Kajian Ilmiah Problema Kesehatan, 3(2), 247-252.

Taiz , L. and E. Zeiger. (2006). Plant Physiology 4th. Sinauer Assciates , Inc. Publishers . Sunderland.

Taiz , L. and E. Zeiger. (2010). Plant Physiology 5th. Sinauer Assciates , Inc. Publishers . Sunderland

Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., & Murphy, A. (2017). Fisiologia e desenvolvimento vegetal. Artmed Editora.

Talaat, N. B., & Shawky, B. T. (2022). Synergistic effects of salicylic acid and melatonin on modulating ion homeostasis in salt-stressed wheat (*Triticum aestivum* L.) plants by enhancing root H+-pump activity. Plants, 11(3), 416.

Talabany, N. K., & Albarzinji, I. M. (2023). Effects of Salicylic Acid on some Growth and Physiological Characteristics of Lettuce (Lactuca sativa L.) under Cadmium Stress Conditions. Science Journal of University of Zakho, 11(1), 37-44.

Tariq, A., & Ahmed, A. (2023). Genetic Basis of Phenolics in Abiotic Stress Management. In Plant Phenolics in Abiotic Stress Management (pp. 47-62). Singapore: Springer Nature Singapore.

Tawfeeq, A. (2017). Factors affecting essential oil production in rosemary (Rosmarinus officinalis L.) (Doctoral dissertation, University of Reading).

Tawfik, A. A., & Mohamed, M. F. (2007). Regeneration of salvia (Salvia officinalis L.) via induction of meristematic callus. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 43(1), 21-27.

Trigiano, R. N., & Gray, D. J. (2016). Plant tissue culture, development, and biotechnology. CRC Press.

Tripathi, M. K., Mishra, N., Tiwari, S., Shyam, C., Singh, S., & Ahuja, A. (2019). Plant tissue culture technology: Sustainable option for mining high value pharmaceutical compounds. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 8(02), 1002-1010.

Tungmunnithum, D., Thongboonyou, A., Pholboon, A., & Yangsabai, A. (2018). Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview. Medicines, 5(3), 93.

Uronnachi, E., Atuegwu, C., Umeyor, C., Nwakile, C., Obasi, J., Ikeotuonye, C., & Attama, A. (2022). Formulation and evaluation of hair growth enhancing effects of oleogels made from Rosemary and Cedar wood oils. Scientific African, e01223.

Vaishnav, D., & Chowdhury, P. (2023). Types and Function of Phytohormone and Their Role in Stress.

Vernooij, B., Friedrich, L., Morse, A., Reist, R., Kolditz-Jawhar, R., Ward, E., ... & Ryals, J. (1994). Salicylic acid is not the translocated signal responsible for inducing systemic acquired resistance but is required in signal transduction. The Plant Cell, 6(7), 959-965.

Vineesh, P. J., Mathew, A., Kavyamol, P. M., Vineetha, V. P., Rajagopal, R., Alfarhan, A., ... & Ramesh, V. (2023). Essential oils of Cinnamon, Turmeric and Neem as potential control agents against home-invading Acid flies (Paederus fuscipes) and Darkling beetles (Luprops tristis). Journal of King Saud University-Science, 35(1), 102363.

Wahab, A., Abdi, G., Saleem, M. H., Ali, B., Ullah, S., Shah, W., ... & Marc, R. A. (2022). Plants' physio-biochemical and phyto-hormonal responses to alleviate the adverse effects of drought stress: A comprehensive review. Plants, 11(13), 1620.

Wusigale, Fu, X., Yin, X., Ji, C., Cheng, H., & Liang, L. (2021). Effects of Folic Acid and Caffeic Acid on Indirect Photo-oxidation of Proteins and Their Costabilization under Irradiation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 69(42), 12505-12516.

Wybouw, B., & De Rybel, B. (2019). Cytokinin–a developing story. Trends in plant science, 24(2), 177-185.

Xie, X., He, Z., Chen, N., Tang, Z., Wang, Q., & Cai, Y. (2019). The roles of environmental factors in regulation of oxidative stress in plant. BioMed research international, 2019.

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(4), 762.

Yao, D., Chen, Y., Xu, X., Lin, Y., & Lai, Z. (2022). Exploring the Effect of Methyl Jasmonate on the Expression of microRNAs Involved in Biosynthesis of Active Compounds of Rosemary Cell Suspension Cultures through RNA-Sequencing. International journal of molecular sciences, 23(7), 3704.

Yao, HJ. and S. Tian .(2005). Effects of pre- and post- harvest application of salicylic acid ormethyl jasmonate on inducing disease resistance of sweet cherry fruit in storage. Postharvest Biology and Technol.; 35: 253 - 62.

Ye, J., Mao, D., Cheng, S., Zhang, X., Tan, J., Zheng, J., & Xu, F. (2020). Comparative transcriptome analysis reveals the potential stimulatory mechanism of terpene trilactone biosynthesis by exogenous salicylic acid in Ginkgo biloba. Industrial Crops and Products, 145, 112104.

Yingngam, B. (2022). Chemistry of Essential Oils. In Flavors and Fragrances in Food Processing: Preparation and Characterization Methods (pp. 189-223). American Chemical Society.

Younis, M. E. B., Hasaneen, M. N. A. G., & Abdel-Aziz, H. M. M. (2023). Salicylic acid and ascorbic acid as mitigators of chilling stress in plants. In Plant Stress Mitigators (pp. 115-126). Academic Press.

Youssef, S. M., López-Orenes, A., Ferrer, M. A., & Calderón, A. A. (2023). Foliar Application of Salicylic Acid Enhances the Endogenous Antioxidant

and Hormone Systems and Attenuates the Adverse Effects of Salt Stress on Growth and Yield of French Bean Plants. Horticulturae, 9(1), 75.

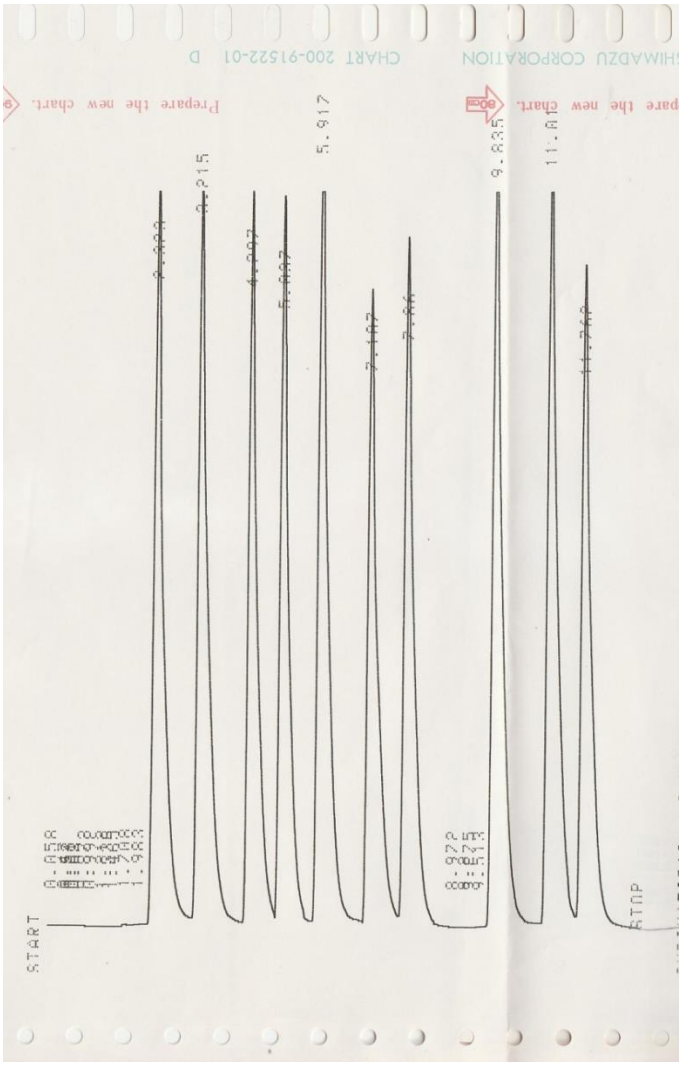
Zeng, Y. Q., He, J. T., Hu, B. Y., Li, W., Deng, J., Lin, Q. L., & Fang, Y. (2022). Virgin coconut oil: A comprehensive review of antioxidant activity and mechanisms contributed by phenolic compounds. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1-24.

Zhao, J., Xu, L., Jin, D., Xin, Y., Tian, L., Wang, T., ... & Wang, J. (2022). Rosmarinic acid and related dietary supplements: Potential applications in the prevention and treatment of cancer. Biomolecules, 12(10), 1410.

Zielińska, S., & Matkowski, A. (2014). Phytochemistry and bioactivity of aromatic and medicinal plants from the genus Agastache (Lamiaceae). Phytochemistry Reviews, 13(2), 391-416.

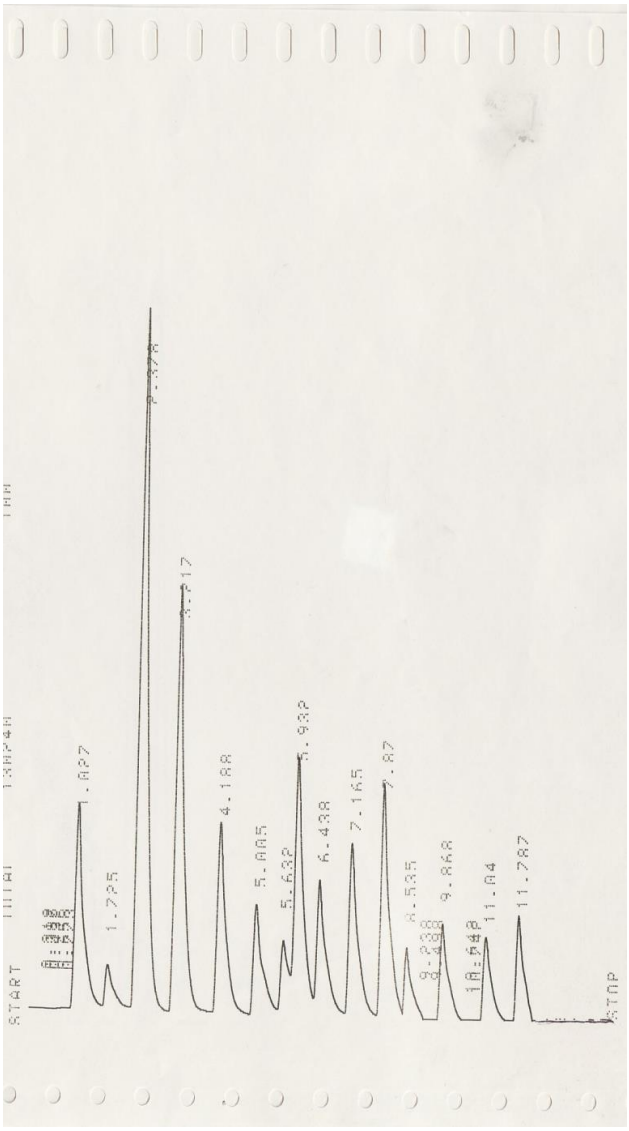
Zlatev, Z. S., Lidon, F. J., & Kaimakanova, M. (2012). Plant physiological responses to UV-B radiation. Emirates Journal of Food and Agriculture, 481-501.

7- الملاحق



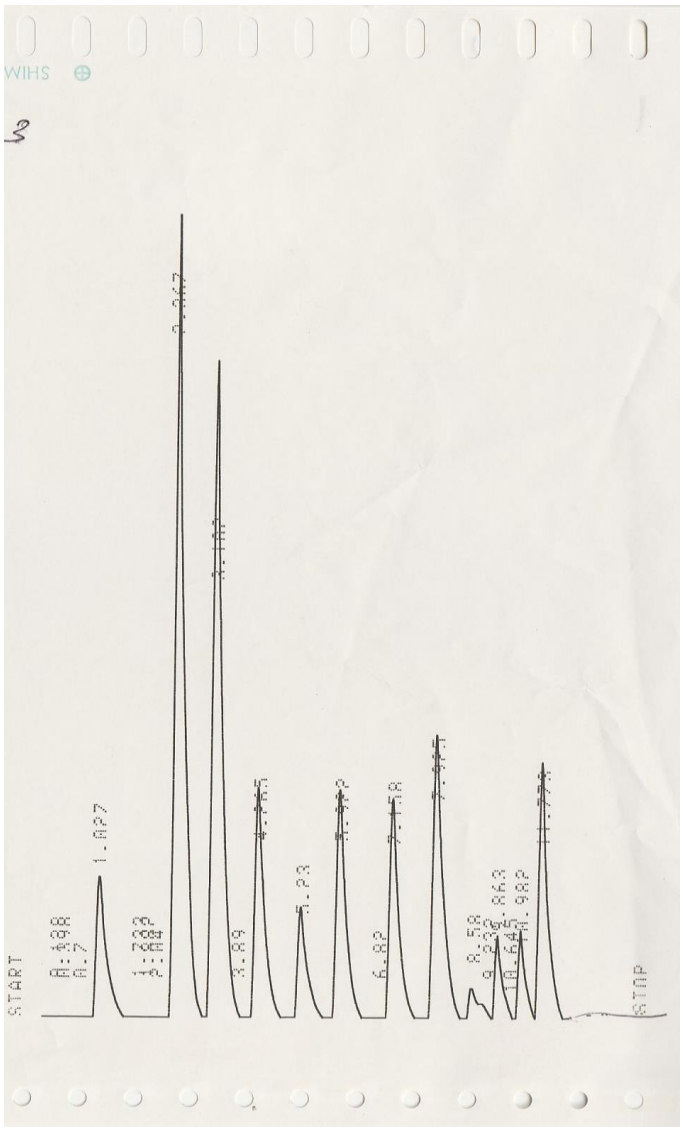
Seq	Compound	Retention time
1	**ά-** pinene	2.32
2	1-8 Cinole	3.21
3	Camphor	4.29
4	Verbene	5.03
5	Rosmaric acid	5.91
6	Broneal	7.10
7	Geranal	7.86
8	Linolool	9.83
9	Cymene	11.01
10	ά- Terpinol	11.76

ملحق (1) المحاليل القياسية



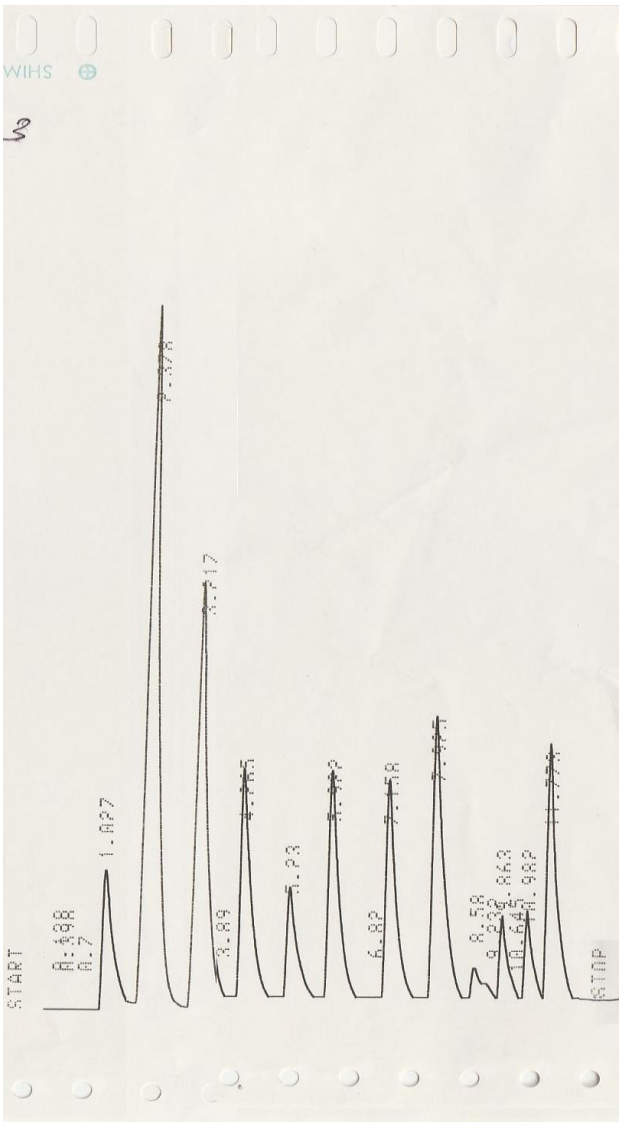
Seq	Compound	Retention time
1	**ά-** pinene	2.32
2	1-8 Cinole	3.21
3	Camphor	4.29
4	Verbene	5.03
5	Rosmaric acid	5.91
6	Broneal	7.10
7	Geranal	7.86
8	Linolool	9.83
9	Cymene	11.01
10	ά- Terpinol	11.76

ملحق (2) تأثير حامض السالسليك بتركيز30 ملغم لتر$^{-1}$ وأشعة UVعند 10 دقيقة في انتاج المركبات الايضية من الأفرع الخضرية لنبات إكليل الجبل بعد شهر من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



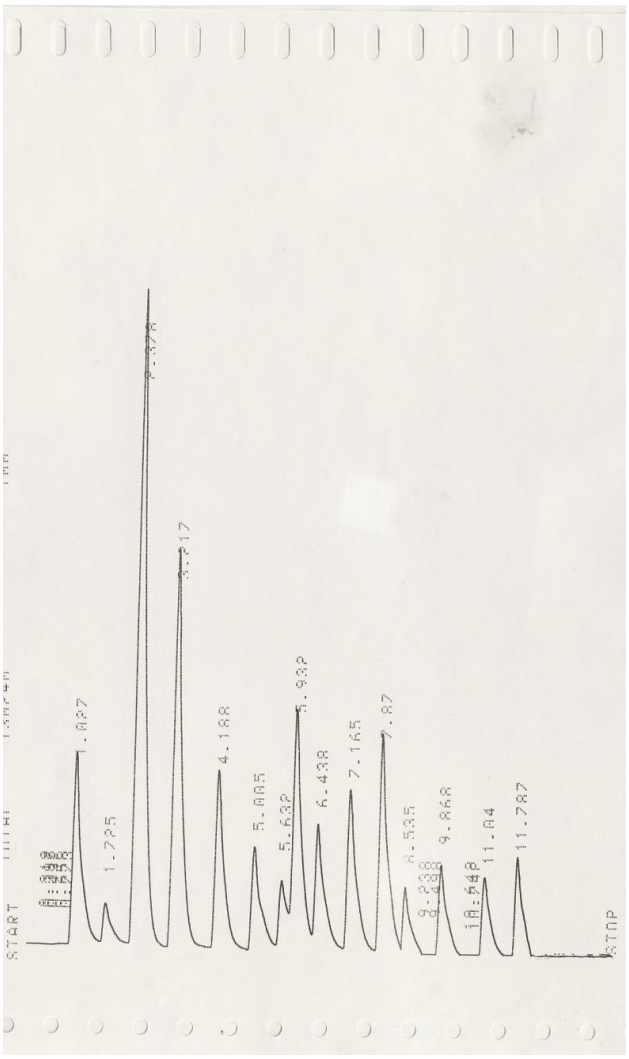
Seq	Compound	Retention time
1	**ά-** pinene	2.32
2	1-8 Cinole	3.21
3	Camphor	4.29
4	Verbene	5.03
5	Rosmaric acid	5.91
6	Broneal	7.10
7	Geranal	7.86
8	Linolool	9.83
9	Cymene	11.01
10	ά- Terpinol	11.76

ملحق (3) تأثير حامض السالسليك بتركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ وأشعة UV عند 10 دقيقة في انتاج المركبات الايضية من الأفرع الخضرية لنبات إكليل الجبل بعد شهر من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



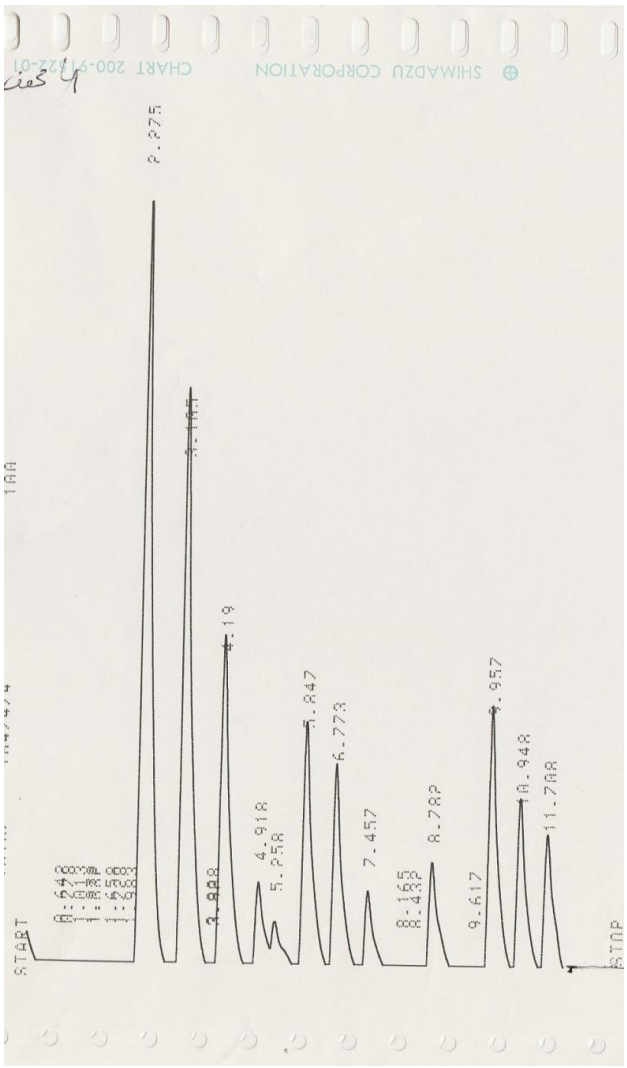
Seq	Compound	Retention time
1	**ά-** pinene	2.32
2	1-8 Cinole	3.21
3	Camphor	4.29
4	Verbene	5.03
5	Rosmaric acid	5.91
6	Broneal	7.10
7	Geranal	7.86
8	Linolool	9.83
9	Cymene	11.01
10	ά- Terpinol	11.76

ملحق (4) تأثير حامض السالسليك بتركيز 10 ملغم لتر$^{-1}$ وأشعة UV عند 10 دقيقة في انتاج المركبات الايضية من الأفرع الخضرية لنبات إكليل الجبل بعد شهر من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



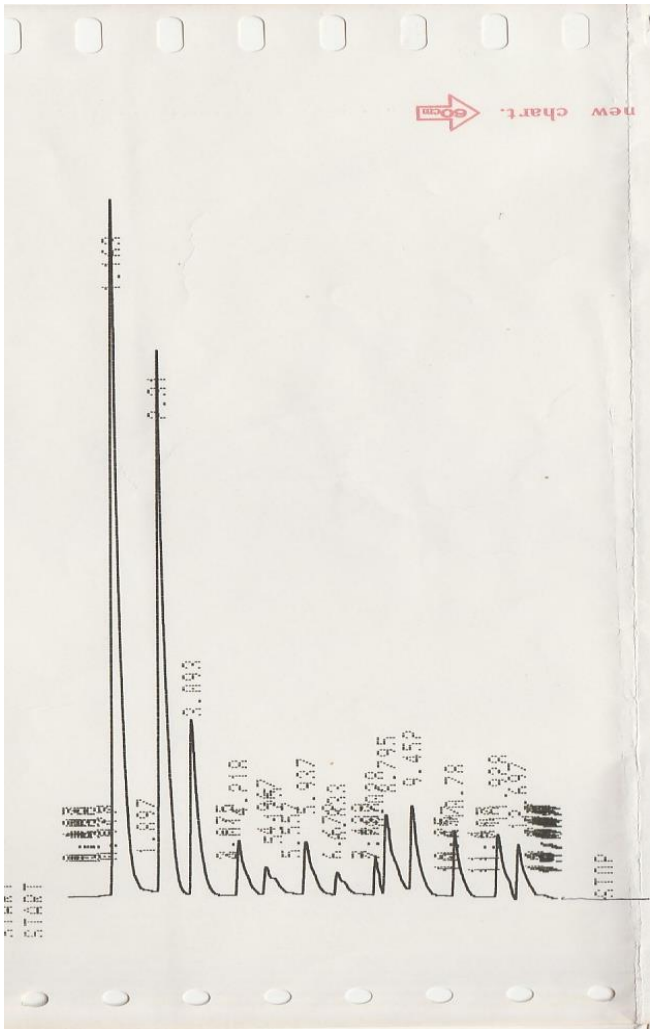
Seq	Compound	Retention time
1	**ά-** pinene	2.32
2	1-8 Cinole	3.21
3	Camphor	4.29
4	Verbene	5.03
5	Rosmaric acid	5.91
6	Broneal	7.10
7	Geranal	7.86
8	Linolool	9.83
9	Cymene	11.01
10	ά- Terpinol	11.76

ملحق (5) تأثير حامض السالسليك بتركيز 30 ملغم لتر$^{-1}$ وأشعة UV عند20 دقيقة في انتاج المركبات الايضية من الأفرع الخضرية لنبات إكليل الجبل بعد شهر من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



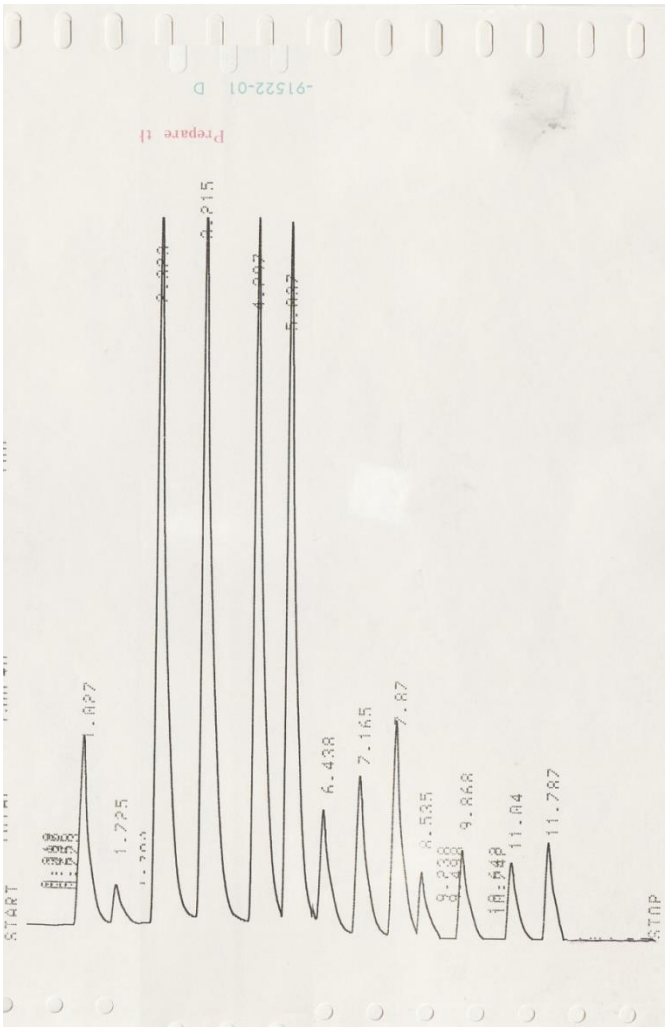
Seq	Compound	Retention time
1	**ά-** pinene	2.32
2	1-8 Cinole	3.21
3	Camphor	4.29
4	Verbene	5.03
5	Rosmaric acid	5.91
6	Broneal	7.10
7	Geranal	7.86
8	Linolool	9.83
9	Cymene	11.01
10	ά- Terpinol	11.76

ملحق (6) تأثير حامض السالسليك بتركيز 20ملغم لتر$^{-1}$ وأشعة UV عند 20 دقيقة في انتاج المركبات الايضية من الأفرع الخضرية لنبات إكليل الجبل بعد شهر من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



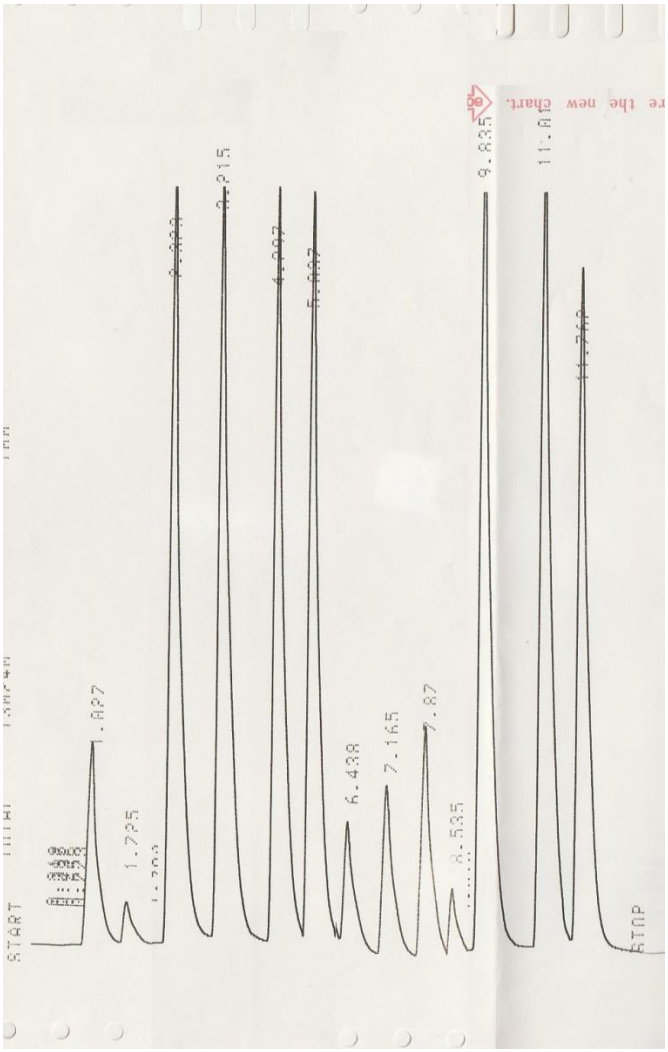
Seq	Compound	Retention time
1	**ά-** pinene	2.32
2	1-8 Cinole	3.21
3	Camphor	4.29
4	Verbene	5.03
5	Rosmaric acid	5.91
6	Broneal	7.10
7	Geranal	7.86
8	Linolool	9.83
9	Cymene	11.01
10	ά- Terpinol	11.76

ملحق (7) تأثير حامض السالسليك بتركيز10 ملغم لتر$^{-1}$ وأشعة UV عند20 دقيقة في انتاج المركبات الايضية من الأفرع الخضرية لنبات إكليل الجبل بعد شهر من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



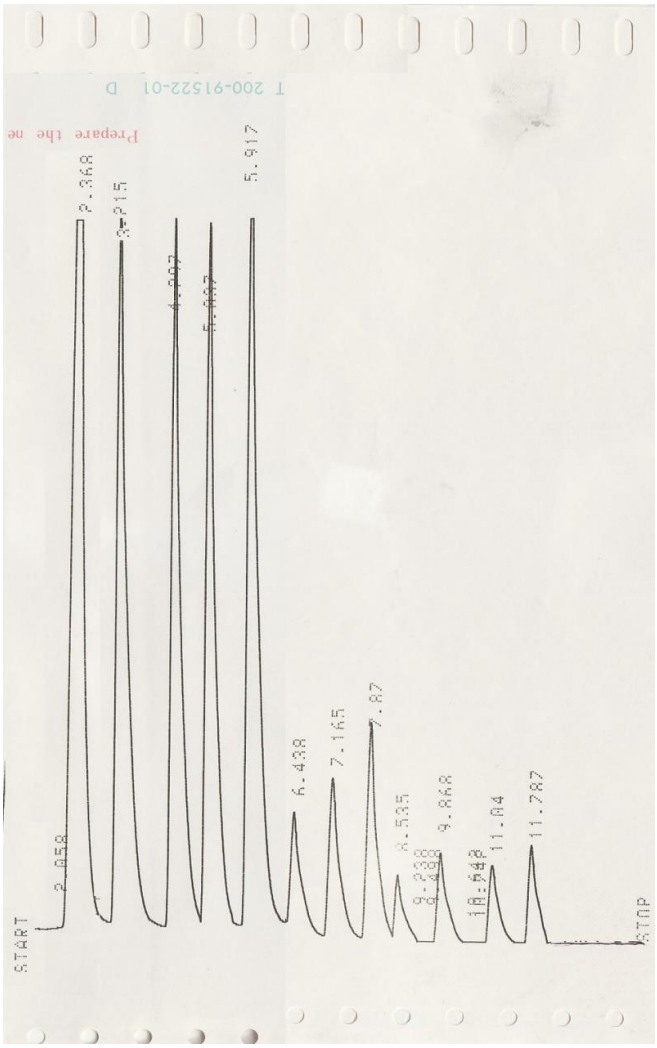
Seq	Compound	Retention time
1	**ά-** pinene	2.32
2	1-8 Cinole	3.21
3	Camphor	4.29
4	Verbene	5.03
5	Rosmaric acid	5.91
6	Broneal	7.10
7	Geranal	7.86
8	Linolool	9.83
9	Cymene	11.01
10	ά- Terpinol	11.76

ملحق (8) تأثير حامض السالسليك بتركيز10ملغم لتر$^{-1}$ وأشعة UV عند 0 دقيقة في انتاج المركبات الايضية من كالس نبات إكليل الجبل بعد شهر من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



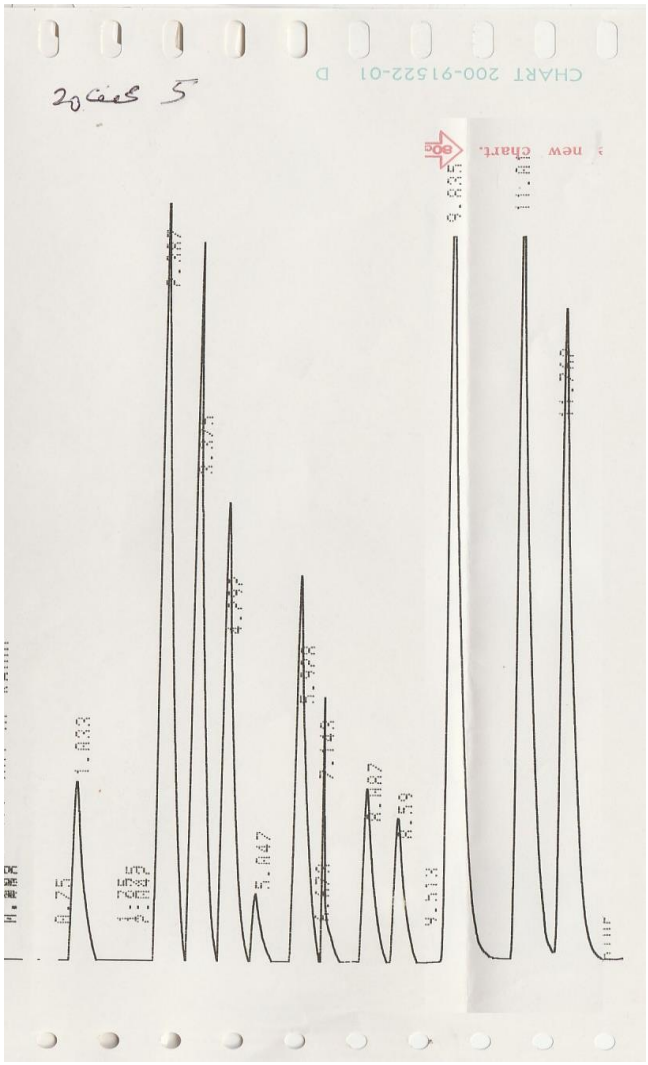
Seq	Compound	Retention time
1	**ά-** pinene	2.32
2	1-8 Cinole	3.21
3	Camphor	4.29
4	Verbene	5.03
5	Rosmaric acid	5.91
6	Broneal	7.10
7	Geranal	7.86
8	Linolool	9.83
9	Cymene	11.01
10	ά- Terpinol	11.76

ملحق (9) تأثير حامض السالسليك بتركيز10ملغم لتر$^{-1}$ وأشعة UV عند 10 دقيقة في انتاج المركبات الايضية من كالس نبات إكليل الجبل بعد شهر من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



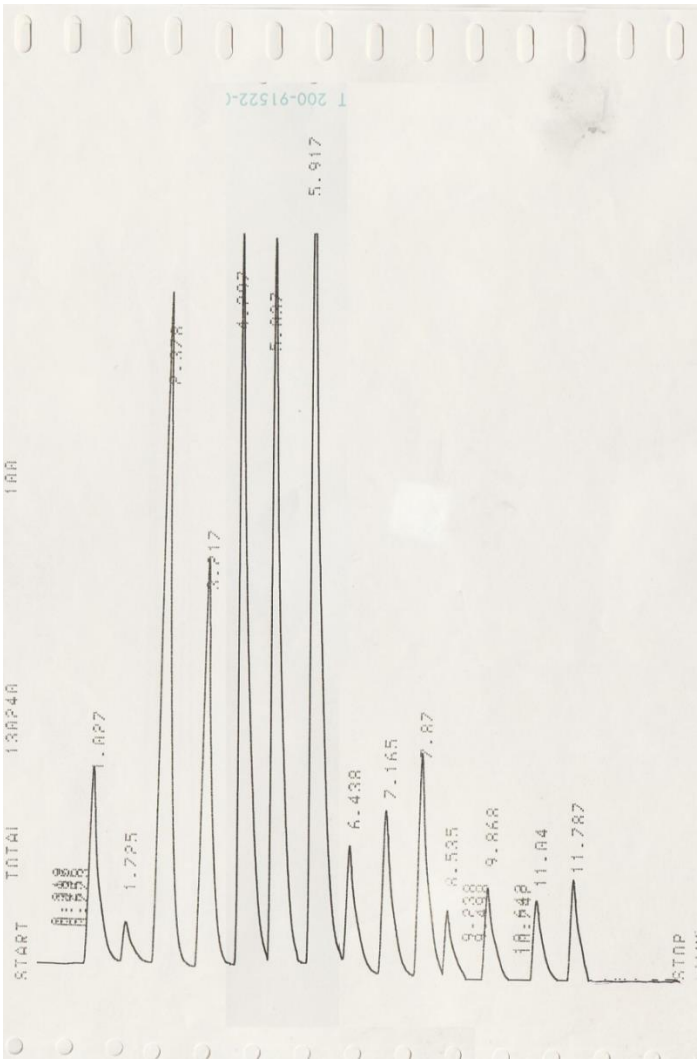
Seq	Compound	Retention time
1	**ά-** pinene	2.32
2	1-8 Cinole	3.21
3	Camphor	4.29
4	Verbene	5.03
5	Rosmaric acid	5.91
6	Broneal	7.10
7	Geranal	7.86
8	Linolool	9.83
9	Cymene	11.01
10	ά- Terpinol	11.76

ملحق (10) تأثير حامض السالسليك بتركيز20ملغم لتر$^{-1}$ وأشعة UVعند 10 دقيقة في انتاج المركبات الايضية من كالس نبات إكليل الجبل بعد شهر من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



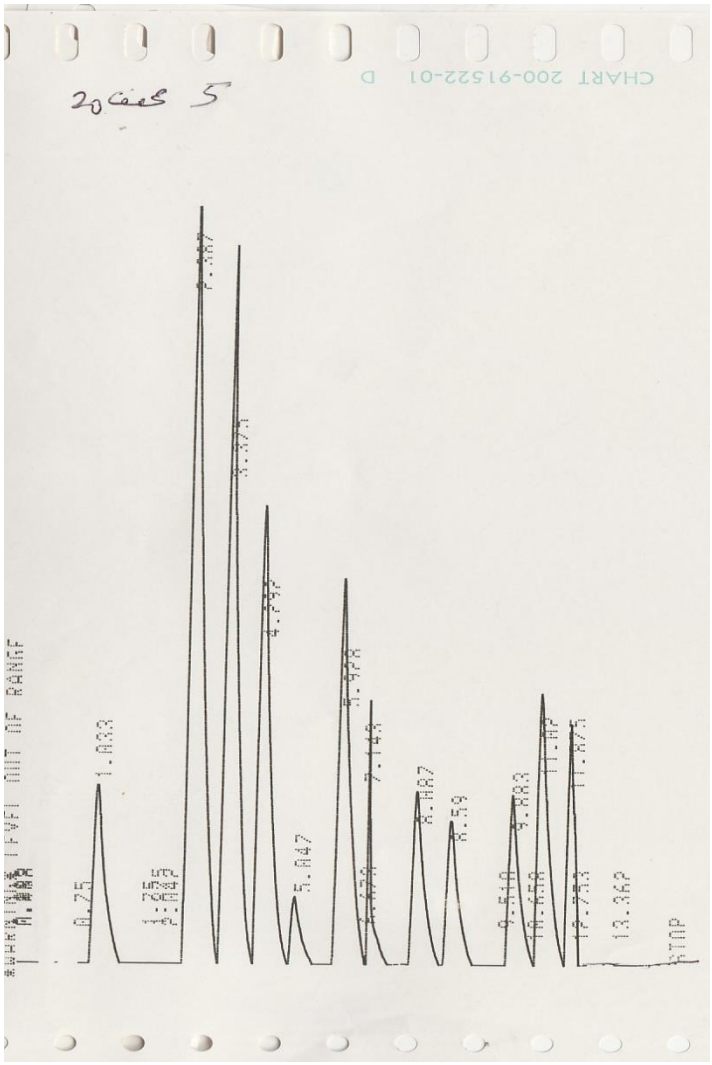
Seq	Compound	Retention time
1	**ά-** pinene	2.32
2	1-8 Cinole	3.21
3	Camphor	4.29
4	Verbene	5.03
5	Rosmaric acid	5.91
6	Broneal	7.10
7	Geranal	7.86
8	Linolool	9.83
9	Cymene	11.01
10	ά- Terpinol	11.76

ملحق (11) تأثير حامض السالسليك بتركيز30 ملغم لتر$^{-1}$ وأشعة UV عند10 دقيقة في انتاج المركبات الايضية من كالس نبات إكليل الجبل بعد شهر من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



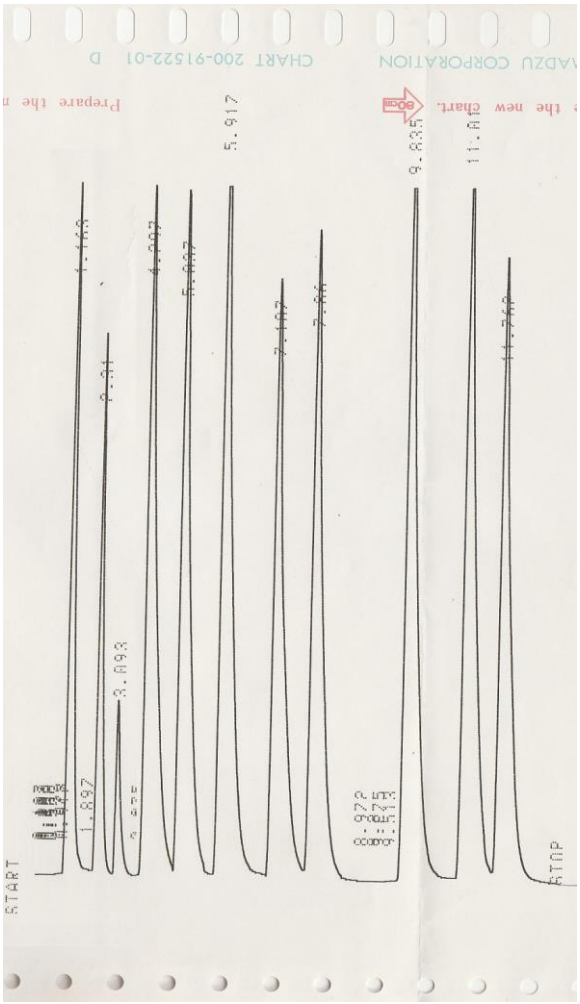
Seq	Compound	Retention time
1	**ά-** pinene	2.32
2	1-8 Cinole	3.21
3	Camphor	4.29
4	Verbene	5.03
5	Rosmaric acid	5.91
6	Broneal	7.10
7	Geranal	7.86
8	Linolool	9.83
9	Cymene	11.01
10	ά- Terpinol	11.76

ملحق (12) تأثير حامض السالسليك بتركيز 10 ملغم لتر$^{-1}$ وأشعة UV عند 20 دقيقة في انتاج المركبات الايضية من كالس نبات إكليل الجبل بعد شهر من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



Seq	Compound	Retention time
1	**ά-** pinene	2.32
2	1-8 Cinole	3.21
3	Camphor	4.29
4	Verbene	5.03
5	Rosmaric acid	5.91
6	Broneal	7.10
7	Geranal	7.86
8	Linolool	9.83
9	Cymene	11.01
10	ά- Terpinol	11.76

ملحق (13) تأثير حامض السالسليك بتركيز 20 ملغم لتر$^{-1}$ وأشعة UV عند20 دقيقة في انتاج المركبات الايضية من كالس نبات إكليل الجبل بعد شهر من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

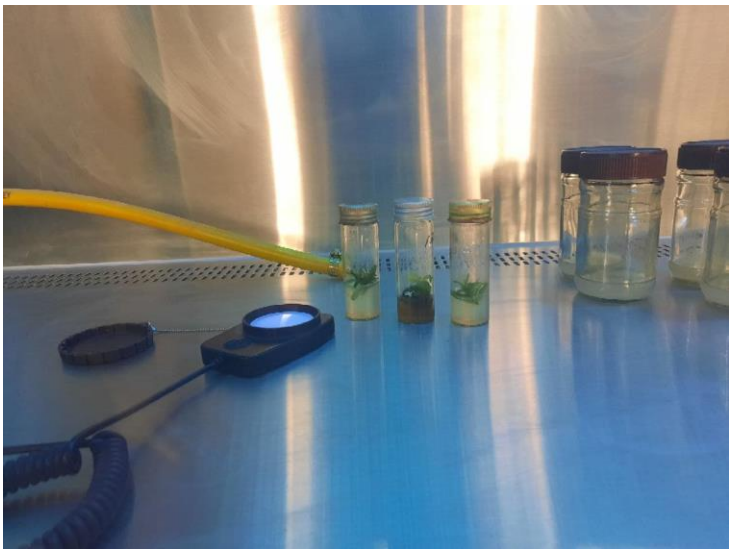


Seq	Compound	Retention time
1	**ά-** pinene	2.32
2	1-8 Cinole	3.21
3	Camphor	4.29
4	Verbene	5.03
5	Rosmaric acid	5.91
6	Broneal	7.10
7	Geranal	7.86
8	Linolool	9.83
9	Cymene	11.01
10	ά- Terpinol	11.76

ملحق (14) تأثير حامض السالسليك بتركيز30 ملغم لتر$^{-1}$ وأشعة UVعند20 دقيقة في انتاج المركبات الايضية من الأفرع الخضرية لنبات إكليل الجبل بعد شهر من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

ملحق (15) صورة توضح القمة النامية والبرعم الجانبي المقطوع من النبات الام والمستخدم في التجربة .

ملحق (16) صورة توضح توجه بعض الاجزاء النباتية الى مرحلة التجذير بعد استخدام تراكيز مرتفعة من الاوكسينات .



ملحق (17) تشعيع النبيتات بالأشعة فوق البنفسجية الخاصة بكابينة الهواء الطبقي
. Laminar air flow cabinet

ملحق (18) قياس الوزن الطري للنبيتات باستخدام الميزان الحساس ذو الاربع مراتب .

ملحق (19) تسجيل نسبة الاستجابة للأجزاء النباتية في مرحلة النشوء .

Abstract

This study was carried out in the Plant Tissue Culture Laboratory at the College of Agriculture - University of Karbala. The HPLC analyses were done in the Alhuqul Albayda Company for Investments, Environmental and Engineering Studies / Baghdad / Iraq, for the period from 2021 to 2022. The study used plant tissue culture technology to establish vegetative shoots and callus cultures for rosemary plants, and stimulate them to increase the production of volatile oils and phenolics compounds of medical importance. It was carried out in two phases after conducting the sterilization process: the first included the establishment of vegetative shoots and callus cultures by using different combinations of plant growth regulators (Auxins and Cytokinines). ultraviolet light and a concentration of (0-10-20-30) mg L-1 of salicylic acid to stimulate it to increase the production of secondary metabolites in independent factorial experiments using the complete randomized design (CRD). The results can be summarized as follows:

1- The best treatment for sterilizing explants is sodium hypochlorite (NaOCl) at a concentration of 2% for 15 minutes.
2- The shoots tip as a explants used in the establishment stage gave the highest response of 90% at a concentration of 1 mg^{-1} of BA, while the lateral buds gave the highest response of 70% at the same concentration.
3- The media supplemented with BA and with a concentration of 2 mg l^{-1} was the best in increasing the number of branches and their length reached 4.74 $branch^{-1}$ and 4.12 cm, respectively, while the concentration 3 mg l^{-1} achieved the highest mean of the number of leaves and the fresh and dry weight of the shoot was 15.24 $leaf^{-1}$, 2986 mg and 1823 mg, respectively.
4- Concentration 0.2 mg l^{-1} of NAA achieved the highest rate of number of shoots and leaves and dry weight reached 4.16 branch $plant^{-1}$, 14.21 leaf $plant^{-1}$ and 1594 mg respectively, the concentration of 0.4 mg l^{-1} which achieved the highest average of shoot length reached 3.74 cm, while the concentration of 0.1 mg l^{-1} achieved the highest average fresh weight was 2606 mg.
5- The treatment of shoots culture with salicylic acid led to a superior concentration of 10 mg l^{-1} of it in achieving the highest rate of characters , which included the number and length of vegetative branches, reaching 7.45 plant $branches^{-1}$ and 3.63 cm, respectively, and the concentration exceeded 20 mg l^{-1} of it in The average number of leaves, fresh and dry weight of

shoots, as well as the average concentration of chlorophyll and carbohydrates were 16.86 leaf^{-1}, 3424 and 2373 mg, 3.57 and 4.28 mg $^{-1}$ respectively.

6- The UV irradiation treatment at the 20th minute achieved the highest rate of number and length of shoots, number of leaves, fresh and dry weight of the vegetative cultures, as well as the average weight of chlorophyll and carbohydrates were 7.24 branches $^{-1}$, 4.04 cm, 16.89 leaves $^{-1}$, 3374 and 2141 mg, 3.67 and 4.32 mg $^{-1}$ respectively.

7- Treatment of shoots culture with different concentrations of salicylic acid resulted in significant differences in the amount of active compounds that were measured, where the concentration of 10 mg l^{-1} achieved the highest average concentration of the Geranal compound amounted to 30.677 µg gm^{-1}, and the concentration of 20 mg l^{-1} achieved the highest rate. The concentration of pinene-ά, Camphor, Verbene and Broneal reached 33.28, 30.443, 31.933 and 29.820 µg mg^{-1}, respectively, while the concentration of 30 mg l^{-1} achieved the highest average concentration of 1-8cinole, Rosmaric acid, Linolool, Cymene and Terpinol were 30.130, 62.82, 34.430, 31.3400, and 33.377 µg g^{-1}, respectively.

8- The irradiation treatment at the 20th minute gave the highest rate for the compounds a- pinene, 1-8cinole, Camphor, Verbene, Rosmaric acid, Broneal, Geranal, Linolool, Cymene and ά- Terpinol 39.60, 36.495, 33.548, 34.745, 62.75, 28.582 and 29.657, 31.102, 35.0375, and 32.743 µg g^{-1}, respectively.

9- The shoot tip was significantly superior compared with the leaves in achieving the highest rate of response to callus induction of 100% in all combinations of 2,4-D with BA.

10- The concentration of 2 mg l^{-1} of 2,4-D achieved the highest average fresh and dry weight of the callus induced from the growing apex, which reached (156.78 and 15.66) mg, respectively, while the concentration of 0.2 mg l^{-1} BA achieved the highest average weight for the traits. The same amounted to 150.19 and 12.464 mg respectively.

11- The treatment of induced callus from the shoot tip with different concentrations of salicylic acid, where the concentration of 20 mg l^{-1} achieved the highest rate of fresh and dry weight of callus amounted to 308.47 and 27.30 mg respectively. Also, the irradiation treatment at 20 minutes achieved the highest rate for the same characteristics amounted to 291.44 and 25.44 mg respectively.

12- When treating callus cultures with different concentrations of salicylic acid, the concentration of 10 mg l^{-1} achieved the highest average concentration of the Geranal compound amounted to 26.8967 µg g^{-1}, and the concentration of

20 mg l^{-1} achieved the highest average concentration of the Verbene compound amounted to 28.693 µg g^{-1}, in When the concentration of 30 mg l^{-1} achieved the highest average concentration of ά- pinene, 1-8cinole, Camphor, Rosmaric acid, Broneal, ά-Terpinol, Linolool and Cymene were 30.07, 28.99, 28.86, 49.68, 25.09, 29.753, 26.77, and 28.263 µg g^{-1}respectively.

13- The irradiation treatment at the 20th minute achieved the highest rate for the compounds ά-pinene, 1-8cinole, Camphor, Verbene, Rosmaric acid, Broneal, Geranal, Linolool, Cymene and ά- Terpinol were 34.80, 34.50, 29.450, 29.112, 45.240, 25.342 and 23.5475, 28.305, 28.26, and 25.878 µg g^{-1} respectively.

Republic of Iraq

Ministry of Higher Education and Scientific Research

University of Kerbala -College of Agriculture

Horticulture and Landscape Department

Effect of UV ray and Salicylic acid to increase the formation of active compound in *Rosmarinus officinalis* L. *in vitro*

A Thesis Submitted to the Council of the College of Agriculture / University of Kerbala in Partial Fulfilment Requirements for the Master Degree in Agricultural sciences / Horticulture and Landscape

Submitted By

Alhasan Ali Mohammed Hussein Nassrullah

Supervisered by

Asst. Prof. Dr. Sarab Abdul Hadi Mohammad Al-Mukhtar

2023 A.D **1444 A.H**