وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة كربلاء
كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

دراسة جزيئية وكيميائية لمقارنة بعض أنواع جنس *Galium L.* من العائلة الفوية **Rubiaceae** في العراق

رسالة مقدمة إلى
مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة .

كتبت بواسطة
ربيعة سلمان حميد خضر
بكالوريوس علوم حياة / جامعة كربلاء2020

بأشراف
أ. د. بلقيس هادي هاشم

1445ه 2024 م

﴿ يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ
دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة المجادلة: آية(11)

الإهداء

إلى البشير النذير ... والسراج المنير ... نبينا المختار أبي القاسم محمد(ﷺ)

إلى بلدي الحبيب... العراق ...وإلى شهدائنا الأبرار

إلى من سعيت دوما لنيل رضاهم، دوناً عن الناس ....

إلى من لا يضاهيهما أحد في الكون

إلى من بذلا الكثير،

وقدما لنا ما لا يمكن أن يرد،

إليكما تلك الكلمات: أمي (رحمها الله) وأبي الغاليان،

أهدي لكما هذا الجهد المتواضع؛

إلى نفسي من الفها ويائها ، عنوانها وختامها قد صبرت وأجتهدت من أجل نجاحي هذا

إلى أخوتي وأخواتي سندي و اعتزازي

إلى كل نبضة قلب خفقت حبا لي ...

أهدي جهدي المتواضع

ربيعه سلمان

شكر وعرفان

الحمد لله الذي تصاغر عند تعاظم الائه شكري، وتضاءل في جنب اكرامه اياي ثنائي والصلاة والسلام على الدليل الى مرضاة الله محمد سيد المرسلين واله الطيبين الطاهرين

أتقدم بالشكر الجزيل الى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة ورئيس قسم علوم الحياة لإتاحة الفرصة لي لأكمال دراستي .

بعد توفيق الله وتيسيره وأنا انهي كتابة رسالتي ان أتقدم بجزيل شكري الى مشرفتي الأستاذ الدكتور بلقيس هادي هاشم لأشرافها على هذا الجهد العلمي ومتابعتها الميدانية وتوجيهاتها القيمة طيلة مدة دراستي، ولا يسعني الا ان ادعو لها فالدعاء أجدى من كل كلمات الشكر زادها الله تمكينا واسبغ عليها من افضال العفو والعافية وجزاها الله عني الجزاء الاوفى ومتعها بنعمه يوم الجزاء العظيم . كما اتقدم بخالص شكري وتقديري لعائلتي وولدي لصبرهم الطويل معي واشكر

د . نيبال لمساعدتها لي طوال فترة العمل . . . . كما اتقدم بالشكر الجزيل الى الاستاذ المدرس المساعد صلاح حسن الفتلاوي على حسن دعمه ومساعدته في كل خطوات اعداد الرسالة .

كن عالما . . فإن لم تستطع فكن متعلما، فإن لم تستطع فأحب العلماء، فإن لم تستطع، فلا تبغضهم

الباحثة

إقــــــرار المشرف على الرسالة

نشهد أن إعداد هذه الرسالة الموسومة : (دراسة جزيئية وكيميائية لمقارنة بعض أنواع جنس *Galium* L. من العائلة الفوية Rubiaceae في العراق) قد جرى تحت إشرافنا في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة كربلاء وهي جزءٌ من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة / علم النبات

التوقيع:

الاسم : د. بلقيس هادي هاشم

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: كلية العلوم - جامعة كربلاء

التاريخ : / / 2024

توصية رئيس قسم علوم الحياة

إشارة إلى التوصية أعلاه من قبل الأستاذ المشرف ، أحيل هذه الرسالة إلى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها .

التوقيع:

الاسم : أ.د. نصير مرزا حمزة

المرتبة العلمية : أستاذ

العنوان : كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء

التاريخ : / / 2024

إقرار المقوم اللغوي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة بـ **دراسة جزيئية وكيميائية لمقارنة بعض أنواع جنس *Galium* L. من العائلة الفوية Rubiaceae في العراق**

تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع:

الاسم : د. علي محمد ياسين أحمد

المرتبة العلمية: استاذ

مكان العمل : جامعة كربلاء / كلية العلوم الاسلامية

التأريخ: / /2024

إقرار لجنة المناقشة

نحن أعضاء لجنة المناقشة الموقعون ادناه نشهد باننا قد اطلعنا على الرسالة الموسومة بعنوان (دراسة جزيئية وكيميائية لمقارنة بعض أنواع جنس *Galium* L. من العائلة الفوية Rubiaceae في العراق). المقدمة من قبل الطالبة (ربيعة سلمان حميد خضر) كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء ، وبعد اجراء المناقشة العلمية وجد انها مستوفية لمتطلبات الشهادة وعليه نوصي بقبول الرسالة بتقدير (جيد جداً).

رئيس اللجنة المناقشة

التوقيع :

الاسم: د. ماجد خليف كمر

المرتبة العلمية: أستاذ

مكان العمل: جامعة كربلاء/ كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 5/6/ 2024

عضو اللجنة المناقشة

التوقيع :

الاسم: د. نوفل حسين خضير

المرتبة العلمية : أستاذ

مكان العمل: جامعة الكوفة / كلية العلوم

التاريخ : 5/6/ 2024

عضو اللجنة المناقشة

التوقيع :

الاسم: د. فاطمة كريم خضير

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

مكان العمل: جامعة كربلاء/ كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ : 5/6/ 2024

عضو اللجنة المناقشة مشرفا

التوقيع :

الاسم: د. بلقيس هادي هاشم

المرتبة العلمية : أستاذ

مكان العمل: جامعة كربلاء / كلية العلوم

التاريخ : 5/6/ 2024

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

أصادق على ماجاء بقرار اللجنة اعلاه

التوقيع:

العميد : د.حميدة عيدان سلمان

المرتبة العلمية: استاذ

التاريخ : 23/6/ 2024

الخلاصة

البحث الحالي هو دراسة جزيئية وكيميائية مقارنة لـ 5 انواع عائدة لجنس *Galium L.* من العائلة الفوية Rubiaceae والنامية برّياً في العراق، وهي ***G.** spurium L.* و *G. setaceum* L. و *G.* Dandy *tricornatum* و *G. ceratopodum Boiss.* و*G.aparine* باستعمال مؤشرات DNA (DNA Markers) المعتمدة على تفاعلات البلمرة المتسلسلة PCR) Polymerase Chain Reaction) وهي مؤشرات التفاعل التضاعفي العشوائي المتعدد الأشكال لسلسلة DNA (RAPDs) Random Amplified Polymorphic DNA. تمت الدراسة الحالية في مختبر الامين التابع للعتبة العلوية المقدسة محافظة النجف الاشرف- العراق من شباط 2023 ولغاية حزيران 2023.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية باستعمال مؤشرات RAPD التباين بين الأنماط الجينية المدروسة عن طريق وجود حزم أحادية ومتعددة الأشكال وفريدة من نوعها أعطيت بعض البادئات بصمة فريدة لبعض الانواع لنبات ال *Galium L.*

تم اختيار 8من البوادئ العشوائية التابعة للRAPD وISRR الا ان 3 من البوادئ لم تعطي اي نتيجة وهي BH10 , BH11 , BH14 في حين أظهرت ال5 بوادئ نواتج تضاعف متباينة بين الانواع النباتية المدروسة إذ بلغت عدد الحزم المتباينة 54 حزمة من أصل 67 حزمة رئيسة وتم الحصول على أعلى عدد من الحزم المتضاعفة وهي 209 حزمة التي تم الحصول عليها عبر جميع جينومات التراكيب الوراثية من قبل البادئ OPL-05 وأقل عدد

تم اختيار 5 من البوادئ العشوائية التابعة لمؤشرات RAPD التي أظهرت نواتج تضاعف متباينة بين الانواع النباتية المدروسة إذ بلغت عدد الحزم المتباينة 65 حزمة من أصل 67 حزمة رئيسة وتم الحصول على أعلى عدد من الحزم المتضاعفة هي 28 من اصل 120 حزمة التي تم الحصول عليها عبر جميع جينومات الانواع النباتية من قبل البادئ OPC14 وأقل عدد من الحزم المتضاعفة 20 حزمة من قبل البادئ OPC8 وتم الحصول على أعلى عدد من الحزم الرئيسة 71 حزمة من قبل البادئ OPC14 وأقل عدد من الحزم الرئيسة 8 حزمة من قبل البادئ OPC8 .

كشف التحليل التجميعي عن توزع الأنواع النباتية المدروسة إلى مجموعتين وراثيتين: الأولى تضم *G. spurium* و*G. setaceum*، والثانية تضم *G. ceratopodum* و *G. Tricornatum* و*G. aparine*. أظهر التحليل أن مؤشرات RAPD فعالة في التمييز بين تراكيب نبات *Galium L.*

والكشـف عـن العلاقـات الوراثيـة بينهـا. كمـا تناولـت الدراسـة المحتـوى الكيميـائي للمسـتخلص الإيثـانولي لأوراق Galium وحـددت المركبـات بواسـطة تقنيـة GC–MS، وكشـفت عـن مركبـات ناتجـة عـن الأيـض الثـانوي لهـا دور علاجـي ودفـاعي، ممـا يسـاعد فـي التمييـز التصـنيفي بـين الأنـواع المدروسـة.

قائمة المحتويات

الصفحة	العنوان	التسلسل
I	الخلاصة	
III	المحتويات	
VII	قائمة الجداول	
VIII	قائمة الاشكال الصور	
IX	قائمة الملاحق	
X	قائمة المختصرات	
	الفصل الأول **المقدمة**	
1	Introduction المقدمة	1
	الفصل الثاني **استعراض المراجع**	
3	Rubiaceae العائلة الفوية	1-1-2
4	Taxonomic State of the Family الوضع التصنيفي للعائلة Rubiaceae	2-1-2
8	وضع العائلة الفوية في العراق Taxonomic State of the Family Rubiaceae in Iraq	3-1-2
11	صفات الجنس Galium والوضع التصنيفي له في العراق Genus Characteristics and Taxonomic State in Iraq	4-1-2
12	أصل الاسم اللاتيني للجنس Galium والأسماء الشائعة The Origion Name of the Genus Galium and Common	5-1-2

	Name	
13	المكونات الكيميائية والاستعمالات الطبية The Chemical Componentes and Medicinal Uses	6-1-2
14	Genetic Diversityالتنوع الوراثي	2-2
16	DNA DNA Markers مؤشرات	3-2
16	Molecular مؤشرات DNA المعتمدة على تقانة التهجين الجزيئي Hybridization Based DNA Markers	1-3-2
17	المؤشـرات المعتمدة على تقانـة التفاعـل التضـاعفي لسلسلة DNA Polymerase Chain Reaction (PCR) Based Techniques	2-3-2
18	التفـاعـل التضــاعفي المتعدد الأشكال لسلسلة DNA أو الـ RAPD) (RAPD) Randomly Amplified Polymorphic) DNA	1-2-3-2
20	تطبيقات تقنية الـ RAPD على نبات Galium Application of RAPD Technique on Galium	2-2-3-2
20	نباتات الدراسة	4-2
20	G. aparine	1-4-2
21	G. ceratopodum	2-4-2
22	G. setaceum	3-4-2
23	G. spurium	4-4-2
24	G. tricornatum	5-4-2
	الفصل الثالث المواد وطرائق العمل	
26	مخطط خطوات الدراسة	1-3
27	جمع العينات النباتية	2-3
28	اسماء ومختصرات التي درست عيناتها في الدراسة الحالية حسب Holmgren and Keuken و (Holmgren et al. (1990	3 -3

	((1964	
27	Materials المواد	4-3
28	Laboratory Equipments and الأجهزة والمعدات المختبرية Apparatus	1-4-3
28	Chemicals المواد الكيميائية	2-4-3
30	Methods طرق العمل	5-3
30	الدراسة الجزيئية	1-5-3
39	dendrogram شجرة العلاقة الوراثية	1-1-5-3
40	Chemical Study الدراسة الكيميائية	2 -5-3
40	تحضير المستخلص الايثانولي	1-2-5-3
41	فصل وتشخيص المركبات الكيميائية بتقنية GC-MS	2-2-5-3
42	تشخيص المركبات الكيميائية الخام	3-2-5-3
الفصل الرابع النتائج والمناقشة		
43	Molecular Study الدراسة الجزيئية	1-4
43	Genomic DNA Isolation عزل الحامض النووي	1-1-4
43	نتائج تضاعف DNA المعتمد على مؤشرات RAPD	2-1-4
51	تحليل نتائج الـRAPD	3-1-4
54	شجرة العلاقة الوراثية	4-1-4
57	Chemical study الدراسة الكيميائية	2-4
	الاستنتاجات والتوصيات	
127	الاستنتاجات	
128	التوصيات	

129	المصادر	
144	الملاحق	
XI	الخلاصة باللغة الإنكليزية	

قائمة المختصرات

Terms	Abbreviation
المعشب الوطني	BAG
معشب كلية الزراعة / جامعة بغداد	BUA
معشب كلية العلوم / جامعة بغداد	BUH
معشب كلية التربية للعلوم الصرفة (ابن الهيثم) / جامعة بغداد	BUE
معشب متحف التاريخ الطبيعي	BUNH

الفصل الاول

المقدمة

Introduction

المقدمة

منذ فجر الحياة، كان البشر يبحثون عن الحقيقة والفهم، ويجمعون المعرفة حول محيطهم والعوامل المؤثرة على وجودهم. لقد سبق إنشاء النباتات على الأرض إنشاء البشر والحيوانات، حيث تعمل النباتات كمصدر أساسي للعيش لجميع الكائنات الحية، وهي ضرورية للحياة نفسها (Chaabani, 2015).

يسعى علم التصنيف Taxonomy الى محاولة التوصل الى طريقة لوضع النباتات في مجاميع استنادا الى اوجه التشابه والارتباطات الوراثية التي تجمع بينها لتسهيل دراستها (Mali *et al*., 2023). استمر علم التصنيف بالتطور وشمل صفات تعتمد تركيب النبات التشريحي والخلوي والكيميائي كأساس وهذا ما هو متداول حالياً باستعمال تقنيات حديثة للنباتات السائدة على كوكبنا والمعروفة بالنباتات البذرية التي يصل عددها إلى 350.000 نوع (Suranto, 2000). اذ أصبح هذا العلم معتمداً على مجموعة من الأدلة بعد أن كان يعتمد على الصفات المظهرية فقط وأصبح علماً له مكانته وسبله وخصوصيته (van and Meijman, 2004).

اعتمدت الدراسات القديمة على الصفات المظهرية الخارجية Morphological characters في تشخيص النباتات وتسميتها وتصنيفها ،ومع التقدم في العلوم واستخدام التقنيات العلمية الحديثة بدأت الدراسات التصنيفية تنحى منحى جديد لتعتمد على الصفات الخلوية الدقيقة والتشريحية والمحتويات الكيمياوية ،لذلك ظهر التصنيف الخلوي Cytotaxonomy والتصنيف الكيمياوي Chemotaxonomy وباستخدام اجهزة حديثة والتي ساعدت على التقدم في هذا المجال كالمجهر الضوئي Light microscope والمجهر الالكتروني الماسح Scanning electron microscope (SEM) والمجهر الالكتروني النفاذ Transmission electron microscope (TEM) والذي اسهم وبشكل كبير بدراسة عضيات الخلية الدقيقة في تطوير دراسات علم التصنيف (Bordenave *et al*., 2023) . وفي نهاية القرن الماضي استخدمت تقنية تفاعل البوليمراز المتسلسل (Polymerase Chain Reaction (PCR التي أسهمت في معرفة المسار التطوري ودرجات القربى التي تربط بين الوحدات التصنيفية من خلال دراسة شريط الDNA ومعرفة تتابع القواعد النيتروجينية لتحديد صلات القربى فيما بينها ودراسة الجينات الواقعة عليها (Avise , 2012).

Rubiaceae هي عائلة نباتية متنوعة، وتحتل المرتبة الرابعة بين أكبر عائلة بين كاسيات البذور على مستوى العالم مع حوالي 660 جنسًا و 11500 نوعًا (Gao *et al*., 2023). في النباتات العراقية، تضم هذه العائلة 400 جنس و 700 نوع، بما في ذلك 40 نوعًا بريًا و 3 أنواع مزروعة مثل جاردينيا (Claude *et al*., 2023). تشتهر Rubiaceae بأهميتها الطبية والاقتصادية، وتشمل نباتات مثل القهوة العربية، مصدر القهوة، وجاردينيا فلوريدا، وهي من أنواع الزينة (Huang *et al*., 2023). بالإضافة إلى ذلك، تعتبر Cinchona officinalis من هذه العائلة أمرًا حيويًا للأغراض الطبية، حيث توفر الكينين لعلاج الملاريا (Kieu et al.,

2022). تختلف طبيعة نباتات Rubiaceae من الأشجار إلى الشجيرات والأعشاب والمتسلقين، مما يُظهر التنوع النباتي للعائلة وأهميتها في مختلف المجالات..

نبات *Galium* L. يعد أحد أجنـــــاس هذه العائلـة الـــــذي يضـم 400 نوعٍ مـــعـــــروف من النبـاتات في المناطـق المعتدلة مــن نصفي الكرة الأرضـــــية الشمالـــــي والجنوبي (Bradic *et al*., 2021).

يهدف البحث الحالي إلى دراسة الجنس *Galium* دراسة تصنيفية مقارنة مؤكدين على الجوانب التصنيفية الرئيسة الآتية:

1- دراسة جزيئية مقارنة بين الانواع باستخدام المعلمات الوراثية عن طريق تحديد التوصيف الجزيئي لمؤشرات التضاعف العشوائي لسلسلة الدنا RAPD .

2- دراسة كيميائية مقارنة بين الانواع للمركبات الفعالة تصنيفيا بتقنية GC-MS

3-معاملة الأنواع تصنيفياً ووضع مفتاح تصنيفي للفصل بين الأنواع قيد الدراسة.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literature Review

إستعراض المراجـــــع

2-1-1 العائلة الفوية Rubiaceae

جـاءت تسـمية العائلــة Rubiaceae نسـبة إلــى الجـنس .*Rubia* L (الفـوة) وهـو ال Type لهـذه العائلـــة ، وتســمى أيضـــــاً بعائلـــة القهـــوة (Simpson, 2010)، وصــــفـــــت العائـــــلـــــة مـــــن قـــبـــــل الـــعـــالــــم Antoine Laurent de Jusseiu 1787 (De Jusseiu, 1787).

تعــود العائلـــة الفويـــة Rubiaceae إلـــى الرتبـــة Gentianales مـــن صـــف ثنائيـــة الفلقـــة Diocts، والرتبـــة تضـــم 5 عـــائلات هـــي: Gelsemiaceae وApocynaceae و Rubiaceae و Loganiaceae وGentinaceae (Simpson, 2010) .

تعـد العائلــة الفويــة مــن العــائلات الكبيــرة التــي تضــم أكثــر مــن 2800 نوعــا، صــنفت عــن طريــق الأوراق المتقابلــة والبــتلات الملتحمــة والأســدية المرتكــزة علــى التــويج والمتبادلــة مــع البــتلات والمبــيض المـنخفض (Johns, 1911)، أمــا (1962) Benson فقـد أشــار بــأن العائلــة الفويــة واحــدة مــن أكبــر العــائلات التــي توجـد فــي المنــاطق الاسـتوائية وشـبه الاسـتوائية التــي تضــم 4500 جـنس، والجـنس *Galium* هـو الجـنس الأكبـر فـي شـمال أمريكـا والـذي يضـم 30 نوعــاً، وذكـر (1967) Porter بـأن العائلــة تضـم حـوالي 400 جـنس و7000 نـوع تكـون غالبـاً فـي المنــاطق الاسـتوائية ولكـن بعـض الأفـراد تمتـد إلـى المنـاطق المعتدلـة، أمـا (1973) Willis فقد بـين بـأن العائلــة الفويـة تعـود إلـى ذوات الفلقتـين والتـي تضـم 500 جـنس و6000 نـوع، أغلـب أجناسـها اسـتوائية ولكـن عـددا مـن أنـواع قبيلـة Rubieae تكـون معتدلـة، أمـا (1985) Daoud فـي فلـورا دولـة الكويـت فقد ذكـر بـأن العائلـة الفويـة تضم 500 جـنس و6000 نـوع تنتشـر فـي المنـاطق الاسـتوائية وشـبه الاسـتوائية، وبحسـب (2010) Simpson فـأن العائلـة تشمل من 563-611 جنسا و 10.900-13.150 نوعا.

وتتميــز العائلـــة Rubiaceae بـــأن أوراقهـــا متقابلـــة Opposite، بســيطة Simple، ملســـاء الحافـــة Entire، لهــا اذينــات Stipules طليقــة أو ملتحمــة وقـد تختـزل إلــى غـدد أو تتسـع وتصـبح ورقيـة الشـكل فيصـعب تمييزهـا عـن الأوراق الخضـرية حتـى مـن حيث الحجـم كمـا فـي نبـات اللـزيج *Galium*، لـذا يبـدو ترتيـب الأوراق كأنــه سـواري Whorled، أمـا الأزهـار فهـي ثنائيـة الجـنس Bisexual، شـعاعية التنـاظر Actinomorphic، الكـأس Calyx ملـتحم السـبلات Gamosepalous او مختـزل أو مفقـود، والتـويج

Corolla ملتحم البتلات Gamopetalous، الأسدية Stamens بقدر فصوص التويج وارتكازها تويجي Epipetalous، المدقة Pistil من كربلتين أو اكثر، المبيض منخفض Inferior، التمشيم محوري Axial أو قاعدي Basal، النورة محدودة Cymos أو عنقودية مركبة Compound raceme أو رأسية Capitulum أو أنها انفرادية Solitary، الثمرة علبة Capsule متفتحة أو غير متفتحة أومنشقة Schizocarp تنفصل عند النضج إلى قطع احادية البذرة Mericarps كما في نبات اللزيج *Galium* أو تكون الثمرة لبية Berry كما في القهوة (الكاتب، 1988).

2-1-2 الوضع التصنيفي للعائلة Taxonomic State of the Family Rubiaceae

صنفت العائلة حسب تقسيم Linnaeus (1753) ضمن الفئة Monogynia Tetraandria (رباعية الأسدية احادية المدقة)، اذ ذكر فيها عدة أجناس منها:

1- *Sherardia* L. يضم 3 أنواع

2- *Asperula* L. يضم 6 أنواع

3- *Galium* يضم 20 نوعاً

4- *Ixora* L. يضم نوعين

5- *Crucianella* L. يضم 4 أنواع

6- *Rubia* يضم نوعين

وصنف Bentham and Hooker (1873) العائلة على ثلاث سلاسل Series وهي:

1- Series A

البويضات في غرف متعددة، وتضم 10 قبائل Tribes وهي: Naucleeae و Cinchoneae و Mussaendeae و Condaminieae و Rondeletieae و Hedyotideae و Henriquezieae و Catesbaeeae و Gardenieae و Hamelieae .

2- Series B

البويضات في غرف مزدوجة، وتضم قبليتين هما: Cruckshanksieae وRetiniphylleae .

3- Series C

البويضات في غرف مفردة، وتضم 13 قبيلة وهي: GuettardeaeوKnoxieaeوChiococceae و AlbertieaeوVanguerieae وIxoreae وMorindeae وCoussareeae وPsychotrieae و Paederieaeو Anthospermeae وSpermacoceae وGalieae ويعود الجنس *Galium* إلى السلسلة C ضمن القبيلة Galieae.

أمـا Boissier (1875) فقـد قـام بوضـع العائلـة ضـمن الرتبـة Rubiaceae Order التـي قسـمت بدورها على رتبتين ثانويتين Suborder هما:

1- Suborder: Capsulares

الثمرة فيها علبة Capsule ، وتضم جنسين.

2- Suborder: Stellatae

الثمـرة فيهـا لبيـة Berry نـادرا وغالبـا بندقـة Nut، وتضـم 10 أجنـاس، مـن ضـمنها الجـنس *Galium*.

إن نظـام التصـنيف الكلاسـيكي للعائلـة Rubiaceae تضـمن اثنـين مـن العـويئلات Subfamilie، وهـي Cinchonoideae التـي تميـزت بوجـود أكثـر مـن بويضـة واحـدة فـي كـل غرفـة مـن غـرف المبـيض، وعويئلة Coffeoideae التي تتميز بوجود بويضة واحدة في كل غرفة (Schuman, 1891).

بـين Muschler (1912) ضـمن الفلـورا المصـرية أن العائلـة تقـع ضـمن الرتبـة Rubiales التـي تضم 7 أجناس وهي:.

1- *Oldenlandia* Plum يضم 3 أنواع

2- *Gallonia* A. Rich يضم نوعاً واحداً

3- *Rubia* يضم نوعاً واحداً

4- *Callipeltis* Stev. يضم نوعاً واحداً

5- *Vaillantia* L. يضم نوعاً واحداً

6- *Galium* يضم 5 أنواع

7-*Crucianella* يضم 3 أنواع

وذكر Post (1932) في الفلورا السورية وفلسطين وسيناء بأن العائلة تضم 10 أجناس هي:

1- *Oldenlandia*: نباتات حولية ، أوراقها متقابلة، التويج دائري-عجلي والثمرة لبية.

2- *Putoria*: نباتات عشبية، أوراقها متقابلة، وأزهارها ذات تويج شبه قمعي.

3- *Rubia*: أعشاب معمرة أو شجيرات، أوراقها سوارية، التويج دائري والثمرة جافة.

4- *Callipeltis*: الأزهـار فـي نـورات محـددة Cymos ابطيـة الموقـع، ولكـل منهـا قنابـة غشـائية والثمرة جافة.

5- *Vaillantia*: ثمارها لها 3 قرون منحنية وقرن واحد قائم أو مهماز صغير.

6- *Mericarpaea* Boiss: الثمرة مركبة من 2-3 قطع ثمرية Mericarps.

7- *Galium*: التويج دائري أو أنبوبي قصير جداً، ويضم 45 نوع.

8- *Asperula*: التويج قمعي الشكل أو جرسي.

9- *Crucianella*: التويج قمعي الشكل، والقطع الثمرية متطاولة أو متطاولة شريطية.

10- *Sherardia* : التويج قمعي الشكل، والقطع الثمرية لها من 2-3 أسنان في القمة.

وذكـر(Parsa, 1943) فـي الفلـورا الإيرانيـة بـأن للعائلـة 11 جنسـا هـي: *Oldenlandia* و.L *Randia* و.*Aitchisonia* Hemsl و*Rubia* و*Gallonia* و*Sherardia* و*Galium* والـذي يضـم 34 نوعاً و*Asperula* و*Crucianella* و*Vaillantia* و*Callipeltis*

لكن Rechinger (2005) في الفلورا الإيرانية صنف العائلة الى ثلاث عائلات ثانوية وهي:

Subfamliy: Cinchonoideae -1

تضم جنساً واحدا هو: *Wendlandia*.

Subfamily: Ixoroideae -2

تضم جنسا واحداً وهو: *Himalrandia* Yamazaki

Subfamily: Rubioideae -3

تضم 18 جنسا.

وذكر (1964) Heywood في الفلورا الاوربية بأن العائلة تضم 9 أجناس هي: *Putoria* و*Crucianella* و*Sherardia* و*Rubia* و*Galium* الذي يضم 145 نوعا و*Asperula* و*Vaillantia* و*Callipeltis* و*Cruciata*. في حين أن (1978) Migahid وضح بأن للعائلة 8 أجناس في الفلورا السعودية وهي: *Crucianella* و*Callipeltis* و*Galium* ويضم نوعاً واحداً و*Vaillantia* و*Gallonia* و*Jaubertia* و*Oldenlandia* و*Kohautia*.

غير أن Batanouny(1981) ذكر جنسا واحدا للعائلة في قطر هو الجنس *Galium* والذي يضم نوعا واحدا وهو *G. tricornatum*.

ذكر (1982) Davis بأن للعائلة 10 أجناس في تركيا وهي *Oldenlandia* و*Putoria* و*Sherardia* و*Galium* الذي يضم 101 نوع (وقد أضاف Sik *et al.* (2016) نوعاً جديداً في تركيا وهو: *G. shinasii* Yildirim) و*Rubia* و*Asperula* و*Cruciata* و*Vaillantia* و*Crucianella* و*Callipetlis*.

بينما Chen *et al.*(2011) فقد أشاروا بأن العائلة تضم 97 جنسا في الصين من بينها الجنس *Galium* الذي ضم 63 نوعا. وخلال القرن العشرين تم تصنيف هذه العائلة على أربع عويئلات وفقا للصفات المورفولوجية فقط، وهذه العويئلات هي:Antirheoideae و Rubioideae و Ixoroideae وCinchonoideae (Robbercht, 1988)، وبدخول عالم الوراثة الجزيئية في مجال بحوث التصنيف فقد تم تصنيف العائلة Rubiaceae على ثلاث عويئلات رئيسة هي Cinchonoideae, Rubioideae, Ixoroideae (Bremer, 2009).

وفــي احــدث نظــام تصــنيفي Angiosperm Phylogeny Group (APG IV) وضــعت العائلــة Rubiaceae ضــمن الرتبــة Gentianales (Chase *et al.*, 2016)، وهــو الاصــدار الرابــع لنظــام تصــنيف يعتمــد علــى علــم الاحيــاء الجزيئيــة لتصــنيف النباتــات ولــه عــدة اصــدارات: APG I (1998)، APG II (2003)، APG III (2009).

3-1-2 العائلة الفوية في العراق

Taxonomic State of the Family Rubiaceae in Iraq

اشار Handle Mazzetti (1910) أن العائلة الفوية تضم 9 أجناس وهي

1- *Galium* يضم 9 أنواع

2- *Rubia* يضم نوعين

3- *Callipeltis* يضم نوعين

4- *Vaillantia* يضم نوعاً واحداً

5- *Asperula* يضم 6 أنواع

6- *Crucianella* يضم 3 أنواع

7- *Gallonia* يضم نوعاً واحداً

8- *Putoria* يضم نوعاً واحداً

9- *Wendlandia* يضم نوعاً واحداً

أما (Nabelek , 1923) فقد أشار بأن العائلة تضم 9 أجناس و هي:

1- *Wendlandia* Bartl.ex DC. يضم نوعين

2- *Putoria* Pres. يضم نوعاً واحداً

3- *Sherardia* يضم نوعاً واحداً

4- *Crucianella* يضم 3 أنواع

5- *Asperula* يضم 9 أنواع

6- *Vaillantia* يضم نوعاً واحداً

7- *Callipeltis* يضم 3 أنواع

8- *Galium* يضم 18 نوعاً

9- Rubia يضم 3 أنواع

بينما أوضح Zohary (1946) بأن للعائلة 11 جنساً في العراق هي:

1- *Gallonia* يضم نوعاً واحداً

2- *Putoria* يضم نوعاً واحداً

3- *Rubia* يضم نوعين

4- *Sherardia* يضم نوعاً واحداً

5- *Crucianella* يضم 3 أنواع

6- *Asperula* يضم 7 أنواع

7- *Galium* يضم 15 نوعاً

8- *Vaillantia* يضم نوعاً واحداً

9- *Callipeltis* يضم نوعين

10- Mericarpaea يضم نوعاً واحد

11- *Wendlandia* يضم نوعا واحدا

وبين (Rechinger ,1964) بأن العائلة تضم 8 أجناس تنتشر في المناطق الواطئة من العراق وهي: *Gallonia* يضم نوعين

1- *Galium* يضم 9 أنواع

2- *Cruciata* يضم نوع واحد

3- *Asperula* يضم نوع واحد

4- *Sherardia* يضم نوع واحد

5- *Rubia* يضم نوعين

6- *Crucianella* يضم نوعين

7- *Callipeltis* يضم 3 أنواع

أمـا الـراوي (1988) فقـد أشـار بـأن للعائلـة 11 جنسـاً، فيمـا أوضـح Townsend and Guest (1980) بأن العائلة تضم 12 جنساً في العراق وهي:

1- *Wendlandia* يضم نوع واحد

2- *Vaillantia* يضم نوع واحد

3- *Galium* يضم 23 نوع

4- *Putoria* يضم نوع واحد

5- *Rubia* يضم نوعين

6- *Callipeltis* يضم 3 أنواع

7- *Cruciata* يضم 3 أنواع

8- *Sherardia* يضم نوع واحد

9- *Neogaillonia* Linch. يضم نوعين

10- *Mericarpaea* يضم نوع واحد

11- *Crucianelal* يضم 8 أنواع

12- *Asperula* يضم 12 نوع

فضلاً عن الجنس *Neogallonia* الذي لم يرد ذكره في قائمة الراوي.

واشار المياح واخرون (2016) بأن العائلة الفوية تضم ثلاثة أجناس عثر عليها في أقضية ونواحي محافظة البصرة وهي *Gardenia* و*Crucianella* و*Galium* الذي يضم 3 أنواع.

2-1-4 صفات الجنس *Galium* والوضع التصنيفي له في العراق

Genus Characteristics and Taxonomic State in Iraq

يعد الجنس *Galium* من الأجناس العائدة للعائلة الفوية الذي يضم 400 نوعا معروفا من النباتات في المناطق المعتدلة من نصفي الكرة الأرضية الشمالي والجنوبي (Townsend and Guest, 1980). يمتلك صفات مظهرية: مثل سيقانه مربعة Quadrangular، أوراقه متقابلة Opposite، أزهاره تامة Perfect، علوية الأجزاء Epigynous، الكأس صغير جداً أو مفقود، التويج ملتحم البتلات Gamopetalous غالباً من 4 قطع (عجلي أو قمعي) ، ألوانه أبيض شاحب-أصفر براق أو أخضر مصفر أو وردي أو بني محمر غامق، الأسدية (4) ، المبيض منخفض Inferior ثنائي الغرفة، الثمرة منشقة Schizocarp ثنائية البذرة (Townsend and Guest, 1980).

وذكر الرواي (1988) الأنواع التابعة للجنس في العراق وعددها 17 نوعاً وهي:

1- *G. aparine* L.

2- *G.adhaerens* Boiss. et Bal.

3- *G. articulatum* (L.) R. et S.

4- *G. canum* Reqi.

5- *G. ceratopodum* Boiss.

6- *G. coronatum* Sibth et Sm.

7- *G. decaisnei* Boiss

8- *G. kurdicum* Boiss. et Hoh

9- *G. leiophyllum* Boiss. et Hoh

10- *G. mite* Boiss. et Hoh

11- *G. murale* All

12- *G. nigricans* Boiss

13- *G. setaceum* Lam

14- *G. spurium* L.

15- *G. tricorne* Stokes (*G. aparine* L.)

16- *G. verticillatum* Danth

17- *G. verum* L.

أما Townsend and Guest (1980) فقد بينا أن للجنس *Galium* 23 نوعاً في العراق.

2-1-5 أصل الاسم اللاتيني للجنس *Galium* والأسماء الشائعة

The Origion Name of the Genus *Galium* and Common Name

جاءت تسمية الجنس *Galium* من الكلمة الاغريقية Gala أي الحليب، وسمي بهذا الاسم لكون أحد أنواعه وهو النوع *G. verum* يستعمل في صناعة الجبن (Townsend and Guest, 1980).

وبحسب ماقيل في بعض الاساطير فأن النوع *G. verum* (الغاليون الأصفر) بأنه كان على السرير المصنوع من الأعشاب البرية التي كانت تنام عليه السيدة مريم يوجد غصن من الغاليون الأصفر، ومن هنا جاءت التسمية لهذا النبات Lady's Bedstraw (قش سرير السيدة)، وهناك تسميات فرنسية لهذا النبات استلهمت من خصائصه: فهو يسمى (مختثر اللبن) لأنه يخثر الحليب كما يخثر الدم، ويسمى أيضاً (الغاليون الأصفر) تيمناً بعناقيد الأزهار المنتصبة (قبيسي، 2010).

أما النوع *G. aparine* (اللصيقي) فأسمه مشتق من قدرته على الالتصاق اذ يدعى Cleavers، ونجد في كتابات ديوسقوريدس وصفاً للطريقة التي كان يستعمل فيها الرعيان سيقانه المحزومة لتصفية الحليب (قبيسي، 2010)، وذكر ابن البيطار بأنه يسمى بحشيشة الأفعى، أما أسماءه في اللغة الانكليزية Bedstraw و Goose grass (Townsend and Guset, 1980)).

2-1-6 المكونات الكيميائية والاستعمالات الطبية

The Chemical Componentes and Medicinal Uses

لبعض أنواع الجنس أهمية اقتصادية وخواص علاجية لما تحتويه من مواد كيميائية ذات فعالية طبية، وأنواع هذا الجنس من النباتات الواقعة في قائمة السيطرة البايولوجية لاسيما النوع *G. aparine* الذي يقع ضمن برنامج السيطرة على أدغال المحاصيل الاوروبية (Rancic and Petanovic, 2002)، ويحتوي النوع *G. aparine* على عناصر فعالة متمثلة بالكلايكوسيدات، ويعد شافياً للجروح وفاتحاً للشهية ومدراً للبول ومضاداً للالتهاب (لامبولاي، 1998).

كما ينشط الدورة الدموية ويسهم في إيقاف النزيف وتستعمل ثماره في إعداد نوع من القهوة (قبيسي، 2010)، وكذلك يعد النوع *G. aparine* مبرداً للجسم ويحوي مادة Asperuloside التي استخلصت منه وحقنت داخل أجسام الكلاب وأدت إلى خفض الضغط الشرياني إلى 50% دون تباطؤ في النبض (Chakravarty, 1976).

وبين شوفاليه (2010) بأن النوع *G. aparine* يحوي ايرودويدات واحماض متعددة الفينوليك وانثراكينونات والكانات وفلافونيات وغالباً ما يستعمل لعلاج الأمراض الجلدية مثل الاكزيما والصداف ولتورم الغدد اللمفية، كما وضح Al-Snafi (2018) بأن مستخلص النوع *G.aparine* احتوى على Phenols وTannins وSaponins وAlkanes وFlavonoids وCoumarins وAlkaloids وasperuioside وIridoids وAnthraquinones، واثبتت الدراسات السابقة بأن النوع امتلك مضادات بكتيرية ومضادات للسرطان وله تأثيرات في حماية الكبدبينما وضح كل من Townsend and Guest (1980) وWhitson(1991) بأن النوع *G. verum* يستعمل في صناعة الجبن وأيضا مدرا للبول ومضادا للإسهال ومدرا للصفراء ومهدئا في الطب الشعبي، كما يستعمل النوع لعلاج حصى الكلى والمثانة وله شهرة قديمة العهد في فرنسا بكونه علاجاً قيماً للصرع (شوفاليه، 2010)، وقد شخصت بعض المركبات من الأجزاء الهوائية للنوع *G. verum* مثل Iridoids و Flavonoids وMonoterpene Glycosides (Demirezer *et al*., 2006)، وقد أوضح Roman and Puica (2013) بأن مستخلص *G. verum* يحدث تحورات مهمة في تحفيز النشاط في كل من الغدة الدرقية والمبيض في الفئران، أما Lakic *et al.* (2010) فقد أشار بأن النوع *G. verum* يعد من مضادات الأكسدة Antioxdiant، كما تستعمل جذوره في الصباغ باللون الأحمر

وأيضاً يستعمل في علاج أزمات التشنج (قبيسي، 2010)، كما أن Al-Snafi (2018) بيّن من خلال التحليل الكيميائي احتواء النوع *G.verum* على Flavonids وCarbohydrates وOils و Iridoid glycosides وAmino acids وPhenolics، كما وضحت الدراسات السابقة بأن النوع يمتلك مضادات للاكسدة ومضادات بكتيرية وله تأثيرات في حماية الغدد الصماء.

وأشار Ilyina *et al.* (2016) بأن الأنواع *G. aparine* و*G. verum* و*G. spurium* و *G. verticillatum* تحتوي على Hyperoside أما النوعين *G. verticillatum* و*G. verum* فيحتويان على Luteolin-7-O arabino-glucoside.

كما وجد Vlase *et al.* (2014) بأن هناك فعالية مضادة للأكسدة وأيضاً مضاد للبكتيريا لأربعة أنواع تابعة للجنس *Galium* وهي *G. verum* و*G. mollugo* و*G. aparine* و*G. odoratum*.

ودرس Jan *et al.* (2009) فعالية مضادة للفطريات ومضادة للبكتيريا لمستخلص النوع *G. tricornatum*، إذ استعمل المستخلص لعلاج العدوى البكتيرية للجلد لكن Friscic *et al.* (2018) وضح من خلال دراسته لثمانية أنواع تابعة للجنس *Galium* في كرواتيا احتواء الانواع المدروسة على Phenolics وFlavonoids وIridoids فضلاً عن الفعالية المضادة للاكسدة.

2-2 التنوع الوراثي Genetic Diversity

يقصد بالتنوع الوراثي كافة الاختلافات الموجودة بين الافراد أو التجمعات التابعة لنوع معين، استجابة لكل المتغيرات التي تحدث أما بتاثير القوى التطورية Evolutionary forces أو نتيجة لعمليات التربية والذي يؤدي إلى تنوع حيوي Biodiversity متكافئ للحفاظ على ثبوتية النظام البيئي (Karp *et al.*, 1997).

ان التغايرات بين الأنواع النباتية قد تحدث طبيعياً بمعزل عن الجهد البشري، وعن طريق الطفرات التلقائية والتكاثر الجنسي والهجرة Migration and gene flow والانحراف الوراثي genetic drift والانتخاب Selection، وقد تحدث التغايرات بين الأنواع النباتية بتدخل من قبل الإنسان، لتحسين نوعية وكمية الإنتاج أو زيادة التحمل للظروف البيئية غير الملائمة ، ومقاومة الأمراض، والآفات، وهذا يحدث أما بالطرق التقليدية مثل التهجين بين أنواع معينة أو من التطفير الصناعي Artificial Mutation لايجاد تراكيب وراثية جديدة، وباكتشاف الانزيمات القاطعة والتطوير السريع في مجالات الهندسة الوراثية ،وسقوط الحواجز بين الأنواع اصبح بالامكان الحصول على اعداد لامتناهية من التراكيب الوراثية الجديدة، بالاعتماد على الاساليب الحديثة للتقانة

الحيوية Biotechnology عملية نقل الجينات واستعملت تقنية زراعة الانسجة، لتنمية النباتات وفقا للظروف المسيطر عليها، وربطها بالهندسة الوراثية لانتاج نباتات بالصفات المرغوبة. وبهذا ازدادت مصادر التنوع الوراثي للنباتات ومن ثم ازدادت اعداد المصادر الوراثية للنبات. لذا تم وضع الخطط لجمع تلك المصادر، لاغلب النباتات المهمة اقتصادياً ،وحتى نباتات الادغال للاستفادة من تلك المصادر لاجراء الدراسات اللازمة عليها (Powell *et al.*, 1995). ويمكن دراسة التنوع الوراثي على مستويات عديدة وهي بين الأنواع Interspecies أو بين الافراد التابعة للنوع الواحد اي ضمن الأنواع Intraspecies، فالتنوع الوراثي بين الأنواع مهم في الدراسات التصنيفية ومعرفة طبيعة القرابة العائلية consanguinity بين أنواع الجنس الواحد، أو مدى الاختلاف بينه وبين غيره من الأنواع لما له من جوانب تطبيقية مهمة خاصة في حفظ تلك الأنواع وفي عمليات تنقية البذور باستبعاد البذور التي لا تتطابق مع البذور الاصلية، ولحفظ حقوق مربي النبات عند اكتشافه لصنف جديد، كما ان معرفة هوية النوع مفيدة لاجراء الدراسات التطويرية والبيئية عليها فضلاً عن اهميتها في تجارب التهجين (Henry, 1997).

أما دراسة التنوع الوراثي ضمن الأنواع اي الأصناف التابعة للنوع الواحد فهي مهمة لتحديد هوية الصنف وتقدير القرب أو البعد الوراثي بين الأصناف لاهميته في برامج التربية من الاختيار الانسب للآباء التي تحمل الصفات المرغوبة (Jackson, 1997)، ولدراسة التنوع الوراثي بين الافراد أو المجاميع السكانية (populations) التابعة للنوع الواحد ، ذلك يعتمد عادة على الطرق التي تستعمل المؤشرات (Markers) و تختلف فيما بينها من جانب، وبين طبيعة الافراد المدروسة من جانب آخر، ويمكن تعريف المؤشر Marker بانه التقنية والتقانة Technology and Technique التي يتم فيها الاستدلال على وجود موقع معين على الكروموسوم أو الجينوم ما يساعد في دراسة توارث صفة معينة أو جين معين ،فالجينات القريبة جداً من المؤشر تتوارث معاً، وهذه المؤشرات أما ان تكون مظهرية Morphological قابلة للكشف بالعين المجردة أو ان تكون جزيئية Molecular المتناظرات الانزيمية Isozyme ومؤشرات DNA (Giovanonni *et al.*, 1992). ومن المتطلبات التي يجب توافرها في كل المؤشرات الوراثية انها يجب ان تكون متوارثة heritable ولها القدرة على التمييز بين الافراد المدروسة، وتعطي نتائج قابلة للمقارنة، وفي نفس الوقت سهلة القياس والتطوير (Hillis and Mortiz, 2011).

تعد البصمة الوراثية في مجال النبات تعد أداة مهمة في علم الوراثة النباتية لتحديد وتوصيف التباين الجيني بين النباتات. تُستخدم تقنيات البصمة الوراثية للكشف عن الأنماط الجينية المختلفة، مما

يساعد في تحسين فهم العلاقات الوراثية، التوزيع الجغرافي، وتاريخ التطور النباتي (Roewer., 2013) .

3-2 مؤشرات DNA DNA Markers

لقد اقترن التطور السريع في مجال علم البايولوجي الجزيئي بظهور نوع جديد من المؤشرات الوراثية سميت بمؤشرات DNA Markers DNA ويمكن ان تعرف بانها تتابعات من DNA يمكن الاستدلال منها على موقع معين على الكروموسوم أو الجينوم (Zaid *et al.,* 1999) وتتميز بقدرتها على اظهار التباين في توارث التتابعات المتماثلة للدنا بين الافراد، وهذه التباينات تكون ناتجة أما من الحذف deletion أو الاضافة Insertion أو اعادة الترتيب rearrangement للنيوكليوتيدات في جينوم الافراد المدروسة لاي سبب كان مثل الطفرات لذلك اعتمدت في دراسة العلاقة الوراثية بين الافراد (Paterson *et al.,* 1994) وتحديد البصمة الوراثية DNA fingerprinting وفي بناء الخرائط الوراثية Genetic maps (Botestein *et al.,* 1980)، و اصبحت من الادوات المهمة لدراسة التنوع الوراثي اذ تعد الخيار الذي لا بديل له في تطوير الخطط الملائمة في حفظ الأنواع (Berloo, 2000).

تتميز هذه المؤشرات بعدم تاثرها بنوع النسيج أو المرحلة التطورية للنسيج والكشف عن اعداد كبيرة من التباينات ما جعلها قادرة على ايجاد اي اختلاف مهما كان طفيفاً وبين اقرب الافراد، فضلا عن قدرتها على تتبع التغيرات الوراثية عبر الاجيال ،لكونها تستند على قوانين مندل في التوارث (Staub *et al.,* 2010)؛ لذلك فقد تعددت مجالات تطبيقاتها ولعل من اهم هذه المجالات هو حساب مستوى التباين بين افراد الصنف الواحد وتشخيص حالة heterozygosity ومعدل حصول التلقيح الذاتي Selfing وانتخاب النباتات التي تحمل الصفات المرغوبة بعد عمليات التربية والتهجين ونقل الجينات ضمن حقل جديد يطلق عليه الانتخاب المعتمد على المؤشرات (MAS) (Masojc, 2002). وقد تم تصنيف هذه المؤشرات إلى نوعين اساسيين اعتماداً على نوع التقانة المستعملة في الكشف عنها وهي:

1-3-2 مؤشرات DNA المعتمدة على تقانة التهجين الجزيئي Molecular Hybridization Based DNA Markers

وهذه المؤشرات تشمل تباين اطوال مقاطع التقييد أو الـ (RFLP) والتي تعتمد اساساً على عملية التهجين الجزيئي للدنا المهضوم، والمثبت على اغشية خاصة مع مجس probe مناسب والذي يتكون

مـن جـزء مكلـون مـن الجينـوم أو cDNA و يـتم الكشـف عـن منـاطق الارتبـاط التـي تكـون حسـب مـادة التعلـيم. ان منهجيــة الــ RFLP تعتمــد علــى الاخــتلاف فــي طــرز التقطيــع الــذي يحــدث بســبب طفــرة نيوكليوتيــدة واحــدة فــي موقــع القطــع أو بواســطة القطــع المضــافة Insertion أو المحذوفــة Deletion أو المستبدلة Substitution عند تلك المواقع ما يؤدي إلى تباين اطوال القطع الناتجة .

وتتميـز هـذه التقانـة بكـون مؤشـراتها مـن نـوع السـيادة المشـتركة Co-dominant ،وتقـع ضـمن قـوانين منـدل لتـوارث الصـفات ،اذ يمكـن متابعـة انتقـال القطـع إلـى الاجيـال اللاحقـة اذ لهـا القـدرة علـى تمييـز الالـيلات المتماثلـة Homozygous عـن الالـيلات المتباينـة Heterozygous وتتميـز هـذه التقانـة بقـدرتها علـى تحديـد نسـخة مفـردة مـن DNA وكشـفها، ولهـذا تضـمنت الدقـة فـي تحليلاتهـا، ولا تحتـاج إلـى معرفـة مسـبقة بالتتابعـات النيوكليوتيديـة للـدنا الهـدف. ومـن سـماتها ايضـاً الحصـول علـى نفس النتـائج عنـد اعادة الاختبار (Brettschneider 1998).

2-3-2 المؤشـــرات المعتمـــدة علـــى تقانـــة التفـاعـــل التضـاعـــفي لسلســـلة DNA Polymerase Chain Reaction (PCR) Based Techniques

يمكـن تعريـف هـذه التقانـة بانهـا الطريقـة التـي يتضـاعف بهـا تتـابع دنـا معـين انزيميـاً ملايـين المـرات خـارج الجسـم الحـي *in vitro* بوجـود البادئـات وبـزمن قصـير، وبـاالرغم مـن عـدم اهتمـام الكثيـرين بـه فـي البدايـة، لكـن الــ PCR تعـد اليـوم التقنيـة الاكثـر رواجـاً فـي مختبـرات الوراثـة الجزيئيـة فـي جميـع انحـاء العـالم ،والاسـاس الـذي تعتمـد عليـه كثيـر مـن الدراسـات علـى مسـتوى DNA (Mullis and Fallona, 1987) لمـا ، تتميـز بـه مـن خصوصـية specificity، ومـن حيـث قـدرتها علـى التعامـل مـع اعـداد كبيـرة مـن النمـاذج، وكونهـا لا تتطلـب كميـات كبيـرة مـن DNA، اذ جعلـت امكانيـة اسـتعمال قطـرة دم أو شـعرة أو حتــى خليــة واحــدة لاجـراء عمليـات الــ PCR عليهـا، ويلـزم ذلـك تـوفر انـزيم بلمـرة DNA (*Taq* DNA Polymerase) والبادئـــات Primers والنيوكليوســـيدات منقوصـــة الأوكســـجين الثلاثيـــة الفوسـفات (deoxynucleoside triphosphate) والمحلـول المـنظم (PCR buffers) الحـاوي علـى ايونـــات المغنيســـيوم Mg^{++} وقالـــب DNA (DNA Template) فضـــلا عـــن جهـــاز المبلمـــر الحـــراري الحلقي Thermocycler (Higuchi *et al.*, 1988).

1-2-3-2 التفــاعــل التضـــاعفي المتعـدد الأشــكال لسلســـة DNA أو الــ (RAPD)
(RAPD) Randomly Amplified Polymorphic DNA

هـــي إحـــدى مؤشـــرات DNA markers DNA المســـتثمرة لفعاليـــة التفاعـــل التضـــاعفي لسلســـلة PCR DNA، وصـــفت هـــذه المؤشـــرات لأول مـــرة مـــن قبـــل Williams *et al.*, (1990) وتعتمـــد فـــي اساســـها علـــى اســـتعمال بادئـــات قصـــيرة عشـــوائية Random Primers مصـــنعة مختبريـــاً ومؤلفـــة مـــن (9-12) قاعـــدة وذات محتـــوى عـــالٍ مـــن القاعـــدتين G و C وتـــدعى GC-rich primer اذ تتـــراوح نســـبتهما عمومـــاً بـــين (60-70)%. ترتبـــط هـــذه البادئـــات مـــن التفـــاعل التضـــاعفي بـــالمواقع المكملـــة لهـــا Complementary Sites علـــى شـــريطي DNA القالـــب، ويـــتم تضـــاعف المنـــاطق الواقعـــة بـــين مـــوقعي الارتبـــاط اذ يباشـــر انـــزيم بلمـــرة DNA polymerase DNA باضـــافة النيوكليوتيـــدات المناســـبة عنـــد النهايـــة $\bar{3}$OH- للبـــادئ لـــذا فـــان قطعـــة DNA المحـــــددة بـــين مـــوقعي ارتبـــاط البـــادئ علـــى طـــول شـــريط DNA القالـــب ستضـــاعف، وبتكـــرار دورات التفاعـــل التضـــاعفي تنـــتج الملايـــين مـــن النســـخ (Williams *et al.*, 1990).

ان اســـتعمال البادئـــات القصـــيرة ودرجـــة حـــرارة الارتبـــاط الواطئـــة 36^{o}م تضـــمن ارتبـــاط البادئـــات بعـــدد مـــن المواقـــع المتوزعـــة داخـــل الجينـــوم ويـــتم الحصـــول علـــى قطـــع متعـــددة متضـــاعفة يمكـــن فصـــلها علـــى هـــلام الاكـــاروز بعـــد تصـــبيغها ببروميـــد الاثيـــديوم ويـــتم الكشـــف عنهـــا بالاشـــعة فـــوق البنفســـجية (Lee, 1995) وان عـــدد الحـــزم المتضـــاعفة الناتجـــة مـــن تفاعـــل الـــ RAPD يعتمـــد علـــى تسلســـل البـــادئ ونـــوع DNA فضـــلا عـــن حجـــم الجينـــوم (Rafalski, 1997). وعمومـــاً يتـــراوح اعـــداد الحـــزم المتضـــاعفة بـــين (1-10) حزم وباحجام جزيئية تتراوح ما بين (200-4000) زوج قاعدي (Reiter *et al.*,1992).

هـــذا ويمـــكن الكشـــف عـــن عـــدد اكـــبر مـــن الحـــزم المتضـــاعفـــة فـــي مؤشـــرات الـــ RAPD بتغيـــير طريقـــة الكشـــف عـــن تـــلك النـــواتج كاســـتخدام DGGE (Brunel, 1994) أو باســـتعمال اكثـــر مـــن بـــادئ في نفس التفاعل (Hu *et al.*, 1995).

وتظهـــر التباينـــات أو التغـــايرات الوراثيـــة Genetic polymorphism بـــين افـــراد أو ضـــروب النـــوع الواحـــد فـــي هـــذه المؤشـــرات علـــى شـــكل اخـــتلاف فـــي اعـــداد الحـــزم المتضـــاعفة أو اخـــتلاف فـــي أحجامها الجزيئية (Williams *et al.*, 1993).

لقـــد اتســـمت مؤشـــرات الـــ RAPD بالســـيادة التـــامة Dominant اذ ان بادئاتهـــا لا تميـــز الالـــيلات المتماثلـــة Homozygous عـــن المتباينـــة Heterozygous (Williams *et al.*, 1993). كمـــا ان

الكشف عن التباينات الوراثية يتمثل بوجود أو غياب حزم التضاعف Bands للانماط الوراثية للافراد المدروسة (Rafalski and Tingey, 1993) وان هذه التباينات أو التغايرات تعزى إلى تبديل موقع ارتباط البادئ وتغييره Binding site بشريط DNA القالب لحدوث مختلف أنواع الطفرات كالحذف Deletion أو الادخال Insertion أو استبدال قاعدة Base substitution في مثل المواقع المكملة لتسلسل البادئ لدنا افراد النوع الواحد ،ما يفقده فرصة الارتباط به ،لاسيما انه يتاثر بتغيير قاعدة واحدة فقط (Welsh and McClelland, 1990).

تتميز مؤشرات الـ RAPD بمييزات متعددة جعلتها الاكثر شيوعاً من ضمن المؤشرات المعتمدة على الـ PCR من اهمها قدرة هذه المؤشرات في الكشف عن مواقع متعددة من الجينوم لارتباط البادئات باكثر من موقع فضلا عن توزيع تلك المواقع بانتظام على طول الجينوم مقارنة مع مؤشرات الـ SSR والتي تكشف عن عدد قليل من المواقع ان لم يكن موقع واحد (Goldstein *et al*., 1995).

كما ان البادئات المستعملة فيها عامة Universal اذ يمكن استخدام البادئ الواحد مع مدى واسع من الكائنات الحية وعليه امكانية تطبيق هذه المؤشرات على مدى واسع من الأنواع (Hallden *et al*., 1996) ؛ لذا اصبح لمؤشرات الـ RAPD تطبيقات واسعة في دراسات ايجاد البصمة الوراثية والعلاقة الوراثية وبناء الخرائط الوراثية (Carlson *et al*., 1991) في الدراسات والبحوث التي تتناول التطور وتحديد النسب (Iqbal *et al*., 1997).

وتعد مؤشرات الـ RAPD من الطرق السهلة نسبياً والسريعة لاعتمادها على تقانة الـ PCR فضلا عن دقة نتائجها وكلفها المناسبة وعدم حاجتها إلى كمية كبيرة وبنقاوة عالية من DNA الهدف ولا المعرفة المسبقة بتتابعاته النيوكليوتيدية Nucleotide sequences (Edwards, 1998).

وعند مقارنة مؤشرات الـ RAPD مع مؤشرات اخرى نجد انها اسهل بكثير من مؤشرات الـ RFLP لكونها لا تتطلب عمليات الهضم والتهجين والمجس، وطريقة الكشف التي تاخذ كثير من الوقت والكلفة والجهد (Williams *et al*., 1993). كما تتميز عن مؤشرات الـ DAF أو AP-PCR بسهولة الكشف عن النواتج المتضاعفة باستعمال هلام الاكاروز مقارنة بمتعدد الاكريلأمايد الصعبة التنفيذ نسبياً فضلا عن عدم احتياجه للنظائر المشعة (Williams *et al*., 1990).

تتميز مؤشرات الـ RAPD باحتياجها إلى كميات قليلة من DNA يتراوح بين (25-50) نانوغرام و يمكن الحصول عليها من كمية قليلة من انسجة الكائنات الحية، وتكون هذه المؤشرات مهمة عندما تكون كمية DNA المتوفرة قليلة (Williams *et al*., 1990).

بالرغــم مــن ســـهولة ونجـــاح تطبـــيق هـذه المؤشـــرات غيــر انـــها تتطلــب الدقــة العاليــة فــي العمــل، وضـبط التركيـز لكافـة مكونــات التفاعـل ،وخاصـة تركيـز DNA القالـب، وتراكيـز بقيـة المحتويـات مثـل انــزيم بلمــرة DNA، والبــادئ المســتعمل وايونـــات Mg^{+2} والـــ dNTPs اذ انهــا تعــد تقنيــة حساســة جــداً لظــروف التفاعــل، و تحضـــير ظـــروف نقيــة خاليــة مـــن اي مســـبب للتلـــوث وعـــن طريـــق تعقـــيم ادوات ومســتلزمات العمــل وارتـــداء القفـــازات اثنـــاء تحضـــير تفـــاعلات الـــ RAPD والعمـــل داخـــل هـــود معقـــم (Muralidharon and Wakeland, 1993).

2-2-3-2 تطبيقـــات تقنيـــة الـــ RAPD علـــى نبـــات *Galium*

Application of RAPD Technique on *Galium*

تُســتخدم تقنيــة RAPD بشــكل شــائع فــي بصـــمات الـــDNA fingerprinting، وتحديــد العلاقـــات الوراثيــة بــين الأصــناف، وتقيــيم بــرامج التربيــة فــي زراعــة العنــب (Jaladet *et al.*, 2009) والخيــار (Harisaranraj *et al.*, 2009)، والزنجبيــل (Latha and Hanumanthappa, 2011) والطماطة (Patil *et al.*, 2010).

تظهــر دراســة التنــوع الــوراثي فــي الانــواع النباتيــة أنــه فــي حالــة التنــوع الــوراثي الضــيق، يجــب استخدام الأصناف البرية لإثراء القاعدة الوراثية للأصناف المزروعة (Fan-Juan *et al.*, 2010).

4-2 نباتات الدراسة

1-4-2 *G. aparine*

هو نوع منتشر على نطاق واسع في جنس Galium. وهو نبات عشبي ينتمي إلى عائلة Rubiaceae. النبات له سلالات زاحفة وصلبة ذات خطافات صغيرة، وأزهاره خنثى ذات بتلات بيضاء. يتواجد النبات بشكل شائع في أوروبا وآسيا وأمريكا الشمالية، وينمو على جوانب الطرق والمراعي والأماكن غير المزروعة، وأغلبه رطب (Ilina *et al.*, 2019). يمكن أن يصل ارتفاعه إلى متر واحد، وله العديد من الشعيرات اللزجة على حبيباته، والتي تلتصق بسهولة بفراء الحيوانات. ويسمى النبات "الزج" بسبب هذه الخاصية. يستخدم *G. aparine* في العلاجات الشعبية والمكملات الغذائية، وقد وجد أن مستخلصات أعشابه لها أنشطة تعديل المناعة. كما تمت دراستها أيضًا لمقاومتها لمبيدات الأعشاب وخصائصها اللاصقة، والتي ألهمت تطوير أنظمة لاصقة صناعية(Nosratti and Muhammadyari, 2019) .

صورة (2-1) نبات ***G. aparine*** (Abbasi *et al.*, 2015)

2-4-2 *G. ceratopodum*

ينمو هذا الوع داخل الطمي في الحقول وعلى المنحدرات، خاصة في المواقع المحمية (Feulner 2011). هذا النوع مشابه جدًا في البنية والمظهر لقريبه جاليوم أباراين: مجموعات من الأوراق والسيقان النحيلة مغطاة بالوخز المتجه نحو الأسفل، مما يعطي ملمسًا "لزجًا" (Jongbloed , 2003). الزهور تشبه أيضًا *G. aparine* لأنها صغيرة وبيضاء، على الرغم من أن الزهور في *G. ceratopodum* تظهر على شكل بخاخات وتكون أقصر من أوراق النبات (Jongbloed, 2003).

صورة (2-3) نبات *G.ceratopodum*

G. setaceum 3-4-2

وهو نبات مزهر يتواجد في مناطق مختلفة حول العالم، منها المناطق المعتدلة (Jan *et al.*, 2018). في باكستان، يُعرف *G. setaceum* باسم "threkh Jeshy" ويستخدم في الطب التقليدي لعلاج أمراض مختلفة (Poulin *et al.*, 2005). تم الإبلاغ عن أن النبات له خصائص طبية مثل خصائص مهدئة ومدر للبول ومضاد للبكتيريا ومضاد للأورام ومضادات الأكسدة (Saavedra and Alcántara, 2017). بالإضافة إلى ذلك فان *G. setaceum* عبارة عن مجموعة عشبية معمرة غزت الولايات المتحدة وهي شديدة الانتشار في هاواي (Sogonov *et al.*, 2005). كما يعتبر من الأنواع الغازية في المناطق الساحلية للأجزاء الشرقية والجنوبية من شبه الجزيرة الأيبيرية، بما في ذلك مدينة قرطبة في إسبانيا. وقد تمت دراسة هذا النوع من حيث تنوعه الوراثي وإمكاناته الغازية.

صورة (2-3) نبات *G.setaceum* (Catuzzi, 2022)

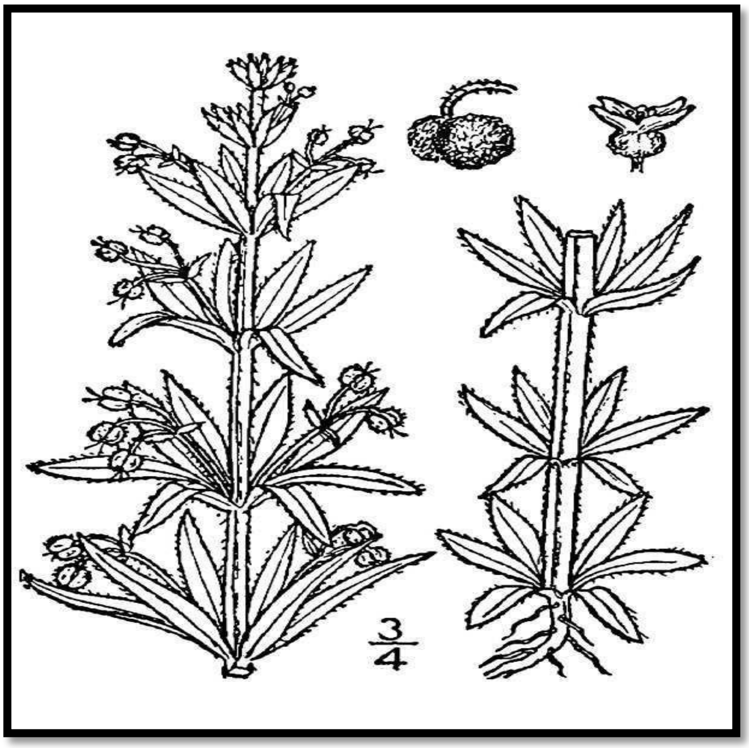
2-4-4 *G. spurium*

عبارة عن حشائش زراعية تتمتع بمقاومة قوية للضغط. وهي عشبة سنوية عريضة الأوراق توجد عادة في محاصيل الحبوب في جميع أنحاء العالم. *G. spurium* يقلل من إنتاجية المحاصيل عن طريق التنافس على العناصر الغذائية والتسبب في استيطان النبات، مما يقلل من معدل التمثيل الضوئي للنباتات المزروعة (Yin *et al.*, 2023). ويرتبط ارتباطًا وثيقًا بـ *G. aparine*، وهو نوع آخر من الأعشاب الضارة (Sparangis *et al.*, 2023). تمت دراسة *G. spurium* بحثًا عن جينوم البلاستيدات الخضراء، وهو جزيء دائري يبلغ طوله 153481 bp. يحتوي الجينوم على 127 جينًا، بما في ذلك جينات ترميز البروتين، وجينات الحمض النووي الريبي الناقل، وجينات الحمض النووي الريبي الريباسي (Deroo *et al.*,2022).

صور (2-4) نبات *G. spurium* (Lee and Chang, 2015)

G. tricornatum 5-4-2

وهو نبات وجد أنه يحتوي على مركبات نشطة بيولوجيا ذات خصائص علاجية محتملة. تبين أن الجزء الجوي من نبات G. tricornatum يحتوي على مستقلبات ثانوية، بينما تحتوي البذور على أحماض دهنية. أظهر النبات نشاطًا مضادًا للبكتيريا ضد المكورات العنقودية الذهبية والمكورات العنقودية المقيحة، بالإضافة إلى قدرته على السمية الخلوية ضد خطوط الخلايا السرطانية. حدد التحليل اللوني للغاز - التحليل الطيفي الكتلي (GC-MS) 23 مركبًا في مستخلص الجزء الجوي، مع 7 مركبات تظهر بعض سمية عالية. بالإضافة إلى ذلك، تم تحديد 5 أحماض دهنية في البذور. تدعم نتائج الدراسة الاستخدام التقليدي لـ G. tricornatum في الطب العرقي وتسلط الضوء على إمكاناته كمصدر للمركبات النشطة بيولوجيًا (Khan *et al.*, 2022) .



شكل (2-5) نبات *G.tricornatum* (Dandy, 1969)

الفصل الثالث

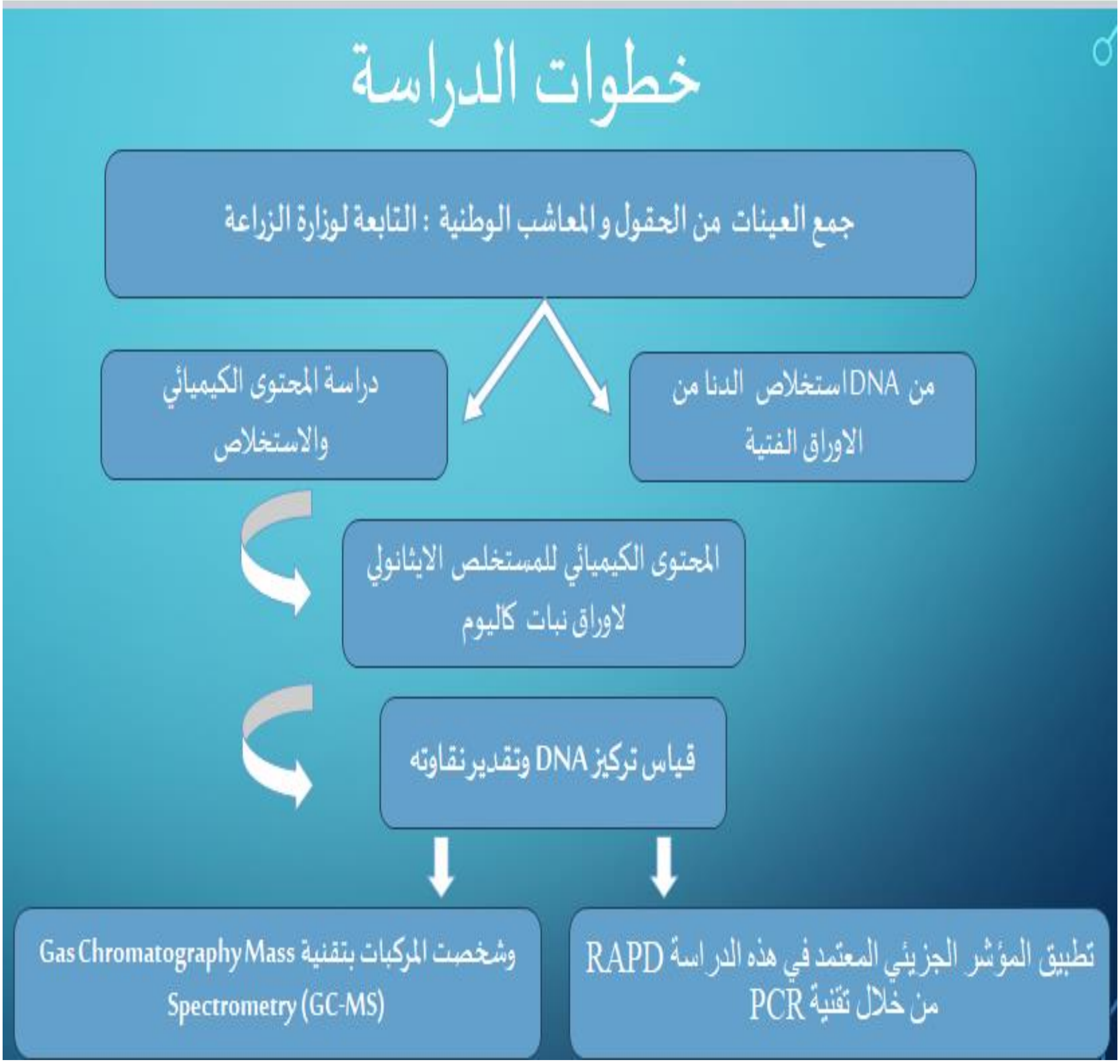
المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

المواد وطرائق العمل

3- المواد وطرائق العمل Materials and Methods

3-1 مخطط خطوات الدراسة



الشكل (3-1) المخطط الفرضي للدراسة

3-2 جمع العينات النباتية

تم الحصول على خمسة انواع من نبات *Galium* الطرية منها عثر عليها في بعض المناطق من خلال السفرات الى محافظة بغداد وبالأخص منطقة الجادرية والمحيطة بجامعة بغداد اما العينات الجافة فتم الحصول عليها من العينات المعشبية المودعة في المعاشب العراقية الوطنية ، جدول (2) والمعتمدة من قبل مديرية دائرة زراعة بغداد، وقد تم العمل في مختبر الامين التابع للعتبة العلوية المقدسة – النجف الاشرف – العراق بالنسبة للدراسة الجزيئية والكيميائية .

جدول(3-1) الانواع المدروسة

ت	اسم النوع
1	*G. spurium*
2	*G. setaceum*
3	*G. tricornatum*
4	*G. ceratopodum*
5	*G. aparine*

3-3 اسماء ومختصرات الاماكن المأخوذة منها عينات الدراسة الحالية حسب Holmgren *et al.* (1990) و Holmgren and Keuken (1964)

تم جمع العينات من مواقع مختارة بعناية ضمن جامعة بغداد ومعاشبها الأكاديمية اذ جمعت من الحديقة النباتية الرئيسية في جامعة بغداد وكذلك من معاشب اخرى كما في الجدول (3-2).

جدول (3-2) اسماء ومختصرات الاماكن المأخوذة منها عينات الدراسة الحالية

اسم المعشب	الرمز
المعشب الوطني	BAG
معشب كلية الزراعة/جامعة بغداد	BUA
معشب كلية العلوم/جامعة بغداد	BUH
معشب كلية التربية للعلوم الصرفة (ابن الهيثم)/جامعة بغداد	BUE
معشب متحف التاريخ الطبيعي	BUNH

3- 4 المواد Materials

3-4-1 الأجهزة والمعدات المختبرية Laboratory Equipments and Apparatus

استعملت الأجهزة والمعدات المختبرية المثبتة في جدول (3-3)

جدول (3-3) الأجهزة والمعدات المختبرية المستعملة في هذه الدراسة.

ت	المعدات	المنشا	الشركة المصنعة
1	الموصدة Autoclave	Japan	Sony
2	كاميرا رقمية Digital camera	Japan	CYAN-Cypress
3	نظام تصوير الهلام Gel documentation system	UK	Cleaver Scientific

4	جهاز الترحيل الكهربائي الافقي Horizontal Gel electrophoresis	Korea	Joagene Bioscience
5	حاوية النتروجين السائل Liquid Nitrogen container	USA	Native Industrialization
6	جهاز الطرد المركزي Microcentrifuge	Germany	Witeg
7	حمام مائي هزاز Shaking Water bath	Germany	Samsung
8	جهاز البلمرة الحراري Thermo cycler	UK	Native Industrialization
9	Bio Drop	England	Cleaver Scientific
10	جهاز الأشعة فوق البنفسجية UV- Transilluminator	UK	LAB- LINE
11	محرك مغناطيسي Vortex mixer	USA	Tomy
12	ميزان حساس Sensitive balance	Germany	Sartorius

3-4-2 المواد الكيميائية Chemicals

استعملت المواد الكيميائية المثبتة في جدول (3-4)

جدول(3-4) المواد الكيميائية المستعملة في هذه الدراسة .

ت	المواد الكيميائية	المنشأ	الشركة المصنعة
1	آكاروز Agarose	Canada	BHD
2	ماء مقطر منزوع الايونات Deionized Distilled Water	USA	Sigma
3	كحول الايثانول	UK	GCC

	Ethanol		
4	صبغة بروميد الاثيديوم Ethidium Bromide stain	USA	Sigma
5	ايزوبروبانولIsopropanol	USA	Mast Diagnostic
6	النتروجين السائل Liquid nitrogen	العراق	محلي
7	TBE buffer دارئ	USA	Promega
8	bufferTE دارئ	USA	Promega
9	الدليل الحجمي Molecular Weight marker	Korea	Bioneer
10	كلوريد الصوديوم	UK	BDH

3-5 طرق العمل Methods

3-5-1 الدراسة الجزيئية

1- البادئات Primers

جهزت البادئات المعتمدة في هذه الدراسة من قبل شركة Bioneer في شكل مجفف Lyophilized وكان عددها 8 بوادئ عشوائية لمؤشر الـ RAPD، وتم تحضيرها باستعمال دارئ TE للحصول على التركيز النهائي (المحلول الأصلي) 100بيكومول/ مايكروليتر، ومن هذا المحلول تم تحضير البادئ الذي يستعمل في تفاعل البلمرة بتركيز 10بيكومول/ مايكروليتر. تم تخزينها في علبة بلاستك ، جدول (3-5) (Bergoglio *et al.*, 2023) .

جدول (3-5) اسم البادئ وتسلسل النيوكليوتيدات مع المصدر.

تسلسل النيوكليوتيدات(5’→ 3’)	اسم البادئ
CCACAGCAGT	OPB18
GTGAGGCGTC	OPC2
GTAGACCCGT	OPB11
TGCGTGCTTG	OPC14
TGGACCGGTG	OPC8
GAGAGAGAGAGACC	BH10
GTGTGTGTGTGTCC	BH11
CTCCTCCTCGC	BH14

2- خليط التفاعل: Reaction Mixture (Master Mix)

جهز خليط التفاعل الرئيس Master mix من قبل شركة Bioneer في أنابيب خاصة معقمة وتحتوي كل أنبوبة على المكونات الآتية وبالتراكيز المبينة إزاء كل مادة، جدول (3-6)

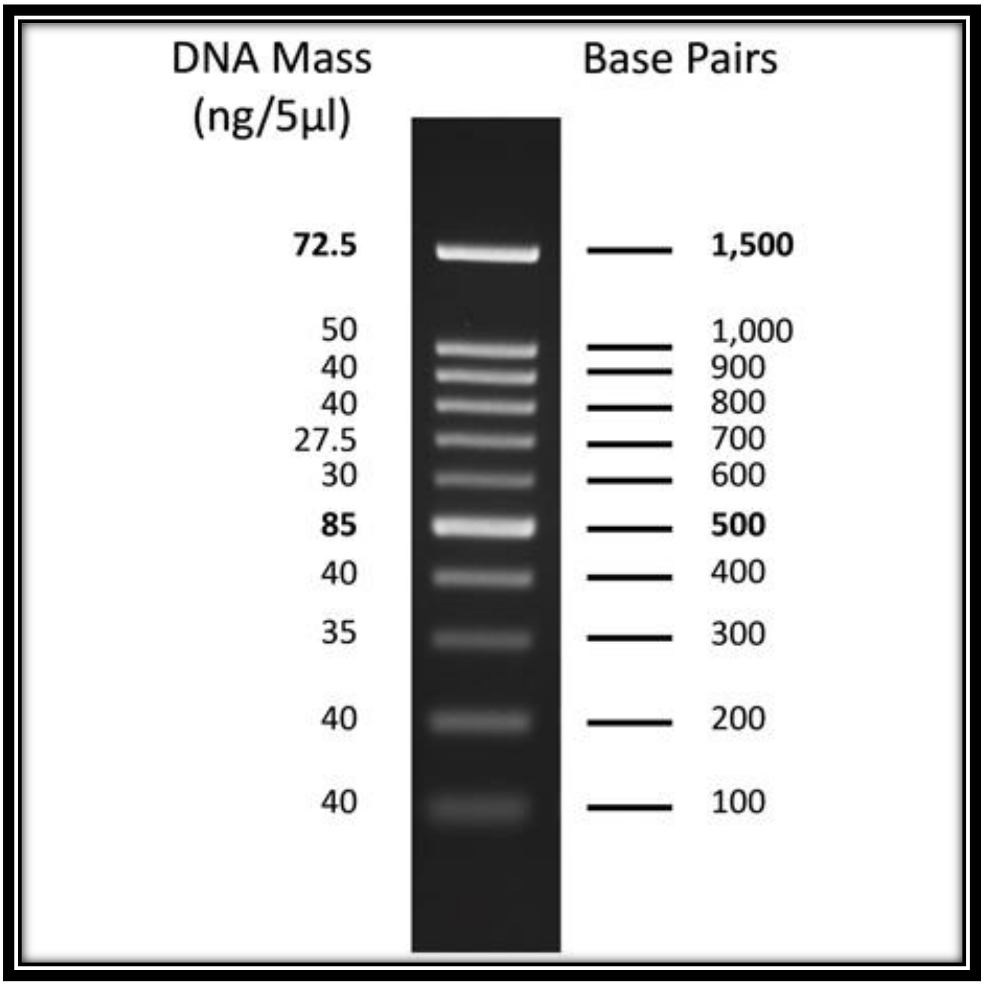
جدول (3-6) مكونات خليط التفاعل الرئيس Master mix.

المكونات Component	حجم التفاعل Reaction size (20µl)
DNA polymerase	1Unit
dNTP (dATP,dCTP,dGTP,dTTP) Each:	250 µM
Tris-HCl (pH 9.0)	10 mM
KCl	30 mM
MgCl2	1.5 mM

Stabilizer and tracking dye	5 µM

3- الدليل الحجمي للـ DNA(DNA Molecular Size of Markers)

جهز الدليل الحجمي المستعمل في هذه الدراسة من قبل شركة Bioneer – Korea بتركيز نانوغرام/ مايكروليتر، وبحجم مايكروليتر ومدى يتراوح 100-1500 زوج قاعدي (11 حزمة).



شكل (3-2) وصف الدليل الحجمي للDNA.

4- عزل الـ DNA من النماذج النباتية DNA Isolation from Plant Samples

تم عزل الـ DNA من الأوراق النباتية الفتية للتراكيب الوراثية الستة المعتمدة في الدراسة باستعمال خطوات مجهزة من قبل شركة Geneaid، وهذه العدة توفر طريقة سريعة وسهلة للحصول على DNA نقي من الأنسجة النباتية وكالآتي :

1. أخذ 25 ملغم من الأوراق النباتية الفتية ووضعت في هاون خزفي وسحقت بالنتروجين السائل بإضافة حوالي 4-5 مرات من النتروجين السائل إلى أن تصبح بشكل مسحوق ناعم (powder).

2. نقل مسحوق الأوراق إلى أنبوبة ابندروف.

3. أضيف µ1400 من GP1 buffer أو buffer GPX1 و µ15 من RNase A إلى العينة ومزج الخليط بواسطة الهزاز .

4. حضن الخليط بدرجة حرارة 60 مئوية لمدة 10 دقائق. في هذه المدة تقلب الأنبوبة كل خمس دقائق. في نفس الوقت يوضع µ100 من Elution buffer في أنبوبة ابندروف ووضعت في الحمام المائي لغرض استعمالها في الخطوة الأخيرة من الاستخلاص.

5.أضيف100 µ من GP2 buffer ومزج بواسطة الهزاز وحضن في الثلج لمدة 3 دقائق.

6. وضع Filtr column في 2ml collection tube .

7. نقل المزيج إلى Filter column ونبذ لمدة دقيقة وبسرعة 1000 xg.

8. استبعد Filter column ونقل العالق في Collection tube إلى أنبوبة ابندروف جديدة.

9. أضيف 1.5 من حجم GP3 buffer (المحتوي على الأيزوبروبانول) للخليط ومزج بالهزاز لمدة 5 ثواني (مثلا µl 750 GP3 buffer إلى 500 من الخليط).

10. وضع GD column في 2ml collection.

11. نقل µl 1700 من المزيج (والمحتوي على أي راسب) إلى GD colum.

12. نبذ بسرعة 14000- 16000xg ولمدة 2 دقيقة.

13. استبعد المتدفق في 2 ml collection tube وأضيف المتبقي من الخليط إلى GD column و نبذ بسرعة 16000 xg – 14000 ولمدة 2 دقيقة.

14.استبعد المتدفق ووضع GD column في 2 ml collection tube.

15.أضيف 400 µl من W1 buffer إلى GD column ونبذ بسرعة 14000-16000 xg ولمدة 30 ثانية.

16. استبعد المتدفق ووضع GD column مرة أخرى في 2ml collection tube.

17. أضيف 600 µl من Wash buffer (المحتوي على الايثانول) إلى GD column.

18.نبذ بسرعة 14000-16000 xg ولمدة 30 ثانية.

19. استبعد المتدفق ووضع GD column مرة أخرى في 2 ml collection tube .

20. نبذ مرة أخرى ولمدة 3 دقائق وبسرعة 16000xg – 14000 لجفاف أرضية العمود.

21. (الخطوة الاختيارية) أضيف 400 µl من الأيثانول المطلق إلى GD column.

22. نبذ بسرعة 14000-16000xg ولمدة 30 ثانية.

23. استبعد المتدفق ووضع GD column مرة أخرى في 2 ml collection tube.

24. نبذ مرة أخرى ولمدة 3 دقائق وبسرعة 16000 xg – 14000 لجفاف أرضية العمود.

25. نقل GD column الجاف إلى أنبوبة ابندروف جديدة.

26. أضيف 100 µl من Elution buffer (الساخن) إلى مركز أرضية العمود في درجة حرارة 60م.

27. ترك جانبا لمدة 5-3 دقائق لكي يمتص Elution buffer من قبل أرضية العمود.

28. نبذ بسرعة 16000 xg – 14000 ولمدة 30 ثانية.

جُمعت الأوراق النباتية الفتية والمجففة، ثم جُمدت في النيتروجين السائل وطُحنت باستخدام المدقة والهاون حتى أصبحت مسحوقًا ناعمًا. أُضيف 400 ميكرولتر من محلول العازل (Lysis buffer) إلى 100 ملغ من مسحوق الأوراق المطحون ومُزج جيدًا حتى تجانس الخليط. نُقل الخليط إلى أنبوبة طرد مركزي، وأُجري الطرد المركزي عند 12,000 دورة في الدقيقة لمدة 5 دقائق لفصل الحطام الخلوي. بعد ذلك، نُقل المحلول الفوقي (supernatant) إلى أنبوبة جديدة وأُضيف إليه 200 ميكرولتر من محلول الربط (Binding buffer) ومُزج جيدًا. نُقل الخليط إلى عمود الربط (Binding column) في أنبوبة طرد مركزي، وأُجري الطرد المركزي عند 12,000 دورة في الدقيقة لمدة 1 دقيقة للتخلص من السائل الزائد. غُسل الـ DNA بإضافة 500 ميكرولتر من محلول الغسل (Wash buffer) إلى العمود، وأُجري الطرد المركزي عند 12,000 دورة في الدقيقة لمدة 1 دقيقة، وكُررت خطوة الغسل مرة أخرى لضمان نقاوة الـ DNA. بعد ذلك، نُقل العمود إلى أنبوبة جديدة نظيفة، وأُضيف 50–100 ميكرولتر من محلول الإلباس (Elution buffer) إلى وسط العمود، وتُرك لمدة 1–2 دقيقة في درجة حرارة الغرفة، ثم أُجري الطرد المركزي عند 12,000 دورة في الدقيقة لمدة 2 دقيقة لجمع الـ DNA النقي. حُفظ الـ DNA المعزول في درجة حرارة −20 مئوية للاستخدام المستقبلي. بهذه الطريقة، عُزل الـ DNA النباتي بشكل فعال، مما أتاح استخدامه في التحاليل الجزيئية المختلفة مثل تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) ودراسات الوراثة الجزيئية. (Roewer, 2013)

5– قياس تركيز DNA وتقدير نقاوته

تم قياس تركيز DNA وتقدير نقاوته باستعمال جهاز Bio drop عند الطولين الموجيين 260 و 280 نانومتر.

صورة (3-3) جهاز Bio drop

6- الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز Agarose Gel Electrophoresis

أجري الترحيل الكهربائي وفقا ل Sambrook و Russel (2001) كما يأتي:

1.تم إعداد لوح التحميل باستخدام لوح بلاستك إذ تحاط حافات اللوح بشريط لاصق قوي ويثبت عليه المشط الخاص لتكوين الحفر عند احد أطراف الهلام.

2 .يحضر هلام الاكاروز بتركيز 0.9٪ عن طريق إذابة 0.9 غم من الاكاروز في 10 مل من دارئ TBE10x ثم يكمل إلى 100مل من الماء المقطر.

3. يسخن الخليط في فرن الميكروويف حتى يذاب كل مسحوق الاكاروز، ويستخرج المحلول من الميكروويف قبل وصوله إلى مرحلة الغليان.

4. يترك الهلام ليبرد إلى 65 درجة مئوية.

5. أضيف 5مايكروليتر من محلول بروميد الاثيديوم (10 ملغم/ مل) بعد أن يدفئ الخليط، ويخلط بلطف.

6.يسكب الهلام ببطء في رف الهلام، مع تجنب أي فقاعات في الهلام، ولا يسمح للهلام أن يتشوه ويترك لمدة تصل من 20 إلى 30 دقيقة.

7.رفع المشط والشريط اللاصق بهدوء من الاكاروز المتصلب وثبتت الصفيحة على مسندها في وحدة الترحيل الكهربائي الأفقية المتمثلة بالحوض المستعمل للترحيل الكهربائي وملئ الحوض بداريءTBE بحيث يغطي سطح الهلام.

8.تم إضافة 5مايكروليتر من الدليل الحجمي DNA Ladder في أول حفرة.

9. وضع 3مايكروليتر من عينة DNA على غطاء شمعي مطاط Parafilm، وخلط مع 1/2 مايكروليتر من صبغة التحميل، ومزج جيدا باستعمال ماصة دقيقة. (الذي يمثل ناتج جينوم DNA)

10. بعد ذلك تم إغلاق جهاز الترحيل الكهربائي ومرر التيار الكهربائي بمقدار 70 فولت لمدة 45 دقيقة.

11. فحص الهلام باستعمال مصدر للأشعة فوق البنفسجية UV transilluminator عند طول موجي (240، 366 نانوميتر) صور بعدها الهلام.

7- تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction

تم تطبيق المؤشر الجزيئي المعتمد في هذه الدراسة وهو الـ RAPD من خلال تقنية PCR وفق الخطوات الآتية:

رقم الخطوة	الخطوة
1	**أجري العمل بارتداء القفازات وفي حجرة التعقيم (Hood) مع حفظ المحاليل كافة على الثلج**
2	**أضيفت 5 مايكروليتر من قالبDNA ، و4 مايكروليتر من البادئ إلى أنبوبة التفاعل الرئيس (Master Reaction) الجاهزة**
3	**أُكمل الحجم النهائي للتفاعل بإضافة الماء المقطر منزوع الأيونات ليصل**

	حجم المحلول إلى 20 مايكروليتر
4	**وُضعت الأنابيب في جهاز المبلمر الحراري (Thermocycler) على البرنامج الخاص**

اجريت العمليات على برنامج خاص وكما يأتي:

الوقت	درجة الحرارة	الخطوة	البادئ
5 min	94C°	Initial Denaturation	جميع البادئات اعتمدت هذا البرنامج
No. of Cycles = 40 Cycles			
20 sec	94C°	Denaturation	
2 min	Available 36-40	Annealing	
1min	72C°	Extension	
10 min	72C°	Final Extension	

بعد انتهاء وقت التفاعل رفعت الأنابيب من جهاز المبلمر الحراري وباستعمال الجل المكون من مادة الاكاروز وبتركيز 1.2%حيث يتم عمل شريحة الاكاروز عن طريق أذابة المادة في محلول منظم وتسخينه حتى يصبح المحلول صافيا تماما ومن ثم صب الاكاروز في أناء خاص حتى يبرد مما ينتج عنه مادة جيلاتينية مرنة يتم استخدامها في عملية الفصل ولفترة زمنية مقدارها (2–4) ساعة وبفولتية مقدارها 70 فولت. بعدها عرضت منتجات PCRالمرحلة على الهلام للأشعة فوق البنفسجية بواسطة جهاز الـ Gel documentation system للتصوير (Weigand *et al.*, 1993).

8- تحليل البيانات Data Analysis

حللت البيانات في الدراسة الجزيئية باستخدام UV band تم معرفة عدد الحزم المتضاعفة وأحجامها الجزيئية، ويمكن تحويل بيانات التوصيف Characterization data إلى جداول تبين وجود الحزمة من عدمها لكل عينة من العينات المدروسة ، وذلك بوضع 1عند وجود الحزمة و 0 عند غيابها على التوالي في تلك الجداول. أن تقدير قيم التشابه بين زوج من العينات يتم بطرق عديدة أهمها:

1. Smilarity index: ويمكن حسابها بطريقتين أكثرها شيوعاً حسب طريقة Nei and Lei(1979) حيث يمكن تقدير قيم التشابه وكالآتي:

Smilarity = 2nxy/nx + ny

إذ nxy هي عدد الحزم المشتركة بين النموذجين المقترحين A و B مثلاً و nx هي عدد الحزم الكلي للنموذج A و ny عدد الحزم الكلي للنموذج B.

2.أ ما مقدار الاختلاف dissimilarity فيقاس عادة بطرح قيمة التشابه من الرقم 1 أي أنها تساوي (1-S) ويمكن تطبيقها على بيانات التشابه لإيجاد البعد الوراثي بين كل عينتين من العينات المدروسة استناداً على قيم التشابه بين تلك العينتين.

3-5-1-1 شجرة العلاقة الوراثية dendrogram

تم اعتماد Unweigted Pair Group Method with Arithmetic Average (UPGMA) للحصول على شجرة العلاقة الوراثية (النشوء والتطور) باستخدام البرنامج الإحصائي الحيوي PAST الإصدار62.1 واعتماداً على البرنامج أعلاه تم استخراج البعد الوراثي ورسم شجرة العلاقة الوراثية (Challa, and Neelapu, 2019).

تم حساب التغاير الشكلي وكفاءة البادئ والقدرة التمييزية لكل بادئ باستعمال المعادلات الآتية كما هو موضح من قبل(1988) Hunter and Gaston و (1995) Graham and McNicol.

$$\text{التغاير الشكلي \%} = \frac{\text{عدد الحزم المتغاير لكل بادئ}}{\text{عدد الحزم الرئيسية لكل بادئ}} \times 100$$

$$\text{القدرة التميزية \%} = \frac{\text{عدد الحزم المتغايرة لكل بادئ}}{\text{مجموع الحزم المتغايرة لكل البادئات}} \times 100$$

$$\text{كفاءة البادئ} = \frac{\text{عدد الحزم المتغاير لكل بادئ}}{\text{مجموع الحزم المتضاعفة لكل بادئ}}$$

3-5- 2 الدراسة الكيميائية Chemical Study

3-5-2-1 تحضير المستخلص الايثانولي

استخلصت المركبات الكيميائية من الأوراق بحسب الطريقة التي ذكرها Esma *et al.* (2023) مع بعض التحوير:

1- نُظفت الأوراق لنباتية الطرية والجافة جيدا من الأتربة وأزيلت الأجزاء التالفة ثم تركت لمدة 10 أيام في درجة حرارة الغرفة لتجفيفها كليا.

2- طحنت الاوراق بواسطة الطاحونة الكهربائية لمدة تتراوح ما بين 5-10 دقائق.

3- تم استخلاص 2غم من الأجزاء النباتية المطحونة باضافة 10 مل من الايثانول المركز (96%) مع استمرار الرج لــ 25 دقيقة باستخدام جهاز الرج المغناطيسي ثم ترك في مكان مظلم وبدرجة حرارة الغرفة لمدة يوماً كاملاً.

4- رُشحت بواسطة اوراق الترشيح نوع Whatman No.1

5- أضيف الى الراشح السابق محلول الهكسان 99% وبحجم 1 مل لكي يتم التخلص من الشوائب المتبقية ولتركيز المستخلص.

6- شفط الجزء العالق المفصول بواسطة الهكسان ليصبح جاهزاً لتقدير المركبات الفعالة فيه.

3-5-2-2 فصل وتشخيص المركبات الكيميائية بتقنية GC-MS

اجري التحليل في مركز الامين التابع للعتبة العلوية في محافظة النجف باستعمال جهاز كروماتوغرافيا الغاز- مطياف الكتلة Gas Chromatography- Mass Spectrometry (GC-MS) تم فصل وتشخيص المركبات الفعالة من مستخلص المركبات الخام للأوراق النباتية للنوعين قيد الدراسة .

اذ حُلل المستخلص الايثانولي للأوراق بواسطة جهاز GC-MS نوع Agelint (7820A)USA GC Mass Spectrometer امريكي الصنع المرافق لنظام Clarus 500 Perkin Elmer الذي يضم وحدة التحديد التلقائي للمركبات من النوع [AOC-20i] ويرتبط جهاز كروماتوغرافيا الغاز GC بجهاز الطيف الكتلي MS ووفقا للظروف الأتية :

1- عمود الفصل الشعري capillary column نوع Eliter-1 fused silica والذي سجل ابعاده (30m length X 250Mm inner diameter X 0.25Mm film thickness) والمكون من Dimethyle Polysiloxane 100% والذي يعمل ككاشف لقنص الإلكترون.

2- استعمل غاز الهيليوم (99.99%) كغاز ناقل بسرعة جريان ثابتة 1 مل/ دقيقة.

3- حقن الجهاز بما يقارب 2 مايكرولتر من المستخلص الايثانولي و بنسبة انقسام (1:10).

4- برمجة درجة حرارة الى 250م° للحاقن ، و300 م° للمصدر الأيوني.

5- تم برمجة درجة حرارة الفرن على 60م° لمدة 3 دقائق، وبزيادة تصل الى 7م° لكل دقيقة الى أن تصل الى 180 م°، بعدها 8 م°لكل دقيقة حتى تصل الى 280 م° لمدة 3 دقائق لحين النهاية.

6- نفذ طيف الكتلة بفولتية 70 بفاصل زمني للفحص مقداره 0.5 ثانية وبمعدل انشطار من 40 الى 450 دالتون.

7- الضغط داخل الجهاز: 11.933 psi.

8- الوقت المحتسب لبدء تشغيل الجهاز وانتهاءه للعينة هو 32 دقيقة.

9- استعمال برنامج TurboMass بنسخته 5.2.0 المثبت على الجهاز لحساب ناتج الطيف الكتلي لكل مركب كمقدار نسبي لمتوسط مساحة قمته Peak Area على أجمالي المساحات Total area وكل هذه المعلومات تبرمج بشكل مباشر على الجهاز للعينة النباتية قيد الدراسة.

3-5-2-3 تشخيص المركبات الكيميائية الخام

اعتماداً على نتائج الطيف الكتلي للمكون المجهول، شُخصت المركبات الكيميائية بمقارنتها مع البيانات المسجلة والمعتمدة لدى المعهد الوطني للقياس والتكنولوجيا National Institute of Standards and Technology (NIST) من خلال هوية المركب، ووزنه الجزيئي، وصيغته التركيبية والجزيئية.

صورة (3-4) صورة لجهاز كروماتوغرافيا الغاز- مطياف الكتلة Gas Chromatography- Mass Spectrometry (GC-MS).

الفصل الرابع

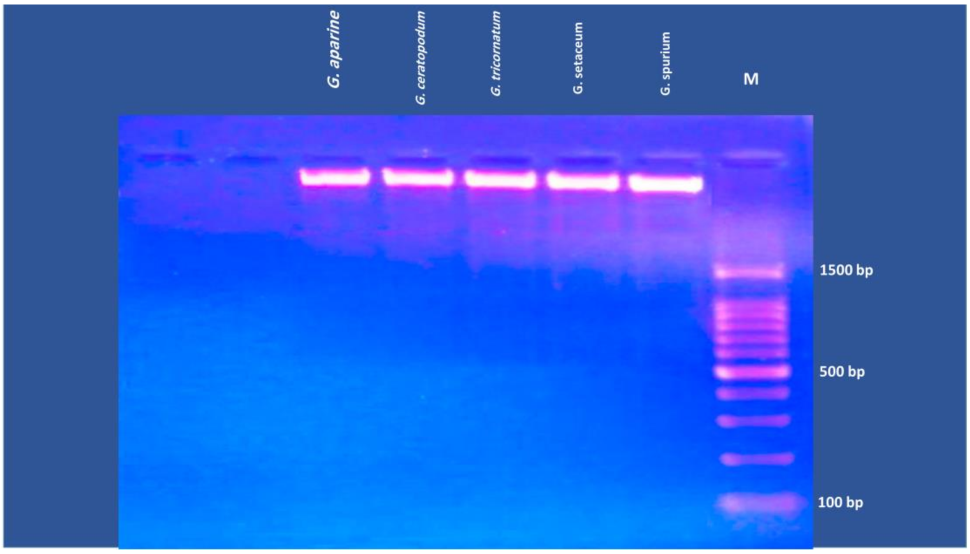
النتائج والمناقشة Results and Discussion

النتائج والمناقشة

1-4 الدراسة الجزيئية Molecular Study

1-1-4 عزل الحامض النووي Genomic DNA Isolation

تم عزل الحامض النووي الجينومي من العينات النباتية من نبات *Galium* وفق الطريقة الموصوفة بواسطة عدة خاصة جاهزة من شركة (Geneaid Biotech. Ltd; Taiwa Company) وكان تركيز الحامض النووي المعزول 873 نانوغرام/ مايكروليتر وبنقاوة مقدارها 1.8 إذ تم تقديرها عن طريق جهاز Bio drop عند الطولين الموجبين 260 و280 نانوميتر وقدر الحجم الجزيئي لعينات الحامض النووي من 100 إلى 1500 زوج قاعدي وتم تحديدها باستعمال 1 % من هلام الاكاروز بالترحيل الكهربائي شكل (1-4) .



شكل(1-4) عينات DNA المعزولة من العينات قيد الدراسة والمرحلة على 1% من هلام الاكاروز لمدة ساعة و15 دقيقة

تم استعمال Agarose gel electrophoresis لتقييم درجة مستوى الحامض النووي المعزول ، ظهر الحامض النووي ذو الحجم الجزيئي الكبير كحزمة واضحة مع حواف حادة، يفصل هلام الاكاروز بالترحيل الكهربائي جزيئات الحامض النووي ذات الأحجام المختلفة، أذ أن الجزيئات الصغيرة تتحرك بسرعة أكبر من الجزيئات أو الحزم ذات الحجم الجزيئي الاكبر، وتشير مواقعها وكثافتها إلى أنها كانت ذات نوعية جيدة وأحجام جزيئية عالية (Sambrook and Russell, 2001).

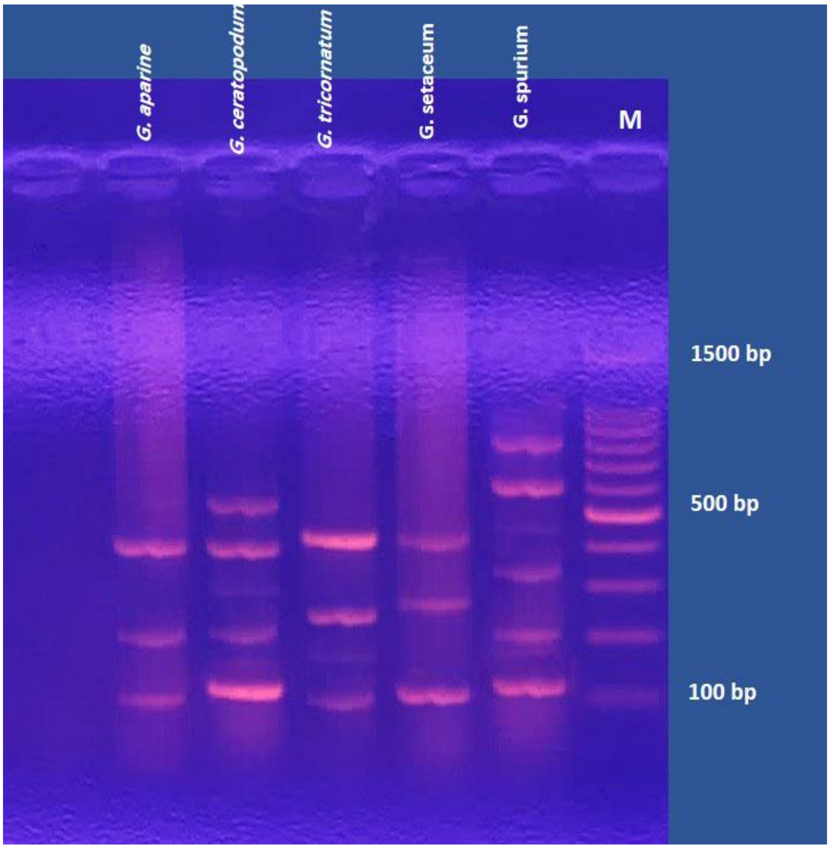
2-1-4 نتائج تضاعف DNA المعتمد على مؤشرات RAPD

أظهرت نتائج الدراسة الحالية باستعمال مؤشرات RAPD التباين بين الأنماط الجينية المدروسة عن طريق وجود حزم أحادية ومتعددة الأشكال وفريدة من نوعها أعطيت بعض البادئات بصمة فريدة لبعض الانواع العائدة للجنس *Galium* البادئات التي أعطت بصمة فريدة من نوعها هي تلك التي أنتجت عدداً كبيراً من الحزم

المتغايرة وهذا يدل على أن كل نوع كان له واحد أو أكثر من التسلسلات المحددة التي لم يتم العثور عليها في النوع الاخر. ويمكن استعمال هذه الحزم بكفاءة كعلامات وراثية لتحديد هذه الانواع (AL-Tamimi, 2014)

1- البادئ OPB18:

تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الانواع قيد الدراسة وأظهر تباينا واضحاً في المواقع والحجم الجزيئي إذ تراوحت إحجامها بين 125-800 زوجا قاعديا، بلغ عدد الحزم المتضاعفة 23 حزمة، وعدد الحزم المتباينة 15 حزمة ، بلغت نسبة التغاير الشكلي 100% وكفاءة البادئ 0.652 في حين أعطى هذا البادئ قدرة تمييزية 23.07%، (شكل4-2) ، جدول (4-1).



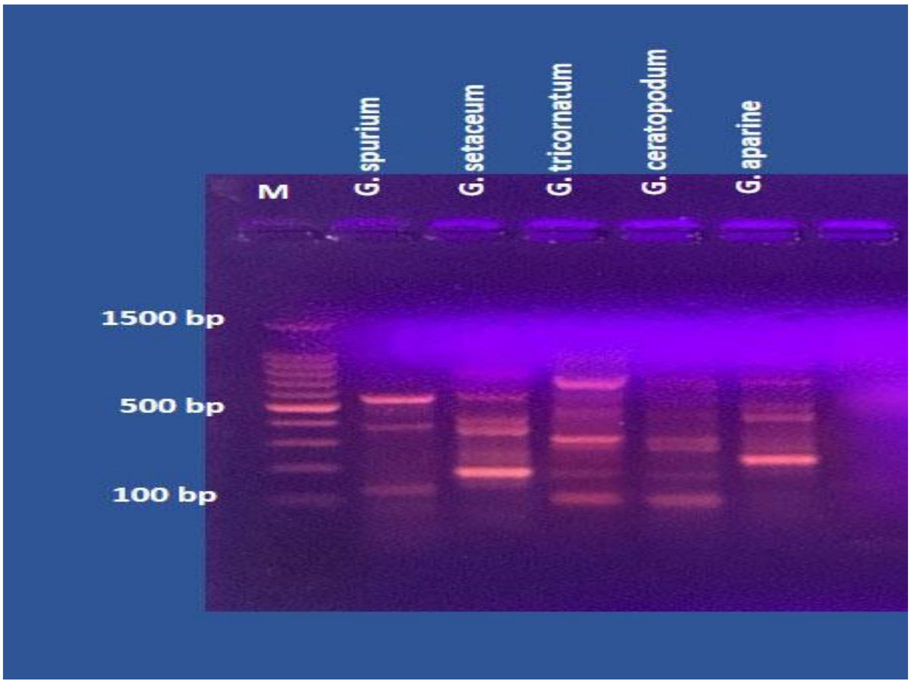
شكل (4-2) يمثل نواتج تضاعف البادئ OPB18 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز 1.5% لمدة ساعة ونصف مع الدليل الحجمي القياسي (M)

جدول (4-1) يمثل نواتج تضاعف البادئ OPB18 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز 1.5% لمدة ساعة ونصف مع الدليل الحجمي القياسي (M)

Molecular size in bp	Primer OPB18				
	G. spurium	*G. setaceum*	*G. tricornatum*	*G. ceratopodum*	*G. aparine*
800	1	0	0	0	0
600	1	0	0	0	0
500	0	0	0	1	0
400	1	0	0	0	0
390	0	1	1	0	0
370	0	0	0	1	1
350	1	0	0	0	0
330	0	0	0	1	0
300	0	1	0	0	0
260	0	0	1	0	0
220	1	0	0	1	1
200	1	0	1	1	0
180	1	0	0	0	0
140	0	1	0	1	0
125	0	0	1	0	1
عدد الحزم في كل تركيب	7	3	4	6	3

2.البادئ OPC2:

تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له فيDNA الانواع قيد الدراسة وأظهر تباينا واضحاً في المواقع والحجم الجزيئي إذ تراوحت إحجامها بين 130-800 زوجا قاعديا، بلغ عدد الحزم المتضاعفة 26 حزمة، وعدد الحزم المتباينة 13 حزم، بلغت نسبة التغاير الشكلي 100% وكفاءة البادئ 0.5 في حين أعطى هذا البادئ قدرة تمييزية 20 % (شكل4-3)، جدول (4-2).



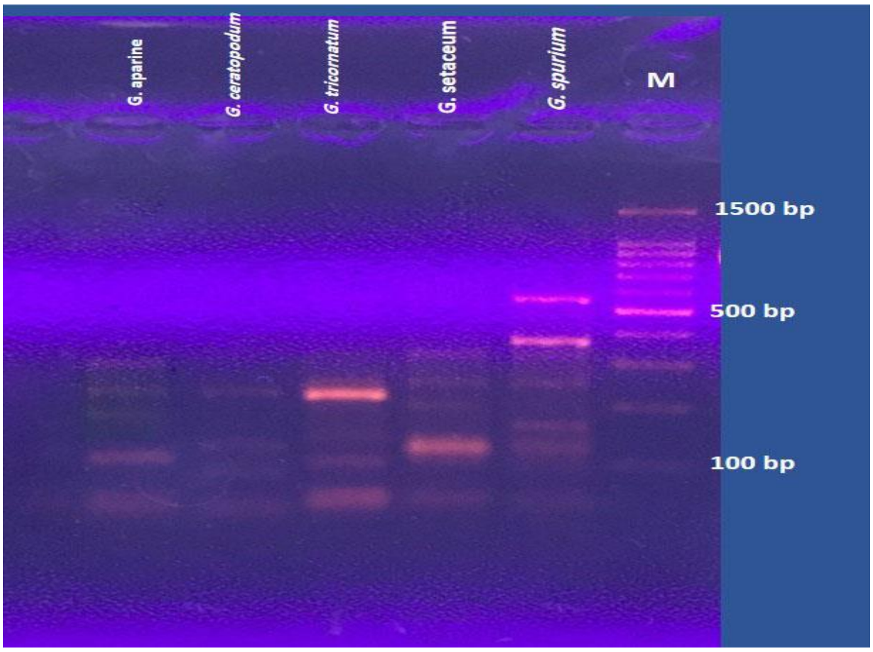
شكل (4-3) نواتج تضاعف البادئ OPC2 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز 1.5% لمدة ساعة ونصف مع الدليل الحجمي القياسي (M)

جدول (4-2) نواتج تضاعف البادئ OPC2 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز 1.5% لمدة ساعة ونصف مع الدليل الحجمي القياسي (M)

Molecular size in bp	Primer **OPC2**				
	G. *spurium*	G. *setaceum*	G. *tricornatum*	G. *ceratopodum*	G. *aparine*
800	0	0	1	1	1
600	1	1	1	0	0
550	0	0	0	1	0
400	0	0	1	1	1
390	0	1	0	0	0
370	1	0	0	0	0
350	0	1	0	0	0
320	0	0	1	1	0
310	0	0	1	1	0
200	0	1	1	1	1
170	0	1	0	0	0
150	1	0	0	0	0
130	0	0	1	1	0

3- البادئ OPB11:

تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له فيDNA الانواع قيد الدراسة وأظهر تباينا واضحاً في المواقع والحجم الجزيئي إذ تراوحت إحجامها بين 100-580 زوجا قاعديا، بلغ عدد الحزم المتضاعفة 23 حزمة، وعدد الحزم المتباينة 13 حزمة ، بلغت نسبة التغاير الشكلي 100% وكفاءة البادئ 0.565 في حين أعطى هذا البادئ قدرة تمييزية 20% شكل (4-4)، جدول (4-3).



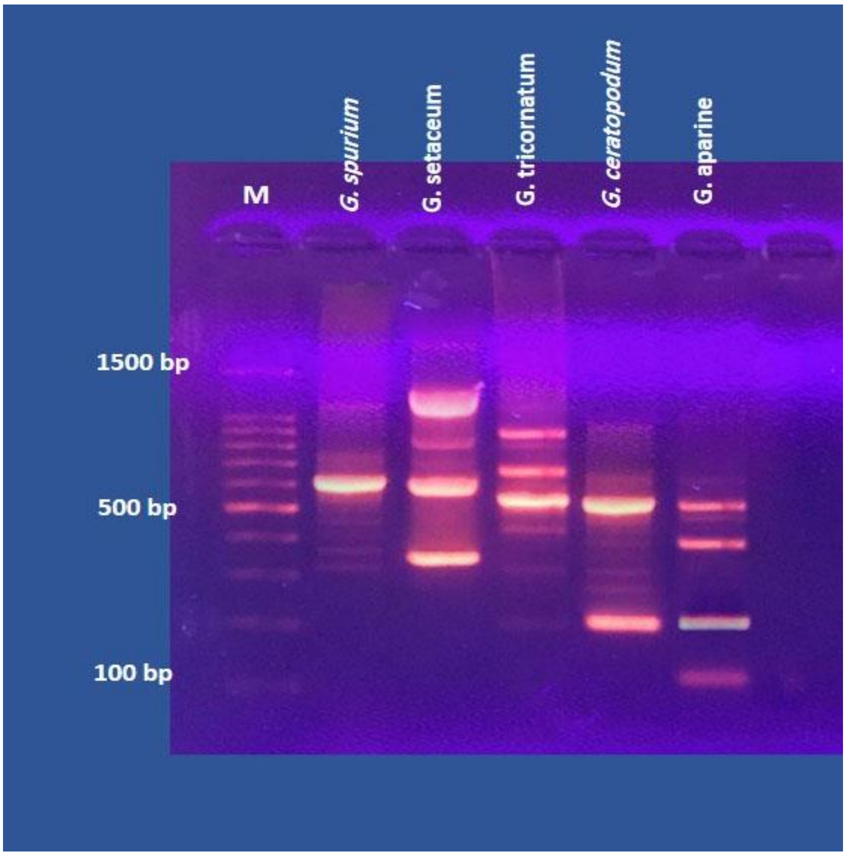
شكل (4-4) نواتج تضاعف البادئ OPB11 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز 1.5% لمدة ساعة ونصف مع الدليل الحجمي القياسي (M)

جدول (4-3) نواتج تضاعف البادئ OPB11 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز 1.5% لمدة ساعة ونصف مع الدليل الحجمي القياسي (M)

Molecular size in bp	Primer **OPB11**				
	G. *spurium*	G. *setaceum*	G. *tricornatum*	G. *ceratopodum*	G. *aparine*
580	1	0	0	0	0
490	1	0	0	0	0
360	0	1	0	0	0
380	0	0	0	0	1
375	1	1	0	0	0
350	0	0	1	1	1
300	0	1	0	0	0
240	1	0	0	0	1
233	1	1	0	1	0
200	0	0	1	0	1
180	0	0	0	1	0
120	1	1	1	0	1
100	0	0	0	1	0

4- البادئ OPC14:

تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له فيDNA الانواع قيد الدراسة وأظهر تباينا واضحاً في المواقع والحجم الجزيئي إذ تراوحت إحجامها بين 100-1200 زوجا قاعديا، بلغ عدد الحزم المتضاعفة 28 حزمة، وعدد الحزم المتباينة 17 حزم، بلغت نسبة التغاير الشكلي 100% وكفاءة البادئ 0.607 في حين أعطى هذا البادئ قدرة تمييزية 26.15% (شكل (4-5)، جدول (4-4).



شكل (4-5) نواتج تضاعف البادئ OPC14 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز 1.5% لمدة ساعة ونصف مع الدليل الحجمي القياسي (M) .

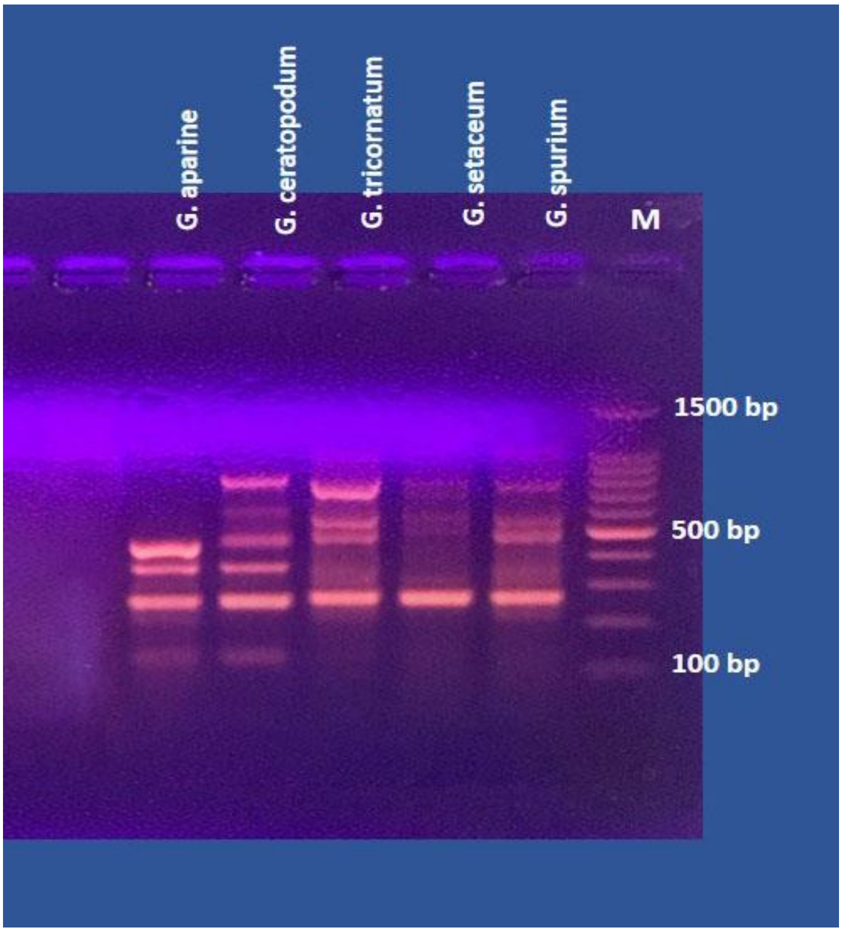
جدول (4-4) نواتج تضاعف البادئ OPC14 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز 1.5% لمدة ساعة ونصف مع الدليل الحجمي القياسي (M) .

Mollecular size in bp	Primer OPC14				
	.G spurium	.G setaceum	.G tricornatum	.G ceratopodum	.G aparine
1200	0	1	0	0	0
1300	0	0	1	0	0
1000	0	0	1	0	0
900	0	1	1	0	0
890	1	1	0	0	0
860	0	0	1	0	0
800	1	1	0	1	1
700	0	0	1	1	1
600	1	0	0	0	0
500	0	0	1	0	0
370	0	0	0	1	1
350	1	0	0	0	0
330	0	1	0	0	0

300	1	0	1	1	0
280	0	0	0	1	0
200	0	0	1	1	1
100	0	0	0	0	1

5.البادئ OPC8:

تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له فيDNA الانواع قيد الدراسة وأظهر تباينا واضحاً في المواقع والحجم الجزيئي إذ تراوحت إحجامها بين 150-800 زوجا قاعديا، بلغ عدد الحزم المتضاعفة 20 حزمة، وعدد الحزم المتباينة 7 حزمة ، بلغت نسبة التغاير الشكلي 87.5% وكفاءة البادئ 0.35 في حين أعطى هذا البادئ قدرة تمييزية 10.76% شكل(4-6)، جدول (4-5).



شكل (4-6) نواتج تضاعف البادئ OPC8 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز 1.5% لمدة ساعة ونصف مع الدليل الحجمي القياسي (M) .

الجدول (4-5) نواتج تضاعف البادئ OPC8 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز 1.5% لمدة ساعة ونصف مع الدليل الحجمي القياسي (M) .

Molecular size in bp	Primer OPC8				
	G. spurium	G. setaceum	G. tricornatum	G. ceratopodum	G. aparine
800	1	0	1	0	0
500	1	1	1	1	0
400	0	0	0	1	0
390	1	1	1	0	0
350	0	0	0	0	1
300	0	0	0	1	1
280	1	1	1	1	1
150	0	0	0	1	1

3-1-4 تحليل نتائج الـRAPD

تم اختيار 5 من البوادئ العشوائية التي أظهرت نواتج تضاعف متباينة بين الانواع النباتية المدروسة إذ بلغت عدد الحزم المتباينة 65 حزمة من أصل 67 حزمة رئيسة وتم الحصول على أعلى عدد من الحزم المتضاعفة هي 28 حزمة من اصل 120 حزمة التي تم الحصول عليها عبر جميع جينومات الانواع قيد الدراسة من قبل البادئ OPC14 وأقل عدد من الحزم المتضاعفة 20 حزمة من قبل البادئ OPC8 وتم الحصول على أعلى عدد من الحزم الرئيسة 71 حزمة من قبل البادئ OPC14 وأقل عدد من الحزم الرئيسة 8 حزمة من قبل البادئ OPC8، وتبين أن الاختلاف في عدد الحزم الرئيسية والمتضاعفة تعود أساساً إلى تركيب البادئ وأن بعض البوادئ يمكنها أن تتعرف على اكبر عدد من مواقع الارتباط وهي أكثر فائدة من البوادئ التي تتعرف على عدد أقل من مواقع الارتباط وفي هذه الحالة سيكون عدد الحزم المتضاعفة أعلى مما يعطي فرصة أفضل للكشف عن تعدد الأشكال للحامض النووي بين الأفراد (Tahir, 2014).

النتائج التي تم الحصول عليها من تحليل RAPD في هذه الدراسة تتفق مع نتائج Dogan *et al.*, (2002)، الذي أفاد بأن عدم الاستقرار الوراثي الناجم عن معاملة النباتات بـ NaCl قد انعكس من خلال التغييرات في صورة RAPD Profile من خلال انخفاض أو زيادة شدة الحزم، واختفاء الحزم ، وظهور حزم جديدة في المعاملات مقارنة مع عينة السيطرة.

يمكن الاستنتاج أنه تم العثور على عدد كبير نسبيا من الحزم مختلفة الاحجام الجزيئية ويمكن استخدامها كمؤشرات.

ويعود الاختلاف في عدد الحزم الناتجة من استعمال كل بادئ إلى الاختلاف في الأحجام الجزيئية لتلك الحزم والتي تعتمد على العدد والمواقع المكملة لتسلسلات البوادئ على شريط DNA، وقد أهملت الحزم الخفيفة جداً ويتفق هذا مع (Roznowski *et al.*, 2020). فضلا عن ذلك فان عدد مواقع ارتباط البادئ بقالب DNA يعتمد على نوع الجينوم ومدى تعرف البادئ على تلك المواقع (Kurata. and Sasaki, 1997). ويوضح التباين المعتمد على الاختلافات في شدة Intensity وتألق الحزم نتيجة ظهور بعض الحزم المتضاعفة معاً في الحجم الجزيئي نفسه فتظهر على شكل حزمة كثيفة واحدة هي بالحقيقة أكثر من حزمة وهي قد تكون ناتجة من حالة Homozygosity إذ يلاحظ تضاعف الموقع نفسه على الاليل الآخر ولها الحجم الجزيئي نفسه لذلك تتجمع القطع المتضاعفة في تلك المواقع معاً (Mahpara *et al.*, 2012). إن الزيادة في تركيز DNA القالب تؤدي إلى تكرار عدد نسخ DNA مما يؤدي إلى تضاعف الموقع نفسه أكثر من مرة بما أن من الصعوبة تحديد التركيز الدقيق للـ DNA لتأثره بعوامل عده لذلك لا يمكن استعمال الاختلاف في سمك الحزم الناتجة كمقياس للتباين الوراثي وتعد مؤشرات الـ RAPD من المؤشرات التي تتبع السيادة التامة وبهذا لا يمكن تقدير عدد الاليلات للموقع الواحد (Al-Hassani,2002) وهذا يتفق مع ما ذكره (Caetano – Anolles, 1997) بعدم الاعتماد على شدة تألق الحزم كمقياس للتباين وذلك لصعوبة ضبط التركيز الدقيق للـ DNA.

أن أعداد الحزم الناتجة والمختلفة بين الأنواع يدل على أن توزيع المواقع المكملة للبادئات المستعملة في مؤشرات الـRAPD لا يكون متساوياً بين الأنواع المدروسة وعليه فأن زيادة عدد الحزم ناتجة من ارتباط البادئات مع تلك المواقع (Williams *et al.*, 1993).إن وجود الحزم المشتركة بين بعض الانواع النباتية فقط دون بقية الانواع يمكن استثمارها بربطها بصفات معينة تشترك بها تلك الأنواع ، فضلا عن ذلك أن وجود الحزم المشتركة هي التي تجعل مؤشرات الـ RAPD أكثر مناسبة من بقية مؤشرات DNA لدراسة العلاقة الوراثية التي تستند على وجود تلك الحزم عند مقارنته للـ RAPD مع مؤشرات أخرى كـ SSR وRFLP فقد وجد بأن الـ RAPD كانت أكثر دقة وذلك لوجود الحزم المشتركة والمفقودة بين الأصناف المدروسة مقارنة الـ SSR والـ RFLP التي تتميز عادة بظهور حزمة أو حزمتين فيها على الأغلب.

وبينت النتائج في هذه الدراسة أن الحجم الجزيئي للحزم الناتجة كانت متنوعة لجميع العينات النباتية العائدة لنبات *Galium* وتراوحت بين (100 – 1200) زوجاً قاعدياً إذ سجل كل من البادئين OPC14 , OPB11 اقل حجم جزيئي والذي بلغ 100 زوج قاعدي إما أعلى حجم جزيئي فقد سجله البادئ OPC14 والذي بلغ 1200 زوج قاعدي، أذ أن هناك علاقة بين حجم القطع المتضاعفة مع تسلسل البادئ المرتبط مع قالبDNA (Mahpara *et al.*, 2012) ويمكن أن تودي عمليات الأدراج والحذف إلى تغيير حجم المنتج المضخم (Fadoul *et al.*, 2013).

أن تعدد الأشكال مع غياب أو وجود الحزم، ازدادت قيمته مع زيادة عدد الحزم المتغايرة (Graham and McNicol, 1995). ويختلف الفرق في مستوى تعدد الأشكال بسبب الاختلاف في عدد الموارد وأصلها وعدد البوادئ المستعملة (Kirpichnikov, and Muske, 1980).

وقد أشارت AL-Judy (2004) أن الجينوم يحتوي على متواليات متطابقة ثابتة تشير إلى حفظ التسلسل للحزم المتماثلة هي نوع من هذا التسلسل والتي تكشف عن الأنماط الجينية التي تنتمي إلى نوع واحد وتشارك بعض تسلسل الجينوم وتختلف عن الأخر(AL-Tamimi, 2014).

أن كفاءة البادئ أظهرت قدرة البادئ لإعطاء نسبة كبيرة من الحزم المتعددة الأشكال وفقاً لعدد من حزم التضخيم وبالتالي فان كفاءة البادئ ليس البادئ الذي أعطى اكبر عدد من الحزم المتضاعفة ولكن القدرة على أظهار الاختلافات بين العينات المدروسة (Newton and Graham, 1997).

عدد البادئات المطلوبة لتحديد الأنواع المختارة يعتمد على قوة التميز مما يعني قدرته على العثور على نمط فريد للأنواع المدروسة وتزداد قوة التمييز في البادئ عن طريق زيادة عدد الأنواع المحددة باستعمال البادئات. أن كفاءة البادئ قد تظهر قدرة البادئ لإعطاء نسبة كبيرة من الحزم المتعددة الأشكال على وفق عدد من نطاقات التضخيم ومن ثم فان كفاءة البادئ ليس البادئ الذي يعطي اكبر عدداً من الحزم المتضاعفة ولكن لديه القدرة على أظهار الاختلافات بين العينات النباتية المدروسة (AL-Tamimi, 2014).

يعد استخدام تقنية RAPD لاكتشاف مؤشرات جزيئية محددة لسمات مهمة اقتصاديا أمراً مهما للتمييز بين الأصناف المختلفة من خلال مقارنة تعدد الأشكال في بصمات الجينومية genomic fingerprints (Islam *et al.*, 2022).

جدول (4-6) يوضح نواتج البادئات من الحزم الرئيسة والمتضاعفة والمتباينة والمتماثلة والمنفردة مع نسب التغاير الشكلي وكفاءتها وقدرتها التمييزية للعينات المدروسة.

ت	البادئ	حجم القطع (زوج قاعدي)	عدد الحزم الرئيسة	عدد الحزم المتضاعفة	عدد الحزم المتغايرة	الحزم المنفردة	التغاير الشكلي %	القدرة التمييزية %	كفاءة البادئ
1	OPB18	125-800	15	23	15	0	100	23.07	0.652
2	OPC2	130-	13	26	13	0	100	20	0.5

		800							
3	OPB11	-100 580	13	23	13	0	100	20	0.565
4	OPC14	-100 1200	17	28	17	0	100	26.15	0.607
5	OPC8	-150 800	8	20	7	1	87.5	10.76	0.35
الكلي			67	120	65	1			

4-1-4 شجرة العلاقة الوراثية

الشجرة الوراثية للنباتات تقدم فوائد عديدة، منها حفظ التنوع الوراثي وتطوير الصفات المرغوبة مثل المقاومة للأمراض والإنتاجية العالية، كما تسهل الترقيم الجيني وتحديد الأصول الوراثية، وتساعد في المحافظة على الأصناف النادرة وتطوير المحاصيل بشكل مستدام، وهي بذلك تعتبر أداة أساسية في تعزيز الزراعة وتحقيق الأمن الغذائي.

كشف التحليل التجميعي (شجرة العلاقة الوراثية) إلى مجموعتين وراثيتين رئيسيتين ضمت المجموعة الأولى اثنان من الانواع النباتية وهما *G. spurium* و *G. setaceumu* في حين ضمت المجموعة الثانية الانواع الثلاثة الاخرى المتبقية وهي *G. tricornatum*, *G. ceratopodum* و*G. aparine* .

أن وجود نسبة من التشابه الوراثي بين الأصناف يعود على الأكثر باشتراكهما بالأليلات نفسها التي انحدر إليها من سلف مشترك ancestor وعلى هذا الأساس تبنى العلاقة الوراثية (Priyanka *et al*., 2013).

إن البعد الوراثي بين الأنماط الجينية وتحديد الأبوين هي مفيدة لانتقاء الآباء المناسبة والوصول إلى أقصى قوة الهجين في برامج التهجين باستعمال مؤشرات RAPD إذ تبين أن هذه الطريقة مفيدة ويمكن استعمالها لتحديد علاقات النشوء والتطور بين الأنواع وكان من المرجح أن تحتوي على ملامح الحامض النووي الأكثر تميزاً على أكبر عدد من الجينات الجديدة(Fadoul *et al*., 2013).

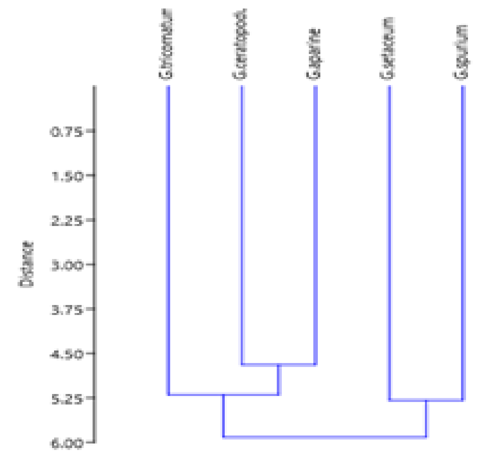
وتبرز أهمية إيجاد البعد الوراثي لمربي النبات الذي يبغي الاستفادة من التحليلات الوراثية بين الأصناف على مستوى DNA، فعلى سبيل المثال يتم اختيار ابعد صنفين عن بعضهما وراثياً كآباء لإجراء عمليات التربية للسماح بالحصول على اكبر عدد ممكن من التغايرات Widest possible crosses وفي حالات أخرى فقد

يرغب المربي إدخال صفة معينة يسيطر عليها جين أو مجموعة من الجينات لصنف معين دون تغيير كبير في المادة الوراثية لذلك الصنف الذي يحوي صفات مرغوبة ففي هذه الحالة يتم اختيار اقرب صنف يحمل تلك الصفة عن الصنف قيد الدراسة وذلك لأنه من الصعوبة إيجاد البعد الوراثي بين الأصناف اعتماداً على الصفات المظهرية (Morgante *et al*., 2002).

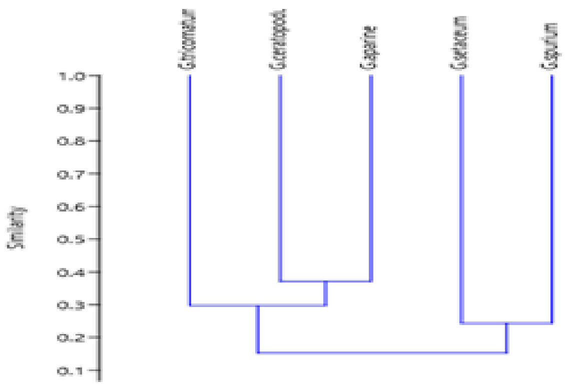
الجدول (4-7) مؤشرات التشابه والاختلاف

	G.spurium	G.setaceum	G.tricornatı	G.ceratopo	G.aparine
G.spurium	0	5.2915026	5.9160798	6.244998	5.9160798
G.setaceum	5.2915026	0	5.5677644	6.0827625	5.7445626
G.tricornatı	5.9160798	5.5677644	0	5.2915026	5.0990195
G.ceratopo	6.244998	6.0827625	5.2915026	0	4.6904158
G.aparine	5.9160798	5.7445626	5.0990195	4.6904158	0

	G.spurium	G.setaceum	G.tricornatı	G.ceratopo	G.aparine
G.spurium	1	0.24324324	0.18604651	0.15217391	0.125
G.setaceum	0.24324324	1	0.20512821	0.13953488	0.10810811
G.tricornatı	0.18604651	0.20512821	1	0.31707317	0.27777778
G.ceratopo	0.15217391	0.13953488	0.31707317	1	0.37142857
G.aparine	0.125	0.10810811	0.27777778	0.37142857	1



شكل (4-7) شجرة العلاقة الوراثية Dendrogram بين الانواع النباتية المدروسة باستعمال تحليل الـ RAPD



شكل (4-8) شجرة نسبة التشابه بين الانواع النباتية المدروسة باستعمال تحليل الـ RAPD

2-4 الدراسة الكيميائية Chemical study

استعملت تقنية الـ GC –Mass لمعرفة المحتوى الكيميائي للمستخلصات النباتية وهي المستخلص الايثانولي لاوراق العينات النباتية العائدة لنبات *Galium*.

اذ تعد المركبات الكيميائية دليلاً للعلاقات بين المراتب التصنيفية المختلفة اضافةً الى أهميتها من الناحية البيولوجية ،وقد أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود تغايرات واضحة من حيث أنواع واعداد المركبات الكيميائية في كل مستخلص من المستخلصات المذكورة أعلاه بعد التأكد منها من خلال المقارنة مع المكتبة الالكترونية الكيميائية من حيث زمن الاحتجاز Retention time ،الكتلة الدقيقة لكل مركب Exact mass ، التركيب الكيميائي Chemical structure ،الصيغة الجزيئية Molecular formula ، الوزن الجزيئي Molecular weight ،ونوع المركب الكيميائي *Classification*.

تم أحصاء عشر مركبات لكل نوع ماعدا النوع *G. setaceum* أحدى عشر مركب وسجل أقل وقت أحتجاز في النوع G.spurim في وقت (13.499) بينما سجل أعلى وقت أحتجاز في النوع *G.ceratopodum* والبالغ (46.608) وقد تم أحصاء المركبات التاليه لكل نوع كالتالي:

تم أحصاء عشر مركبات لكل نوع ماعدا النوع(G. setaceum)أحدى عشر مركب وسجل أقل وقت أحتجاز في النوع G.spurim في وقت(13.499)بينما سجل أعلى وقت أحتجاز في النوع G.ceratopodum والبالغ(46.608) وقد تم أحصاء المركبات التاليه لكل نوع كالتالي:

1- *G. aparine*

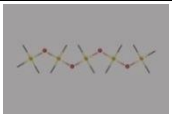
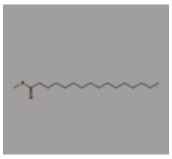
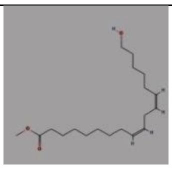
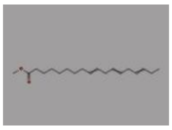
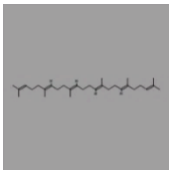
توصلت الدراسة الحالية الى رصد عشر أنواع من المركبات الكيميائية في المستخلص الايثانولي لنبات G. aparine وبحسب زمن الاحتجاز بالدقيقة وعلى التوالي 17.780 ،25.511، 28.167، 28.271 ، 37.828 ، 40.859 ، 41.289 ، 43.546 ، 43.863 ، 45.181 ، اما المركبات الكيميائية فقط ظهرت كلاتي :-

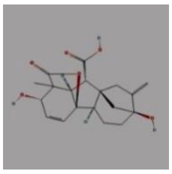
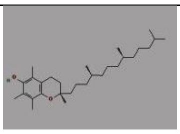
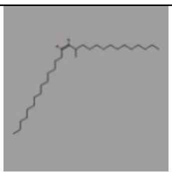
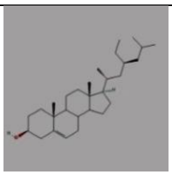
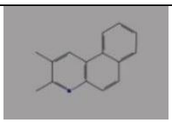
Hexadecanoic acid, ؛ Pentasiloxane, dodecamethyl- Dodecamethylpentasiloxane methyl ester (CAS) Methyl palmitate Methyl hexadecanoate Methyl n-Octadecatrienoic -9,12,15 ؛ Octadecadienoic acid, methyl este-9,12 ؛ hexadecanoate -2,6,10,14,18,22 ؛ acid, methyl ester (CAS) Methyl 9,12,15-octadecatrienoate Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl- (CAS) Squalene Skvalen Gibberellin A3 Gibb-3-ene-1,10-dicarboxylic acid, 2,4a,7- ؛ Supraene S Methyl--13 ؛ Vitamin e ؛ trihydroxy-1-methyl-8-methylene-, 1,4a-lactone, (1.alpha S)-ethylcholest-5-en-3.beta.-ol Cholest-5-en-3-ol, 23-ethyl-, 23) ؛ Z-14-nonacosene (3.beta.,23S)- (CAS ؛ dimethyl-4-azaphenanthrene-1,3. ومن النتائج اعلاه يتضح لنا اقل زمن احتجاز عند المركب Pentasiloxane, dodecamethyl- Dodecamethylpentasiloxane وبلغ

(17.780) دقيقة ، بينما سجل اعلى زمن احتجاز عند المركب 1,3-dimethyl-4-azaphenanthrene وبلغ (45.181) وقد ادرجت قراءة جهاز المطياف الغازي للمركبات الفعالة في مستخلص نبات G. aparin

و يحتوي هذا النبات على مجموعة متنوعة من المواد الفعالة ، ففي دراسة اجراها Ilina et al (2019) وجد ان هذا النوع يحتوي على مشتقات حمض الهيدروكسيناميك والفلافونويدات والبوليفينول والإيريدويدات. يتكون المركب المحب للدهون لعشب G. aparine من سيسكيتربينويدات، ومركبات عطرية، وألكانات أعلى، وأحماض دهنية، وكلوروفيل، وكاروتينات، وإيريدويدات (Goryacha *et al*., 2014) . لقد ثبت أن المكون الرئيسي لـ G. aparine، وهو الأسارون، فعال في علاج الاضطرابات العصبية ويمتلك تأثيرات وقائية عصبية (Kim *et al*., 2022). بالإضافة إلى ذلك، فإن مستخلص G. aparine له تأثيرات مضادة للتكاثر وموت الخلايا المبرمج على خلايا سرطان الثدي ويمكن أن يقلل من إفراز السايتوكينات المؤيدة لتكوين الأوعية (Atmaca *et al*., 2017). وكذلك فان كيرسيتين، ولوتولين، وأبيجينين، وهيسبيريتين، وليناررين، وكايمبفيرول-3-نيو هيسبيريدوز، وتاماريكسيتين-3-روتينوسايد، وهيسبيريدين هي بعض المكونات الكيميائية الموجودة في هذا النوع (Li et al., 2010).

جدول (4-8) التحليل الكيميائي لمستخلص النبات *G. aparine*

No.	Chemical name	Retention time	Chemical structure	Molecular formula	Molecula r weight
1	Pentasiloxane, dodecamethyl- Dodecamethylpentasiloxane	17.780		C12H36O4Si5	384.84
2	Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate Methyl hexadecanoate Methyl n-hexadecanoate	25.511		C17H34O2	270.5
3	9,12-Octadecadienoic acid, methyl este	28.167		C19H34O3	310.5
4	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester (CAS) Methyl 9,12,15-octadecatrienoate	28.271		C19H32O2	292.5
5	2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl- (CAS) Squalene Skvalen Supraene S	37.828		C30H50	410.7

6	Gibberellin A3 Gibb-3-ene-1,10-dicarboxylic acid, 2,4a,7-trihydroxy-1-methyl-8-methylene-, 1,4a-lactone, (1.alpha	40.859		C19H22O6	346.4
7	Vitamin e	41.289		C29H50O2	430.7
8	13-Methyl-Z-14-nonacosene	43.546		C30H60	420.8
9	(23S)-ethylcholest-5-en-3.beta.-ol Cholest-5-en-3-ol, 23-ethyl-, (3.beta.,23S)-(CAS	43.863		C29H50O	414.7
10	1,3-dimethyl-4-azaphenanthrene	45.181		C15H13N	207.27

G. ceratopodum -2

تم رصد عشر انواع من المركبات الكيمائية في المستخلص الايثانولي لنبات G. ceratopodum ومعظمها ذات خصائص بيولوجية وبحسب زمن الاحتجاز بالدقيقة وعلى التوالي 14.148 ، 17.780 ، 24.037 ، 25.506 ، 28.266 ، 37.823 ، 41.289 ، 43.863 ، 45.181 ، 46.608 ، كما في الجدول (3-2) وهذه المركبات هي:-

Cyclohexasiloxane, dodecamethyl- Dodecamethylcyclohexasiloxane

Azaestra-1,3,5(10),6,8-pentaen-17-one, 3-methoxy- (CAS) 3-METHOXY-6--6 ؛ AZA-1,3,5(10),6,8(9)-ESTRAPEN

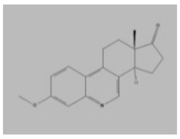
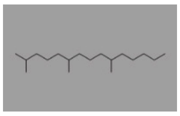
؛ NEOPHYTADIENE 2,6,10-TRIMETHYL,14-ETHYLENE-14-PENTADECNE ؛ Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate Methyl Octadecatrienoic acid, methyl -9,12,15 ؛ hexadecanoate Methyl n-hexadecanoate ester, (Z,Z,Z)- Linolenic acid, methyl ester Methyl all-cis-9,12,15-C30H50 37.8232,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-410.7 ؛ octadec hexamethyl- (CAS) Squalene Skvalen Supraene S6

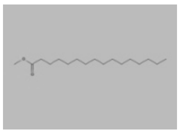
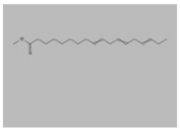
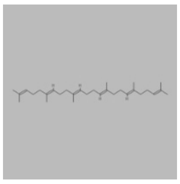
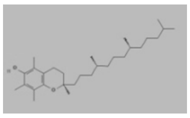
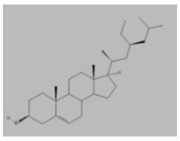
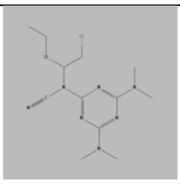
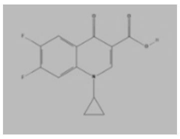
S)-ethylcholest-5-en-3.beta.-ol Cholest-5-en-3-ol, 23-ethyl-, 23) ؛ Vitamin e C12H20ClN7O 45.181N-Cyano-N',N',N",N"-313.79 ؛ ((3.beta.,23S)- (CAS Quinolinecarboxylic acid, 6,7-difluoro-1,4--3 ؛ tetramethyl-1,3,5-triazinetriamine9 dihydro-4-oxo-, ethyleste

حيث سجل المركب Cyclohexasiloxane, dodecamethyl- Dodecamethylcyclohexasiloxane اقل زمن احتجاز بلغ (14.148)دقيقة ، بينما بلغ اعلى زمن احتجاز (46.608) دقيقة عند المركب Quinolinecarboxylic acid, 6,7-difluoro-1,4-dihydro-4-oxo-, -3 ethyleste ، وقد ادرجت قراءة جهاز المطياف الغازي للمركبات الفعالة في مستخلص نبات *G. ceratopodum*

ونتيجة لاحتوائه على هذه المركبات فقد وجد ان له تأثيرات علاجية على حالات مختلفة. لقد وجد أنه يعزز التئام الجروح عن طريق زيادة هجرة البشرة وتكوين الأنسجة الحبيبية والأوعية الدموية داخل الأنسجة (Seo and Roh, 2001). بالإضافة إلى ذلك، يمتلك G. ceratopodum تأثيرات وقائية للكبد ومضادة للتليف، مما يجعله علاجًا محتملاً لالتهاب الكبد وتليفه (Su *et al.*, 2013) . علاوة على ذلك، فقد ثبت أنه أقل سمية كلوية من السيكلوسبورين، مما يجعله عامل مثبط للمناعة واعدًا مع مؤشر علاجي أعلى (Limbach *et al.*, 2022) . كما و يُظهر *G. ceratopodum* خصائص مضادة للأكسدة ومضادة للالتهابات، والتي يمكن أن تكون مفيدة في علاج الأمراض المختلفة المرتبطة بالإجهاد التأكسدي، مثل أمراض التنكس العصبي، وإصابة عضلة القلب، وتلف الكبد (De *et al.*, 2020).

الجدول (4-9) التحليل الكيميائي لمستخلص نبات *G. ceratopodum*

No.	**Chemical name**	**Retention time**	**Chemical structure**	**Molecular formula**	**Molecular weight**
1	Cyclohexasiloxane, dodecamethyl- Dodecamethylcyclohexasiloxane 73.0	14.148		$C_{12}H_{36}O_6Si_6$	444.92
2	6-Azaestra-1,3,5(10),6,8-pentaen-17-one, 3-methoxy- (CAS) 3-METHOXY-6-AZA-1,3,5(10),6,8(9)-ESTRAPEN	17.780		$C_{18}H_{19}NO_2$	281.3
3	NEOPHYTADIENE 2,6,10-TRIMETHYL,14-ETHYLENE-14-PENTADECNE	24.037		$C_{18}H_{38}$	254.5

4	Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate Methyl hexadecanoate Methyl n-hexadecanoate	25.506		C17H34O2	270.5
5	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)- Linolenic acid, methyl ester Methyl all-cis-9,12,15-octadec	28.266		C19H32O2	292.5
6	2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl- (CAS) Squalene Skvalen Supraene S	37.823		C30H50	410.7
7	Vitamin e	41.289		C29H50O2	430.7
8	(23S)-ethylcholest-5-en-3.beta.-ol Cholest-5-en-3-ol, 23-ethyl-, (3.beta.,23S)- (CAS)	43.863		C29H50O	414.7
9	N-Cyano-N',N',N",N"-tetramethyl-1,3,5-triazinetriamine	45.181		C12H20ClN7O	313.79
10	3-Quinolinecarboxylic acid, 6,7-difluoro-1,4-dihydro-4-oxo-, ethyleste	46.608		C13H9F2NO3	265.21

G. setaceum -3

وجدت الدراسة الحالية احدى عشر نوعاً من المركبات الكيميائية في مستخلص الايثانولي لنبات G. Setaceum وبحسب زمن الاحتجاز وعلى التوالي 14.163 ، 17.780 ، 24.042 ، 25.505 ، 28.167 ، 28.463 ، 28.655 ، 37.834 ، 41.295 ، 42.991 ، 43.873 ، وهذا المركبات هي كالتالي:-

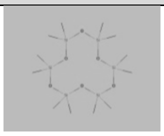
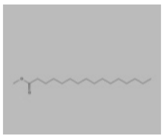
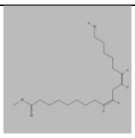
Cyclohexasiloxane, dodecamethyl- Dodecamethylcyclohexasiloxane ؛ Pentasiloxane, dodecamethyl- Dodecamethylpentasiloxane ؛ NEOPHYTADIENE

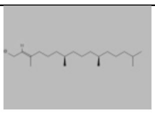
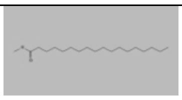
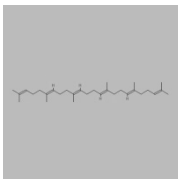
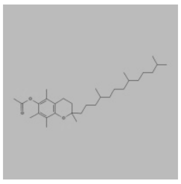
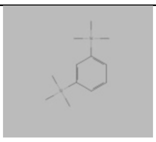
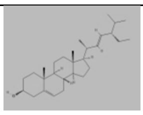
Hexadecanoic acid, ، 2,6,10-TRIMETHYL,14-ETHYLENE-14-PENTADECNE methyl ester Palmitic acid, methyl ester n-Hexadecanoic acid methyl ester Phytol ، Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester-9,12 ، Metholene 2 Tetracosahexaene, -2,6,10,14,18,22 ، Octadecanoic acid, methyl ester ، Vitamin e ، 2,6,10,15,19,23-hexamethyl- (CAS) Squalene Skvalen Supraene S dl-.alpha.-Tocopherol 2H-1-Benzopyran-6-ol, 3,4-dihydro-2,5,7,8-tetramethyl-2- Stigmasterol, 22,23- ، Bis(trimethylsilyl)benzene-1,3 ، (4,8,12-trimethyltridecyl -dihydro

وتبين من خلال النتائج اعلاه ان المركب Cyclohexasiloxane, dodecamethyl- Dodecamethylcyclohexasiloxaneسجل اقل زمن احتجاز بلغ (14.163) دقيقة بينما سجل المركب Stigmasterol, 22,23-dihydro-اعلى زمن احتجاز وبلغ(43.873)

هذه المركبات جعلت له استخدامات طبية مختلفة، اذ يتم استخدامه في الطب التقليدي لعلاج الجروح والقروح وحب الشباب ومشاكل الجلد. كما أن له خصائص مهدئة ومدرة للبول ومضادة للبكتيريا ومضادة للأورام ومضادة للأكسدة (Jan et al., 2018).

الجدول (4-10) التحليل الكيميائي لمستخلص نبات *G. Setaceum*

No.	Chemical name	Retention time	Chemical structure	Molecular formula	Molecular weight
1	Cyclohexasiloxane, dodecamethyl- Dodecamethylcyclohexasiloxane	14.163		C12H36O6Si6	444.92
2	Pentasiloxane, dodecamethyl- Dodecamethylpentasiloxane	17.780		C12H36O4Si5	384.84
3	NEOPHYTADIENE 2,6,10-TRIMETHYL,14-ETHYLENE-14-PENTADECNE	24.042		C18H38	254.5
4	Hexadecanoic acid, methyl ester Palmitic acid, methyl ester n-Hexadecanoic acid methyl ester Metholene 2	25.505		C17H32O2	270.5
5	Octadecadienoic acid -9,12 (Z,Z)-, methyl ester	28.167		C19H34O3	310.5

6	Phytol	28.463		C20H40O	296.5
7	Octadecanoic acid, methyl ester	28.655		C19H34O3	296.5
8	-2,6,10,14,18,22 Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl- (CAS) Squalene Skvalen Supraene S	37.834		C30H50	326.6
9	Vitamin e dl-.alpha.-Tocopherol 2H-1-Benzopyran-6-ol, 3,4-dihydro-2,5,7,8-tetramethyl-2-(4,8,12-trimethyltridec	41.295		C31H52O3	472.7
10	Bis(trimethylsilyl)benzene-1,3	42.991		C12H22Si2	222.47
11	Stigmasterol, 22,23-dihydro-	43.873		C29H48O	412.7

G. spurium -4

سجلت عشر انواع من المركبات الكيميائية في مستخلص الايثانولي لنبات *G. spurium* وبحسب زمن لاحتجاز بالدقيقة وعلى التوالي 13.499 ، 17.780 ، 24.037 ، 25.511 ، 28.276 ، 37.829 ، 41.295 ، 42.991 ، 43.873 ، 44.797 ، والمركبات الكيميائية وجدت كالاتي :-

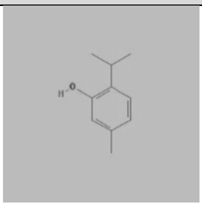
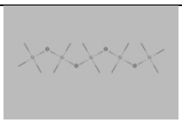
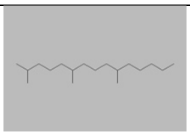
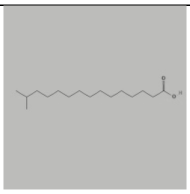
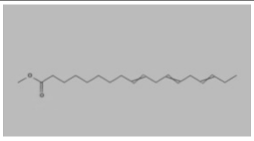
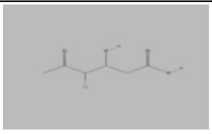
Abundance#46669: Phenol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)- (CAS) Thymol m-Thymol
Pentasiloxane, dodecamethyl- ؛ p-Cymen-3-ol Thyme camphor 3-Hydrox
NEOPHYTADIENE 2,6,10-TRIMETHYL,14- ؛ Dodecamethylpentasiloxane
Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester ؛ ETHYLENE-14-PENTADECNE
-9,12,15 ؛ (CAS) METHYL 14-METHYL-PENTADECANOATE 14-METHY
Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)- Linolenic acid, methyl ester Methyl
Vitamin ؛ Geranyloxy-3-hydroxy-5-methoxyphthalaldehyde-4 ؛ all-cis-9,12,15-octade
e dl-.alpha.-Tocopherol 2H-1-Benzopyran-6-ol, 3,4-dihydro-2,5,7,8-tetramethyl-2-
Cyclohexadien-1-one, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4--2,4 ؛ (4,8,12-trimethyltridecyl

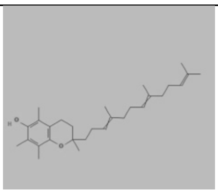
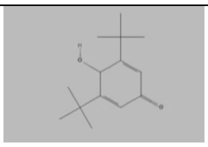
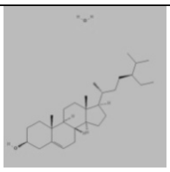
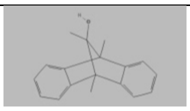
Methanoanthracen-11-ol, 9,10-dihydro-9,10,11--9,10 ؛ gamma.-Sitosterol. ؛ -hydroxy -trimethyl

واتضح ان المركب Abundance#46669 Phenol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)- (CAS) 3-Hydrox Thyme camphor p-Cymen-3-ol m-Thymol Thymolسجل اقل زمن احتجاز وبلغ (13.499) دقيقة في حين سجل المركب Methanoanthracen-11-ol, 9,10-dihydro-9,10- 9,10,11-trimethyl-اعلى زمن احتجاز وبلغ(44.797) . وقد ادرجت قراءة جهاز المطياف الغازي للمركبات الفعالة في مستخلص نبات *G.spurium*

تم استخدام *G. spurium* في الطب الشعبي لعلاج آلام العظام والأوتار، والبيلة الدموية، وكعامل مضاد للسرطان. تم الإبلاغ عن أن له نشاطًا منبهًا للمناعة ومضادًا للاورام (Yang et al., 2011).

الجدول (4-11) التحليل الكيميائي لمستخلص نبات *G. spurium*

No.	Chemical name	Retention time	Chemical structure	Molecular formula	Molecula r weight
1	Abundance#46669: Phenol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)- (CAS) Thymol m-Thymol p-Cymen-3-ol Thyme camphor 3-Hydrox	13.499		C10H14O	150.22
2	Pentasiloxane, dodecamethyl- Dodecamethylpentasiloxane	17.780		C12H36O4Si5	384.84
3	NEOPHYTADIENE 2,6,10-TRIMETHYL,14-ETHYLENE-14-PENTADECNE	24.037		C18H38	254.5
4	Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester (CAS) METHYL 14-METHYL-PENTADECANOATE 14-METHY	25.511		C16H32O2	256.42
5	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)- Linolenic acid, methyl ester Methyl all-cis-9,12,15-octade	28.276		C19H32O2	292.5
6	Geranyloxy-3-hydroxy-5--4 methoxyphthalaldehyde	37.829		C7H12O3	168.15

7	Vitamin e dl-.alpha.-Tocopherol 2H-1-Benzopyran-6-ol, 3,4-dihydro-2,5,7,8-tetramethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl	41.295		C45H80O3	424.7
8	2,4-Cyclohexadien-1-one, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-	42.991		C14H22O2	222.32
9	gamma.-Sitosterol.	43.873		C29H52O2	432.7
10	9,10-Methanoanthracen-11-ol, 9,10-dihydro-9,10,11-trimethyl-	44.797		C18H18O	250.3

G. tricornatum -5

تبين من خلال نتائج الدراسة الحالية عشر انواع من المركبات الكيميائية في المستخلص الميثانولي لنبات *G. tricornatum* وبحسب زمن لاحتجاز بالدقيقة وعلى التوالي 14.148 ، 17.780 ، 24.037 ، 25.500 ، 28.261 ، 28.447 ، 37.823 ، 41.289 ، 43.821 ، 44.024 ، والمركبات الكيميائية ظهرت كالاتي :-

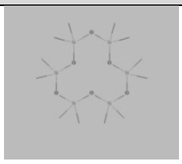
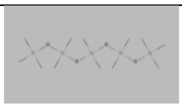
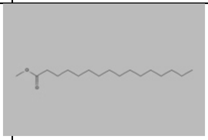
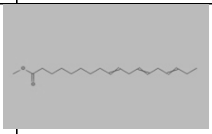
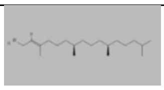
؛ Cyclohexasiloxane, dodecamethyl- Dodecamethylcyclohexasiloxane
NEOPHYTADIENE ؛ Pentasiloxane, dodecamethyl- Dodecamethylpentasiloxane
Hexadecanoic acid, ؛ 2,6,10-TRIMETHYL,14-ETHYLENE-14-PENTADECNE
methyl ester (CAS) Methyl palmitate Methyl hexadecanoate Methyl n-
Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)- Linolenic -9,12,15 ؛ hexadecanoate
-2,6,10,14,18,22 ؛ Phytol ؛ acid, methyl ester Methyl all-cis-9,12,15-octadec
Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl- (CAS) Squalene Skvalen
Stigmasta-7,16-dien-3-ol, (3.beta.,5.alpha.)- 5.alpha.- ؛ Vitamin e ؛ Supraene S
4,4,6a,6b,8a,11,11,14b-؛ -Stigmasta-7,16-dien-3.beta.-ol Elasterol, 25,26-dihydro
Octamethyl-1,4,4a,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,11,12,12a,14,14a,14b-octadecahydro-2H-picen-3-o

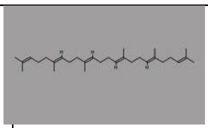
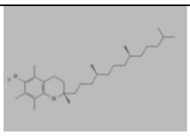
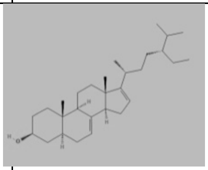
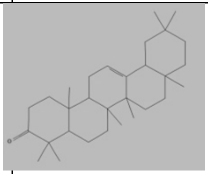
حيث وجد اقل زمن احتجاز عند المركب Cyclohexasiloxane, dodecamethyl- Dodecamethylcyclohexasiloxaneوبلغ (14.148) دقيقة بينما سجل المركب

a,6b,8a,11,11,14b-Octamethyl-4,4,6
1,4,4a,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,11,12,12a,14,14a,14b- octadecahydro-2H-picen-3-o اعلى زمن احتجاز وبلغ (44.024) .

وكذلك تشمل المركبات الفعالة لـ *G. tricornatum* المركبات النشطة بيولوجيًا الموجودة في الجزء الجوي منها والبذور. يحتوي الجزء الجوي من *G. tricornatum* على مستقلبات ثانوية، بإجمالي 23 مركبًا تم تحديدها في مستخلص الميثانول الخام. ومن بين هذه المركبات، تم العثور على 7 مركبات تحتوي على نوع من السمية (Khan *et al*., 2022). تحتوي بذور هذا لنوع على أحماض دهنية، مع 5 أحماض دهنية تم تحديدها في المستخلص (Tabassum and Ahmad, 2021). كما و أظهرت هذه المركبات إمكانات بيولوجية، بما في ذلك النشاط المضاد للبكتيريا والسمية الخلوية ضد خطوط الخلايا السرطانية. أظهر جزء الكلوروفورم من هذا النوع أكبر منطقة تثبيط ضد البكتيريا، في حين أظهر جزء أسيتات الإيثيل سمية خلوية كبيرة ضد خطوط الخلايا السرطانية (Xu *et al*., 2021). وبناءً على النتائج، يمكن استنتاج أن *G. tricornatum* مصدر غني بالمركبات النشطة بيولوجيًا ذات التطبيقات العلاجية المحتملة .

الجدول (4-12) التحليل الكيميائي لمستخلص *G. tricornatum*

No.	Chemical name	Retention time	Chemical structure	Molecular formula	Molecular weight
1	Cyclohexasiloxane, dodecamethyl- Dodecamethylcyclohexasiloxane	14.148		C12H36O6Si6	444.92
2	Pentasiloxane, dodecamethyl- Dodecamethylpentasiloxane	17.780		C12H36O4Si5	384.84
3	NEOPHYTADIENE 2,6,10-TRIMETHYL,14-ETHYLENE-14-PENTADECNE	24.037		C18H38	254.5
4	Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate Methyl hexadecanoate Methyl n-hexadecanoate	25.500		C17H34O2	270.5
5	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)- Linolenic acid, methyl ester Methyl all-cis-9,12,15-octadec	28.261		C19H32O2	292.5
6	Phytol	28.447		C20H40O	296.5

7	2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl- (CAS) Squalene Skvalen Supraene S	37.823		C30H50	410.7
8	Vitamin e	41.289		C29H50O2	430.7
9	Stigmasta-7,16-dien-3-ol, (3.beta.,5.alpha.)- 5.alpha.-Stigmasta-7,16-dien-3.beta.-ol Elasterol, 25,26-dihydro-	43.821		C29H48O	412.7
10	4,4,6a,6b,8a,11,11,14b-Octamethyl-1,4,4a,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,11,12,12a,14,14a,14b-octadecahydro-2H-picen-3-o	44.024		C30H48O	424.7

من خلال احصائية النتائج المختبريه والتحليل الكيميائي للانواع المؤخوذه من نبات الغاليوم وجدنا ان هناك مركبات مشتركه بين الانواع الخمسه المؤخذه والتي وكما تبين في الجدول:

- وجد ان المركب لاول(+ + + _ + Pentasiloxane, dodecamethyl- (Dodecamethylpentasiloxane مشترك في النوع G. aparine والنوع G. setaceum والنوع G. spurium والنوع G. tricornatum •كما أن المركب الثاني(Hexadecanoic acid, methyl ester Methyl n-hexadecanoate Methyl hexadecanoate Methyl palmitate (CAS)) كان في النوع G. aparine و G. ceratopodum وأيضا G. setaceum

- وكذلك المركب الثالث(2,6,10,14,18,22- Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl- (CAS) Squalene Skvalen Supraene S)) تم احصاءه في G. aparine و G. ceratopodum مع G. setaceum و G. tricornatum

- و المركب الرابع(Vitamin e) مشترك بين G. aparine و G. ceratopodum والنوع G. tricornatum

- وتم احصاءه المركب الخامس((Cholest-5-en-3-ol, 23-23 S)-ethylcholest-5-en-3.beta.-ol (CAS ethyl-, (3.beta.,23S)-) في النوع G. aparine والنوع G. ceratopodum

- وأيضاً المركب السادس(Dodecamethylcyclohexasiloxane - Cyclohexasiloxane,) في G. ceratopodum وايضا G. setaceum و G. tricornatum

- وان المركب السابع(-2,6,10-TRIMETHYL,14-ETHYLENE-14 NEOPHYTADIENE PENTADECNE) موجود في النوع G. ceratopodum وايضاً G. setaceum والنوع G. spurium و G. tricornatum

• وجد كذلك المركب الثامن(Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)- Linolenic acid, -9,12,15 Methyl all-cis-9,12,15-octadec methyl ester) تم وجوده في النوع G. ceratopodum وأيضا G. spurium وفي النوعG. tricornatum •وأيضآ تم احصاء المركب التاسع (2,6,10,14,18,22- Tetracosahexaene، ص،S-6,10,15,19,23 Squalene Skvalen Supraene (CAS) (hexamethyl- في النوع G. ceratopodum و G. setaceum وكذلك G. tricornatum • وأن المركب العاشر (-dl Vitamin e .alpha.-Tocopherol 2H-1-Benzopyran-6-ol, 3,4-dihydro-2,5,7,8-tetramethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl) متم احصاءه في G. setaceum مع النوع G. spurium

• وأخيرا المركب الحادي عشر (Phytol) كان في النوع G. setaceum وايظا النوع G. tricornatum

الجدول (4-13) المركبات الكيميائية المشتركة بين انواع النباتات

أنواع / مركبات	G. aparin	G.ceratopodum	G.setaceum	G.spurium	G. tricornatum
Pentasiloxane, dodecamethyl- Dodecamethylpentasiloxane	+	–	+	+	+
Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate Methyl hexadecanoate Methyl n-hexadecanoate	+	+	+	–	–
2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl- (CAS) Squalene Skvalen Supraene S	+	+	+	–	+
Vitamin e	+	+	–	–	+
(23S)-ethylcholest-5-en-3.beta.-ol Cholest-5-en-3-ol, 23-ethyl-, (3.beta.,23S)- (CAS	+	+	–	–	–
Cyclohexasiloxane, dodecamethyl- Dodecamethylcyclohexasiloxane	–	+	+	–	+
NEOPHYTADIENE 2,6,10-TRIMETHYL,14-ETHYLENE-14-PENTADECNE	–	+	+	+	+

9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)- Linolenic acid, methyl ester Methyl all-cis-9,12,15-octadec	–	+	–	+	+
2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl- (CAS) Squalene Skvalen Supraene S	–	+	+	–	+
Vitamin e dl-.alpha.-Tocopherol 2H-1-Benzopyran-6-ol, 3,4-dihydro-2,5,7,8-tetramethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl	–	–	+	+	–
Phytol	–	–	+	–	+

من خلال احصائية النتائج المختبريه والتحليل الكيميائي للانواع المؤخوذه من نبات الغاليوم وجدنا أن هناك مركبات غير مشتركه بين الانواع الخمسه المؤخوذه والتي وكما تبين في الجدول:

. وجد ان المركب الاول(Octadecanoic acid, methyl ester) موجود فقط في النوع G. setaceum ، و ان المركب الثاني(Bis(trimethylsilyl)benzene-1,3)في النوع G. setaceum وكذلك المركب الثالث(Stigmasterol, 22,23-dihydro-) موجود في G. setaceum أيضاً المركب الرابع(m- Thymol (CAS) Abundance#46669: Phenol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)- 3-Hydrox Thyme camphor p-Cymen-3-ol Thymol) في G. spurium وأيضاً وجود المركب الخامس(METHYL 14- Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester (CAS) 14-METHY METHYL-PENTADECANOATE) فقط في G. spurium و المركب السادس(4- Geranyloxy-3-hydroxy-5-methoxyphthalaldehyde) في النوعG. Spurium وكذلك المركب السابع(2,4-Cyclohexadien-1-one, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-) فقط في النوع G. spurium وأيضآ المركب الثامن(gamma.-Sitosterol.) موجود في G. spurium و أن المركب التاسع(9,10-Methanoanthracen-11-ol, 9,10-dihydro-9,10,11-trimethyl-) في النوع G. spurium .وجد أن المركب العاشر(5.alpha.- Stigmasta-7,16-dien-3-ol, (3.beta.,5.alpha.)- Elasterol, 25,26-dihydro -Stigmasta-7,16-dien-3.beta.-ol) فقط في النوع G. tricornatum . وأيضآ وجد أن المركب الحادي عشر (4,4,6a,6b,8a,11,11,14bOctamethyl1,4,4a,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,11,12,12a,14,14a,14b-octadecahydro-2Hpicen-3-o) في G. tricornatum وتمييز المركب الثاني عشر(9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester (CAS) Methyl 9,12,15- octadecatrienoate) في G. aparine في النوع G. aparine

واضافةً المركب الرابع عشر(Gibberellin A3 Gibb-3-ene-1,10-dicarboxylic acid, 2,4a,7-trihydroxy-1-methyl-8-methyl ene-, 1,4a-lactone, (1.alpha) تم احصاءه في aparine وأيضاً المركب الخامس عشر (Methyl-Z-14-nonacosene-13) موجود G. aparine وكذلك وجد المركب السادس عشر (dimethyl-4-azaphenanthrene-1,3) في aparine واحصاءه المركب السابع عشر (Azaestra-1,3,5(10),6,8-pentaen-17-one, 3-methoxy- (CAS) 3-METHOXY-6--6 (AZA-1,3,5(10),6,8(9)-ESTRAPEN في النوع G. ceratopodum أيضاً وجود المركب الثامن عشر(N-Cyano-N',N',N'',N''-tetramethyl-1,3,5-triazinetriamine) موجود في النوع G. ceratopodum . وكذلك تم وجود المركب التاسع عشر(Quinolinecarboxylic acid, 6,7-difluoro--3 1,4-dihydro-4-oxo-, ethyleste) في النوع G. ceratopodum

بينما المركب العشرون(Hexadecanoic acid, methyl ester Palmitic acid, methyl ester Metholene 2 n-Hexadecanoic acid methyl ester) موجود في النوع G. setaceum

المركب الحادي والعشرون(Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester-9,12) تم ايجاده في النوع G. setaceum ، مما تقدم يتضح لنا أهمية المركبات الكيميائية ودورها الفعال في التميز وعزل الأنواع النباتية وتشخيصها كيميائياً استناداً الى نوع المركبات المكونه لها .

الجدول (4-14) المركبات الكيميائية الغير مشتركة بين انواع النباتات

أنواع / مركبات	G. aparine	G. ceratopodum	G. setaceum	G. spurium	G. tricornatum
9,12-Octadecadienoic acid, methyl este	+	–	–	––	-
9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester (CAS) Methyl 9,12,15-octadecatrienoate	+	–	–	–	–
Gibberellin A3 Gibb-3-ene-1,10-dicarboxylic acid, 2,4a,7-trihydroxy-1-methyl-8-methylene-, 1,4a-lactone, (1.alpha	+	–	–	–	–

13-Methyl-Z-14-nonacosene	+	–	–	–	–
1,3-dimethyl-4-azaphenanthrene	+	–	–	–	–
6-Azaestra-1,3,5(10),6,8-pentaen-17-one, 3-methoxy- (CAS) 3-METHOXY-6-AZA-1,3,5(10),6,8(9)-ESTRAPEN	–	+	–	–	–
N-Cyano-N',N',N",N"-tetramethyl-1,3,5-triazinetriamine	–	+	–	–	–
3-Quinolinecarboxylic acid, 6,7-difluoro-1,4-dihydro-4-oxo-, ethyleste	–	+	–	–	–
Hexadecanoic acid, methyl ester Palmitic acid, methyl ester n-Hexadecanoic acid methyl ester Metholene 2	–	–	+	–	–
Octadecadienoic acid -9,12 (Z,Z)-, methyl ester	–	–	+	–	–
Octadecanoic acid, methyl ester	-	–	+	–	–
1,3-Bis(trimethylsilyl)benzene	-	–	+	–	–
Stigmasterol, 22,23-dihydro-	–	–	+	–	–
Abundance#46669: Phenol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)- (CAS) Thymol m-Thymol p-Cymen-3-ol Thyme camphor 3-Hydrox	–	–	–	+	–

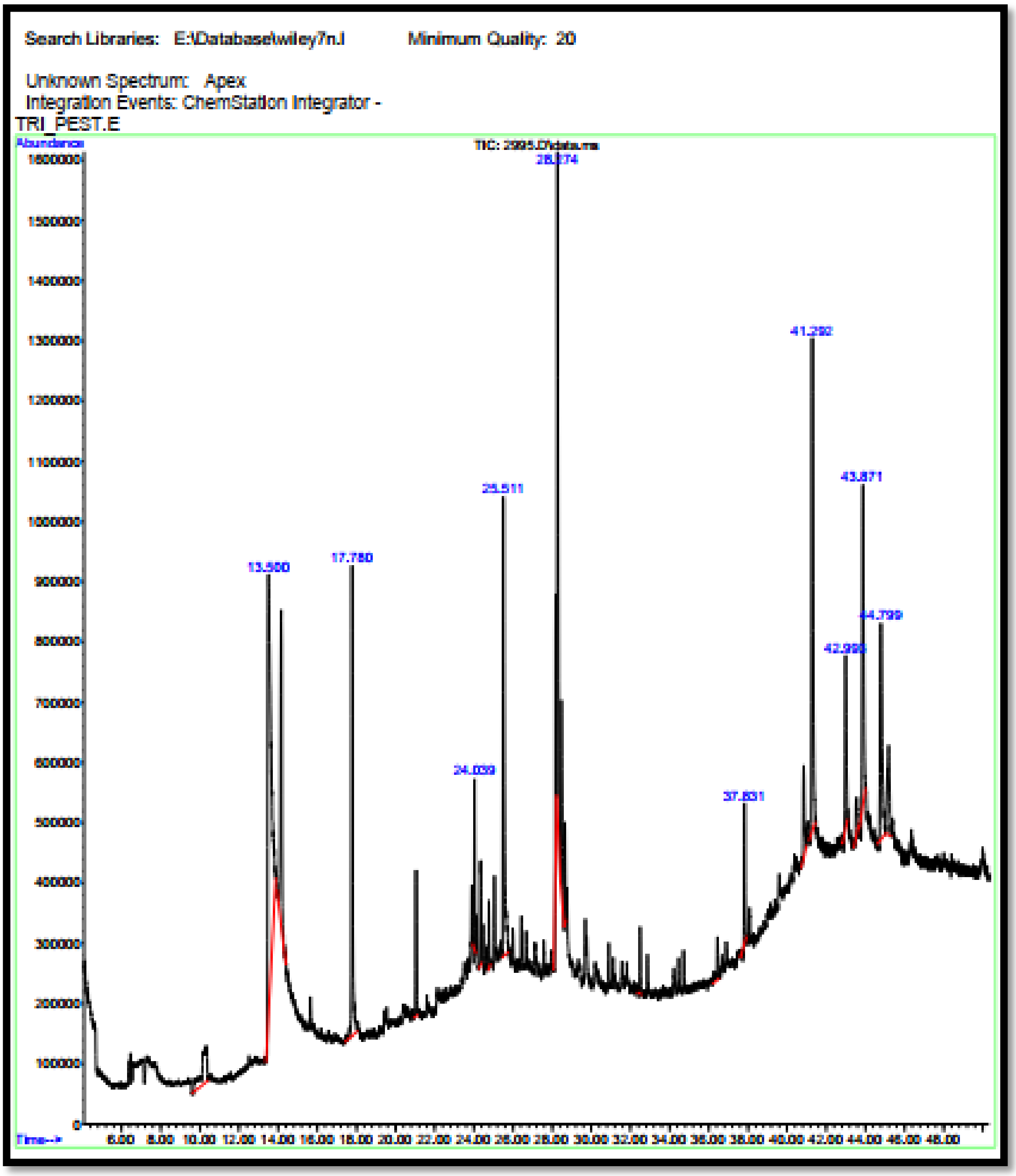
Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester (CAS) METHYL 14-METHYL-PENTADECANOATE 14-METHY	_	_	_	+	_
4-Geranyloxy-3-hydroxy-5-methoxyphthalaldehyde	_	_	_	+	_
2,4-Cyclohexadien-1-one, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-	_	_	_	+	_
.gamma.-Sitosterol	_	_	_	+	_
9,10-Methanoanthracen-11-ol, 9,10-dihydro-9,10,11-trimethyl-	_	_	_	+	_
Stigmasta-7,16-dien-3-ol, (3.beta.,5.alpha.)- 5.alpha.-Stigmasta-7,16-dien-3.beta.-ol Elasterol, 25,26-dihydro-	_	_	_	_	+

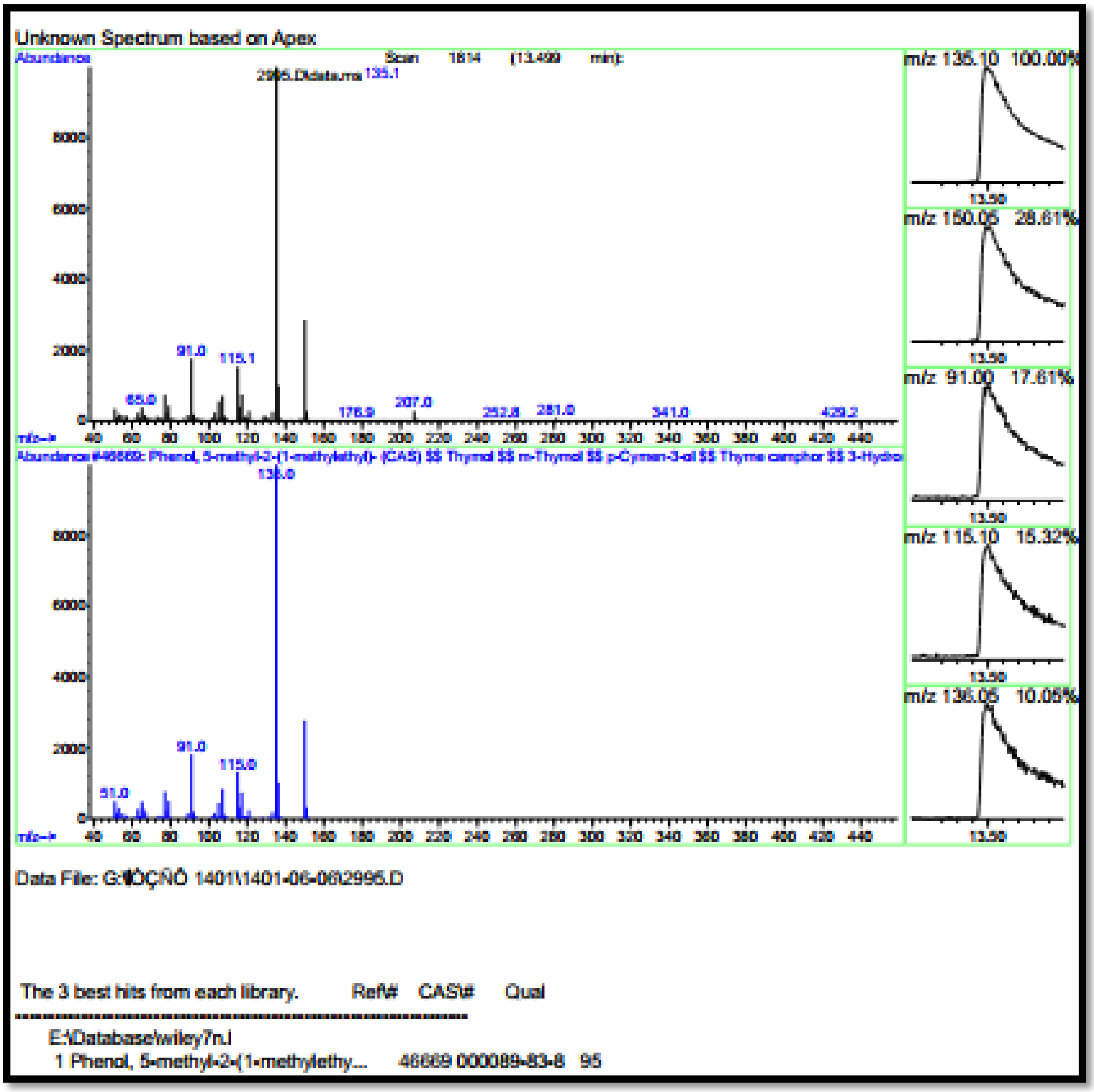
اتفقت النتائج مع ما ذكره Jan *et al* (2018) اذ شمل نبات setaceum على حمض 1-أوكتاديكانويك، وحمض هيكساديكانويك، و 5-ميثيل و 4-ميثيل بنزين. وكذلك على وجود العديد من المركبات المضادة للالتهابات، مثل حمض الأوكتانويك وحمض الدوديكانويك وحمض الهكسانويك، في مستخلصات الأوراق والساق لنبات tricornatum، اذ اتفقت تلك الدراسات مع الدراسه الحاليه بأن بعض المستخلصات تحتوي عدد من المركبات الدهنيه مشبعه وغير مشبعه مثل(حمض 1-أوكتاديكانويك، وحمض هيكساديكانويك، و 5-ميثيل و 4-ميثيل بنزين وكذلك حمض الأوكتانويك وحمض الدوديكانويك وحمض الهكسانويك) .

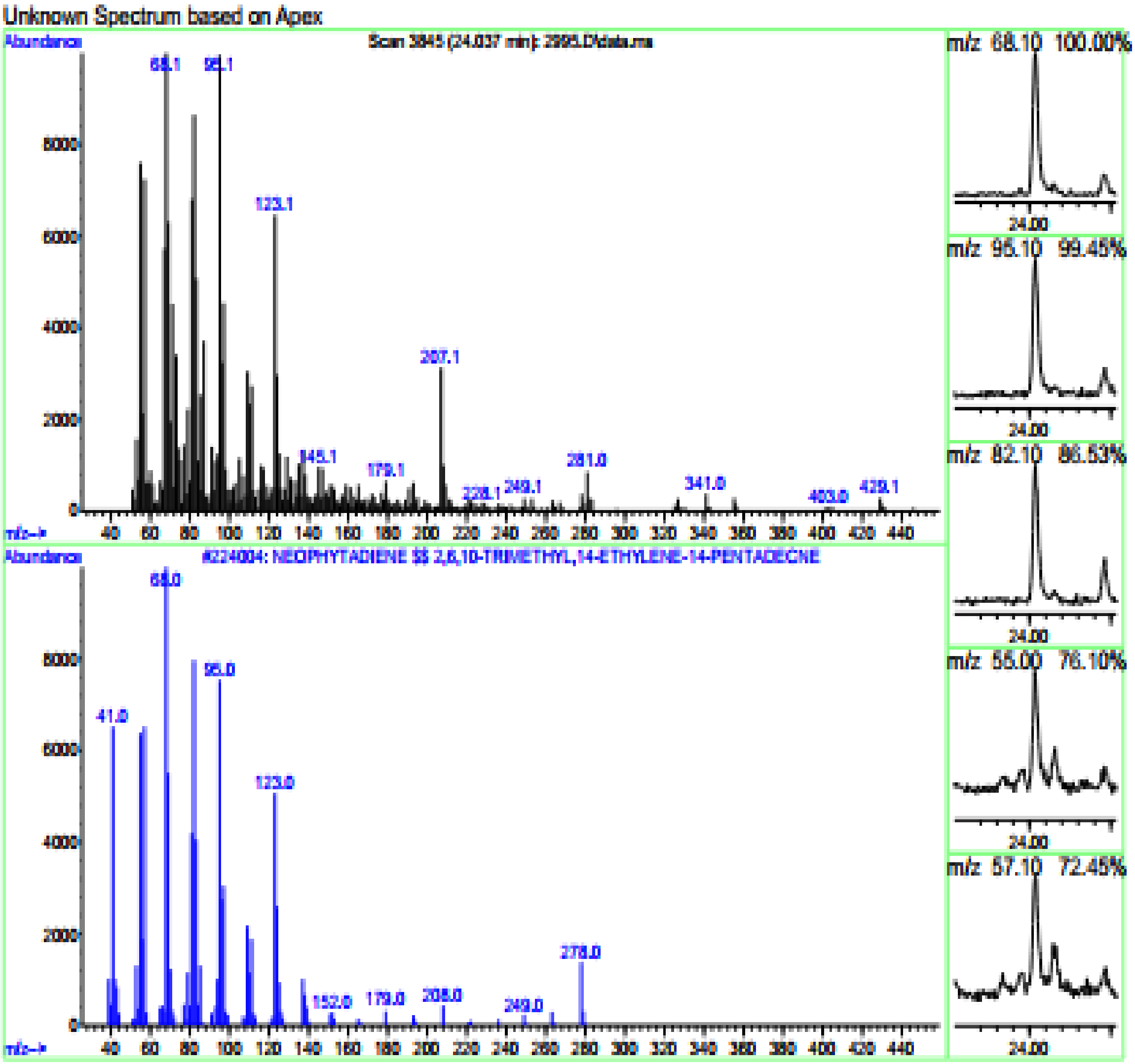
يتشابه تركيب المواد الفعالة في أنواع نباتات الغاليوم من حيث وجود المركبات النشطة بيولوجيًا مثل البوليفينول، والفلافونويدات، والإيريدويدات (Laanet *et al.*, 2023). تم تحديد كمية هذه المركبات وتبين أنها موجودة بتركيزات عالية في أنواع مختلفة من الغاليوم، بما في ذلك الغاليوم الحقيقي، والجاليوم أباراين، والجاليوم المولوغو (Ilina *et al.*, 2019). بالإضافة إلى ذلك، فقد ثبت أن مستخلصات هذه الأنواع تظهر نشاطًا قويًا مضادًا للأكسدة. تم أيضًا تحديد فئات أخرى من المركبات النشطة بيولوجيًا، مثل جليكوسيدات الإيريدويد، والمركبات الفينولية، والأنثراكينونات، والترايتربين، والعفص، والصابونين، والزيوت الأساسية، في أنواع الغاليوم. تمت دراسة التركيب الكيميائي والخصائص الدوائية للجاليوم الحقيقي والجاليوم الرخويات على نطاق واسع، في حين أن البيانات المتعلقة بالجاليوم أبارين محدودة. هناك حاجة إلى مزيد من البحث لفهم الفوائد الصحية المحتملة لأنواع الغاليوم ومكوناتها النشطة بيولوجيًا بشكل كامل

3-4 قراءة جهاز المطياف الغازي للمركبات الفعالة في المستخلصات النباتية

1- قراءة جهاز المطياف الغازي للمركبات ا لفعالة في مستخلص نبات *G.spurium*



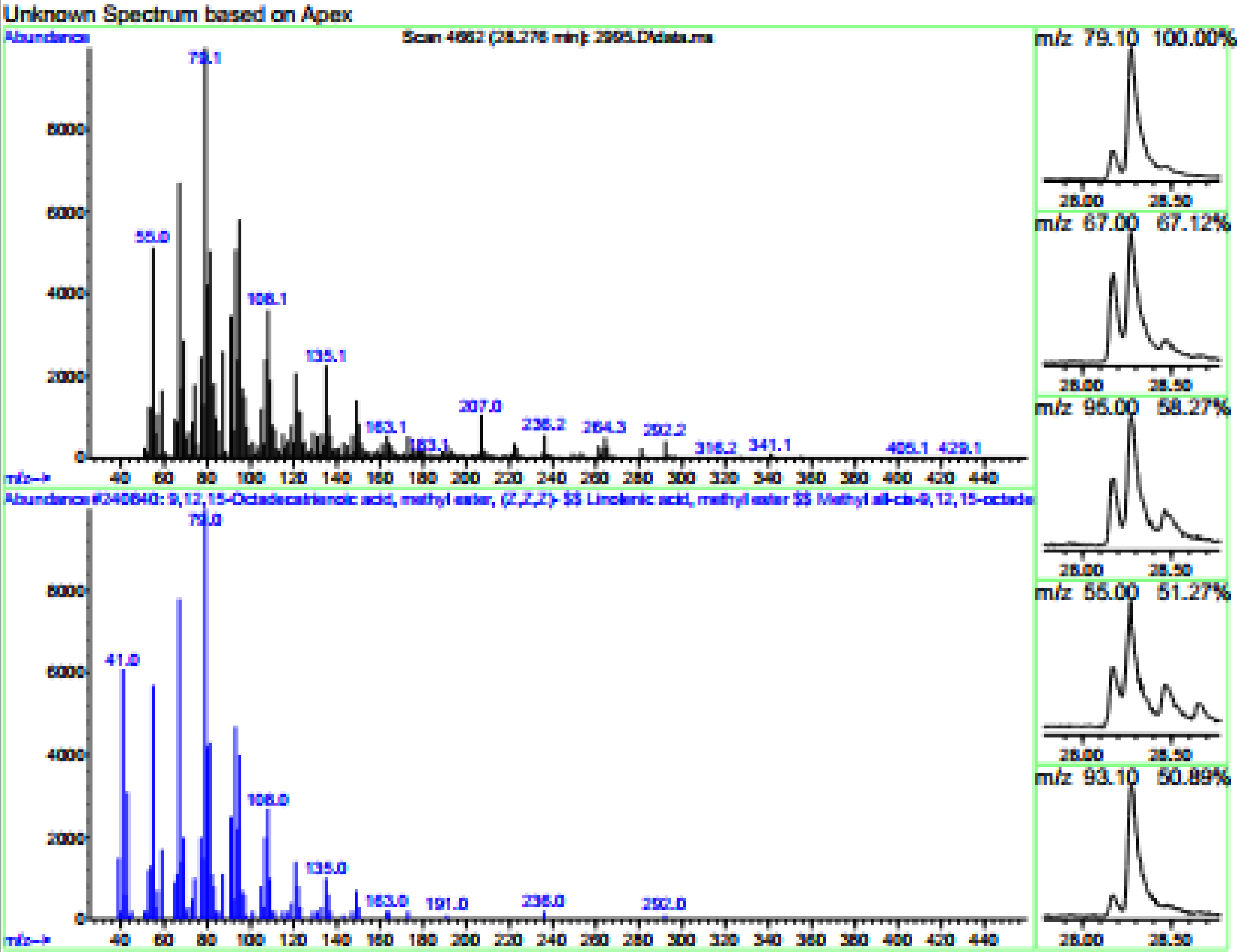

Unknown Spectrum based on Apex
Abundance
Scan 1814 (13.499 min):
2995.D\data.ms 135.1
91.0
115.1
65.0
176.9
207.0
252.8
281.0
341.0
429.2
m/z-->
Abundance #46669: Phenol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)- (CAS) $$ Thymol $$ m-Thymol $$ p-Cymen-3-ol $$ Thyme camphor $$ 3-Hydro
135.0
91.0
115.0
51.0
m/z 135.10 100.00%
m/z 150.05 28.61%
m/z 91.00 17.61%
m/z 115.10 15.32%
m/z 136.05 10.06%
13.50
Data File: G:\ÏÖÇÑÖ 1401\1401-06-08\2995.D
The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual
E:\Database\wiley7n.l
1 Phenol, 5-methyl-2-(1-methylethy... 46669 000089-83-8 95



Data File: G:\ÎÇÑÖ 1401\1401-06-08\2995.D

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
E:\Database\wiley7n.l			
1 NEOPHYTADIENE $$ 2,6,10-TRIMETHY...	224004	000000-00-0	99

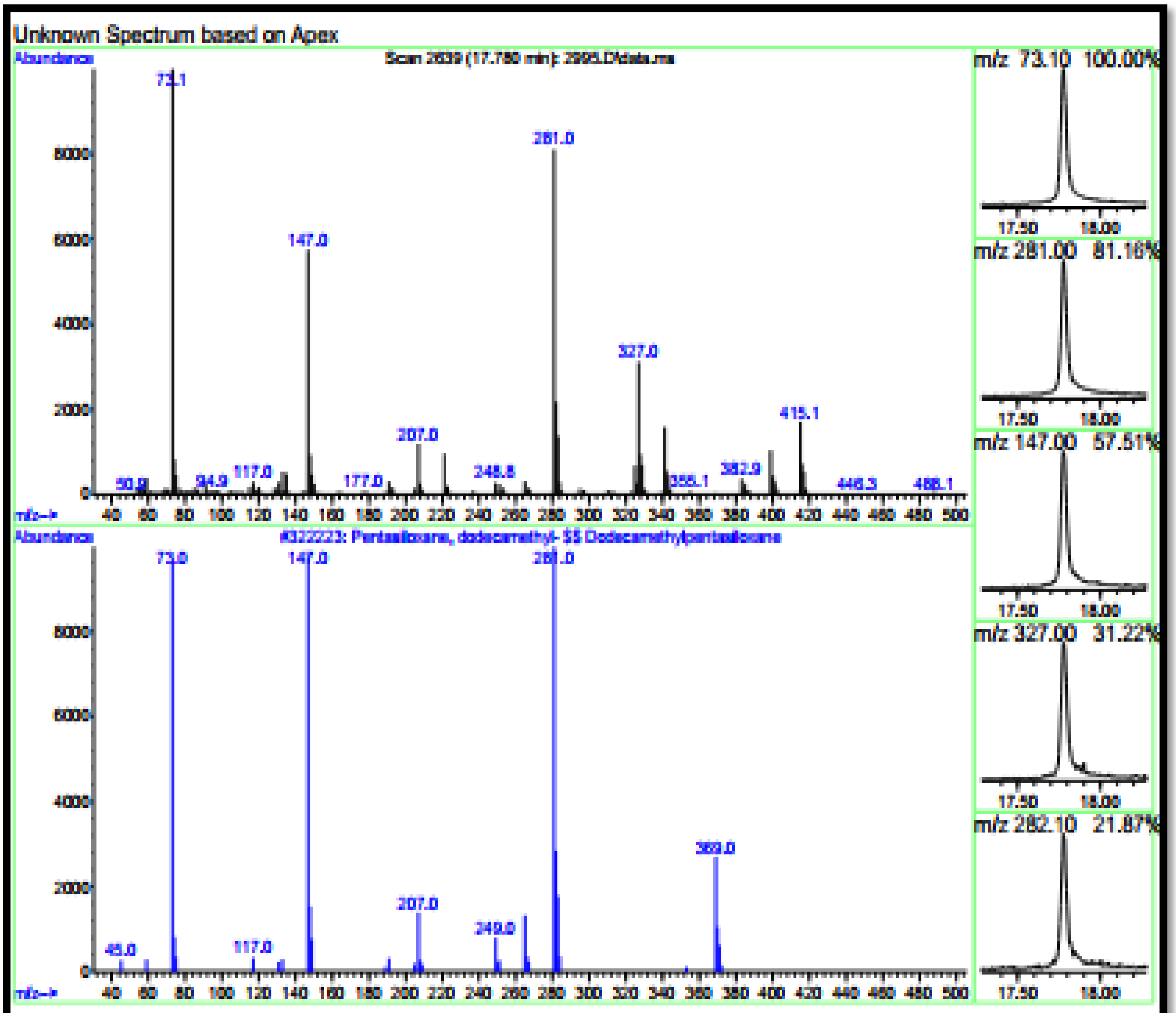
Unknown Spectrum based on Apex



Data File: G:\ÐÇÑÕ 1401\1401-06-06\2995.D

The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

E:\Database\wiley7n.l
1 9,12,15-Octadecatrienoic acid, m... 240840 000301-00-8 98

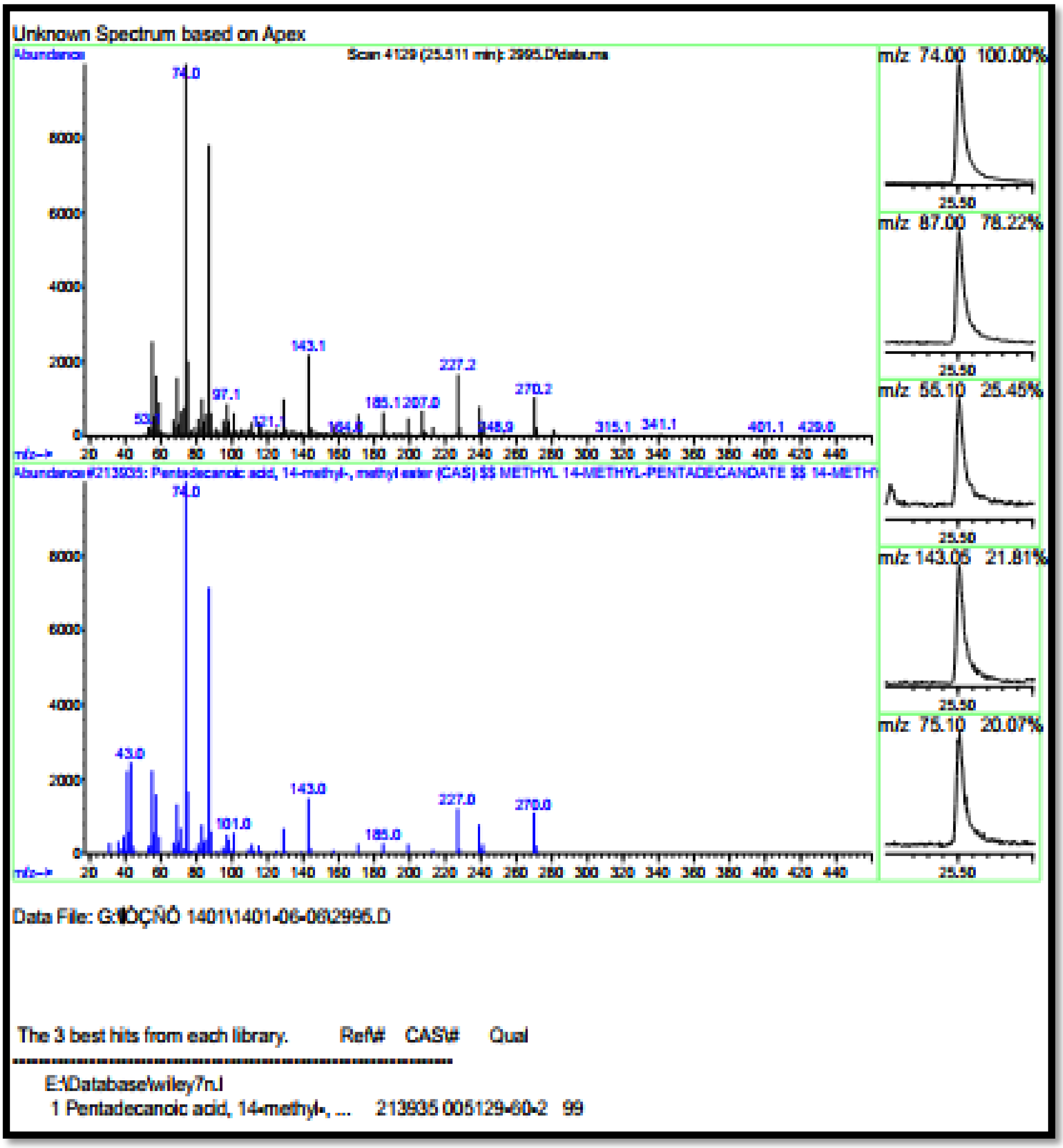


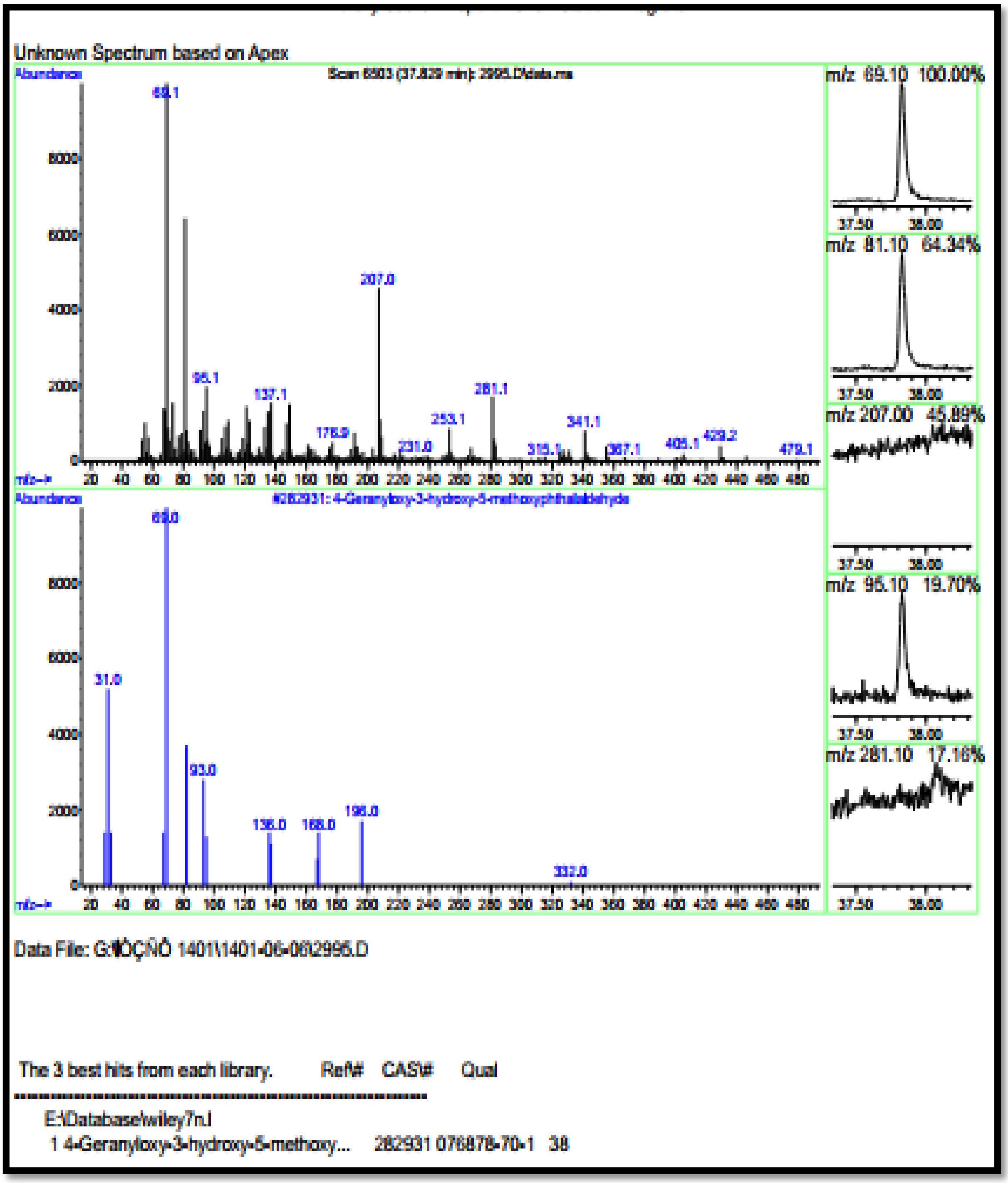
Data File: G:\ÖÇÑÖ 1401\1401-06-06\2995.D

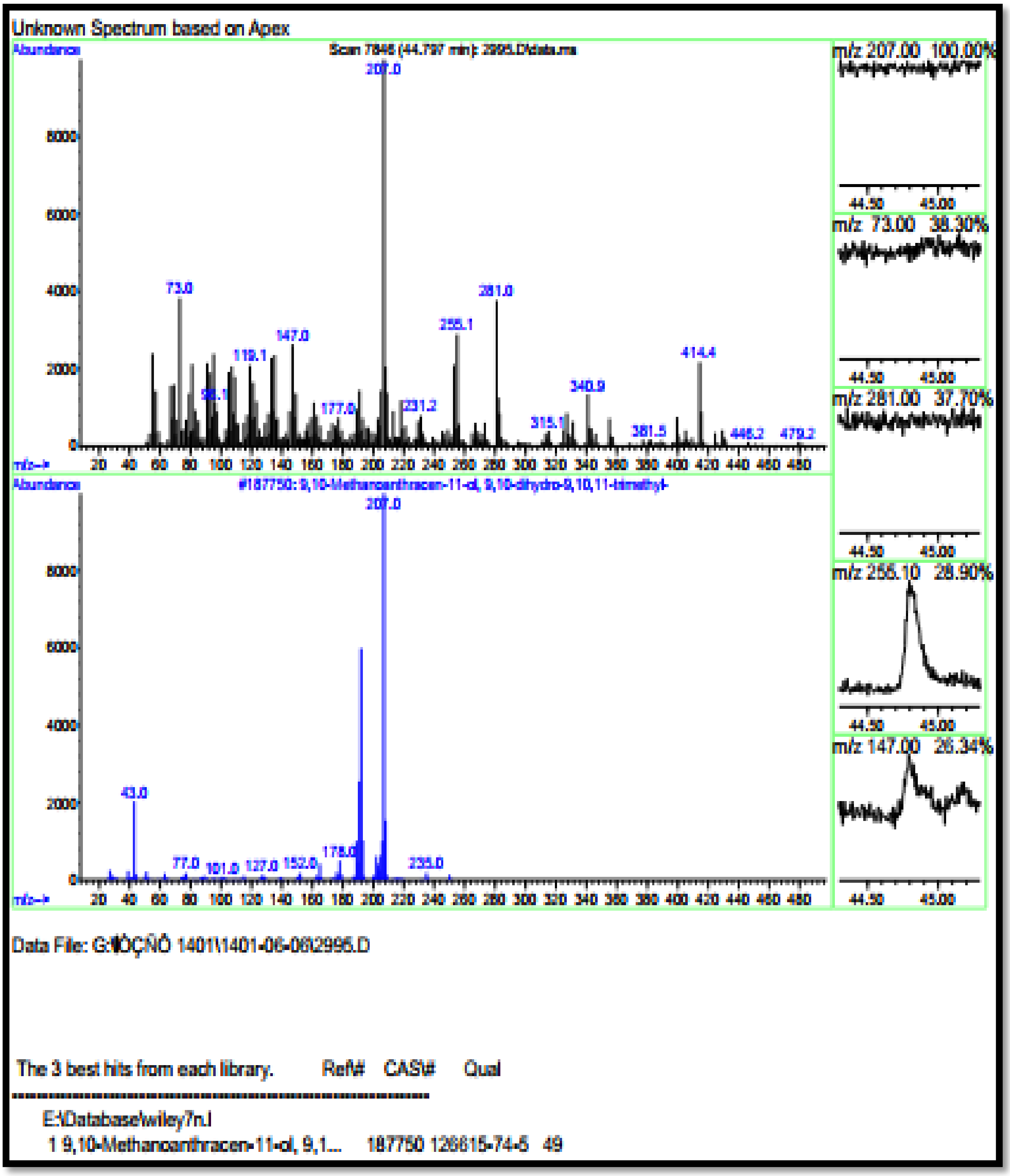
The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

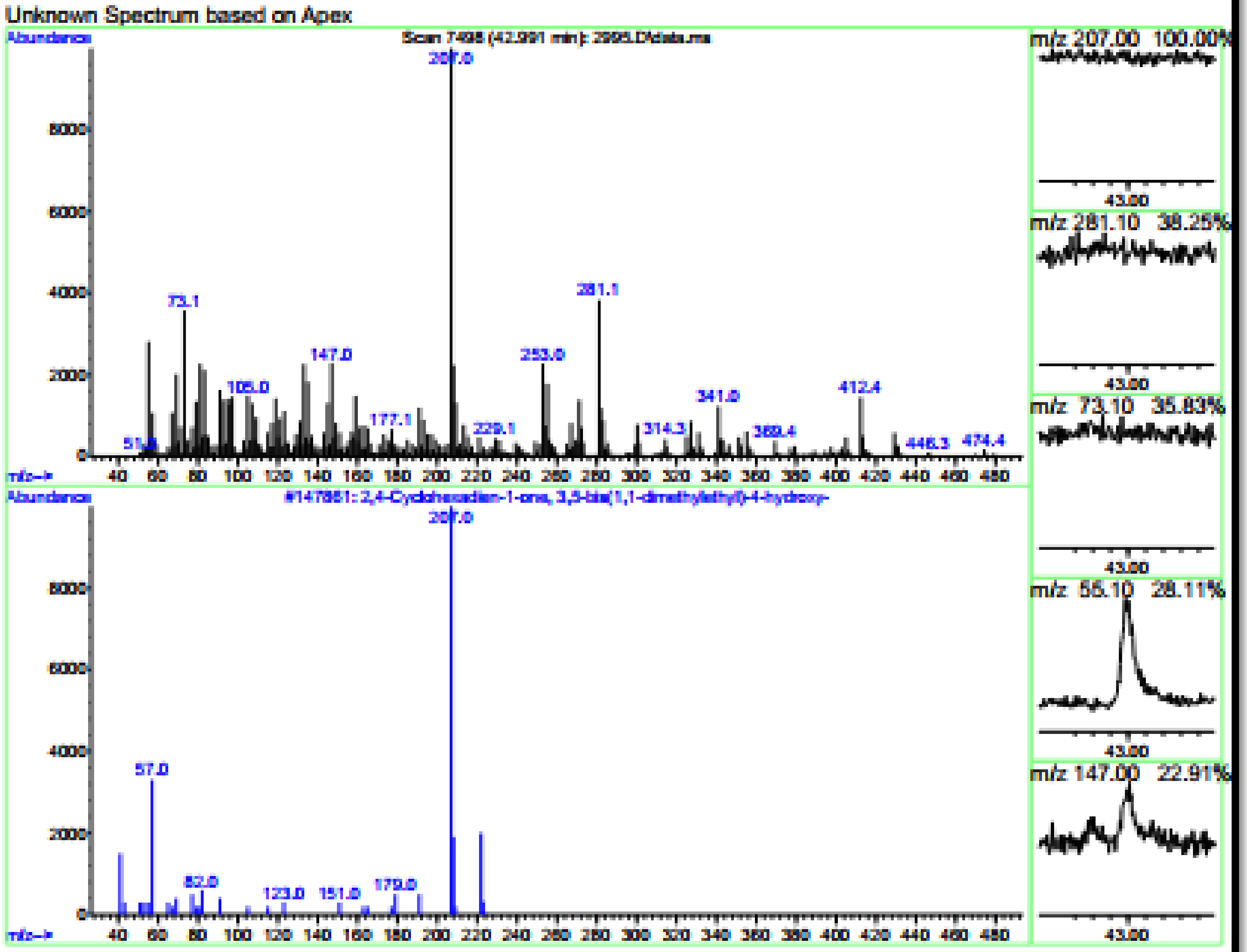
E:\Database\wiley7n.l

1 Pentasiloxane, dodecamethyl- $$ ... 322223 000141-63-9 58


Unknown Spectrum based on Apex
Abundance
Scan 4129 (25.511 min): 2995.D\data.ms
m/z 74.00 100.00%
m/z 87.00 78.22%
m/z 55.10 25.45%
m/z 143.05 21.81%
m/z 75.10 20.07%
Abundance #213935: Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester (CAS) $$ METHYL 14-METHYL-PENTADECANOATE $$ 14-METHY
Data File: G:\ÌÒÇÑÒ 1401\1401-06-06\2995.D
The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual
E:\Database\wiley7n.l
1 Pentadecanoic acid, 14-methyl-, ... 213935 005129-60-2 99


Unknown Spectrum based on Apex
Abundance
Scan 6503 (37.829 min): 2995.D\data.ms
69.1
95.1
137.1
176.9
207.0
231.0
253.1
281.1
315.1
341.1
367.1
405.1
429.2
479.1
m/z-->
Abundance
#282931: 4-Geranyloxy-3-hydroxy-5-methoxyphthalaldehyde
31.0
69.0
93.0
136.0
168.0
196.0
332.0
m/z 69.10 100.00%
m/z 81.10 64.34%
m/z 207.00 45.89%
m/z 95.10 19.70%
m/z 281.10 17.16%
37.50
38.00
Data File: G:\ÎÒÇÑÔ 1401\1401-06-06\2995.D
The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual
E:\Database\wiley7n.l
1 4-Geranyloxy-3-hydroxy-5-methoxy... 282931 076878-70-1 38

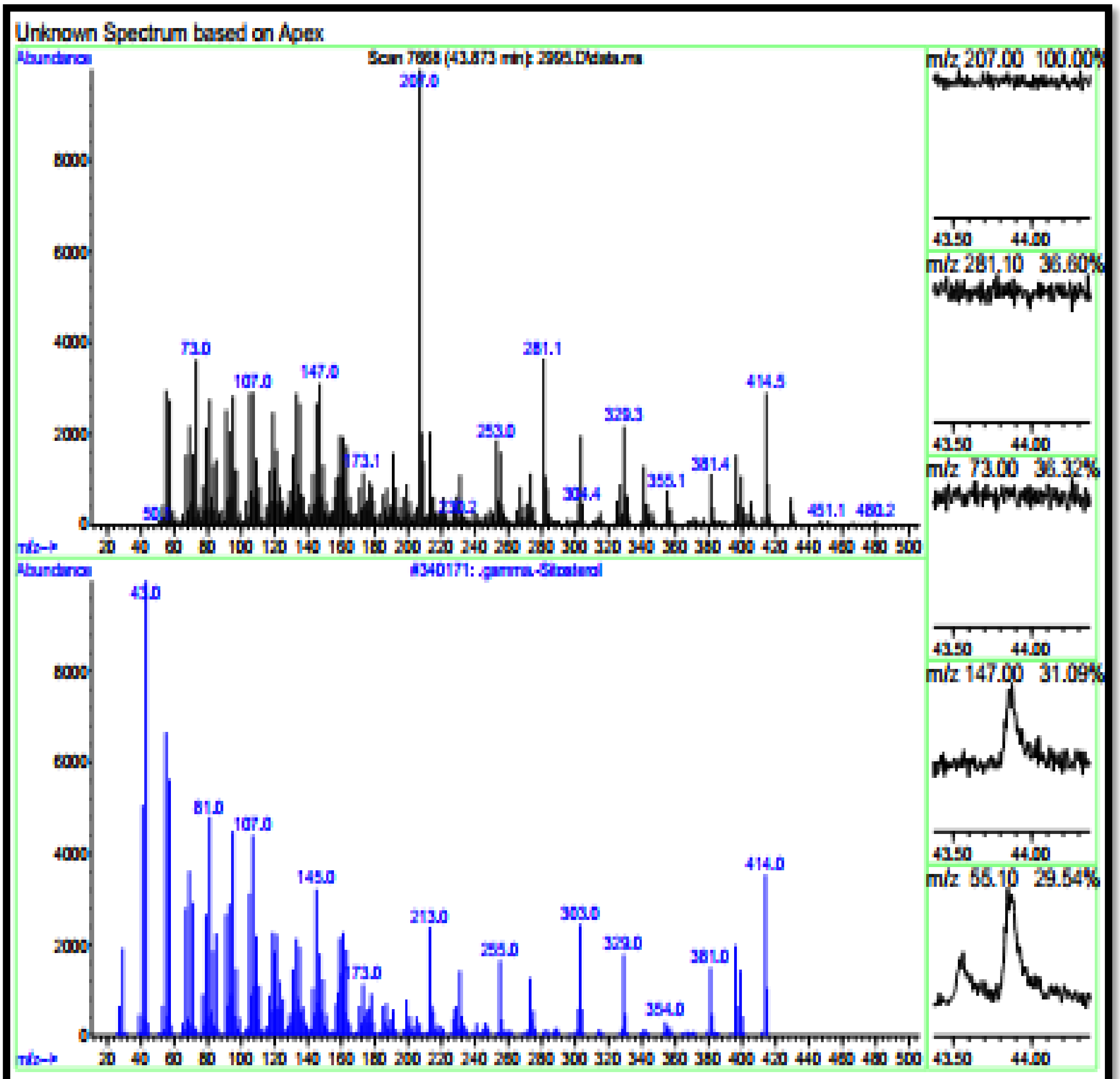

Unknown Spectrum based on Apex
Abundance
207.0
73.0
281.0
147.0
255.1
119.1
414.4
340.9
177.0
231.2
315.1
381.5
479.2
m/z-->
#187750: 9,10-Methanoanthracen-11-ol, 9,10-dihydro-9,10,11-trimethyl-
43.0
77.0
178.0
m/z 207.00 100.00%
m/z 73.00 38.30%
m/z 281.00 37.70%
m/z 255.10 28.90%
m/z 147.00 26.34%
The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual
E:\Database\wiley7n.l
1 9,10-Methanoanthracen-11-ol, 9,1... 187750 126615-74-6 49



Data File: G:\ÔÇÑÕ 1401\1401-06-06\2995.D

The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

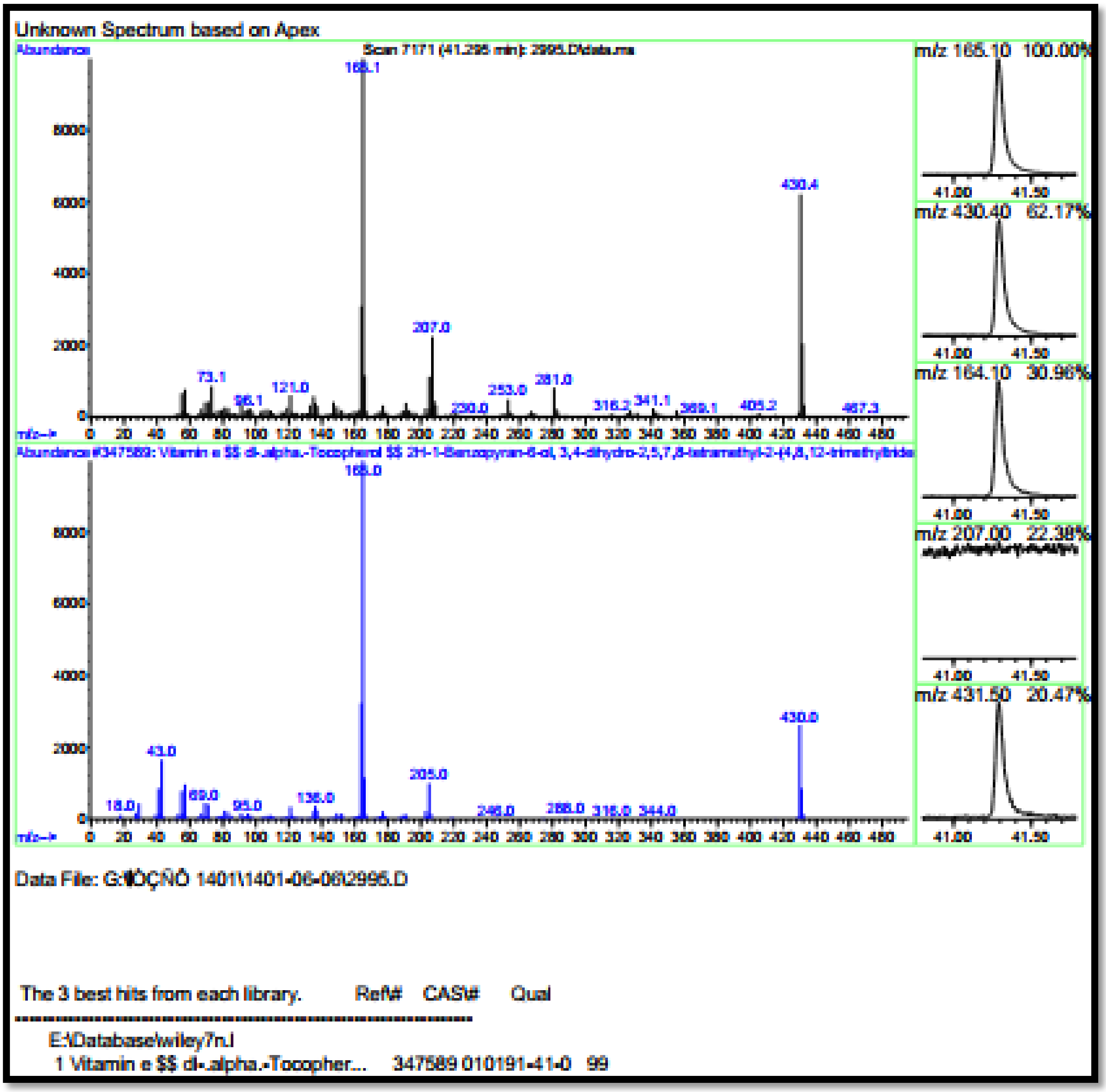
E:\Database\wiley7n.l
1 2,4-Cyclohexadien-1-one, 3,5-bis... 147861 054965-43-4 41



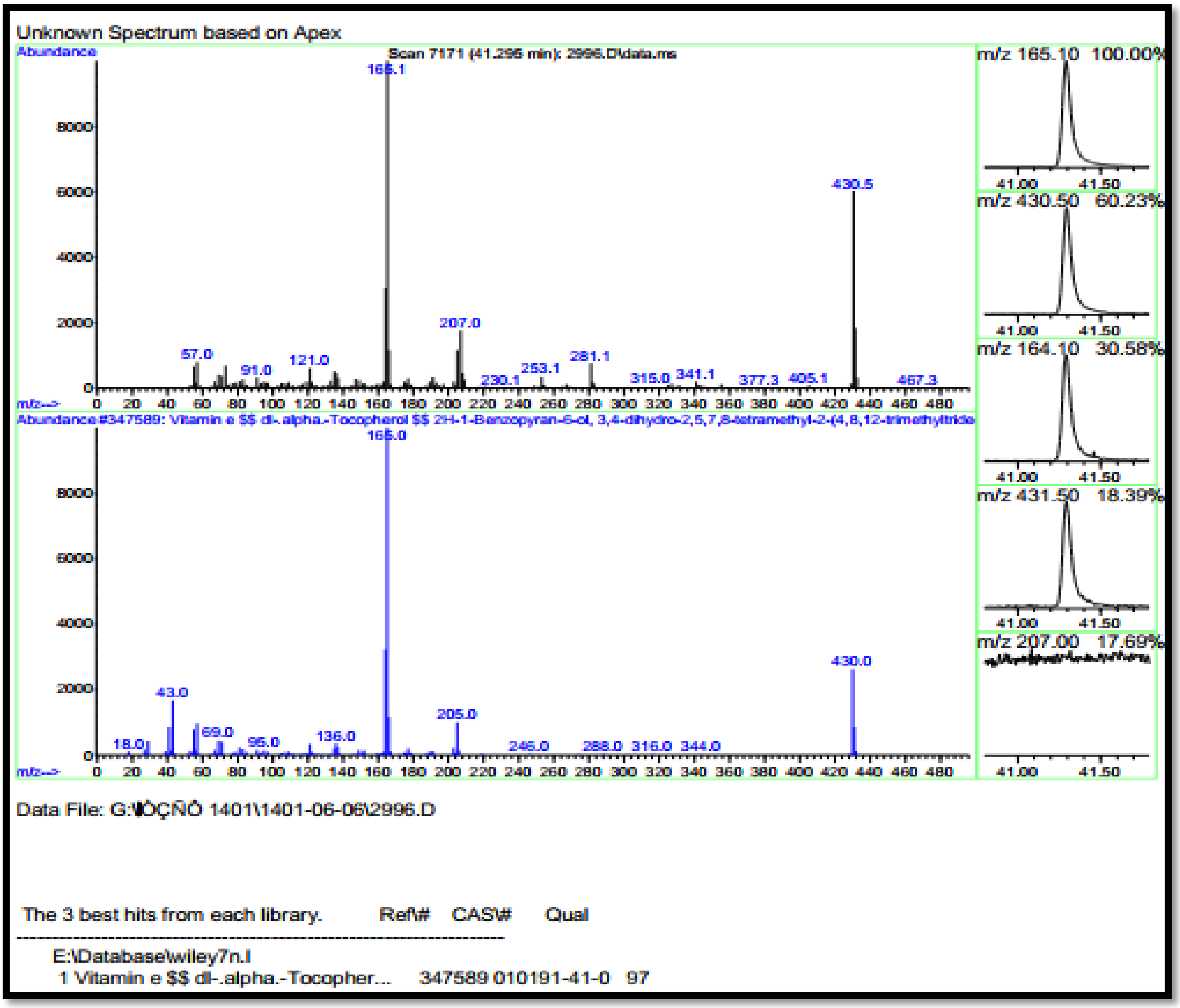
Data File: G:\ÏÕÇÑÕ 1401\1401-06-06\2995.D

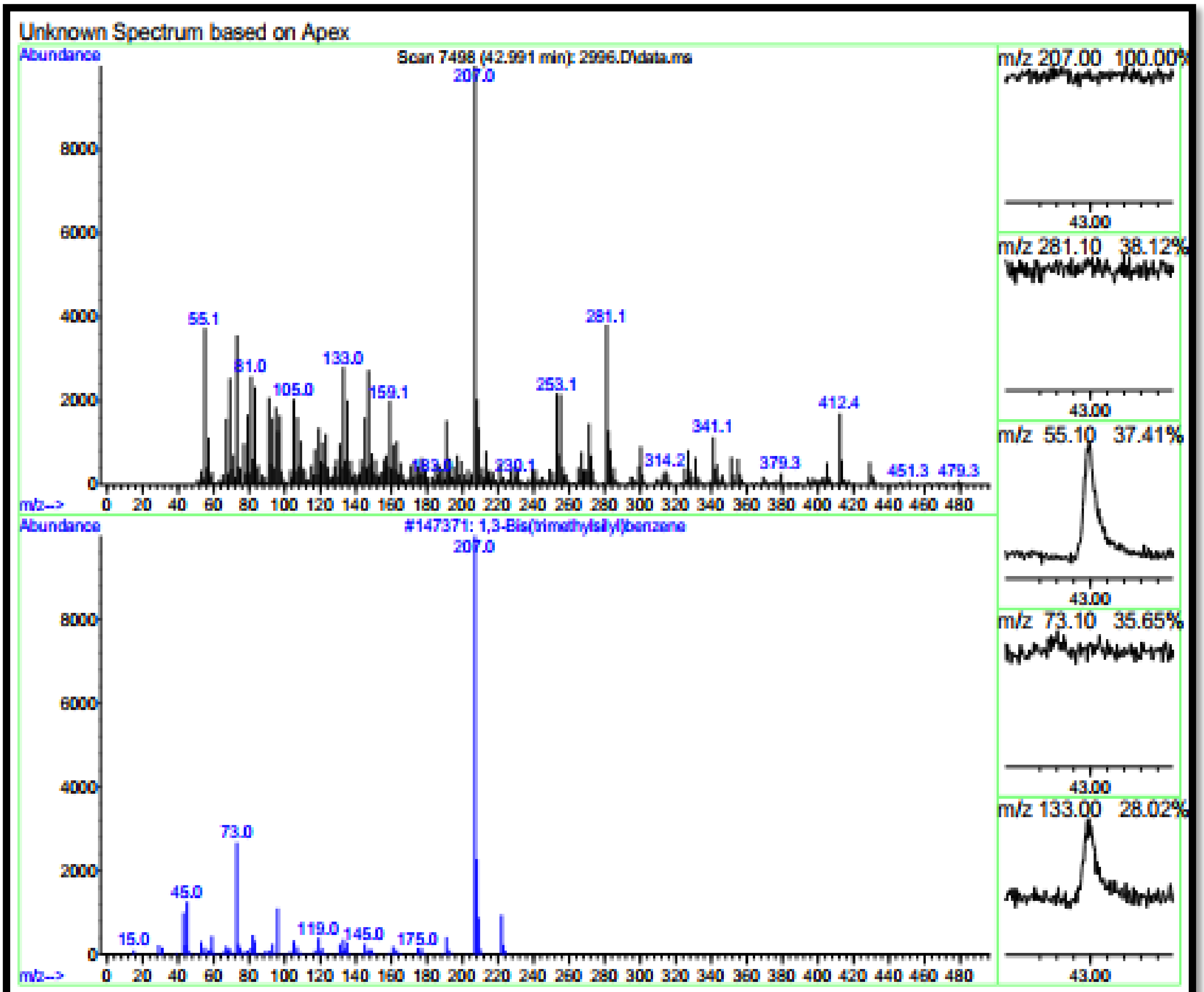
The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

E:\Database\wiley7n.l
1 .gamma.-Sitosterol 340171 000083-47-6 93


Unknown Spectrum based on Apex
Abundance
Scan 7171 (41.295 min): 2995.D\data.ms
165.1
430.4
207.0
73.1
121.0
253.0
281.0
m/z 165.10 100.00%
m/z 430.40 62.17%
m/z 164.10 30.96%
m/z 207.00 22.38%
m/z 431.50 20.47%
Abundance #347589: Vitamin e $$ dl-.alpha.-Tocopherol $$ 2H-1-Benzopyran-6-ol, 3,4-dihydro-2,5,7,8-tetramethyl-2-(4,8,12-trimethyltride
165.0
43.0
205.0
430.0
Data File: G:\ÕÇÑÕ 1401\1401-06-06\2995.D
The 3 best hits from each library.
Ref#
CAS#
Qual
E:\Database\wiley7n.l
1 Vitamin e $$ dl-.alpha.-Tocopher...
347589 010191-41-0 99

2- قراءة جهاز المطياف الغازي للمركبات الفعالة في مستخلص نبات *G.setaceum*

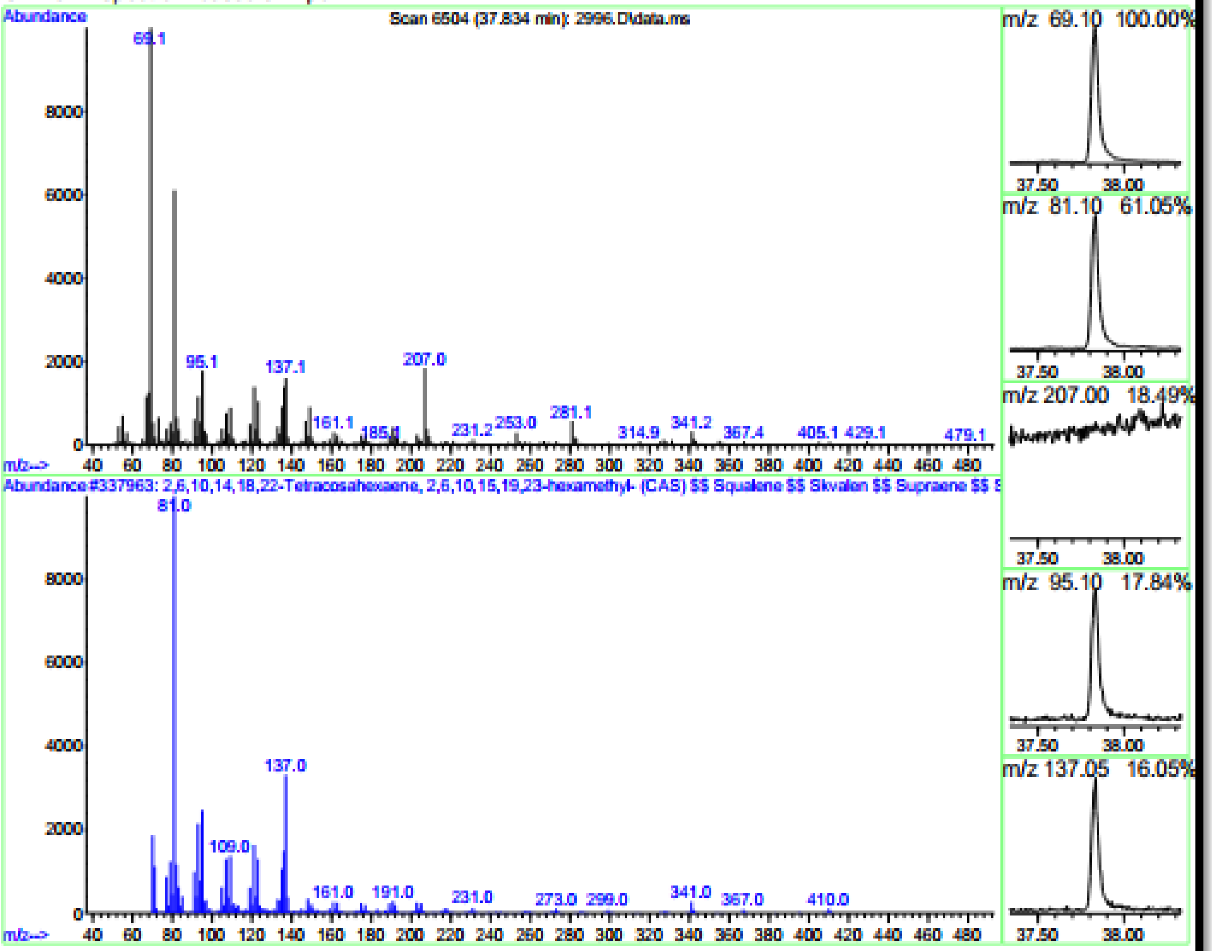




Data File: G:\ÒÇÑÒ 1401\1401-06-06\2996.D

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
E:\Database\wiley7n.l			
1 1,3-Bis(trimethylsilyl)benzene	147371	002060-89-1	50

Unknown Spectrum based on Apex



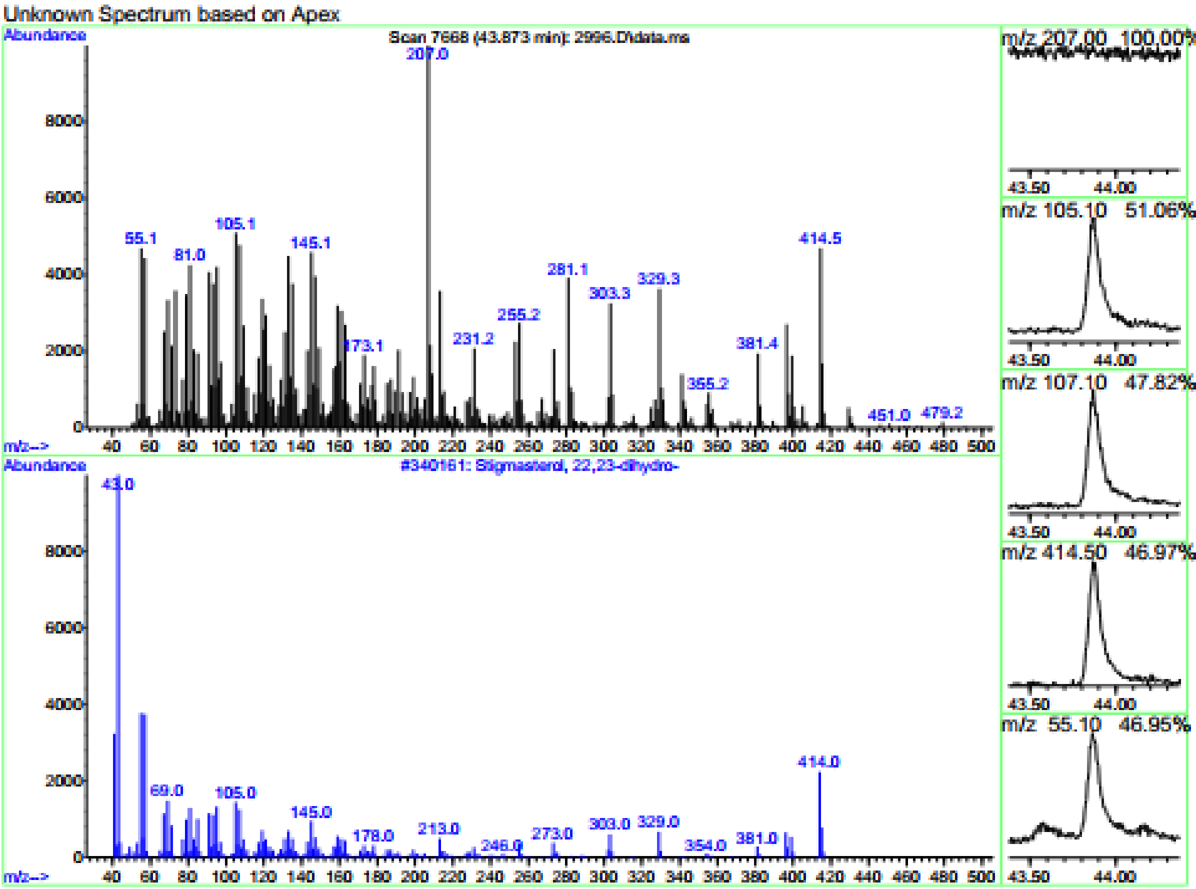
Data File: G:\ÒÇÑÕ 1401\1401-06-06\2996.D

The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

E:\Database\wiley7n.l

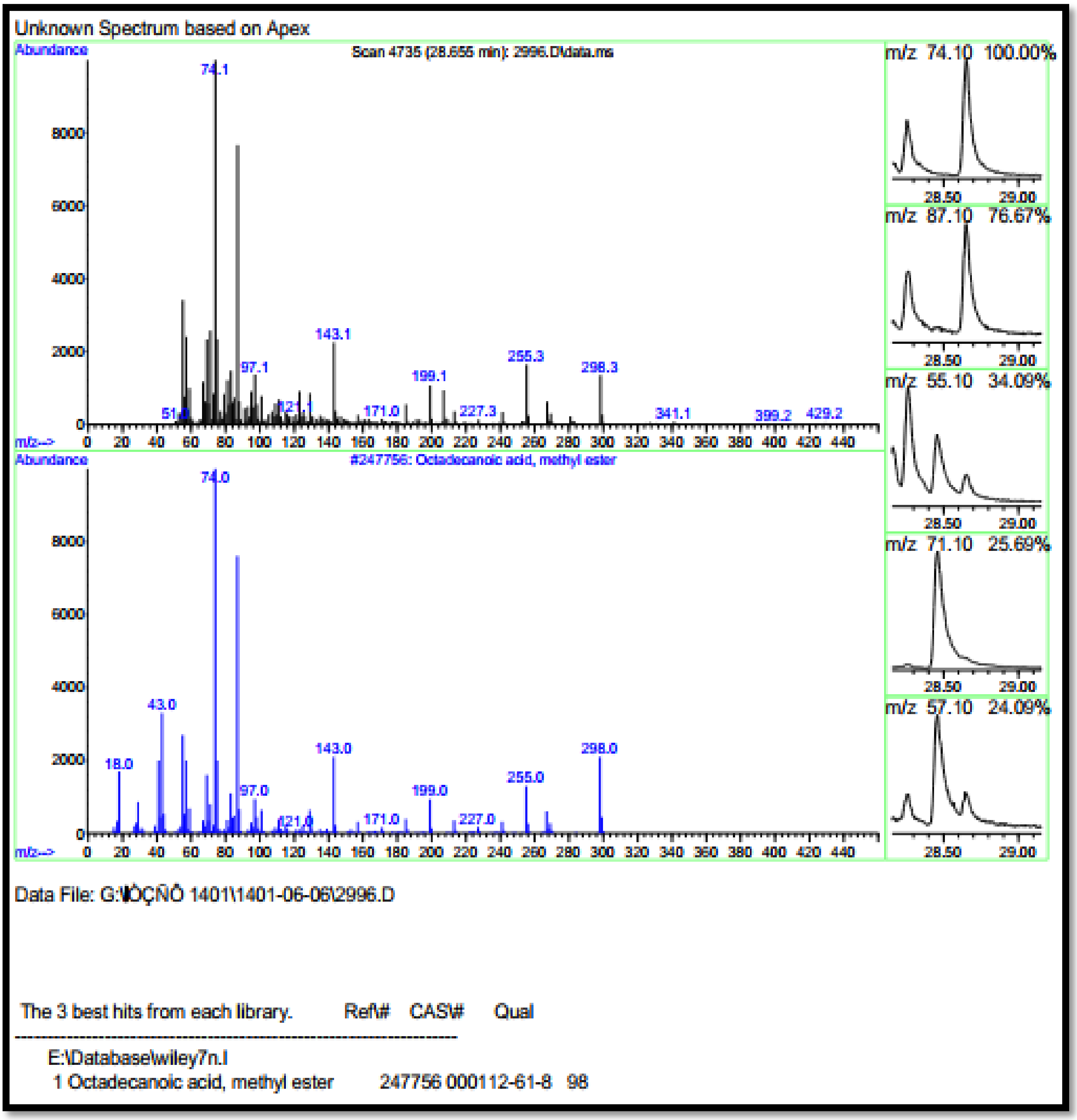
1 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene... 337963 007683-64-9 96

Unknown Spectrum based on Apex

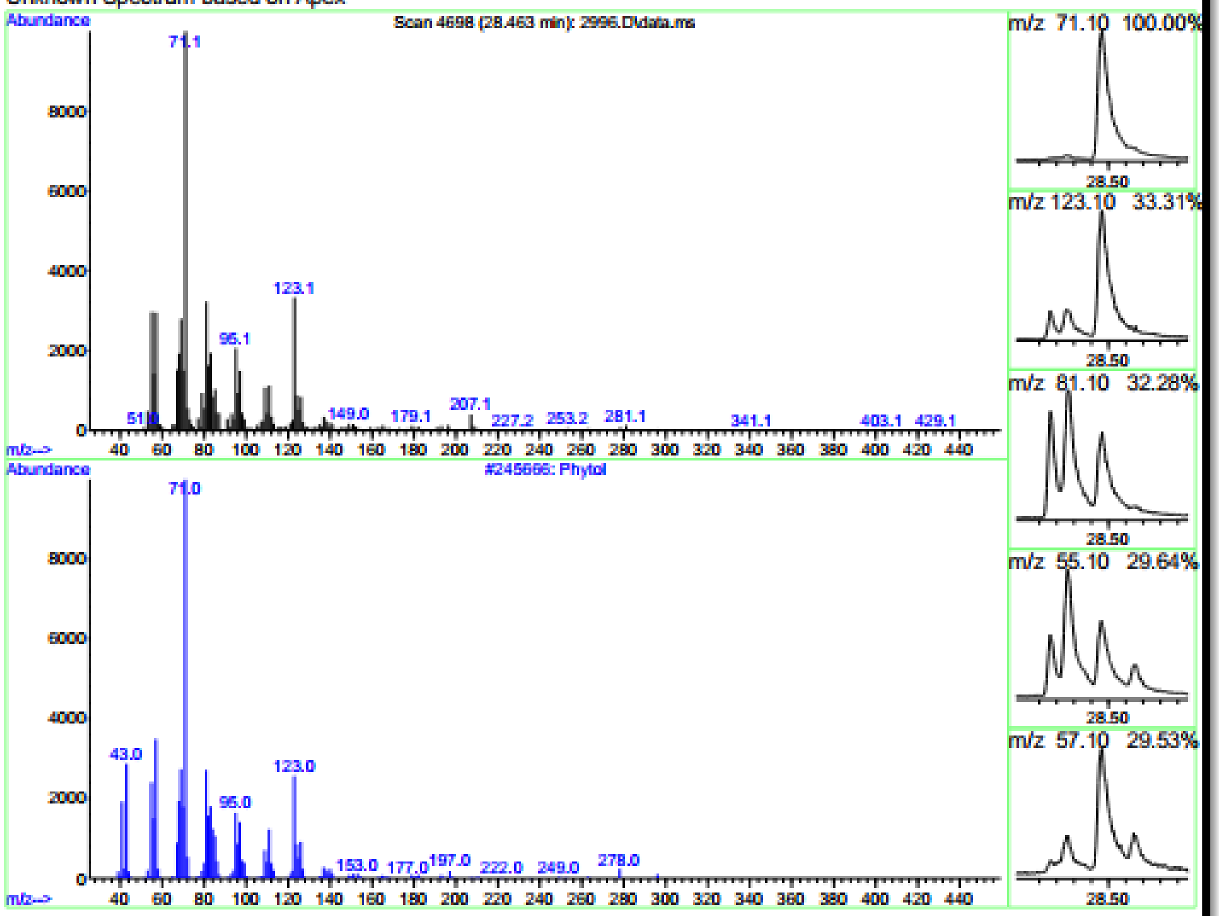


Data File: G:\ÖÇÑÕ 1401\1401-06-06\2996.D

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
E:\Database\willey7n.l			
1 Stigmasterol, 22,23-dihydro-	340161	000000-00-0	95


Unknown Spectrum based on Apex
Abundance
Scan 4735 (28.655 min): 2996.D\data.ms
74.1
143.1
97.1
199.1
255.3
298.3
51.0
121.1
171.0
227.3
341.1
399.2
429.2
m/z-->
Abundance
#247756: Octadecanoic acid, methyl ester
74.0
43.0
18.0
143.0
298.0
97.0
199.0
255.0
121.0
171.0
227.0
m/z 74.10 100.00%
m/z 87.10 76.67%
m/z 55.10 34.09%
m/z 71.10 25.69%
m/z 57.10 24.09%
28.50
29.00
Data File: G:\ÒÇÑÕ 1401\1401-06-06\2996.D
The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual
E:\Database\wiley7n.l
1 Octadecanoic acid, methyl ester 247756 000112-61-8 98

Unknown Spectrum based on Apex

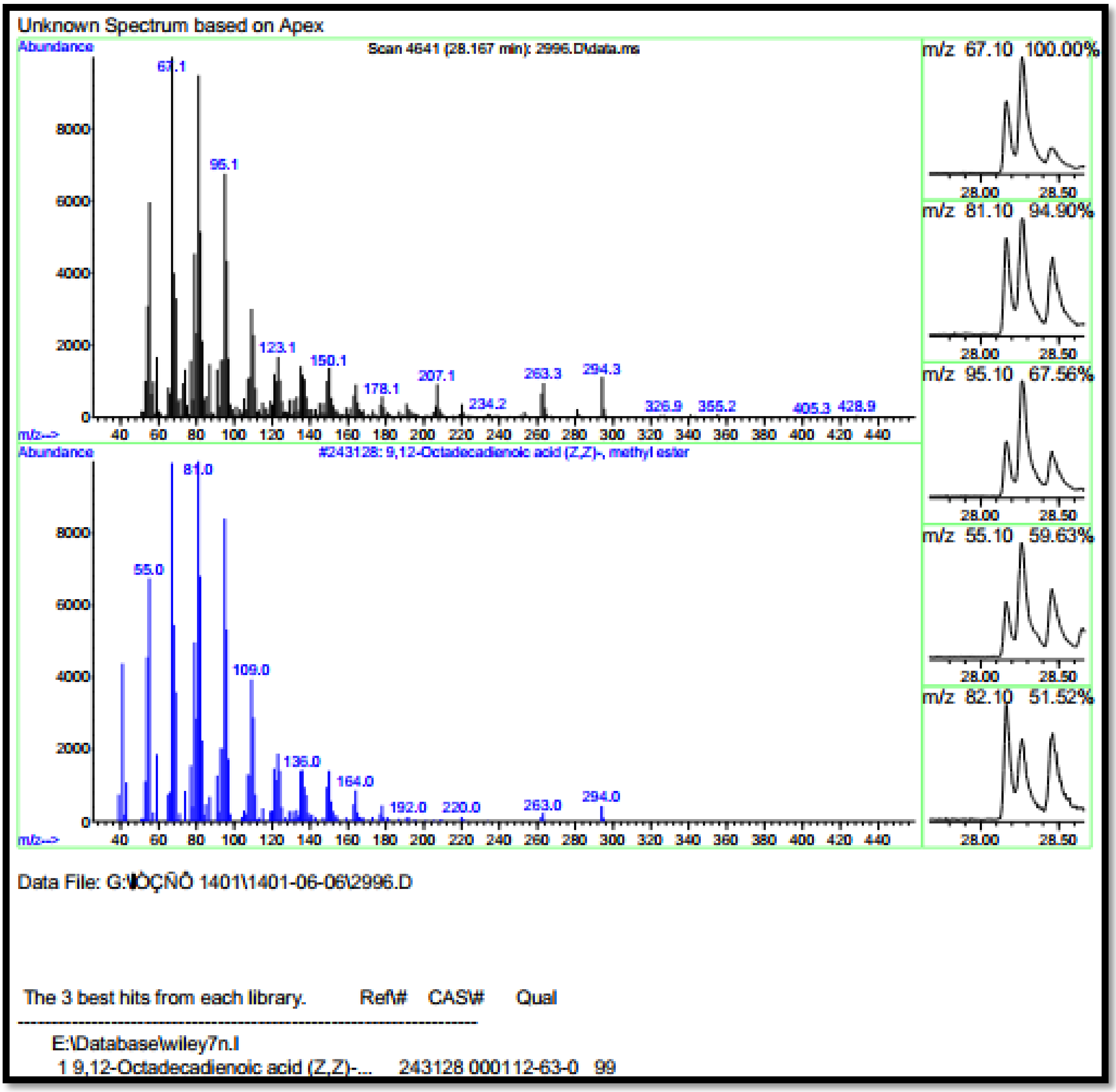


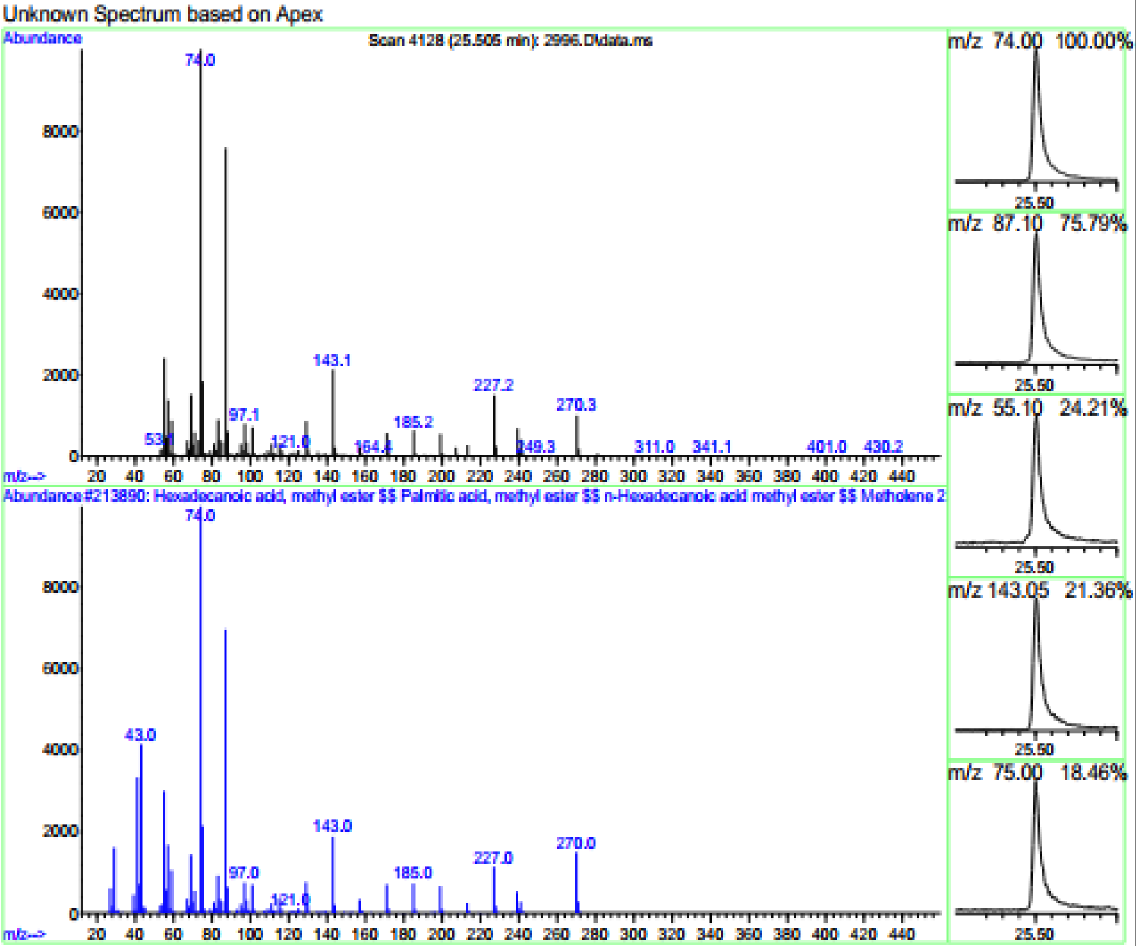
Data File: G:\ÒÇÑÕ 1401\1401-06-06\2996.D

The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

E:\Database\wiley7n.l

1 Phytol 245666 000150-86-7 92


Unknown Spectrum based on Apex
Abundance
Scan 4641 (28.167 min): 2996.D\data.ms
m/z-->
Abundance
#243128: 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester
m/z-->
m/z 67.10 100.00%
m/z 81.10 94.90%
m/z 95.10 67.56%
m/z 55.10 59.63%
m/z 82.10 51.52%
Data File: G:\ÒÇÑÔ 1401\1401-06-06\2996.D
The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual
E:\Database\wiley7n.l
1 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-... 243128 000112-63-0 99



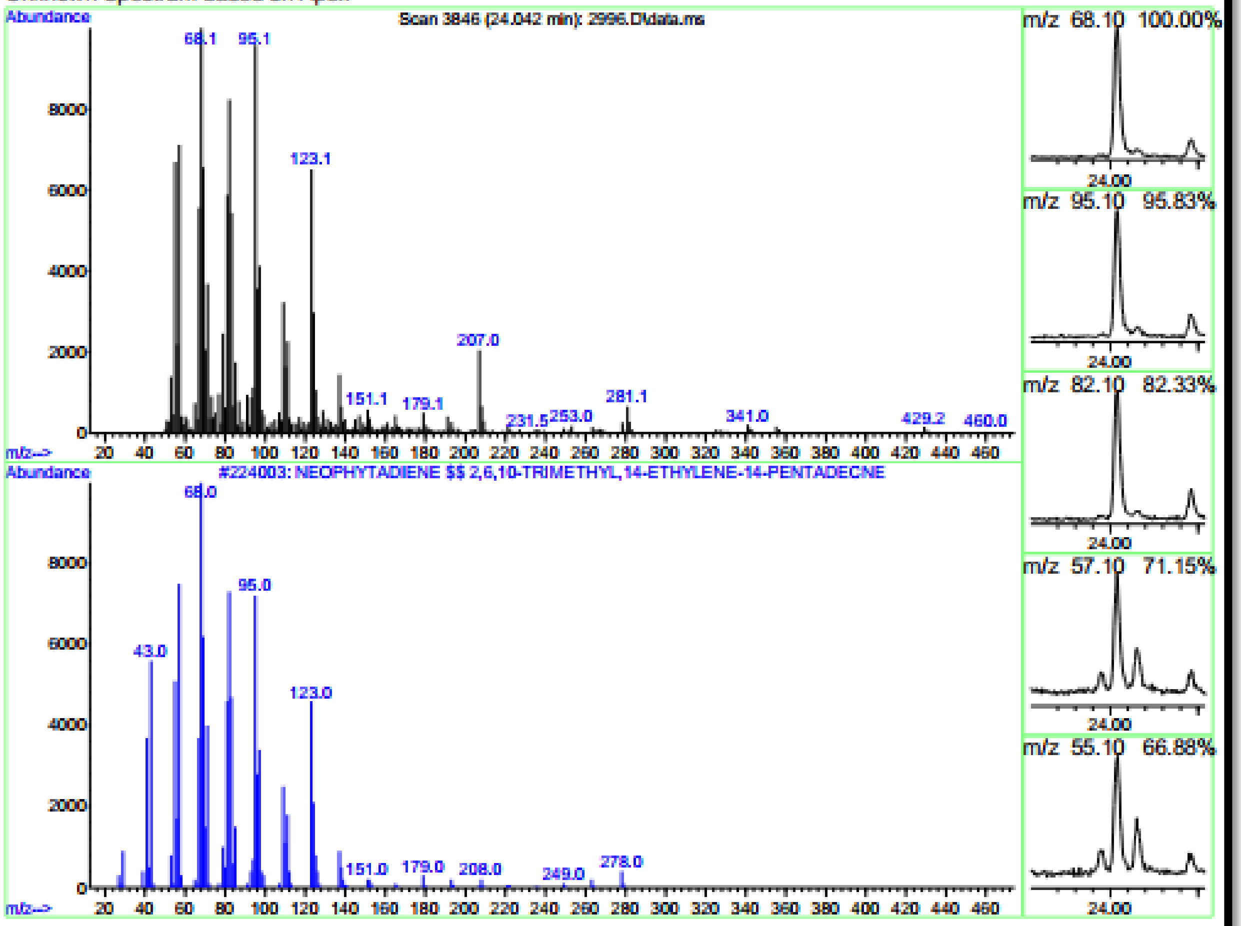
Data File: G:\ÒÇÑÕ 1401\1401-06-06\2996.D

The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

E:\Database\wiley7n.l

1 Hexadecanoic acid, methyl ester ... 213890 000112-39-0 98

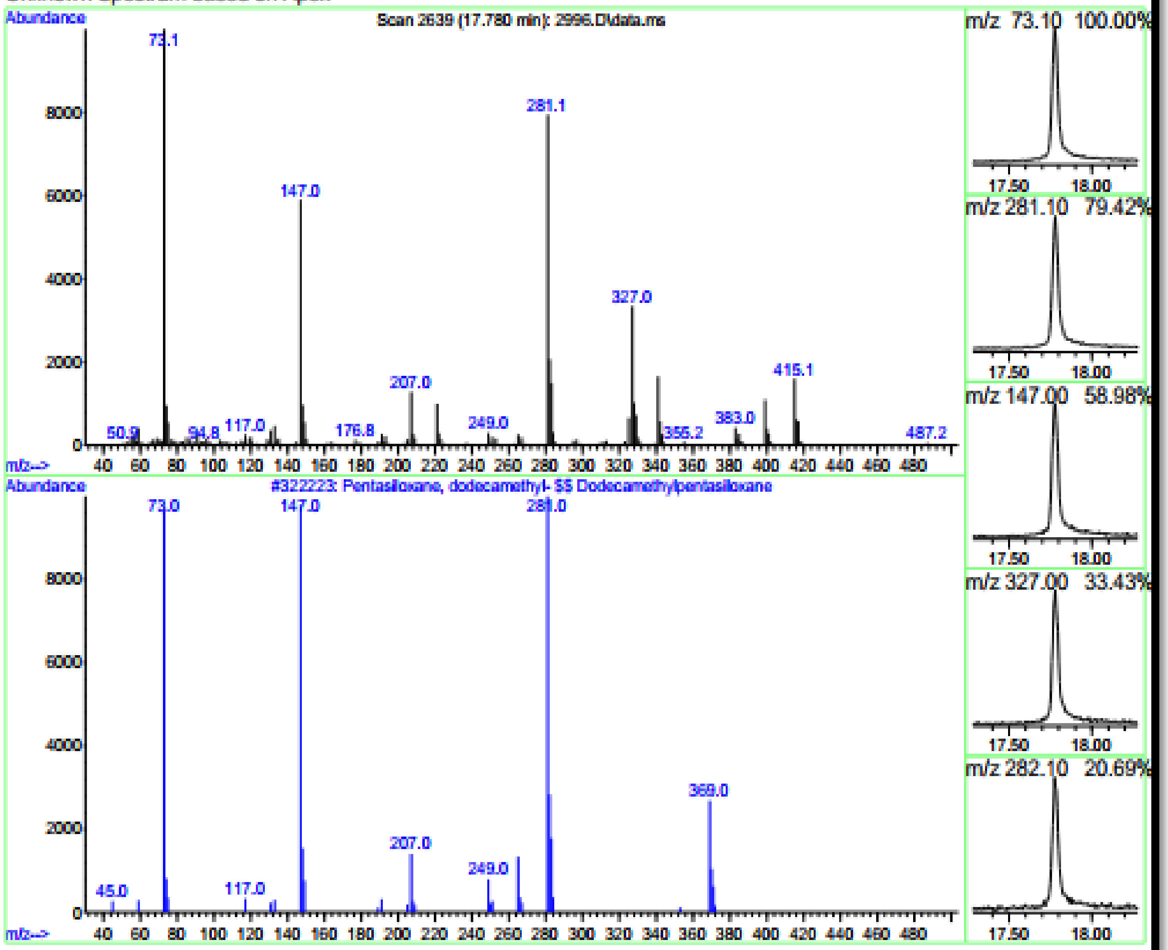
Unknown Spectrum based on Apex



Data File: G:\ÒÇÑÕ 1401\1401-06-06\2996.D

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
E:\Database\wiley7n.l			
1 NEOPHYTADIENE $$ 2,6,10-TRIMETHY...	224003	000000-00-0	99

Unknown Spectrum based on Apex

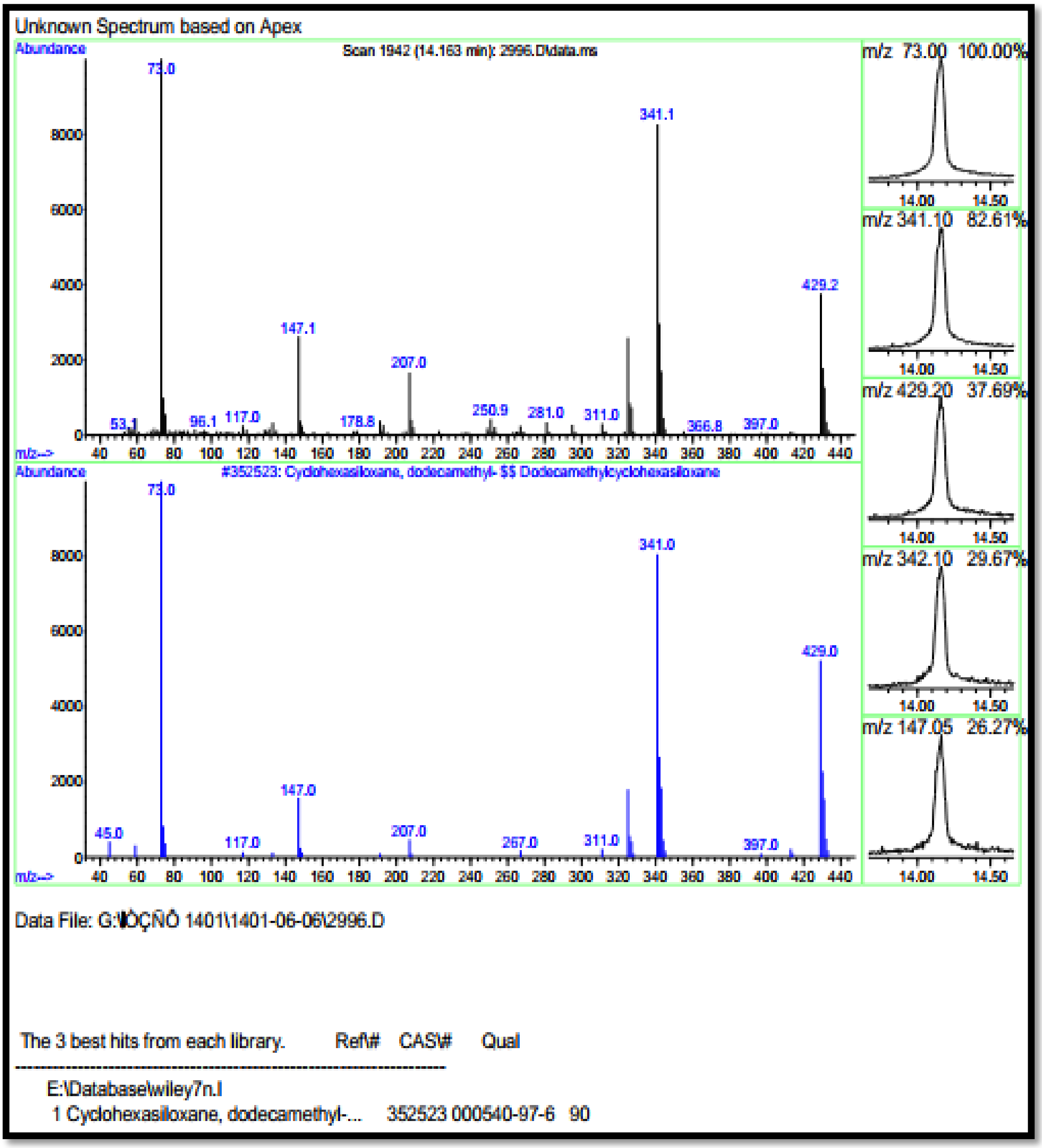


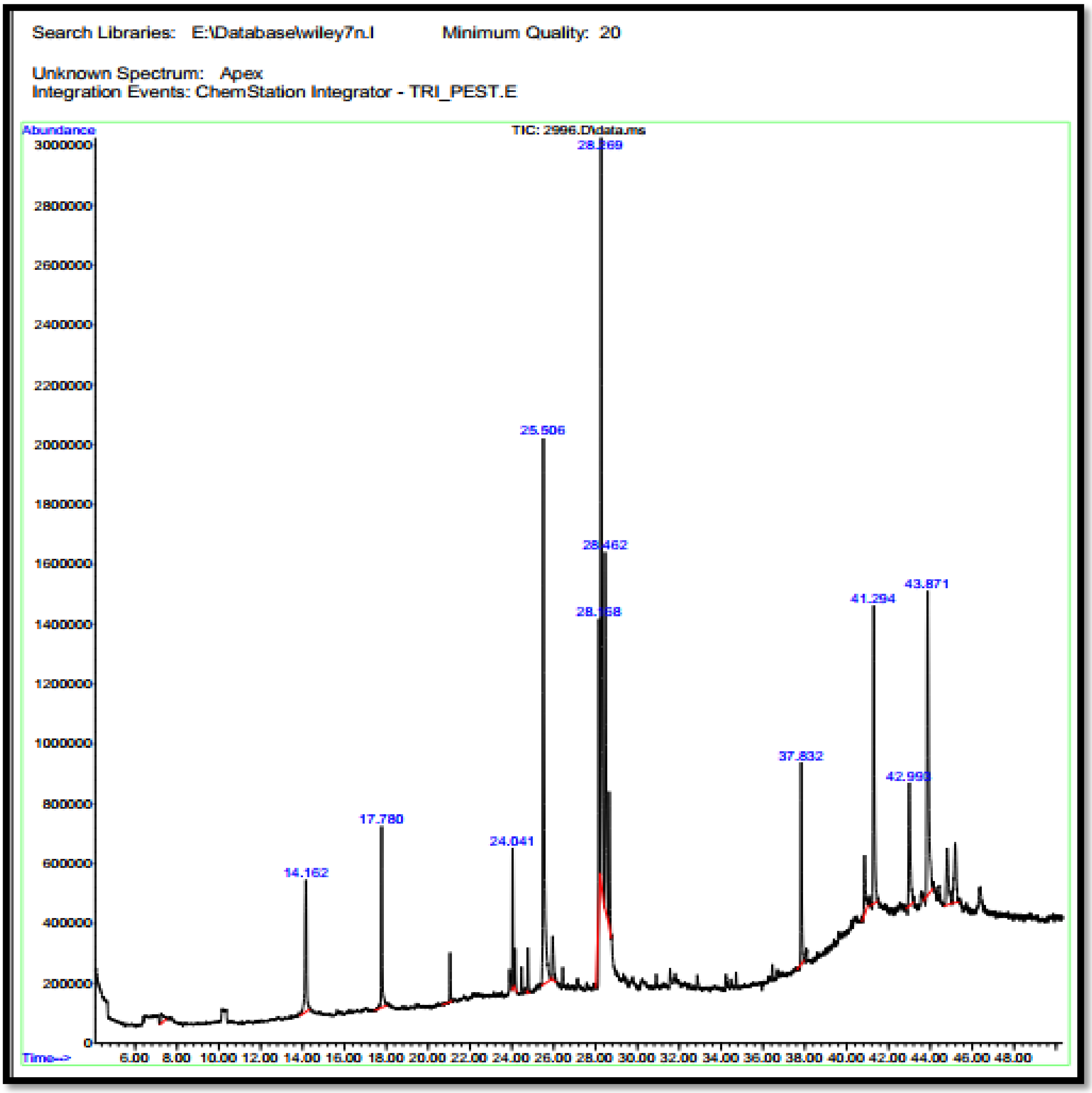
Data File: G:\ÒÇÑÕ 1401\1401-06-06\2996.D

The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

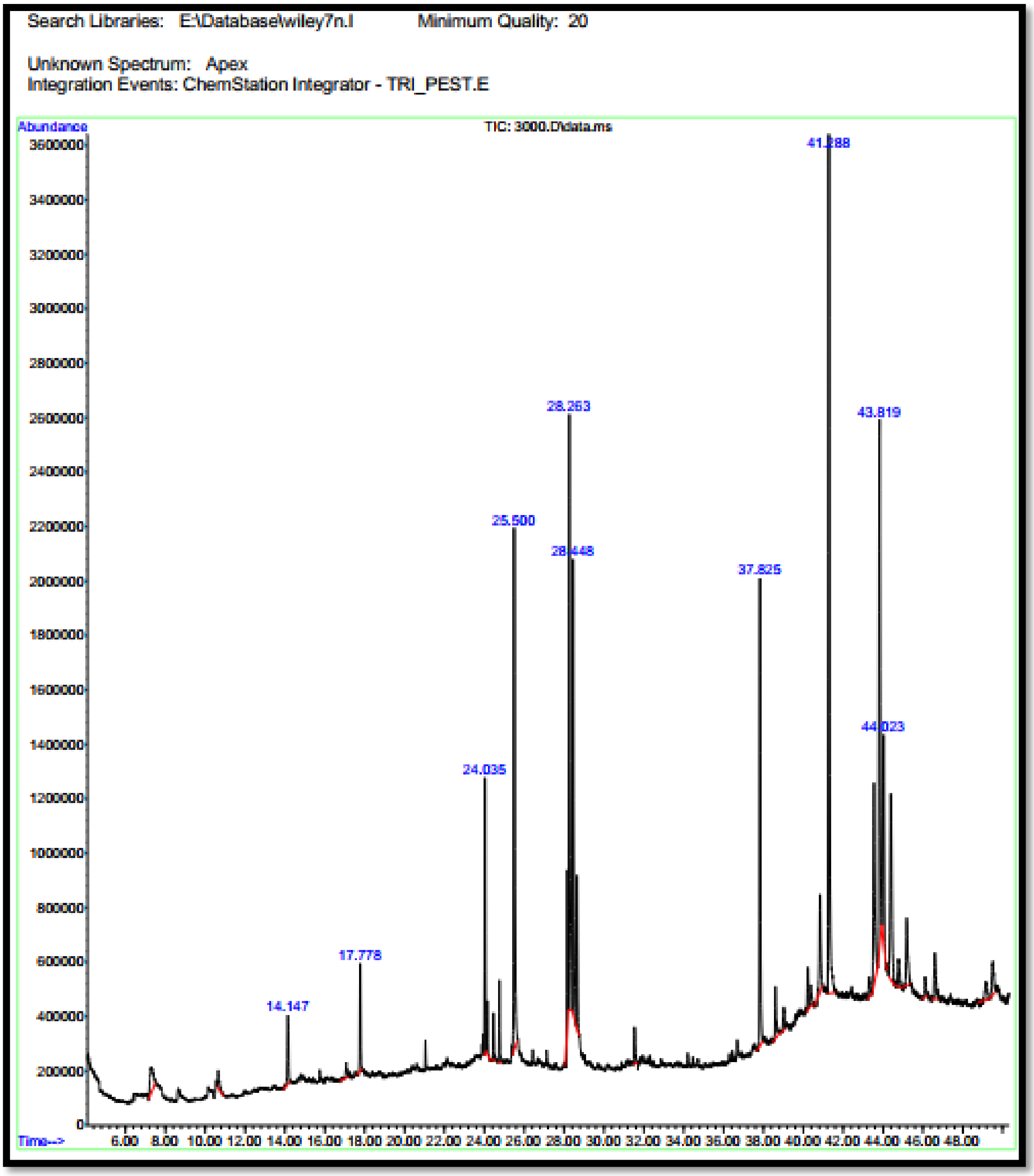
E:\Database\wiley7n.l

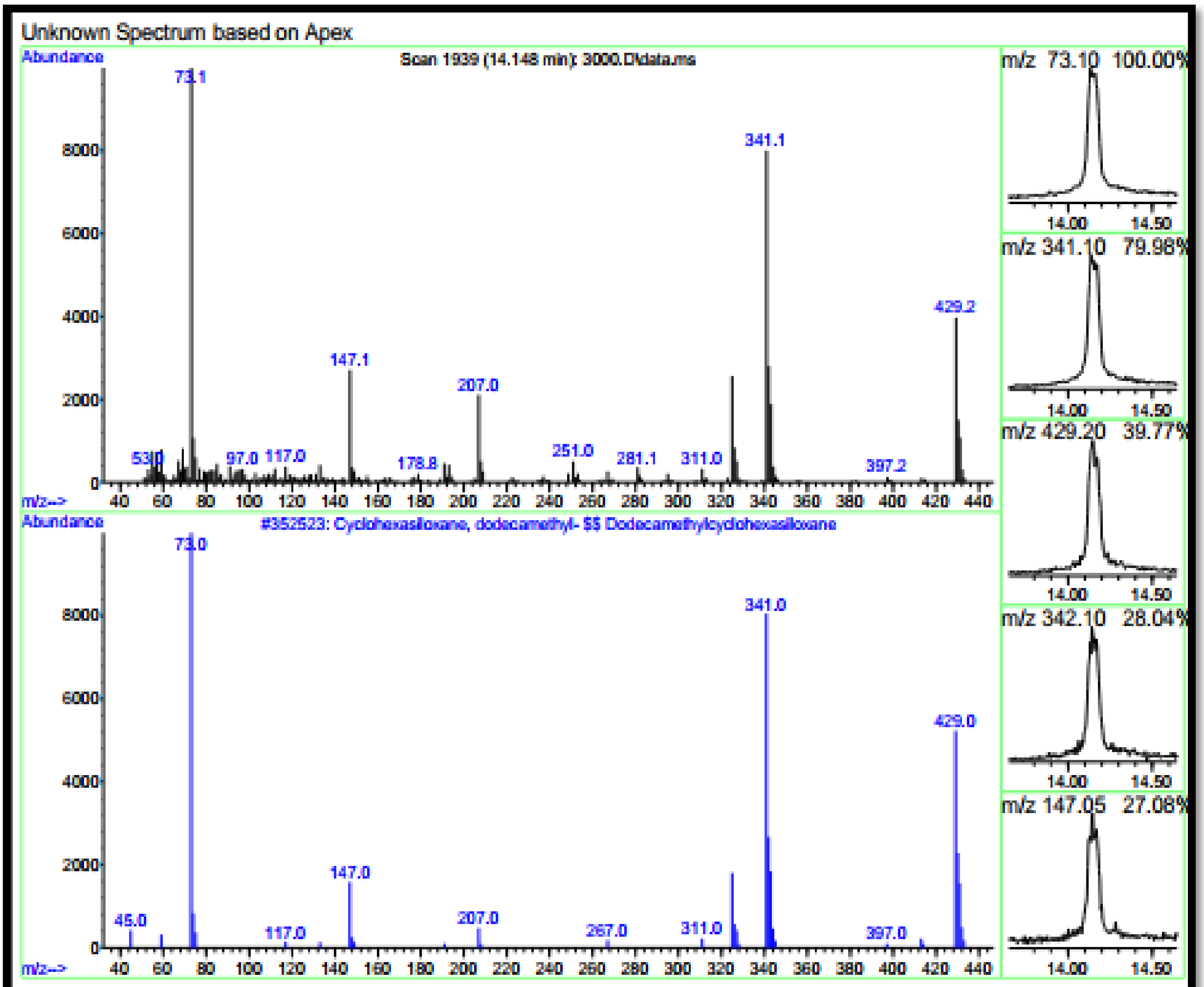
1 Pentasiloxane, dodecamethyl- $$ ... 322223 000141-63-9 52


Unknown Spectrum based on Apex
Abundance
Scan 1942 (14.163 min): 2996.D\data.ms
73.0
341.1
429.2
147.1
207.0
53.1
96.1
117.0
178.8
250.9
281.0
311.0
366.8
397.0
m/z-->
Abundance
#352523: Cyclohexasiloxane, dodecamethyl- $$ Dodecamethylcyclohexasiloxane
73.0
341.0
429.0
147.0
207.0
45.0
117.0
267.0
311.0
397.0
m/z-->
m/z 73.00 100.00%
m/z 341.10 82.61%
m/z 429.20 37.69%
m/z 342.10 29.67%
m/z 147.05 26.27%
14.00
14.50
Data File: G:\ÌÒÇÑÕ 1401\1401-06-06\2996.D
The 3 best hits from each library. Ref\# CAS\# Qual
E:\Database\wiley7n.l
1 Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-... 352523 000540-97-6 90


Search Libraries: E:\Database\wiley7n.l
Minimum Quality: 20
Unknown Spectrum: Apex
Integration Events: ChemStation Integrator - TRI_PEST.E
Abundance
TIC: 2996.D\data.ms
3000000
2800000
2600000
2400000
2200000
2000000
1800000
1600000
1400000
1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
28.269
25.506
28.462
28.168
43.871
41.294
37.832
42.993
17.780
24.041
14.162
Time-->
6.00 8.00 10.00 12.00 14.00 16.00 18.00 20.00 22.00 24.00 26.00 28.00 30.00 32.00 34.00 36.00 38.00 40.00 42.00 44.00 46.00 48.00

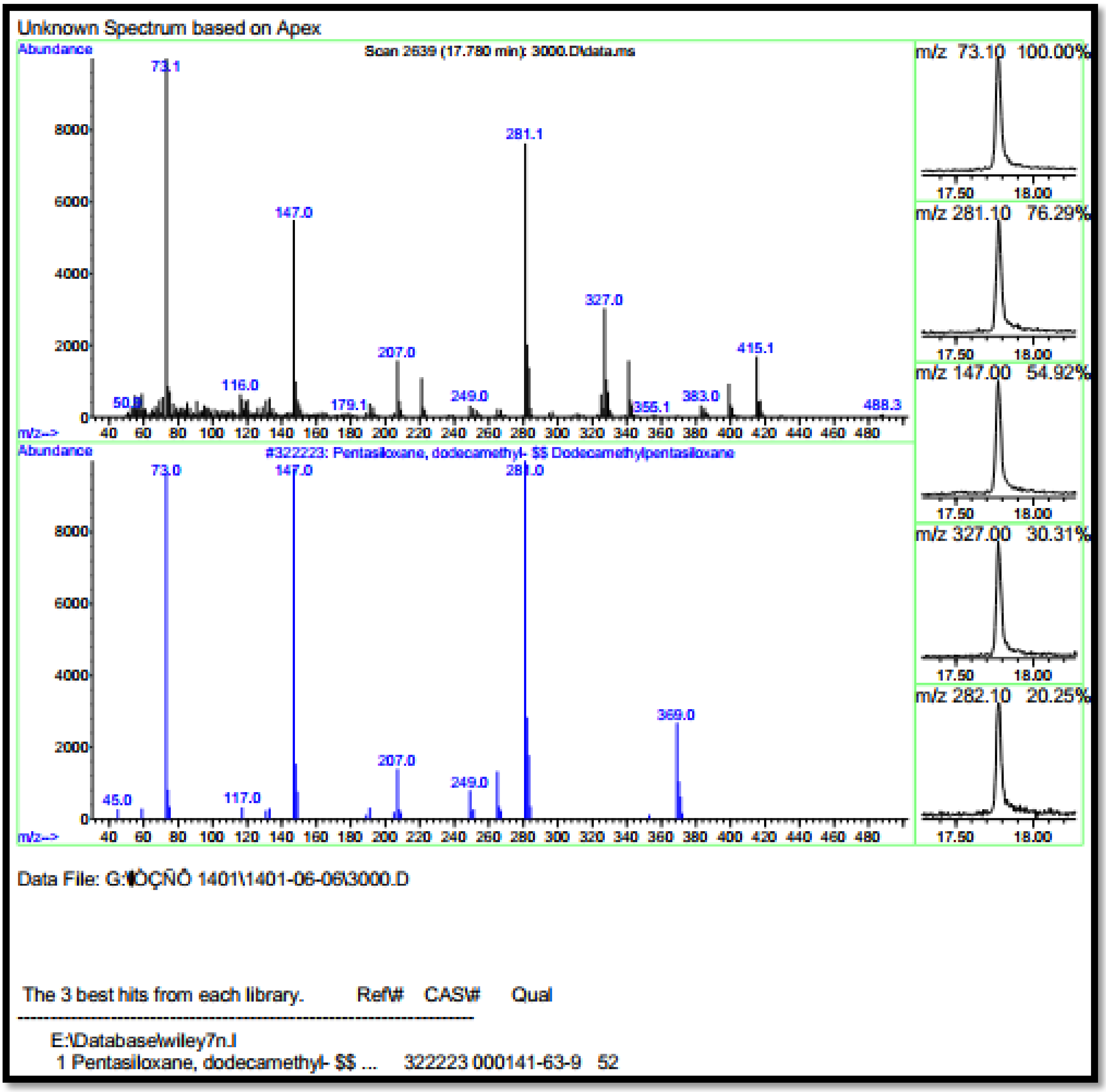
3- قراءة جهاز المطياف الغازي للمركبات الفعالة في مستخلص نبات ***G.tricornatum***





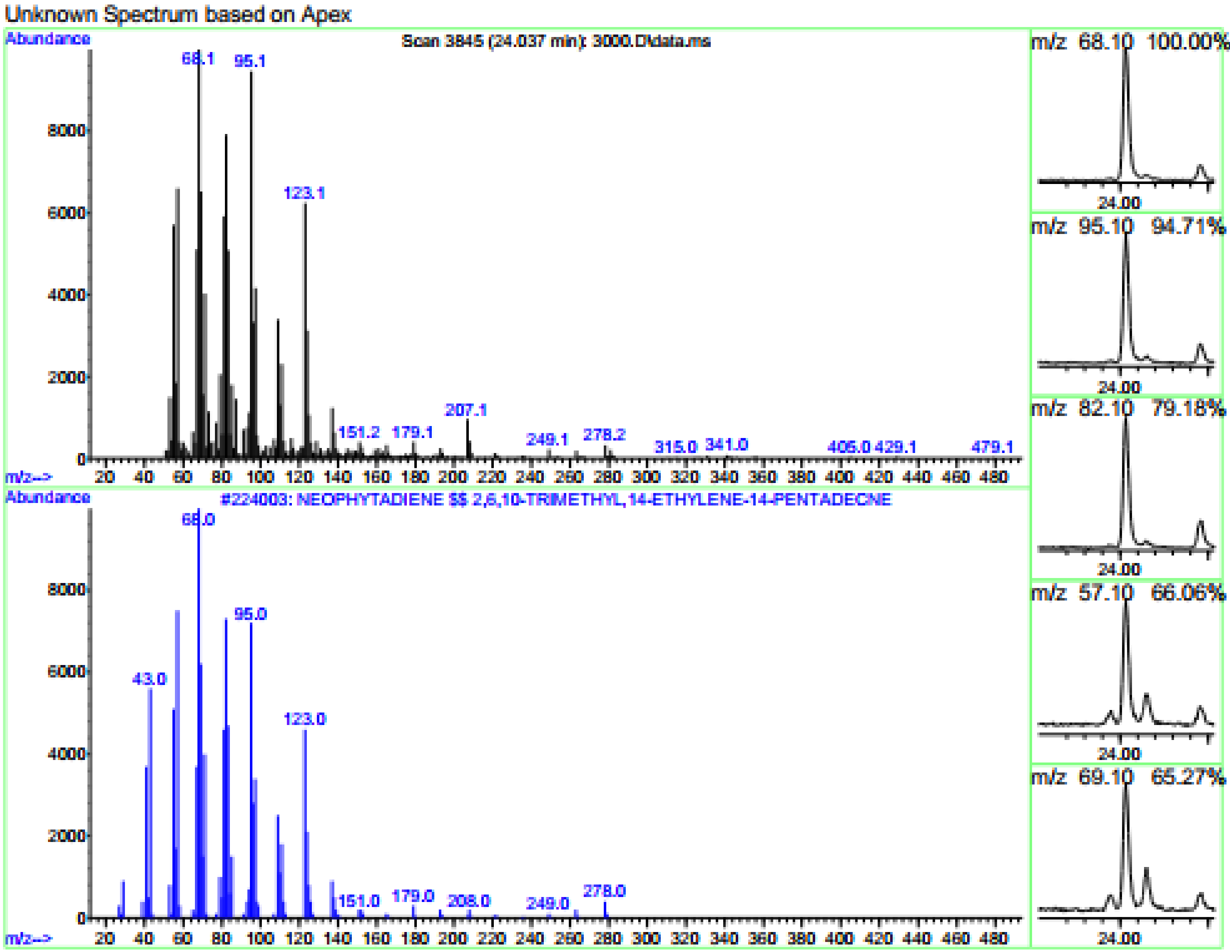
Data File: G:\ÔÇÑÕ 1401\1401-06-06\3000.D

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
E:\Database\wiley7n.l			
1 Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-...	352523	000540-97-6	80



Unknown Spectrum based on Apex
Abundance
Scan 2639 (17.780 min): 3000.D\data.ms
73.1
281.1
147.0
327.0
207.0
415.1
116.0
50.0
179.1
249.0
355.1
383.0
488.3
8000
6000
4000
2000
0
m/z-->
40 60 80 100 120 140 160 180 200 220 240 260 280 300 320 340 360 380 400 420 440 460 480
Abundance
#322223: Pentasiloxane, dodecamethyl- $$ Dodecamethylpentasiloxane
73.0
147.0
281.0
369.0
207.0
249.0
45.0
117.0
m/z 73.10 100.00%
m/z 281.10 76.29%
m/z 147.00 54.92%
m/z 327.00 30.31%
m/z 282.10 20.25%
17.50
18.00
Data File: G:\ÒÇÑÕ 1401\1401-06-06\3000.D
The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual
E:\Database\wiley7n.l
1 Pentasiloxane, dodecamethyl- $$ ... 322223 000141-63-9 52

Unknown Spectrum based on Apex

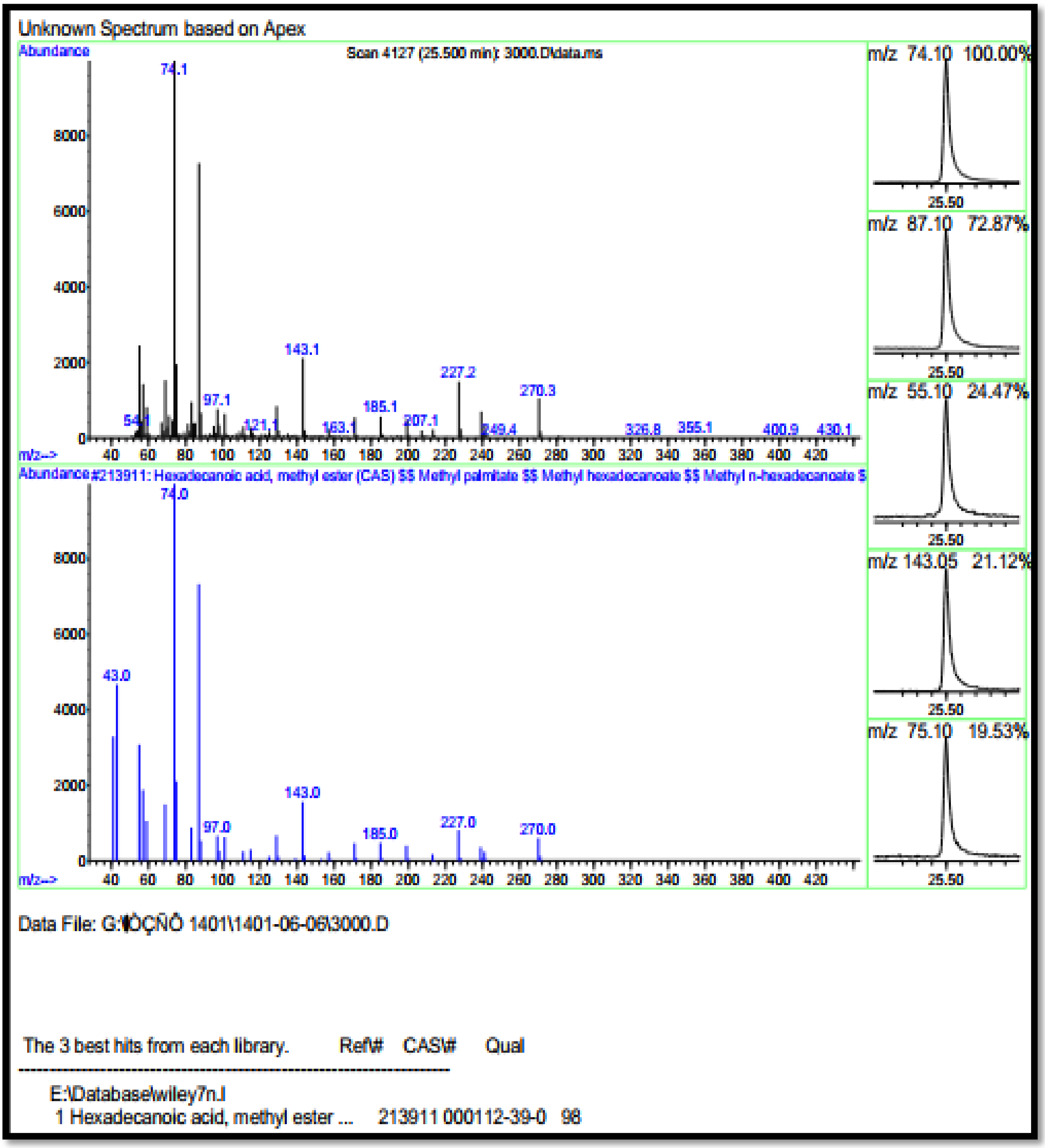


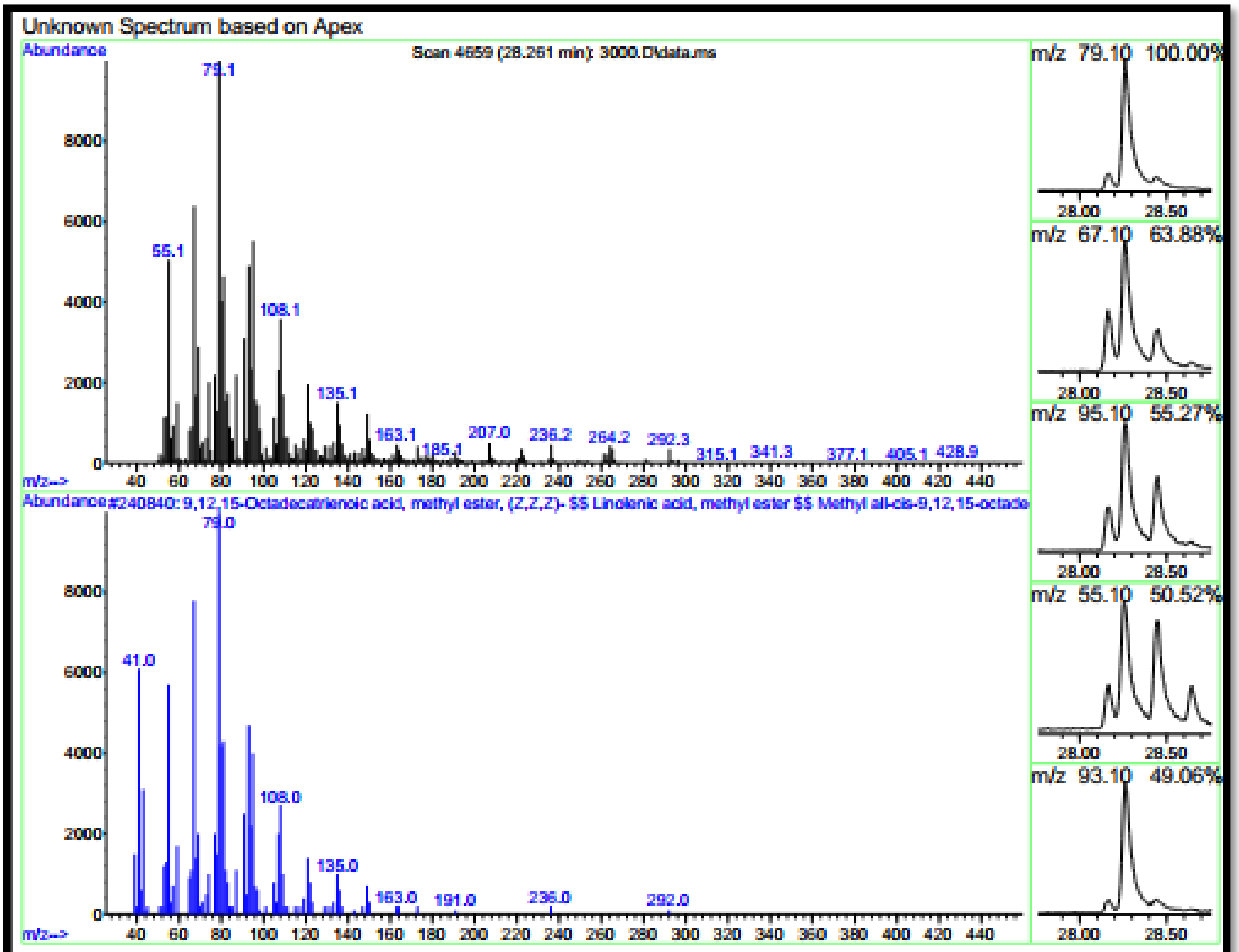
Data File: G:\ÒÇÑÔ 1401\1401-06-06\3000.D

The 3 best hits from each library.   Ref#   CAS#   Qual

E:\Database\wiley7n.l

1 NEOPHYTADIENE $$ 2,6,10-TRIMETHY...   224003 000000-00-0   99


Unknown Spectrum based on Apex
Abundance
Scan 4127 (25.500 min): 3000.D\data.ms
m/z 74.10 100.00%
m/z 87.10 72.87%
m/z 55.10 24.47%
m/z 143.05 21.12%
m/z 75.10 19.53%
Abundance #213911: Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) $$ Methyl palmitate $$ Methyl hexadecanoate $$ Methyl n-hexadecanoate $
m/z-->
Data File: G:\ÒÇÑÕ 1401\1401-06-06\3000.D
The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual
E:\Database\wiley7n.l
1 Hexadecanoic acid, methyl ester ... 213911 000112-39-0 98

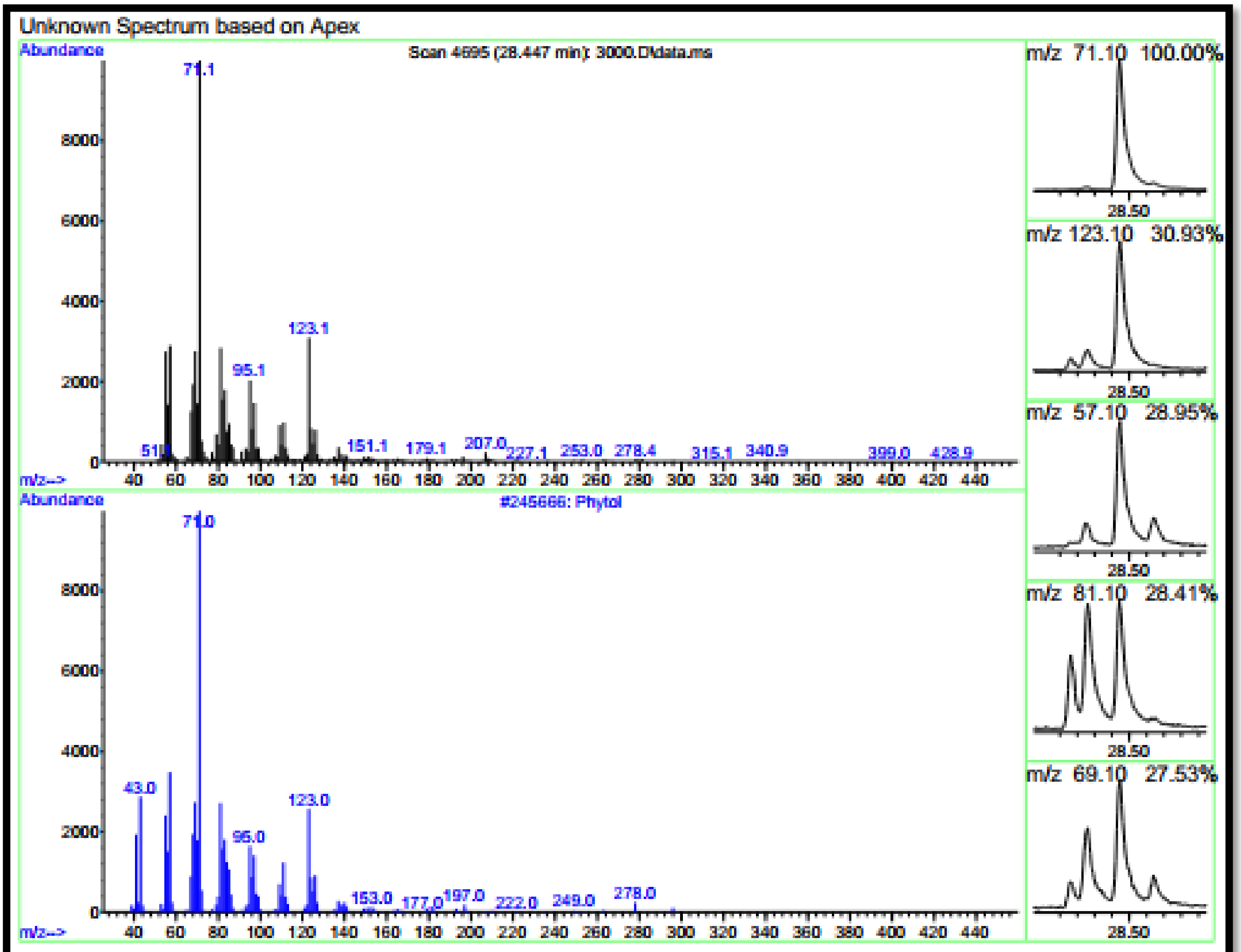


Data File: G:\ÔÇÑÖ 1401\1401-06-06\3000.D

The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

E:\Database\wiley7n.l

1 9,12,15-Octadecatrienoic acid, m... 240840 000301-00-8 99

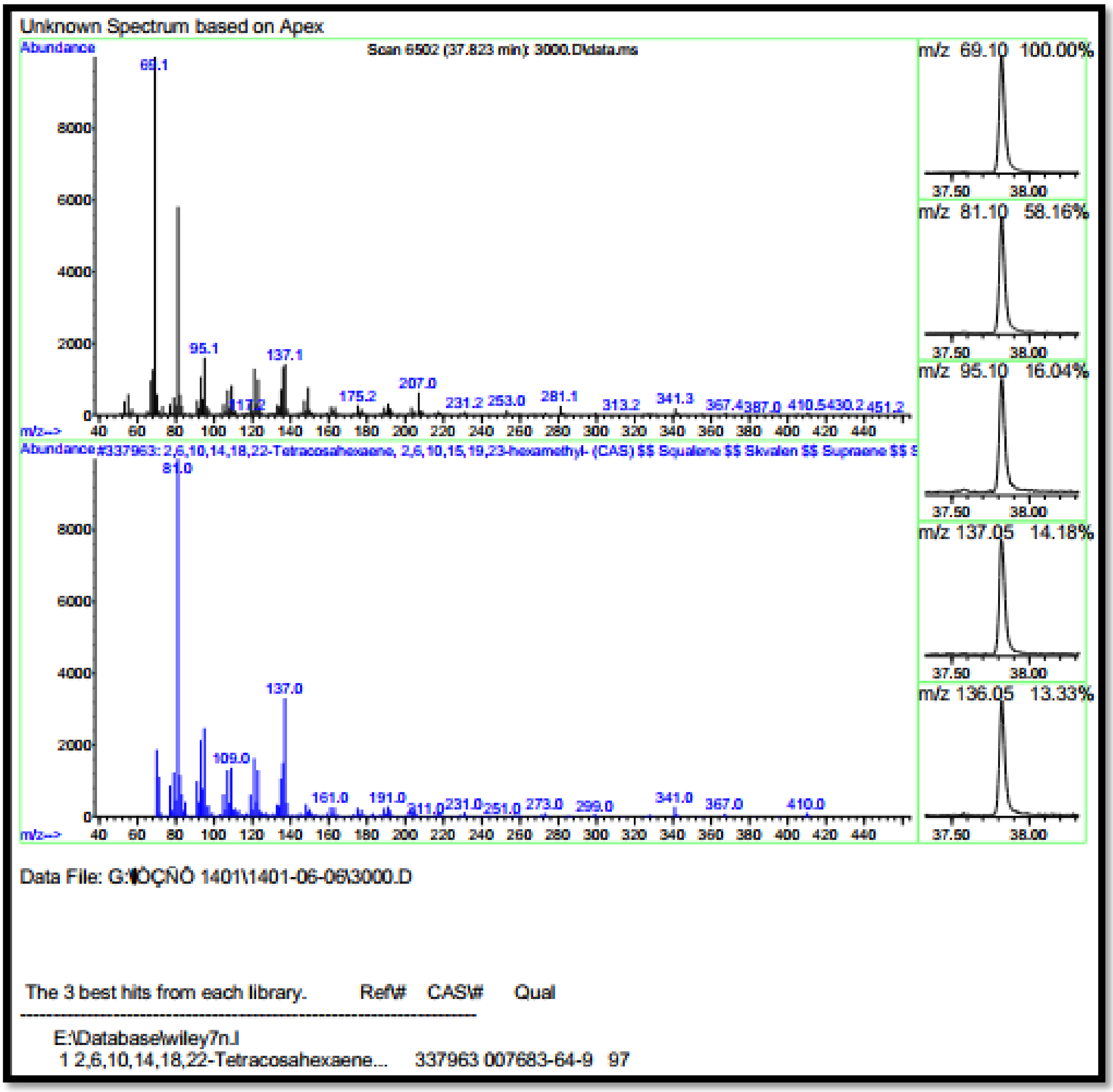


Data File: G:\ÌÓÇÑÕ 1401\1401-06-06\3000.D

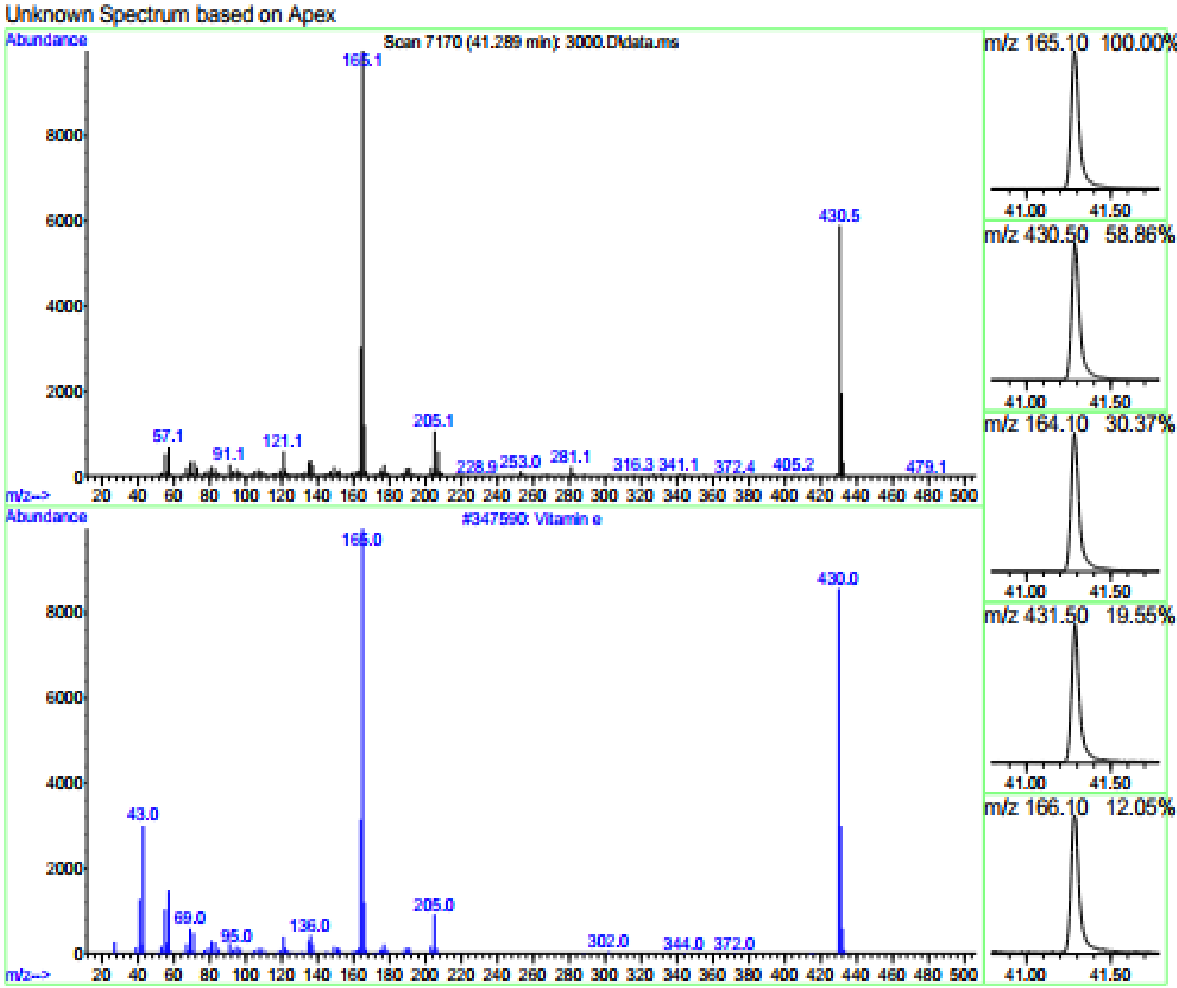
The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

E:\Database\wiley7n.l

1 Phytol 245666 000150-86-7 90


Unknown Spectrum based on Apex
Abundance
Scan 6502 (37.823 min): 3000.D\data.ms
m/z 69.10 100.00%
m/z 81.10 58.16%
m/z 95.10 16.04%
m/z 137.05 14.18%
m/z 136.05 13.33%
Abundance #337963: 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl- (CAS) $$ Squalene $$ Skvalen $$ Supraene $$
m/z-->
Data File: G:\ÒÇÑÕ 1401\1401-06-06\3000.D
The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual
E:\Database\wiley7n.l
1 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene... 337963 007683-64-9 97

Unknown Spectrum based on Apex

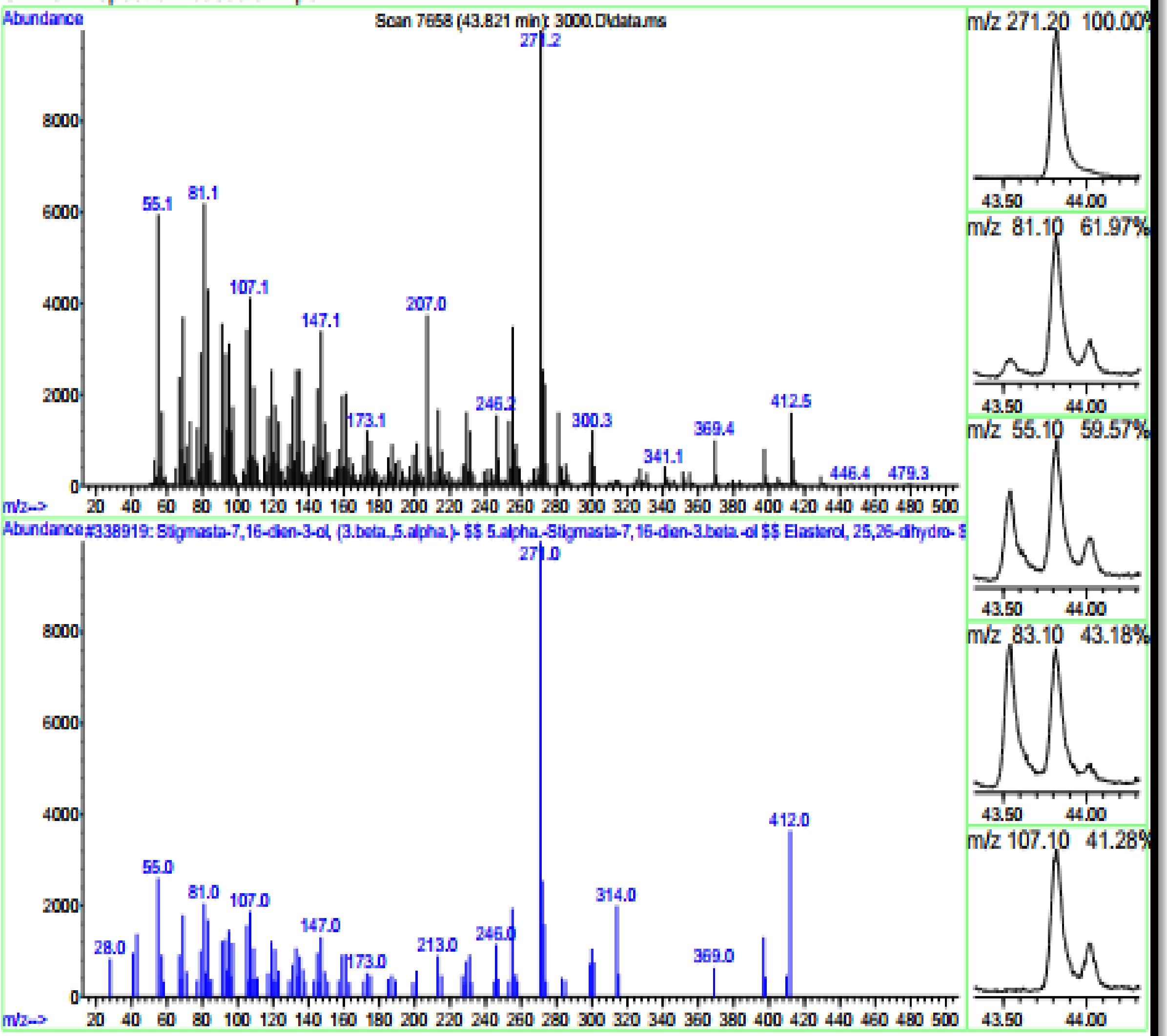


Data File: G:\ÖÇÑÕ 1401\1401-06-06\3000.D

The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

E:\Database\wiley7n.l
1 Vitamin e 347590 010191-41-0 99

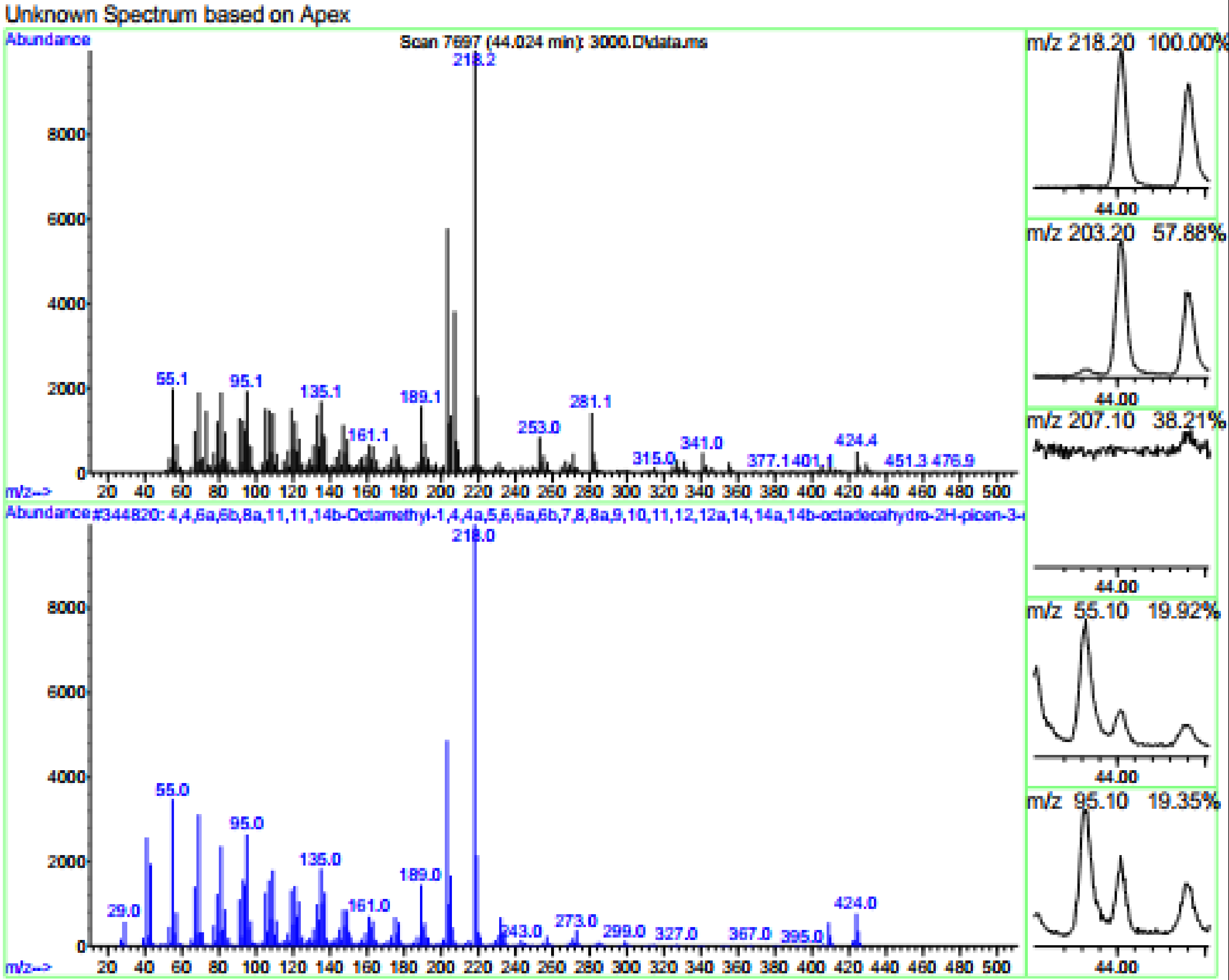
Unknown Spectrum based on Apex



Data File: G:\ÔÇÑÔ 1401\1401-06-06\3000.D

The 3 best hits from each library.   Ref#   CAS#   Qual

E:\Database\wiley7n.l
1 Stigmasta-7,16-dien-3-ol, (3.bet...   338919 017851-90-0   90

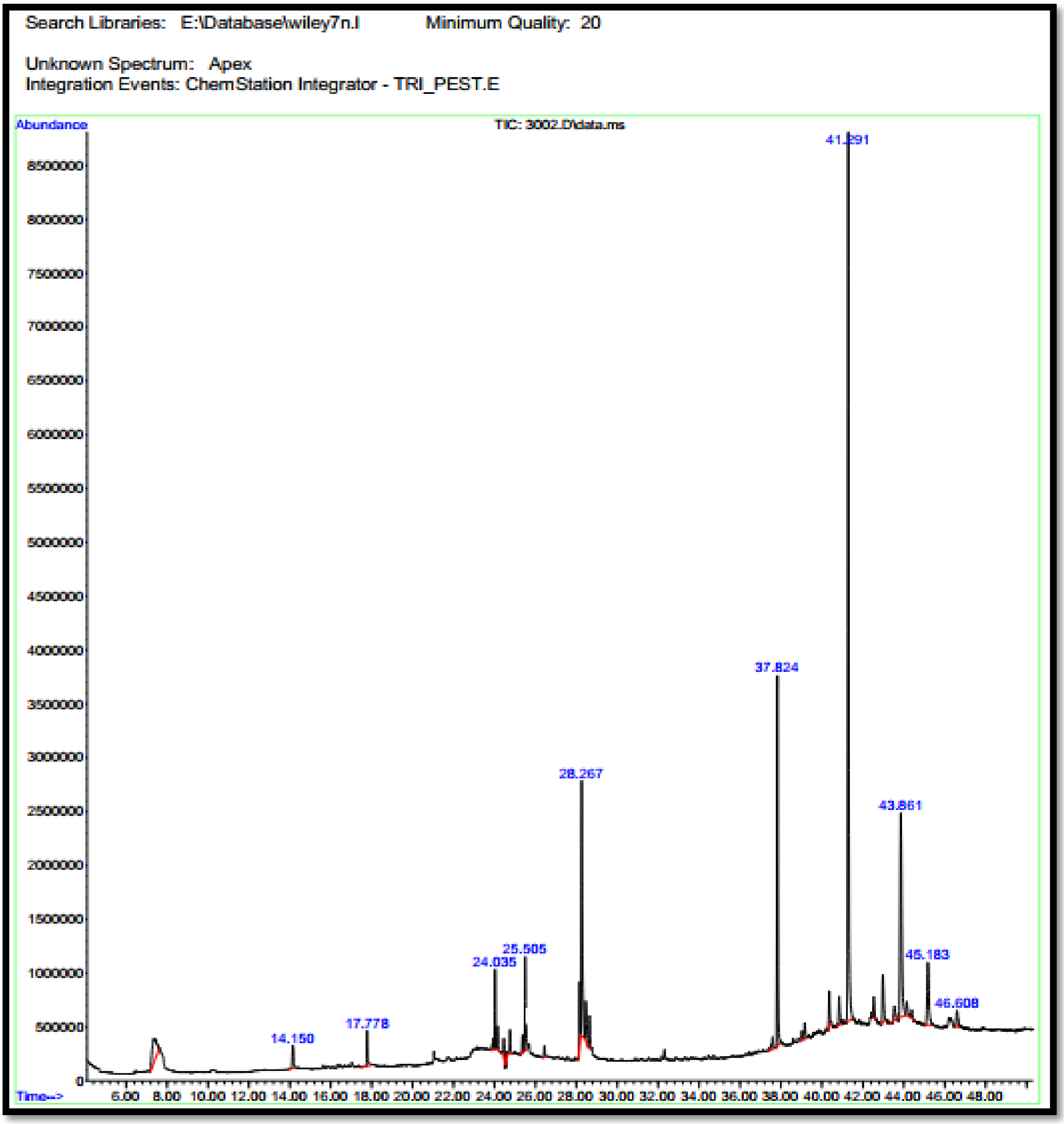


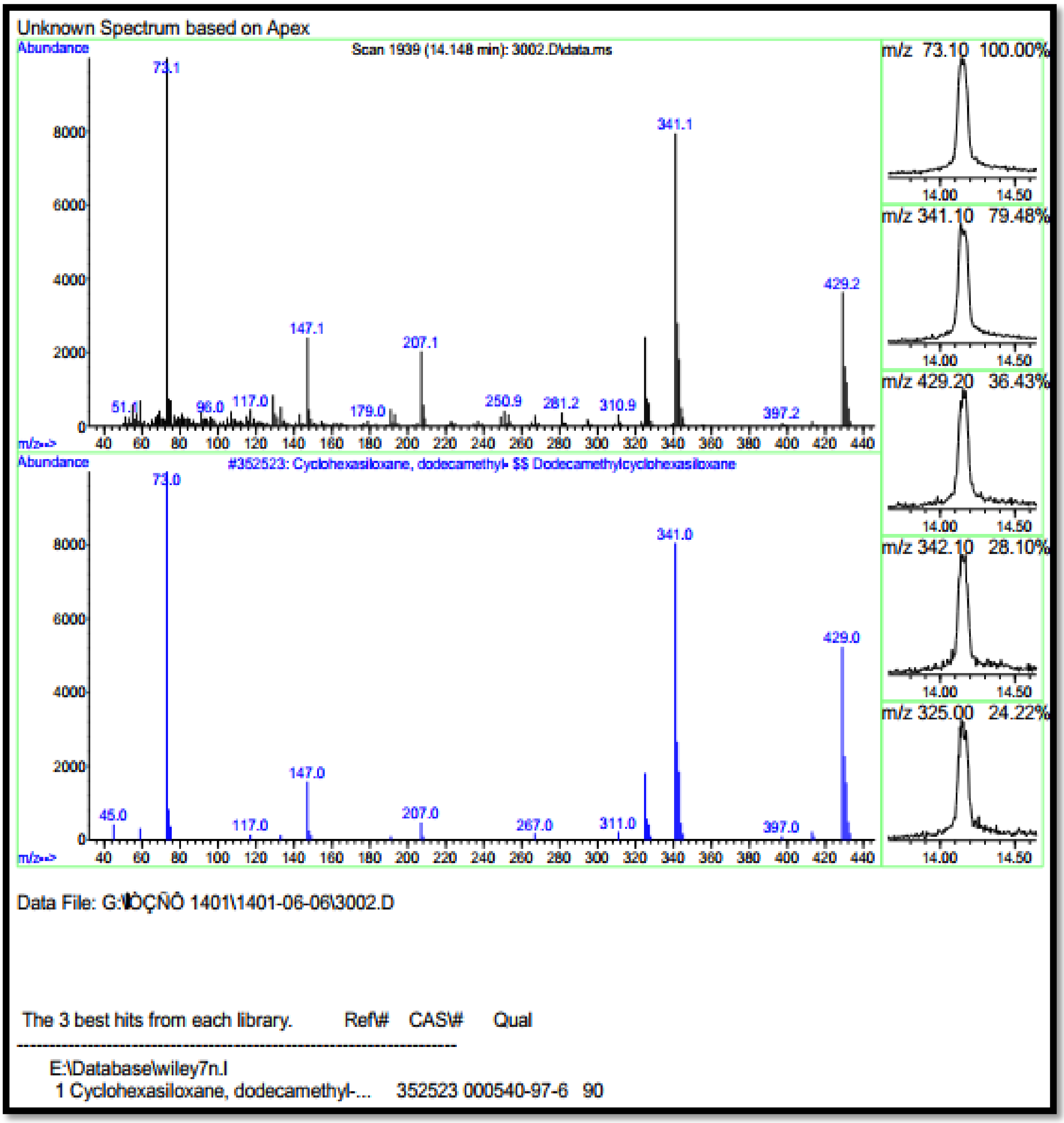
Data File: G:\ÒÇÑÔ 1401\1401-06-06\3000.D

The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

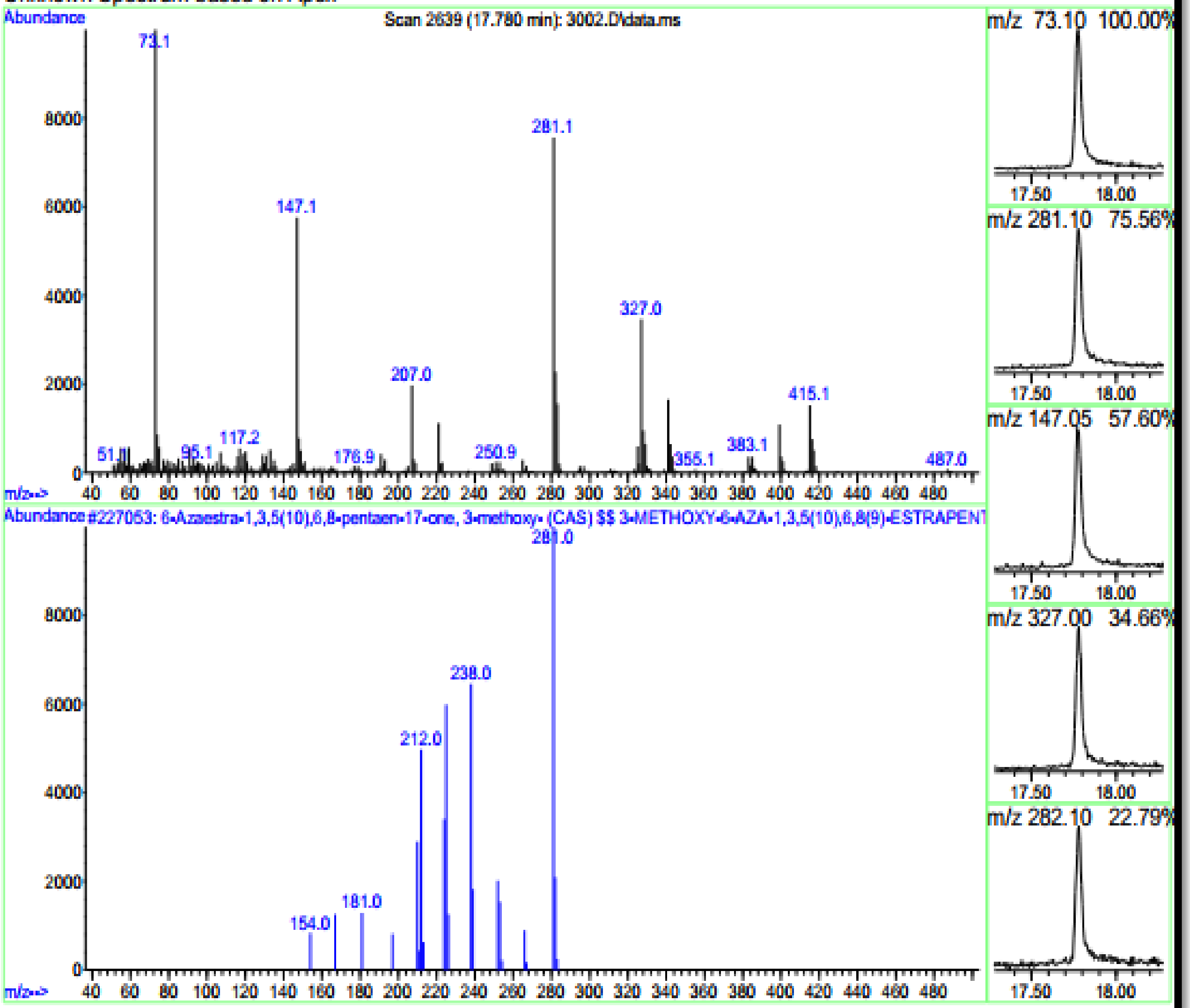
E:\Database\wiley7n.l
1 4,4,6a,6b,8a,11,11,14b-Octamethy... 344820 000000-00-0 90

4- قراءة جهاز المطياف الغازي للمركبات الفعالة في مستخلص نبات ***G.ceratopodum***




Unknown Spectrum based on Apex
Abundance
Scan 1939 (14.148 min): 3002.D\data.ms
73.1
341.1
429.2
147.1
207.1
51.0
96.0
117.0
179.0
250.9
281.2
310.9
397.2
m/z-->
Abundance
#352523: Cyclohexasiloxane, dodecamethyl- $$ Dodecamethylcyclohexasiloxane
73.0
341.0
429.0
147.0
45.0
117.0
207.0
267.0
311.0
397.0
m/z-->
m/z 73.10 100.00%
m/z 341.10 79.48%
m/z 429.20 36.43%
m/z 342.10 28.10%
m/z 325.00 24.22%
Data File: G:\ÒÇÑÖ 1401\1401-06-06\3002.D
The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual
E:\Database\wiley7n.l
1 Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-... 352523 000540-97-6 90

Unknown Spectrum based on Apex

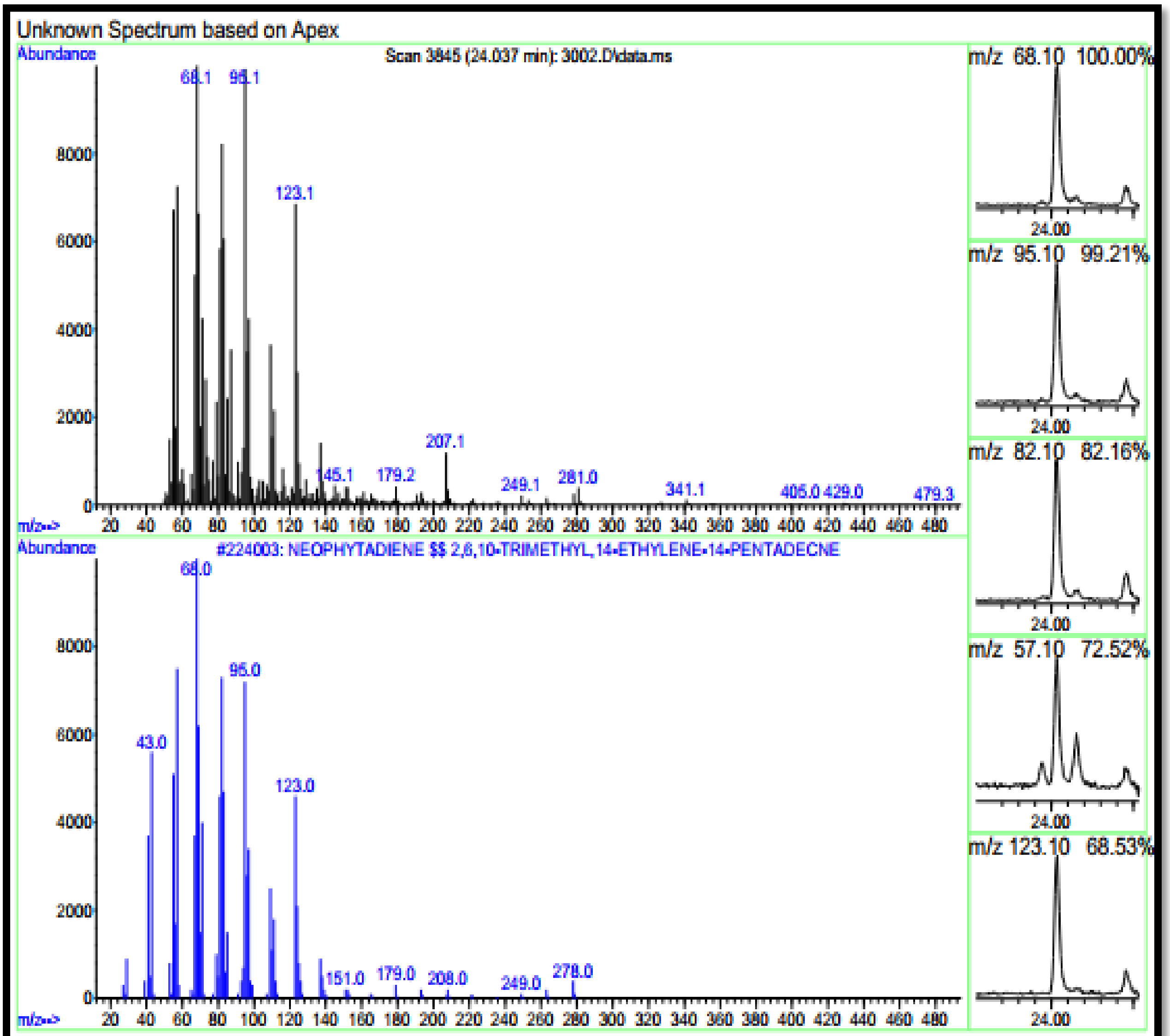


Data File: G:\ÌÒÇÑÕ 1401\1401-06-06\3002.D

The 3 best hits from each library.　　Ref#　CAS#　Qual

E:\Database\wiley7n.l

1 6-Azaestra-1,3,5(10),6,8-pentaen...　227053 005144-20-7　43

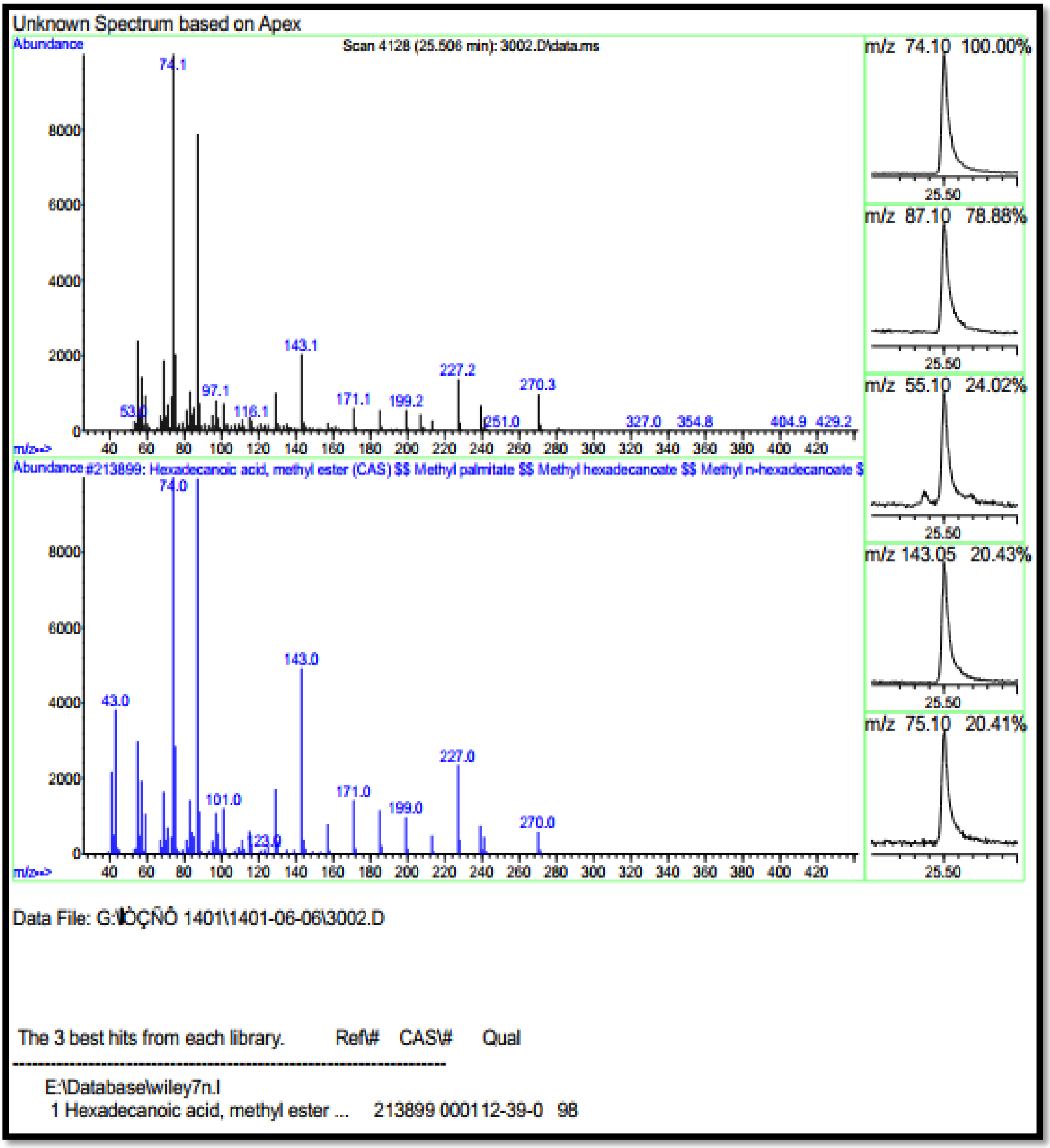


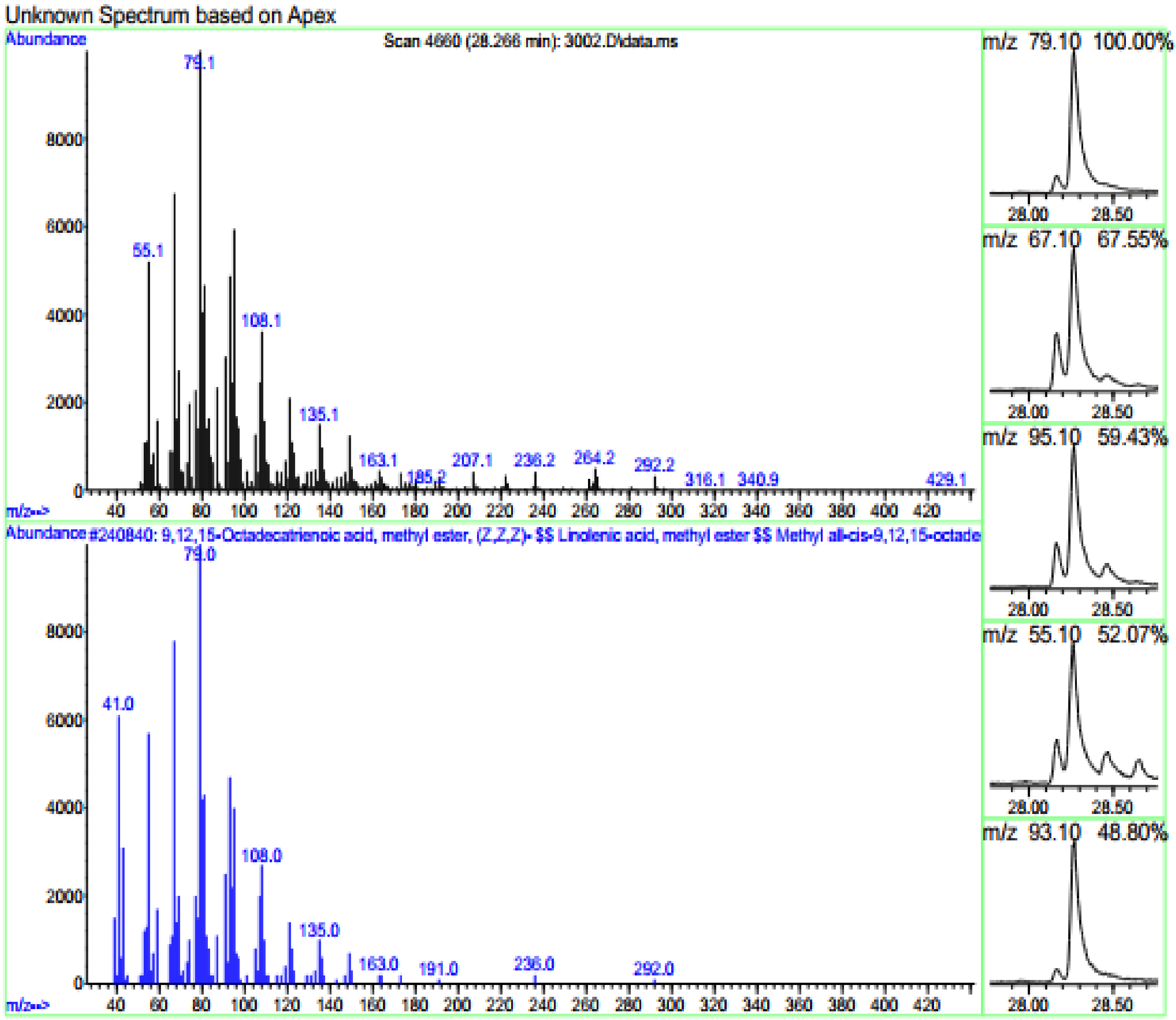
Data File: G:\ÌÒÇÑÖ 1401\1401-06-06\3002.D

The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

E:\Database\wiley7n.l

1 NEOPHYTADIENE $$ 2,6,10-TRIMETHY... 224003 000000-00-0 99

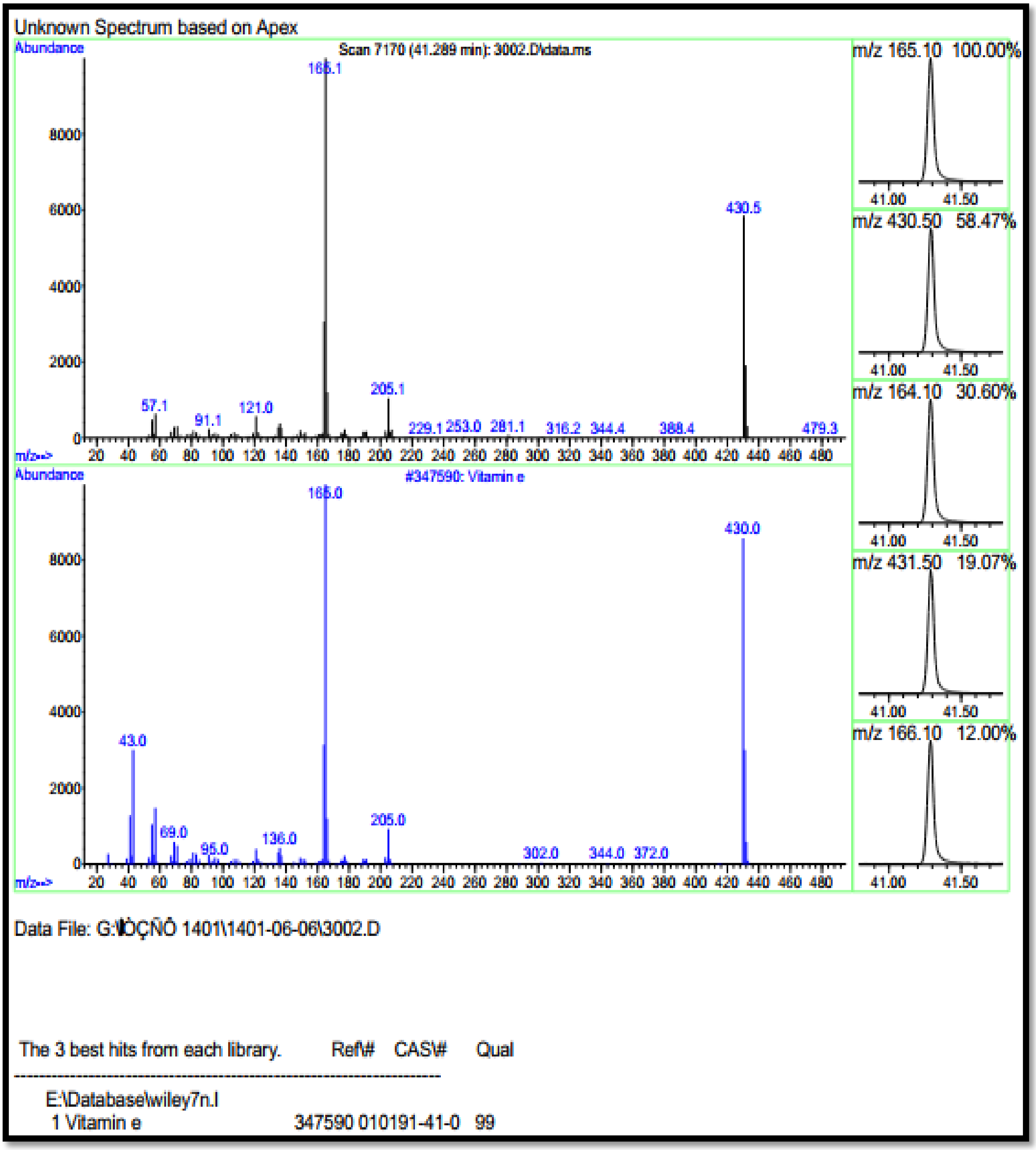

Unknown Spectrum based on Apex
Abundance
Scan 4128 (25.506 min): 3002.D\data.ms
74.1
143.1
227.2
270.3
97.1
171.1
199.2
116.1
251.0
327.0
354.8
404.9
429.2
m/z-->
Abundance #213899: Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) $$ Methyl palmitate $$ Methyl hexadecanoate $$ Methyl n-hexadecanoate $
74.0
143.0
43.0
227.0
101.0
171.0
199.0
270.0
m/z 74.10 100.00%
m/z 87.10 78.88%
m/z 55.10 24.02%
m/z 143.05 20.43%
m/z 75.10 20.41%
25.50
Data File: G:\ÒÇÑÕ 1401\1401-06-06\3002.D
The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual
E:\Database\wiley7n.l
1 Hexadecanoic acid, methyl ester ... 213899 000112-39-0 98

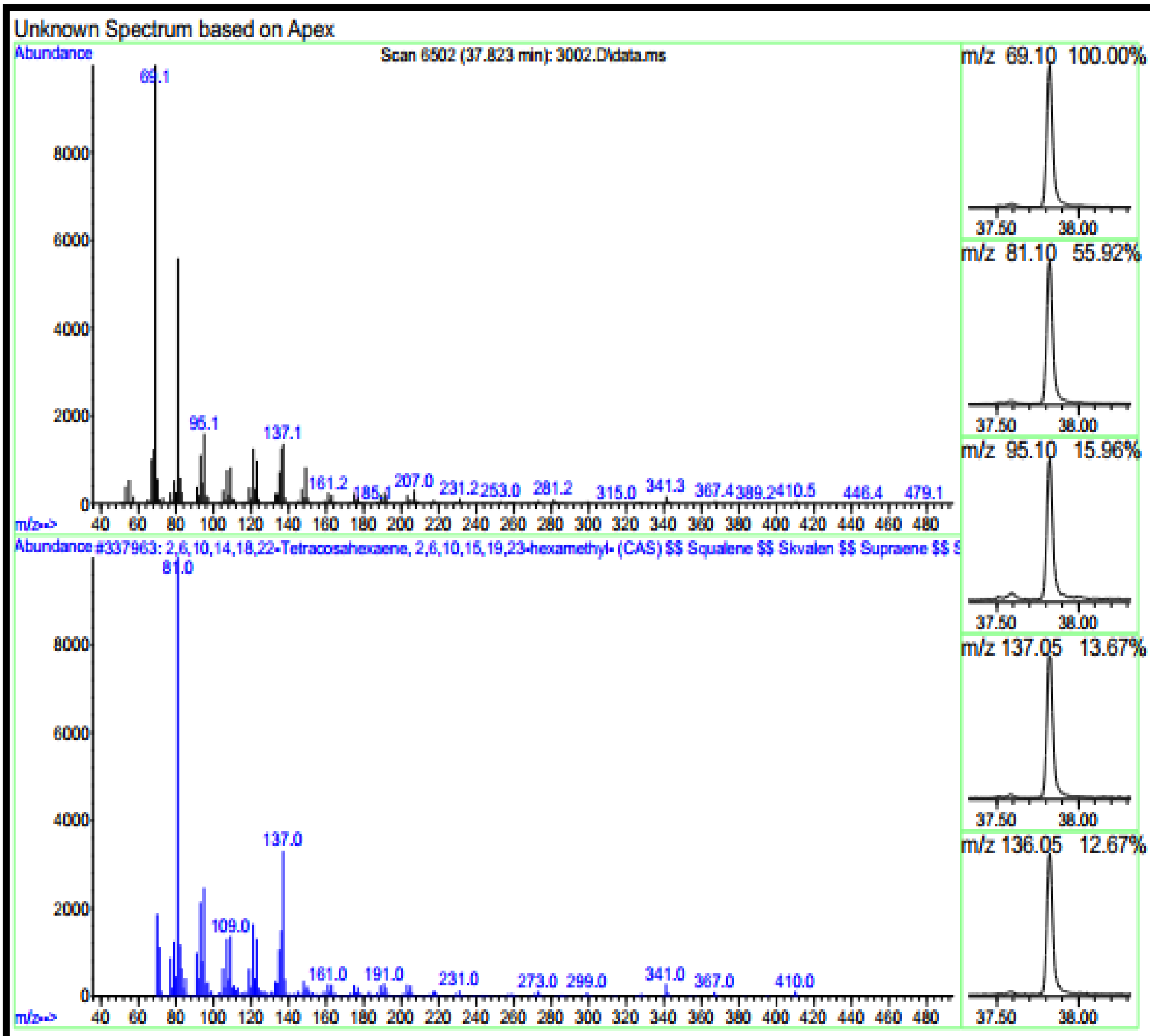


Data File: G:\ÌÒÇÑÔ 1401\1401-06-06\3002.D

The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

E:\Database\wiley7n.l
1 9,12,15-Octadecatrienoic acid, m... 240840 000301-00-8 99


Unknown Spectrum based on Apex
Abundance
Scan 7170 (41.289 min): 3002.D\data.ms
165.1
430.5
205.1
57.1
91.1
121.0
229.1 253.0 281.1 316.2 344.4 388.4 479.3
m/z-->
Abundance
#347590: Vitamin e
165.0
430.0
43.0
69.0
95.0
136.0
205.0
302.0 344.0 372.0
m/z-->
m/z 165.10 100.00%
m/z 430.50 58.47%
m/z 164.10 30.60%
m/z 431.50 19.07%
m/z 166.10 12.00%
41.00 41.50
Data File: G:\ÒÇÑÕ 1401\1401-06-06\3002.D
The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual
E:\Database\wiley7n.l
1 Vitamin e 347590 010191-41-0 99



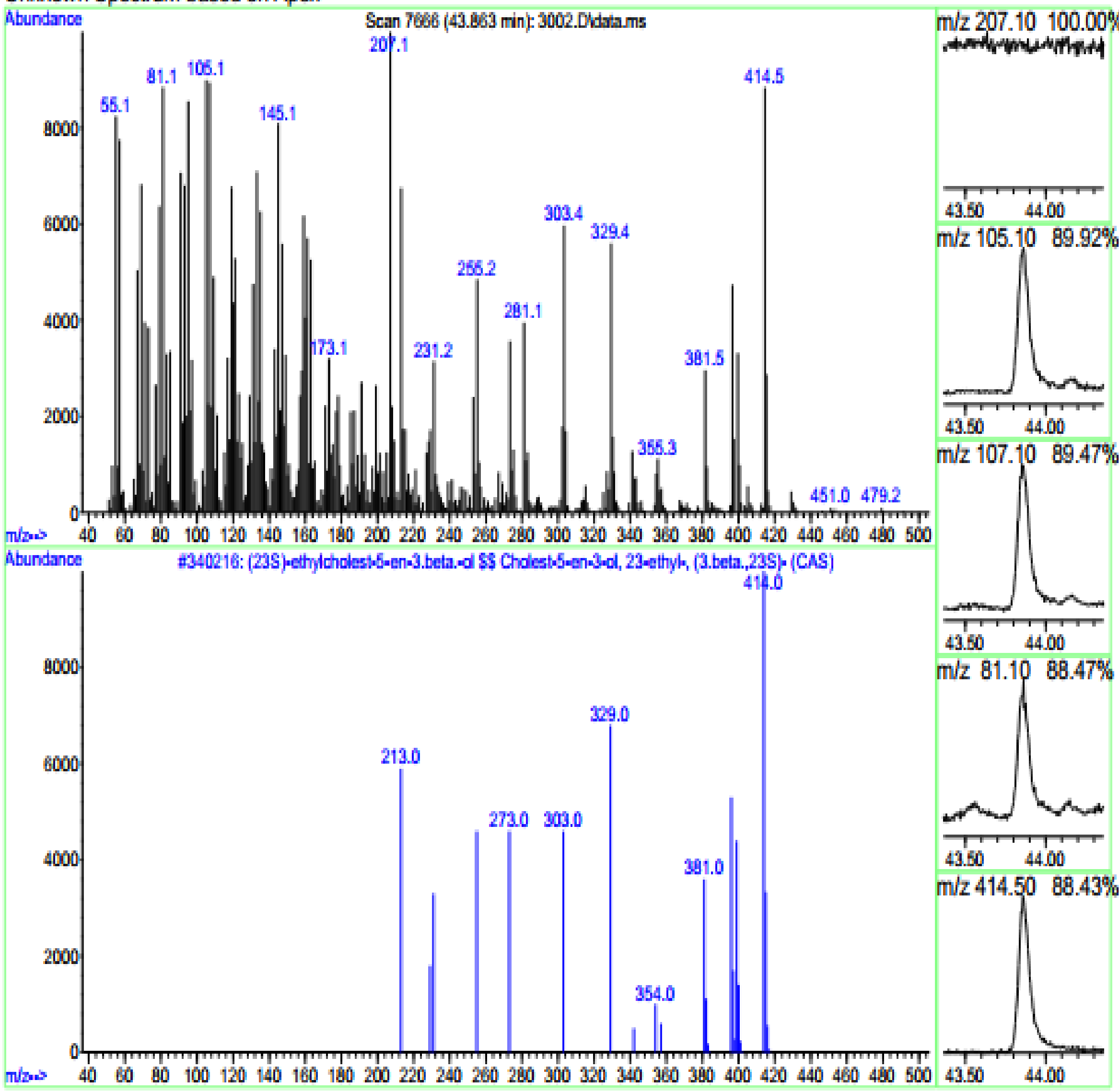
Data File: G:\ÌÒÇÑÔ 1401\1401-06-06\3002.D

The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

E:\Database\wiley7n.l

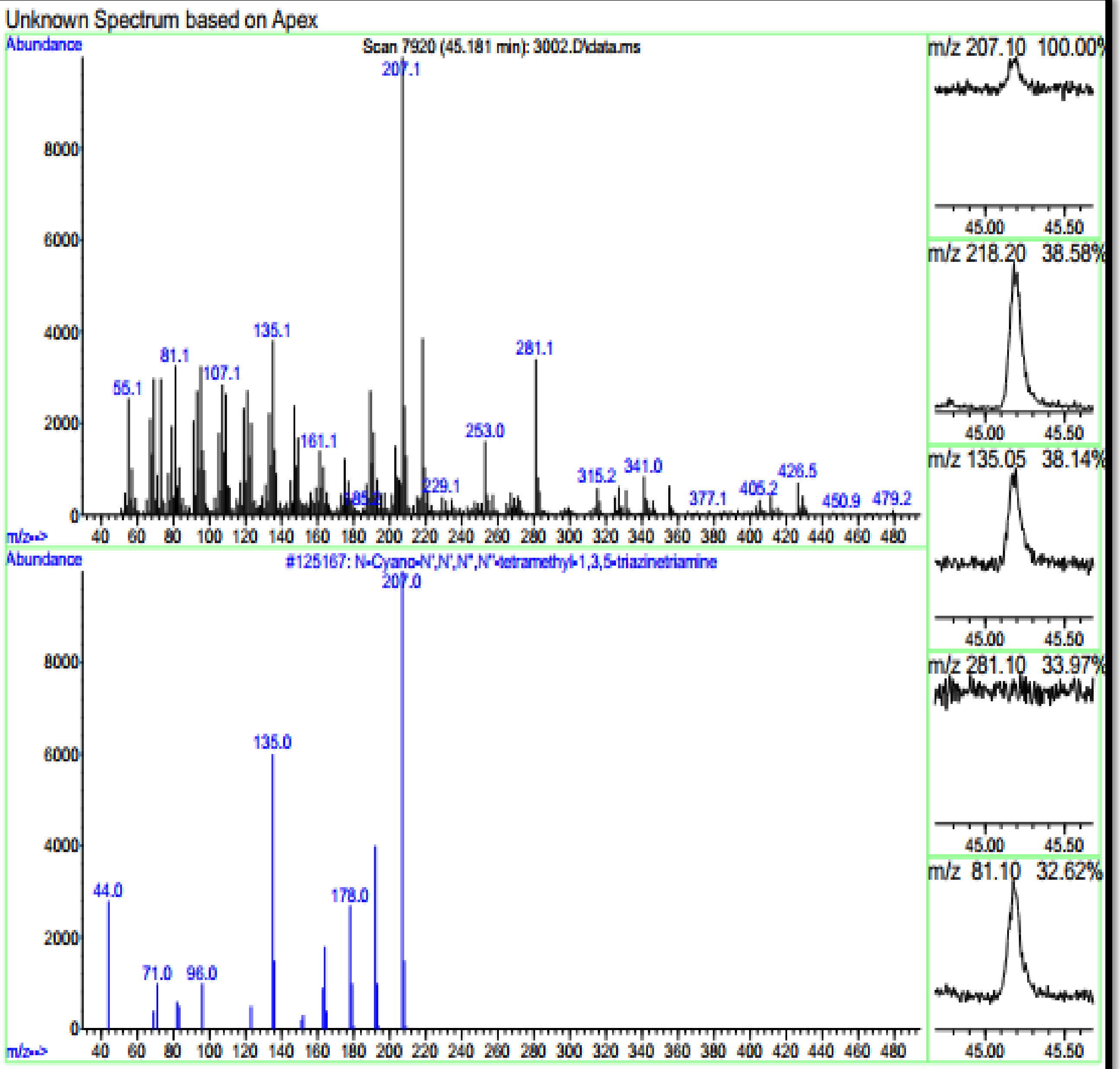
1 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene... 337963 007683-64-9 97

Unknown Spectrum based on Apex



Data File: G:\ÒÇÑÕ 1401\1401-06-06\3002.D

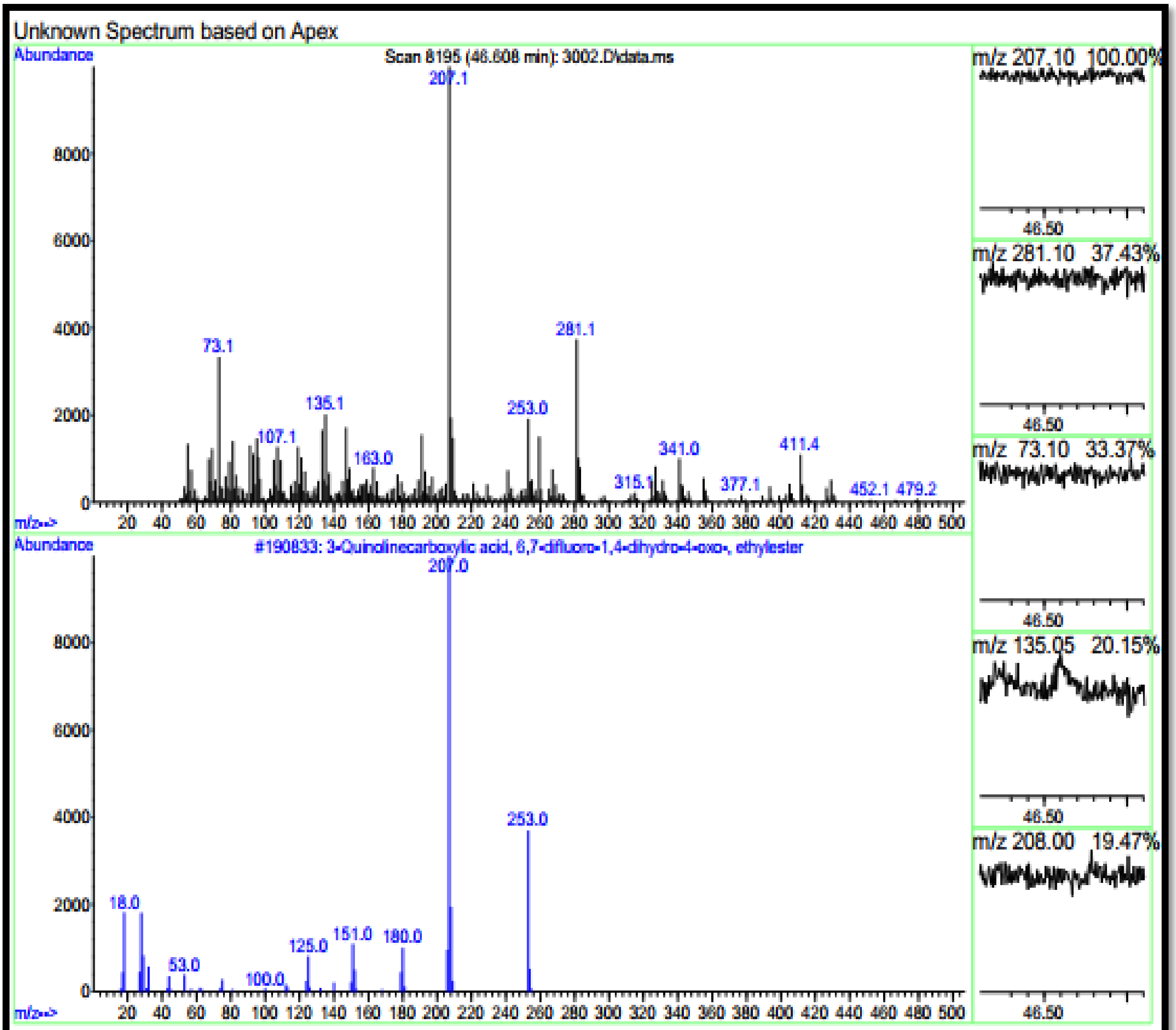
The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
E:\Database\wiley7n.l			
1 (23S)-ethylcholest-5-en-3.beta.-...	340216	113845-28-6	99



Data File: G:\ÒÇÑÕ 1401\1401-06-06\3002.D

The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

E:\Database\wiley7n.l
1 N-Cyano-N',N',N",N"-tetramethy... 125167 074150-88-2 38

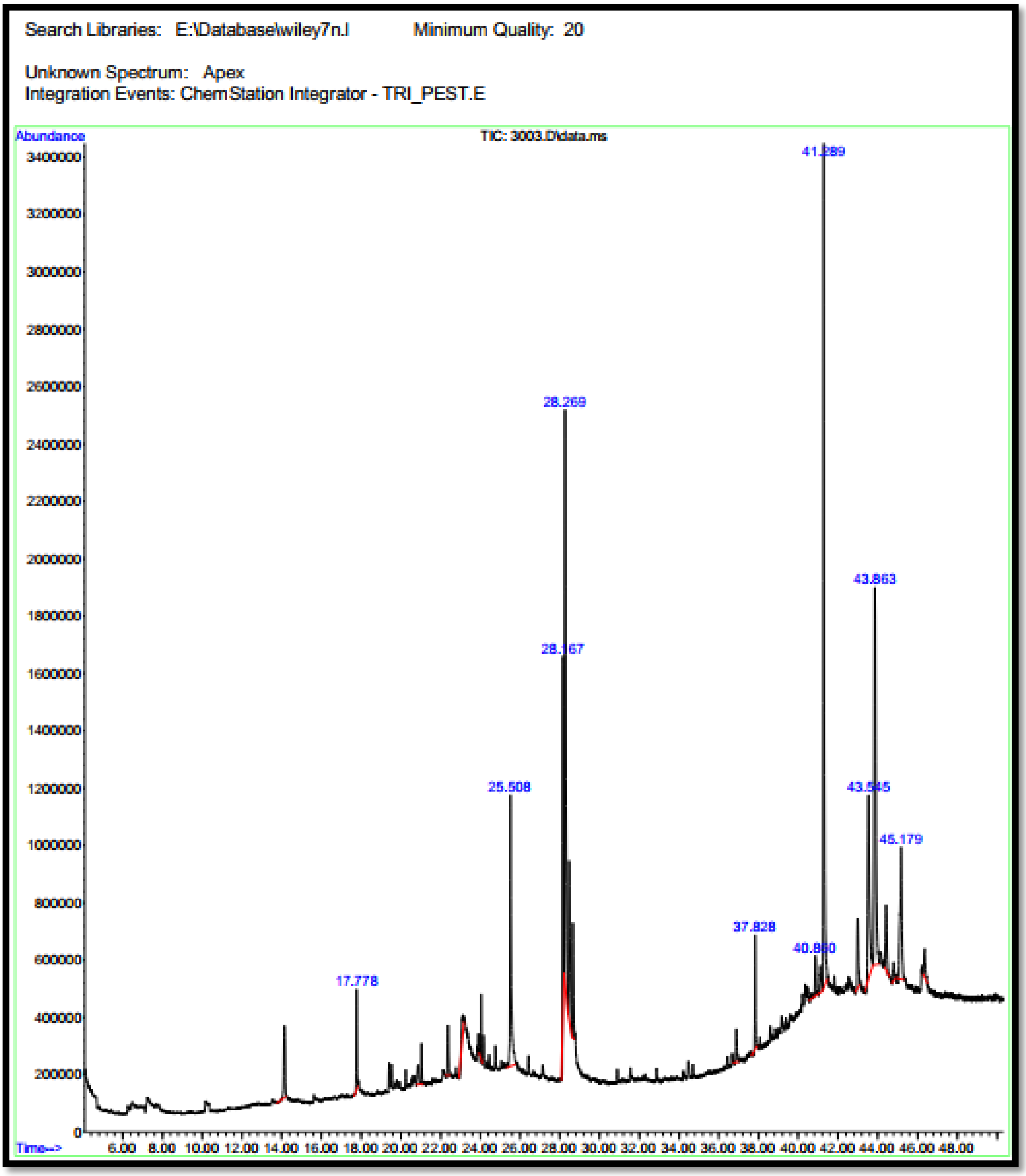


Data File: G:\ÒÇÑÖ 1401\1401-06-06\3002.D

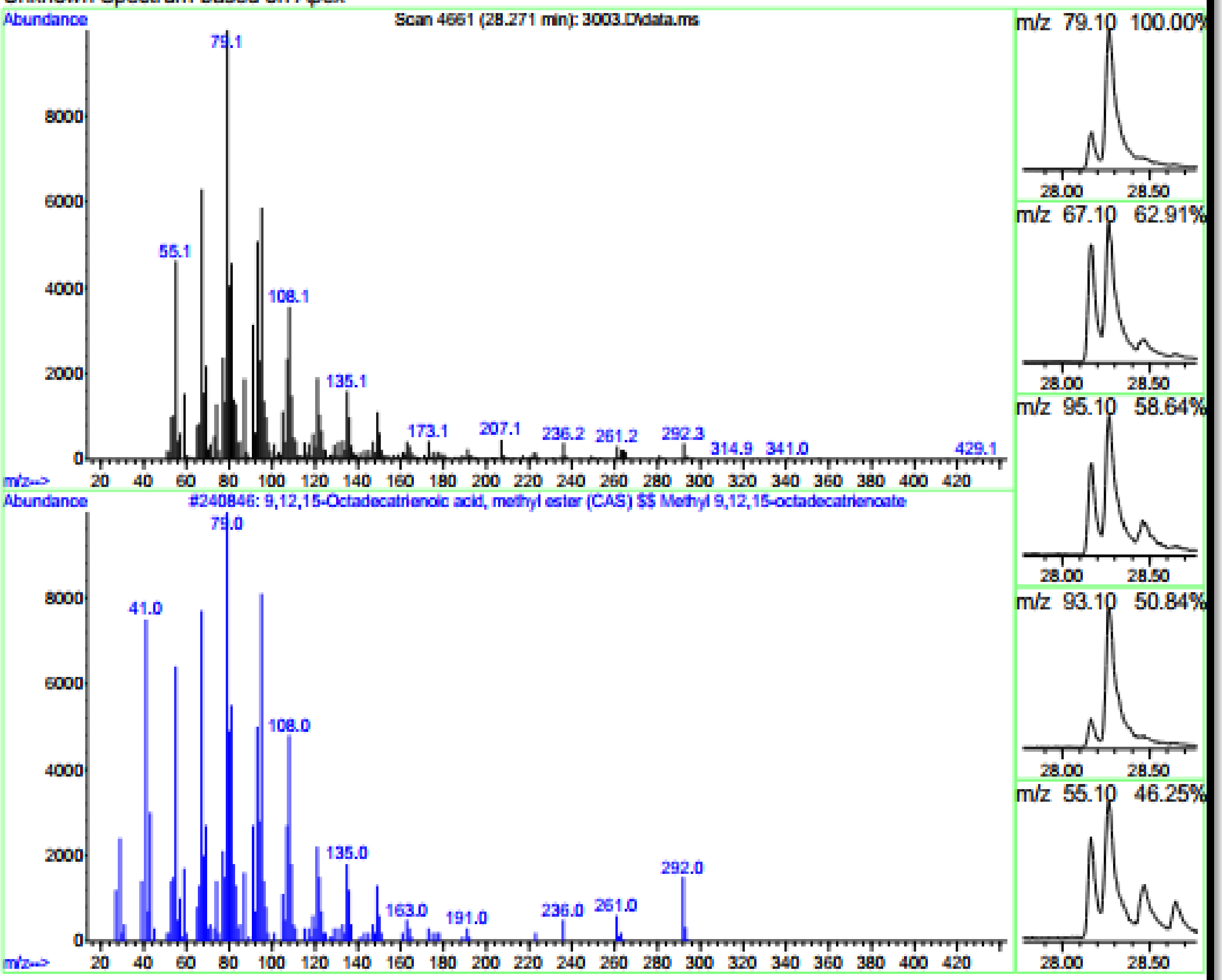
The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

E:\Database\wiley7n.l
1 3-Quinolinecarboxylic acid, 6,7-... 190833 000000-00-0 50

5- قراءة جهاز المطياف الغازي للمركبات الفعالة في مستخلص نبات *G.aparine*



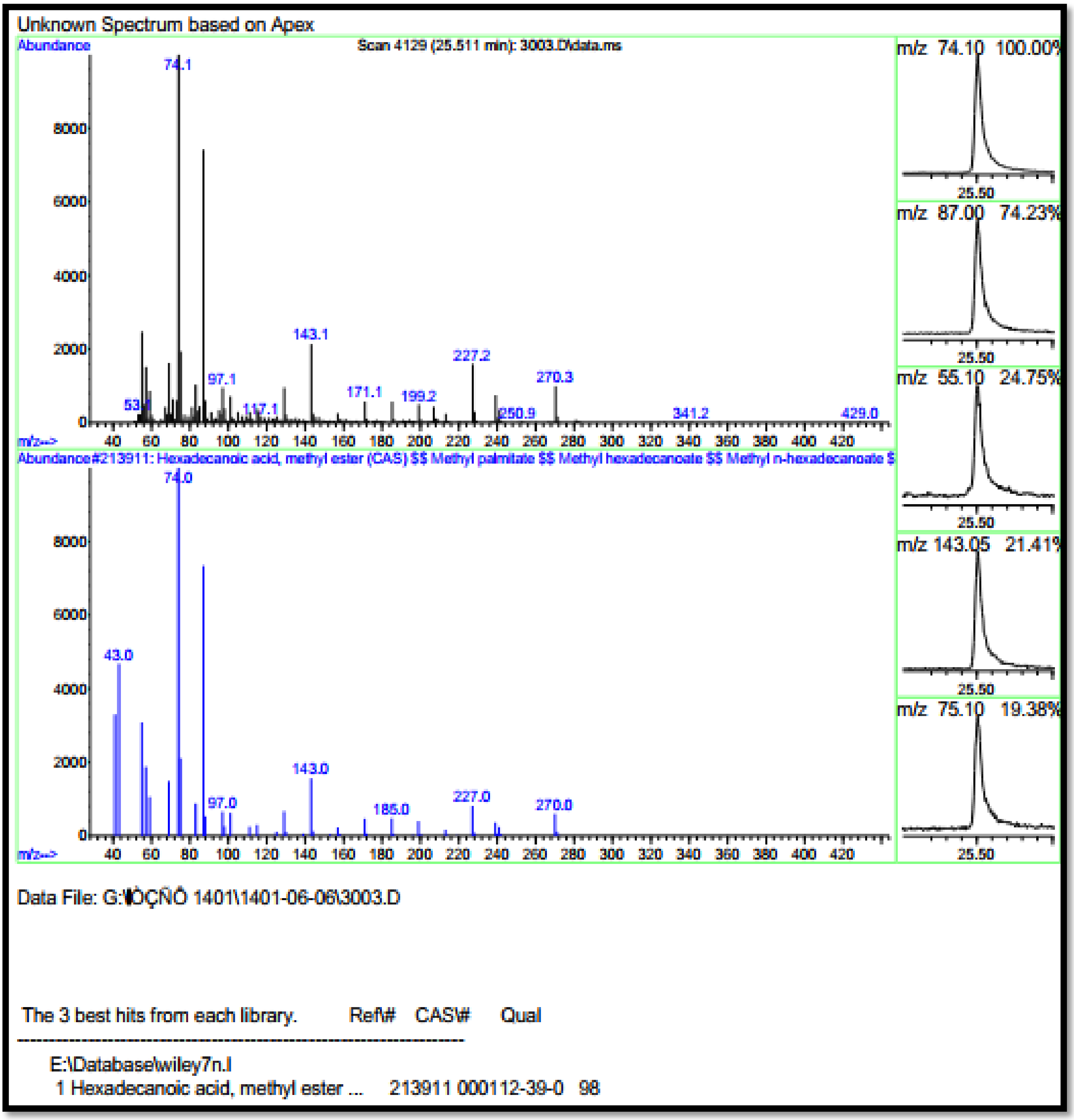
Unknown Spectrum based on Apex

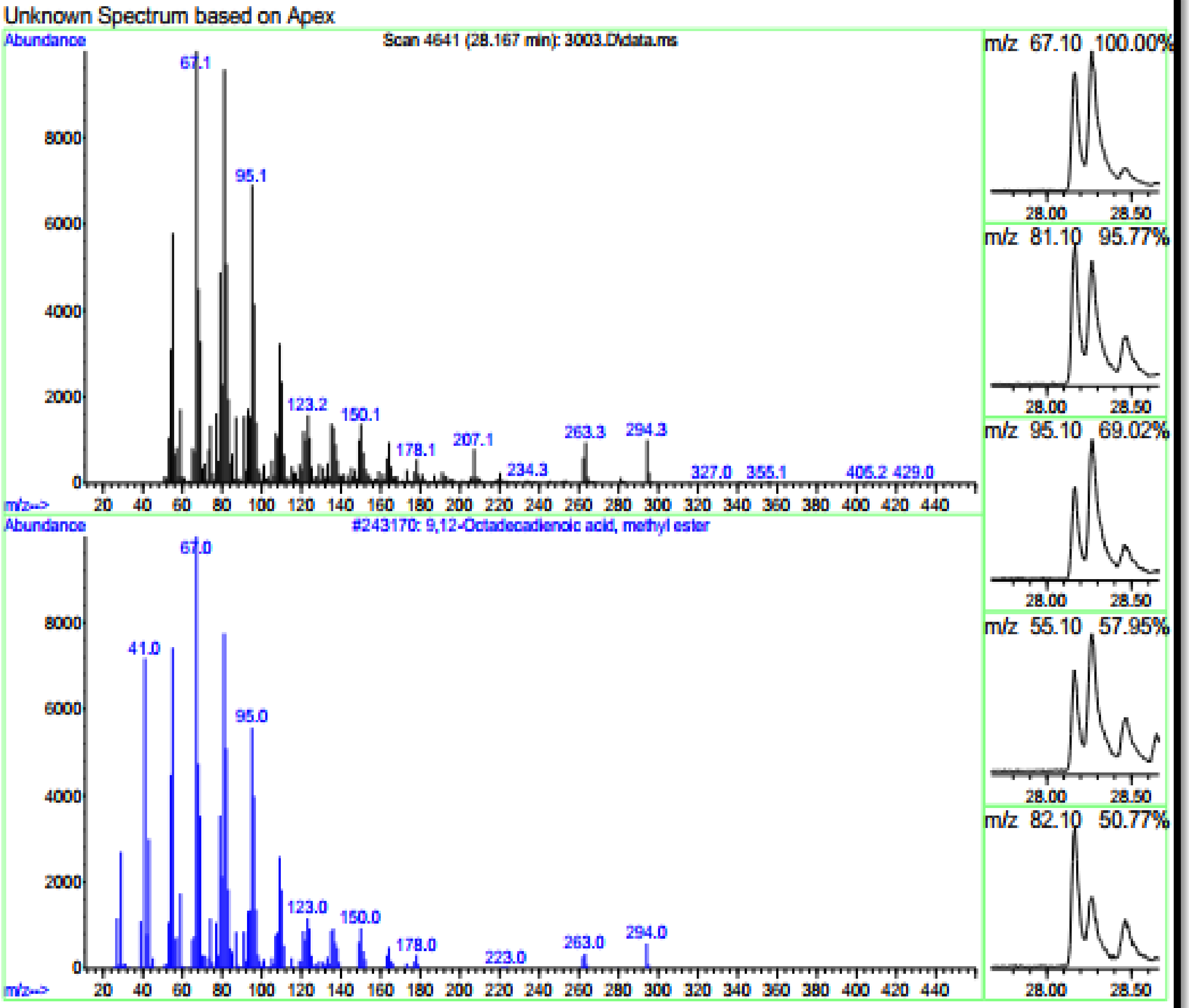


Data File: G:\ÒÇÑÕ 1401\1401-06-06\3003.D

The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

E:\Database\wiley7n.l
1 9,12,15-Octadecatrienoic acid, m... 240846 007361-80-0 98

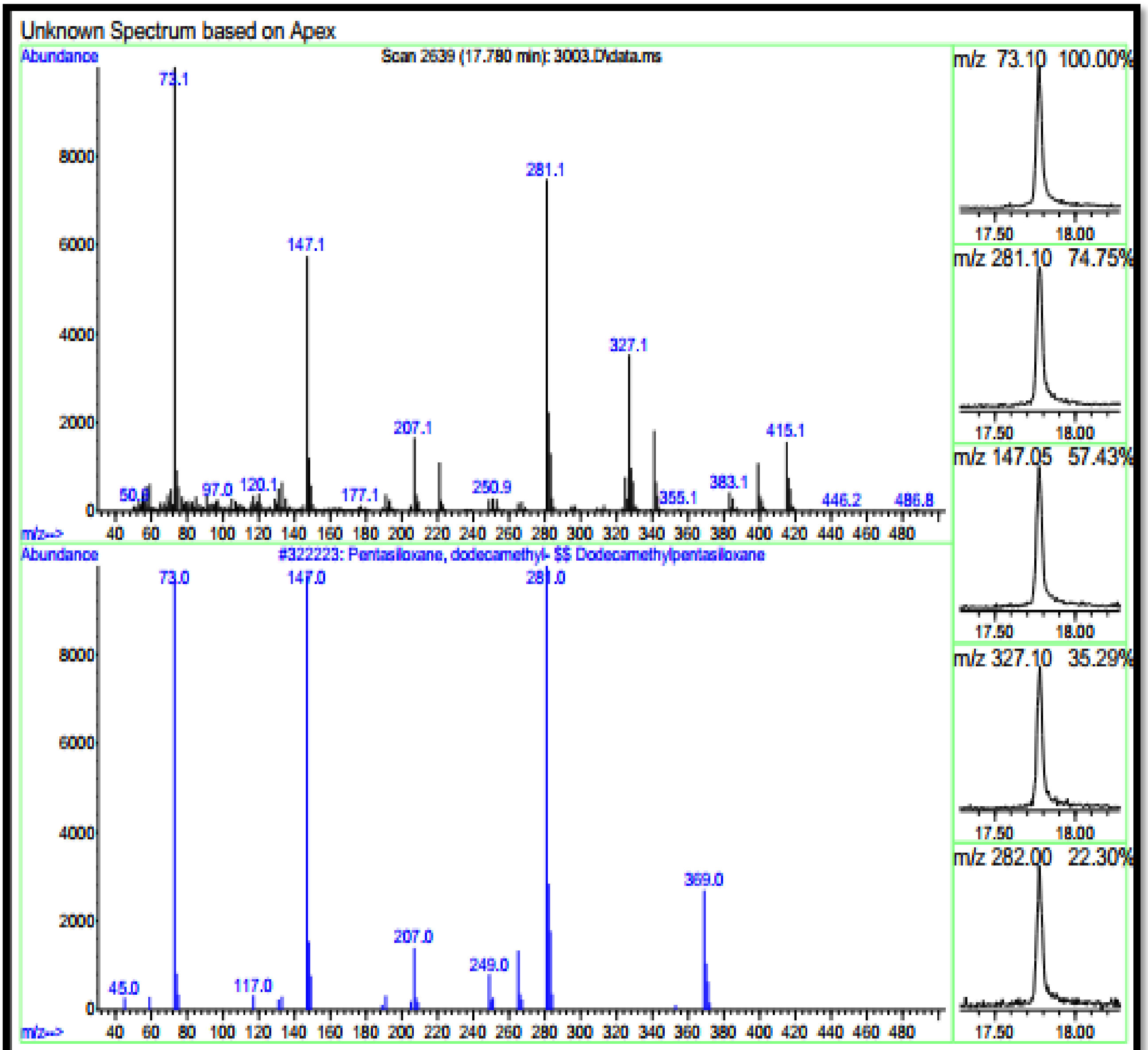

Unknown Spectrum based on Apex
Abundance
Scan 4129 (25.511 min): 3003.D\data.ms
74.1
143.1
227.2
270.3
97.1
171.1
199.2
250.9
341.2
429.0
m/z-->
Abundance#213911: Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) $$ Methyl palmitate $$ Methyl hexadecanoate $$ Methyl n-hexadecanoate $
74.0
43.0
143.0
97.0
185.0
227.0
270.0
m/z 74.10 100.00%
m/z 87.00 74.23%
m/z 55.10 24.75%
m/z 143.05 21.41%
m/z 75.10 19.38%
25.50
Data File: G:\ÕÇÑÕ 1401\1401-06-06\3003.D
The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual
E:\Database\wiley7n.l
1 Hexadecanoic acid, methyl ester ... 213911 000112-39-0 98



Data File: G:\ÒÇÑÕ 1401\1401-06-06\3003.D

The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

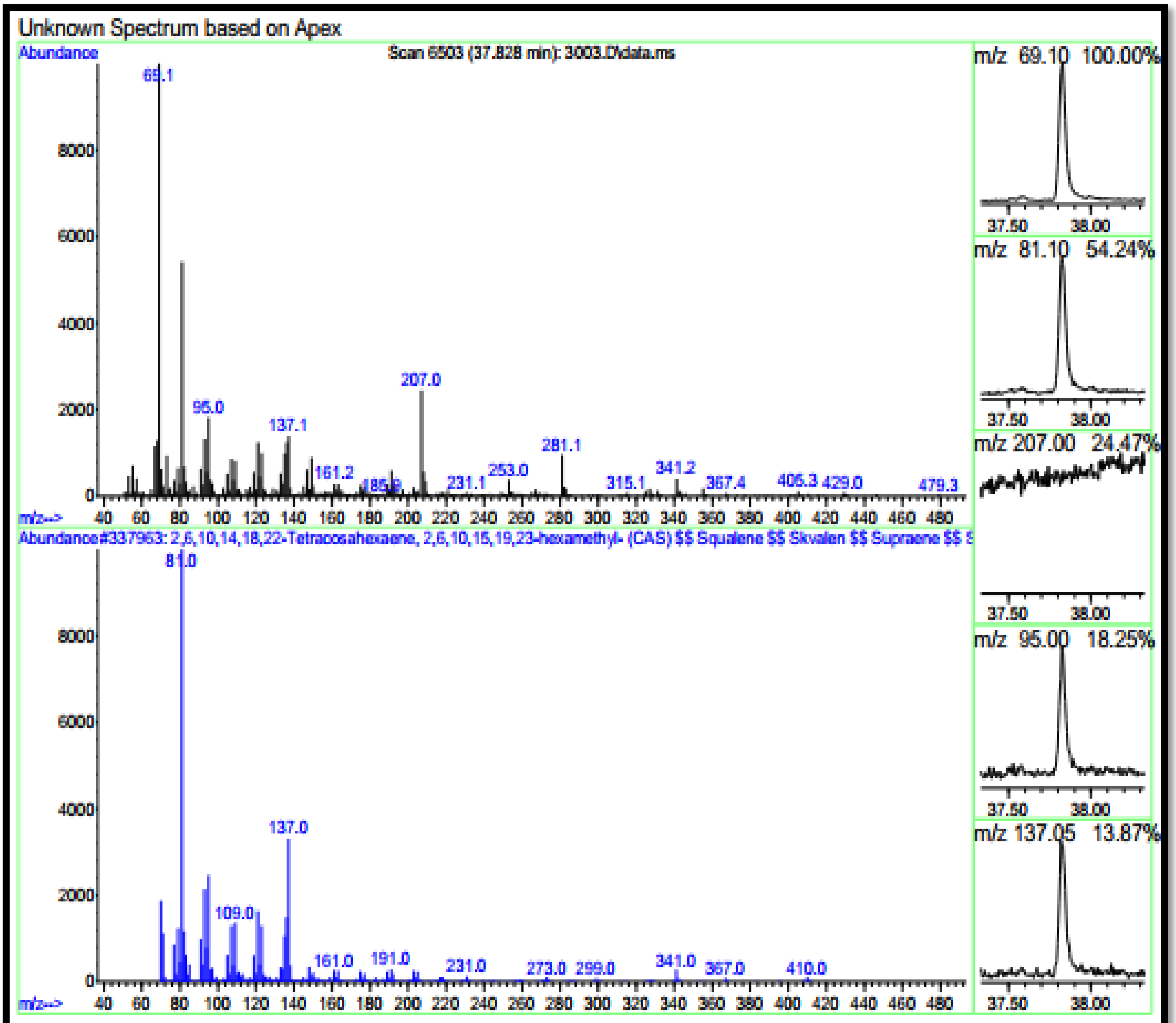
E:\Database\wiley7n.l
1 9,12-Octadecadienoic acid, methy... 243170 002462-85-3 99



Data File: G:\ÒÇÑÕ 1401\1401-06-06\3003.D

The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

E:\Database\wiley7n.l
1 Pentasiloxane, dodecamethyl- $$ ... 322223 000141-63-9 52

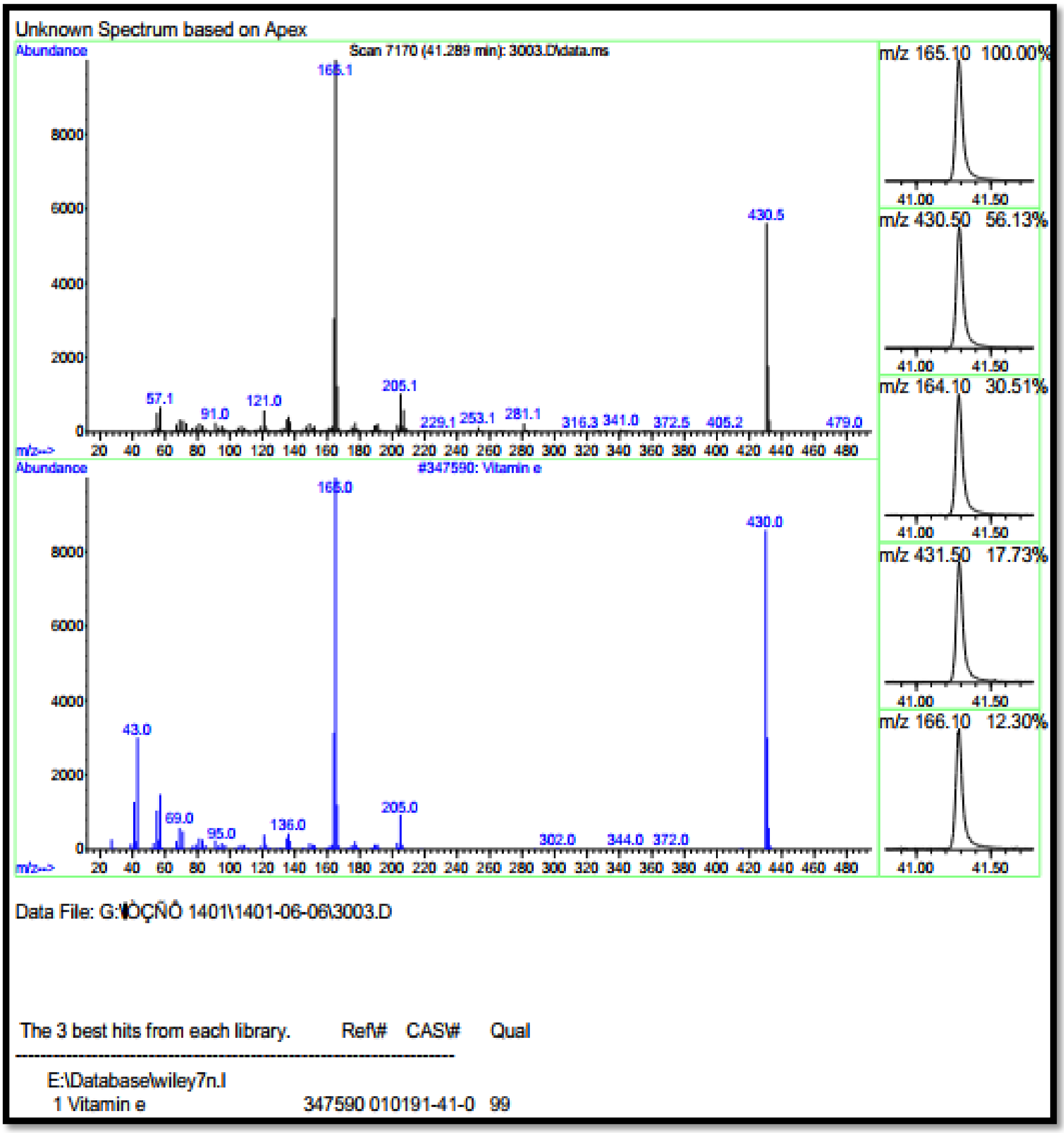


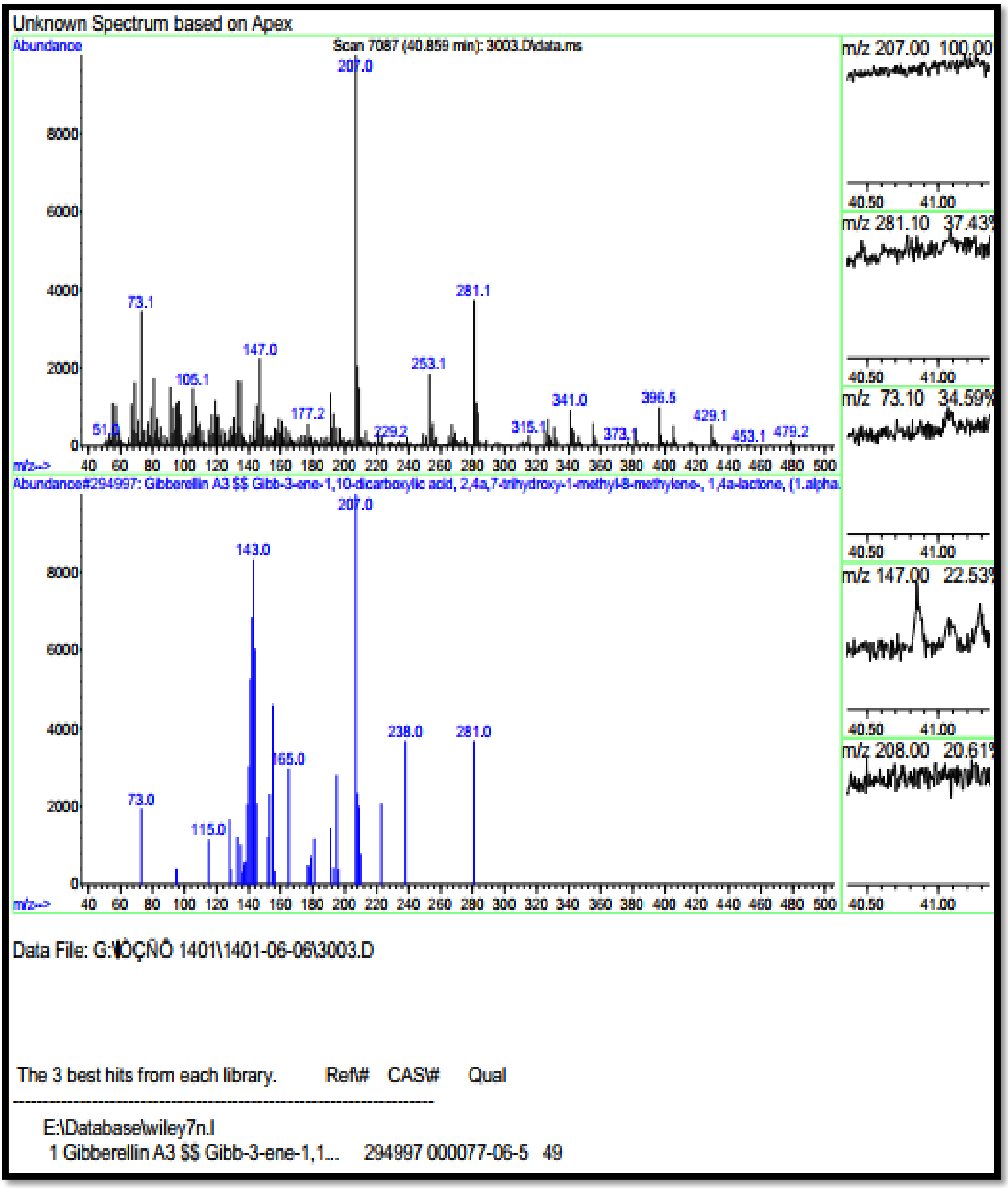
Data File: G:\ÒÇÑÕ 1401\1401-06-06\3003.D

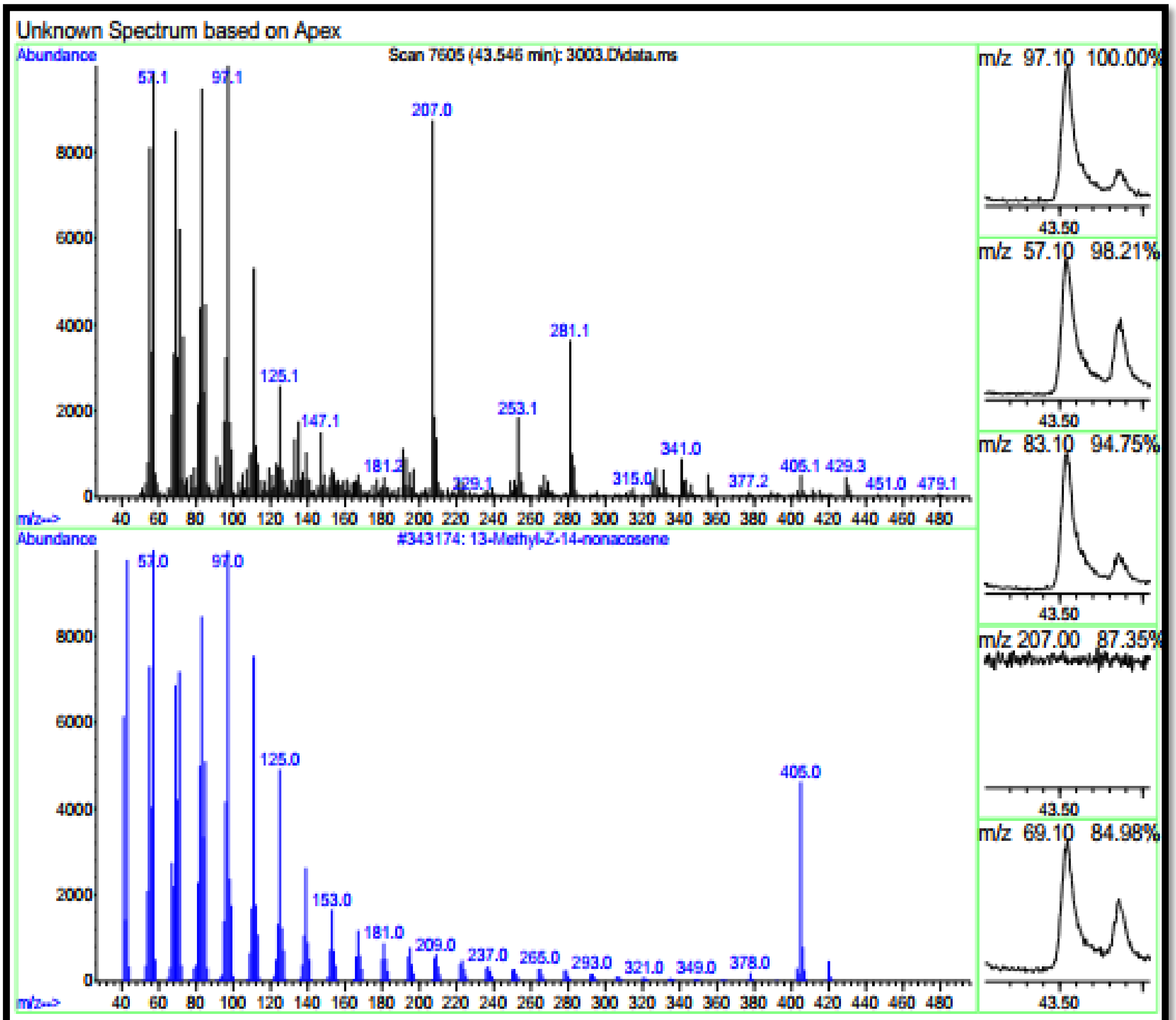
The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

E:\Database\wiley7n.l

1 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene... 337963 007683-64-9 94


Unknown Spectrum based on Apex
Abundance
Scan 7170 (41.289 min): 3003.D\data.ms
165.1
430.5
57.1
91.0
121.0
205.1
229.1
253.1
281.1
316.3
341.0
372.5
405.2
479.0
m/z-->
Abundance
#347590: Vitamin e
165.0
430.0
43.0
69.0
95.0
136.0
205.0
302.0
344.0
372.0
m/z-->
m/z 165.10 100.00%
m/z 430.50 56.13%
m/z 164.10 30.51%
m/z 431.50 17.73%
m/z 166.10 12.30%
Data File: G:\ÒÇÑÕ 1401\1401-06-06\3003.D
The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual
E:\Database\wiley7n.l
1 Vitamin e 347590 010191-41-0 99

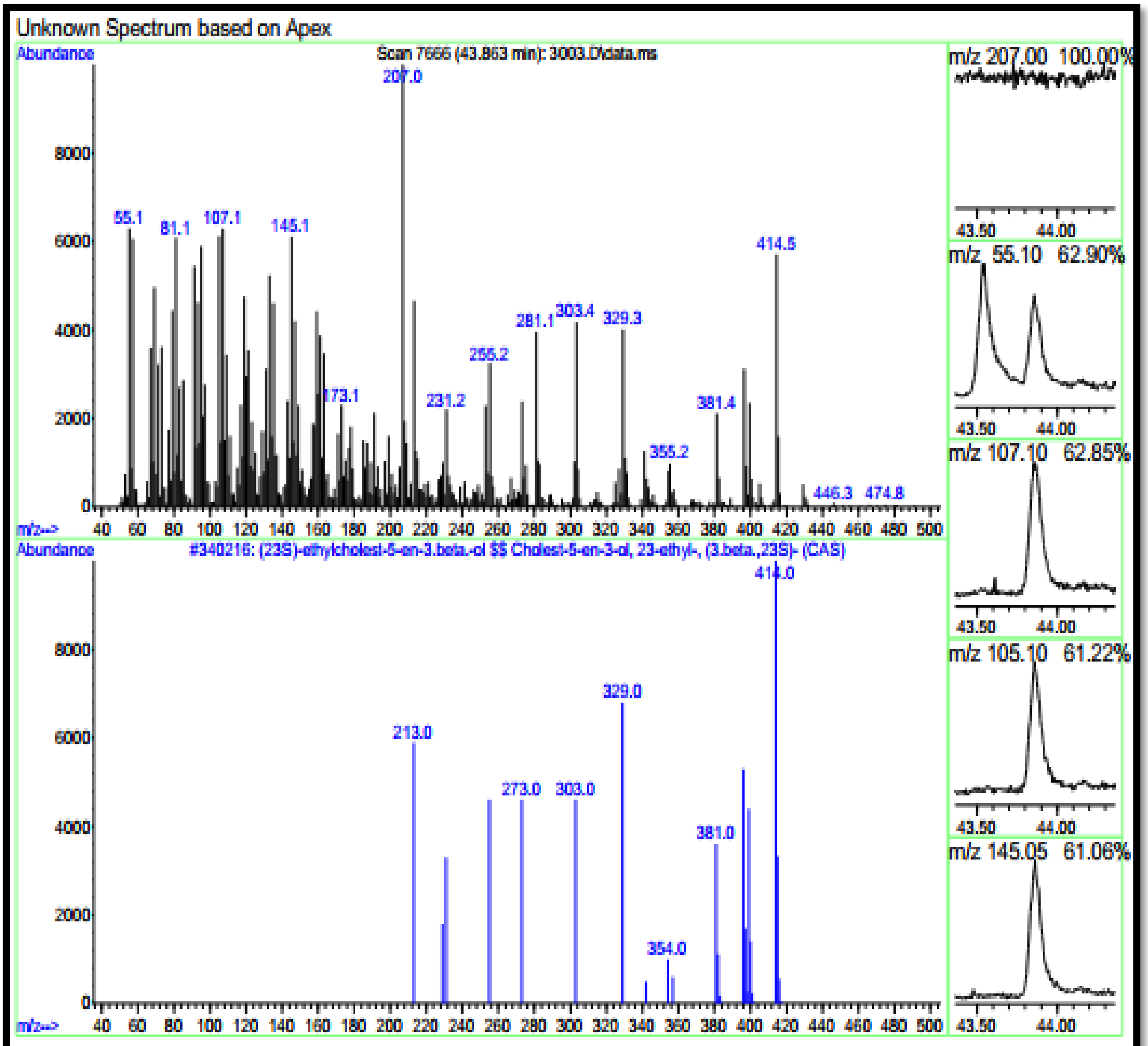

Unknown Spectrum based on Apex
Abundance
Scan 7087 (40.859 min): 3003.D\data.ms
207.0
73.1
281.1
147.0
253.1
105.1
177.2
341.0
396.5
429.1
315.1
373.1
453.1
479.2
229.2
51.0
m/z-->
Abundance #294997: Gibberellin A3 $$ Gibb-3-ene-1,10-dicarboxylic acid, 2,4a,7-trihydroxy-1-methyl-8-methylene-, 1,4a-lactone, (1.alpha.
207.0
143.0
238.0
281.0
165.0
73.0
115.0
m/z 207.00 100.00
m/z 281.10 37.43%
m/z 73.10 34.59%
m/z 147.00 22.53%
m/z 208.00 20.61%
40.50 41.00
Data File: G:\ÒÇŇÕ 1401\1401-06-06\3003.D
The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual
E:\Database\wiley7n.l
1 Gibberellin A3 $$ Gibb-3-ene-1,1... 294997 000077-06-5 49



Data File: G:\ÒÇÑÔ 1401\1401-06-06\3003.D

The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

E:\Database\wiley7n.l
1 13-Methyl-Z-14-nonacosene 343174 000000-00-0 93



Data File: G:\ÒÇÑÕ 1401\1401-06-06\3003.D

The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

E:\Database\wiley7n.l

1 (23S)-ethylcholest-5-en-3.beta.-... 340216 113845-28-6 99

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

الاستنتاجات

1- اعتماد مؤشرات RAPD مع DNA في دراسة التنوع الوراثي لما لها من اهمية في انواع نباتية اخرى وبشكل ممتاز كونها اداة فعالة لتحليل التنوع الوراثي اذ نجحت الدراسة الحالية في الكشف عن التباينات الوراثية والاختلاف في محتوى التنوع الوراثي نتيجة الاختلاف في عدد وحجم القطع المتضاعفة مما ساعد على تحديد العلاقة الوراثية بين الانواع المدروسة ، وتعتبر RAPD اداة قوية ومفيدة لتحديد الانواع في نبات الكاليوم وتعدد الاشكال المكتشفة بين الانواع التي يمكن استعمالها في برامج التربية لتحقيق اقصى قدر من استعمال الموارد الوارثية

2- عمل شجرة علاقة وراثية بين الانواع العائدة لنبات الكاليوم

3- للدراسة الكيميائية دورٌ مميزٌ في تزويد الباحثين بطبيعة المواد الايضية الكيميائية التي تساهم في العديد من الأنشطة البايولوجية المهمة ومنها المركبات القلويدية والاسترات والتربينات والدهون المشبعة والسترويدات والزيوت الطيارة التي ظهرت بنسبة عالية ضمن الانواع قيد الدراسة .

التوصيات

1- توصي الدراسة بضرورة التوسع في مجال الدراسة الحزيئية باستعمال مؤشرات ماركرات وراثية اخرى للبحث عن أدلة تصنيفية جديدة تدعم الصفات الدقيقة للانواع العائدة لنبات الكاليوم وذلك من خلال دراسة التسلسل الجيني وعدد الكروموسومات وسلوكها خلال مراحل الانقسام الاختزالي.

2- دراسة تأثير المركبات الكيميائية المستخلصة على كائنات حية مختلفة كالبكتريا والطفيليات والحشرات وغيرها للتعرف على درجة حساسيتها للمستخلص، وتقدير كمية مضادات الاكسدة المتكونة.

3- التقصي بشكل شامل عن نواتج الايض الثانوية الموجودة في الانواع قيد الدراسة، وتحديد أنشطتها البيولوجية ومدى الاستفادة منها للأدوية المستقبلية.

4- إجراء دراسة الجزيئات النانوية وتطبيقاتها البايلوجية.

5- دراسة حبوب اللقاح دراسة مفصلة كونها من الادلة التصنيفية المهمة .

6- اجراء دراسات مماثلة بتطبيق مؤشر اخر على اكبر عدد من الانواع النباتية من أجل تشخيصها ودراسة علاقتها الوراثية وقد تأخذ بنظر الاعتبار من أجل ادخالها ضمن خطة الزراعة.

7- الكشف عن التعبير الجيني في انواع نباتية اخرى اخرى لأجراء المقارنة بينها لغرض الحصول على افضل الانواع .

المصادر

References

المصادر

المصادر العربية

الراوي، علي. (1988). التوزيع الجغرافي للنباتات البرية في العراق. الطبعة الثالثة، مطبعة اليقظة، بغداد، العراق: 322 صفحة.

شوفاليه، اندرو. (2010). الطب البديل والتداوي بالأعشاب والنباتات الطبية. اكاديميا، بيروت، لبنان: 336 صفحة.

قبيسي، إحسان. (2010). معجم الأعشاب والنباتات الطبيبة. مطبعة دار الكتب العلمية، بيروت، لبنان: 566 صفحة.

الكاتب، يوسف منصور. (1988). تصنيف النباتات البذرية. مطبعة دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل: 590 صفحة.

لامبولاي، دنيس. (1998). الف باء العلاج بالأعشاب والزيوت العطرية. شركة دار الفراشة للطباعة والنشر والتوزيع، بيروت، لبنان: 319 صفحة.

المياح، عبد الرضا اكبر عيدان؛ طه ياسين مهودر العيداني ووداد مزبان طاهر الاسدي. (2016). بيئة ونباتات البصرة. الطبعة الاولى، جيكور للطباعة والنشر والتوزيع، بيروت، لبنان: 686 صفحة .

المصادر الانكليزية

Abbasi, A. M., Shah, M. H., & Khan, M. A. (2015). Wild edible vegetables of lesser Himalayas. Switzerland: Springer International Publishing.

Al-Hassani, K. I. (2002). The use of polymerase chain reaction-based molecular markers to assess genetic diversity of potato (Solanum tuberosum L.). Ph.D. Thesis. College of Science, Baghdad University.

Al-Snafi, A.E. (2018). Chemical constituents and medical important of Galium aparine –A review. Indo Am. J. P. Sci., 5(3): 1739-1744.

AL-Tamimi, A. J.T. (2014). Genetic Diversity of Some Tomato Genotypes Using RAPD and SSR markers in Iraq .PhD thesis .Faculity of science. University of kufa. Iraq.

Avise, J. C. (2012). Molecular markers, natural history and evolution. Springer Science & Business Media.

Batanouny, K. H. (1981). Ecology and flora of Qatar. University of Qatar. Published by the Alden press Ltd., Oxford: 245 pp.

Benson, L. (1962). Plant taxonomy. John Wiley and Sons, Inc., New York: 494 pp.

Bentham, G. and Hooker, J. D. (1873). Genera plantarum. Vol.2, Lovell Reeve and Co., London: 1279 pp.

Bergoglio, M., Reisinger, D., Schlögl, S., Griesser, T., & Sangermano, M. (2023). Sustainable bio-based UV-cured epoxy vitrimer from castor oil. Polymers, 15(4), 1024.

Berloo, R. (2000). Use of molecular markers in plant breeding. Landbou-universiteit Wageningen, the Netherlands.

Boissier, E. (1875). Flora Orientalis. Vol.3, Genevae Et Basileae, Apud H. Georg, Bibliopolam, Lugduni: 1033 pp.

Bordenave, C. D., García-Breijo, F., Gazquez, A., Muggia, L., Carrasco, P., & Barreno, E. (2023). Low temperature scanning electron microscopy (LTSEM) findings on the ultrastructure of Trebouxia lynnae (Trebouxiophyceae, Lichenized Microalgae). *Diversity*, *15*(2), 170.

Botestein, D.; White, R. L.; Skolnick, M. and Davis, R. W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using Restriction Fragment Length Polymorphisms. Am. J. Hum. Genet. 32: 314-331.

Bradic, J., Petkovic, A., & Tomovic, M. (2021). Phytochemical and Pharmacological Properties of Some Species of the Genus. Experimental and Applied Biomedical Research (EABR), 22(3), 187-193.

Bremer, B. (2009). A review of molecular phylogenetic studies of Rubiaceae. Ann. Missouri. Bot. Gard., 96(1): 4-26.

Brettschneider, R. (1998). RFLP analysis. In: Karp, A.; Isaac, P. G.; Ingram, D. S. (eds): Molecular tools for screening biodiversity. Chapman and Hall, Cambridge. Vol. 1: 85-95.

Brunel, D.(1994). Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) and direct sequencing of PCR amplified genomic DNA: rapid and reliable identification of Helianthus annuus L. cultivars. Seed Science and Technology. 22: 185-194.

Caetano-Anolles, G., and Gresshoff, P. M. (1997). DNA markers: Protocols, application and overview. Wiley-Liss, Inc.

Carlson, J. E.; Tulsieram, L. K.; Guluabitz, J. C.; Luk, V. W. K.; Kauffeldt, C. and Rutledge, R. (1991). Segregation of Random amplified DNA markers in F1 progeny of conifers. Theor. Appl. Genet. 83: 194-200.

Catuzzi, G. (2022). Derivati abietanici nell’essudato di Salvia somalensis.

Chaabani, H. (2015). Man creation had began since the creation of the first biological material very likely in Clay. International Journal of Modern Anthropology, 1(8), 49-65.

Chakravarty, H. L. (1976). Plant wealth of Iraq. Ministry of agriculture and Agrarian reform, Baghdad: 505 pp.

Challa, S., & Neelapu, N. R. R. (2019). Phylogenetic trees: applications, construction, and assessment. Essentials of Bioinformatics, Volume III: In Silico Life Sciences: Agriculture, 167-192.

Chase, M. W.; Christenhusz, M. J. M.; Fay, M. F.; Byng, J. W.; Judd, W. S.; Soltis, D. E.; Mabberley, D. J.; Sennikov, A. N.; Soltis, P. S. and Stevens, P. F. (2016). An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. Bot. J. Linn. Soc., 181(1): 1-20.

Chen, T.; Ehrendorfer, F.; WU, Z. Y.; Raven, P.H. and Hong, D. Y. (eds.) (2011). Flora of China.Vol.19, Cucrubitaceae through Valerianceae, with Annonaceae and Berberidaceae. -Beijing: Science press and St. Louis: Missouri Botanical Garden press: 104-141.

CLAUDE, J. P., JOSEPH, P., ABATI, Y., MAJOR, P., Yanis, J. F., Séverine, E. M., & SOPHIE, S. (2023). Considerations on the ecology of Rubiaceae in Martinique (Lesser Antilles).

Dandy, J. E. (1969). Nomenclatural changes in the list of British vascular plants. Botanical Society of the British Isles., J. E. (1969). Nomenclatural changes in the list of British vascular plants. Botanical Society of the British Isles.

Daoud, H. S. (1985). Flora of Kuwait. Dicotyledoneae. Vol.1, Kuwait University press: 224 pp.

Davis, P. H. (1982). Flora of Turkey and the E ast Aegean Islands. Vol.7, Edinburgh University press: 947pp.

De Jussei, A. L. (1787). Genera plantarum: secundum ordines naturales disposita. Paris, Herrisant and Barrois: 206 pp.

de Souza, G. A., de Marqui, S. V., Matias, J. N., Guiguer, E. L., & Barbalho, S. M. (2020). Effects of Ginkgo biloba on diseases related to oxidative stress. Planta medica, 86(06), 376-386.

Demirezer, L. O.; Gurbuz, F.; Guvenalp, Z.; Stroch, K. and Zeeck, A. (2006). Iridoids, flavonoids and monoterpene glycosides from Galium verum subsp. verum. Turk. J. Chem., 30: 525-534.

Deroo, A.C., Eckstein, P., Benaragama, D., Beattie, A.D. and Willenborg, C.J., 2022. Evaluation of Galium species and populations using morphological characters and molecular markers. Weed Research, 59(1), pp.28-38.

Doganlar, S. ; Frary, A. ; Daunay, M.C.; Lester, R.N. and Tanksley, S.D. (2002). Conservation of Gene Function in the Solanaceae as Revealed by Comparative Mapping of Domestication Traits in Eggplant. Genetics 161:1713-1726.

Edwards, K. J. (1998). Randomly Amplified Polymorphic DNAs (RAPDs) In: Karp, A.; Isaac, P. G.; Ingram, D. S. (eds): Molecular tools for screening biodiversity. Chapman and Hall Cambridge 1: 171-175.

Esma, A. T. K., Rabah, A., Djamila, B., Mohamed, S. B., Chawki, B., & Ramazan, E. (2023). In vitro assessment of antioxidant, neuroprotective, anti-urease and anti-tyrosinase capacities of Tamarix africana leaves extracts. Journal of Traditional Chinese Medicine, 43(2), 252.

Fadoul, H. E.; El Siddig, M. A.; and El Hussein, A. A. (2013).Assessment of genetic diversity among Sudanese wheat cultivars using RAPD markers. Int J Curr Sci. 6: 51-57.

Fan-juan ,M. ; Xiang-yang, XU .; Feng-lan, H. and Jing-fut ,L.I. (2010) . Analysis of Genetic Diversity in Cultivated and Wild Tomato Varieties in Chinese Market by RAPD and SSR . Agricultural Sciences in China , 9(10): 1430-1437 .

Feulner, J., Zhou, S. K., Hammon, M., Seifert, S., Huber, M., Comaniciu, D., Cavallaro, A. (2011). A probabilistic model for

automatic segmentation of the esophagus in 3-D CT scans. IEEE transactions on medical imaging, 30(6), 1252-1264.

Friscic, M.; Baglama, M.S.; Milovic, M.; Pilepic, K.H. and Males, Z. (2018). Content of bioactive constituents and antioxidant potential of Galium L. species.Croat. Chem Acta, 91(3):411-417.

Gao, X. F., Xiong, X. H., Boufford, D. E., Gao, Y. D., Xu, B., & Zhang, C. (2023). Phylogeny of the Diploid Species of Rubus (Rosaceae). Genes, 14(6), 1152.

Giovanonni, J.; wing, R. and Tanksley, S.D. (1992). Isolation of molecular markers from specific chromosomal intervals using DNA pools from existing mapping populations. Nucl. Acid. Res. 19: 6553-6558.

Goldstein, D.B.; Liners, A.R., Cavalli-Sforza, L.L. and Feldamen, M.W. (1995). An evaluation of genetic distances for use with microsatellite loci. Genetics 139: 463-471.

Graham, J. and McNicol, R. J. (1995). An examination of the ability of RAPD markers to determine the relationships within and between Rubus spp. Theo. Appl. Gene., 90: 1128-1132.

Graham, J. and McNicol, R. J. (1995). An examination of the ability of RAPD markers to determine the relationships within and between Rubus spp. Theo. Appl. Gene., 90: 1128-1132.

Hallden, C.; Hansen, M.; Nilsson, N.O.; Hejrdin, A. and Sall, T. (1996). Competition as a source of errors in RAPD analysis. Theor. Appl. Genet. 39:1185-1192.

Handle-Mazzetti, H. F. (1910). Die Mesoptamien und Kurdistan. Wissen and Schaftliche Ergebinisse der expedition nach Mesopotamien: 459 pp.

Harisaranraj , R.; Suresh , K. and Saravanababu , S. (2009) .DNA Finger Printing Analysis among Eight Varieties of Zingiber officinale Rosc. By Using RAPD Markers . Global Journal of Molecular Sciences 4 (2): 103-107.

Henry, R.J. (1997). Practical applications of plant molecular biology. Identification of plant using molecular techniques. London Pp. 1-25.

Heywood, V. H. (1964). Flora Europaea. Vol.4, Cambridge University press, London: 505 pp.

Higuchi, D.; Von Berlodingen, C.H.; Sensabough, G.F. and Erlich, H.A. (1988). DNA typing from single hairs. Nucl. Acids Res. 33(2): 543-546.

Hillis, D. and Moritz, C. (2011). Molecular systematica, 1st edition, Sinauer Associates. Inc. Suderland. Massachusetts. USA. Pp 588.

Hu, J.; Van Eysden, J. and Quiros, C.F. (1995). Generation of DNA-based markers in specific genome regions by two-primers RAPD reactions. Genome 20: 125-130.

Huang, T. R., Chen, J. H., Hummer, K. E., Alice, L. A., Wang, W. H., He, Y., Wang, H. (2023). Phylogeny of Rubus (Rosaceae): Integrating molecular and morphological evidence into an infrageneric revision. Taxon, 72(2), 278-306.

Hunter, P. R. and Gaston, M. A. (1988). Numerical index of discriminatory ability of simpson's index of diversity. J. Clin. Mic., 26:2465-2466.

Ilina, T., Kashpur, N., Granica, S., Bazylko, A., Shinkovenko, I., Kovalyova, A., ... & Koshovyi, O. (2019). Phytochemical profiles and in vitro immunomodulatory activity of ethanolic extracts from Galium aparine L. Plants, 8(12), 541.

Ilina, T., Kashpur, N., Granica, S., Bazylko, A., Shinkovenko, I., Kovalyova, A., ... & Koshovyi, O. (2019). Phytochemical profiles and in vitro immunomodulatory activity of ethanolic extracts from Galium aparine L. Plants, 8(12), 541.

Ilyina, T. V.; Goryacha, O. V.; Kovaleva, A. M.; Koshovyi, O. M. and Shinkovenko, I. L. (2016). A comparative study of morphological features and flavonoid composition of Galium L. genus species. Der Pharmacia Lettre, 8(13): 316-321.

Iqbal, M.J.; Aziz, N.; Saeed, N.A.; Zafar, Y. and Malik, K.A. (1997). Genetic diversity evaluation of some elite cotton varieties by RAPD analysis. Theor. Appl. Genet. 94: 139-144.

Islam, M. S., Hoque, M. E., Alauddin, M., & Shamsuzzaman, M. (2022). Molecular characterization and diversity analysis of some local potato (Solanum tuberosum L.) genotypes of Bangladesh by RAPD markers.

Jackson, M.T. (1997). Conservation of rice genetic resources-the role of the International Rice GenBank at IRRI. Plant Mol. Biol. 35: 61-67.

Jaladet, M. ; Jubrael S.; Hymaa ,S . and Ali ,H . (2009) . Genetic Diversity Analysis of a Number of Grape (Vitis vinifera L.) Varieties in Kurdistan Region Iraq Using RAPD Markers. J. Duhok Univ. Vol.12, No.1, Pp 17-22.

Jan, A. K., Khan, A., Farooq, U., Rehman, N., Tariq, M., & Sahar, H. (2018). Composition of the essential oil of Galium setaceum. Chemistry of Natural Compounds, 54, 586-587.
Jan, A. K., Khan, A., Farooq, U., Rehman, N., Tariq, M., & Sahar, H. (2018). Composition of the essential oil of Galium setaceum. Chemistry of Natural Compounds, 54, 586-587.
Jan, A.K., Shah, M.R., Anis, I. and Marwat, I.K., 2009. In vitro antifungal and antibacterial activities of extracts of Galium tricornutum subsp. longipedunculatum. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 24(1), pp.192-196.

Johns, Rev. C. A. (1911). Flowers of the field, London George Routt edge and sons, Limited: 611 pp.
Johns, Rev. C. A. (1911). Flowers of the field, London George Routt edge and sons, Limited: 611 pp.
Jongbloed, B. (2003). Marketisation in higher education, Clark's triangle and the essential ingredients of markets. Higher education quarterly, 57(2), 110-135.

Karp, A.; Edwards, K.J.; Bruford, M.;Funk, S.; Vosman, B.; Morgante, M.;Seberg, O.; Kremer, A.; Boursot, P.; Arctander, P.; Tauz, D.and Hewitt, G.M. (1997). Molecular technologies for biodiversity evaluation: opportunities and challenges. Nature Biotechn. 15: 625-628.

Khan, S. A., Khan, H., Ahmad, S., Rehman, F. U., Khan, A. A., & Khan, M. A. (2022). GCMS characterization and biological potential of the seeds and aerial part of Galium tricorne Stokes. Brazilian Journal of Biology, 84, e256920.

Kieu, H. M., Van Nguyen, Q., Nguyen, H. T., Do, T. N., & Van Nguyen, H. (2022). Plant biodiversity, value, and distribution of Rubiaceae at Hon Ba Nature Reserve, Khanh Hoa province, Vietnam. World Journal of Advanced Research and Reviews, 14(3), 320-331.

Kirpichnikov, V. S., & Muske, G. A. (1980). The adaptive value of biochemical polymorphisms in animal and plant populations. Genetica, 52(1), 183-193.

Kurata, N. and Sasaki, T. (1997). Molecular analysis of the rice genome. In: Caetano-Anolles, G. and Gresshof, P.M.(Eds.) DNA markers, protocols, application and overview. P. 271-282. New York.

Laanet, P. R., Saar-Reismaa, P., Jõul, P., Bragina, O., & Vaher, M. (2023). Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Selected Estonian Galium Species. Molecules, 28(6), 2867.

Lakic, N. S.; Mimica-Dukic, N. M.; Isak, J. M. and Bozin, B. N. (2010). Antioxidant properties of Galium verum L. (Rubiaceae) extracts. Cent. Eur. J. Biol., 5(3): 331-337.

Latha, . K and Hanumanthappa , M. (2011) . Random Amplified Polymorphic DNA Analysis for Varietal Identification in cucumber. Asian J. Exp. Biol. Sci. Vol 2(4) pp731-738.

Lee, M. (1995). DNA markers and plant breeding programs. Adv. Agron. 55: 265-344.

Lee, S., & Chang, K. S. (2015). English Names for Korean Native Plants (PDF). Pocheon: Korea National Arboretum (p. 644). ISBN 978-

89-97450-98-5. Retrieved 14 March 2019–via Korea Forest Service.

Limbach, M. N., Antevska, A., Oluwatoba, D. S., Gray, A. L., Carroll, X. B., Hoffmann, C. M., ... & Do, T. D. (2022). Atomic View of Aqueous Cyclosporine A: Unpacking a Decades-Old Mystery. Journal of the American Chemical Society, 144(28), 12602-12607.

Linnaeus, C. (1753). Species plantarum. Vol.1, London: 560 pp.

Mahpara,S.; Farooq, J.; Ali, Z.; Petrescu-Mag, I. V.and Hussain, F.(2012).Assessment of genetic distance among wheat genotypes through RAPD markers. Advances in Agriculture &Botanics International Journal of the Bioflux Society. 4 (1):31-35.
Mahpara,S.; Farooq, J.; Ali, Z.; Petrescu-Mag, I. V.and Hussain, F.(2012).Assessment of genetic distance among wheat genotypes through RAPD markers. Advances in Agriculture &Botanics International Journal of the Bioflux Society. 4 (1):31-35.

Mali, S., Yadav, R., Gauttam, V., and Sawale, J. (2023). An Updated Review on Taxonomy and Chemotaxonomy. Toxicology International (Formerly Indian Journal of Toxicology), 121-129.

Masojc, P. (2002). The application of molecular markers in the process of selection. Cellular and Molecular Biology Letters 7: 499-509.

Migahid, A. M. (1978). Flora of Saudi Arabia. Dicotyledons.Vol.1, Riyadh University Publication : 647 pp.

Morgante,M.;Hanafey,M.;Powell,W.(2002). Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive DNA in plant genomes. Nat Genet 30:194-200.

Mullis, K.B. and Faloona, F. (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalysed chain reaction. Methodsin in Enzymol. 25: 155-335.

Muralidharan, K. and Wakeland, E.K. (1993). Concentration of primer and template qualitatively affects products in random-amplified polymorphic DNA PCR. BioTechniques 14: 362-364.

Muschler, R. (1912). A manual flora of Egypt. Vol.2, Berlin: 1312 pp.

Nabelek, F. R. (1923). Iter turcico-Persicum. Part 1, Plantarum Collectarum enumeratio: 144 pp.

Nei, M. and Li, W.H. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc. Natl Acad. Sci. USA 74: 5269-5273.

Newton, C. R. and Graham, A. (1997). Polymerase Chain Reaction. 2nd ed. Bios. Scientific Publishers Ltd., Oxford, U.K.

Nosratti, I., & Muhammadyari, A. (2019). First report of multiple resistance in Galium aparine to ALS-inhibiting and auxin analog herbicides in Kermanshah, Iran. Planta Daninha, 37, e019187358.

Parsa, A. (1943). Flora de L'Iran. Vol.3, Ministere de L'education: museum d'histoire naturelle de Teheran: 955pp.

Paterson, A.H.; Tanksley, S.D. and Sorrell, M.E. (1994). DNA markers in plant improvement. Adv. Agron. 46: 39-90.

Patil, B. R.; Archak, S. ; Gautam , D. and Salimath P.M. (2010) . Narrow genetic base of private sector tomato varieties revealed by RAPD profiles . Electronic Journal of Plant Breeding, 1(4): 1153-1158.

Porter, C. L. (1967). Taxonomy of flowering plants. 2nd ed., W. H. Freeman and Company, San Francisco: 472pp.

Post, G. E. (1932). Flora of Syria, Palestine and Sinai. Vol.(1), American press, Beirut: 639 pp.

Powell, W.; Orozco, C.C.; Chalmers, K.J.; Provan, J. and Waugh, R. (1995). Polymerase Chain Reaction of plant genetic resources. Electrophoresis 16: 1726-1730.

Priyanka, M.; Devendra, J.; Sumita, K. and Kothari, S. (2013). Analysis of genetic diversity among Tagetes patula L. cultivars based on RAPD markers. Indian Journal of Horticulture, 70 (4): 549-554.

Rafalski, J.A. and Tingey, S.V.(1993). Genetic diagnostics in plant breeding: RAPDs, Microsatellite and Machines. Trends Genet. 9: 275-280.

Rancic, D. and Petanovic, R. (2002). Anatomical alternation of Galium mollugo L. leaves caused by eriophyoid mite Aculus anthobius (Nal.). Acta Ent. Serb., 7(12/): 119-128.

Rechinger, K. H. (1964). Flora of Lowland Iraq. Weinheim Verlag Von J. Cramer, Haener Co., New York: 746 pp.

Rechinger, W. (2005). Rubiaceae. part 176 of Rechinger, Flora Iranica. Verlag des Natuhistorischen Museums Wien, Vienna, Austria: 287 pp.

Reiter, R.S.; Williams, J.G.; Feldmann, K.A.; Rafalski, J.A.; Tingey, S.V. and Scolnik, P.A. (1992). Global and local genome mapping in Arabidopsis thaliana by using recombinant inbred lines and random amplified polymorphic DNAs. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 1477-1481.

Robbercht, E. (1988). Tropical woody Rubiaceae. Opera Bot. Belg., 1: 1-271.

Roman, I. and Puică, C. (2013). Effects of anakinetic stress and Galium verum extract on the thyroid and ovary morphology Wistar rats. Veter. Med., 70(1): 167-169.

Roznowski, A. P., Doore, S. M., Kemp, S. Z., & Fane, B. A. (2020). Finally, a role befitting Astar: strongly conserved, unessential microvirus A* proteins ensure the product fidelity of packaging reactions. Journal of Virology, 94(2), 10-1128.

Saavedra, M., & Alcántara, C. (2017). Pennisetum setaceum, planta invasora en expansión. In Mercedes Royuela Hernando y Ana Zabalza Aznárez (editoras): XVI Congreso de la Sociedad Española de Malherbología: actas. Pamplona-Iruña, 25-27 octubre, 2017. Universidad Pública de Navarra Nafarroako Unibertsitate Publikoa, 2017.. Universidad Pública de Navarra/Nafarroako Unibertsitate Publikoa.

Sambrook, J. and Russell, D. W. (2001). In vitro application of DNA by the polymerase chain Reaction, in molecular cloning: Chapter 8: 691-733. A laboratory manual. 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

Sambrook, J. and Russell, D. W. (2001). In vitro application of DNA by the polymerase chain Reaction, in molecular cloning: Chapter 8: 691-733. A laboratory manual. 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

Schuman, K. (1891). "Rubiaceae": In Engler A. and prantl K. (eds.) Die naturlichen pflanzen familien. 4, Leipzig: Engelmann: 1-156.

Seo, H. S., & Roh, S. S. (2001). The Effects of GamiTakliSodocyum on Wound Healing. The Journal of Korean Medicine Ophthalmology and Otolaryngology and Dermatology, 14(2), 89-111.

Sik, L.; Yildirim, H.; Pirhan, A. F.; Altioglu, Y. and Gemici, M. (2016). Galium shinasii (Rubiaceae):A new species of Galium L. from Eastern Turkey. Phytokeys, 75: 19-29.

Simpson, M.G. (2010). Plant systematics, 2nd edition, Elsevier Acad. Press: 740 pp.

Sogonov, M. V., Castlebury, L. A., Rossman, A. Y., Farr, D. F., & White, J. F. (2005). The type species of the genus Gnomonia, G. gnomon, and the closely related G. setacea. SYDOWIA-HORN-, 57(1), 102.

Staub, J.E.; Serquen, F.C. and Gupta, M. (2010). Genetic markers, map construction and their application in plant breeding. Hort. Sci. 31: 729-741.

Su, L. J., Chang, C. C., Yang, C. H., Hsieh, S. J., Wu, Y. C., Lai, J. M., ... & Hsu, S. L. (2013). Graptopetalum paraguayense ameliorates chemical-induced rat hepatic fibrosis in vivo and inactivates stellate cells and Kupffer cells in vitro. PloS one, 8(1), e53988.

SURANTO, S. (2000). Application of Modern Experimental Technique to Solve Morphological Complexity in Plants Taxonomy. Biodiversitas Journal of Biological Diversity, 1(2).

Tabassum, H., & Ahmad, I. Z. (2021). Trigonella foenum-graecum and its bioactive compounds having potential antidiabetic activity. Fenugreek: Biology and Applications, 447-480.

Tahir, N. A. (2014).Genetic Variability Evaluation Among Iraqi Rice (Oryza sativa L) Varieties using RAPD Markers and Protein Profiling. Jordan Journal of Biological Sciences, 7(1): 13 – 18.

Townsend, C. and Guest, E. (1980). Flora of Iraq. Ministry of Agriculture and Agrarian Reform, Baghdad, Vol.4, Part 1: 627 pp.

van der Sanden, M. C., and Meijman, F. J. (2004). Evidence-based science communication: An essay. Science Communication, 25(3), 272-287.

Vlase, L.; Mocan, A.; Hanganu, D.; Benedec, D.; Gheldiu, A. and Crisan, G. (2014). Comparative study of polyphenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of four Galium species (Rubiaceae). Dig. J. Nanometer. Bios., 9(3): 1085-1094.

Weigand, F.; Baum, M. and Udupa, S. (1993). DNA molecular marker technique, Technical Manual No.20 International Center for Agricultural Research for Dry Areas, Aleppo, Syria.

Welsh, J. and McClelland, M. (1990). Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucleic Acids Res. 18: 7213-7218.

Whitston, T.D. (1991). Weeds of the West. Western Society of Weeds Science, Laramie, WY: 630pp.

Williams, J. G. K.; Hanafey, M. K.; Rafalski, J. A. and Tingey, S. V.(1993). Genetic analysis using Random Amplified Polymorphic DNA markers. Methods in Enzymology 218: 704-741.

Williams, J. G. K.; Hanafey, M. K.; Rafalski, J. A. and Tingey, S. V.(1993). Genetic analysis using Random Amplified Polymorphic DNA markers. Methods in Enzymology 218: 704-741.

Williams, J. G. K.; Kubelik, A. R.; Livak, K. J.; Rafalski, J. A. and Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucl. Acids Rese. 18: 6531-6535.

Willis, J. C. (1973). A dictionary of flowering plants and ferns. 8th ed., Cambridge University press: 1245 pp.

Xu, J., Chen, F., Wang, G., Liu, B., Song, H., & Ma, T. (2021). The versatile functions of G. Lucidum polysaccharides and G. Lucidum triterpenes in cancer radiotherapy and chemotherapy. Cancer Management and Research, 6507-6516.

Yang, S., Park, S., Ahn, D., Yang, J. H., & Kim, D. K. (2011). Antioxidative constituents of the aerial parts of Galium spurium. The Korean Society of Applied Pharmacology, 19(3), 336-341.

Yin, H., Huang, K., Xie, P., Mo, P., Zhang, N., & Wang, Y. (2023). Characterization and phylogenetic analysis of the chloroplast genome of galium spurium. Mitochondrial DNA Part B, 8(3), 443-446.Yordonovay, R. and L. Popova.2007.Effect of exogenous treatment with salicylic acid on photo synthetic activity and antioxidant capacity of chilled wheat plants .Gen. Appl. Plant Physiology,33:155-170.

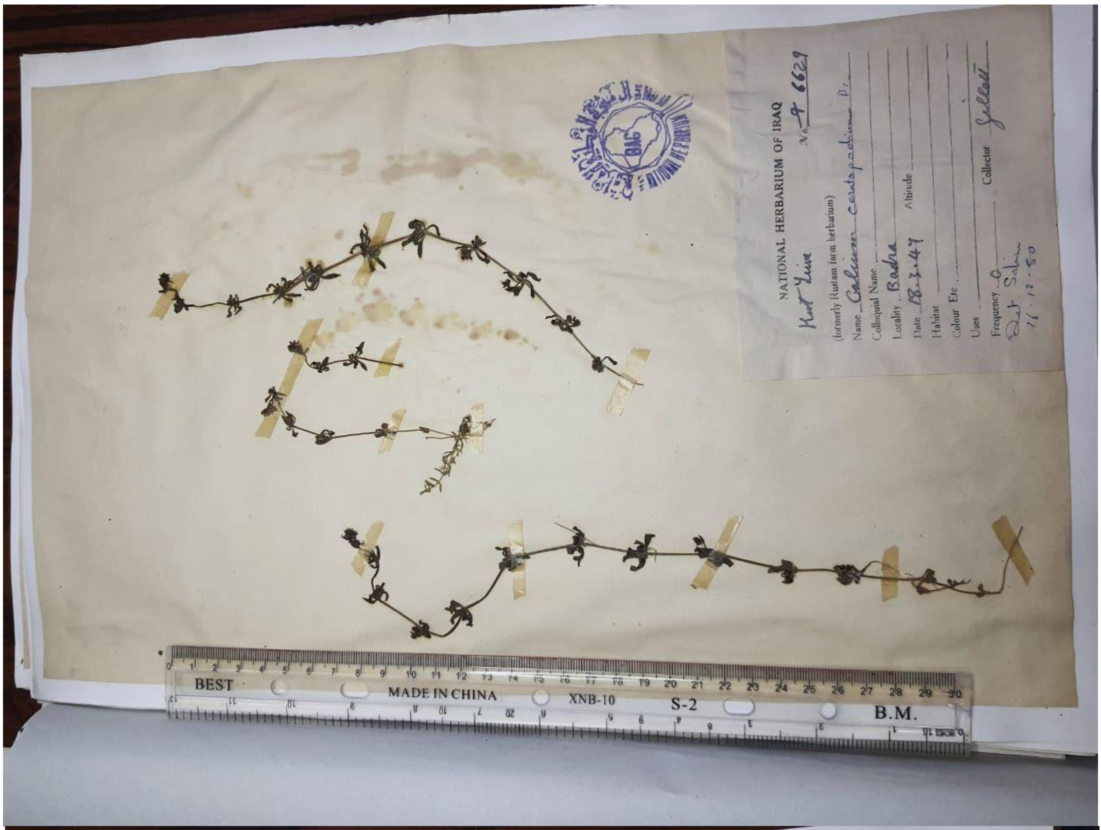
Zaid, A.; Hughes, H.; Porceddu, E. and Nicholas, F. W. (1999). Glossary of biotechnology and genetic engineering. FAO Research and Technology Paper 7, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.

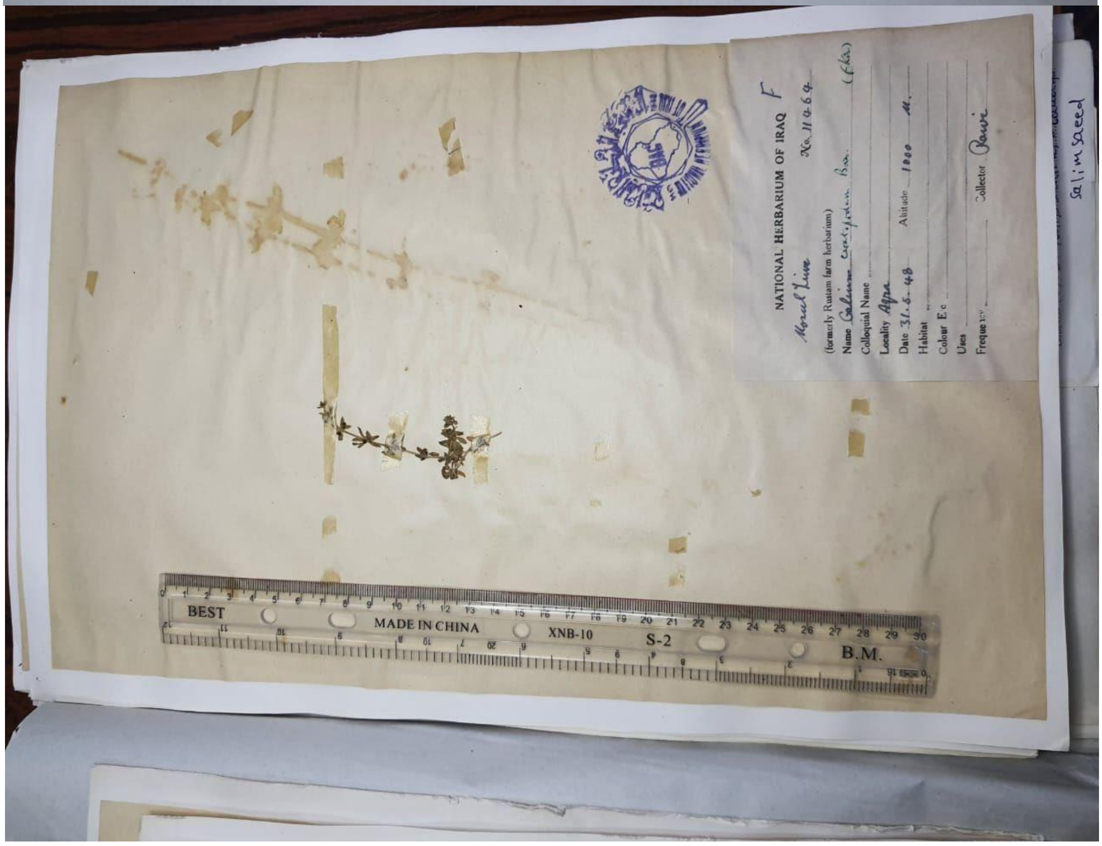
Zohary, M. (1946). The flora of Iraq and its phytogeographical subdivision. Iraq. Dept. Agric. Bull., no. 31: 201 pp.

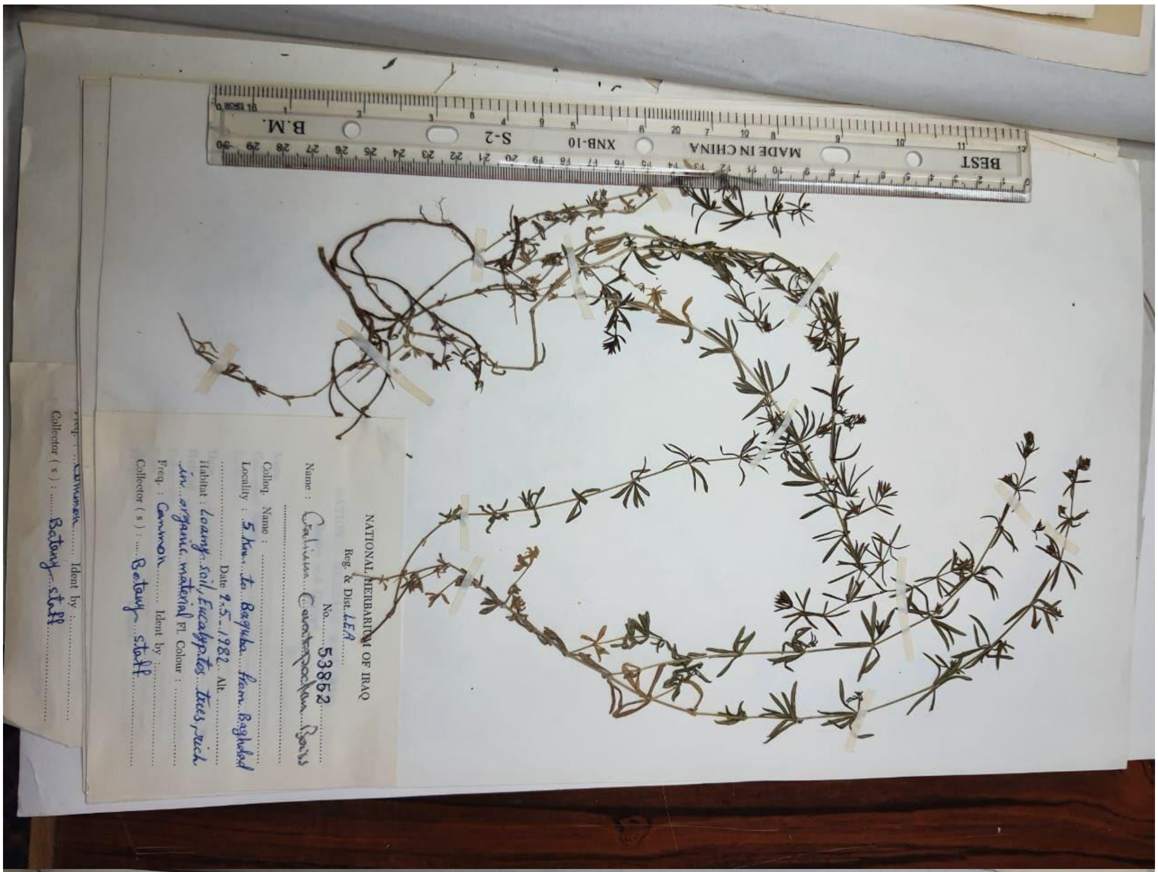
الملاحق

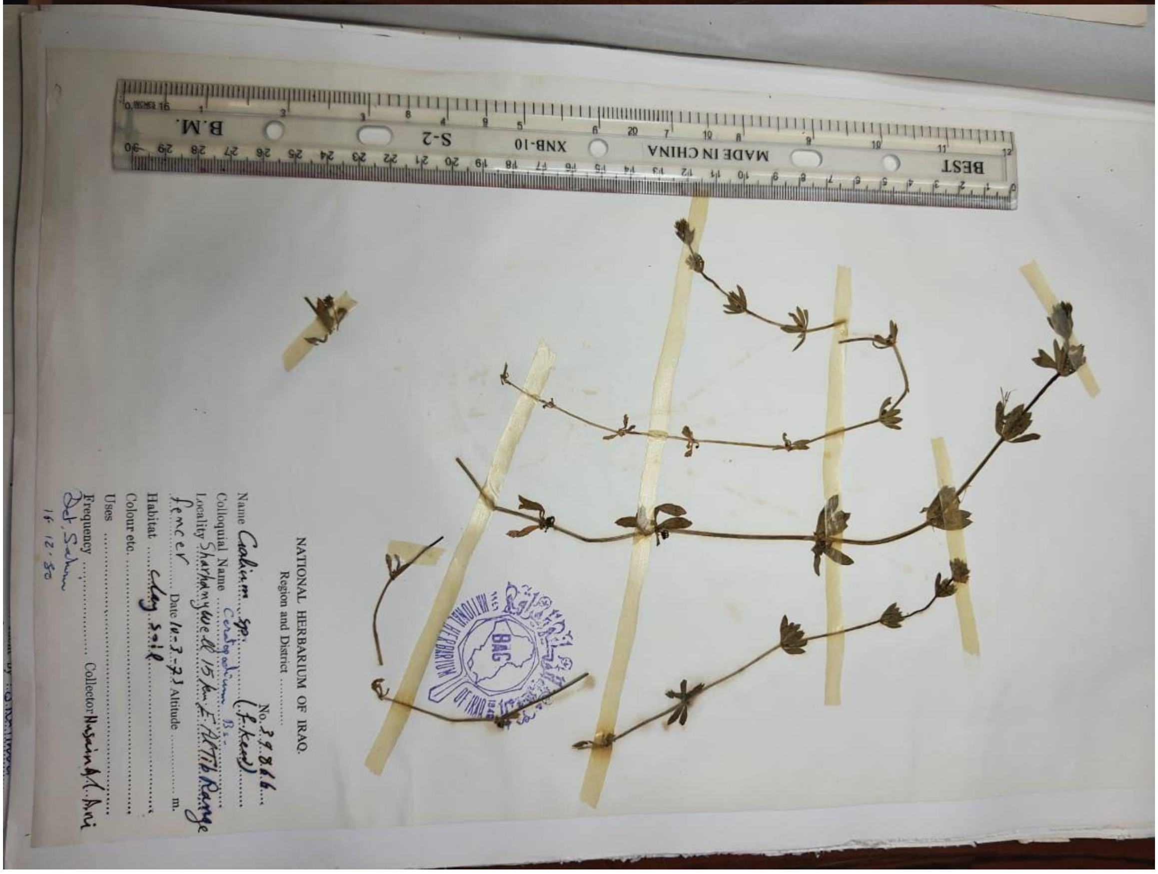
الملاحق

1- صور نبات *G.ceratopodum*



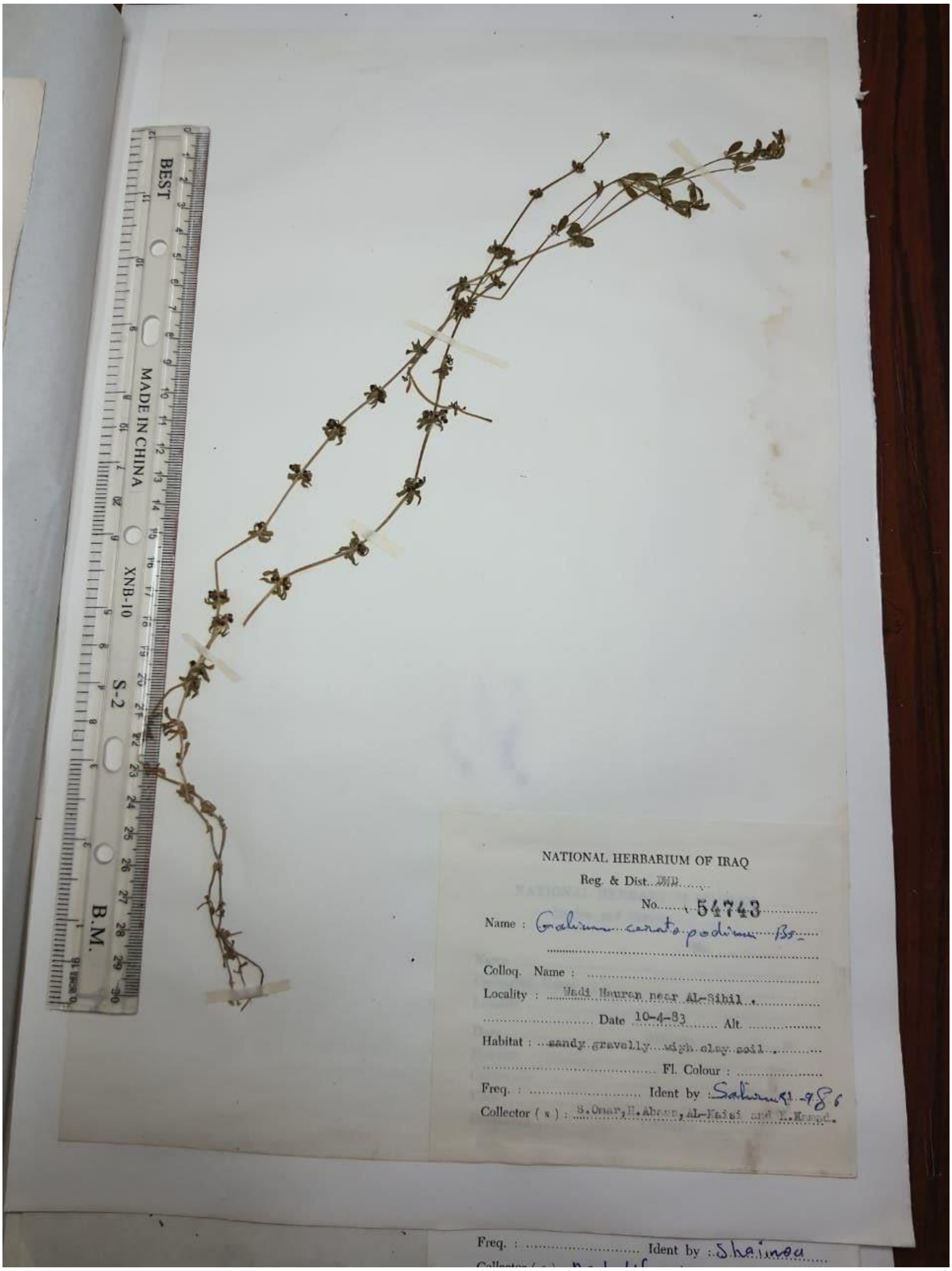



BEST
MADE IN CHINA
XNB-10
S-2
B.M.
NATIONAL HERBARIUM OF IRAQ
No. 53862
Botany staff


BEST
MADE IN CHINA
XNB-10
S-2
B.M.
NATIONAL HERBARIUM OF IRAQ
Region and District
clay soil

NATIONAL HERBARIUM OF IRAQ
BEST
MADE IN CHINA
XNB-10
S-2
B.M.

NATIONAL HERBARIUM OF IRAQ
14152
BEST
MADE IN CHINA
XNB-10
S-2
B.M.


NATIONAL HERBARIUM OF IRAQ
Reg. & Dist.
No. 54743
Name :
Colloq. Name :
Locality : Wadi Hauran near Al-Sihil.
Date 10-4-83 Alt.
Habitat : sandy gravelly
Fl. Colour :
Freq. : Ident by
Collector (s) :

2- صور نبات *G.aparine*

BEST
MADE IN CHINA
XNB-10
S-2
B.M.
BAG
NATIONAL HERBARIUM
NATIONAL HERBARIUM OF IRAQ.
Region and District
No.
Name Galium aparine L.
Colloquial Name
Locality Qalat Salih
Date 26-3-75 Altitude 110 m.
Habitat Salin Soil
Colour etc.
Uses
Frequency Many Collector
28. 3. 76

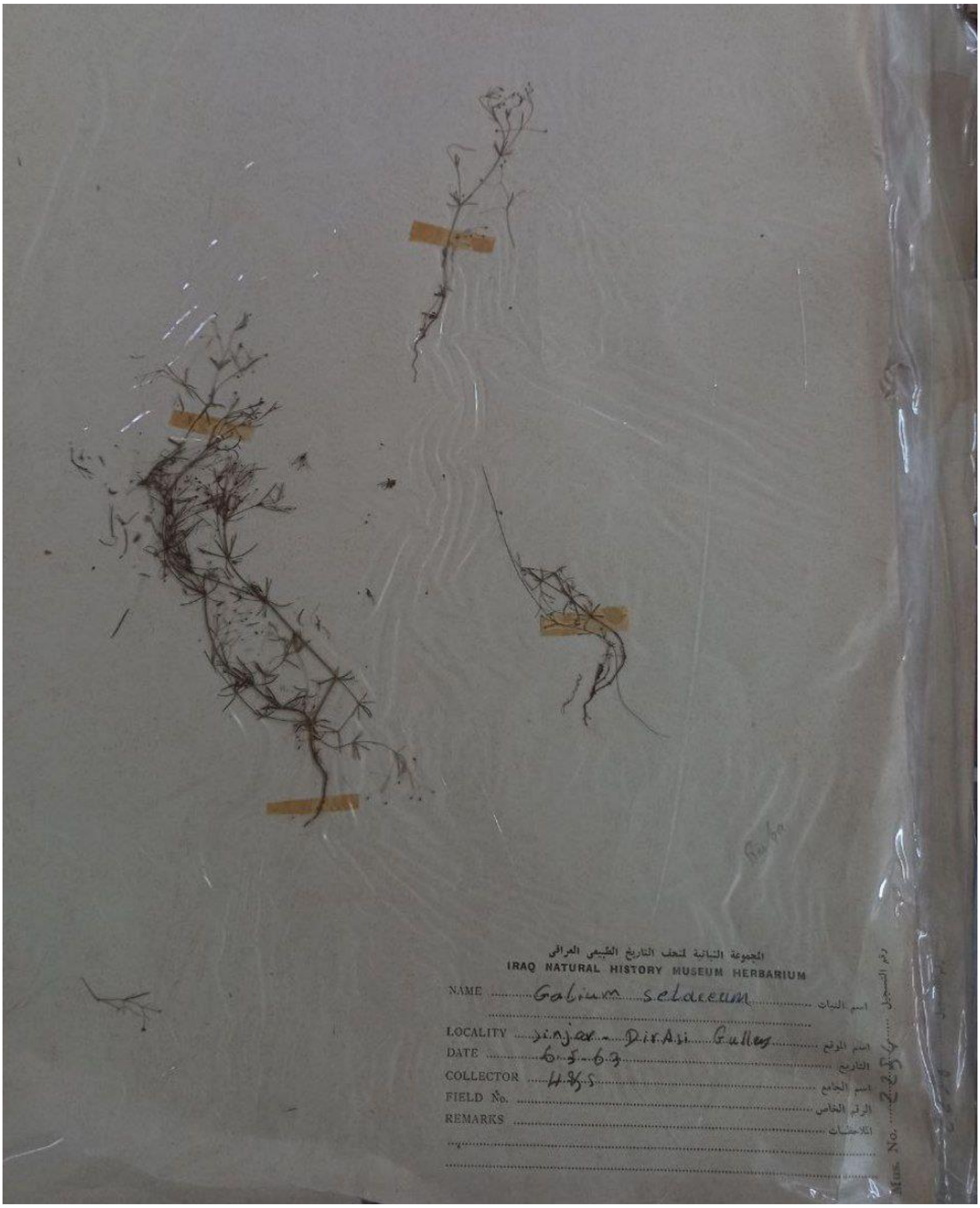
NATIONAL HERBARIUM OF IRAQ
Region & District MRO
No. 49549
Name Galium aparine L.
Colloquial Name
Locality Gali Ali Beg
Date 1-6-79 Altitude 620 m.
Habitat rocky mountain
Fl. Colour Frequency Common
Identify By Janan 15.4.82
Collector S.Omar, AL - Kinisi & Wedad
BEST
MADE IN CHINA
XNB-10
S-2
B.M.

NATIONAL HERBARIUM OF IRAQ.
Region and District ..MS.4
No. ......22512......
Name Galium aparine L.
Colloquial Name
Locality: Penjwin.
Date: 21/6/57 Altitude: c.1280 m.
Habitat: Rhus-Quercus forest on hillside.
Colour etc.
Uses:
Frequency:
Collector: A. Rawi.
Det Sahin 18.12.80
NATIONAL HERBARIUM OF IRAQ
BAG
BEST
MADE IN CHINA
XNB-10
S-2
B.M.

36132
HERBARIUM OF THE COLLEGE OF AGRICULTURE AND FORESTRY, UNIVERSITY OF MOSUL — IRAQ
Latin Name
Colloquial Name
Locality
Altitude 220 m
Habitat
No.
Indentification
Flower etc.
Uses
Frequency
Other data

المجموعة النباتية لمتحف التاريخ الطبيعي العراقي
IRAQ NATURAL HISTORY MUSEUM HERBARIUM
NAME Galium aparine اسم النبات
LOCALITY Haj Umran اسم الموقع
DATE 16.3.72 التاريخ
COLLECTOR M. Al Shali اسم الجامع
FIELD No. الرقم الخاص
REMARKS الملاحظات
Mus. No.

-3 صور نبات *G.setaceum*



Abstract

The current study is a comparative molecular and chemical study of 5 species of the genus *Galium* L. from the family Rubiaceae that grow wild in Iraq, namely *G. spurium* L., *G. setaceum* L., dandy *G. tricornatum*, and *G. ceratopodum* Boiss. and *G. aparine* using DNA Markers based on Polymerase Chain Reaction (PCR), which are Random Amplified Polymorphic DNA (RAPDs) markers .

The study was carried out in Al-Amin Laboratory of the Holy Shrine of the Holy Prophet, Najaf Governorate - Iraq, from February 2003 until June 2003. The results of the current study using RAPD markers showed the variation between the studied genotypes through the presence of unique monomorphic, polymorphic, and heterogeneous bundles. Some primers gave a unique fingerprint for some of the genotypes of the plant *Galium* L.

8 of the random primers affiliated with RAPD , ISRR were chosen, but 3 of the primers did not achieve any results, which are BH10, BH11, and BH14, while the 5 primers shared different results

Five Random primers affiliated with RAPD were chosen that showed different replication results among the studied plant species. The number of different bundles reached 65 out of 67 main bundles, and the highest number of duplicated bundles was obtained, which was 28 out of 120 bundles obtained across all The genomes of plant species were obtained by primer OPC14 and the lowest number of duplicated bands, 20, was obtained by primer OPC8. The highest number of main bands, 17, was obtained by primer OPC14, and the lowest number of main bands, 8, was obtained by primer OPC8.

The cluster analysis (genetic relationship tree) revealed that the studied plant species were divided into two main genetic groups. The first group included two plant species, namely *G. spurium and G. setaceum*, while the second group included the remaining three other species, which were *G. ceratopodum, G. tricornatum and G. aparine.*

The general analysis of the results showed that RAPD genetic markers is a powerful tool for distinguishing between *Galium* L. species and revealing genetic relationships between them.

The current study also dealt with the chemical content of the ethanolic extract of *Galium* leaves, and the compounds were identified using Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS) technology. It was found that there were a number of chemical compounds resulting from secondary metabolism, which have an effective role in medical treatments and as a means of defense for the plant. These compounds had an effective role in distinguish between taxonomically studied species.

Ministry of Higher Education and Scientific Research

University of Kerbala

College of Education for Pure Sciences

Department of Biology

A comparative molecular and chemical study for some species of the genus Galium L. from the Rubiaceae family in Iraq

A Thesis

submitted to the Council of the College of Education for Pure Sciences / University of Karbala as part of the requirements for obtaining a master's degree in Biology

written by

Rabieuh salman hamid Khadr

Bachelor of Biology /University of Karbala 2020

Supervised by

Prof. Dr. Prof. Dr. Balqees Hadi   Hashem

2024 A.G 1445 A.H