جامعة كربلاء

كلية الزراعة

قسم البستنة وهندسة الحدائق

تحفيز بعض مركبات الايض الثانوي في كالس نبات العنب صنف *Vitis vinifera* بإستعمال بعض المحفزات الكيميائية والفيزيائية

رسالة مقدمة إلى مجلس كلية الزراعة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير

علوم في الزراعة / البستنة وهندسة الحدائق

من قبل

فاطمة كاظم شاكر رضا

بإشراف

ا.د.سراب عبد الهادي محمد حسين

ا.م.د.زيد خليل كاظم

2024 م

1446 هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَٰنِ الرَّحِيمِ

وَفِي الْأَرْضِ قِطَعٌ مُّتَجَاوِرَاتٌ وَجَنَّاتٌ مِّنْ أَعْنَابٍ وَزَرْعٌ وَنَخِيلٌ صِنْوَانٌ

وَغَيْرُ صِنْوَانٍ يُسْقَىٰ بِمَاءٍ وَاحِدٍ وَنُفَضِّلُ بَعْضَهَا عَلَىٰ بَعْضٍ فِي

الْأُكُلِ ۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ

صَدَقَ الله العَلِيُّ العَظيمُ

سورة الرعد(اية 4

إقرار المشرف

أشهد أن اعداد الرسالة الموسومة (تحفيز بعض مركبات الايض الثانوي في كالس نبات العنب صنف *Vitis vinifera* بإستعمال بعض المحفزات الكيميائية والفيزيائية) جرت تحت اشرافي في قسم البستنة وهندسة الحدائق / كلية الزراعة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير / علوم في الزراعة – البستنة وهندسة الحدائق.

التوقيع :

اسم المشرف العلمي: ا.د. سراب عبد الهادي محمد حسين

المرتبة العلمية: أستاذ دكتور

العنوان: كلية الزراعة – جامعة كربلاء

التاريخ: / / 2024

التوقيع:

اسم المشرف العلمي: ا.م.د. زيد خليل كاظم

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد دكتور

العنوان: كلية الزراعة – جامعة كربلاء

التاريخ: / / 2024

توصية رئيس قسم البستنة وهندسة الحدائق ورئيس لجنة الدراسات العليا

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

التوقيع:

الاسم:أ.م د. كاظم محمد عبد الله

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: كلية الزراعة – جامعة كربلاء

التاريخ: / / 2024

إقرار لجنة المناقشة

نشهد نحن أعضاء لجنة المناقشة قد اطلعنا على الرسالة الموسومة (تحفيز بعض مركبات الايض الثانوي في كالس نبات العنب صنف *Vitis vinifera* بإستعمال بعض المحفزات الكيميائية والفيزيائية) وناقشنا الطالب في محتواها ووجدنا انها جديرة بالقبول لنيل شهادة الماجستير / علوم في الزراعة – البستنة وهندسة الحدائق.

رئيساً

الاسم: أ.د. لمياء خليفة جواد كاظم

المرتبة العلمية: أستاذ دكتور

العنوان: كلية الزراعة - جامعة بغداد

التاريخ: / /2024

عضواً

الاسم: أ.م.د. هيفاء رشيد محسن الانصاري

المرتبة العلمية: استاذ مساعد دكتور

العنوان: كلية الصيدلة - جامعة كربلاء

التاريخ: / /2024

عضواً

الاسم: أ.م.د. صباح عبد فليح قنبر

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد دكتور

العنوان: كلية الزراعة - جامعة كربلاء

التاريخ / /2024

عضواً ومشرفاً

الاسم: ا.د.سراب عبد الهادي محمد حسين

المرتبة العلمية : استاذ دكتور

العنوان : كلية الزراعة – جامعة كربلاء

التاريخ : / /2024

عضواً ومشرفاً

الاسم: ا.م.د.زيد خليل كاظم

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد دكتور

العنوان: كلية الزراعة - جامعة كربلاء

التاريخ: / / 2024

صدقت الرسالة في مجلس كلية الزراعة – جامعة كربلاء

أ. د. صباح غازي شريف

العميد وكالةً

كلية الزراعة - جامعة كربلاء

٢٠٢٤ / ٩ / ١٩

الإهداء

إلى الذي ندعوه في السراء والضراء ..... الذي وفقني وأنار لي دربي خالقي .(الله عز وجل)

الى من تقطر الكلمات عشقا خالصا لهواهم ....تعظيما وفخرا

محمد واله الطاهرين عليهم السلام

الى قدوتي من زرع الايمان في قلبي ..... الذي افتخر بحمل اسمه طوال عمري برا واحسانا

والدي العزيز

الى من جعل الله الجنة تحت قدميها .... وحملتني وهنا على وهن

امي الغالية

الى من اشدد بهم ازري ..... سندي ومصدر فخري

اخوتي واخواتي الاعزاء

الى من تحمل الهم والتعب .... .. رفيق الدرب حبا وعرفانا بالجميل

زوجي الغالي

الى مهجة الفؤاد .... وامل الغد اولادي

محمد رضا وفاطمة

الى من زرعوا فينا حب العلم والتعلم... ... شكرا وامتنانا

اساتذتي

اهدي جهدي المتواضع الى صاحب العصر والزمان الامام المهدي (عج) لطلب الحفظ والامان والصحة والعافية الى الام التي لم تلدني استاذتي المشرفة

(دكتورة سراب عبد الهادي محمد حسين المحترمة)

الى كل القلوب الطيبة التي غمرتني بالحب .. والدعاء .. والمساعدة

اهدي ثمرة جهدي المتواضع ..

فاطمة

شكر وتقدير

يطيب لي وانأ أضع اللمسات الأخيرة في إكمال رسالتي لأقدم اسمى كلمات الشكر والثناء الجميل لأستاذتي الفاضلة المشرفة الدكتورة سراب عبد الهادي المختار والاستاذ زيد خليل كاظم لقبولهم الإشراف على هذا العمل وعلى ما بذلوا من أقصى الجهود في إعداده وتقديمه بالشكل اللائق وتذليلهم لكافة الصعاب التي واجهتني وتوجيهاتهم العلمية القيمة التي كانت عوناً لي طيلة فترة الدراسة فجزاهم الباري عني خير الجزاء ووفقهم لخدمة العلم والمعرفة.

ولا يسعني ألا أن أقدم شكري وعظيم تقديري إلى رئيس وأعضاء لجنة المناقشة الأستاذ الدكتور لمياء خليفة جواد و الأستاذ المساعد الدكتور هيفاء رشيد محسن والاستاذ المساعد الدكتور صباح عبد فليح قنبر لقبولهم مناقشة رسالتي وعلى ما قدموه من توجيهات علمية سديدة لإثرائها وفقهم الباري لخدمة العلم وحفظهم من كل سوء

كما أتقدم بأسمى آيات الشكر والامتنان والتقدير إلى الذين حملوا أقدس رسالة في الحياة و مهدوا لنا طريق العلم والمعرفة إلى جميع أساتذتنا الأفاضل والمنتسبين في قسم البستنة وهندسة الحدائق فرداً فرداً وأخص بالتقدير والامتنان الوافر الى رئيس قسم البستنة وهندسة الحدائق الدكتور كاظم محمد عبد الله فجزاهم الباري عني أوفر الجزاء.

كما اتوجه بالشكر والامتنان والتقدير الى عميد كلية الزراعة – جامعة كربلاء الاستاذ صباح غازي شريف ،وجميع كادر قسم الدراسات العليا لدعمهم المستمر لطلبة الدراسات العليا .

كما اتقدم بالشكر والامتنان الى الاستاذة الفاضلة سيناء عبد مسلم لمساندتها لي ودعمها المعنوي طيل فترة الدراسة.

Abstract

نفذت هذه الدراسة في مختبر زراعة الانسجة النباتية كلية الزراعة جامعة كربلاء واكملت تحاليل الـ HPLC في شركة الحقول البيضاء للاستثمارات والدراسات البيئية والهندسية للمدة من1\6\ 2023 لغاية 6\ 2024. تضمنت الدراسة استخدام تقانة زراعة الانسجة النباتية لاستحثاث مزارع كالس نبات العنب صنف Vitis viniferaوتحفيزه على زيادة انتاج المركبات الفلافونويدية ذات الاهمية الطبية.

نفذت الدراسة على مرحلتين بعد اجراء عملية التعقيم شملت الاولى تأسيس مزارع الكالس باستخدام توليفات مختلفة من الاوكسينات والسايتوكانينات ونفذت المرحلة الثانية بتعريض مزارع الكالس الى توليفات مختلفة من الفنيل الانين والاضاءة،البراسينولايد والاضاءة لتحفيزه على زيادة انتاج المركبات الفلافونويدية في تجارب عاملية مستقلة ضمن التصميم العشوائي الكامل (CRD)، يمكن تلخيص النتائج بالاتي:

- كانت افضل معاملة لتعقيم الاجزاء النباتية هي هايبوكلورات الصوديوم بتركيز(1.5% للفترة 10 دقائق) ،اما بالنسبة للتداخل الثلاثي فقد تفوق كلا الجزئين مع الفترة (10دقيقة والتركيز 1.5%)هايبو كلورات الصوديوم.
- تفوقت القمة النامية على البراعم معنويا في تحقيق اعلى استجابة لاستحثاث الكالس.
- حقق التركيز(2 ملغم لتر$^{-1}$) من 2,4-D اعلى استجابة للوزن الطري والجاف للكالس المستحث من القمة النامية ، كما حقق الـ BA عند التركيز(0.2 ملغم لتر$^{-1}$)اعلى استجابة .اما بالنسبة للتداخل فقد حقق التركيز(2 ملغم لتر$^{-1}$) من 2,4-D بالتداخل مع التركيز (0.4 ملغم لتر$^{-1}$) من BA اعلى استجابة للصفات ذاتها.
- تفوق التركيز (4 ملغم لتر$^{-1}$) من 2,4-Dو(0.4 ملغم لتر$^{-1}$) من BAمعنويا في زيادة انتاج المركبات الفلافونويدية Hesperdine، ، Proanthocyanin، Rutinو تفوق التركيز(4 ملغم لتر$^{-1}$) من 2,4-Dو(0.2 ملغم لتر$^{-1}$) من BA معنويا في زيادة انتاج مركب Narngnine،وتفوق التركيز(3 ملغم لتر$^{-1}$) من 2,4-Dو (0.4 ملغم لتر$^{-1}$) BAفي زيادة انتاج مركب Quercetin في حين كانت افضل استجابة لانتاج الكاربوهيدرات عند التركيز(3 ملغم لتر$^{-1}$)من2,4-Dو(0.1ملغم لتر$^{-1}$)BAوالتداخل كان بتركيز3(ملغم لتر$^{-1}$)من 2,4-D و(0.2 ملغم لتر$^{-1}$)من BA اما بالنسبة للتداخل فقد تفوق التركيز(3 ملغم لتر$^{-1}$)من 2,4-Dو(0.4 ملغم لتر$^{-1}$) من BAفي زيادة مركب Hesperdineو Quercetin،وتفوق التركيز (4 ملغم لتر$^{-1}$)من2,4-Dبالتداخل مع(0.4ملغم لتر$^{-1}$)منBAزيادة المركبات Narngnine،Rutin،Proanthocyanin

- حقق الـ LED الملون اعلى استجابة للوزن الطري والجاف للكالس مقارنة مع الـ LED الابيض والفلورسنت، كما حقق التركيز(15 ملغم لتر$^{-1}$)فنيل الانين اعلى استجابة للصفات ذاتها اما بالنسبة للتداخل فقد حقق LED الملون والتركيز(15 ملغم لتر$^{-1}$)
- اثر الـ LED الملون معنويا في زيادة انتاج المركبات Hesperdine، Nargnine، Proanthocyanin، Rutin و Quercetin .
- حقق التركيز(20 ملغم لتر$^{-1}$)فنيل الانين اعلى استجابة لانتاج المركبات Proanthocyanin و Rutin بينما حقق التركيز(15 ملغم لتر$^{-1}$)منه اعلى استجابة لانتاج Hesperdine، Narngnine، Quercetin و الكاربوهيدرات.اما بالنسبة للتداخل فقد حقق التركيز (15 ملغم لتر$^{-1}$)من الفنيل الانين مع الـ LED الملون اعلى استجابة في المركبات الايضية .
- اعطى التركيز (3 ملغم لتر$^{-1}$)براسينولايد اعلى استجابة للوزن الطري والجاف للكالس والتداخل كان بين التركيز(3 ملغم لتر$^{-1}$)براسينولايد مع الـ LED الملون .
- تفوق التركيز(3ملغم لتر$^{-1}$)براسينولايد معنويا في زيادة انتاج المركبات Hesperdine، Narngnine، Rutin و Quercetin في حين حقق التركيز(2 ملغم لتر$^{-1}$) منه اعلى استجابة لمركب Proanthocyanin و الكاربوهيدرات اما التداخل فقد حقق التركيز (2ملغم لتر$^{-1}$)من البراسينولايد مع الـ LED الملون زيادة مركبات Hesperdine، Rutin، Narngnine، كاربوهيدرات ،وحقق التركيز (3 ملغم لتر$^{-1}$)براسينولايد بالتداخل مع الLED الملون زيادة مركبQuercetin

قائمة المحتويات

تسلسل	المـــوضـــوع	الصفحة
1	المقدمة	1
2	استعراض المراجع	3
1- 2	الاسم العلمي والتصنيف لنبات العنب	3
2-2	نشاة العنب والموطن الاصلي	3
3-2	الوصف النباتي	4
4-2	مميزات الصنف الحلواني	4
5-2	الاهمية الغذائية والطبية للعنب	5
6-2	الايض الثانوي في النبات	7
7-2	التركيب الكيميائي للمركبات الفينولية	8
1-7-2	الفلافونيدات	10
8-2	البناء الحيوي للمركبات الفينولية	12
9-2	تقنية زراعة الانسجة النباتية	14
10-2	منظمات النمو النباتية	14
1-10-2	تأثير الاوكسينات والسايتوكانينات على استحثاث الكالس	15
11-2	انتاج مركبات الايض الثانوي باستخدام تقانة زراعة الانسجة	16
12-2	تأثير الفنيل الانين على الكالس ومركبات الايض الثانوي	17
13-2	تأثير البروسينولايد على الكالس ومركبات الايض الثانوي	19
14-2	الضوء	20
1-14-2	تأثير مصادر الاضاءة على الكالس ومركبات الايض الثانوي	22
3	المـواد وطــرائق العـمل	24
1-3	تصميم التجربة	24
2-3	تقنية زراعة الانسجة	24
1-2-3	مرحلة التعقيم	24
2-2-3	تحضير وتعقيم الوسط الغذائي	25
3-2-3	تعقيم الجزء الغذائي	26
3-3	مرحلة استحثاث الكالس	26
1-3-3	ادامة الكالس	27
4-3	تحفيز انتاج المركبات الايضية	27
1-4-3	تأثير نوع الاضاءة والفنيل الانين في نمو الكالس وانتاج مركبات الايض الثانوي	27
2-4-3	تأثير نوع الاضاءة والبروسنيلايد في نمو الكالس وانتاج مركبات الايض الثانوي	27
3-4-3	تقدير الكاربوهيدرات الكلية في كالس العنب	28

4-4-3	استخلاص المركبات الفعالة من كالس نبات العنب	28
5-4-3	تقدير الكمي والنوعي للمركبات الايضية لكالس نبات العنب باستخدام تقانة كروموتوكرافيا السائل فائق الاداء HPLC	29
5-3	التحليل الاحصائي	30
4	النتائج والمناقشة	31
1-4	التعقيم السطحي للأجزاء النباتية	31
2-4	تأثير تراكيز 2,4 D وBA في النسبة المئوية لاستجابة القمة النامية لاستحثاث الكالس	33
3-4	تأثير تراكيز 2,4 D وBA في النسبة المئوية لاستجابة البراعم لاستحثاث الكالس	35
4-4	تأثير تراكيز 2,4-D و BA في الوزن الطري المستحث من القمة النامية	37
5-4	تأثير تراكيز 2,4-D و BA في الوزن الجاف المستحث من القمة النامية	38
6-4	تأثير تراكيز 2,4-D و BA في الوزن الطري المستحث من البراعم	39
7-4	تأثير تراكيز 2,4-D و BA في الوزن الجاف المستحث من البراعم	40
8-4	تأثير تراكيز 2,4-D و BA في تركيز مركب الـ Hesperdine.	42
9-4	تأثير تراكيز 2,4-D و BA في تركيز مركب الـ Narngnine	43
10-4	تأثير تراكيز 2,4-D و BA في تركيز مركب الـ Proanthocyanin	44
11-4	تأثير تراكيز 2,4-D و BA في تركيز مركب الـ Quercetin	45
12-4	تأثير تراكيز 2,4-D و BA في تركيز مركب الـ Rutin	46
13-4	تأثير تراكيز 2,4-D و BA في تركيز الكاربوهيدرات	47
14-4	تأثير نوع الاضاءة وتراكيز الفنيل الانين في الوزن الطري للكالس	49
15-4	تأثير نوع الاضاءة وتراكيز الفنيل الانين في الوزن الجاف للكالس	50
16-4	تأثير نوع الاضاءة وتراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب الـ Hesperdine.	51
17-4	تأثير نوع الاضاءة وتراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب الـ Narngnine.	52
18-4	تأثير نوع الاضاءة وتراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب الـ Proanthocyanin	53
19-4	تأثير نوع الاضاءة وتراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب الـ Quercetin	54
20-4	تأثير نوع الاضاءة وتراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب الـ	55

	Rutin	
56	تأثير نوع الاضاءة وتراكيز الفنيل الانين في تركيز الكاربوهيدرات	21-4
59	تأثير نوع الاضاءة وتراكيز البراسينولايد في الوزن الطري للكالس.	22-4
60	تأثير نوع الاضاءة وتراكيز البرويسينولايد في الوزن الجاف للكالس	23-4
61	تأثير نوع الاضاءة وتراكيز البروسينولايد في تركيز مركب الـ Hesperdine.	24-4
62	تأثير نوع الاضاءة وتراكيز البراسينولايد في تركيز مركب الـ Narngnine	25-4
63	تأثير نوع الاضاءة وتراكيز البراسينولايد في تركيز مركب الـ Proanthocyanin	26-4
64	تأثير نوع الاضاءة وتراكيز البراسينولايد في تركيز مركب الـ Quercetin.	27-4
65	تأثير نوع الاضاءة وتراكيز البراسينولايد في تركيز مركب الـ Rutin	28-4
66	تأثير نوع الاضاءة وتراكيز البراسنولايد في تركيز الكاربوهيدرات	29-4
70	الاستنتاجات والتوصيات	5
70	الاستنتاجات	1-5
71	التوصيات	2-5
72	المصادر	6
72	المصادرالعربية	1-6
74	المصادر الاجنبية	2-6
90	الملاحق	7

قائمة الجداول

التسلسل	عنوان الجدول	الصفحة
1	تأثير تركيز هايبوكلورات الصوديوم والفترة الزمنية في النسبة المئوية لتلوث الاجزاء النباتية لنبات العنب بعد 10 ايام من الزراعة	32
2	تأثير تراكيز الـ 2,4-D و BA في النسبة المئوية لاستجابة القمم النامية لاستحثاث الكالس بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	34
3	تأثير تراكيز الـ 2,4-D و BA في النسبة المئوية لاستجابة البراعم لاستحثاث الكالس بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	36
4	تأثير تراكيز الـ 2,4-D و BA في الوزن الطري للكالس المستحث من القمة النامية بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	37
5	تأثير تراكيز الـ 2,4-D و BA في الوزن الجاف للكالس المستحث من القمة النامية بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	38
6	تأثير تراكيز الـ 2,4-D و BA في الوزن الطري للكالس المستحث من البراعم بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	39
7	تأثير تراكيز الـ 2,4-D و BA في الوزن الجاف للكالس المستحث من البراعم بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	40
8	تأثير تراكيز الـ2,4-D وBA في تركيز مركب الـ Hesperdine (مايكروغرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS .	43
9	تأثير تراكيز الـ2,4-D وBA في تركيز مركب الـ Narngnine (مايكروغرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	44
10	تأثير تراكيز الـ2,4-D وBA في تركيز مركب الـ Proanthocyanin (مايكروغرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	45
11	تأثير تراكيز الـ2,4-D وBA في تركيز مركب الـ Quercetin (مايكروغرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	46
12	تأثير تراكيز الـ2,4-D وBA في تركيز مركب الـ Rutin (مايكروغرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة	47

	على الوسط الغذائي MS	
13	تأثير تراكيز الـ2,4-D وBA في تركيز الكاربوهيدرات (ملغم غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	48
14	تأثير نوع الاضاءة و تراكيز الفنيل الانين في الوزن الطري للكالس (ملغم) المستحث من القمة النامية بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	50
15	تأثير نوع الاضاءة و تراكيز الفنيل الانين في الوزن الجاف للكالس (ملغم) المستحث من القمة النامية بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	51
16	تأثير نوع الاضاءة و تراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب Hesperdine (مايكرو غرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	52
17	تأثير نوع الاضاءة و تراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب Narngnine (مايكرو غرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	53
18	تأثير نوع الاضاءة و تراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب Proanthocyanin (مايكرو غرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	54
19	تأثير نوع الاضاءة و تراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب Quercetin (مايكرو غرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	55
20	تأثير نوع الاضاءة و تراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب Rutin (مايكرو غرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	56
21	تأثير نوع الاضاءة و تراكيز الفنيل الانين في تركيز الكاربوهيدرات (ملغم غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	57
22	تأثير نوع الاضاءة و تراكيز البراسينولايد في الوزن الطري للكالس (ملغم) المستحث من القمة النامية بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائيMS	60
23	تأثير نوع الاضاءة و تراكيز البراسينولايد في الوزن الجاف للكالس (ملغم) المستحث من القمة النامية بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	61
24	تأثير نوع الاضاءة و تراكيز البراسينولايد في تركيز مركب Hesperdine (مايكرو غرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	62

25	تأثير نوع الاضاءة و تراكيز البراسينولايد في تركيز مركب Narngnine (مايكرو غرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	63
26	تأثير نوع الاضاءة و تراكيز البراسينولايد في تركيز مركب Proanthocyanin (مايكرو غرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	64
27	تأثير نوع الاضاءة و تراكيز البراسينولايدفي تركيز مركب Quercetin (مايكرو غرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	65
28	تأثير نوع الاضاءة و تراكيز البراسينولايدفي تركيز مركب Rutin (مايكرو غرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	66
29	تأثير نوع الاضاءة و تراكيز البراسينولايد في تركيز الكاربوهيدرات (ملغم غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	67

قائمة الاشكال

التسلسل	عنوان الشكل	الصفحة
1	بناء الانواع الرئيسة لمركبات الايض الثانوي من مركبات الايض الاولي	8
2	التركيب الكيميائي العام للفلافونويدات	10
3	انواع الفلافونيدات في بعض النباتات واغذية الانسان	12
4	البناء الحيوي للفلافونويدات	13
5	موجات الطيف المرئي	21
6	منظومة الاضاءة المستخدمة في التجربة	29
7	تأثير منظمات النمو على استحثاث الكالس من القمه النامية	33
8	تأثير منظمات النمو على استحثاث الكالس من البراعم	35

قائمة الملاحق

التسلسل		الصفحة
1	المحاليل القياسية للمركبات الفلافونويدية	90
2	تأثير تركيز الـ 02,4-D ملغم لتر$^{-1}$ و BA 0 ملغم لتر$^{-1}$ في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	91
3	تأثير التركيز 1 ملغم لتر$^{-1}$2,4-Dو 0.1 ملغم لتر$^{-1}$BA في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	92
4	تأثير التركيز 1 ملغم لتر$^{-1}$2,4-Dو 0.2 ملغم لتر$^{-1}$BA في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	93
5	تأثير التركيز 2 ملغم لتر$^{-1}$2,4-Dو 0.1 ملغم لتر$^{-1}$BA في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على	94

	الوسط MS	
95	تأثير التركيز 2 ملغم لتر$^{-1}$2,4-Dو 0.2 ملغم لتر$^{-1}$BA في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	6
96	تأثير التركيز 2 ملغم لتر$^{-1}$2,4-Dو 0.4 ملغم لتر$^{-1}$BA في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	7
97	تأثير التركيز 3 ملغم لتر$^{-1}$2,4-Dو 0.1 ملغم لتر$^{-1}$BA في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	8
98	تأثير التركيز 3 ملغم لتر$^{-1}$2,4-Dو 0.2 ملغم لتر$^{-1}$BA في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	9
99	تأثير التركيز 3 ملغم لتر$^{-1}$2,4-Dو 0.4 ملغم لتر$^{-1}$BA في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	10
100	) تأثير التركيز 4 ملغم لتر$^{-1}$2,4-Dو 0.1 ملغم لتر$^{-1}$ BA في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	11
101	تأثير التركيز 4 ملغم لتر$^{-1}$2,4-Dو 0.2 ملغم لتر$^{-1}$BA في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	12
102	تأثير التركيز 4 ملغم لتر$^{-1}$2,4-Dو 0.4 ملغم لتر$^{-1}$BA في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	13
103	تأثير الـ LED الابيض و0 ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	14
104	تأثير الفلورسنت و20 ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	15
105	تأثير الـفلورسنت و10ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات	16

	الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	
17	تأثير الفلورسنت و15 ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	106
18	تأثير الفلورسنت و5 ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	107
19	تأثير الفلورسنت و0 ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	108
20	تأثير الـ LED الابيض و20 ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	109
21	تأثير الـ LED الابيض و15 ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	110
22	تأثير الـ LED الابيض و5 ملغم لتر$^{-1}$ فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	111
23	تأثير الـ LED الابيض و10 ملغم لتر$^{-1}$ فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	112
24	تأثير الـ LED الملون و0 ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	113
25	تأثير الـ LED الملون و10 ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	114
26	تأثير الـ LED الملون و5 ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	115
27	تأثير الـ LED الملون و15 ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	116
28	تأثير الـ LED الملون و 20 ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	117
29	تأثير الفلورسنت و2 ملغم لتر$^{-1}$براسينولايد في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	118
30	تأثير الفلورسنت و1 ملغم لتر$^{-1}$براسينولايد في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	119
31	تأثير الفلورسنت و3 ملغم لتر$^{-1}$براسينولايد في تركيز المركبات	120

	الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	
32	تأثير الفلورسنت و0 ملغم لتر$^{-1}$ براسينولايد في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	121
33	تأثيرالـ LED الابيض و1 ملغم لتر$^{-1}$براسينولايد في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	122
34	تأثيرالـ LED الابيض و3 ملغم لتر$^{-1}$براسينولايد في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	123
35	تأثيرالـ LED الابيض و2 ملغم لتر$^{-1}$براسينولايد في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	124
36	تأثيرالـ LED الابيض و0 ملغم لتر$^{-1}$براسينولايد في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	125
37	تأثيرالـ LED الملون و0 ملغم لتر$^{-1}$ براسينولايد في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	126
38	تأثيرالـ LED الملون و1 ملغم لتر$^{-1}$براسينولايد في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	127
39	تأثيرالـ LED الملون و2 ملغم لتر$^{-1}$براسينولايد في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	128
40	تأثيرالـ LED الملون و3 ملغم لتر$^{-1}$براسينولايد في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS	129

قائمة المختصرات

NaOCl	Sodium Hypochlorite
BA	Benzyl adenine
Phe	Phenylalanine
BR	Brassionolyer
MS	Murashige and Skoog medium (1962)
CRD	Completely Randomized Design
LSD	Least Significant Difference
PH	Potenz Hydrogen
HPLC	High- Performance Liquid Chromatography
HOCl	Hypochlorous acid
LED	Light Emitting Diodes
2-4-D	Dichlorophenoxyacetic acid

1-المقدمة:

يحتل نبات العنب مركز الصدارة بين اشجار الفاكهة في الانتاج والمساحة المزروعة ويعزى ذلك لمردوده الاقتصادي الكبير واستمراره في الاثمار لعشرات السنين والقيمة الغذائية العالية لثماره إذ تحتوي على نسبة جيدة من المواد السكرية سريعة الامتصاص مثل سكر الكلوكوز والفركتوز بشكل كبير وكذلك يتميزبمحتواه العالي بالفيتامينات مثل فيتامين C و B كما يحتوى على نسبة جيدة من العناصر المعدنية مثل البوتاسيوم والكالسيوم والصوديوم وكذلك على المركبات الفلافونويدية والفينولية والانثوسيانين والبروسيانيدين ذات القيمة الغذائية والعلاجية (Xi واخرون، 2015).

يعد العنب الاوروبي .*Vitis vinifera* L احد نباتات الفاكهه المتساقطة الاوراق التي تعود للعائلة العنبية *Vitacaceae*والتي تضم 14جنسا واكثرمن 14000نوعا، ينمو في مناطق مختلفة من العالم تحت ظروف بيئية متنوعة بما في ذلك المناطق الاستوائية والمعتدلة الدافئة والمعتدلة الباردة وتقدر المساحة المزروعة بالعنب في العالم بملايين الهكتارات (السعيدي، 2014).

العقاقيرهي المواد التي توجد في النباتات بنسب مخففة وسهلة ويمكن للأجسام التفاعل معها برفق بصورتها الطبيعية والمواد الفعالة فيها تسمى بالمواد الطبيعية والأدوية التي تصنع منها تسمى بالأدوية ذات الأصل النباتي وهذه النباتات تُعرف بالنباتات الطبية ، ونتيجة زيادة عدد سكان العالم وارتقاء الوعي الصحي والعلاجي بين الشعوب ازداد الطلب على النباتات الطبية بصفتها مصدراً آمناً لصناعة العقاقير أفضل من المركبات الكيميائية المصنعة والتي يكون لها في أغلب الأحيان آثارٌ جانبية كثيرة معظمها خطرة وهذا ما برهنته كثير من الحضارات في العالم بالتجارب الميدانية في علاج الكثير من الأمراض بوساطة النباتات الطبية.

عرفت المركبات الفلافونويدية والتي تم دراستها دراسة دقيقة في العنب على انها مركبات عضوية تنحل في الماء تنتمي لفئة متعددات الفينول ذات قوة علاجية ولها مفعول مضاد للاكسدة ومضادة للجذورالحرّة بجرعات معينة، فقد وجد ان لمركب البروانثوسيانين دورا في تعزز مستوى الكولسترول الجيد وخفض الكولسترول السيئ في الجسم مما يقلل من مخاطر الإصابة بأمراض الشرايين التاجية ويحافظ على صحة القلب(Marjan وHossein، 2009)، و مركب الروتين في منع النزيف من الأطراف ومنع تورم الساقين نتيجة لاحتجاز الماء في الجسم، كما أنها تقي من اعتلال الشبكية المصاحب للداء السكري وتقي كذلك من ارتفاع ضغط الدم (Asha وBansal ، 2014)، واستخدمت الفلافونيدات على نطاق واسع في الدول الأوروبية ومنها الهسبردين بشكل خاص في علاج اضطرابات الكبد، كما لعب النارنجنين دوراً في الوقاية من السرطان اذ عمل على تثبط الجذور الحره التي تسبب تلف الحامض النووي DNA وهذا التلف يمكن أن يؤدي إلى الإصابة بالسرطان. كما استخدم الكورستين لعلاج الحساسية والتهاب المفاصل والربو.(Lin واخرون، 2011).

لجأ الباحثون الى توظيف التقانات الحديثة لزيادة انتاج الايض الثانوي من اجزاء النبات المختلفة التي وجدت انها مصدرا جيدا للمنتجات الثانوية(Evansواخرون،2020).ولعل اهم التقانات المستعملة لهذا الغرض هي تقنية الزراعة النسيجية وتشمل مجموعة من التطبيقات العملية مثل الاكثار الدقيق للنباتات وعمليات التربية والتحسين وحفظ المصادر الوراثية والهندسة الوراثية فضلا عن انتاج مركبات الايض الثانوي(Joshiواخرون،2024)، ولهذه الاسباب اتجه البحث العلمي في الوقت الحاضر الى انتاج هذه المركبات الكيميائية الخاصة من الانسجة المزروعة او من الوسط الذي نمت فيه هذه الانسجة وهنا وجد ان انتاج المواد الطبية والعقاقير والمواد الصيدلانية عن طريق استعمال تقانة زراعة الانسجة يتاثر بعوامل عديدة منها طبيعة الجزء النباتي المستعمل في الزراعة ومكونات الوسط الغذائي وظروف حفظ الزروعات ونوع وتركيز منظمات النمو المضافة الى الوسط الغذائي المستعمل وبشكل خاص الاوكسينات والسايتوكانينات التي تعد احد المحاورالتي تعمل على زيادة انقسام الخلايا وبناء البروتينات ونقل المغذيات وتنشيط الانزيمات وبذلك تزيد المجموع الخضري الذي سيعمل على زيادة قدرة النبات على تصنيع اكبر كمية ممكنة من مركبات الايض الاولية التي بدورها تتحول الى انتاج اكبر كمية من مركبات الايض الثانوي فضلاً عن اضافة البادئات للوسط الغذائي للزروعات (Chandran واخرون، 2020) .

يعد الضوء من العوامل المهمة في الحصول على النمو المطلوب للمزارع النسيجية بدلالة تأثيرها في نمو وتطور النبيتات، ومن بين مصادر الاضاءة الكهربائية المستخدمة في الزراعة النسيجية هي المصابيح البيضاء (الفلورسنت) وفي الوقت الحاضر تم اللجوء الى استخدام مصابيح Light Emitting Diodes (LED) في تنمية وانتاج نباتات بستنية تحت مصابيح بيضاء وملونة حمراء وزرقاء وبنسب مختلفة منها في المنشات المحمية وقد لجأ بعض الباحثين الى استخدام هذه المصابيح في غرف النمو الخاصة بزراعة الانسجة (Guptaوآخرون، 2013)، يؤثر الضوء في نمو النباتات وما تحتويه من المواد الفعالة طبياً كماً ونوعاً لما يقوم به من تجهيز الطاقة اللازمة لتثبيت الكاربون في مراحل النمو والتطور جميعاً (Dabrowski وآخرون، 2015).

مما تقدم ونظرا للأهمية الاقتصادية للعنب والقيمة الغذائية العالية لثماره وقيمته الطبية فقد هدفت الدراسة الى توظيف تقانة زراعة الانسجة النباتية لاستحثاث مزارع الكالس من اجزاء نباتية مختلفة وذلك بتجهيز الوسط الغذائي بتوليفات مختلفة من منظمات النمو ومن ثم تحفيز مزارع الكالس لزيادة انتاجها من المركبات الايضية المهمة في تصنيع خلايا نباتية خاصة ومنها الفلافونيدات التي تساهم في اعطاء اللون الجذاب والطعم لكثير من الفواكه والخضر وذلك بتعريضها الى مصادر مختلفة من الاضاءة والفنيل الانين والبراسينولايد ومن ثم التقدير النوعي و الكمي للمركبات الايضية باستخدام تقانة الـ HPLC.

2- استعراض المراجع:

2-1- الاسم العلمي لنبات العنب والتصنيف:

وفقا لما جاء به(USDA،2020)فان التصنيف النباتي للعنب الاوروبي هو:

Kingdom:-Plantae

SubKingdom:-Tracheobionta

Division:-Magnoliophyta

Class:-Magnoliopsida

Family:-Vitaceae

Genus:-Vitis

Species:-Vinifera

Cuitivar:-Vitis Vinifera

2-2- نشأة العنب والموطن الاصلي:

عرف البشر العنب منذ بزوغ التاريخ وروي في اخبار الصين والهند وقد وجدت اثار قديمة منه جدا في البرتغال والولايات المتحدة الامريكية، زرعت اشجار العنب *Vitis vinifera* L. في ايام قدماء المصرين وفي حدائق بابل المعلقة وورد ذكر العنب في التوراة والانجيل وذكر اسم العنب في القران الكريم عشر مرات .تعد شجرة العنب الاكثر انتشارا بين اشجار الفواكه في العالم وخاصة من الناحية الاقتصادية وخلاف لغيرها من اشجار الفاكهة فهي تمتلك استخدامات متعددة ولهذا السبب ومنذ الاف السنين شكلت جزءا من ثقافة الانسان ووصفت بانها احد الفواكه الثلاثة بالإضافة الى الرطب والتين التي تعد من ملوك الفاكهة بالإضافة الوظائف المتنوعة ويعتقد ان حوض البحر الابيض المتوسط واوربا الوسطى وجنوب غرب اسيا والمغرب وشمال البرتغال الى جنوب المانيا وشمال شرق ايران الواقعة حول بحر قزوين بين اسيا واوربا وبالتحديد في المنطقة الواقعة بين جنوب البحر الاسود وبحر قوقاز في اسيا الصغرى وهي الموطن الاصلي للعنب الاوربي ومن هناك نقل شرقا الى اسيا وغربا الى اوربا وافريقيا. بدأت زراعة العنب في وسط اسيا في المنطقة الواقعة بين جنوب البحر الأسود وبحر قزوين وهذه المنطقة اتفق عليها معظم علماء النبات بأنها منشأ العنب الأوربي *Vitis vinifera* L. ومنه نشأت جميع أصناف العنب قبل اكتشاف قارة أمريكا الشمالية ثم انتشرت زراعته في الشرق والغرب (Seyedi واخرون،2013)، ويرجع تاريخ زراعة العنب في العراق الى عام 2440

سنة قبل الميلاد اي عندما استوطن الانسان في وادي الرافدين وخير دليل على ذلك ما وجد في مسلة حمورابي التي تنظم الزراعة وبيع النبيذ (راشد، 2020).

2-3-الوصف النباتي لنبات العنب:

العنب الاوروبي .*Vitis vinifera* L من النباتات المعمرة المتسلقة اذ يتميز بساق رئيس متغير حسب الاصناف سريع النمو يحمل الفروع الرئيسة (القصبات والاغصان) (Wolkovichوآخرون، 2017)،الاوراق متساقطة وتظهر مباشره بعد تفتح البراعم التي تكون بسيطة راحيه الشكل مفصصه الى ثلاثة او خمسة فصوص وتكون متبادلة على الافرع ، شكلها العام يكون شبه دائري او قلبي او ذو خمسة اضلاع يتدرج لونها من الاخضر الفاتح الى الداكن وتخرج الاوراق من العقد وتحتوي في آباطها البراعم وتحمل الافرع عناقيد من الازهار الصغيرة خضراء اللون والتي تتطور الى ثمار من نوع عنبةBerryمختلفة الألوان بحسب الاصناف قدتتكون داخلها بذور وبعض الاصناف تكون عديمة البذور(Creasyو Creasy، 2015، keller ;2018)

2-4- مميزات الصنف الحلواني:

يعد الصنف حلواني Halawaniمن اصناف العنب المهمة التي تعود الى العنب الاوروبي المنتشرة في العراق وبلاد الشام ويسمى ايضا تفيفيحي او عنب الوادي او حلواني لبنانوهو من اصناف المائدة الفاخرة في الانتاج الزراعي ومتأخرة في النضج ويحتل مكانة مهمة في الاسواق العراقية والعربية ويتصف بعناقيده المخروطية الشكل تقريبا والمتطاولة ذات الكتف الواحد وتكون كبيره او كبيره جدا،والحبات كروية الشكل حمراء اللون ضاربة الى الارجواني الغامق او البنفسجي احيانا عند تعرضها لضوء الشمس، وتكون الحبات كبيره الحجم جذابة الشكل ذات قشرة رقيقة ولبا لحميا قاضما، والبذور صغيرة الحجم عددها 4-2بذرة في الحبة، الاوراق خماسية التفصص وبصورة عميقة جدا، متأخر النضج ويعد من اجود اصناف عنب المائدة(السعيدي ،2000).

2-5-الاهمية الغذائية والطبية للعنب:

يكاد يكون عسيراً علينا ان نحصي كل فوائد العنب وخصائصه ، فبعض علماء التغذية يوازونه بالحليب وبعضهم يذهب للتأكيد بان في العنب خصائص لا توجد في الحليب ، وكيفما كان الحال فمن الثابت ان العنب من أغنى الفواكه فائدة ومردوداً وان له دوراً فعالاً في بناء الجسم فيعده البعض عاملاً مساعداً للنمو والمحافظة على أحسن نشاط لأغلفة مختلف الأعضاء كالكبد والمعدة أو لمختلف الوظائف كالنظر والهضم (Oprinescuوآخرون، 2020)، ومن حيث المعادن فالعنب يحتوي على مقدار عال من البوتاسيوم ، فضلاً عن عناصر الكالسيوم والفسفور والمغنيسيوم والحديد والصوديوم والمنغنيز،لذا أعطي العنب قيمة ملح متعدد المعادن سكري لأن وجود هذه المعادن ينشط التأين ومن ثم يزيد من النشاط البايولوجي لهذه المكونات(Ibrahimو Zaki، 2019) .

يتعدى اهميه العنب على كونه ماده غذائية بل يستعمل في الاغراض الطبية اذ تم تحديد العديد من المركبات الثانوية فيه اذ تحتوي حبات العنب على كميه كبيره من المركبات الفينوليه ومشتقاتها (Zhou واخرون ،2022)، وتعد المركبات الفلافونيدية هي القسم الاكبر من هذه المركبات في الاصناف الحمراء والسوداء والتي تشمل الانثوسيانينات والفلافونول ومركبات فينولية غير فلافونيديه مثل الاحماض الفينولية(Modesto،2021)،وقد ذكرالبعض امكانية استخدام الثمار وعصيرها ومستخلص البذور كمضادات للأكسدة(Kisacaوآخرون،2023)،كما اشارت العديد من الدراساتان وجود المركبات الفعالة في اغلب اجزاء العنب تقريبا قد اظهرت العديد من الانشطة الحيوية المضادة للاكسدة والميكروبات والسمنة ومرض السكر والامراض العصبية ومنشط لخلايا مخ الانسان وعضلات القلب والعين(Jadidianوآخرون، 2024).

اثبتت العديد من الدراسات ان الغذاء الذي يتضمن نسبه عالية من الفاكهة بما فيها العنب يحمي الانسان من الاصابة بالأمراض التي تسبب نسبة وفيات عالية مثل السرطان وامراض القلب اذ يثبط تكوين الورم Tumerويعمل على ايقاف تلف الحامض النووي DNAوانتقال الخلايا الى الحالة السرطانية لان كل اصناف الأعناب ا لطازجة تتميز باحتوائها على مركب Resveratrol وهو احد المركبات الفينولية المهمة طبيا يظهر بقوة نشاطا وقائيا ومضادا للاورام كما يحتوي على نسبة عالية من حامض الاسكوربيك والريتينول والفسفور وحامض الكافيك التي تعد عامل قوي لمكافحة السرطان، (Hussainوآخرون،2021).

يخفض الحموضة وخصوصا الناتجة عن عسر او سوء الهضم حيث يحتوي العنب على العديد من الاحماض الطبيعية ذات تاثير قاعدي التي تعادل الحموضة والحوامض العضوية الموجودة في العنب هي الماليك والتارتاريك والستريك وبعض الأحماض الأمينية مثل البرولين(Han وآخرون ،2020) .

يحتوي العنب على الاحماض الدهنية بشكل رئيسي وهي اللينوليك والاوليك والبالمتيك وعلى نسبة منخفضة من الدهون والكوليسترول والصوديوم، كما تعد البذور مصدرا جيد للاحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة (Fernandes وآخرون ،2013).

يعد العنب غذاءً سريع الهضم وله قيمة غذائية عالية كبيرة وله فوائد كبيرة في الوقاية والعلاج على السواء لذا يوصى بتناوله للمرضى المصابين بأمراض الكلى إذ له تأثير مدرر ويؤدي الى تقليل الألبومين (الزلال) وكلوريد الصوديوم من الجسم، وهو يوصف في حالات انحباس البول والتهابات المجاري البولية والرمل والتهاب المثانة ومذيب للحصى ، وان التأثير المدرر للعنب يعود الى احتوائه على نسبة عالية من أملاح البوتاسيوم إذ محتوى العنب الملون منها اكثر من غير الملون وبسبب التأثير المدرر للبول واحتوائه على الكلوكوز يكون ذا تأثير منشط مهم للألياف القلبية الوسطى والعضلات ، كما انه يعد منقياً للدم لأنه يسرع من تبادل الأوكسجين في الرئتين فضلاً عن انه يؤثر في الجهاز الوعائي (DuوZhu ، 2020) ،كما استعمل في علاج التهاب المفاصل والروماتزم الحاد وذلك لأن عصير العنب يحوي على مواد تنتج في الدم مواد قاعدية التأثير تعمل على اذابة بلورات الحامض البولي والتخلص منها عن طريق البول ومن ثم يحدث تجديد حقيقي للجسم (Turki واخرون،2016)، وبسبب احتوائه على السليلوز فقد وجد للعنب تأثير ملين ومسهل طبيعي وهاضماً جيداً للطعام لذا يوصى للمصابين بالامساك وتعفن الأمعاء واصلاح التوازن بين نوعين من العمليات البايوكيميائية التخمرية – التعفنية. أما في حالات الاسهال فيستعمل مغلي هيكل العنقود وخاصة الأصناف الحمراء الغنية بالتانين ، أما في حالات الامساك فتستعمل الأصناف الغنية بالبوتاسيوم التي لها خواص ملينة ، كما يستعمل في حالات البواسير و قرحة المعدة فضلاً عن كونه ينشط وظائف الكبد ويستعمل بنجاح في التهابات واضطرابات الكبد والطحال واليرقان وذلك لأن السكريات الموجودة فيه لها دور في وقاية خلايا الكبد وللبوتاسيوم وللفوسفور دور إذ يؤثران على تكوين الكلايكوجين في الكبد وكذلك بسب وجود فيتامين Myo-Inositolالذي يعيق ترسب الشحوم على الكبد وبوساطة المغنيسيوم يتم الحصول على تأثير مفرغ للصفراء (جمال الدين،2010).

يوجد في عصير العنب مادة (Resveratrol) ذات تأثير مشابه للأنسولين الذي تفرزه البنكرياس في جسم الإنسان وتقوم بنفس عمل الأنسولين وبسبب احتواء العنب على الفركتوز الذي يكون تمثيله مستقلاً عن الأنسولين كما يوصى للمصابين بالسكر باستعمال العنب ذي المحتوى المرتفع من الحوامض العضوية والأملاح المعدنية التي لها تأثير قلوي والأصناف ذات المحتوى المرتفع من الفركتوز ويكون الاستهلاك عند النضج التام (السعيدي ،2000)، وبسبب احتواء العنب على فيتامين A وB6 والنياسين والبايوتين فانه يستعمل لعلاج التهاب القصبات والرئتين ويشفي الالتهابات المخاطية التنفسية ولعلاج السعال التشنجي والنزلات الشديدة ويستعمل لعلاج احتقان الرئتين ولعلاج المصابين بمرض السل، كما انه يعد منشطاً للأعصاب ونافعاً في حالات الإرهاق والوهن أو ضعف الحيوية أو الإنهاك وذلك بسبب احتوائه على الكربوهيدرات (الكلوكوز والفركتوز) والثيامين والكولين والرايبوفلافين والنياسين (Buljeta،2023).

لقد بينت الدراسات الحديثة ان الاشخاص الذين يتناولون كميات مرتفعة من ثمار العنب والخضروات تقل لديهم مخاطر معظم سرطانات الإنسان وذلك لأن العناصر الصغرى و المركبات الفينولية فيها ربما تؤدي

دوراً مهماً في الوقاية من سرطان الرئة و سرطان القولون وحامض الفوليك في العنب له دور واقٍ من سرطان الثدي (Abebe ،2017).

6-2 -الأيض في النبات:

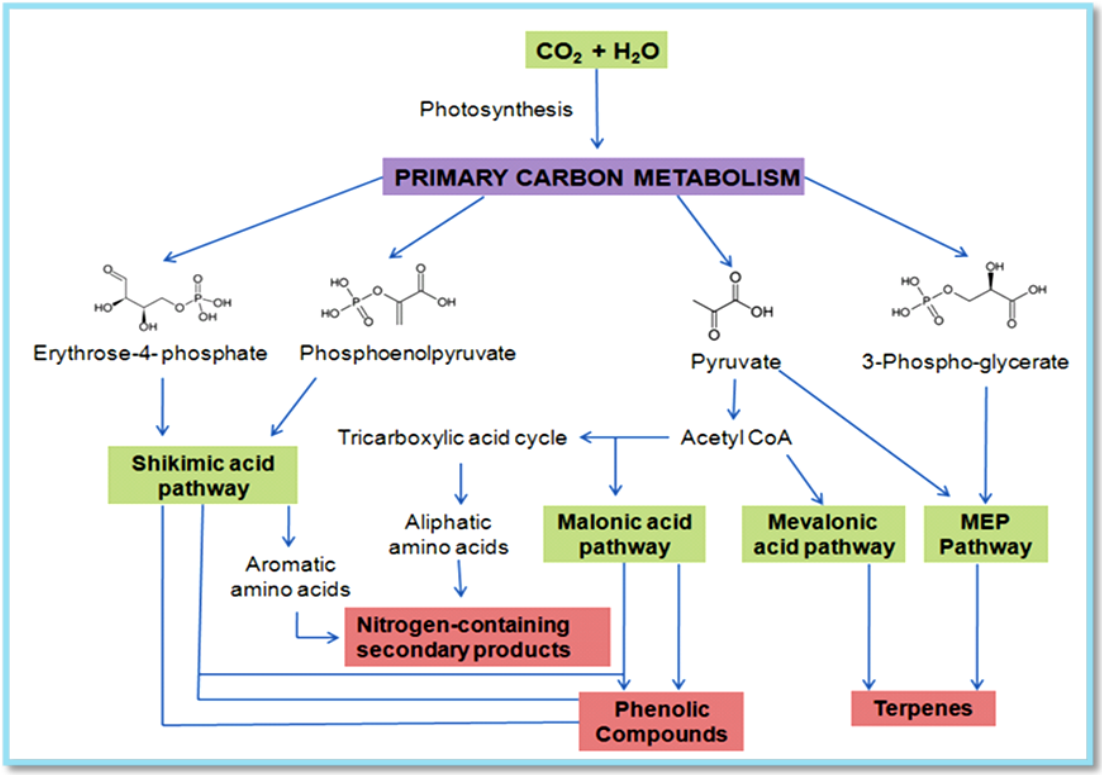
ويقصد بها جميع التغيرات الكيميائية التي تحدث داخل الخلايا الحية سواء كانت عمليات بناء أو هدم، تتضمن عمليات الايض البنائي تكوين مواد عضوية معقدة من مواد بسيطة، في حين يتم هدم المركبات العضوية وتحويلها إلى مواد ابسط أثناء الايض الهدمي((Catabolism(Irchhaiyaوآخرون، 2015) . هناك نوعان من مركبات الايض التي ينتجها النبات يسمى النوع الأول مركبات الايض الأولي (Primary metabolites compounds)التي تُعد ضرورية لنمو النبات وتكاثره لانها تشارك بشكل مباشر في عمليات الخلايا الحية، أما النوع الآخر فيطلق عليه مركبات الايض الثانوي (Secondary metabolites compounds) والتي تعرف على انها مركبات عضوية معقدة تقوم بوظائف غير مباشرة في نمو النبات ومنها جاءت التسمية بمركبات الايض الثانوي او المركبات الكيميائية النباتية تشارك في الدفاع عن النبات ومقاومته، ذكر(ابراهيم،2017) ان نواتج الايض الثانوي تصنع في خلايا نباتية خاصة وعند مراحل تطورية معينة وبكميات قليلة جاعلة عملية استخلاصها وتنقيتها صعبة مقارنة بنواتج الايض الاولي التي تصنع في جميع اجزاء النبات او احد اعضائه.

لايعرف دور هذه المركبات في حياة النبات لكن يعتقد انها مواد تنتج كوسيلة دفاعية لحماية النبات من المؤثرات الخارجية،حيث تمتلك مجموعة متنوعة من القدرات البيولوجية التي يمكن استخدامها كعوامل منكهة، مضافات غذائية، مكافحة امراض النبات، تعزيز دفاعات النبات ضد الحيوانات العاشبة بالاضافة الى ذلك يمكن ان تساعدالخلايا النباتية على التكيف بشكل افضل مع الاستجابة للاجهاد الفسيولوجي(Elshafieو Mohamed،2023)، ويمكن ان يستفيد منها النبات بوصفها مواد خازنة للنتروجين او الكاربون او عناصر اخرى مهمة لتزويد النبات عند الحاجة بأي عنصر من هذه العناصر (Rajو Saudagar،2019).

تختلف مركبات الايض الثانوي في تركيبها الكيميائي على الرغم من انها قد تكون ذات منشأ واحد(مركب وسطي واحد) وعلى هذا الاساس صنفت بالاعتماد على خصائصها الكيميائية وصفاتها الطبيعية الى القلويدات والكلايكوسيدات والفينولات وغيرها (Delgodaو Murray، 2017).

تركز اهتمام الأبحاث على النباتات الحاوية على النواتج الأيضية المختلفة والمعروفة بفعاليتها البايولوجية وتأثيرها العلاجي والحاوية على نسبة قليلة من الدهونHypolipidemic ومضادات للمسببات المرضية Antimicrobial ومضادات للأورام Antitumer التي لها فائدة في علاج الكثير من الأمراض منها الأمراض الوعائية القلبية Cardiovascular disease والسرطان Canserكما تمتلك فائدة عملية فيما يتعلق بكونها متيسرة ومناسبة للاستعمال المباشر وكذلك قلة الآثار الجانبية أو الأعراض الضارة التي تحدث

دائماً مع الأدوية المصنعة، وهذا ربما يعود إلى التراكيز الواطئة للمركبات الأيضيـة الثانوية الموجـودة أصلاً بالنبات والتي يحتاجها جسم الإنسان (Seca و Pinto، 2018).



الشكل (1)بناء الانواع الرئيسة لمركبات الايض الثانوية من مركبات الايض الاولي (Taizو Zeiger، 2010) .

7-2 -التركيب الكيميائي للمركبات الفينولية:

تعد المركبات الفينولية أحد مجاميع الكلاكوسيدات ، فعند ارتباط السكر مع مجموعة غير كربوهيدراتية فان المركب الناتج يسمى كلايكوسيد Glycoside. وتشكل الكلايكوسيدات جزءاً مهماً من المواد الفعالة في النباتات الطبية ، وربما تغطي النباتات الحاوية على كلايكوسيدات معظم أنواع التأثيرات الفسيولوجية المختلفة المعروفة ، وهي مركبات عضوية تتحلل بوساطة الأحماض وبفعل انزيمات خاصة وينتج عن تحللها نوع أو أكثر من السكريات احدهما على الأقل سكر مختزل ومادة أو أكثر من المواد غير السكرية (kandar ، 2021)، والجزء السكري يسمى glycon وفي النبات غالبًا مايكون β-glycon أما الجزء غير السكري فيسمى aglycon أو Genin وهو يختلف اختلافاً بيناً في تركيبه الكيميائي من نبات الى آخر ومن كلايكوسيد الى آخر وعلى الرغم من وجود اختلافات كبيرة في الجزء غير السكري في الكلايكوسيدات مما يجعلها تختلف في كثير من الصفات إلاّ ان مجموعة الكلايكوسيدات تجمعها بعض الصفات العامة ومن أهمها:-

1- انها مركبات صلبة متبلورة أو غير متبلورة عديمة اللون.

2- تذوب عموماً في الماء والكحول ولا تذوب في الايثر وان كان بعضها يذوب في بعض المذيبات العضوية الأخرى مثل الاسيتون والكلوروفورم .

3- غير قابلة للتطاير

4- مرة الطعم

5- دورانها الضوئي سالب

6- تتحلل في النبات بفعل انزيمات خاصة ويوجد الانزيم والكلايكوسيد الذي يؤثر فيه في النبات نفسه ولكن في خلايا منفصلة عن بعضها .

وعندما يطحن النبات بوجود الماء يختلط الانزيم مع الكلايكوسيد وينتج عن تفاعلهما تحلل الكلايكوسيد وتوجد الكلايكوسيدات أما على شكل ألفا alpha أو بيتا beta على أساس طريق ارتباط الجزء السكري بالجزء غير السكري، وقد وجد ان جميع الكلايكوسيدات الطبيعية الموجودة في النباتات تكون على شكل بيتا فقط (Taizو Zeiger،2010).

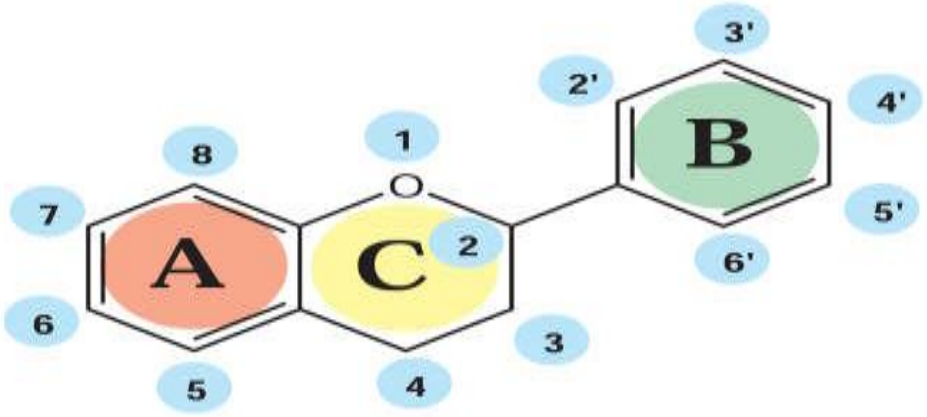
يرجع التأثير الفسيولوجي للكلايكوسيدات أساساً الى الجزء غير السكري الاكليكون aglycon في جزيء الكلايكوسيد ، إلاّ ان وجود الجزء السكري في التركيب الكلايكوسيدي هو الذي يسهل اذابة وانتشار الكلايكوسيد والمحافظة على ثباته ، أي هو الذي يحمل الجزء غير السكري الى المكان الذي يؤثر فيه في جسم الإنسان. فاذا أخذ الكلايكوسيد عن طريق الفم فوظيفة السكر هي اذابة وحمل الجزء غير السكري الى العضو الذي سيؤثر فيه في جسم الإنسان وبتحلل الكلايكوسيد وانفصال السكر منه تبدأ فاعليته وتأثيره الفسيولوجي في جسم الإنسان (Zeng واخرون ، 2022).

وتقسم الكلايكوسيدات الى عدة مجاميع اعتماداً على التركيب الكيميائي للجزء غير السكري الى:

1. مجموعة المنشطات القلبية Cardioactive glycoside.
2. مجموعة الانثراكينون Anthraquinon.
3. مجموعة الصابونين Saponin Glycoside.
4. مجموعة الفلافونويدات Flavonoids.
5. مجموعة الالديهايد Aldehyde.
6. مجموعة الفينول Phenol.
7. مجموعة الكحول Alchol.
8. مجموعة السيانوفور Cyanaphore.
9. مجموعة الايزوثيوسيانات Isothiocyanate.
10. مجموعة اللاكتون Lactone group.

2-7-1-الفلافونويداتFlavonoids:

هي نواتج ايض ثانوية متعددة الفينول توجد في الأغذية النباتية بدرجة واسعة كالأبصال الحمراء والصفراء ومعظم الحمضيات مثل البرتقال والليمون والكريب فروت ، وتوجد في التفاح والفاصوليا والعنب والأجاص وفول الصويا وغيرها، لها فوائد صحية متعددة وتسهم في إعطاء اللون الجذاب والطعم لكثير من الفواكه والخضر وتأخذ التركيب الكيميائي العام الآتي(Ciumărnean واخرون، 2020):



الشكل (2) التركيب الكيميائي العام للفلافونويدات

الذي تشتق منه العديد من المركبات الفلافونويدية وقد بلغ العدد الفعلي لهذه المركبات في الوقت الحاضر نحو (5000) خمسة آلاف مركب وتختلف فيما بينها من حيث عدد مجاميع الهيدروكسيل OH ومواقعها على الجزيئة فضلاً عن تكون مجاميع الميثوكسيل في المواقع المختلفة والارتباط بالسكريات الاحادية أو الاوليجو وهي السكريات المتعددة قصيرة السلسلة وحدوث عملية الاسيلة (Acylation)وهي نوع من التفاعلات الكيميائية والتي تعني اضافة الاستيل للمركب ،واعادة الترتيب (Rearrangement) وهذا يؤدي الى تعدد وتنوع هذه المركبات،إذ يوجد أكثرمن140مركباً مشتقاً من الكورستين Quercetin فقط(Taoواخرون، 2024).

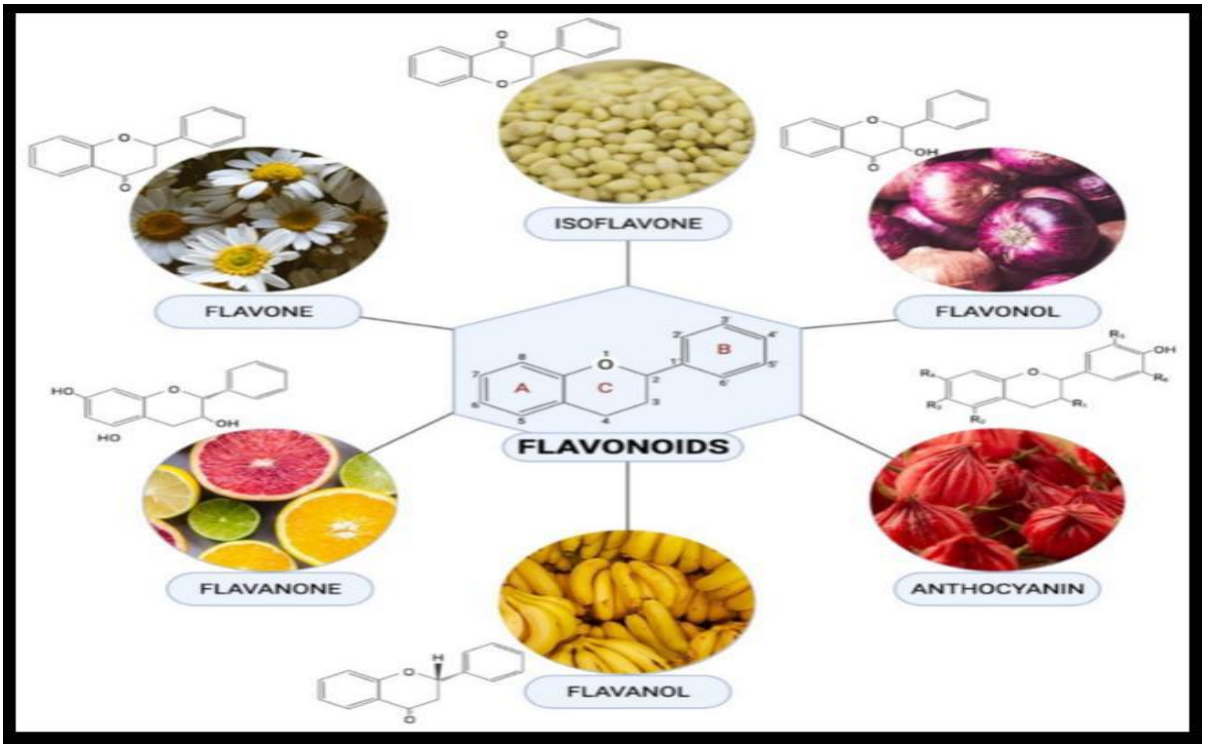
ان الجزء غير السكري في كلايكوسيد الفلافونويد يتكون أساساً من مركب flavonoid ومشتقاته وهو Benzopyron المعروف باسم Coumarin الذي يعطي اللون ومعظم ان لم يكن كل المواد الملونة الحمراء والصفراء والبنفسجية والزرقاء الموجودة في النبات تعود الى هذه المجموعة ومعظم كلايكوسيدات هذه المجموعة تذوب في الماء ولذلك فانها تلون العصارة النباتية في الخلية بألوانها، والصيغة العامة للفلافونويد هي $C_6C_3C_6$ والتي هي عبارة عن حلقتين اروماتية مرتبطة مع بعضهابثلاث وحدات من الكاربون وتوجد الفلافونويدات في فجوات الخلايا أو في الكلوروبلاست أو الكروموبلاست طبقاً الى موقع الأكسدة على وحدة

C_3 في الجزيئة، ان الاكليكونات الحرة موجودة في الأنسجة الخشبية الميتة والتي تكونت من الفلافونويدات خلال التحلل الانزيمي (Enzymic HydrolysisChen واخرون، 2023).

وتختلف أفراد هذه المجموعة في تأثيرها الفسيولوجي، حيث تعمل كمرشحات تحمي النباتات من الاضرار الناتجة من الاشعة فوق البنفسجية وتعمل كجزيئات اشارة ومركبات دفاعية ضد الميكروبات وتعمل كمخالب للمعادن الثقيلة السامة إلى جانب قدرتها على تعديل وظائف الإنزيمات الخلوية الرئيسة(Ciumărnean واخرون، 2020).

يرتبط وجود الفلافونويدات بالعديد من الأمراض والفوائد المعززة للصحة، كما أنها عنصر أساسي في العديد من الاستخدامات الصيدلانية والتجميلية والطبية والغذائية وتمتلك خصائص مضادة للأكسدة بسبب تركيبها البوليفينوليك (polyphenolic structuer) ومضادة للميكروبات والالتهابات ومرض السكر والشيخوخة ومضادة للسرطان وواقي لامراض القلب كذلك واقي من مرض الزهايمر وتخفيف الالم والتورمات والكدمات (Tariqوآخرون، 2023). تعمل الفلافونويدات مع فيتامين ج على حماية الشعيرات الدموية وتنشيط الدوره الدموية وانتاج الصفراء وتخفيض مستويات الكولسترول وتقي من اعراض الربو وتعالجها وتقي من ارتفاع ضغط الدم وامراض القلب بانواعها (Taoوآخرون، 2024).

تقسم الفلافونيدات حسب الاختلافات الهيكلية نتيجة الارتباط وبسبب هذه الهياكل تختلف انشطتها البايولوجية بشكل كبير phytoalexins, flavonols, flavones, flavanones, isoflavonoids, anthocyanins, chalcones and proanthocyanidins (Liga وآخرون، 2023) كما في الشكل (4) ويعتمد التصنيف على نمط حلقة البيرين المركزية غير المتجانسة في قلب هيكل الفلافون وتكون عادة بشكل حر اكلايكون او ترتبط بالسكر (Shamsudin واخرون، 2022).



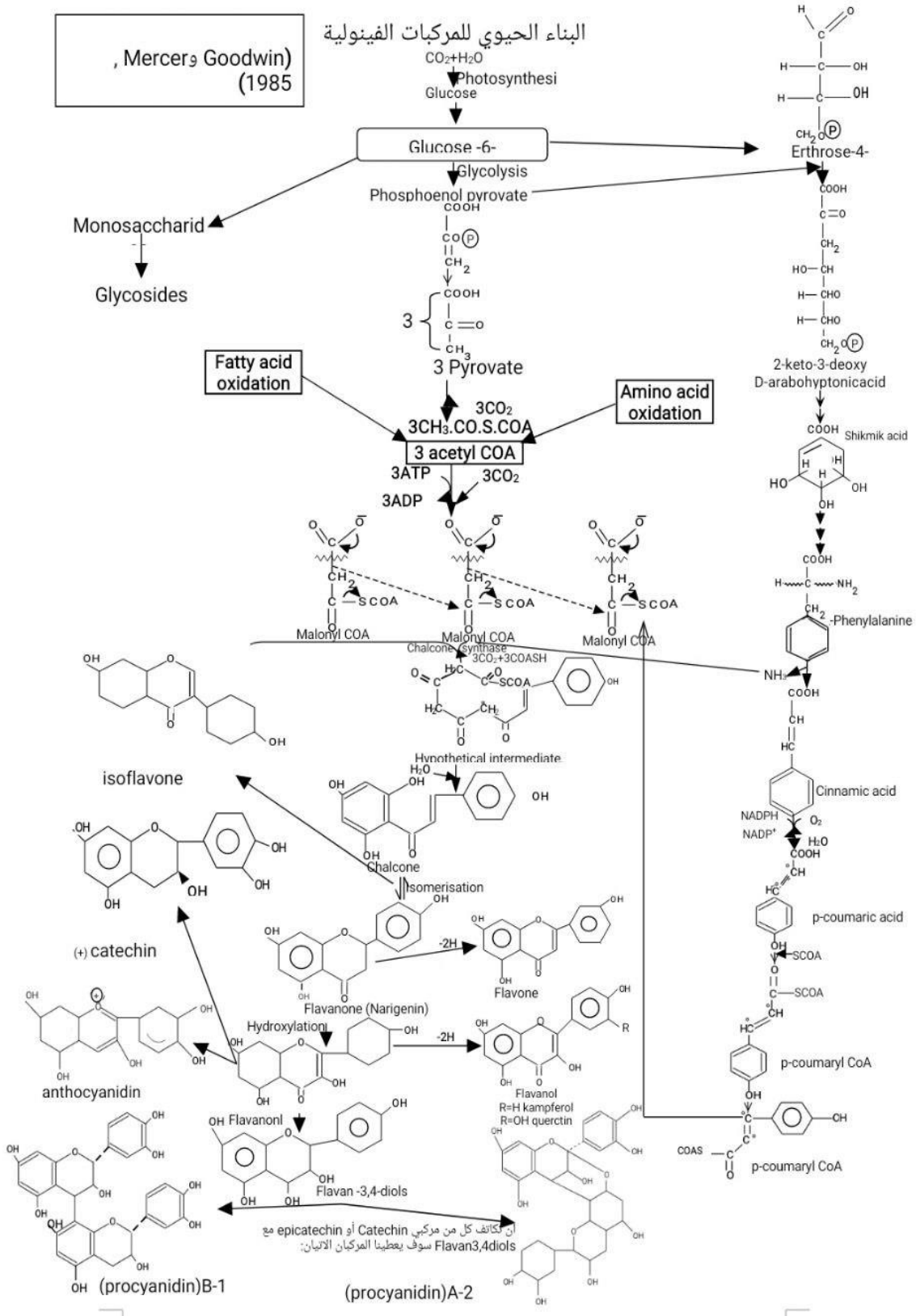
الشكل (3)انواع الفلافونيدات في بعض النباتات واغذية الانسان

2-8البناء الحيوي للمركبات الفينولية :

لوحظ اشتراك عدد من المركبات الوسطية Intermediats الناتجة من عملية التنفس في تكوين المركبات الفينولية على اختلافها مثل phosphoenolpyrovate (PEP) المتكون اثناء عملية GlycolysisوكذلكErythrose-4-phosphateالمتكون من عملية التركيب الضوئي والـ pentose phosphate pathway فضلاً عن الـ Acetyl CoA المتكون اثناء عملية التنفس أو β Lipid oxidation (كاظم، 1985)، هذا ويعتقد وجود بعض الممرات الحيوية لتكوين المركبات الفينولية منها وفق ما ذكر في Goodwin وMercer (1985)وموضح في الشكل (5):

1- Shikmik acid pathway وفيه يتحد Erthrose-4-phosphate مع Phospho enol Pyrovate إذ يتكون مركب ذو سبع ذرات كربونية بشكل حلقة وبعد عدة تفاعلات يتكون مركب اكثر ثباتاً يسمى shikmik acid. وقد يتحول بعد تفاعلات اخرى الى عدد من المركبات الفينولية مثل Tyrosine و phenylalanine وTryptophan او مشتقاتها مثل Caffeic acid وFerulic acid وCoumarin.

2- يعد الـ Acetyl CoA الناتج عن تفاعلات التنفس أو اكسدة الزيوت بعملية B.oxidation الوحدات الرئيسة الداخلة في تكوين المركبات الفينولية.



الشكل (4) البناء الحيوي للمركبات الفينولي

2-9- تقنية زراعة الانسجة النباتية:

ان مفهوم زراعة الأنسجة النباتية Plant Tissue Culture يعني جميع التقنيّات المتضمنة عزل وغسل وتعقيم خلية ، نسيج أو عضو من أعضاء النبات الأم تحت ظروف معقمة ، وزراعتها في أوساط غذائية إصطناعيه معقمة ، ومن ثم تحضين الجزء المزروع في ظروف مسيطر عليها من درجة الحرارة والضوء والرطوبة لكي يتطور باتجاه الهدف المطلوب(Bayraktar واخرون، 2018). كما يعرفها البعض الآخر بأنها الزراعة المعقمة للخلايا آو الأنسجة آو الأعضاء ومكوناتها تحت ظروف كيميائية وفيزيائية معينة خارج الجسم الحي(Kayaو Huyop ،2020).

زادت أهمية هذه التقنية على مدى العقدين الماضيين بوصفها إحدى أهم الوسائل المستخدمة في تكثير النباتات وتحسينها كماً ونوعا (Zhouوآخرون ،2023).دخلت تقنية زراعة الأنسجة النباتية في مجال العلوم البايولوجية والزراعية المختلفة من أوسع أبوابها وأصبح لها دور مهم في مجالات مختلفة كالاكثار الدقيق للنبات ودراسة الصفات الوراثية وتحسين النباتودراسة فسيولوجيا الخلايا النباتية والحصول على المواد الثانوية وإنتاج النباتات الخالية من الأمراض الفيروسية والبكتيريّة إلى جانب حفظ المصادر الوراثية (Arvas وآخرون ، 2018).

2-10- منظمات النمو النباتية:

هي عبارة عن مجموعة المركبات العضوية غير الغذائية والفيتامينات وتشمل المركبات التي تنتج طبيعيا في النبات (الهرمونات النباتية) وكذلك تشمل المركبات المشابهه التي تصنع خارج النبات في المختبرات أو من قبل شركات المواد الكيمياوية المتخصصة والتي يطلق عليها منظمات النمو النباتية الصناعية(Synthetic Plant Growth Regulators) والتي تكون بتراكيز منخفضة جداً و تسبب تغيير في النمواما تحفز أو تثبط أو تحور في العمليات الحيوية والفسيولوجية والشكلية الضرورية لنمو وتطور وإنتاج النبات ، وان الزراعة خارج الجسم الحي تكاد تكونمستحيلة من دون منظمات النمو اذ تؤدي دوراً أساسياً في تحديد مسار تطور الخلايا والأنسجة النباتية في الوسط الزراعي (الخفاجي، 2014). يعتمد نوع وتركيز الهرمونات المستخدمة بشكل أساس على نوع النبات والنسيج أو العضو النباتي المستعمل والهدف من عملية زراعته(Kumar وReddy،2011).حيث تعمل هذه المواد على تنظيم العمليات الفسيولوجيةبما في ذلك الخلايا النباتية وتمايز الانسجة ونمو الاعضاء بالاضافه الى وظائف اخرى مثل الازهاروانبات البذوروالسكون وتحسين عقد الثمار وتقليل تساقطها ونوعيتها (Bons وKaur، 2020).

توجد عدة أنواع من منظمات نمو النبات هي الأوكسينات والسايتوكاينينات والجبريلينات والإثيلين وحامض الأبسيسيك والبراسينوستيرويدات واكثرها استعمالاً في تقانة زراعة الأنسجة النباتية هي الثلاثة

الاولى(Oseni وآخرون، 2018)وفي الآونة الأخيرة تم إضافة ثلاث مجموعات اليها هي متعدد الأمين Polyamine وحامض السالسيليك Salicylic acidوحامض الجاسمونك Jasmonic acid (Hayatو Ahmed،2007).

2-10- 1- تأثير الاوكسينات والسايتوكانينات على استحثاث الكالس:

يُعرّف الكالس بأنه كتلة غير منتظمة من خلايا غير متمايزة والتي تنشأ عادة بشكل طبيعي في مناطق الجروح في النبات ، أو يتم استحثاثها صناعياً بظروف الزراعة خارج الجسم الحي ، و يعتمد إنتاج الكالس ونموه على الجزء النباتي المستخدم والوسط الغذائي، واعتماداً على مكونات الوسط الغذائي والجزء النباتي المزروع يتم الحصول على مظاهر مختلفة للكالس، فقد يكون صلب أو هش القوام وأحياناً يبدو الكالس ذو لون أصفر أو أبيض أو أخضر أو بني اعتماداً على نوع النبات المستخدم في استحثاثه فضلا عن أن للصنف النبات تأثير في إنتاج الكالس (Ptakوآخرون، 2013)، ويمكن تقسيم مسار نشوء الكالس من قطعة نسيج نباتي على وسط غذائي إلى ثلاث مراحل هي التحفيز والانقسام والتمايز،تحدث في مرحلة التحفيز تغيرات هامة في الخلايا لتكون مهيأة لعملية الانقسام مثل بناء البروتينات والـ DNAوتشهد المرحلة الثانية انقسام الخلايا بصورة متتالية وتكوين كتلة من خلايا الكالس تغطي الجزء النباتيتليها مرحلة التمايز من خلال توسع خلايا مرستيمية معينة وتمايزها بشرط توفر عوامل النمو المناسبة (الصالحي والصميدعي ، 2014).

الأوكسينات عبارة عن حوامض عضوية ذات أوزان جزيئية عالية لها القابلية في التأثير على العمليات الحيوية داخل النبات وبتراكيز قليلة جداً. ويعدُّ الأوكسين Indole acetic acid (IAA) من أولى الهرمونات النباتية التي تم اكتشافها، والبعض الآخر عبارة عن مركبات تصنع مختبرياً وتؤدي نفس فعل الأوكسين الطبيعي منهاIndole Butyric Acid (IBA) و 2,4- Dichlorophenoxy (2,4-D) acetic acid وNaphthalene acetic acid(NAA) (الاسدي والخيكاني،2019)، تؤثر الأوكسينات في تحفيز استطالة الأنسجة والأعضاء النباتية، وإنها تلعب دوراً في تحفيز الانقسام الخلوي ولاسيما في الأنسجة المرستيمية خلال نشوء الكالس، ومن جانب آخر فقد يكون لنوع الأوكسين تأثير في سلوك الكالس حيث يؤدي إلى إحداث تغيرات كروموسومية للأنسجة خلال مراحل نمو وأنقسام خلايا الكالس إذ آن مواقع فعل الأوكسين هي الحوامض النووية والجدار الخلوي والغشاء البلازمي(Roychoudhryو Kepinski,2022).

كما أن للأوكسينات أهمية في تحفيز ليونة الجدار الخلوي وذلك اثناء كسر روابط الجدار الخلوي وإعادتها إلى مواقع جديدة تحت تأثير الضغط الانتفاخي مما يساهم في زيادة حجم الخلية وأتساعها،فضلاً عن أن الأوكسينات قد تؤثر في الأنزيمات المسؤولة عن بناء مكونات الجدار الخلوي وتحللها ومن ثم التأثير في الخصائص الميكانيكية للجدار(الخفاجي، 2014).

اما السايتوكانينات فهي عبارة عن قواعد عضوية ذات أوزان جزيئية عالية تستخدم بتراكيز واطئة لإحداث تأثيرات فسلجية على الجزء النباتي المزروع (Hluskaوآخرون،2021)وهي مواد منشطة لعملية الانقسام في الخلايا ومساعدتها على التكشف وبالموازنة مع الأوكسينات فأنها تساعد في استحثاث الكالس ونموه وتزيد من قابليته على التمايزإلى نموات خضرية. يوجد نوعان من السايتوكانينات هي الطبيعية مثل الـ Zeatin وأخرى تحضر صناعياً مثل Benzyl Adenine (BA) تؤدي دوراً كبيراً في تحفيز الخلايا على الانقسام وكسر السيادة القمية للأفرع مما يساعد على تكوين الأفرع من البراعم الابطية وتشجع تكوين البراعم العرضية من أنسجة الكالس والأوراق والجذور (Mohamadوآخرون، 2022)،ولأهمية هذه المركبات فقد أكد الباحثون على ضرورة إضافتها إلى الأوساط الغذائية بتقنيات زراعة الأنسجة النباتية خارج الجسم الحي كعوامل محفزة للنمو، ومن المهم خلق توازن دقيق بين تركيز الأوكسينات والسايتوكانينات في الوسط الغذائي لآن الزيادة الحاصلة في تركيز السايتوكانين نسبة إلى الأوكسين تحفز تكوين الأفرع الخضريةفي حين أن النسب العالية من الأوكسين إلى السايتوكاينين تشجع تكوين الجذور العرضية والمستويات المتوازنة تؤدي إلى ظهور الكالس ونموه (Jacqmardوآخرون، 2019). و أفضل فعالية للأوكسين في نمو الجزء النباتي تكون بتداخله مع السايتوكاينين على أن يكون تركيز كل منهما بالمستوى الذي يشجع نمو الجزء المزروع (Efferth ، 2019).

قام Mahdinezhad و Ghanbari، (2015) بتنشئة وتنمية كالس العنب لصنفSistanفي الوسط الزراعي MS المزود بـ(2 ملغم لتر$^{-1}$2,4-D و 0.2 ملغم لتر$^{-1}$ BA)، في حين حصل Khan وآخرون (2015) على الكالس من زراعة العقد والبراعم الطرفية للعنب في الوسط الزرعي MS المزود بتوليفات عدّة من منظمات النمو وكانت أفضل النتائج عند استخدام التوليفة(2 ملغم لتر$^{-1}$2-4-Dو 0.3 ملغم لتر$^{-1}$ BAPو0.2 ملغم لتر$^{-1}$ NAA).

وجد Arieswari وآخرون، (2018)ان اسرع وقت لظهور الكالس للعنب كان على وسط MS المزود بالتركيز(2 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D و 1 ملغم لتر$^{-1}$ BAP)،في حين وجد Cakal و Aki(2021) ان الوسط MS المزود بالتركيز (1ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D و 1 ملغم لتر$^{-1}$ BAP)كان الافضل لاستحثاث كالس العنب وبنسبة 80%.

2-11- انتاج مركبات الايض الثانوي باستخدام تقانة زراعة الانسجة:

استخدمت تقانة زراعة الانسجة النباتية لزيادة انتاج وتراكم كميات من مركبات الايض الثانوي المنتجة من قبل الاجزاء النباتية التي يتم زراعتها على اوساط غذائية معقمة ولان الحصول عليها بصورة اقتصادية وبالكميات المطلوبة لايمكن تحقيقه بطرائق الزراعة التقليدية فكان الحل باستخدام تقنيات زراعة الانسجة العديدة والتي تتحور اما الى خلايا كالس او مزارع الخلايا المعلقة ليتم استخلاص المركبات منها، واتاحت هذه

التقنية فرصا عديدة لانتاج العديد من هذه المركبات الفعالة بدرجة عالية من النقاوة تفوق تلك المفصولة من النبات الكامل كما ان انتاجها يكون سريع وغير معتمد على موسم ويقلل من مساحة الارض اللازم تخصيصها لزراعة تلك النباتات الطبية، بالاضافة الى امكانية قيام السلطات بالسيطرة على انتاج بعض المركبات المهمة والمستخدمة في التخدير كالمورفين مثلا وبذلك تحد من سوء استخدامها،كما ان انتاج الادوية والمواد الصيدلانية عن طريق زراعة الانسجة يمكن ان يقلل كثيرا من الضغوط السياسية التي قد تمارسها الدول الكبرى على بعض الدول والتدخل في ستراتيجيتها الدوائية.

تعد تقنية زراعة الانسجة النباتية من البرامج البحثية العلمية المهمة في دراسة امكانية زيادة انتاج وتراكم مركبات الايض الثانوي، ففي السنوات الاخيرة بذل الكثير من الجهد من اجل وضع اساليب متطورة لتعزيز الانتاجية من الخلايا النباتية اذ حدد الكثير من الباحثين عدة استيراتيجيات قد تؤثر في انتاجية الخلايا النباتية خارج الجسم الحي تحت ظروف بيئية مثلى وتشمل هذه الاساليب التلاعب بالبيئة والوسط الغذائي الامثل لذلك ونوع وتركيز منظمات النمو النباتية واستعمال تراكيز مناسبة من المحفزات التي تسرع من عملية انتاج المركبات واختيار خلايا نسيجية من السلالات ذات الانتاجية العالية وتدعيم الوسط الغذائي ببعض الاحماض الامينية والتي تعد المواد الاساس لتخليق المركبات الايضية الثانوية، فضلا عن امكانية استعمال انواع من الاضاءة (Chandanaواخرون، 2018).

12-2- تأثير الفنيل الانين على مركبات الايض الثانوي

الاحماض الامينية هي عباره عن احماض كاربوكسيلية تحتوي على مجموعة امينية واحده او اكثر ،وهي الوحده الاساسية في بناء البروتينات من نوع-ά amino acid وفيها ترتبط المجموعة الامينية بذرة الكاربون الفا وهي المجاورة للمجموعة الكاربوكسيلية ،الاحماض الامينية التي تدخل في تركيب البروتينات ذات توزيع فراغي مطلق متشابهه من نوع L ،وتعد مواد لتخليق وبناء مركبات عضوية اخرى كالهرمونات والانزيمات والفيتامينات .تكون الاحماض الامينية على صورتين الاولى حرة L-amino acid وهي التي تمتص ويتم بناؤها من النبات والثانيه D-amino acid وهي لاتشارك في تخليق البروتين ولها دور في تكوين الانزيمات (Serpov،2010).

تأتي اهمية الأحماض الأمينية كونها منشطات حيوية تمتص وتنتقل بسرعة داخل اجزاء النبات المختلفة لما لها من تأثيرات مباشرة على النشاط الانزيمي للنبات، كما انها تدخل في تكوين النيوكلوتيدات والفيتامينات وهرمون النمو ، وتعد مكون أساسي للمادة الحية والبروتوبلازم كما تدخل في تكوين الانزيمات ومن ثم تشارك في التفاعلات الانزيمية في الخلايا وتدخل في بناء الاغشية الخلوية. تحقق الاحماض الامينية التوازن الهرموني مما يساعد على تحفيز البراعم وكذلك تشارك في تكوين البروتينات، وتعد الوحدات البنائية للبروتينات التي تعمل كوظائف متعددة في النبات كمنظمات العمليات الأيضية ونقل وخزن النتروجين وقد بينت

التجارب إن جميع المعاملات بالأحماض الأمينية تزيد من المحتوى النباتيبالنتروجين والبروتين (Rafieeوآخرون، 2016).

حامض الفنيل الانين هو احد الاحماض الامينية الاساسية يتمتع بخصائص فريدة في النباتات بالاضافة الى دوره كوحدة بناء للبروتين ،حيث تنتج النباتات مجموعة واسعة من المركبات المتخصصة المشتقة منه والتي تختلف باختلاف النباتات والاجزاء النباتية ومراحل النمو والظروف البيئية(Dioxnواخرون، 2002) والتي تسمى Phenylpropanoid وتشمل الانثوسيانين، الاحماض الفينولية، الفلافونويدات، التربينات، الستيلبين، اللجنين والكلايكوسيدات(Gondaواخرون، 2018). يشتق الفنيل الانين من مسار الشكمك اسد ويستخدم بصورة مباشره في تخليق البروتين في النباتات او من خلال عمليات الايض من مسار Phenylpropanoid pathway.له دور مهم في تطوير النبات والاستجابه الواسعة لمختلف المحفزات البيئية ويستخلص من بعض النباتات او الفطريات (Barros وDixon،2020)يتم تخليقة في البلاستيدات ومن خلال دراسات حديثة اثبتت انه يمكن تخليقه في السايتوبلازم عن طريق البكتريا من خلال مسار(Phenylpyruvate pathway).

توصل Saw واخرون (2010) ان في مزارع خلايا نبات العنب *Vitis vinifera* المجهزة بالتركيز (3 ملغم لتر$^{-1}$) فينيل ألانين كان الافضل لانتاج مركب الانثوسيانين مقارنة بمعاملة المقارنة.

وفي دراسة توصل اليها Masoumian واخرون (2011)ان معاملة كالس نبات طاسية السوسن*Hydrocotyle bonariensis* بمادة الفنيل الانين بتركيز(3 ملغم لتر$^{-1}$)حقق في تحفيز إنتاج الفلافونويد قياسا بالمقارنة.

وجدArafaواخرون، (2015)ان اضافة حامض الفنيل الانين في وسط زراعة الكالس لنبات الجزر ادى الى رفع نشاط مضادات الأكسدة ومحتوى المركبات الفينولية الكلية في النسيج المزروع.

اشارت الدراسة التي اجراها Sajjalaguddamو Paladugu ،(2015)ان إضافة الفنيل ألانين إلى مزارع كالس ابو طيلون *Abutilon indicum*بحصول زيادة تزيد عن ثلاثة أضعاف في محتوى الكويرستين والفلافونول في مزارع الكالس المستحث مقارنة المقارنة.

أظهرت النتائج التي توصل اليها Gohari واخرون، (2021) أن إجمالي محتوى الفينولات والفلافونويدات في مزارع كرمة نبيذ العنب*Vitis vinifera var* المعاملة بالفنيل ألانين بالتراكيز (1 و2 ملغم لتر$^{-1}$) قد تفوق معنويا مقارنة بمعاملة المقارنة.

توصل Khalifa واخرون (2022) ان التراكيز المختلفة من الفنيل ألانين المجهزة للوسط الغذائي MS والمزروع بكالس نبات الكلغان *Silybum marianum*لها تأثيرات مذهلة على التخليق الحيوي للمركبات الفينولية والفلافونيدات قياسا بمعاملة المقارنة.

اشارت دراسة Shehta وآخرون (2022) ان زيادة تركيز الفنيل الانين في وسط الزراعة لكالس نبات الفول *Verbesina encelioides* قد حفز نشاط مضادات الأكسدة ومحتوى المركبات الفينولية وحامض gallic acidحوالي 5 أضعاف مقارنة بمعاملةالمقارنة.

13-2-تأثير البراسينولايد على الكالس ومركبات الايض الثانوي:

البراسينوسيترويدات (BRS) هي أحدى مجاميع منظمات النمو التي اضيفت الى المجاميع الخمس حيث عدت المجموعة السادسة من الهرمونات النباتية لكثرة الادلة في تأثيراتها الفسيولوجية في النباتات، واظهرت في معظم الحالات تأثيرا متشابها لتأثير الاوكسينات والجبريلينات والسايتوكاينين والتي تؤدي مجموعة متنوعة من الوظائف البيولوجية ولها دورا رئيسيا في تنظيم العمليات الفسيولوجية والتنموية المتعددة للنباتات منها التشكل الضوئي واستطالة الخلايا وانبات البذور وتمايز الخشب كما تعمل على تحسين كفاءة التمثيل الضوئي في ظل ظروف الضغط ومن ثم تؤدي الى زيادة النمو و تراكم الكتلة الحية (Ahammedوآخرون، 2020).

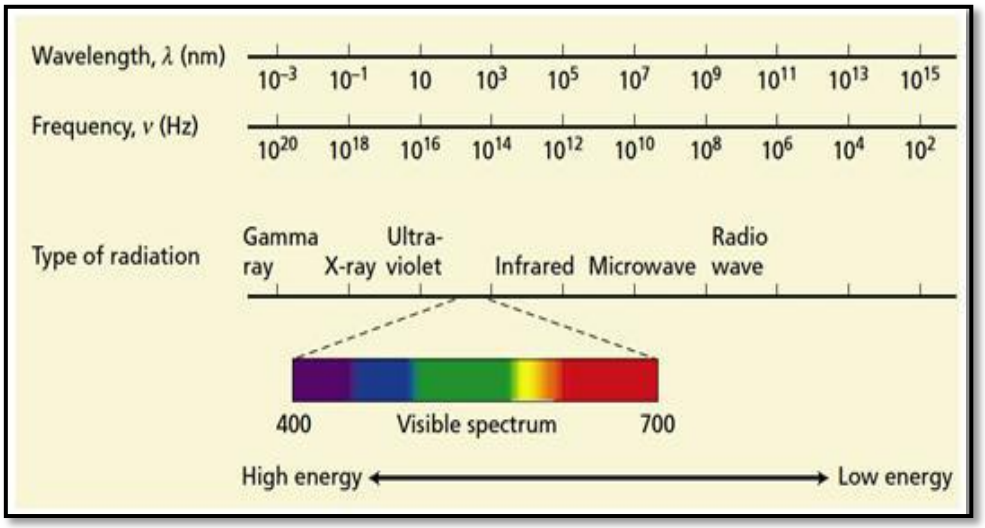
تم استخلاص البراسينوستيرويدات لاول مرة من حبوب لقاح النبات السلجمBrassica nopus وقد عدت هورمونات نباتية تنتج في اجزاء النبات المختلفة وقد ثبتت انها تلعب دورا مهما في نمو النبات وتطوره من خلال تأثيراتها ومساهمتها في تنظيم عدد من مظاهر النمو والتطور في النبات منها الانقسام والاستطالة الخلوية ، البناء الحيوي لمكونات الجدار الخلوي،نمو الافرع، تكوين الجذور العرضية، التزهير، زيادة الانتاج او الحاصل فضلا عن تأثيراتها في زيادة انبات البذور وتأخير شيخوخة الاوراق وارتباطها بزيادة تحمل النبات للاجهادات (الخفاجي ، 2014)، كماتعد من الهرمونات النباتية متعددة الهيدروكسيل تشترك في التشابهه مع المنشطات الحيوانية وتكون ذات تأثير فعال حتى بتراكيز منخفضة جدا و بتراكيز اعلى في الانسجة الحديثة (Kanwarواخرون، 2017).يؤثر التطبيق الخارجي لل BRsعلى نطاق واسع من الاستجابات الفسيولوجية وتراكم المركبات الايض الثانوية والمقاومة ضد عوامل الاجهاد في النباتات (Babalikوآخرون، 2020)، كما لها اهمية في ظروف المختبر للعديد من الدراسات تشمل تحسين معدل النمو والتكاثر عن طريق تحفيز نشوء الكالس والاجنه الجسمية وتحفيز استطالة الفروع والبراعم وتكوين الانسجة الجنينية وانتاج البذور الصناعية وزيادة مركبات الايض الثانوي (Singh وآخرون ، 2021).

وجدBabalik (2021) ان اضافة البراسينولايد بتركيز(5 ملغم لتر$^{-1}$)كان الافضل لزيادة انتاج المركبات الفينولية في مزارع الخلايا النسيجية لنبات العنب مقارنة بالتراكيز الاخرى ومعاملة المقارنة. كما تم دراسة تأثيرBRs من قبل Gastón وآخرون ، (2021) على نبات العنب وكان له دور واضح على النمو اما بشكل مباشر او من خلال محتواه من المركبات الفلافونويدية.

14-2-الضوء :

الضوء هو موجات كهرومغناطيسية له اطوال موجية مختلفة وعند اصطدامه بجسم كالورقه مثلا فانه يُعكس أو يُمتص ويُحدث تغيراً في طاقة المادة التي امتصته وهذا التغيير في طاقة المادة ناتج من اصطدام الفوتونات Photons بجزيئات الجسم، للضوء فعالية في نمو وتطور النبات ويكون ضمن الإشعاع المنظور (Visible radiation) الذي تتراوح أطوال موجات الضوء المنظوربين 200 - 700 نانومتر، وهذا الجزء من الضوء يمكن أن تحسه العين البشرية، وضمن موجاته يقع الضوء الفعال في عملية البناء الضوئي في النبات ويمثل الإشعاع المنظور (50%) من طاقة الضوء الساقطة على الارض.حيث **ان** الشمس هي المصدر الرئيس للطاقة إلى الأرض ويخترق الإشعاع الشمسي الفضاء الخارجي على شكل موجات كهرومغناطيسية وتقوم طبقة الأوزون المغلفة للكرة الأرضية بامتصاص الإشعاعات الضارة للنبات والإنسان، في حين تمتص السحب جزءاً آخر من هذه الإشعاعات ليصل الباقي إلى النبات الذي يستفيد من 1 – 2% فقط من الطاقة الشمسية للقيام بعملياته الحيوية، من مجموع الطاقة الشمسية الممتصة من قبل النبات ما بين 75-80% يستعمل لتبخير الماء ويتم تخزين 5-10% من هذه الطاقة في التربة. ثم تحول هذه الطاقة الضوئية إلى طاقة كيميائية في عملية التمثيل الكاربوني (Dabrowski واخرون، 2015).يوثر الضوء على كل جانب من جوانب الحياة النباتية تقريبا وهو احد العوامل الرئيسة والذي يعمل كإشارات ومصدر ويوثر على نمو وتطور النبات (Shafiq وآخرون ،2021).

نوعية الإضاءة تُعد من العوامل المهمة والمؤثرة في نمو وتطور النباتات النامية بالزراعةالنسيجية مما وجه عناية علماء فسلجة النبات منذ وقت طويل إلى دراسة هذا التأثير في الظواهرالفسلجية بتغيير الأطوال الموجية للضوء علما أن له أثراً ديناميكيا في إنتاج العديد من الموادالكيميائية النباتية الهامة في أنواع عديدة من النباتات. في كل التجارب يكون للضوء في الغالب ارتباط مباشر مع التمثيل الضوئي وتنوعه يحفز التخليق الحيوي للمستقبلات خارج الجسم الحي(Batista وآخرون،2018)



الشكل(5)موجات الطيف المرئي

يعد اختيار مصدر الضوء الأمثل من الأمور الأساسية في أنظمة اكثار النباتات داخل المختبر، والتي تعتمد اعتماداً كاملاً على مصادر الضوء الصناعي لأن خصائص الطول الموجي للضوء تؤثر على نوعية وجودة الزروعات مقارنة بمصادر الإضاءة التقليدية مثل مصابيح الفلورسنت Fluorescent light (FL) البيضاء التي تستخدم كمصدر إضاءة رئيس في غرف النمو داخل مختبر زراعة الانسجة النباتية، اذ تبعث هذه المصابيح ضوء واسع الطيف يتراوح من 400 إلى 700 نانوميتر، والذي يحتوي على أطوال موجية منخفضة الجودة غير ضرورية لتعزيز النمو (Kimوآخرون ،2004). كما ان مصابيح (FL) تستلزم تكاليف عالية في استهلاك الطاقة الكهربائية، وتفقد شدتها بمرور الوقت، وتنتج حرارة أكثر في غرفة النمو والتي تتطلب اجهزة تبريد باهظة الثمن(Taulavuoriوآخرون،2017)،لذلك برزت الحاجة إلى مصدر ضوئي فعال لتحسين معدل الاكثار الدقيق باستخدام مواد زراعة عالية الجودة وتقليل تكلفة الانتاج.فظهرت مصابيح light-emittingdiode(LED) في السنوات الاخيرةوالتي تعد مصدراً بديلاً جيداً لمصادر الضوء التقليدية في غرف النمو في مختبر الزراعة النسيجية، نظراً لما تتميز به من خصائص مهمة، منها انبعاثات أطياف خفيفة و ضيقة جداً من الأطوال الموجية(Guimara وآخرون،2022)تستخدم الان مصابيح LED وعلى مستوى تجاري في مختبرات زراعة الانسجة بسبب خصائصها التي تميزت بها مثل الحجم الصغير، خفة الوزن، قوة التحمل، العمر الطويل، امكانية تشغيلها ببطاريات صغيرة والطول الموجي المحدد اذ تبعث الاشعاع ضمن نطاقات ضيقة وهذا يؤدي الى تدفق الاشعاع بشكل عالي وبتأثيرات حرارية قليلة (Guptaو Agarwal،2017).كما يمكن وضع النباتات قريبة منها دون ان تتضرر بالتأثير الحراري.

كما يمكن التحكم في طيف الضوء المنبعث فبعض الأنواع يمكن خلط عدد من الموجات الضوئية من البنفسجي والأزرق والأخضر والبرتقالي والأحمر إلى الأحمر البعيد (Yano و Fujiwara،2012)، ويمكن تعديل كل من كثافة تدفق الطيف الضوئي والفوتون حسب الاحتياجات الفسيولوجية والمورفولوجية للنباتات،

فلوحظ ان اللونين الأحمر والأزرق وخليط بينهما له تأثير في نمو وتطور الزروعات (Gupta و Jatothu ، 2013) وتساعد على تجديد الانسجة في المختبر(Zielinskaواخرون،2020).

ان مصابيح LED ذات أطياف الانبعاث المطابقة مع أطياف الأمتصاص لمستقبلات الضوء النباتية قد تحقق أفضل إنتاجية في المختبر من خلال التأثير في الصفات المورفولوجية والتشريحية والتمثيل الغذائي (Massa وآخرون،2008). أن مصابيح LED متوافرة بألوان بيضاء، وحمراء وزرقاء، وصفراء، وخضراء، وخليط بينهما، وأن استعمال LED يُمكن العاملين من التحكم في طيف الضوء المنبعث منها إذ يُمكن خلط عدد من الموجات الضوئية من البنفسجي والأزرق والأخضر، والبرتقالي، والأحمر، إلى الأحمر البعيدة (Trivedi ، Sengarو2017).ادى مزيج من المصابيح الحمراء والزرقاء الى تحسين تكاثر البراعم (Heوآخرون،2020). وبينت العديد من الدراسات ان التطبيقات الناجحة لمصابيح LED تحسن نمو الزروعات النسيجية داخل المختبر، من خلال زيادة عدد الافرع وزيادة معدل الكتلة الحية(Karmakar وآخرون2018).

من خلال مراجعة الدراسات السابقة وجدان الضوء الأحمر يساعد على زيادة الكتلة الحية بالنبات المتمثلة في الوزن الطري والجاف والارتفاع ومساحة الأوراق (Johkan وآخرون ، 2010)، في حين يشجع الضوء الأزرق تخليق وتطوير الكلوروفيل، وله دور في عملية فتح وغلق الثغور، وتحفيز الانبات (Son وآخرون ،2012).اما المصابيح الحمراء والزرقاء تسبب زيادة في معدل البناء الضوئي مقارنة بتأثير المصابيح الحمراء أو الزرقاء أحادية اللون (Zhang وآخرون،2024).

2-14-1- تأثير مصادرالاضاءة على مركبات الايض الثانوي والكالس:

للضوء ارتباط مباشر بعملية التمثيل الضوئي، ويحفز عملية التخليق الحيوي للأيض(Nisarوآخرون 2014). تعد مصابيح الفلورسنت في زراعة أنسجة الخلايا النباتية هي المصدر الرئيس للضوء، تتمتع مصابيح LED بفوائد عديدة بما في ذلك الطيف أحادي اللون، وحرارة أقل، وقليلة التكلفة كذلك شجعت جودة الضوء وخصوصية الطول الموجي التخليق الحيوي للأيض في العديد من النباتات تعد جودة الضوء عامل تحفيز قوي لتعزيز إنتاج مركبات الايض الثانوية ذات الأهمية التجارية في الزراعة داخل المختبر (Anjum وAbbasi، 2016). عززت مصابيح LED الزرقاء إجمالي محتوى الفينول وإمكانات مضادات الأكسدة وحمض الروزمارينيك والأوجينول، بينما عززت مصابيح LED الحمراء تراكم إجمالي محتوى الفلافونويد وحمض الكافيين والسيانيدين (Nadeem وآخرون، 2019).

لاحظ Farshad وKahrizi،(2016)زيادة في إنتاج الفينولات والفلافونويد ومضادات الأكسدة وكفاءة النمو الخضري للمزارع النسيجية لنبات العنب النامية تحت الضوء الملون بالمقارنة مع معاملة المقارنة ويوضح هذا أن معالجة جودة الضوء باستخدام مصابيح LED يمكن أن تحفز إنتاج المركبات النشطة بيولوجيا ومضادات الأكسدة.

وجد Gupta و karmakar ، (2017)ان استعمال مصابيح LED بمختلف الألوان في تضاعف الأفرع لنبات *Swertia chirata*ومحتواها من الصبغات النباتية ،و إن مزيج من اللونين الأحمر والأزرق و بنسب متساوية قد حسن تضاعف الأفرع بأعطاءها أعلى كتلة حية ووزن جاف بالاضافة الى محتواها من الكلوروفيل والكاروتين كانت اعلى تحت معاملة الاضاءة.

توصل Mohammd وآخرون، (2019) أن لشدة الضوء المتفاوتة تأثيراً على زيادة الكتلة الحيويةومضادات الاكسدة لمزارع الكالس في نبات الزيتون.L *Olea europaea*إذ استعمل شدة إضاءة(2000-2500 لوكس) للضوء العادي و (500 - 1500 لوكس) للضوء المنتشر و(صفر لوكس) ظلام كامل وكانت افضل معاملة للضوء المنتشر من خلال زيادة الأنزيمات المضادة للأكسدة ولتعزيز مادة polyphenolمتعدد الفينول والتي من ضمنها الفلافونيدات والأنثوسيانين و Benzoic acid وغيرها.

لاحظ Bajwa وآخرون، (2023) ان مركبات الايض الثانوية مثل اللوتولين والابيجينين والكوماريك كانت اعلى تحت الضوء الابيض وبالمثل عزز الضوء الازرقتراكم حامض الكلوروجينيك.حيث بين ان الاطياف الضوئية تسلك منهجا جيدا لتعزيز المركبات الايضية ومضادات الاكسدة المهمة دوائيا في كالس نبات المورينغا.

وجد Venugopal وآخرون، (2024) هناك تفوق معنوي في انتاج السكريات والبولي فينول في المزارع النامية تحت مصابيح LED الارجواني لنبات جوز الهند.

ذكرHabibahوآخرون، (2024) ان الكالس المحضن تحت مصابيح LEDالملونة زادت بشكل كبير من انتاج الفلافونيدات مقارنة بالكالس لنبات*Dioscorea esculenta* التي حفظت في غرفة النمو تحت درجة حرارة 24م.

3-مواد وطرائق العمل:

اجريت سلسله من التجارب المختبرية على كالس نبات العنب للفترة 1\6\2023الى1\6\2024نفذت تجارب الزراعة النسيجة في مختبر زراعة الانسجة التابع لكلية الزراعة جامعة كربلاء، ونفذت تجارب الاستخلاص والكشف النوعي عن المركبات الايضية الثانوية في شركة الحقول البيضاء للاستثمارات والدراسات البيئية والهندسية .

3-1- تصميم التجربة:

صممت التجربة حسب التصميم تام التعشية (CRD) وبعدة تجارب :

التجربةالاولى :التعقيم بثلاث عوامل الاول هايبوكلورات الصوديوم بخمسة تراكيزوهي(0، 0.5، 1، 1.5، 2 %)والثاني الوقت بالفترة (15,10,5)دقيقة والثالث الجزاء النباتي.

التجربة الثانية :تجربة استحثاث الكالس بعاملين:

الاول2,4-D بخمسة تراكيزهي (0، 1، 2، 3، 4ملغم لتر$^{-1}$)والثاني BAبأربعة تراكيز هي(0، 0.1، 0.2، 0.4 ملغم لتر$^{-1}$)

التجربة الثالثة:تحفيز مركبات الايض الثانوي بعاملين:

1 -الاول حامض الفنيل الانين بخمسة تراكيزهي (5,0، 10، 20,15 ملغم لتر$^{-1}$)والثاني مصادر الضوء LED الابيض و ال LED الملونة.

2 -الاول البراسينولايد بأربعة تراكيز هي(3,2,1,0 ملغم لتر$^{-1}$)والثاني مصادر الضوءLEDالابيض ومصابيح الLED الملونة.

3-2- تقنية زراعة الانسجة:

3-2-1- مرحلة التعقيم:

عقمت الادوات المستعملة والتي شملت اطباق بتري التي تحتوي على اوراق ترشيح ثم وضعت في حاويات معدنية canisters كذلك عقم الماء المقطر المستخدم في غسل الاجزاء النباتية باستخدام جهاز المؤصدةAutoclaveعلى درجة حرارة 121م° وتحت ضغط(1,04كغم سم $^{-1}$)لفترة 30دقيقة كما عقمت جميع الادوات المستعملة عند الزراعة كالملاقط وحاملات شفرات التقطيع في الفرن الكهربائي ovenعلى درجة حرارة 180م° لفترة 60 دقيقة مع استخدام الكحول الاثيلي بتركيز 90% ومصباح بنزل لحرق حافات الشفرات والملاقط بعد كل عملية زراعة داخل كابينه انسياب الهواء الطبقي المخصصة للزراعة والمعقمة مسبقا وذلك برش جدرانها الداخلية وارضيتها بمادة الايثانول 70% ومسحها بالقطن الطبي وبعد ذلك تم تشغيل شمعة الاشعة فوق البنفسجية UV لفترة دقيقة قبل استخدام الكابينة للزراعة.

2-2-3- تحضير وتعقيم الوسط الغذائي:

استخدم الوسط الجاهز MS(Murashige وSkoog،1962) بوزن(4,91غم.لتر$^{-1}$)والمنتج من شركة Caisson Labs الامريكية الحاوي على المغذيات الكبرى والصغرى والمدعم بالفيتامينات . واضيف السكروز بمقدار (30 غم لتر$^{-1}$) اضيفت منظمات النموالنباتية بعد ان حضرت محاليل اساس حسب نوع التجربة ثم عدلت الدالة الهيدروجينية pH الى 5,7 ± 0.1وذلك باستخدام حامض الهيدروكلوريكHCL واحد عياري او هيدروكسيد الصوديوم NaOH ثمُاكمل الحجم الى لتر وأضيف اكار من نوع (Agar-Agar) بمقدار (7 غم لتر$^{-1}$)الى الوسط ولغرض تجانس مكونات الوسط وذوبان الاكار سخن الوسط الغذائي باستخدام جهاز التسخين الهزازHot plate magnetic stirrer لحين الغليان ووزع بعد ذلك في قناني الزراعة لغاية 10 مل وغطيت بالأغطية المناسبة لها ثم جرى تعقيمها بجهاز التعقيم البخاري Autoclaveعلى درجة حرارة 121م° وتحت ضغط(1,04كغم سم$^{-1}$)لمدة 15دقيقة بعدها حفظ داخل كابينة انسياب الهواء الطبقي ليبرد ويتصلب بدرجة حراره الغرفة ليصبح جاهزا للزراعة لحين استعماله.

3-2-3-تعقيم الجزء النباتي:

استعملت الاجزاء النباتية (القمم النامية والبراعم الجانبية) بطول 0,5-1سم كمنطلق في الزراعة النسيجية لاستحثاث الكالس والتي تم الحصول عليها من شتلات بعمر سنة من احدى المشاتل الاهلية صنف *Vitisvinifera* غسلت الاجزاء النباتية بالماء الجاري لفترة 30 دقيقة ثم غسلت بالماء والصابون السائل (الزاهي)وبعدها غسلت بالماء الجاري لضمان التخلص من الاتربة وبعض الملوثات السطحية ثم غسلت بعدها مرة واحدة بالماء المقطر ونقلت الى كابينة الزراعة المعقمه لتعقيمها سطحيا باستخدام كحول اثيلي بتركيز 70% لفترة دقيقة واحدة مع التحريك المستمر ثم غسلت بعدها بالماء المقطر المعقم لفترة 5 دقائق لضمان ازالة ثاتير الكحول بعدها عقمت باستخدام القاصر التجاري الحاوي على هايبوكلورات الصوديوم NaOCl تركيز 6% وحضرت منه التراكيز(0، 0.5، 1، 1.5، 2 %للفترة الزمنية 5، 10، 15 دقيقة)بعدها غسلت الاجزاء بالماء المقطر ثلاث مرات لفترة 5 دقائق لكل مره لازالة ثاتير المادة المعقمة (القاصر) بعدها زرعت على وسط MS الخالي من منظمات النمو بواقع 10مكررات لكل تركيز وفترة زمنية وحضنت الزوعات في غرفة النمو تحت ظروف23 2+م° واضاءة 1000 لوكس لمدة 16 ساعة ضوء و8 ظلام، سجلت النتائج بعد 10 ايام من الزراعة على اساس النسبة المئوية للبقاء.

3-3- مرحلة استحثاث الكالس:

بالاعتماد على نتائج تجربة التعقيم اعلاه فقد تم تحديد افضل تركيز للمادةالمعقمة والفترة الزمنية وعلى اساسها عقمت الاجزاء النباتية (القمم النامية و البراعم الجانبية) وزرعت على وسط MS الصلب المعد لاستحثاث الكالس بواقع 10 مكررات لكل معاملة حظنت الزروعات في غرفة نمو مظلمة وعلى درجة حرارة 23±2 م° ثم اخدت مؤشرات الدراسة بعد 6 اسابيع والتي شملت :

1-النسبة المئوية لاستحثاثالكالس (%)= $\frac{\text{عدد الاجزاء النباتية مكونة الكالس}}{\text{العدد الكلي الاجزاء}} \times 100\%$

2-الوزن الطري (ملغم)

3-الوزن الجاف (ملغم)

قيس الوزن الطري والجاف للكالس بعد 6 اسابيع من الزراعة باستخدام ميزان حساس اذ استخرجت قطع الكالس الطري ووضعت على ورق ترشيح وازيلت بقايا الوسط الغذائي الملتصقة باستخدام الشفرة الجراحية وحسب الوزن الطري للكالس .جففت قطع الكالس في الفرن الكهربائي Ovenعلى درجة حراره 45 م° ووزنت عند ثبات الوزن (الصحاف، 1989).

3-3-1- ادامة الكالس:

بالاعتماد على نتائج تجربة استحثاث الكالس في الفقرة (3-2-2) تم اختيار القمه النامية واستبعدت البراعم الجانبية لكون القمم النامية هي الجزء الاكثر استجابة للاستحثاث الكالس.

تم تقطيع الكالس المستحث من القمة النامية واعادة زراعته Sub culture على الوسط الغذائي MS والمجهز بافضل توليفه من منظمات النمو للحصول على اكبر كمية منه لغرض تنفيذ تجارب تحفيز انتاج المركبات الايضية اللاحقة .

3-4- تحفيز انتاج المركبات الأيضية:

3-4-1-تأثير نوع الاضاءة والفنيل الانين في نمو الكالس وانتاج مركبات الايض الثانوي

اخذ وزن ثابت من الكالس (100ملغم)وزرع على الوسط الغذائي MS المجهز بتراكيز مختلفة من الحامض الاميني الفنيل الانين هي (0، 5، 10، 15، 20 ملغم لتر$^{-1}$)بعد ان تم تحضير محلول الاساس منه وبوجود تركيز ثابته من 2,4-D وBA التي تم الحصول عليها من تجربة استحثاث الكالس وبواقع 10 مكررات لكل تركيزثم حضنت الزروعات تحت ضروف اضاءة مختلفة من مصابيح الفلورسنت و LED الابيض ومصابيح LED الملونة كما موضح في الشكل رقم (6) ، اخذت مؤشرات الدراسة بعد 6 اسابيع من الزراعة والتي شملت

1- الوزن الطري للكالس ملغم

2- الوزن الجاف للكالس ملغم

3- التقدير الكمي والنوعي للمركبات الايضية الثانويه باستخدام تقانة HPLC(مايكرو غرام مل$^{-1}$)

4- تقدير الكاربوهيدرات الكلية ملغم .100 غم $^{-1}$- وزن طري

3-4-2-تأثير نوع الاضاءة والبراسينولايد في نمو الكالس وانتاج مركبات الايض الثانوي

اخذ وزن ثابت من الكالس (100ملغم)وزرع على وسط غذائي MS المجهز بتراكيز مختلفة من منظم النمو البروسنيلايد (0، 1، 2، 3 ملغم لتر$^{-1}$)بعد ان تم تحضير محلول الاساس منها وبوجود تركيز ثابت من 2,4-D و BA التي تم الحصول عليها من تجربت استحثاث الكالس وبواقع 10مكررات لكل تركيز حضنت الزروعات تحت ضروف اضاءة مختلفه من مصابيح الفلورسنت و LEDالابيض ومصابيح LED الملونه كما موضح في الشكل رقم(6) .

اخذت مؤشرات الدراسة بعد 6 اسابيع من الزراعة والتي شملت .

1-الوزن الطري للكالس (ملغم)

2-الوزن الجاف للكالس (ملغم)

3-تقدير الكمي والنوعي للمركبات الايضية الثانويه باستخدام تقانة HPLC(مايكرو غرام مل$^{-1}$)

4-تقدير الكاربوهيدرات الكلي

3-4-3- تقدير الكاربوهيدرات الكلية في كالس العنب:

قدرت الكاربوهيدات حسب طريقة Herbert وآخرون 1971 المسماة طريقة الفينول حامض الكبريتيك حيث اخذ (0.1 غم)من العينات المطحونه ووضعت في انبوبات اختبار جافة واضيف لها 10 مل من الكحول الاثيلي 70% ، وبعد الرج الجيد وضعت في جهاز الطرد المركزي لمدة 10 دقائق وعلى سرعة 1500 دورة / دقيقة واخذ (1 مل)من الراشح واضيف له(1 مل) من كاشف الفينول ذو تركيز 5% مع (5 مل)من حامض الكبريتيك 99% . مزج الخليط جيدا وحظن في حمام مائي على درجة حرارة (25-30) م لفترة 20 دقيقة وبعدها تركت الانابيب لتبرد ثم قدر تركيز الكاربوهيدات بقايس شدة اللون بواسطة جهاز المطياف الضوئي عند الطول الموجي 488 نانوميتر وبواقع ثلاث مكررات لكل معاملة وتركيز وقورنت مع المنحنى القياسي للكاربوهيدرات .

4-4-3 استخلاص المركبات الفعالة من كالس نبات العنب:

اجريت عملية الاستخلاص حسب ماذكره (Obouayeba و Bernard، 2014) اخذ وزن ثابت من الكالس(1 غم)ومن ثم جفف لحين ثبات الوزن، طحنت العينات المجففة واضيف لها 2 مل ميثانول مع التحريك المستمر، بعدها وضعت النماذج في جهاز الطرد المركزي بسرعة دوران بلغت 7500 دورة/ دقيقة لمدة 15 دقيقة، عومل الراشح بالكلوروفورم للتخلص من بعض المركبات مثل الدهون والكلوروفيل، وضعت العينات في المبخر الدوار، اذيب الراشح بـ 1 مل ميثانول وخلط بجهاز vortex، رشح المزيج بفلتر قياس um2.5 وخزن الراشح بدرجة 4 م^{0} لاستعماله في التحاليل اللاحقة.

5-4-3 التقدير النوعي والكمي للمركبات الفلافونويدية باستعمال جهاز كروموتوغرافيا السائل ذي الأداء العالي

تم فصل المركبات الفلافونويدية في مستخلص كالس نبات العنب وفق ماذكره (Suarez واخرون، 2005) اخذ 20 ul من الراشح وحقن في جهاز الـ HPLC تحت الظروف الاتية، عمود الفصل بإبعاد (50×4.6 mmI.D)، وطور متحرك methanol: phosphate buffer بنسبة 40:60 v/v، وسرعة جريان 1.2 ml/min، وتم حساب تركيز المركبات الفلافونويدية في مستخلصات الكالس على وفق المعادلة الاتية:-

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

الشكل (6)منظومة الاضاءة المستخدمة في التجربة

3-5-التحليل الاحصائي:

حللت بيانات النتائج كتجارب عامليه باستخدام التصميم التام التعشية (Complete Randomized (CRD Design وقورنت المتوسطات بحسب اختبار اقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 0.05 باستعمال البرنامج الاحصائي (SAS)(الساهوكي و وهيب، 1990).

4-النتائج والمناقشة

4 - 1-تعقيم الأجزاء النباتية (النسبة المئوية للتلوث):

يتبين من الجدول (1) تاثير تركيز هايبوكلورات وفترة التعقيم في النسبة المئوية للتلوث، اذ سجل التركيز (2%) من مادة التعقيم اقل نسبة تلوث بلغت (4.16%) مقارنة مع معاملة المقارنة التي حققت اعلى نسبة مئوية للتلوث بلغت (100%)، اما عن تاثير الفترة الزمنية فقد حقق الوقت 15 دقيقة اقل نسبة تلوث بلغت(23.50%)في حين كانت اعلى نسبة للتلوث عند الوقت 5 دقيقة والتي بلغت(44.50%)، كما كان لنوع الجزء النباتي تاثير في نسبة التلوث حيث حققت القمة النامية اقل نسبة تلوث بلغت (30.33%) بينما حققت البراعم الجانبية نسبة تلوث بلغت (34.66%). اما عن تاثير التداخل بين نوع الجزء النباتي والفترة الزمنية فقد سجلت القمم النامية عند الفترة 15 دقيقة اقل نسبة تلوث بلغت(22%) في حين سجلت البراعم الجانبية اعلى نسبة تلوث عند الفترة 5 دقيقة بلغت(49.00%)، وعن تاثير نوع الجزء النباتي وتراكيز هايبوكلورات الصوديوم فقد حققت القمة النامية عند التركيز(2%) اقل نسبة تلوث بلغت (3.33%) في حين حققت البراعم الجانبية عند نفس التركيز اقل نسبة تلوث بلغت (5%) مقارنة مع معاملة المقارنة لكلا الاجزاء النباتية التي حققت نسبة تلوث بلغت(100%).

اما عن تاثير معاملة التداخل الثلاثي فقد تفوقت كلا الاجزاء النباتية عند الفترة(10 دقيقة) والتركيز(1.5 و 2 %)اقل نسبة تلوث بلغت(0.00%) في حين اعطت نفس التراكيز عند الفترة 15 دقيقة للاجزاء النباتية ذاتها ايضا اقل نسبة تلوث بلغت(100%)لكن النباتات في هذه الحالة كانت شاحبة اللون ولا يوجد بها أي استجابة للنمو وقد يعود السبب الى ان التراكيز العالية من هايبوكلورات الصوديوم لها تأثير سمي على الاجزاء النباتية ، فقد لاحظ حسام والنعيمي (2006) تلوث الاجزاء النباتية المعرضة للتراكيز المنخفضة في حين فقدت الاجزاء المعرضة للتراكيز العالية حيويتها، لذا تم الاعتماد على الوقت(10 دقيقة والتركيز 1.5%) من المادة المعقمة في تنفيذ التجارب اللاحقة.

ان تأثير هايبوكلورات الصوديوم وعمله كمادة معقمة للأنسجة النباتية يعود الى حامض Hypochlorous (HOCl) الذي يعد مادة مؤكسدة قوية، اذ يتكون هذا الحامض نتيجة ذوبان الكلور بالماء كما في المعادلة الاتية: (Ramawat، 2004)

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

اتفقت هذه الدراسة مع ما توصل اليه Lazo-Javaleva وآخرون (2016) و Kinfe و Bedada، (2017) على ان تركيز(1% من هايبوكلورات الصوديوم ولفترة 10دقيقة)عند تعقيم الاجزاء الخضرية لنبات العنب خارج الجسم الحي اعطت احسن النتائج واقل نسبة للتلوث.

الجدول (1) تأثير تركيز هايبوكلورات الصوديوم والفترة الزمنية في النسبة المئوية لتلوث الاجزاء النباتية لنبات العنب بعد 10 ايام من الزراعة

الاجزاء النباتية (E)	فترة التعقيم (دقيقة) (T)	تركيز هيبوكلورات الصوديوم % (N)					معدل E*T	معدل E
		0	0.5	1	1.5	2		
القمة النامية	5	100	60	20	10	10	40.00	30.33
	10	100	25	20	0	0	29.00	
	15	100	10	5	0	0	22.00	
البراعم الجانبية	5	100	70	40	20	15	49.00	34.66
	10	100	30	25	0	0	31.00	
	15	100	10	10	0	0	24.00	
معدل N		100	34.16	20.00	5.00	4.16		
معدل E*N		100	31.66	15.00	3.33	3.33		
		100	36.66	25.00	6.66	5.00		
							معدل T	
معدل T*N		100	65.00	30.00	15.00	12.50	44.50	
		100	27.00	22.5	0.00	0.00	29.90	
		100	10.00	7.50	0.00	0.00	23.50	

L.S.D $_{0.05}$ (E)= 2.14 L.S.D $_{0.05}$ (T) = 3.08 L.S.D $_{0.05}$ (N) = 3.22

L.S.D $_{0.05}$ (E*T)= 5.10 L.S.D $_{0.05}$ (E*N) = 5.80

L.S.D $_{0.05}$ (T*N) = 6.35

L.S.D $_{0.05}$ (T*N*E)= 10.08

2-4-تأثير تراكيز 2,4 D وBAفي النسبة المئوية لاستجابة القمة النامية لاستحثاث الكالس

تشير نتائج الجدول (2) والشكل (7) الى تأثير التراكيز المختلفة من الاوكسين 2,4-D والسايتوكانين BA في النسبة المئوية للكالس المستحث من القمة النامية حيث يلاحظ استجابة القمة النامية عند التراكيز(1 و 2 و 3 ملغم لتر$^{-1}$)من الـ 2,4-D بالتداخل مع جميع تراكيز BA بلغت 100% ثم قلت الاستجابة عند التركيز(4 ملغم لتر$^{-1}$)من الـ 2,4-D بالتداخل مع الـ BA عند التراكيز(0، 0.1، 0.2، 0.4 ملغم لتر$^{-1}$)بلغت(70، 80،80،80%)على التوالي في حين لم تحقق معاملة المقارنة اي استجابة تذكر.

الشكل (7)تأثير منظمات النمو على استحثاث الكالس من القمة النامية

الجدول (2) تأثير تراكيز الـ 2,4-D و BA في النسبة المئوية لاستجابة القمم النامية لاستحثاث الكالس بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

تركيز 2,4-D (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)	عدد المكررات	عدد المكررات الناجحة	نسبة الاستجابة %
0	0	10	0	0
	0.1	10	0	0
	0.2	10	0	0
	0.4	10	0	0
1	0	10	10	100
	0.1	10	10	100
	0.2	10	10	100
	0.4	10	10	100
2	0	10	10	100
	0.1	10	10	100
	0.2	10	10	100
	0.4	10	10	100
3	0	10	10	100
	0.1	10	10	100
	0.2	10	10	100
	0.4	10	10	100
4	0	10	7	70
	0.1	10	8	80
	0.2	10	8	80
	0.4	10	8	80

3-4-تأثير تراكيز 2,4 D وBAفي النسبة المئوية لاستجابة البراعم لاستحثاث الكالس

تشير نتائج الجدول (3) والشكل (8) الى تأثير التراكيز المختلفة من الاوكسين 2,4-D والسايتوكانين BA في النسبة المئوية للكالس المستحث من البراعم حيث يلاحظ استجابة البراعم عند التراكيز (3 ملغم لتر$^{-1}$)من الـ 2,4-D بالتداخل مع التراكيز(0، 0.1، 0.2، 0.4 ملغم لتر$^{-1}$)BA بلغت(50، 60، 60، 80 %)على التوالي في حين لم تحقق بقية التراكيز الاخرى من الاوكسين وبالتداخل مع تراكيز السايتوكانين اي استجابة تذكر.

الشكل (8)تأثير منظمات النمو على استحثاث الكالس من البراعم

الجدول (3) تأثير تراكيز الـ 2,4-D و BA في النسبة المئوية لاستجابة البراعم لاستحثاث الكالس بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

تركيز 2,4-D (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)	عدد المكررات	عدد المكررات الناجحة	نسبة الاستجابة %
0	0	10	0	0
	0.1	10	0	0
	0.2	10	0	0
	0.4	10	0	0
1	0	10	0	0
	0.1	10	0	0
	0.2	10	0	0
	0.4	10	0	0
2	0	10	0	0
	0.1	10	0	0
	0.2	10	0	0
	0.4	10	0	0
3	0	10	5	50
	0.1	10	6	60
	0.2	10	6	60
	0.4	10	8	80
4	0	10	0	0
	0.1	10	0	0
	0.2	10	0	0
	0.4	10	0	0

4-4-تأثير تراكيز 2,4-D و BA في الوزن الطري ملغم المستحث من القمة النامية

تبين نتائج الجدول (4) إلى وجود فروق معنوية عند اضافة الـ 2,4-D بتراكيزه المختلفة الى الوسط الغذائي المعد لاستحثاث الكالس من القمم النامية لنبات العنب، إذ تفوق الـ2,4- D عند التركيز (2 ملغم لتر$^{-1}$)وأعطى أعلى وزن طري للكالس بلغ (3.32ملغم) الذي أختلف معنوياً عن بقية المعاملات ثم قلت الاستجابة بزيادة تركيز الاوكسين الى(3 و4 ملغم لتر$^{-1}$)بلغت (2.27و1.54ملغم)على التوالي مقارنة مع معاملة المقارنة التي لم تسجل اي استجابة، وتشير نتائج الجدول نفسه إلى وجود فروق معنوية في الوزن الطري للكالس باختلاف تراكيز الـ BA المضافة للوسط الغذائي فقد تفوق التركيز(0.2 ملغم لتر$^{-1}$)معنويا في تحقيق اعلى وزن بلغ (2.06 ملغم) والذي لم يختلف معنويا عن التركيز(0.1 ملغم لتر$^{-1}$) الذي اعطى وزن بلغ(2.00 ملغم)مقارنة بمعاملة المقارنة التي حققت اقل وزن بلغ (1.66 ملغم). اما عن تأثير التداخل مابين تراكيز الاوكسين السايتوكاينين في الوزن الطري للكالس فقد حقق التركيز(2 ملغم لتر$^{-1}$)من 2,4-D عند التركيز (0.4 ملغم لتر$^{-1}$)BA اعلى وزن بلغ(3.85 ملغم)في حين لم تحقق معاملة المقارنة للاوكسين وعند التراكيز المختلفة من السايتوكانينات اي استجابة تذكر.

الجدول (4) تأثير تراكيز الـ 2,4-D و BA في الوزن الطري للكالس ملغم المستحث من القمة النامية بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

تركيز 2,4-D (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0.0	0.1	0.2	0.4	
0	0	0	0	0	0
1	1.70	2.50	2.66	2.75	2.40
2	2.35	3.40	3.80	3.85	3.32
3	2.18	2.48	2.55	1.88	2.27
4	2.10	1.65	1.32	1.20	1.54
$L.S.D_{0.05}$	0.11				0.04
المعدل	1.66	2.00	2.06	1.93	
$L.S.D_{0.05}$	0.06				

5-4-تأثير تراكيز 2,4-D و BA في الوزن الجاف للكالس ملغم المستحث من القمة النامية

تبين نتائج الجدول (5) إلى وجود فروق معنوية في الوزن الجاف للكالس باختلاف تراكيز الـ 2,4-D المضافة للوسط الغذائي، إذ تفوق الـ 2,4- D عند التركيز(2 ملغم لتر$^{-1}$)وأعطى أعلى وزن جاف للكالس بلغ(1.24 ملغم)الذي أختلف معنوياً عن بقية المعاملات ثم قلت الاستجابة بزيادة تركيز الاوكسين الى(3 و4 ملغم لتر$^{-1}$) بلغت (0.55 و 0.14 ملغم) على التوالي مقارنة بمعاملة المقارنة التي لم تسجل اي استجابة،وتشير نتائج الجدول نفسه إلى وجود فروق معنوية في الوزن الجاف للكالس باختلاف تراكيز الـ BA المضافة للوسط الغذائي فقد تفوق التركيز(0.2 ملغم لتر$^{-1}$)معنويا في تحقيق اعلى وزن بلغ(0.72 ملغم)مقارنة بمعاملة المقارنة التي حققت اقل وزن بلغ (0.25 ملغم). اما عن تأثير التداخل مابين تراكيز الاوكسين السايتوكاينين في الوزن الجاف للكالس فقد حقق التركيز(2 ملغم لتر$^{-1}$) من2,4-D عند التركيز(0.4 ملغم لتر$^{-1}$) من BA اعلى وزن بلغ (1.58 ملغم) في حين لم تحقق معاملة المقارنة للاوكسين وعند التراكيز المختلفة من السايتوكانينات اي استجابة تذكر.

الجدول (5) تأثير تراكيز الـ 2,4-D و BA في الوزن الجاف للكالس ملغم المستحث من القمة النامية بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

تركيز 2,4-D (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0.0	0.1	0.2	0.4	
0	0	0	0	0	0
1	0.17	0.87	1.08	1.20	0.83
2	0.46	1.42	1.51	1.58	1.24
3	0.35	0.74	0.92	0.20	0.55
4	0.27	0.16	0.09	0.03	0.14
$L.S.D_{0.05}$	0.10				0.03
المعدل	0.25	0.64	0.72	0.60	
$L.S.D_{0.05}$	0.06				

6-4- تأثير تراكيز 2,4-D و BA في الوزن الطري للكالس ملغم المستحث من البراعم

تبين نتائج الجدول (6) إلى وجود فروق معنوية عند اضافة الـ 2,4-D بتراكيزه المختلفة الى الوسط الغذائي المعد لاستحثاث الكالس من براعم نبات العنب، إذ تفوق الـ2,4- D عند التركيز (3 ملغم لتر$^{-1}$) وأعطى أعلى وزن طري للكالس بلغ(1.30 ملغم) في حين لم تعطي التراكيز الاخرى منه ومعاملة المقارنة اي استجابة،كما تشير نتائج الجدول نفسه إلى وجود فروق معنوية في وزن الكالس باختلاف تراكيز الـ BA المضافة للوسط الغذائي فقد تفوق التركيز(0.4 ملغم لتر$^{-1}$) معنويا في تحقيق اعلى وزن بلغ(0.35ملغم) والذي لم يختلف معنويا عن التركيز (0.2 ملغم لتر$^{-1}$) بلغ (0.30ملغم)مقارنة بمعاملة المقارنة التي حققت اقل وزن بلغ (0.13 ملغم). اما عن تأثير التداخل مابين تراكيز الاوكسين السايتوكاينين في الوزن الطري للكالس فقد حقق التركيز(3 ملغم لتر$^{-1}$) من2,4-D عند التركيز (0.4 ملغم لتر$^{-1}$) من BA اعلى وزن(بلغ 1.75 ملغم) في حين لم يحقق الـ 2,4-D عند التراكيز (1 و 2 ملغم لتر$^{-1}$)ومعاملة المقارنة وبالتداخل مع جميع تراكيز الـ BA اي استجابة تذكر.

الجدول (6) تأثير تراكيز الـ 2,4-D و BA في الوزن الطري ملغم للكالس المستحث من البراعم بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

تركيز 2,4-D (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0.0	0.1	0.2	0.4	
0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0.65	1.30	1.53	1.75	1.30
4	0	0	0	0	0
$L.S.D_{0.05}$	0.11				0.05
المعدل	0.13	0.26	0.30	0.35	
$L.S.D_{0.05}$	0.05				

4-7- تأثير تراكيز 2,4-D و BA في الوزن الجاف للكالس ملغم المستحث من البراعم

تبين نتائج الجدول (7) هناك تأثير معنوي للـ 2,4-D عند التركيز(3 ملغم لتر$^{-1}$)الذي اعطى وزن جاف للكالس بلغ (0.23 ملغم)في حين لم تحقق بقية التراكيز الاخرى ومعاملة المقارنة اي استجابة، اما عن تأثير تراكيز الـ BA في الصفة ذاتها فقد تفوق التركيز(0.4 ملغم لتر$^{-1}$)معنويا في تحقيق اعلى وزن بلغ (0.08ملغم)والذي لم يختلف معنويا عن التركيز(0.2 ملغم لتر$^{-1}$) بلغ (0.05)ملغم مقارنة بمعاملة المقارنة التي حققت اقل وزن بلغ(0.02 ملغم) اما عن تأثير التداخل مابين تراكيز الاوكسين السايتوكاينين في الوزن الجاف للكالس فقد حقق التركيز(3 ملغم لتر$^{-1}$)من2,4-D عند التركيز (0.4 ملغم لتر$^{-1}$)من BA اعلى وزن بلغ (0.40 ملغم)في حين لم يحقق الـ 2,4-D عند التراكيز(1 و 2و4 ملغم لتر$^{-1}$)ومعاملة المقارنة وبالتداخل مع جميع تراكيز الـ BA اي استجابة تذكر.

الجدول (7) تأثير تراكيز الـ 2,4-D و BA في الوزن الجاف للكالس ملغم المستحث من البراعم بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

تركيز 2,4-D (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0.0	0.1	0.2	0.4	
0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0.09	0.18	0.25	0.40	0.23
4	0	0	0	0	0
$L.S.D_{0.05}$	0.11				0.06
المعدل	0.02	0.04	0.05	0.08	
$L.S.D_{0.05}$	0.06				

يتضح من الجداول(2-3-4-5-6-7) بان القمة النامية هي الجزء الافضل لاستحثاث الكالس وقد يعزى السبب الى كون خلاياها مرستيمية نشطة ذات محتوى عالي من الاوكسين الذي يكون انتشاره وتوزيعه خلال النبات يكون من خلال انتقاله من المناطق المرستيمية لهذا فان تركيز الاوكسين يتناقص باستمرار كلما ابتعدنا عن القمة النامية وهذا سينعكس على استجابة القمة النامية وتفوقها على البراعم في استحثاث الكالس.

تفسر عملية استحداث الكالس على القطعة النباتي على أساس أن القطعة النباتية تمر بتغيرات معينة عند استحداث الكالس مثل التغير في الحجم والتركيب، فضلاً عن الزيادة في بعض العمليات البنائية المهمة، مثل بناء البروتين والحوامض النووية ففي مرحلة التحفيز تحدث تغيرات مهمة واساسية في الخلايا لتعدها لعملية الانقسام، وتحدث فيها العمليات البنائية مثل بناء البروتين وتضاعف الحامض النووي DNA، ومدة انجاز هذه المرحلة يعتمد بصورة رئيسة على عدة عوامل منها نوع النسيج للقطعة النباتية ، الوسط الغذائي، الظروف البيئية، يتبع هذه المرحلة تغير متتابع في الفعاليات الحيوية لهذه الخلايا تنتهي بانقسامها، وتكوين كتلة من خلايا الكالس تغطي معظم أجزاء القطعة النباتية (Huda وآخرون، 2020). ربما يعزى سبب استحثاث الكالس على سطح القطعة النباتية الى دور منظم النمو 2,4-D الذي يشجع تكوين الكالس وزيادة نموه كونه احد الاوكسينات التي لها دورٌ مهمٌ في تكوين ونمو الكالس، وأن زيادة التركيز تؤدي إلى تكوين الكالس وصولا للتركيز الأمثل وإن زيادة التركيز عن الحد الأمثل تؤدي إلى تأثيرات عكسية إذ أن إضافة منظمات النمو للوسط الغذائي تحفز استمرار الانقسام لنسيج الكالس، وان النسيج الخلوي بعد زراعته على الوسط الغذائي سوف يكون قادرا على تأسيس نظام هرموني داخلي، هذا النظام يحدد اتجاه التطور اللاحق بالتداخل مع منظمات النمو المضافة للوسط التي تكون بعد ذلك مسؤولة عن المحافظة على استمرار نشاط الانقسام الخلوي(Cavallaroوآخرون، 2022; Ahmed ،2022).

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

كما اشار عدد من الباحثين ان الزيادة في الوزن الطري والجاف للكالس هي انعكاس للتغيرات في المحتويات المختلفة لخلايا الجزء النباتي المزروع معتمدة على نموه في الوسط الغذائي المستعمل الذي يعتمد بالأساس على منظمات النمو المضافة، اذ يرافق عملية انقسام خلايا الكالس زيادة في المحتويات المهمة لإدامة

الانقسام والنمو مثل الكربوهيدرات والبروتينات والاحماض الامينية مع تغيرات داخلية تؤدي الى انقسام الخلايا (Bulyaوآخرون،2023).

إن فشل تكوين الكالس عند بعض التراكيز ومعاملة المقارنة قد يعود إلى أن محتوى الأجزاء النباتية من الهرمونات النباتية كانت قليلة لا تساعد على استمرارية انقسام الخلايا واستحداث الكالس، وقد يعود سبب تكوين الكالس عند المعاملة المجهزة بالتركيز(2 ملغم لتر$^{-1}$ و 0.2 ملغم لتر$^{-1}$ BA) إلى حصول حالة توازن هرموني ما بين المنظمات المضافة إلى الوسط مع الهرمونات الداخلية الموجودة داخل الجزء النباتي، وأن هذا المنظم ساعد على بدء انقسام الخلايا في منطقة تلامس القطعة النباتية مع الوسط الغذائي، ولاسيما الخارجية منها مع توافر العناصر الغذائية والأوكسجين الذي يساعد على عملية التنفس وتوفير الطاقة اللازمة لعملية الانقسام، إذ تعد هذه العوامل الرئيسة لإستحداث الكالس (Sandoval وآخرون،2010; Park وآخرون،2020).

اتفقت هذه النتيجة مع ماتوصل اليهMahdinezhadو Ghanbari، (2015) عند استحثاث الكالس من الانسجة القمية لصنف العنبSistan، ومع ماتوصل اليه Almukhtar،(bو 2017a) عند استحثاث الكالس من القمة النامية لنبات العنب صنف حلواني، ومع ماتوصل اليه Huiling وآخرون، (2017) عند استحثاث مزارع كالس نبات العنب *Vitis vinifera* وتحفيزهاعلى انتاج المركبات الفلافونويدية.

4-8- تأثير تراكيز 2,4-D و BA في تركيز مركب الـHesperdine

تبين نتائج الجدول (8) هناك فروق معنوية في تركيز مركب الـ Hesperdine التي قدرت في كالس نبات العنب بزيادة تراكيز الـ 2,4-D المضافة للوسط الغذائي (1، 2، 3، 4 ملغم لتر$^{-1}$ بلغت 36.56 و 44.39 و 58.38 و 64.99 مايكروغرام غم$^{-1}$)على التوالي في حين لم تحقق معاملة المقارنة اي استجابة تذكر، كما تشير نتائج الجدول نفسه إلى وجود فروق معنوية في تركيز المركب ذاته بزيادة تراكيز الـ BA المضافة للوسط الغذائي(0.1 و 0.2 و 0.4 ملغم لتر$^{-1}$) بلغت(38.69 و 44.76 و 46.94 مايكروغرام غم$^{-1}$)على التوالي في حين تحقق اقل تركيز عند معاملة المقارنة بلغ (33.06 مايكروغرام غم$^{-1}$). اما عن تأثير التداخل مابين تراكيز الاوكسين السايتوكاينين في تركيز مركب الـ Hesperdine فقد حقق التركيز(3 ملغم لتر$^{-1}$)من2,4-D عند التركيز(0.4 ملغم لتر$^{-1}$)من BA اعلى معدل بلغ(71.28مايكروغرام غم$^{-1}$)في حين حققت معاملة المقارنة للـ BA عند التركيز(1 ملغم لتر$^{-1}$)2,4-D اقل استجابة بلغت(31.00 مايكروغرام غم$^{-1}$).

الجدول (8) تأثير تراكيز الـ2,4-D وBA في تركيز مركب الـ Hesperdine (مايكروغرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

تركيز 2,4-D (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	0.1	0.2	0.4	
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1	31.00	36.02	38.14	41.10	36.56
2	37.15	40.25	47.18	53.00	44.39
3	43.05	51.11	68.08	71.28	58.38
4	54.13	66.10	70.42	69.33	64.99
$L.S.D_{0.05}$	3.19				2.09
المعدل	33.06	38.69	44.76	46.94	
$L.S.D_{0.05}$	1.87				

4-9- تأثير تراكيز 2,4-D و BA في تركيز مركب الـNarngnine

تبين نتائج الجدول (9) هناك فروق معنوية في تركيز مركب الـ Narngnine التي تم تقديرها في كالس نبات العنب بزيادة تراكيز الـ 2,4-D المضافة للوسط الغذائي1(، 2، 3، 4 ملغم لتر$^{-1}$ بلغت 34.01 و 45.83 و 58.05 و 62.56 مايكروغرام غم$^{-1}$)على التوالي في حين لم تحقق معاملة المقارنة اي استجابة تذكر، كما تشير نتائج الجدول نفسه إلى وجود فروق معنوية في تركيز المركب ذاته بزيادة تراكيز الـ BA المضافة للوسط الغذائي (0.1 و 0.2 و 0.4 ملغم لتر$^{-1}$)بلغت(39.53 و 43.94 و 43.92 مايكروغرام غم$^{-1}$)على التوالي في حين تحقق اقل تركيز عند معاملة المقارنة بلغ (32.98 مايكروغرام غم$^{-1}$)،اما عن تأثير التداخل مابين تراكيز الاوكسين السايتوكاينين في تركيز مركب الـ Narngnine فقد حقق التركيز(4 ملغم لتر$^{-1}$)من2,4-D عند التركيز(0.4 ملغم لتر$^{-1}$)من BA اعلى معدل بلغ (68.77مايكروغرام غم$^{-1}$)في حين حققت معاملة المقارنة للـ BA عند التركيز (1 ملغم لتر$^{-1}$)2,4-D اقل استجابة بلغت(30.63مايكروغرام غم$^{-1}$).

الجدول (9) تأثير تراكيز الـ2,4-D وBA في تركيز مركب الـ Narngnine (مايكروغرام غم$^{-1}$)لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

تركيز 2,4-D (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	0.1	0.2	0.4	
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1	30.63	34.06	35.27	36.09	34.01
2	38.00	42.15	53.17	50.00	45.83
3	46.08	54.40	67.00	64.75	58.05
4	50.21	67.05	64.30	68.77	62.56
$L.S.D_{0.05}$	5.46				3.23
المعدل	32.98	39.53	43.94	43.92	
$L.S.D_{0.05}$	2.89				

4-10- تأثير تراكيز 2,4-D و BA في تركيز مركب الـ Proanthocyanin

تبين نتائج الجدول (10) هناك فروق معنوية في تركيز مركب الـ Proanthocyanin التي قدرت في كالس نبات العنب بزيادة تراكيز الـ 2,4-D المضافة للوسط الغذائي(1، 2، 3، 4 ملغم لتر$^{-1}$ بلغت 31.58 و 41.78 و 52.70 و 55.63 مايكروغرام غم$^{-1}$)على التوالي في حين لم تحقق معاملة المقارنة اي استجابة تذكر، كما تشير نتائج الجدول نفسه إلى وجود فروق معنوية في تركيز المركب ذاته بزيادة تراكيز الـ BA المضافة للوسط الغذائي(0.1 و 0.2 و 0.4 ملغم لتر$^{-1}$ بلغت 34.07 و 38.58 و 42.22 مايكروغرام غم$^{-1}$)على التوالي في حين تحقق اقل تركيز عند معاملة المقارنة بلغ(30.47 مايكروغرام غم$^{-1}$). وعن تاثير التداخل الثنائي فقد تفوق التركيز(4 ملغم لتر$^{-1}$)من 2,4-D و(0.4 ملغم لتر$^{-1}$ من) BA في تحقيق اعلى معدل بلغ(66.00 مايكروغرام غم$^{-1}$)في حين تحقق اقل تركيز بلغ(27.19) لمركب Proanthocyanin عند التركيز (1 ملغم لتر$^{-1}$)2,4-D ومعاملة المقارنة للـ BA.

الجدول (10) تأثير تراكيز الـ2,4-D وBA في تركيز مركب الـ Proanthocyanin (مايكروغرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

تركيز 2,4-D (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	0.1	0.2	0.4	
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1	27.19	30.20	32.17	36.77	31.58
2	35.23	38.08	45.63	48.20	41.78
3	41.60	52.08	57.00	60.13	52.70
4	48.37	50.01	58.14	66.00	55.63
$L.S.D_{0.05}$	5. 85				3.01
المعدل	30.47	34.07	38.58	42.22	
$L.S.D_{0.05}$	2.54				

4-11- تأثير تراكيز 2,4-D و BA في تركيز مركب الـQuercetin

تبين نتائج الجدول (11) هناك فروق معنوية في تركيز مركب الـ Quercetin التي تم تقديرها في كالس نبات العنب بزيادة تراكيز الـ 2,4-D المضافة للوسط الغذائي(1، 2، 3، 4 ملغم لتر$^{-1}$ بلغت 41.88 و 56.91 و 75.36 و 71.89 مايكروغرام غم$^{-1}$)على التوالي في حين لم تحقق معاملة المقارنة اي استجابة، كما تشير نتائج الجدول نفسه إلى وجود فروق معنوية في تركيز المركب ذاته بزيادة تراكيز الـ BA المضافة للوسط الغذائي (0.1 و 0.2 و 0.4 ملغم لتر$^{-1}$ بلغت 47.34 و 52.35 و 53.70 مايكروغرام غم$^{-1}$)على التوالي في حين تحقق اقل تركيز عند معاملة المقارنة بلغ(43.24 مايكروغرام غم$^{-1}$)، وعن تاثير التداخل الثنائي فقد تفوق التركيز(3 ملغم لتر$^{-1}$)من 2,4-D و(0.4 ملغم لتر$^{-1}$)من BA في تحقيق اعلى معدل بلغ (80.00 مايكروغرام غم$^{-1}$)في حين تحقق اقل تركيز بلغ(38.70) لمركب Quercetin عند التركيز 1 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-D ومعاملة المقارنة للـ BA.

الجدول (11) تأثير تراكيز الـ2,4-D وBA في تركيز مركب الـ Quercetin (مايكروغرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

تركيز 2,4-D (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	0.1	0.2	0.4	
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1	38.70	37.55	43.18	48.09	41.88
2	44.16	54.08	63.25	66.17	56.91
3	66.20	75.10	80.15	80.00	75.36
4	67.15	70.00	75.18	75.25	71.89
$L.S.D_{0.05}$	3.92				2.76
المعدل	43.24	47.34	52.35	53.70	
$L.S.D_{0.05}$	1.45				

12-4-تأثير تراكيز 2,4-D و BA في تركيز مركب الـ Rutin

تبين نتائج الجدول (12) هناك فروق معنوية في تركيز مركب الـ Rutin التي تم تقديرها في كالس نبات العنب بزيادة تراكيز الـ 2,4-D المضافة للوسط الغذائي (1، 2، 3، 4 ملغم لتر$^{-1}$) بلغت (37.37 و 52.34 و 70.00 و 71.22 مايكروغرام غم$^{-1}$)على التوالي ،كما تشير نتائج الجدول نفسه إلى وجود فروق معنوية في تركيز المركب ذاته بزيادة تراكيز الـ BA المضافة للوسط الغذائي(0.1 و 0.2 و 0.4) ملغم لتر$^{-1}$ بلغت (44.08 و 49.56 و 51.04 مايكروغرام غم$^{-1}$)على التوالي في حين تحقق اقل تركيز عند معاملة المقارنة بلغ (40.04 مايكروغرام غم$^{-1}$). وعن تاثير التداخل الثنائي فقد تفوق التركيز(4 ملغم لتر$^{-1}$) من 2,4-D و (0.4 ملغم لتر$^{-1}$) من BA في تحقيق اعلى معدل بلغ (80.66 مايكروغرام غم$^{-1}$) في حين تحقق اقل تركيز بلغ (34.00 مايكروغرام غم$^{-1}$)لمركب Rutin عند التركيز(1 ملغم لتر$^{-1}$)2,4-D ومعاملة المقارنة للـ BA.

الجدول (12) تأثير تراكيز الـ2,4-D وBA في تركيز مركب الـ Rutin (مايكروغرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

تركيز 2,4-D (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز BA (ملغم لتر-1)				المعدل
	0	0.1	0.2	0.4	
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1	34.00	38.26	39.05	38.18	37.37
2	43.18	47.00	60.05	59.13	52.34
3	60.14	67.05	75.55	77.27	70.00
4	62.92	68.12	73.18	80.66	71.22
$L.S.D_{0.05}$	3.284				2.642
المعدل	40.04	44.08	49.56	51.04	
$L.S.D_{0.05}$	1.363				

4-13- تأثير تراكيز 2,4-D و BA في تركيز الكاربوهيدرات

تبين نتائج الجدول (13) هناك فروق معنوية في تركيز الكاربوهيدرات التي تم تقديرها في كالس نبات العنب بزيادة تراكيز الـ 2,4-D المضافة للوسط الغذائي (1، 2، 3 ملغم لتر$^{-1}$) بلغت (1.72 و 1.94 و 2.13ملغم غم$^{-1}$) على التوالي ثم قلت الاستجابة عند التركيز(4 ملغم لتر$^{-1}$) اذ حققت تركيز بلغ(1.78 ملغم غم$^{-1}$)في حين لم تحقق معاملة المقارنة اي استجابة، وعن تأثير تراكيز الـ BA المضافة للوسط الغذائي في معدل الصفة ذاتها فقد حقق التركيز(0.1 ملغم لتر$^{-1}$) اعلى استجابة بلغت (1.62)في حين حققت معاملة المقارنة اقل تركيز بلغ (1.41 ملغم غم$^{-1}$).اما عن تاثير التداخل الثنائي فقد تحقق اعلى تركيز للكاربوهيدرات بلغ(2.25 ملغم غم$^{-1}$) عند التركيز(3 ملغم لتر$^{-1}$) من 2,4-D و (0.2 ملغم لتر$^{-1}$) من BA، في حين تحقق اقل تركيز بلغ (1.40 ملغم غم$^{-1}$)عند التركيز(1 ملغم لتر$^{-1}$)2,4-D ومعاملة المقارنة للـ BA.

الجدول (13) تأثير تراكيز الـ2,4-D وBA في تركيز الكاربوهيدرات (ملغم غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

تركيز 2,4-D (ملغم لتر$^{-1}$)	تركيز BA (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	0.1	0.2	0.4	
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1	1.40	1.75	1.88	1.85	1.72
2	1.66	2.15	2.10	1.85	1.94
3	2.01	2.14	2.25	2.15	2.13
4	2.00	2.07	1.65	1.40	1.78
$L.S.D_{0.05}$	0.11				0.02
المعدل	1.41	1.62	1.57	1.45	
$L.S.D_{0.05}$	0.08				

من نتائج الجداول السابقة (8-13) حول تأثير إضافة تراكيز مختلفة من منظمات النمو إلى الوسط الغذائي المعد لتحفيز زيادة إنتاج المركبات الأيضية تبين أن هناك تأثير معنوي لمنظمات النمو D-2,4 و BA في زيادة تراكيز مركبات الفلافونويد، قد يعزى السبب الى دور منظمات النمو في زيادة الوزن الطري والجاف، وكذلك تركيز الكربوهيدرات، حيث يؤدي إلى زيادة النيتروجين المكون الأساسي لبناء الأحماض الأمينية، والذي تصنع منه المركبات الفعالة من خلال عمليات التخليق الحيوي للاحماض الأمينية الاساسية التي تعد بادئة أو مواد أولية لانتاجها وكذلك دور منظمات النمو في النشاط الأنزيمي للخلايا والحفاظ على استقرارها. وثباتية الاغشية الخلوية، وزيادة تمثيل ثاني أكسيد الكربون، وزيادة امتصاص العناصر الغذائية والمعدنية والماء، تسبب زيادة في العمليات الأيضية وإنتاج المركبات الثانوية(Verpoort،2000).اتفقت هذه النتائج مع ما توصل إليه Mohammed، (2014) عند دراسته تأثير منظمات النمو في زيادة إنتاج مركبات الفلافونويد في نبات النعناع الهر (القطرم) *Nepeta cataria*، وكذلك معLucioli وآخرون(2017) حول تأثير تراكيز مختلفة لكل من المثيل جاسمونت والساليسلك اسد لزارع الافرع الخضرية لصنفين من الخوخ *Prunus persica* و *Prunus salicina* وجد هناك تفوق معنوي عند التركيز(5 ملغم لتر$^{-1}$)من المثل جاسمونت في الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري وكذلك في انتاج مركب الانثوسيانين،

و مع نتائج Hamadو Majid، (2017) وجد زيادة معنوية في تركيز القلويدات في نبات القشطة *Annonamuricata*مع زيادة تراكيز منظمات نمو النبات المضافة إلى الوسط ، ومع نتائج-Al

Tamimi،(2018) وجد هناك تفوق معنوي في تركيز الزيوت الطيارة لنبات اكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* بزيادة تراكيز منظمات النمو المضافة إلى الوسط،وكذلك مع Seyed وآخرون، (2019) حول دراستهم عن تأثير اضافة تراكيز مختلفة من الفنيل الانين والمثل جاسمونت على نمو مزارع كالس العنب *Vitis vinifera* وانتاج الايض الثانوي، وجد هناك تفوق معنوي في النمو وانتاج المركبات الفلافونويدية مقارنة بمعاملة المقارنة. ومع ماتوصل اليه Diaa و Smetanska، (2022) وجد هناك زيادة معنوية في تركيز الفلافونويدات ومضادات الاكسدة المقدرة في مزارع كالس والخلايا المعلقة لنبات العوسج *Lycium schweinfurthii* بزيادة تراكيز منظمات النمو المضافة للوسط الغذائي.

14-4- تأثير نوع الاضاءة وتراكيز الفنيل الانين في الوزن الطري للكالس ملغم

تبين نتائج الجدول (14) هناك فروق معنوية في الوزن الطري للكالس باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوق الـ LED الملون وحقق اعلى وزن بلغ(3.70 ملغم) وحقق الـ LED الابيض وزن بلغ (2.97 ملغم)في حين حققت معاملة المقارنة (الفلورسنت) اقل وزن بلغ(2.38 ملغم).

كما تشير نتائج الجدول نفسه إلى وجود فروق معنوية في الوزن الطري للكالس بزيادة تراكيز الفنيل الانين المضافة للوسط الغذائي MS(5 و 10 و 15 ملغم لتر$^{-1}$)بلغت(2.69 و 3.09 و 3.52)ملغم على التوالي ثم قلت الاستجابة عند الوسط المجهز بالتركيز (20 ملغم لتر$^{-1}$) بلغت (3.30 ملغم)في حين حققت معاملة المقارنة اقل وزن بلغ(2.43 ملغم).

اما عن تأثير التداخل مابين نوع الاضاءة وتراكيز الفنيل الانين في الوزن الطري للكالس فقد حققت مصابيح الـ LED الملون عند الوسط الغذائي المجهز بالتركيز(15 ملغم لتر$^{-1}$) من الفنيل الانين اعلى وزن طري بلغ (4.47 ملغم) في حين بلغ اقل وزن عند معاملة المقارنة بلغت (1.85 ملغم).

الجدول (14) تأثير نوع الاضاءة و تراكيز الفنيل الانين في الوزن الطري للكالس (ملغم) المستحث من القمة النامية بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائيMS

نوع الاضاءة	تراكيز الفنيل الانين (ملغم لتر$^{-1}$)					المعدل
	0	5	10	15	20	
الفلورسنت	1.85	1.90	2.50	2.78	2.88	2.38
LED الابيض	2.40	2.75	3.17	3.30	3.25	2.97
LED الملون	3.05	3.41	3.60	4.47	4.01	3.70
$L.S.D_{0.05}$	0.30					0.12
المعدل	2.43	2.69	3.09	3.52	3.30	
$L.S.D_{0.05}$	0.17					

4-15- تأثير نوع الاضاءة وتراكيز الفنيل الانين في الوزن الجاف للكالس ملغم

تشير نتائج الجدول (15) هناك فروق معنوية في الوزن الجاف للكالس باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوق الـ LED الملون في تحقيق اعلى وزن جاف بلغ(2.01 ملغم) وحقق الـ LED الابيض وزن جاف بلغ(1.15 ملغم)في حين حققت معاملة المقارنة (الفلورسنت) اقل وزن بلغ(0.69 ملغم).

كما توضح نتائج الجدول نفسه إلى وجود فروق معنوية في الوزن الجاف للكالس بزيادة تراكيز الفنيل اذ تفوق التركيز (15 ملغم لتر$^{-1}$)من الفنيل الانين المضاف للوسط الغذائي MS في تحقيق اعلى وزن جاف للكالس بلغ (1.68 ملغم)والذي لم يختلف معنويا عن التركيز(20 ملغم لتر$^{-1}$ بلغ 1.60 ملغم) في حين حققت معاملة المقارنة اقل وزن جاف بلغ(0.84 ملغم).

اما عن تأثير التداخل مابين نوع الاضاءة وتراكيز الفنيل الانين في الوزن الطري للكالس فقد حققت مصابيح الـ LED الملون عند الوسط الغذائي المجهز بالتركيز(15 ملغم لتر$^{-1}$)من الفنيل الانين اعلى وزن جاف بلغ(2.55 ملغم) في حين بلغ اقل وزن عند معاملة المقارنة بلغت(0.51 ملغم).

الجدول (15) تأثير نوع الاضاءة و تراكيز الفنيل الانين في الوزن الجاف للكالس (ملغم) المستحث من القمة النامية بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

نوع الاضاءة	تراكيز الفنيل الانين (ملغم لتر$^{-1}$)					المعدل
	0	5	10	15	20	
الفلورسنت	0.51	0.53	0.75	0.81	0.84	0.69
LED الابيض	0.65	0.80	1.05	1.67	1.56	1.15
LED الملون	1.35	1.80	1.95	2.55	2.40	2.01
$L.S.D_{0.05}$	0.23					0.10
المعدل	0.84	1.04	1.25	1.68	1.60	
$L.S.D_{0.05}$	0.12					

4-16- تأثير نوع الاضاءة وتراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب الـ Hesperdine

تبين نتائج الجدول (16) هناك فروق معنوية في تركيز مركب الـ Hesperdine التي تم تقديرها في كالس نبات العنب باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوق الـ LED الملون في تحقيق اعلى تركيز بلغ(79.25 مايكروغرام غم$^{-1}$)في حين كان اقل تركيز عند معاملة المقارنة (الفلورسنت) بلغ (32.54 مايكروغرام غم$^{-1}$).

اما عن تأثير تراكيز الفنيل الانين المضافة للوسط الغذائي في تركيز الـ Hesperdine فقد اشارت بيانات الجدول ذاته هناك فروقات معنوية اذ تفوق التركيز(15 ملغم لتر$^{-1}$ بلغ 65.40 مايكروغرام غم$^{-1}$)والتي لم تختلف معنويا (20 ملغم لتر$^{-1}$ بلغ 64.06 مايكروغرام غم$^{-1}$)في حين حققت معاملة المقارنة اقل تركيز بلغ (42.05 مايكروغرام غم$^{-1}$). وعن تأثير التداخل مابين نوع الاضاءة وتراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب الـ Hesperdine فقد حققت مصابيح الـ LED الملون عند التركيز(15 ملغم لتر$^{-1}$)من الفنيل الانين اعلى تركيز بلغ (88.00 مايكروغرام غم$^{-1}$)في حين حققت معاملة المقارنة اقل تركيز(بلغ 25.30 مايكروغرام غم$^{-1}$).

الجدول (16) تأثير نوع الاضاءة و تراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب Hesperdine(مايكرو غرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

نوع الاضاءة	تراكيز الفنيل الانين (ملغم لتر$^{-1}$)					المعدل
	0	5	10	15	20	
الفلورسنت	25.30	30.33	33.05	35.00	39.01	32.54
LED الابيض	38.16	46.18	54.00	73.20	68.05	55.92
LED الملون	62.70	77.37	83.08	88.00	85.12	79.25
$L.S.D_{0.05}$	6.45					2.88
المعدل	42.05	51.29	56.71	65.40	64.06	
$L.S.D_{0.05}$	3.72					

4-17- تأثير نوع الاضاءة وتراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب الـ Narngnine

توضح نتائج الجدول (17) هناك فروق معنوية في تركيز مركب الـ Nargnine التي تم تقديرها في كالس نبات العنب باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح الـ LED الملون في تحقيق اعلى تركيز بلغ (74.91 مايكروغرام غم$^{-1}$)في حين كان اقل تركيز عند معاملة المقارنة (الفلورسنت) بلغ(32.26 مايكروغرام غم$^{-1}$). اما عن تأثير تراكيز الفنيل الانين المضافة للوسط الغذائي في تركيز مركب Narngnine فقد اشارت بيانات الجدول ذاته هناك فروقات معنوية اذ تفوق التركيز(15 ملغم لتر$^{-1}$ بلغ 64.46 مايكروغرام غم$^{-1}$)في حين حققت معاملة المقارنة اقل تركيز بلغ (41.49 مايكروغرام غم$^{-1}$). وعن تأثير التداخل مابين نوع الاضاءة وتراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب الـ Narngnine فقد حققت مصابيح الـ LED الملون عند التركيز(15 ملغم لتر$^{-1}$)من الفنيل الانين اعلى تركيز بلغ (87.20 مايكروغرام غم$^{-1}$)في حين حققت معاملة المقارنة اقل تركيز بلغ (23.09 مايكروغرام غم$^{-1}$).

الجدول (17) تأثير نوع الاضاءة و تراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب Narngnine (مايكرو غرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

نوع الاضاءة	تراكيز الفنيل الانين (ملغم لتر$^{-1}$)					المعدل
	0	5	10	15	20	
الفلورسنت	23.09	31.17	32.70	38.90	35.45	32.26
LED الابيض	36.37	42.14	50.20	67.27	70.00	53.20
LED الملون	65.02	72.13	70.05	87.20	80.13	74.91
$L.S.D_{0.05}$	5.79					2. 52
المعدل	41.49	48.48	50.98	64.46	61.86	
$L.S.D_{0.05}$	3.35					

4-18- تأثير نوع الاضاءة وتراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب الـ Proanthocyanin

تشير البيانات المدرجة في الجدول (18) هناك فروق معنوية في تركيز مركب الـ Proanthocyanin التي تم تقديرها في كالس نبات العنب باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح الـ LED الملون في تحقيق اعلى تركيز بلغ (73.87 مايكروغرام غم$^{-1}$)في حين كان اقل تركيز عند معاملة المقارنة (الفلورسنت) بلغ(32.34 مايكروغرام غم$^{-1}$) .اما عن تأثير تراكيز الفنيل الانين المضافة للوسط الغذائي في تركيز مركب Proanthocyanin فقد اشارت بيانات الجدول ذاته هناك فروقات معنوية اذ تفوق التركيز(20 ملغم لتر$^{-1}$ بلغ 62.10 مايكروغرام غم$^{-1}$)والذي لم تختلف معنويا عن التركيز(15 ملغم لتر$^{-1}$ بلغ 60.45 مايكروغرام غم$^{-1}$)في حين حققت معاملة المقارنة اقل تركيز بلغ (42.08 مايكروغرام غم$^{-1}$). وعن تأثير التداخل مابين نوع الاضاءة وتراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب الـ Proanthocyanin فقد حققت مصابيح الـ LED الملون عند التركيز(15 ملغم لتر$^{-1}$)من الفنيل الانين اعلى تركيز بلغ (85.40 مايكروغرام غم$^{-1}$)في حين حققت معاملة المقارنة اقل تركيز بلغ (26.11 مايكروغرام غم$^{-1}$).

الجدول (18) تأثير نوع الاضاءة و تراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب Proanthocyanin (مايكرو غرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

نوع الاضاءة	تراكيز الفنيل الانين (ملغم لتر$^{-1}$)					المعدل
	0	5	10	15	20	
الفلورسنت	26.11	29.70	34.17	36.50	35.25	32.34
LED الابيض	38.00	41.08	56.65	59.45	68.27	52.69
LED الملون	62.15	67.04	72.00	85.40	82.77	73.87
$L.S.D_{0.05}$	7.582					3.391
المعدل	42.08	45.94	54.27	60.45	62.10	
$L.S.D_{0.05}$	4.377					

4-19- تأثير نوع الاضاءة وتراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب الـ Quercetin

تشير البيانات المدرجة في الجدول (19) هناك فروق معنوية في تركيز مركب الـ Quercetin التي قدرت في كالس نبات العنب باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح الـ LED الملون في تحقيق اعلى تركيز بلغ (103.67 مايكروغرام غم$^{-1}$)في حين كان اقل تركيز عند معاملة المقارنة (الفلورسنت) بلغ (33.12 مايكروغرام غم$^{-1}$). اما عن تأثير تراكيز الفنيل الانين المضافة للوسط الغذائي في تركيز مركب Quercetin فقد اشارت بيانات الجدول ذاته هناك فروقات معنوية اذ تفوق التركيز(15 ملغم لتر$^{-1}$ بلغ 87.23 مايكروغرام غم$^{-1}$)والذي لم يختلف معنويا عن التركيز(20 ملغم لتر$^{-1}$ بلغ 87.15 مايكروغرام غم$^{-1}$)في حين حققت معاملة المقارنة اقل تركيز بلغ (47.33 مايكروغرام غم$^{-1}$). وعن تأثير التداخل مابين نوع الاضاءة وتراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب الـ Quercetin فقد حققت مصابيح الـ LED الملون عند التركيز(15 ملغم لتر$^{-1}$)من الفنيل الانين اعلى تركيز بلغ(126.13 مايكروغرام غم$^{-1}$)في حين حققت معاملة المقارنة اقل تركيز بلغ(23.05 مايكروغرام غم$^{-1}$).

الجدول (19) تأثير نوع الاضاءة و تراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب Quercetin (مايكرو غرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

نوع الاضاءة	تراكيز الفنيل الانين (ملغم لتر$^{-1}$)					المعدل
	0	5	10	15	20	
الفلورسنت	23.05	30.14	36.27	39.00	37.16	33.12
LED الابيض	43.85	56.00	70.95	96.55	105.60	74.59
LED الملون	75.09	88.15	110.29	126.13	118.70	103.67
$L.S.D_{0.05}$	8.897					3.979
المعدل	47.33	58.10	72.50	87.23	87.15	
$L.S.D_{0.05}$	5.137					

4-20- تأثير نوع الاضاءة وتراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب الـ Rutin

تشير البيانات المدرجة في الجدول (20) هناك فروق معنوية في تركيز مركب الـ Rutin التي تم تقديرها في كالس نبات العنب باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح الـ LED الملون في تحقيق اعلى تركيز بلغ (98.03 مايكروغرام غم$^{-1}$)في حين كان اقل تركيز عند معاملة المقارنة (الفلورسنت) بلغ (32.71 مايكروغرام غم$^{-1}$). اما عن تأثير تراكيز الفنيل الانين المضافة للوسط الغذائي في تركيز مركب Rutin فقد اشارت بيانات الجدول ذاته هناك فروقات معنوية اذ تفوق التركيز(20 ملغم لتر$^{-1}$ بلغ 85.36 مايكروغرام غم$^{-1}$)والذي لم تختلف معنويا عن التركيز(15 ملغم لتر$^{-1}$ بلغ 81.38 مايكروغرام غم$^{-1}$)في حين حققت معاملة المقارنة اقل تركيز بلغ(43.49 مايكروغرام غم$^{-1}$). وعن تأثير التداخل مابين نوع الاضاءة وتراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب الـ Rutin فقد حققت مصابيح الـ LED الملون عند التركيز(15 ملغم لتر$^{-1}$)من الفنيل الانين اعلى تركيز بلغ (121.00 مايكروغرام غم$^{-1}$)في حين حققت معاملة المقارنة اقل تركيز بلغ (21.36 مايكروغرام غم$^{-1}$).

الجدول (20) تأثير نوع الاضاءة و تراكيز الفنيل الانين في تركيز مركب Rutin (مايكرو غرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

نوع الاضاءة	تراكيز الفنيل الانين (ملغم لتر$^{-1}$)					المعدل
	0	5	10	15	20	
الفلورسنت	21.36	32.01	34.66	37.31	38.25	32.71
LED الابيض	40.33	53.75	65.40	85.83	97.71	68.60
LED الملون	68.78	75.01	105.24	121.00	120.13	98.03
$L.S.D_{0.05}$	8.675					3.880
المعدل	43.49	53.59	68.43	81.38	85.36	
$L.S.D_{0.05}$	5.009					

4-21- تأثير نوع الاضاءة وتراكيز الفنيل الانين في تركيز الكاربوهيدرات

تشير البيانات المبينة في الجدول (21) هناك فروق معنوية في تركيز الكاربوهيدرات التي تم تقديرها في كالس نبات العنب باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح الـ LED الملون في تحقيق اعلى تركيز بلغ (2.78 ملغم غم$^{-1}$)في حين كان اقل تركيز عند معاملة المقارنة (الفلورسنت) بلغ(1.52 ملغم غم$^{-1}$). كما اشارت بيانات الجدول ذاته هناك زيادة معنوية في تراكيز الكاربوهيدرات بزيادة تراكيز الفنيل الانين المضافة للوسط الغذائي من(5 و 10و 15 ملغم لتر$^{-1}$ بلغت 2.02 و 2.12 و 2.25 ملغم غم$^{-1}$)ثم قلت الاستجابة عند التركيز(20 ملغم غم$^{-1}$)بلغت (2.42 ملغم غم$^{-1}$)في حين كانت اقل نسبة عند معاملة المقارنة بلغت (1.84 ملغم غم$^{-1}$). اما عن تأثير التداخل مابين نوع الاضاءة وتراكيز الفنيل الانين في تركيز الكاربوهيدرات فقد حققت مصابيح الـ LED الملون عند التركيز(20 ملغم لتر$^{-1}$)من الفنيل الانين اعلى تركيز بلغ(3.15 ملغم غم$^{-1}$) في حين حققت معاملة المقارنة اقل تركيز بلغ(1.50 ملغم غم$^{-1}$).

الجدول (21) تأثير نوع الاضاءة و تراكيز الفنيل الانين في تركيز الكاربوهيدرات (ملغم غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائيMS

نوع الاضاءة	تراكيز الفنيل الانين (ملغم لتر$^{-1}$)					المعدل
	0	5	10	15	20	
الفلورسنت	1.50	1.44	1.38	1.60	1.68	1.52
LED الابيض	1.66	2.08	2.13	2.85	2.45	2.23
LED الملون	2.37	2.55	2.85	3.10	3.15	2.78
$L.S.D_{0.05}$	0.14					0.05
المعدل	1.84	2.02	2.12	2.52	2.42	
$L.S.D_{0.05}$	0.08					

استنادا لما تم عرضه من نتائج الجداول (14–21) يظهر بشكل عام ان هناك تفوقا معنويا عند اضافة الفنيل الانين الى والوسط الغذائي MS في الوزن الطري والجاف للكالس وتركيز المركبات الايضية يمكن تفسير ذلك بان الاحماض الامينية تعمل على تغيير الجهد الازموزي في النسيج النباتي فهي تقلل الجهد المائي مما يؤدي الى زيادة قابلية الخلايا على امتصاص الماء والعناصر وهذا يؤثر بشكل ايجابي في زيادة النمو وامتصاص المغذيات وربما هذا ينعكس على الوزن الطري والجاف للكالس،كذلك لها تأثيرات تنظيمية من خلال تأثيرها في البناء الحيوي لهرمون الجبرلين وتزود خلايا النبات بشكل فوري بمصدر النتروجين العضوي والذي يؤخذ من قبل الخلايا بسرعة اكبر من النتروجين غير العضوي، او يكون السبب ان بعض المركبات التي تسمى مواد النمو تتاثر بالاحماض الامينية وهي عموما تشبه الهرمونات في عملها اذ تتحكم باستخدام المواد الغذائية من اجل تطوير منسق ومتوازن للاجزاء النبات مما يؤثر في صفات النمو.كما توثر الاحماض الامينية على تكوين المركبات الفينولية ومشتقاتها والتي تشارك في تكوين مركبات متعددة الفينول (الفلافونيدات) وكذلك الاحماض الفينولية ومن ثم زيادة المواد الفعالة(ساجت ،2021). او قد يعزى سبب زيادة الوزن الطري والجاف للكالس باضافة الفنيل الانين يعودالى دور الاحماض الامينية في استمرارية العمليات الحيوية المؤدية الى انتاج المواد العضوية ومن ثم زيادة متراكمة في كتلةالخلايا النباتيةفضلا عن دورهكمحفز لنمو وتطوير نسيج الكالس على الجزء النباتي المزروعلذلك يبرز دوره في تقنية زراعة الانسجة ويؤثر ايضا على تراكم المركبات الايضية الثانوية(Ramawat، 2004).يتأثرالكالس بالنتروجين لذلك يضاف البادئ من الاحماض الامينية للوسط الزراعي لتزيد أنتاج الكالس لانها تزيد من العمليات الايضيه للنتروجين العضوي (Jassimو Hassan، 2018)

تعد الاحماض الامينية اللبنات الاساسية لبناء البروتين وهذا ينعكس على بناء بروتوبلازم الخلية وتكوين الانسجة النباتية كما ان لها دور حيوي هام في العديد من الوظائف الفسيولوجية كتنظيم التمثيل الغذائي ونقل وخزن النتروجين ولها اهمية في تحفيز نمو الخلايا من خلال تجهيزها بالنيتروجين والكاربون والطاقة والقيام بالفعاليات الحيوية (Nahed، 2010). تعد الاحماض الامينية بادئات للعديد من المسارات الحيوية لانتاج جزيئات حيوية ذات وظائف فسلجية هامة في النبات ولهذا فان تطور النمو يتاثر بالفنيل الانين بسبب امكانية تحويله phenylacetic acid (PAA) وهو احد اشكال الاوكسينات الطبيعية ويوجد في الانسجة النباتية بتراكيز مقارب لتركيز IAA ،والانزيم الذي يحول Indol-3 pyruvic acid الى IAA وهذا يدل ان الاوكسين اشتق من الفنيل الانين والذي يؤدي الى زيادة مؤشرات النمو (Sugawara وآخرون، 2015)او قد تعود زيادة مؤشرات النمو الى اهمية الفنيل الانين في بناء حامض الجبرليك من خلال توفير المادة الاساس في البناء الحيوي للجبرلينن وهو الحامض العضوي Acetate اذ ان هدم الحامض الاميني الفنيل الانين ينتهي بتكوين Acetate و Fumarate (Tamboli، 2012 ; العكايشي، 2020). على الرغم من ان معظم النباتات يمكنها تصنيع متطلباتها الاساسية من الاحماض الامينية لتكاثر الخلايا وتجديدها الا ان اضافة الاحماض الامينية الى وسط الاستنبات امر ضروري في نمو الخلايا وتكوين الانسجة(Hamdeni وآخرون، 2022). يتم امتصاص ونقل النتروجين العضوي الذي ياتي من الاحماض الامينية بسرعة اكبر من النتروجين غير العضوي بواسطة الخلايا و الانسجة النباتية كما ان النتروجين العضوي المشتق من الاحماض الامينية يتمتع بميزة انخفاض متطلبات الطاقة للنقلFaizy (وآخرون، 2024)، كما يشجع الفعاليات الحيوية وخصوصا الانقسام وتوسيع الخلايا ودوره في زيادة نشاط الانزيمات التي تعمل على تحلل المركبات العضوية وتحرر العناصر منها ومن ثم تزيد معدلات النمو،او المحتوى العالي من النتروجين في الاحماض الامينية اذ يعمل النتروجين على تحفيز النبات لانتاج الاوكسينات وتصنيع البروتين مما يشجع انقسام الخلايا واستطالتها(Shafeek وآخرون، 2012).

بينت الدراسات الحديثة ان النباتات يمكنها امتصاص وانتقال واستقلاب الفنيل المتوفر خارجيا بكفاءة الى مجموعة متنوعة من فنيل بروبانويدات التي تختلف بين النباتات واعضاء النبات نفسه، كما يؤدي الى زيادة مقاومة النباتات للمسببات المرضية من خلال ادواره في تحريض الجينات المرتبطة بجهاز المناعة النباتي(Kumariوآخرون، 2023)، كما يسبب زيادة انتاج المركبات الثانوية التي لها اهمية علاجية لذلك تفتح العديد من التطبيقات الممكنة منها زيادة انتاج المركبات الايضيه ذات الاهمية والفعالية الطبية كذلك تطوير المنتجات التجارية فضلا عن استخدامها كوسيلة صديقة للبيئة لتعزيز الانتاجية الزراعية (Wangوآخرون، 2021; Demirciوآخرون،2022).

اتفقت النتائج مع ماتوصل اليه Nay وآخرون، (2010) عند اضافة الفنيل الانين كبادئ بنائي الى مزارع انسجة العنب *Vitis vinifera*وبتراكيز مختلفة، ان التركيز 5 ملغم لتر$^{-1}$ حقق تفوق معنوي في انتاج

المركبات الفلافونويدية. ومع ماتوصل اليه Seyed وآخرون، (2019) عند اضافة تراكيز مختلفة من الفنيل الانين الى مزارع نمو كالس العنب *Vitis vinifera*وجد هناك زيادة في الوزن الطري والجاف للكالس وزيادة معنوية في المركبات الفلافونويدية بزيادة تراكيز الفنيل الانين المضافة للوسط الغذائي. ومع ماتوصل اليه Asmaaوآخرون، (2022) هناك زيادة معنوية في كمية المركبات فلافونويدية المقدرة بكالس نبات الخرفيش(شوكة مريم) *Silybum marianum*عند تزويد الوسط الغذائي بتراكيز مختلفة من الفنيل الانين.

4-22- تأثير نوع الاضاءة وتراكيز البراسينولايد في الوزن الطري للكالس ملغم

تشير نتائج الجدول (22) هناك فروق معنوية في الوزن الطري للكالس باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوق الـ LED الملون وحقق اعلى وزن بلغ(3.72 ملغم)وحقق الـ LED الابيض وزن بلغ (2.86 ملغم) في حين حققت معاملة المقارنة (الفلورسنت) اقل معدل بلغ (2.20 ملغم).

كما تشير نتائج الجدول نفسه إلى وجود فروق معنوية في الوزن الطري للكالس بزيادة تراكيزالبراسينولايد المضافة للوسط الغذائي MS (1 و 2 و 3 ملغم لتر$^{-1}$ بلغت 2.72 و 3.10 و 3.36 ملغم) على التوالي حين حققت معاملة المقارنة اقل وزن بلغ (2.52 ملغم) .

اما عن تأثير التداخل مابين نوع الاضاءة وتراكيز البراسينولايد في الوزن الطري للكالس فقد حققت مصابيح الـ LED الملون عند الوسط الغذائي المجهز بالتركيز(3 ملغم لتر$^{-1}$)من البراسينولايد اعلى وزن طري بلغ (4.25 ملغم) في حين بلغ اقل وزن عند معاملة المقارنة بلغت (1.85 ملغم) .

الجدول (22) تأثير نوع الاضاءة و تراكيز البراسينولايد في الوزن الطري للكالس (ملغم) المستحث من القمة النامية بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائيMS

نوع الاضاءة	تراكيز البراسينولايد (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	1	2	3	
الفلورسنت	1.85	1.93	2.35	2.65	2.20
LED الابيض	2.55	2.60	3.10	3.20	2.86
LED الملون	3.15	3.62	3.85	4.25	3.72
$L.S.D_{0.05}$	0.19				0.08
المعدل	2.52	2.72	3.10	3.36	
$L.S.D_{0.05}$	0.10				

23-4 - تأثير نوع الاضاءة وتراكيز البراسينولايد في الوزن الجاف للكالس ملغم

تشير نتائج الجدول (23) هناك فروق معنوية في الوزن الجاف للكالس باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوق الـ LED الملون وحقق اعلى وزن بلغ (1.41 ملغم) وحقق الـ LED الابيض وزن بلغ (0.87ملغم) في حين حققت معاملة المقارنة (الفلورسنت) اقل وزن بلغ (0.60 ملغم).

كما تشير نتائج الجدول نفسه إلى وجود فروق معنوية في الوزن الطري للكالس بزيادة تراكيزالبراسينولايد المضافة للوسط الغذائي MS(1 و 2 و 3 ملغم لتر$^{-1}$ بلغت 0.85 و 1.02و 1.21 ملغم)على التوالي في حين حققت معاملة المقارنة اقل وزن بلغ(0.76 ملغم).

اما عن تأثير التداخل مابين نوع الاضاءة وتراكيز البراسينولايد في الوزن الجاف للكالس فقد حققت مصابيح الـ LED الملون عند الوسط الغذائي المجهز بالتركيز(3 ملغم لتر$^{-1}$) من البراسينولايد اعلى وزن جاف بلغ (1.82ملغم) في حين بلغ اقل وزن عند معاملة المقارنة بلغت(0.51 ملغم).

الجدول (23) تأثير نوع الاضاءة و تراكيز البراسينولايد في الوزن الجاف للكالس (ملغم) المستحث من القمة النامية بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

نوع الاضاءة	تراكيز البراسينولايد (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	1	2	3	
الفلورسنت	0.51	0.55	0.61	0.72	0.60
LED الابيض	0.68	0.70	1.02	1.08	0.87
LED الملون	1.08	1.30	1.42	1.82	1.41
$L.S.D_{0.05}$	0.09				0.03
المعدل	0.76	0.85	1.02	1.21	
$L.S.D_{0.05}$	0.05				

4-24-تأثير نوع الاضاءة وتراكيز البروسينولايد في تركيز مركب الـ Hesperdine

تبين نتائج الجدول (24) هناك فروق معنوية في تركيز مركب الـ Hesperdine التي تم تقديرها في كالس نبات العنب باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوق الـ LED الملون في تحقيق اعلى تركيز بلغ (82.03 مايكروغرام غم$^{-1}$)في حين كان اقل تركيز عند معاملة المقارنة (الفلورسنت) بلغ (29.98 مايكروغرام غم$^{-1}$).

اما عن تأثير تراكيز البراسينولايد المضافة للوسط الغذائي في تركيز الـ Hesperdine فقد اشارت بيانات الجدول ذاته هناك فروقات معنوية اذ تفوق التركيز (3 ملغم لتر$^{-1}$) بلغ (66.80 مايكروغرام غم$^{-1}$)والتي لم تختلف معنويا (2 ملغم لتر$^{-1}$ بلغ 63.34 مايكروغرام غم$^{-1}$) في حين حققت معاملة المقارنة اقل تركيز بلغ (38.74 مايكروغرام غم$^{-1}$). وعن تأثير التداخل مابين نوع الاضاءة وتراكيز البراسينولايد في تركيز مركب الـ Hesperdine فقد حققت مصابيح الـ LED الملون عند التركيز(2 ملغم لتر$^{-1}$)من الفنيل الانين اعلى تركيز بلغ (97.25 مايكروغرام غم$^{-1}$)في حين حققت معاملة المقارنة اقل تركيز بلغ (22.00 مايكروغرام غم$^{-1}$

الجدول (24) تأثير نوع الاضاءة و تراكيز البراسينولايد في تركيز مركب Hesperdine (مايكرو غرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

نوع الاضاءة	تراكيز البراسينولايد (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	1	2	3	
الفلورسنت	22.00	30.03	32.76	35.14	29.98
LED الابيض	35.51	54.09	60.01	75.27	56.22
LED الملون	58.72	82.13	97.25	90.00	82.03
$L.S.D_{0.05}$	7.378				3.689
المعدل	38.74	55.42	63.34	66.80	
$L.S.D_{0.05}$	4.259				

25-4-تأثير نوع الاضاءة وتراكيز البراسينولايد في تركيز مركب الـ Nargnine

توضح نتائج الجدول (25) هناك فروق معنوية في تركيز مركب الـ Narngnine التي قدرت في كالس نبات العنب باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح الـ LED الملون في تحقيق اعلى تركيز بلغ (81.11 مايكروغرام غم$^{-1}$)في حين كان اقل تركيز عند معاملة المقارنة (الفلورسنت) بلغ (30.82 مايكروغرام غم$^{-1}$). اما عن تأثير تراكيز البراسينولايد المضافة للوسط الغذائي في تركيز مركب Narngnine فقد اشارت بيانات الجدول ذاته هناك فروقات معنوية اذ تفوق التركيز(3 ملغم لتر$^{-1}$ بلغ 67.87 مايكروغرام غم$^{-1}$) والذي لم يختلف معنويا عن التركيز(2 ملغم لتر$^{-1}$) الذي حقق تركيز بلغ (65.14 مايكروغرام غم$^{-1}$) في حين تحقق اقل تركيز والذي بلغ(40.78 مايكروغرام غم$^{-1}$) عند معاملة المقارنة، وعن تأثير التداخل مابين نوع الاضاءة وتراكيز البراسينولايد في تركيز مركب الـ Narngnine فقد حققت مصابيح الـ LED الملون عند التركيز(2 ملغم لتر$^{-1}$) من البراسينولايد اعلى تركيز بلغ(95.00 مايكروغرام غم$^{-1}$) في حين حققت معاملة المقارنة اقل تركيز بلغ(23.10 مايكروغرام غم$^{-1}$

الجدول (25) تأثير نوع الاضاءة و تراكيز البراسينولايد في تركيز مركب Narngnine (مايكرو غرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

نوع الاضاءة	تراكيز البراسينولايد (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	1	2	3	
الفلورسنت	23.10	28.05	35.13	37.00	30.82
LED الابيض	39.17	52.00	65.30	78.43	58.73
LED الملون	60.08	81.17	95.00	88.19	81.11
$L.S.D_{0.05}$	8.51				4.26
المعدل	40.78	53.74	65.14	67.87	
$L.S.D_{0.05}$	4.91				

4-26تأثير نوع الاضاءة وتراكيز البراسينولايد في تركيز مركب الـ Proanthocyanin

توضح نتائج الجدول (26) هناك فروق معنوية في تركيز مركب الـ Proanthocyanin التي تم تقديرها في كالس نبات العنب باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح الـ LED الملون في تحقيق اعلى تركيز بلغ (82.00 مايكروغرام غم$^{-1}$) في حين كان اقل تركيز عند معاملة المقارنة (الفلورسنت) بلغ (31.59 مايكروغرام غم$^{-1}$). اما عن تأثير تراكيز البراسينولايد المضافة للوسط الغذائي في تركيز مركب Proanthocyanin فقد اشارت بيانات الجدول ذاته هناك فروقات معنوية اذ تفوق التركيز(2 ملغم لتر$^{-1}$) بلغ (70.28 مايكروغرام غم$^{-1}$) والذي لم يختلف معنويا عن التركيز(3 ملغم لتر$^{-1}$)الذي حقق تركيز بلغ (67.83 مايكروغرام غم$^{-1}$) في حين تحقق اقل تركيز والذي بلغ (41.41 مايكروغرام غم$^{-1}$) عند معاملة المقارنة، وعن تأثير التداخل مابين نوع الاضاءة وتراكيز البراسينولايد في تركيز مركب الـ Proanthocyanin فقد حققت مصابيح الـ LED الملون عند التركيز(2 ملغم لتر$^{-1}$) من البراسينولايد اعلى تركيز بلغ (110.15 مايكروغرام غم$^{-1}$) في حين حققت معاملة المقارنة اقل تركيز بلغ (26.08 مايكروغرام غم$^{-1}$

الجدول (26) تأثير نوع الاضاءة و تراكيز البراسينولايد في تركيز مركب Proanthocyanin (مايكرو غرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

نوع الاضاءة	تراكيز البراسينولايد (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	1	2	3	
الفلورسنت	26.08	30.04	32.00	38.25	31.59
LED الابيض	37.40	44.75	68.70	75.13	56.50
LED الملون	60.75	67.00	110.15	90.10	82.00
$L.S.D_{0.05}$	10.07				5.03
المعدل	41.41	47.26	70.28	67.83	
$L.S.D_{0.05}$	5.81				

27-4-تأثير نوع الاضاءة وتراكيز البراسينولايد في تركيز مركب الـ Quercetin

توضح نتائج الجدول (27) هناك فروق معنوية في تركيز مركب الـ Quercetinالذي قدر في كالس نبات العنب باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح الـ LED الملون في تحقيق اعلى تركيز بلغ (99.05 مايكروغرام غم$^{-1}$) في حين كان اقل تركيز عند معاملة المقارنة (الفلورسنت) بلغ (33.96 مايكروغرام غم$^{-1}$). اما عن تأثير تراكيز البراسينولايد المضافة للوسط الغذائي في تركيز مركب Quercetin فقد اشارت بيانات الجدول ذاته هناك فروقات معنوية اذ تفوق التركيز (3 ملغم لتر$^{-1}$ بلغ 85.38 مايكروغرام غم$^{-1}$)في حين تحقق اقل تركيز والذي بلغ (46.73 مايكروغرام غم$^{-1}$)عند معاملة المقارنة، وعن تأثير التداخل مابين نوع الاضاءة وتراكيز البراسينولايد في تركيز مركب الـ Quercetin فقد حققت مصابيح الـ LED الملون عند التركيز(3 ملغم لتر$^{-1}$)من البراسينولايد اعلى تركيز بلغ(125.70مايكروغرام غم$^{-1}$)في حين حققت معاملة المقارنة اقل تركيز بلغ (24.77 مايكروغرام غم$^{-1}$

الجدول (27) تأثير نوع الاضاءة و تراكيز البراسينولايد في تركيز مركب Quercetin (مايكرو غرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

نوع الاضاءة	تراكيز البراسينولايد (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	1	2	3	
الفلورسنت	24.77	32.23	38.70	40.16	33.96
LED الابيض	40.28	58.20	73.00	90.28	65.44
LED الملون	75.14	90.13	105.23	125.70	99.05
$L.S.D_{0.05}$	6.45				3.22
المعدل	46.73	60.19	72.31	85.38	
$L.S.D_{0.05}$	3.72				

4-28تأثير نوع الاضاءة وتراكيز البراسينولايد في تركيز مركب الـ Rutin

توضح نتائج الجدول (28) هناك فروق معنوية في تركيز مركب الـ Rutin التي تم تقديرها في كالس نبات العنب باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح الـ LED الملون في تحقيق اعلى تركيز بلغ (94.51 مايكروغرام غم$^{-1}$) في حين كان اقل تركيز عند معاملة المقارنة (الفلورسنت) بلغ (34.52 مايكروغرام غم$^{-1}$). اما عن تأثير تراكيز البراسينولايد المضافة للوسط الغذائي في تركيز مركب Rutin فقد اشارت بيانات الجدول ذاته ان هناك فروقات معنوية اذ تفوق التركيز(3 ملغم لتر$^{-1}$ وبلغ 79.64مايكروغرام غم$^{-1}$) والذي لم يختلف معنويا عن التركيز(2 ملغم لتر$^{-1}$) الذي حقق تركيز بلغ (75.34 مايكروغرام غم$^{-1}$) في حين سجل اقل تركيز والذي بلغ (41.90 مايكروغرام غم$^{-1}$) عند معاملة المقارنة، وعن تأثير التداخل مابين نوع الاضاءة وتراكيز البراسينولايد في تركيز مركب الـ Rutin فقد حققت مصابيح الـ LED الملون عند التركيز(2 ملغم لتر$^{-1}$) من البراسينولايد اعلى تركيز بلغ (117.35مايكروغرام غم$^{-1}$) في حين حققت معاملة المقارنة اقل تركيز بلغ (24.30 مايكروغرام غم$^{-1}$

الجدول (28) تأثير نوع الاضاءة و تراكيز البراسينولايد في تركيز مركب Rutin (مايكرو غرام غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

نوع الاضاءة	تراكيز البراسينولايد (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	1	2	3	
الفلورسنت	24.30	31.17	39.60	43.00	34.52
LED الابيض	38.24	50.15	69.08	85.45	60.73
LED الملون	63.17	87.03	117.35	110.47	94.51
$L.S.D_{0.05}$	8.79				4.39
المعدل	41.90	56.12	75.34	79.64	
$L.S.D_{0.05}$	5.07				

4-29-تأثير نوع الاضاءة وتراكيز البراسنولايد في تركيز الكاربوهيدرات

تشير البيانات المبينة في الجدول (29) هناك فروق معنوية في تركيز الكاربوهيدرات التي قدرت في كالس نبات العنب باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح الـ LED الملون في تحقيق اعلى تركيز بلغ(2.91 ملغم غم$^{-1}$) في حين كان اقل تركيز عند معاملة المقارنة (الفلورسنت) بلغ (1.52ملغم غم$^{-1}$). كما اشارت بيانات الجدول ذاته هناك زيادة معنوية في تراكيز الكاربوهيدرات بزيادة تراكيز البراسينولايد المضافة للوسط الغذائي من(1 و 2 ملغم لتر$^{-1}$ بلغت 2.14 و 2.56 ملغم غم$^{-1}$) ثم قلت الاستجابة عند التركيز (3 ملغم غم$^{-1}$ بلغت 2.43 ملغم غم$^{-1}$) في حين كانت اقل نسبة عند معاملة المقارنة بلغت (1.88 ملغم غم$^{-1}$).

اما عن تأثير التداخل مابين نوع الاضاءة وتراكيز البراسينولايد في تركيز الكاربوهيدرات فقد حققت مصابيح الـ LED الملون عند التركيز(2 ملغم لتر$^{-1}$) من البراسينولايد اعلى تركيز بلغ (3.28 ملغم غم$^{-1}$) في حين حققت معاملة المقارنة اقل تركيز بلغ (1.25 ملغم غم$^{-1}$

الجدول (29) تأثير نوع الاضاءة و تراكيز البراسينولايد في تركيز الكاربوهيدرات (ملغم غم$^{-1}$) لكالس نبات العنب بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائيMS

نوع الاضاءة	تراكيز البراسينولايد (ملغم لتر$^{-1}$)				المعدل
	0	1	2	3	
الفلورسنت	1.25	1.44	1.75	1.67	1.52
LED الابيض	1.86	2.21	2.65	2.58	2.32
LED الملون	2.54	2.77	3.28	3.05	2.91
$L.S.D_{0.05}$	0.14				0.06
المعدل	1.88	2.14	2.56	2.43	
$L.S.D_{0.05}$	0.08				

كما اشارت نتائج الجداول (22–29) هناك تأثير معنوي بزيادة تراكيز البراسينولايد المضافة للوسط الغذائي في الوزن الطري والجاف للكالس وكذلك تركيز المركبات الفلافونويدية المقدرة في نسيج الكالس وقد يعزى سبب التفوق الى دورمنظم النمو البراسينولايد الذي يسلك سلوك شبيه بسلوك الجبرلين في انقسام واستطالة الخلايا او من خلال تحفيزه نمو واتساع الخلايا هذا من جهة ومن جهة اخرى فان البراسينولايد ينشط بعض الجينات المسؤولة عن تكوين RNA الموجودة في كروسومات الخلية وخاصة mRNA بالتالي ينشط الانزيمات المسؤولة على عملية الانقسام والاستطالة التي تحدث تغيراً في شكل وتركيب الخلاياوتعمل كمحفز لزيادة مركبات الايض الثانوي في النبات و تنشيط المسارات الايضية ومن ثم زياده نمو النبات (Nolanوآخرون، 2020).

او قد يعود السبب الى دوره في زيادة امتصاص الماء والعناصر الغذائية والمعدنية والاستفادة منها في نمو وتطور النبات كذلكان الهرمونات النباتية ومنها البراسينولايد تؤدي الى زيادة التمثيل الكاربوني وتوفيرالطاقة اللازمة لتكوين خلايا جديدة مما يزيد من نمو النبات وانعكاسه على زيادة الصفات الاخرى (Ahammed وآخرون، 2020) .

كما يعتقد بان البراسينولايد يشارك في مرونة جدار الخلية وبدوره يؤدي الى استطالة وانقسام الخلية و زيادة التمثيل الكاربوني والتي تؤدي الى زيادة الـ CO2 والذي يمثل العنصر الاساسي لبناء الكاربوهيدرات او ربما يعود لدوره في زيادة الهرمونات الداخلية في النبات مثل GA3 و Zeatin والتي تؤدي الى تحفيز النمو وتطوره وكذلك يعود الى دور الظروف البيئة الملائمة من درجة الحرارة والضوء المناسبتين التي تؤدي الى زيادة التمثيل الكاربوني ومن ثم تؤدي الى تحسين صفات النمو(ابو زيد،2000).

اتفقت هذه النتائج مع ماتوصل اليه Zehra، (2021) هناك تفوق معنوي في الوزن الطري والجاف وكذلك في انتاج المركبات الفينولية لكالس نبات العنب *Vitis vinifera*. ومع ماتوصلت اليه Ekhlas وآخرون، (2021) هناك تفوق معنوي في وزن الكالس وانتاج العديد من المركبات الفينولية لمزارع كالس نبات اللوبياء الشعاعية *Vigna Radiata* المزودة بتراكيزمختلفة من البراسينولايد.

اما عن تأثير نوع الاضاءة فقد اشارت نتائج الجداول (14 -29) هناك تفوق معنوي لمصابيح الـ LED الملونة مقارنة مع مصابيح الـ LED الابيض والفلورسنت في الوزن الطري والجاف للكالس وكذلك تركيز الفلافونويدات التي تم تقديرها في نسيج الكالس وقد يعزى السبب الى وجود الضوء الأحمر بنسبة عالية في مصابيح LEDالملونة ذات الأطوال الموجية التي تتراوح بين 110 -700 نانومتر وهي منطقة ذات اقصى امتصاص مما أثر ايجابا في زيادة النمو وزيادة العناصر الغذائية الضرورية لتكوين الاحماض الأمينية والعضوية اللازمة للبناء الحيوي للهرمونات النباتية، كما أن الضوء الأحمر يطيل من مرحلة الأنقسام الخلوي وبذلك يزيد من أنقسام واستطالة الخلايا (Sprinchana و Butenko، 1991)،هذا وأن مصابيح LED الحمراء والزرقاء مع وجود الضوء الأحمر بنسبة عالية حفزتكوين السايتو كاينين وكذلك الجبرلينات وهذه الهرمونات مسؤولة عن زيادة أنقسام واستطالة الخلايا النباتية وهذه الزيادة جاءت من زيادة امتصاص عنصر النتروجين الذي بدوره يساعدعلى زيادة تكوين الأحماض الأمينية ومنها Mevalonic acid البادئ لتكوين الجبرلين وكذلك تكوين القواعد النتروجينية و Purine المهم في تكوين السايتوكاينين وبمساعدة مركبات الطاقة المتكونة ، علاوة على أن الضوء يؤثر في بناء وانتقال الهرمونات ويستحث بناء الهرمونات الداخلية وأن نوع الضوء يؤثر في اختزال منظمات النموالخارجية، كذلك له علاقة في ارتباط بين نشاط الفايتوكروم ونشاط الجبرلين لأنه صبغة الفايتوكروم تنشط عند تعريضها للضوء الأحمر مما زاد من نشاط الجبرلين، وربما زيادة محتوى الاوكسين تحت الضوء الأحمر والأزرق والذي يرجع للضوء الأحمر الذي يعمل على تكوين مركب Quercetin المثبط لأنزيم IAA Oxidase (بإصلاح، ١٩٩٨).وزيادة امتصاص منظمات النمو خصوصا ا لسايتوكانينات (الحميداوي وحمد،2016)، اما وجود الضوء الأزرق في هذه المصابيح يوثر على تكوين المركبات الثانوية والفعالة داخل الخلايا لأنه أساس بناءها هو مركبات الأيض الأولي فضلاً عن أنه الهرمونات تشجع بعض الأنزيمات التي لها أثر في بناء المركبات الفعالة داخل الخلايا النباتية.وهذا يتفق مع كل من (Gupta و Karmakar، 2017)

يمكن ان يعلل سبب تفوق مصابيح LED الملونة وذلك لدور الاضاءة المباشره في زيادة انتاجية الخلايا من المركبات الرئيسة اذ ان شدة الاضاءة العالية التي يسلطها ال LED لها دور حتمي في زيادة معدل امتصاص الصبغات للضوءوالتي تعتمد على شدة وطول مدة الاضاءة وتعد من العوامل المهمة في الاكثار الدقيق (الصميدعي ،2017).اما في ما يخص الضوء الابيض وتأثيره على الزيادة الحاصلة في المركبات الايضية لأن الضوء الابيض يحتوي على جميع الاطوال الموجية التي تدخل في العديد من العمليات الفسلجية للخلايا

وقد تعزى هذه الزيادة الى احد هذه الأطوال كان يكون الاخضر او البنفسجي والتي قد تعمل على تحفيز بناء هذا المركبات(Tariq وآخرون، ٢٠١٤).ويحتمل أن يكون سبب الزيادة ناتج عن عملية الاجهاد الحراري لان الاجهادات تسبب زيادة انتاج مركبات الايض الثانوي وذلك لأن الإضاءة البيضاء تكون اكثر انبعاث لدرجات الحرارة من الإضاءة الاحادية LED (Yeh و Chung، 2009).

كما يمكن ان يكون السبب هو ماتمتاز به هذه المصابيح اذ ان مقدار شدة الاضاءة الناتج منها اعلى من الاضاءة الاعتيادية كونها تحول20% من الطاقة الكهربائية الى ضوء اما الفلورسنت يحول حوالي4% ويشتت الباقي كحرارة لذلك يقل الضوء الذي يستلمه الجزء المنمى على الوسط الغذائي ومن ثم ينعكس على طبيعة النموكذلك اشتراكه في ايض الانزيمات والتكون الشكلي (نايف، 2019 ;Murthy وآخرون، 2024).

اتفقت هذه النتائج مع دراسة Jing وآخرون، (2020) عن تاثير نوع الاضاءة في تركيز المركبات الايضية في كالس نبات العنب، وجد هناك تفوق معنوي في تركيز الفلافونويدات الكلية وكذلك الجينات المسؤولة عن تصنيعها. وكذلك مع ماتوصل اليه Mariam، (2021) عند دراستهم عن تاثير عدة مصادر للاضاءة على مزارع كالس عدة انواع من النباتات الطبية، تفوقت مصابيح الـ LED الملونة في زيادة تركيز المركبات الفلافونويدية والكاروتين ومضادات الاكسدة مقارنة بالضوء الابيض والفلورسنت والـ UV. وكذلك مع ماتوصل اليه Ahmed وآخرون، (2021) هناك تاثير معنوي للمصابيح الملونة في وزن كالس نبات الجنكو *Ginkgo biloba*وانتاج الفينولات الكلية والفلافونويدات.

5-الاستنتاجات والتوصيات:

5-1 - الاستنتاجات

في ظل النتائج المستحصل عليها من الدراسة التي اجريت على نبات العنب يمكن استنتاج ماياتي:-

1-التعقيم باستخدام هايبوكلورات الصوديوم وبتركيز1.5% ولمدة 10 دقائق هي افضل توليفة لتعقيم الاجزاء النباتية واعتمادها كمنطلق في تاسيس مزارع الكالس.

2-تفوق القمة النامية على البراعم بالاستجابة العالية لاستحثاث الكالس.

3-وجد ان اضافة منظمات النمو الى الوسط الغذائي في زراعة الانسجة النباتية والتوازن فيما بينها وصولا الى اعلى تأثير ايجابي لتحقيق الهدف المنشود.فقد وجد ان 2-4-Dو BA وبتراكيز معينة اعطت اعلى استجابة للوزن الطري والجاف للكالس المستحث من القمة النامية وزيادة انتاج مركبات الايض الثانوي .

4-وجد ان LED الملون اثر في نمو الكالس ومن ثم ينعكس على المحتوى من المركبات الفعالة.

5-تزويد الوسط الغذائي بالفنيل الانين والبراسينولايد وبتراكيز مختلفة اثر معنويا في مؤشرات النمو ومركبات الايض الثانوي.

5–2 التوصيات

1-توظيف تقانة زراعة الانسجة النباتية في زيادة انتاجية النبات من مركبات الايض الثانوي واكثار نباتات طبية اخرى خصوصا التي يصعب اكثارها بالحقل والمهمة صيدلانيا.

2-المعاملة بانواع اخرى من المحفزات والبوادى الكيميائية وبتراكيز مختلفة وذلك لدورها الفعال في انتاج المركبات الايضية الثانوية.

3-اجراء دراسة حول العوامل الفيزيائية الاخرى مثل المغنطة، اشعةكاما، الليزر، درجاتالحرارة، درجة الحموضة العالية او المنخفضة.

4-اجراء دراسة للمقارنة بين الكالس والنموات الخضرية من حيث انتاج المركبا ت الفعالة.

5-دراسة تأثير منظمات النمو الاخرى المضافة للوسط الغذائي على محتوى النبات من المركبات الايضية وزيادة تراكيزها.

6-المصادر:

6-1المصادر العربية

ابراهيم، كاظم محمد (2017).تطبيقات في التقانات الاحيائيه. جامعة النهرين، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، بغداد - العراق.

ابراهيم ، انتصار رزاق (2017). الاكثار الدقيق وانتاج بعض المركبات الكيميائية لنبات شجرة الحياة *Moringa oleifera Lam* خارج الجسم الحي .اطروحة دكتوراة – كلية الزراعة- جامعة بغداد..

ابو زيد ، الشحات نصر (2000) الهرمونات النباتية والتطبيقات الزراعية.الطبعةالثانية.الدار العربية للنشر والتوزيع .مصر.

الاسدي، ماهر حميد سلمان وعلي حسين جاسم الخيكاني (2019). الهرمونات النباتية وتأثيراتها الفسلجية

ألحميداوي،حوراء كاظم ومحمد شهاب حمد (2016).تأثيرالطيف الضوئي ونفثالين حامض الخليك في تجذير افرع صنفين من الجيربرا خارج الجسم الحي.مجلة العلوم الزراعية العراقية 47(3):690-697

ألخفاجي ،مكي علوان (2014). منظمات النمو النباتية وتطبيقاتها واستعمالاتها البستنية . الدار الجامعية للطباعة والنشر والترجمة .كلية الزراعة .جامعة بغداد ،وزارة التعليم العالي والبحث العملي .العراق.

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

ألساهوكي ، مدحت و وهيب ، كريمه احمد (1990) . تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي/جمهورية العراق

ألسعيدي ، ابراهيم حسن . (2000). انتاج الاعناب (الجزء الاول) . دار الكتب للطباعة والنشر . جامعة الموصل .العراق.

ألسعيدي ، ابراهيم حسن محمد (2014) . تصنيف الاعناب . دار الوضاح للنشر وعشتار للاستثمارات الثقافية .المملكة الردنية الهاشمية.عمان.543ص.

الصالحي ، قيس جميل والصميدعي ، كاظم محمد (2014) .تقانات النبات الاحيائية ،دار الكتب والوثائق ببغداد،هيئة التعليم التقني.العراق.

الصحاف ، فاضل حسين (1989) . تغذية النبات التطبيقي . جامعة بغداد . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.العراق.

ألصميدعي ، كاظم محمد (2017) . تطبيقات في التقانات الاحيائية النباتية.الطبعة الاولى،الجزء الاول.الدار الجامعية للطباعة والنشر والترجمة . جامعة النهرين ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . جمهورية العراق.364صفحة.

ألعكايشي.زينب حسين عليوي (2020).تأثير المصدر النتروجيني وphenylalanine في مؤشرات النمو الفسلجية والجزيئية ومحتوى الزيت الطيار لنبات الريحان .Ocimum basilicum L . اطروحة دكتوراه.كلية التربية للبنات.جامعة الكوفة .جمهورية العراق.

باصلاح ، محمد عمر عبد الله (1989) . منظمات النمو النباتية والتشكل الضوئي . قسم النبات والاحياء الدقيقة. كلية العلوم جامعة الملك اسعود. السعودية

جمال الدين،فهمي احمد(2010).موسوعة النباتات الطبية.الطبعة الثانية.منشاة المعارف.الاسكندرية.جمهورية مصر العربية

حسام ، سعد الدين محمد والنعيمي ، جبار حسن (2006) . بعض العوامل المؤثرة في نشوء الزروعات للسدر .*Zizyphus mauritiana L*خارج الجسم الحي Iraqi Journal of Agricultural Sciences, 37(1).

راشد ، ايمان حسين (2020) ، تأثير المناخ في زراعة وانتاج محصول العنب في محافظة واسط، رسالة ماجستير(غ.م)،كلية التربية_ابن رشد للعلوم الانسانية_جامعة بغداد،ص17.

ساجت ، ثمينة فرحان كاظم (2021) .. تأثير التسميد بالمخصب الحيوي والرش بمستخلص الشمبلان وPhenylalanine في نمو وحاصل الشبنت ومحتواه من الزيت وبعض مركبات الفعالة.اطروحة دكتوراه.قسم البستنة .كلية الزراعة.جامعة الكوفة.

كاظم ، عبد العظيم (1985). علم فسلجة النبات. الجزء الثاني. وزارة التعليم العالي والبحث العلمية جامعة الموصل. 1058 صفحة.

نايف ، مكي نعمان (2019) . تأثير نظام الغمر المؤقت باستعمال المفاعل الحيوي ومصدر الاضاءة في الاكثار الدقيق لنخيل التمر . اطروحة دكتوراه . كلية الزراعة . جامعة الكوفة . جمهورية العراق.

2-6المصادر الاجنبية

Abebe, H. (2017). Effect of cane length and rooting media on rooting and shoot growth of grape (Vitis vinifera L.) stem cuttings at raya valley, northern Ethiopia (Doctoral dissertation).

Ahammed, G.J; Li, X Liu, A; Chen, S; (2020). Brassinosteroids in plant tolerance to abiotic stress. J. Plant Growth Regul. 1–14. https://doi.org/10.1007/s00344-020- 10098-0.

Ahmed, E; Z. Hassan; M.A. Eissa and Sh. Ullah. (2021). Effect of chitosan and light conditions on the production of callus biomass, total flavonoids and total phenolics in Ginkgo biloba L. Al-Azhar Journal of Agricultural Research, 46(1):28-42.

Ahmed, Y. M. (2022). Effect of Growth Regulators on Callus Formation and Alkaloids Production on Vinca Rosea Plant (Catharanthus Roseus L.). Journal of Biotechnology and Bioinformatics Research. SRC/JBBR-155. DOI: doi. org/10.47363/JBBR/2022 (4), 153 .

Almukhtar, S. A. (2017 a). Effect of Growth Regulators and Irradiation and Methyl Jasmonte in the Induction and Production of Flavonoids in Callus of VitisVinifera In-Vitro, Journal of Global Pharmacy Technology. 12(09):446-45.

Almukhtar, S. A. (2017 b). Effect of growth regulators and sucrose on the induction and production of flavonoids in callus of Vitisvinifera (L.) in vitro, Pak. J. Biotechnol. Vol. 14 (4) 803-809.

Al-Tamimi,Z.M.A.H. (2018). The effect of magnetic fields and plantgrowthregulators on the multiplication and concentration of volatile oils oftheRosmarinus officinalis plane in vitro. Master's thesis, College of Agriculture, University of Baghdad.

Anjum, S; and Abbasi, B. H. (2016). Biomimetic synthesis of antimicrobial silver nanoparticles using in vitro-propagated plantlets of a medicinally important endangered species:Phlomis bracteosa. International journal of nanomedicine, 1663-1675.

Arafa, N. M; Ibrahim, M. M; and Aly, U. I. (2015). Evaluation of total phenolic contents and antioxidant activity of carrot callus extracts as affected by phenylalanine precursor. Plant Tissue Culture and Biotechnology, 25(2), 207-221.

Arieswari, N. N. N; Astarini, I. A; Astiti, N. P. A., and Pramana, J. (2018). In Vitro callus induction of 'Shiraz'Grape (Vitis vinifera L.) using different medium and growth regulator combination. International Journal of Biosciences and Biotechnology, 6(1), 25-33.

Arvas, Y.E; Aksoy, H.M; Kaya, Y; (2018). Patates bitkisinde biyoteknolojik çalışmalar, International Journal of Life Sciences and Biotechnology, 1(1): 37-47.

Asha, J. and Y. Bansal. (2014). In vitroproduction of flavonoids: A review, WorldJournal of Pharmacy and pharmacy euticalsciences, 3 (6): 508-533.

AsmaaM. K. ; E. Abd-ElShafy ; R. Abu-Khudir and R.M. Gaafar(2022) Influence of gamma radiation and phenylalanine on secondary metabolites in callus cultures of milk thistle (*Silybum marianum* L.). Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, Volume 20, Issue 1, 166.

Babalik, Z. (2021). Increasing of phenolic compounds by brassinosteroid applications in immobilized cell suspension cultures of Vitis vinifera L. cv. Cinsault. Journal of Agricultural Sciences, 27(3), 298-303.

Babalık, Z; Demirci, T; Aşcı, Ö. A; and Baydar, N. G. (2020). Brassinosteroids modify yield, quality, and antioxidant components in grapes (Vitis vinifera cv. Alphonse Lavallée). Journal of Plant Growth Regulation, 39, 147-156.

Bajwa, M. N; Khanum, M; Zaman, G; Ullah, M. A; Farooq, U; Waqas, M; and Abbasi, B. H. (2023). Effect of wide-spectrum monochromatic lights on growth, phytochemistry, nutraceuticals, and antioxidant potential of in vitro callus cultures of moringa oleifera. Molecules, 28(3), 1497.

Barros, J; and Dixon, R. A. (2020). Plant phenylalanine/tyrosine ammonia-lyases. *Trends in plant science*, *25*(1), 66-79.

Batista, D. S. S. H. ; Felipe, T. D. ; Silva, K. M. ;de Castro, T. C. ; Mamedes-Rodrigues, N. A. ; Miranda, A. M. ; Ríos-Ríos, D. V. ; Faria, E. A. ; Fortini, K. ; Chagas, G. ;Torres-Silva, A. ; Xavier, A. D. ;Arencibia, and Otoni, W. C. (2018). Light quality in plant tissue culture: does it matter?. In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant,. 54(3):195-215

Bayraktar, M; Naziri, E; Karabey, F; Akgun, I.H; Bedir, E; Röck-Okuyucu, B; Gurel, A; (2018). Enhancement of stevioside production by using biotechnological approach in in vitro culture of Stevia rebaudiana.

International Journal of Secondary Metabolite. 2018, Vol. 5, No. 4, 362-374 .

Bons, H. K; & Kaur, M. (2020). Role of plant growth regulators in improving fruit set, quality and yield of fruit crops: a review. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 95(2), 137-146.

Buljeta, I; Pichler, A; Šimunović, J; and Kopjar, M. (2023). Beneficial effects of red wine polyphenols on human health: comprehensive review. Current issues in molecular biology, 45(2), 782-798.

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

Çakal, E., and Akı, C. Ü. N. E. Y. T. (2021). Effects of Plant Growth Regulators on the In Vitro Cultures of Vitis viniferaL. International Journal of Scientific and Technological Research, 7.(4)

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

Chandana, B. C; Nagaveni, H. C; Lakshmana, D; Kolakar, S. S; and Heena, M. S. (2018). Role of plant tissue culture in micropropagation, secondary metabolites production and conservation of some endangered medicinal crops. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 7(3S), 246-251.

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

Chen, S., Wang, X; Cheng, Y; Gao, H; and Chen, X. (2023). A review of classification, biosynthesis, biological activities and potential applications of flavonoids. Molecules, 28(13), 4982.

Ciumărnean, L; Milaciu, M. V; Runcan, O; Vesa, Ș. C; Răchișan, A. L., Negrean, V; and Dogaru, G. (2020). The effects of flavonoids in cardiovascular diseases. *Molecules*, *25*(18), 4320.

Creasy, G.L and Creasy L. (2018). Grapes, 2nd Edition.IN: Crop Production Science in Horticulture series, Ser.28.395 pages. cabi.uk.

Dabrowski, P; M. D. Cetner; I. A. Samborska and Kalaji, M. H. (2015). Measuring light spectrum as a main indicator of artificial sources quality. Journal of Coastal Life Medicine, 3(5) : 398 404.

Delgoda, R; and Murray, J. E. (2017). Evolutionary perspectives on the role of plant secondary metabolites. In *Pharmacognosy* (pp. 93-100). Academic Press.

Demirci, T; Albayrak, İ; and Göktürk Baydar, N. (2022). L-phenylalanine applications and culture duration affect root growth and production of tropane alkaloids and phenolics in adventitious root cultures of Hyoscyamus niger L. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 1-17.

Diaa, M.and I. Smetanska. (2022). Optimization of Callus and Cell Suspension Cultures of *Lycium schweinfurthii* for Improved Production of Phenolics, Flavonoids, and Antioxidant Activity. *Horticulturae* , *8*(5), 394.

Dixon, R. A., Achnine, L., Kota, P., Liu, C. J., Reddy, M. S., and Wang, L. (2002). The phenylpropanoid pathway and plant defencea genomics perspective. Molecular plant pathology, 3(5), 371-390.

Efferth,T. (2019). Biotechnology Applications of Plant Callus Cultures. Engineering, 5(1): 50-59.

Ekhlas, A. J. ; H. A. AL-Saady and W. A. AL-Kaisy .(2021). In Vitro Detection of Some Active Compounds in Stressed Callus of Mungbean (*Vigna Radiata* L.). IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 923 , 012048.

Elshafie, H. S., Camele, I., and Mohamed, A. A. (2023). A comprehensive review on the biological, agricultural and pharmaceutical properties of secondary metabolites based-plant origin. International Journal of Molecular Sciences, 24(4), 3266.

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

Faizy, W. S; Bashi, A. Z. K; and Toma, R. S. (2024). Some Amino Acids Affect the Response of Grape (Vitis vinifera L.) Single Nodules In Vitro Multiplication. Basrah Journal of Agricultural Sciences, 37(1), 149-163

Farshad, F. and D. Kahrizi. (2016). Effect of Light Spectrum and Intensity on Growth of Grape (Vitis vinifera) UnderIn Vitro Conditions. Journal of Applied Biotechnology Reports, Volume 3, Issue 4, 495-499.

F**ernandes, L; Casal, S; Cruz, R; Pereira, J. A; and Ramalhosa, E. (2013).**Seed oils of ten traditional Portuguese grape varieties with interesting chemical and antioxidant properties. Food Research International, 50(1), 161-166.

Gastón G; R. Mateluna-Cuadra; I. Díaz-Gálvez,; N. Mejía, and N. Verdugo-Vásquez. (2021). Methyl Jasmonate Applications in Viticulture: A Tool to Increase the Content of Flavonoids and Stilbenes in Grapes and Wines. J.*Horticulturae*, *7*(6), 133

Gohari, G; Freydoni, S; Panahirad, S; Sepehri, N; and Dadpour, M. R. (2021). Foliar application of phenylalanine on nutritional value in Vitis vinifera var. Hosseini. Journal of Food Research, 30(4), 109-121

Gonda, I; Davidovich-Rikanati, R; Bar, E; Lev, S; Jhirad, P; Meshulam, Y; and Lewinsohn, E. (2018). Differential metabolism of L–phenylalanine in the formation of aromatic volatiles in melon (Cucumis melo L.) fruit. Phytochemistry, 148, 122-131.

Goodwin, T. W. and E. I. Mercer.(1985). Introduction to plant Biochemistry. Second eddition. Pergamon press. Oxford. New York. Toronto. Sydney. Paris. Frank Furt. pp. 677

Guimara MMR, Mello SdC, de Freitas IS, Silveira FF, Alves MC, Azevedo RA. (2022). Supplemental light with different blue and red ratios in the physiology, yield and quality of Impatiens. Sci Hortic 306.

Gupta, E; Purwar, S; Sundaram, S; and Rai, G. K. (2013). Nutritional and therapeutic values of Stevia rebaudiana: A review. Journal of Medicinal Plants Research.

Gupta, S. D. and B. Jatothu .(2013). Fundamentals and applications of light emitting diodes (LEDs) In vitro plant growth and morphogenesis Plant Bio. Technol. Rep.,7(3):211–220.

Gupta, S.D. and Karmakar, A. (2017). Machine vision based evaluation of impact of light emitting diodes (LEDs) on shoot regeneration and the effect of spectral quality on phenolic content and antioxidant capacity in Swertia chirata. Journal of Photochemistry and Photobiology ,174:162–172.

Gupta, S.D.; Agarwal, A.(2017). Artificial Lighting System for Plant Growth and Development: Chronological Advancement, Working Principles, and Comparative Assessment.light emitting diodes for agiculture : smart lighting, 1-25

Habibah, N. A; Yuniastuti, A., Nugrahaning, N; Safitri, S., and Puspitasari, A. D. S. (2024). Effects of Low-Dose Kinetin, 2, 4-D and Monochromatic Light

Conditions on Flavonoid Content in Callus Culture of Dioscorea esculenta. Trends in Sciences, 21(2), 7218-7218.

Hamad, M. S., and Majid, N. B. (2017). Influence of explant and growth regulators in the induction of callus of *Annonamuricata* in vitro. Euphrates Journal of Agriculture Science, 9(4), 1-12.

Hamdeni, I., Louhaichi, M; Slim, S; Boulila, A., and Bettaieb, T. (2022). Incorporation of organic growth additives to enhance in vitro tissue culture for producing genetically stable plants. Plants, 11, 3087. https://doi.org/10.3390/plants11223087

Han, X.; Guo, J.L.; Yin, M.W.; Liu, Y.W.; You, Y.L.; Zhan, J.C.; Huang, W.D. (2020) . Grape extract activates brown adipose tissue through pathway involving the regulation of gut microbiota and bile acid. Mol. Nutr. Food Res64, 2000149. [Google Scholar] [CrossRef]

Hassan, S. A., and Jassim, E. H. (2018). Effect of L-phenylalanine on the production of some alkaloids and steroidal saponins of fenugreek cotyledons derived callus *Pakistan Journal of Biotechnology*, *15*(2), 481-486.

Hayat, S. and A. Ahmed. (2007). Salicylic acid: A plan hormone. Published inSpringer: 401.

He, C; Zeng, Y; Fu, Y; Wu, J; and Liang, Q. (2020). Light quality affects the proliferation of in vitro cultured plantlets of Camellia oleifera Huajin. PeerJ, 8, e10016.

Herbert,D.,Phipps,P.J., and Strange, R.E(1971). Determination of total carbohydrates Methods in microbiology, 5(8),290-344

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

Huda, M. F.; Indriyani, S. and Widoretno, W. (2020). Effect of Benzyl Adenine Concentration on Callus Induction of Geranium Plants (Pelargonium 112 graveolens L'Her) from Petiole and Leaf Explants. The Journal of Experimental Life Science, 10(1): 20-23.

Huiling. W.; W. Wang; W. Huang and H. Xu. (2017). Effect of Salicylic Acid on the Gene Transcript and Protein Accumulation of Flavonoid Biosynthesis-related Enzymes in *Vitis vinifera* Cell Suspension Cultures. American Society for Horticultural Science, Volume 52: Issue 12.

Hussain, S. Z., Naseer, B; Qadri, T; Fatima, T; and Bhat, T. A. (2021). Grapes (Vitis vinifera)Morphology, Taxonomy, Composition and Health Benefits. In Fruits Grown in Highland Regions of the Himalayas: Nutritional and Health Benefits (pp. 103-115). Cham: Springer International Publishing .

Ibrahim Fouad G, Zaki Rizk M. (2019). Possible neuromodulating role of different grape (Vitis vinifera L.) derived polyphenols against Alzheimer's dementia: treatment and mechanisms. Bull Natl Res Cent 43: 108. https://doi.org/10.1186/s42269-019-0149-z Kadri S, El Ayed M, Cosette P, Jouenne T, Elkh

Irchhaiya, R.,Kumar, A; Yadav,A; Gupta,N; Kumar,S; Gupta, N; and Gurjar, H. (2015). Metabolites in plants and its classification. World J. of Phar. and Pharmace., Sci., 4(1), 287-305

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

Jadidian, F., Amirhosseini, M., Abbasi, M., Hamedanchi, N. F., Zerangian, N., Erabi, G., ... and Aleebrahim-Dehkordi, E. (2024). Pharmacotherapeutic potential of Vitis vinifera (grape) in age related neurological diseases. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 23(3), 349-370 .

Jing, Ch.; K. Yu; M. Zhang; Y. Shi; Ch. Duan; and J. Wang. (2020). The Effect of Light Intensity on the Expression of Leucoanthocyanidin Reductase in Grapevine Calluses and Analysis of Its Promoter Activity. Genes (Basel). 11(10): 1156.

Johkan M, Shoji K, Goto F, Hashida S, Yoshihara T. (2010). Blue light-emitting diode light irradiation of seedlings improves seedling quality and growth after transplanting in red leaf lettuce. HortScience, 45, 1809–1814.

Joshi, N., Bhattarai, K., Sinha, S., Rawat, B., Rai, N., Anand, J., ... and Rawat, J. M. (2024). Production of secondary metabolites from medicinal plants through tissue culture. In Secondary Metabolites and Biotherapeutics (pp. 63-77). Academic Press .

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

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

Kanwar, M. K., Bajguz, A., Zhou, J., & Bhardwaj, R. (2017). Analysis of brassinosteroids in plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, *36*, 1002-1030.

Karmakar, S., Zaman, R., Nasiruddin, M., & Hossain, M. M. (2018). Effect of different illumination types on in vitro microplants of potato (Solanum tuberosum L.). *European Journal of Biotechnology and Bioscience*, *6*(6), 76-80.

Kaya, Y., and Huyop, F. Z. (2020). An easy and reliable method for establishment and maintenance of tissue cultures of Nicotiana tabacum cv TAPM 26. International Journal of Science Letters, 2(2), 62-71.

Keller, M., (2015). The Sciences of grapevines. 2nd Edition, Academic Press, pp. 52 .

Khalifa, A. M., Abd-ElShafy, E., Abu-Khudir, R., and Gaafar, R. M. (2022). Influence of gamma radiation and phenylalanine on secondary metabolites in callus cultures of milk thistle (Silybum marianum L.). Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 20(1), 166.

Khan, N., Ahmed, M., Hafiz, I., Abbasi, N., Ejaz, S., & Anjum, M. (2015). Optimizing the concentrations of plant growth regulators for in vitro shoot cultures, callus induction and shoot regeneration from calluses of grapes. Oeno One, 49(1), 37-45.

Kim, S. J., Hahn, E. J., Heo, J. W., and Paek, K. Y. (2004). Effects of LEDs on net photosynthetic rate, growth and leaf stomata of chrysanthemum plantlets in vitro. Scientia Horticulturae, 101(1-2), 143-151.

Kinfe, B., Feyssa, T., and Bedada, G. (2017). In vitro micropropagation of grape vine (Vitis vinifera L.) from nodal culture. African Journal of Biotechnology, 16(43), 2083-2091.

Kisaca, G., and Gazioglu Sensoy, R. I. (2023). Phenolic contents, organic acids and antioxidant capacities of twenty grape (Vitis vinifera L.) cultivars having

different berry colors. Journal of Food Measurement and Characterization, 17(2), 1354-1370 .

Kumar, N. and M. P. Reddy. (2011).*In vitro* plant propagation: a review. Journal of forest and environmental science, 27(2): 61-72.

Kumari, A., Kumar, V., Ovadia, R., & Oren-Shamir, M. (2023). Phenylalanine in motion: A tale of an essential molecule with many faces. *Biotechnology Advances*, 108246.

Lazo-Javalera, M.,F. R. Troncoso-Rojas; M. E. Tiznado-Hernández; and M. Á. Martínez-Téllez.(2016). Surface disinfection procedure and in vitro regeneration of grapevine (Vitis vinifera L.) axillary buds, Lazo Javalera et al. SpringerPlus 5:453,Pp 3-9.

Liga, S., Paul, C., and Péter, F. (2023). Flavonoids: Overview of biosynthesis, biological activity, and current extraction techniques. Plants 12, 2732. doi: 10.3390/ plants12142732

Lin, Z.; A.S. Ravipati; S.R. Koyyalamudi; S.C. Jeong and N. Reddy. (2011). Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Selected Medicinal Plants Containing Phenolic and Flavonoid Compounds. J. Agric. Food Chem. 59, 23, 12361–12367.

Lucioli, S.; C. Dibari; P. Nota; A. Frattarelli and E. Caboni. (2017). Methyl jasmonate promotes anthocyanins' production in *Prunus salicina* × *Prunus persica in vitro* shoot cultures. fficial Journal of the Societa Botanica Italiana , Volume 151, Issue 5.

Mahdinezhad, N., and Ghanbari, S. (2015). Comparative study of the effect of culture media and hormonal treatment on callus formation and regeneration of some native Sistan grapes. Journal on New Biological Reports, 4(1), 94-97.

Mariam, H.; B. Ahmad; S. Drouet; Ch. Hano; B. H. Abbasi and S. Anjum. (2021). Comparative Effects of Different Light Sources on the Production of Key Secondary Metabolites in Plants In Vitro Cultures. Plants (Basel). 10(8): 1521.

Marjan, N.A and H. Hossein .(2009). Review of thePharmacological Effects of Vitisvinifera (Grape) and its Bioactive Compounds. Phytother. Res.23, 1197–1204.

Masoumian, M., Arbakariya, A., Syahida, A., and Maziah, M. (2011). Effect of precursors on flavonoid production by Hydrocotyle bonariensis callus tissues. African Journal of Biotechnology, 10(32), 6021-6029.

Massa, G.D.; H. H. Kim; R. M. Wheeler and Mitchell, C.A.(2008). Plant productivity in response to LED lighting. HortScience,43(7): 1951-1956.

Modesto, R. M. G.(2021). The benefits of grape on human health: a review. Research, society and development,10 (14), e281101421825 .

Mohammed, A. N.; W. Khayata and M. ALoqab. (2014). Effect of Some Plant Growth Regulators on Callus, Biomasses and Cell Suspension from Catnip (Nepetacataria) and Estimating Their Ability for Production of Some Flavonoids Compounds. R. J. of Aleppo Univ. Basic science series No. 69, Pp: 29-47.

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

Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A resived medium for rapid growthand bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant, 15:473-497.

Murthy, H. N., Joseph, K. S., Paek, K. Y., and Park, S. Y. (2024). Light as an elicitor for enhanced production of secondary metabolites in plant cell, tissue, and organ cultures. Plant Growth Regulation, 1-19.

Nadeem, M., Abbasi, B. H., Younas, M., Ahmad, W., Zahir, A., and Hano, C. (2019). LED-enhanced biosynthesis of biologically active ingredients in callus cultures of Ocimum basilicum. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 190, 172-178.

Nahed, G., A.A. Abdel Aziz, M. Mazher and M.M. Farahat . (2010). Response of vegetative growth and chemical constituents of Thuja orientalis L. plant to foliar application of different amino acids at Nubaria. J. Am. Sci.,6(3):295-301.

Nay, M. M. ; H. Riedel; O. Kütük; K. Ravichandran and I. Smetanska. (2010). Effect of Elicitors and Precursors on the Synthesis of Anthocyanin in Grape *Vitis vinifera* Cell Cultures. Energy Research Journal 1 (2): 189-192.

Nazir, M., AsadUllah, M., Mumtaz, S., Siddiquah, A., Shah, M., Drouet, S., ... and Abbasi, B. H. (2020). Interactive effect of melatonin and UV-C on phenylpropanoid metabolite production and antioxidant potential in callus cultures of purple basil (Ocimumbasilicum L. varpurpurascens). Molecules, 25(5), 1072.

Neumann,K.H;A.Kumar and J.Imani.(2009). Plant Cell and Tissue Culture .Atool in Biotechnology,Basic and Application,Springer.p:181-225

Nisar Ahmad, N. A., Abbasi, B. H., Hina Fazal, H. F., Khan, M. A., and Afridi, M. S. (2014). Effect of reverse photoperiod on in vitro regeneration and piperine production in Piper nigrum L.

Nolan, T. M., Vukašinović, N., Liu, D., Russinova, E., and Yin, Y. (2020). Brassinosteroids: multidimensional regulators of plant growth, development, and stress responses. The Plant Cell, 32(2), 295-318.

Obouayeba, A.P. and D.N. Bernard (2014). Phytochemical and Antioxidant of Roselle (Hibiscus sabdariffa L.).Petal Extracts. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Science. 4(5), 14-54.

Oprinescu, C.; Hădărugă, D. I. and Hădărugă, N. G. (2020). A critical review on the antioxidant analysis and composition of Vitis species. Journal of Agroalimentary Processes and Technologies, 26 (4), 429 440.

Oseni, O. M., V. Pande and T. K Nailwal. (2018). A review on plant tissue culture, a technique for propagation and conservation of endangered plant species. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 7(7): 3778-3786.

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

Ptak, A., A. Tahchy, E. Skrzypek, T. Wojtowicz and D. Laurain-Mattar. (2013). Influence of auxins on somatic embryogenesis and alkaloid accumulation in Leucojum aestivum callus. Open Life Sciences, 8(6): 591-599.

Rafiee, H; B. H. Naghdi; A. Mehrafarin; A. Qaderi; N.Zarinpanjeh; A. Sekara and E. Zand. (2016). Application of Plant Biostimulants as New Approach to Improve the Biological Responses of Medicinal Plants- A Critical Review. Journal of Medicinal Plants. 15(59): 1-34.

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

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

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

Sajjalaguddam, R. R., and Paladugu, A. (2015). Phenylalanine enhances Quercetin content in vitro cultures of Abutilon indicum L. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 5(10), 080-084 .

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

Saw, N. M. M. T., Riedel, H., Kütük, O., Ravichandran, K., and Smetanska, I. (2010). Effect of elicitors and precursors on the synthesis of anthocyanin in grape Vitis vinifera cell cultures. Energy Res J, 1(2), 189-191.

Seca, A. and D. Pinto.(2018). Plant Secondary Metabolites as Anticancer Agents: Successes in Clinical Trials and Therapeutic Application. Int. J. Mol. Sci. 19, 263. [CrossRef] [PubMed]

Serpov.(2010),Effect of Amino Acid on plant.Malaysio

Seyed, A. A; Ma. Gholami ; Ch. M. Ford and F. Maskani .(2019). The effect of light, phenylalanine and methyl jasmonate, alone or in combination, on growth and secondary metabolism in cell suspension cultures of *Vitis vinifera.* Jornal of photochemistry and photobiology. Volum 199,111625.

Seyedi,A.Esnaeili,A.and Mostafavi,U.(2013). Study of stem Type and different levels of IBA on rooting of Bougavilla glabra.International Journal of Agriculture and crop sciences .5(12) 1276-1279.

Shafeek, M.R., Y.I. Helmy, M. A.F. Shalaby and N.M. Omer.(2012). Response of onion plants to foliar application of sources and levels of some amino acid under sandy soil conditions. J. of Appl. Sci. Res, 8(11): 5521-5527. .

Shafiq, I.; Hussain, S.; Raza, M.A.; Iqbal, N.; Asghar, M.A.; Raza, A.; Fan, Y.; Mumtaz, M.; Shoaib, M.; Ansar, M.; (2021). Crop Photosynthetic Response to Light Quality and Light Intensity. J. Integr. Agric. 20, 4–23. [CrossRef]

Shamsudin, N. F., Ahmed, Q. U., Mahmood, S., Shah, S. A. A., Sarian, M. N., Khattak, M. M. A. K., and Latip, J. (2022). Flavonoids as antidiabetic and anti-inflammatory agents: A review on structural activity relationship-based studies and meta-analysis. International journal of molecular sciences, 23(20), 12605.

Shehta, A., Abbas, F. A., El-Shamy, H. A., and Elsayed, Z. I. (2022). Some factors affecting in vitro secondary metabolites production from verbesina encelioides callus cultres .Egypt. J. of Appl. Sci., 37 (11-12).80-94 p.

Singh, A., Dwivedi, P., Kumar, V., and Pandey, D. K. (2021). Brassinosteroids and their analogs: Feedback in plants under in vitro condition. South African Journal of Botany, 143, 256-265.

Son, K.H.; J. H. Park; D. Kim and Oh, M. M.(2012). Leaf shape index, growth, and phytochemicals in two leaf lettuce cultivars grown under monochromatic light-emitting diodes. Horticultural Science and Technology,30(6):664-672.

Sprinchanu, E.K. and R.G. Butenko. (1991). Effect of light spectral composition of growth and development of Artemisia balchanorum cuttings in vitro. Fiziologiya Rastenii, 38:561-568.

Suarez, B.; N. Palacios; N. Fraga and R. Rodriguez.(2005). Liquid chromatographic method for quantifying polyphenols in ciders by direct injection. Journal of Chromatography A, 1066, 105-110.

Sugawara, S., K. Mashiguchi, K. Tanaka, S. Hishiyama, T. Sakai, K. Hanada, K. Kinoshita-Tsujimura, X. and Y. Takebayashi . (2015). Distinct characteristics of indole-3-acetic acid and phenylacetic acid, two common auxins in plants. Plant Cell Physiol 56(8):1641–1654.

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

Tamboli, A.M.,P . R . Bhosale , S . G . Chonde, J . S. Ghosh and P.D .Rant.(2012). Effect of Endosulfan on Indole acetic acid and Gibberellin secretion by Azospirillum SPP NCIM-2548 and Azotobacter SPP NCIM-2452. International Research Journal of Environment Sciences,1(3):1- 4 .

Tao, H., Li, L., He, Y., Zhang, X., Zhao, Y., Wang, Q., and Hong, G. (2024). Flavonoids in vegetables: improvement of dietary flavonoids by metabolic engineering to promote health. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 64(11), 3220-3234.

Tariq, H., Asif, S., Andleeb, A., Hano, C., and Abbasi, B. H. (2023). Flavonoid production: current trends in plant metabolic engineering and de novo microbial production. Metabolites, 13(1), 124.

Tariq, U., Ali, M., & Abbasi, B. H. (2014). Morphogenic and biochemical variations under different spectral lights in callus cultures of Artemisia absinthium L. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 130, 264-271..

Taulavuori, E.; K.Taulavuori; J. K. Holopainen; R. Julkunen-Tiitto; C. Acar and Dincer, I. (2017). Targeted use of LEDs in improvement of production efficiency through phytochemical enrichment. Journal of the Science of Food and Agriculture,97(15): 5059–5064.

Trivedi, A. and R.S., Sengar. (2017). Effect of various light-Emitting Diodes on growth and photosynthetic pigments of banana Musa acuminata CV. grande naine in vitro plantlets . International Journal of Chemical Studies , 5(5): 1819-1821.

Turki, K., Charradi, K., Boukhalfa, H., Belhaj, M., Limam, F., & Aouani, E. (2016). Grape seed powder improves renal failure of chronic kidney disease patients. EXCLI journal, 15, 424.

USDA .(2020). Natural Resources Conservation Service: Classification for Kingdom Plantae Down to Genus Vitis L. https://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=VITIS

Venugopal, G., Muralikrishna, K. S., Padmanabhan, S., & Rajesh, M. K. (2024). Effect of light-emitting diodes on the proliferation of immature endosperm derived calli of coconut (Cocos nucifera L.).

Verpoort, R. and A.W. Alfermann. (2000). In Metabolism, Engineering of Plant Secondary Metabolism,Kluwer, Academic Publishers,pp. 3-8.

Wang, R., Lenka, S. K., Kumar, V., Gashu, K., Sikron-Persi, N., Dynkin, I., ... and Oren-Shamir, M. (2021). Metabolic engineering strategy enables a hundred-fold increase in viniferin levels in Vitis vinifera cv. Gamay Red cell culture. Journal of agricultural and food chemistry, 69(10), 3124-3133.

Wolkovich, E.M., Burge, D.O., Walker, M.A., Nicholas, K.A.,(2017). Phenological diversity provides opportunities for climate change adaptation in winegrapes. J. Ecol. 105, 905–912 .

Xi, H-F.; Ma, L.; Wang L-N.; Li, S-H. and L-J Wang .(2015). Differential response of the biosynthesis of resveratrol and flavonoids to UV-C irradiation in grape leaves, New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 43(3): 163-172 .

Yano, A.; and K. Fujiwara. (2012). Plant lighting system with five wavelength-band light-emitting diodes providing photon flux density and mixing ratio control. Plant Meth., 8(1):46-58

Yeh, N. and J.-P. Chung.(2009). High-brightness LEDs—Energy efficient lighting sources and their potential in indoor plant cultivation. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 13(8): 2175–2180.

Zehra, B. (2021). Increasing of Phenolic Compounds by Brassinosteroid Applications in Immobilized Cell Suspension Cultures of *Vitis vinifera* L. cv. Cinsault. Journal of Agricultural Sciences, 27 (3) : 298 – 303.

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

Zhang, Y., Liao, B., Li, F., Eneji, A. E., Du, M., & Tian, X. (2024). Growth, leaf anatomy, and photosynthesis of cotton (Gossypium hirsutum L.) seedlings in response to four light-emitting diodes and high pressure sodium lamp. Journal of Cotton Research, 7(1), 8.

Zhou, D.-D., Li, J., Xiong, R.-G., Saimaiti, A., Huang, S.-Y.,Wu, S.-X.; Yang, Z.-J., Shang, A., Zhao, C.-N., Gan, R.-Y.; et al.(2022). 002 Bioactive Compounds, Health Benefits and Food Applications of Grape. Foods , 11, 2755. https:// doi.org/10.3390/foods11182755.

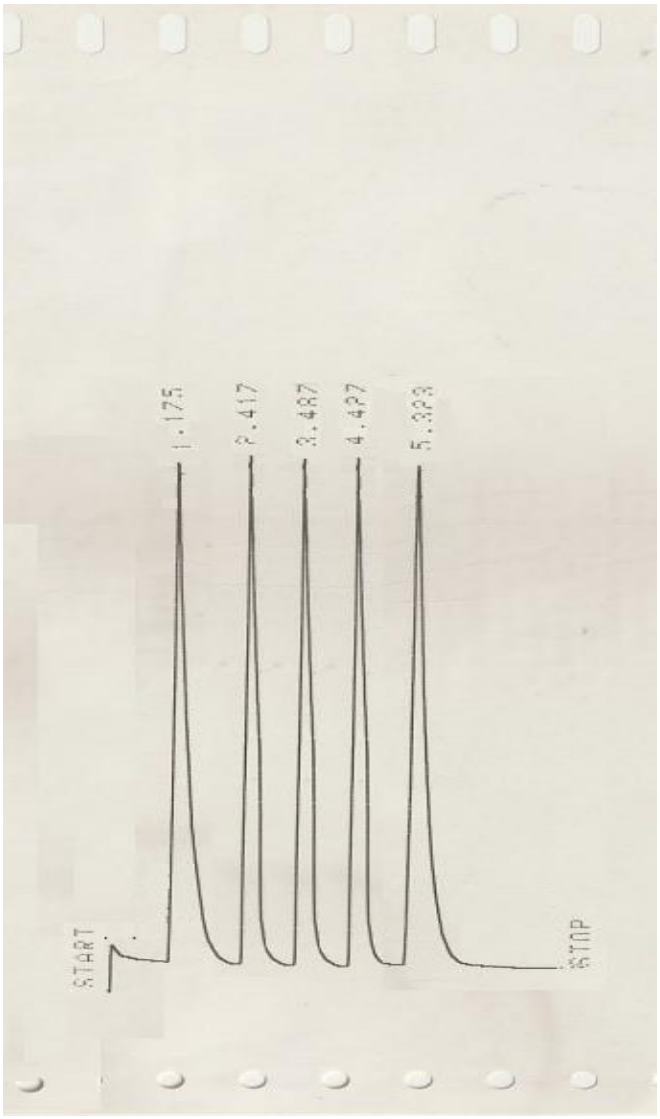
Zhou, T., Reji, R., Kairon, R. S., & Chiam, K. H. (2023). A review of algorithmic approaches for cell culture media optimization. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 11, 1195294.

Zhu, J., & Du, C. (2020). Could grape-based food supplements prevent the development of chronic kidney disease?. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 60(18), 3054-3062

Zielińska, S., Piątczak, E., Kozłowska, W., Bohater, A., Jezierska-Domaradzka, A., Kolniak-Ostek, J., & Matkowski, A. (2020). LED illumination and plant

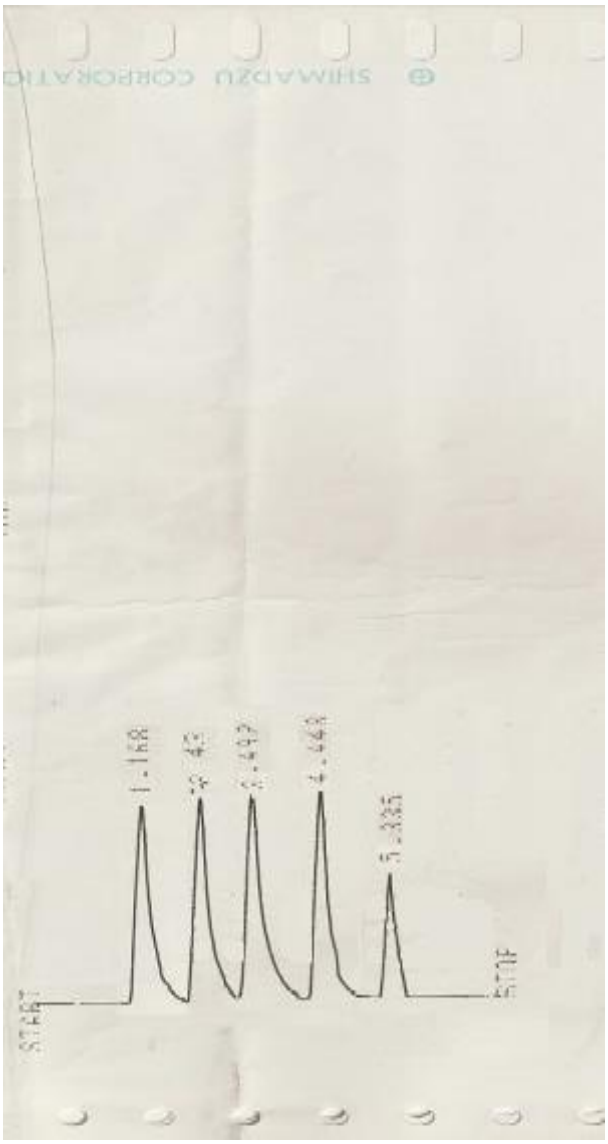
growth regulators’ effects on growth and phenolic acids accumulation in Moluccella laevis L. in vitro cultures. Acta physiologiae plantarum, 42(5), 72.

7- الملاحق



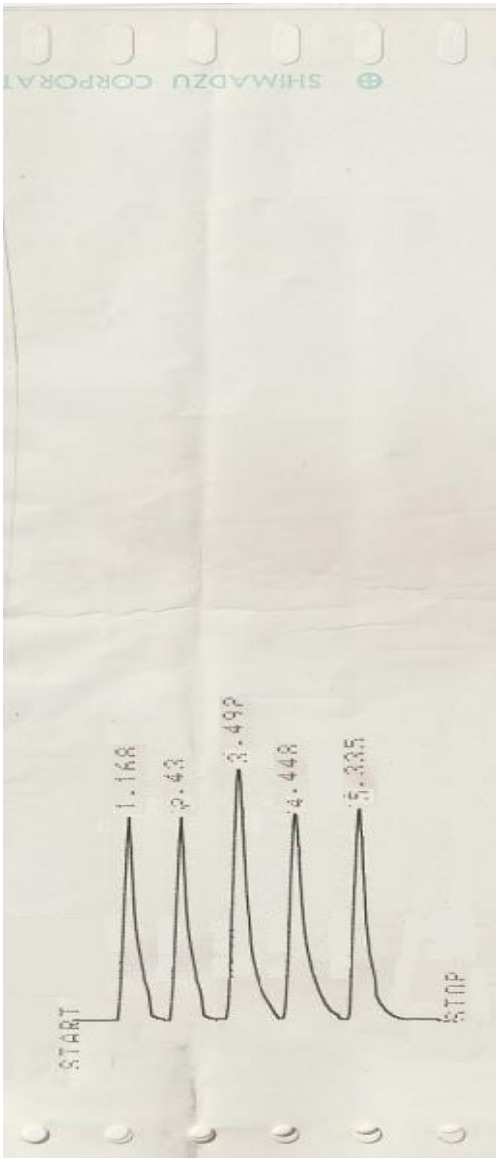
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	1.175	225484
2	Nargnine	2.417	224501
3	Proanthocyanin	3.487	224354
4	Quercetin	4.427	224700
5	Rutin	5.323	225011

الملحق(1) المحاليل القياسية للمركبات الفلافونويدية



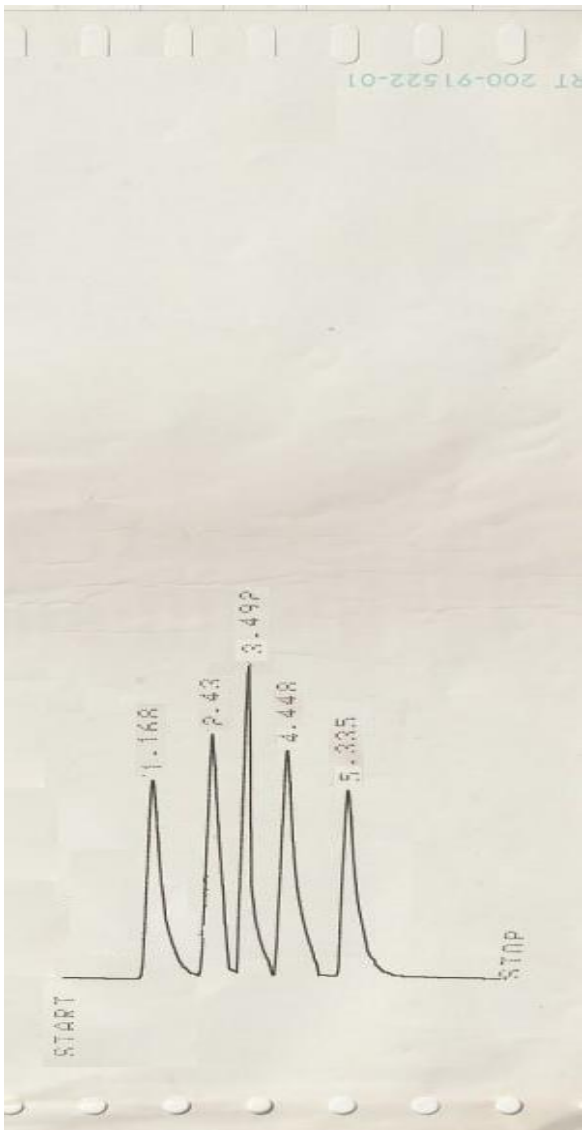
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	1.168	121015
2	Nargnine	2.43	124458
3	Proanthocyanin	3.492	123650
4	Quercetin	4.443	122577
5	Rutin	5.335	126118

الملحق (2) تأثير تركيز الـ 02,4-D ملغم لتر$^{-1}$و BA 0 ملغم لتر$^{-1}$ في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



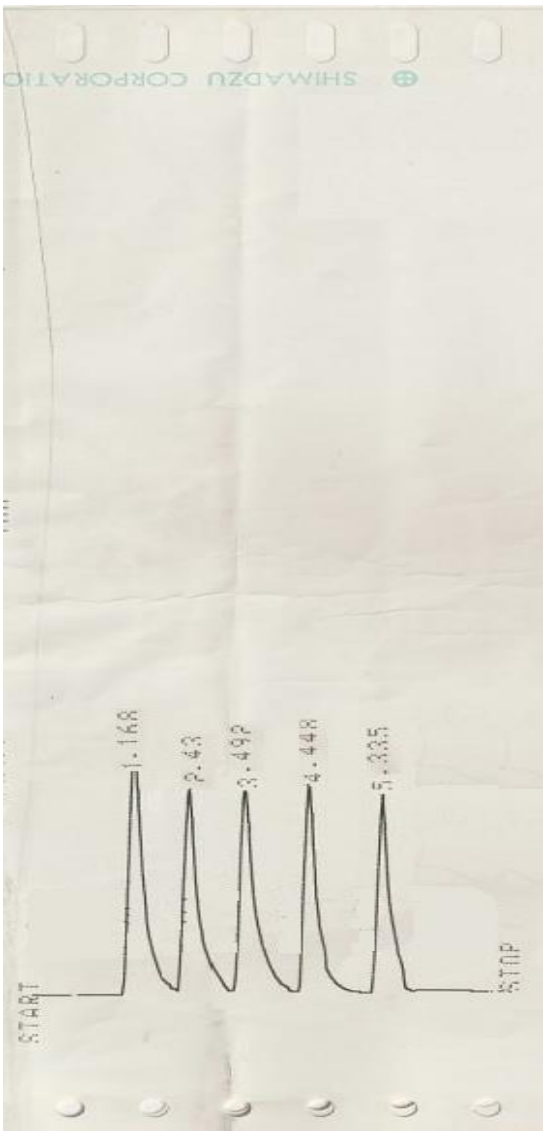
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	681.1	1282644
2	Nargnine	32.4	134944
3	Proanthocyanin	923.4	132100
4	Quercetin	484.4	128894
5	Rutin	355.3	134408

الملحق (3) تأثير التركيز 1 ملغم لتر$^{-1}$ 2,4-Dو 0.1 ملغم لتر$^{-1}$BA في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



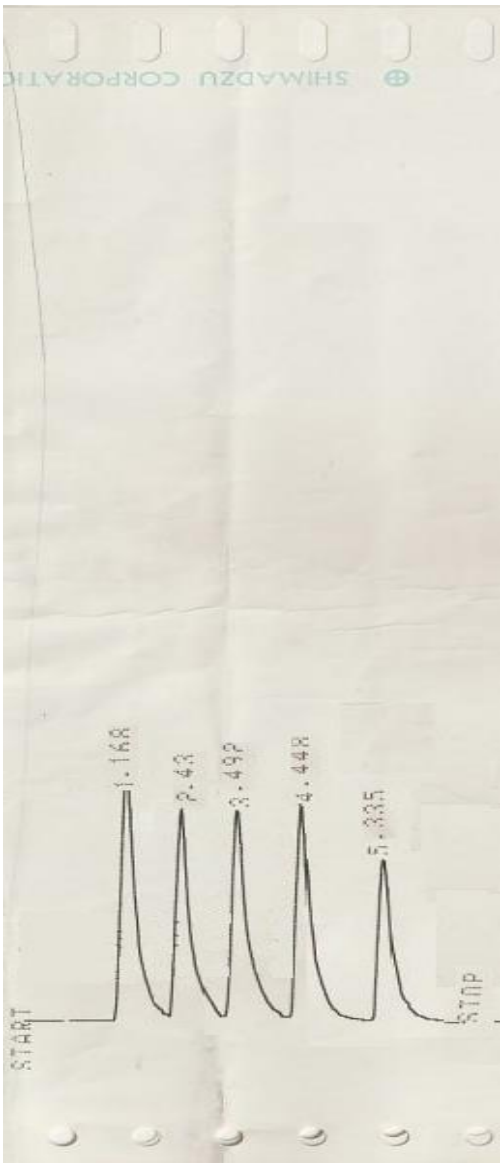
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	681.1	121024
2	Nargnine	32.4	125589
3	Proanthocyanin	923.4	137701
4	Quercetin	484.4	138314
5	Rutin	355.3	130098

الملحق (4) تأثير التركيز 1 ملغم لتر-1 2,4-Dو 0.2 ملغم لتر-1 BA في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسطMS



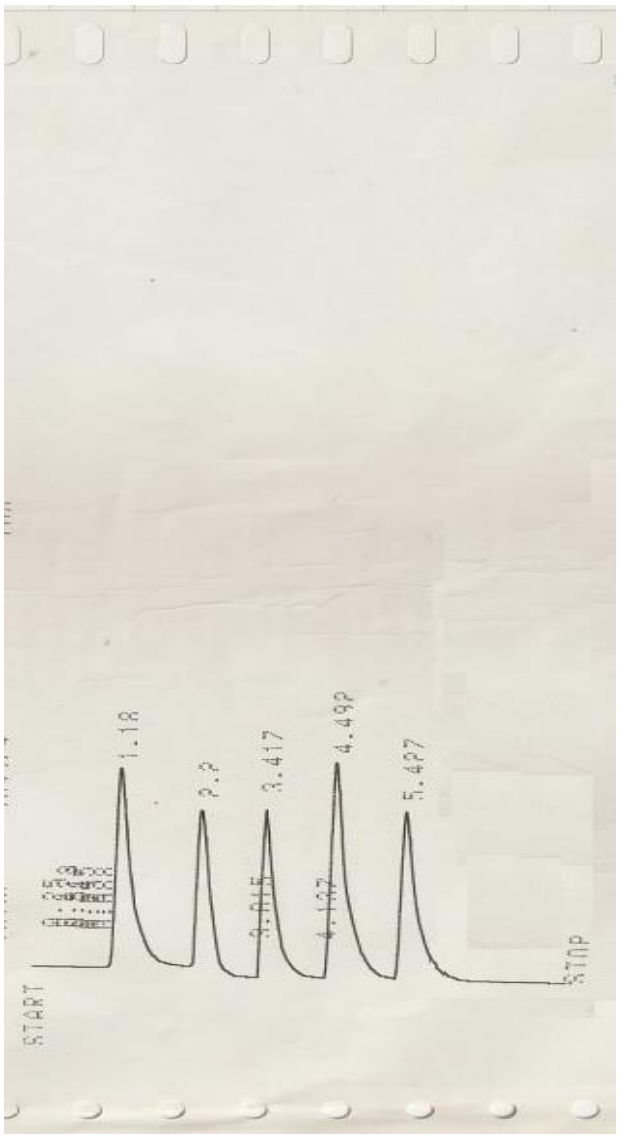
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	681.1	123347
2	Nargnine	32.4	120334
3	Proanthocyanin	923.4	134557
4	Quercetin	484.4	134221
5	Rutin	355.3	130114

الملحق (5) تأثير التركيز 2 ملغم لتر$^{-1}$2,4-Dو 0.1 ملغم لتر$^{-1}$BA في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



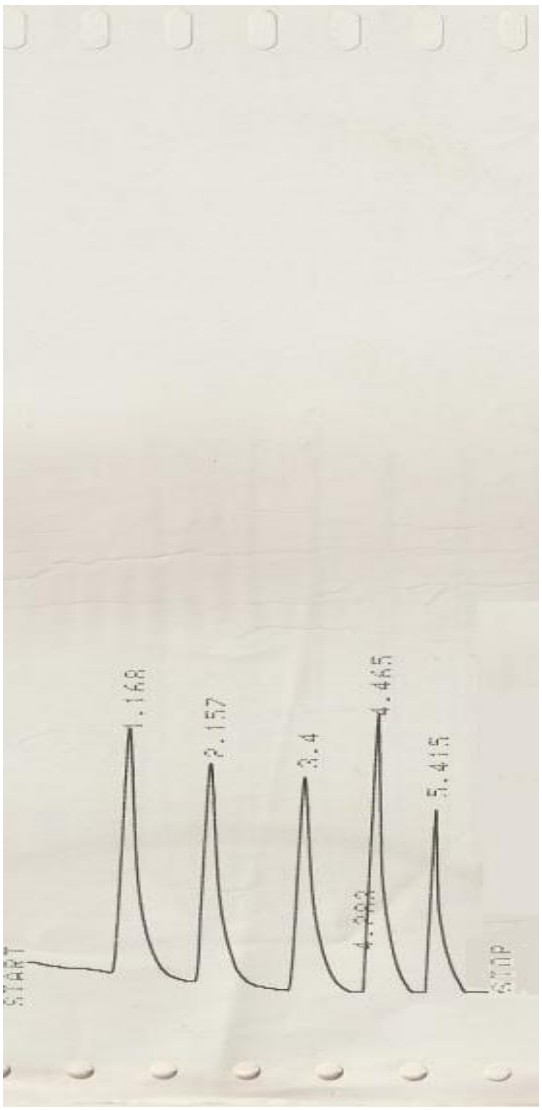
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	681.1	134457
2	Nargnine	32.4	131148
3	Proanthocyanin	923.4	135611
4	Quercetin	484.4	128870
5	Rutin	355.3	129640

الملحق (6) تأثير التركيز 2 ملغم لتر$^{-1}$2,4-Dو 0.2 ملغم لتر$^{-1}$BA في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



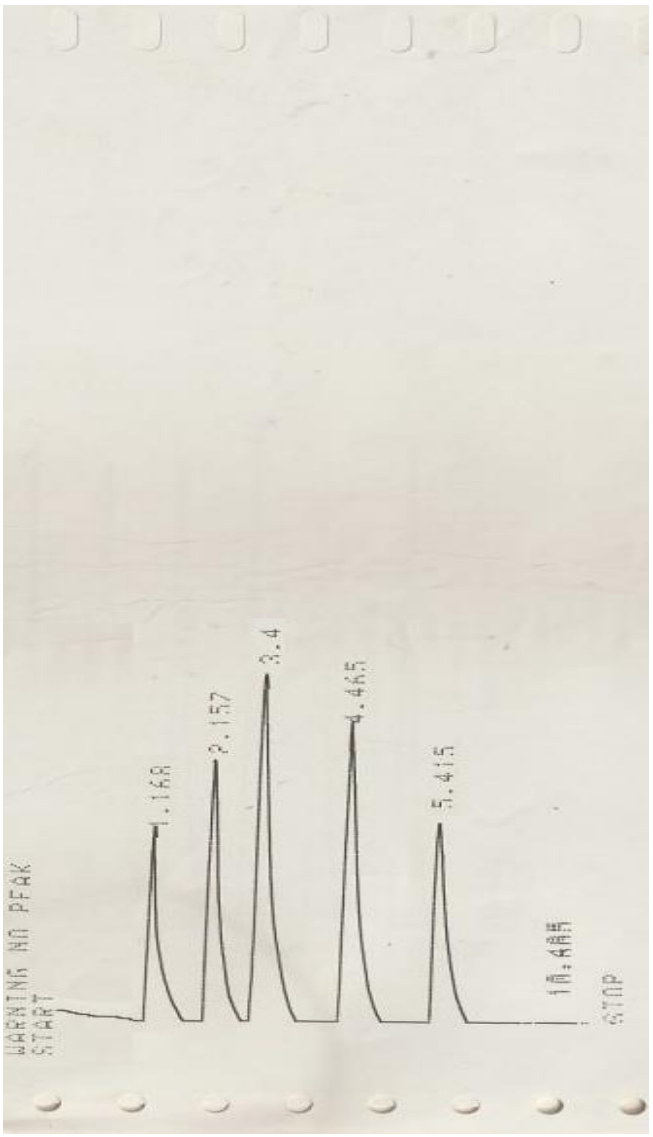
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	81.1	131150
2	Nargnine	22.	124478
3	Proanthocyanin	173.4	126678
4	Quercetin	924.4	134100
5	Rutin	4275.	131225

الملحق (7) تأثير التركيز 2 ملغم لتر$^{-1}$2,4-Dو 0.4 ملغم لتر$^{-1}$ BA في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



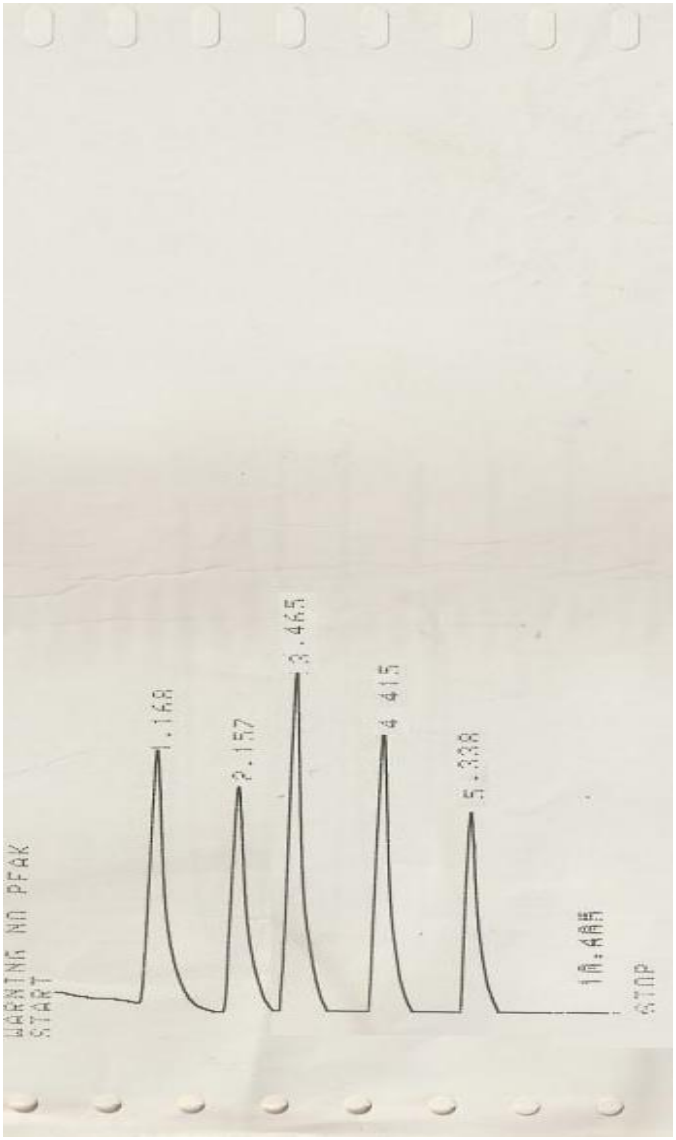
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	681.1	137795
2	Nargnine	1572.	136687
3	Proanthocyanin	3.4	134557
4	Quercetin	4654.	132546
5	Rutin	4155.	134587

الملحق (8) تأثير التركيز 3 ملغم لتر$^{-1}$2,4-D و 0.1 ملغم لتر$^{-1}$BA في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



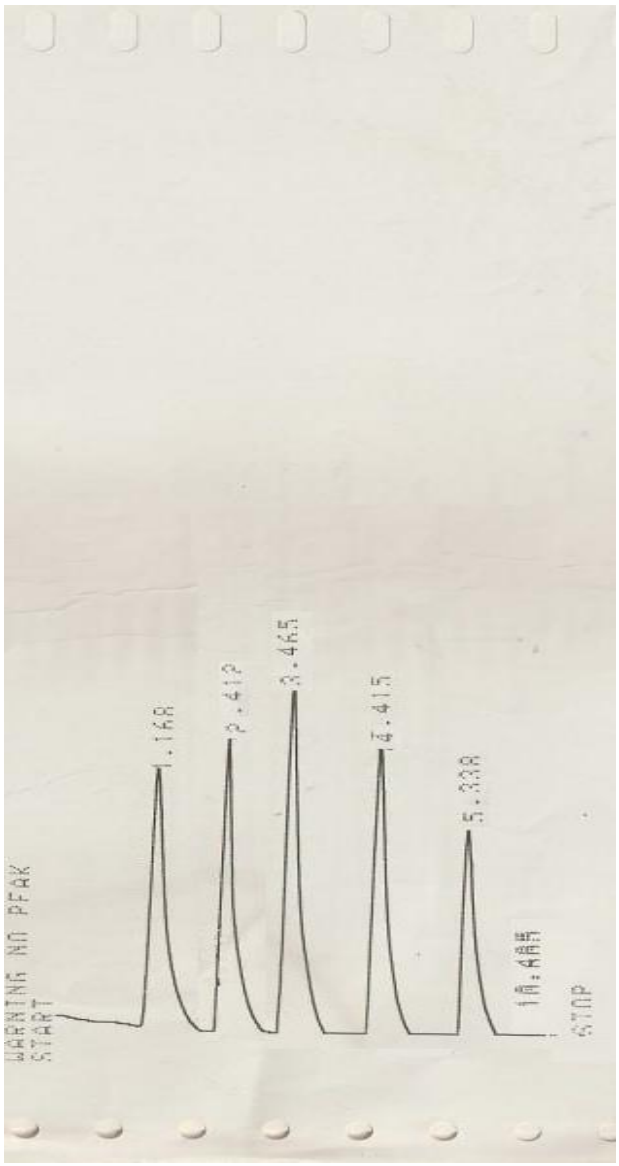
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	681.1	120014
2	Nargnine	1522.	125540
3	Proanthocyanin	3.4	136523
4	Quercetin	654.4	135501
5	Rutin	4155.	127821

الملحق (9) تأثير التركيز 3 ملغم لتر$^{-1}$2,4-Dو 0.2 ملغم لتر$^{-1}$BA في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



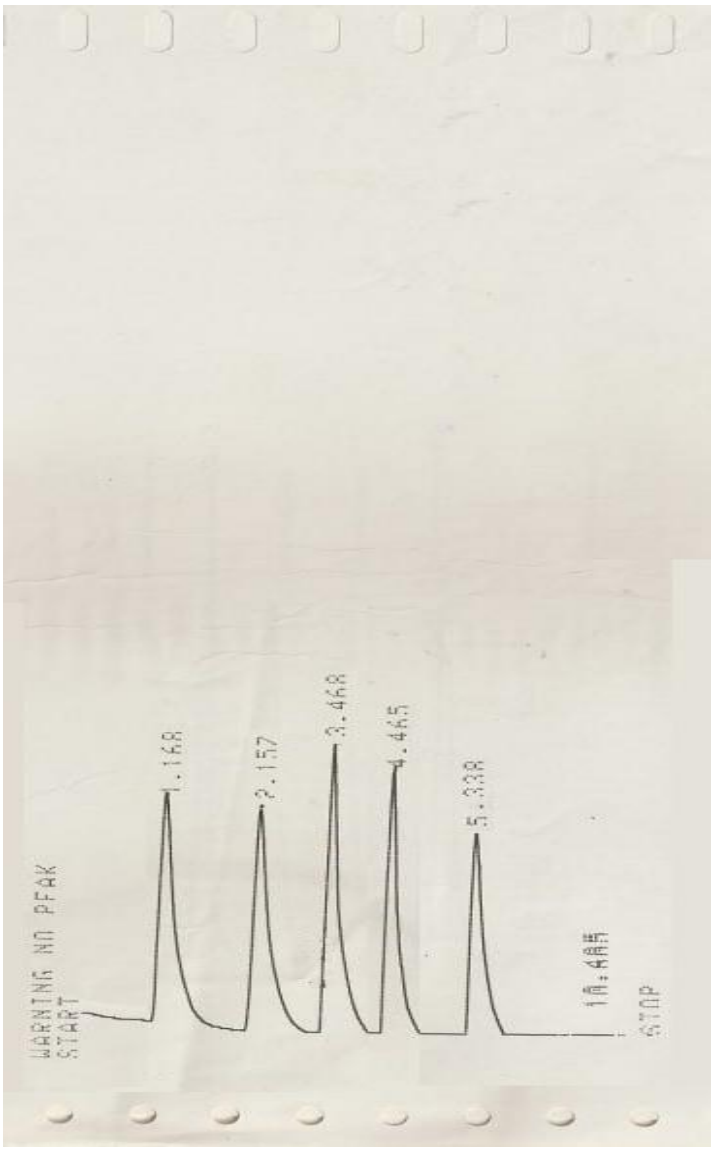
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	681.1	128874
2	Nargnine	1572.	128457
3	Proanthocyanin	653.4	138787
4	Quercetin	154.4	129855
5	Rutin	3385.	126623

الملحق (10) تأثير التركيز 3 ملغم لتر$^{-1}$2,4-Dو 0.4 ملغم لتر$^{-1}$BA في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



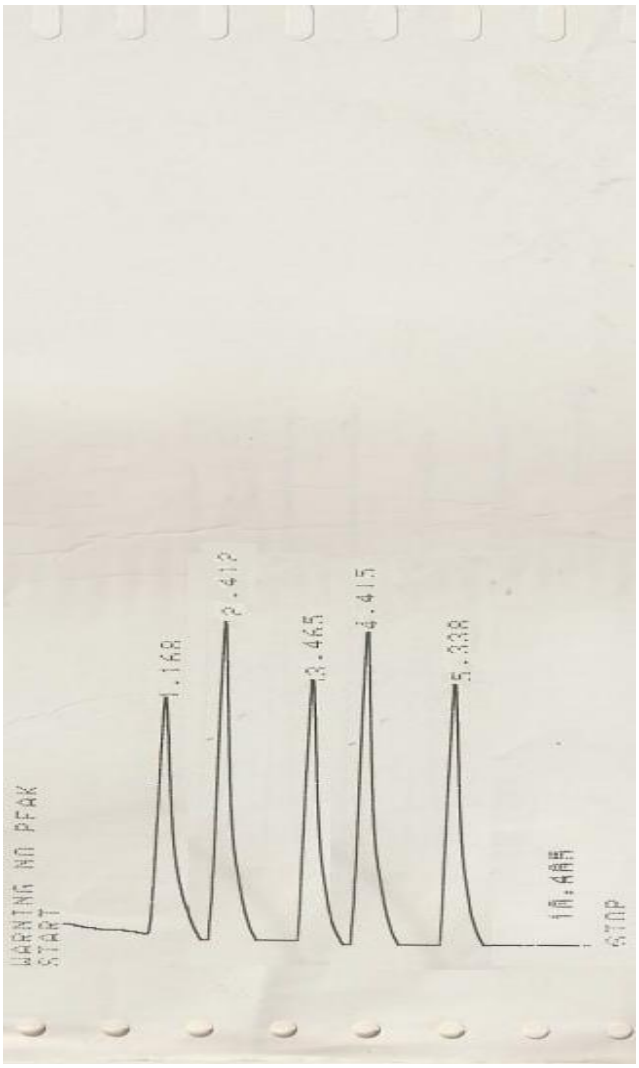
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	681.1	124460
2	Nargnine	4122.	132201
3	Proanthocyanin	653.4	138099
4	Quercetin	154.4	131140
5	Rutin	3385.	123041

الملحق (11) تأثير التركيز 4 ملغم لتر$^{-1}$2,4-Dو 0.1 ملغم لتر$^{-1}$BA في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسطMS



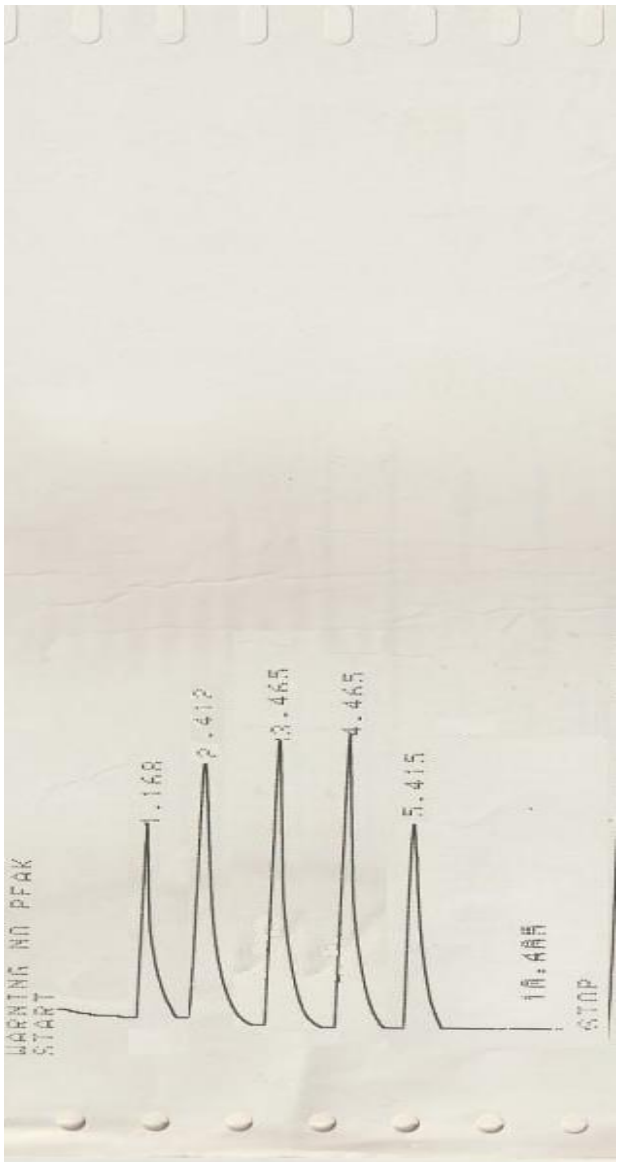
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	681.1	136120
2	Nargnine	1572.	125530
3	Proanthocyanin	653.4	132587
4	Quercetin	654.4	131120
5	Rutin	3385.	126182

الملحق (12) تأثير التركيز 4 ملغم لتر$^{-1}$2,4-Dو 0.2 ملغم لتر$^{-1}$BA في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



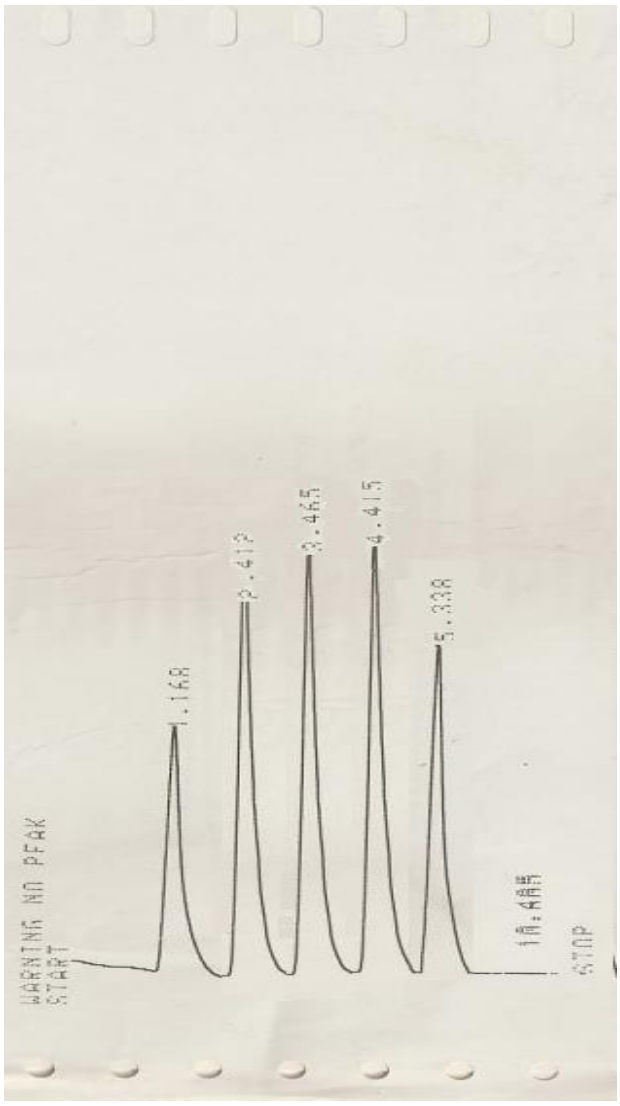
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	681.1	131200
2	Nargnine	4122.	138876
3	Proanthocyanin	653.4	134550
4	Quercetin	154.4	138097
5	Rutin	3385.	132251

الملحق (13) تأثير التركيز 4 ملغم لتر$^{-1}$2,4-Dو 0.4 ملغم لتر$^{-1}$BA في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



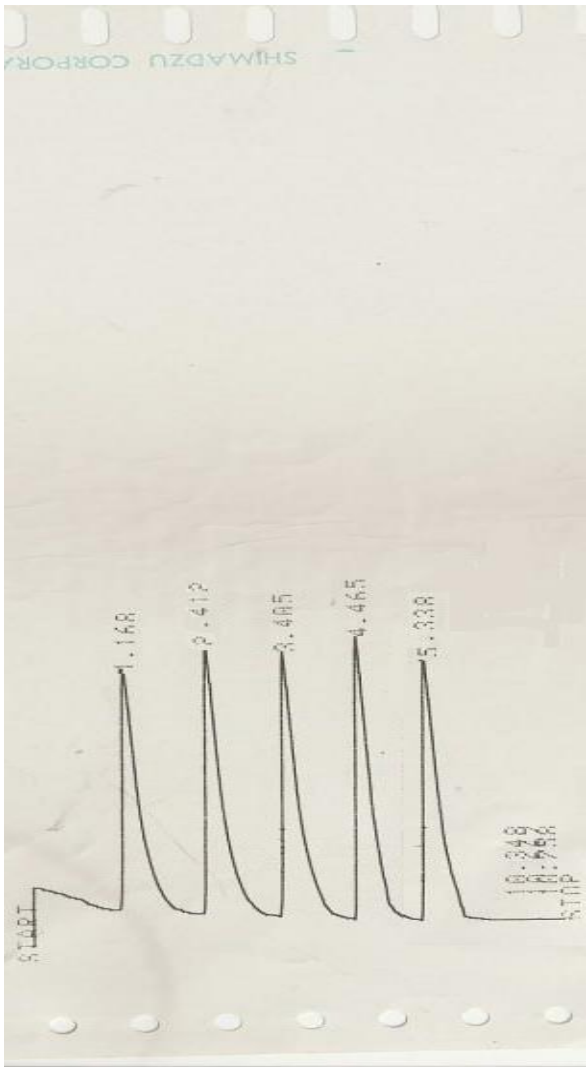
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	681.1	120013
2	Nargnine	4122.	124100
3	Proanthocyanin	653.4	124601
4	Quercetin	654.4	126340
5	Rutin	4155.	123044

الملحق (14) تأثير الـ LED الابيض و0 ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



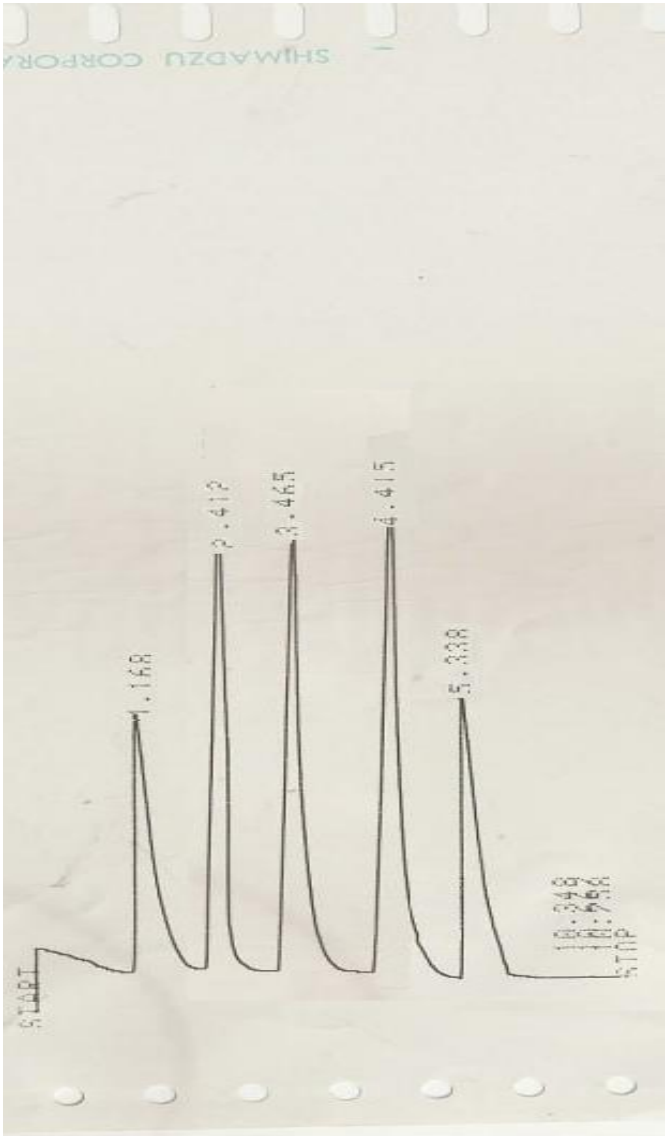
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	681.1	142317
2	Nargnine	4122.	143658
3	Proanthocyanin	653.4	147750
4	Quercetin	154.4	148050
5	Rutin	3385.	143330

الملحق (15) تأثير الفلورسنت و20 ملغم لتر$^{-1}$ فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



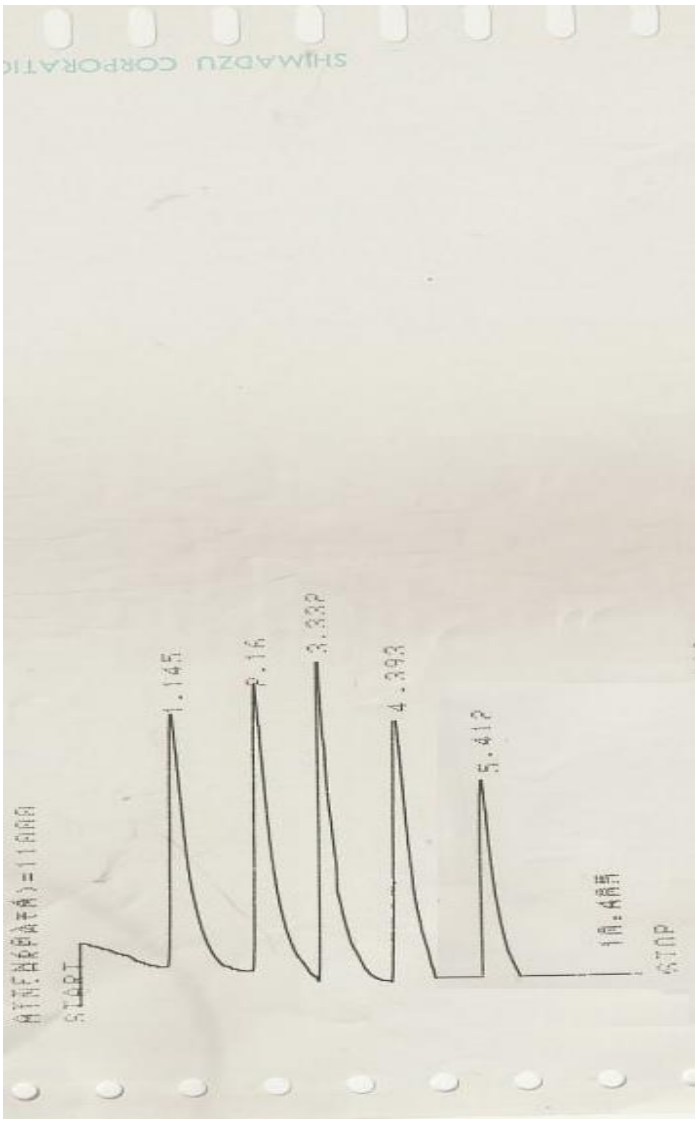
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	681.1	137752
2	Nargnine	4122.	139460
3	Proanthocyanin	053.4	146233
4	Quercetin	654.4	146010
5	Rutin	3385.	134551

الملحق (16) تأثير الـفلورسنت و10ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



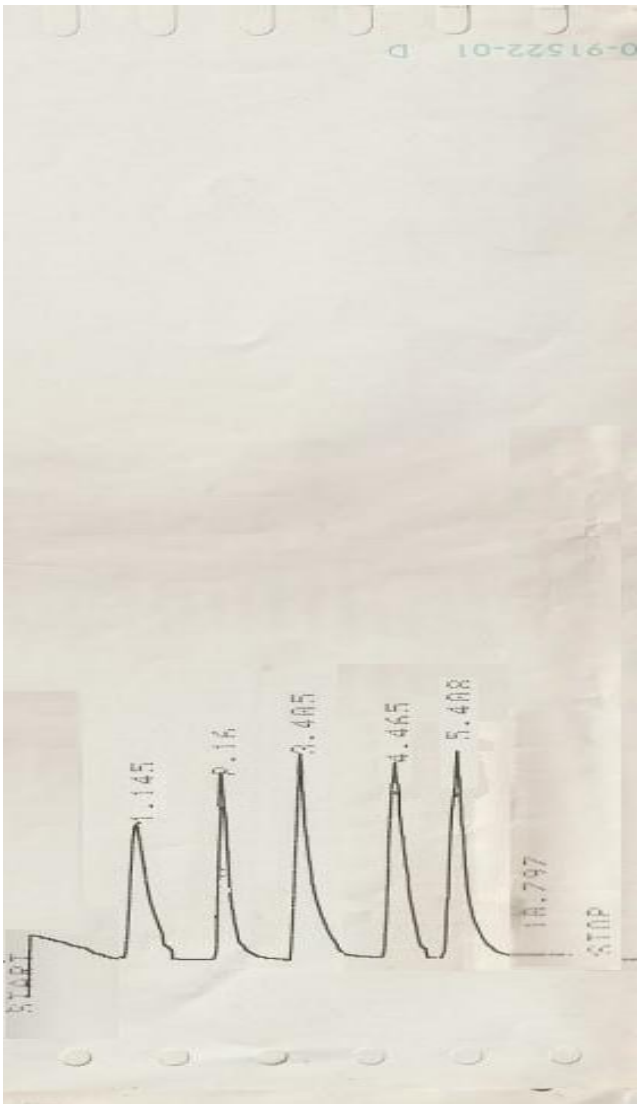
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	681.1	137558
2	Nargnine	4122.	146630
3	Proanthocyanin	653.4	148825
4	Quercetin	154.4	145201
5	Rutin	3385.	136698

الملحق (17) تأثير الفلورسنت و15 ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



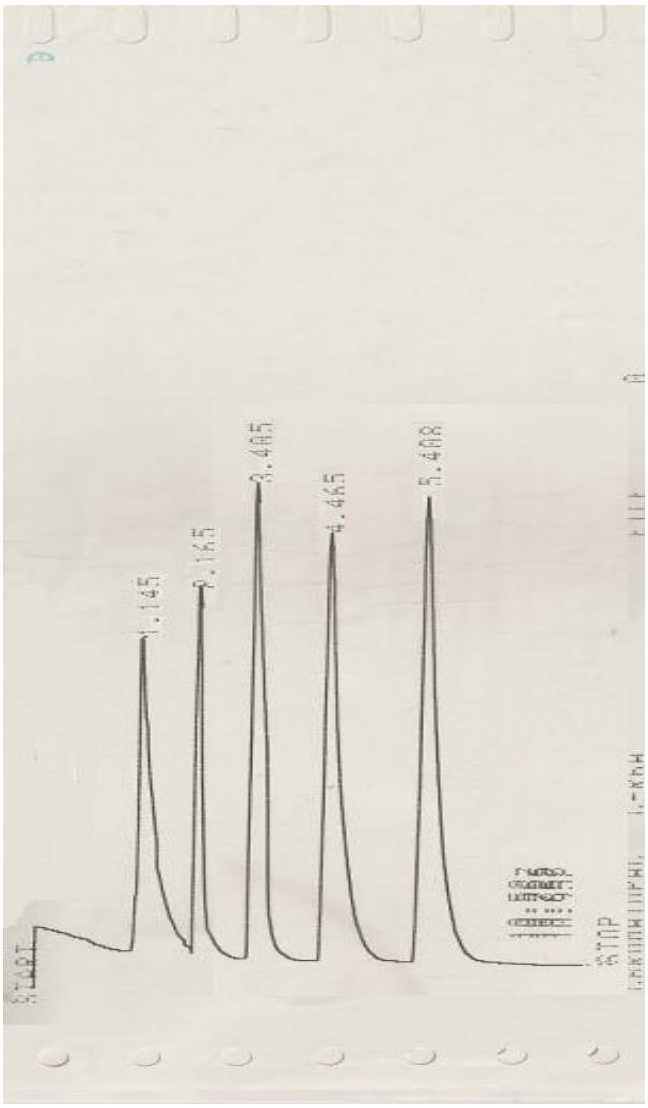
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	451.1	134525
2	Nargnine	162.	135568
3	Proanthocyanin	3323.	137855
4	Quercetin	3934.	134222
5	Rutin	4125.	133580

الملحق (18) تأثير الفلورسنت و5 ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



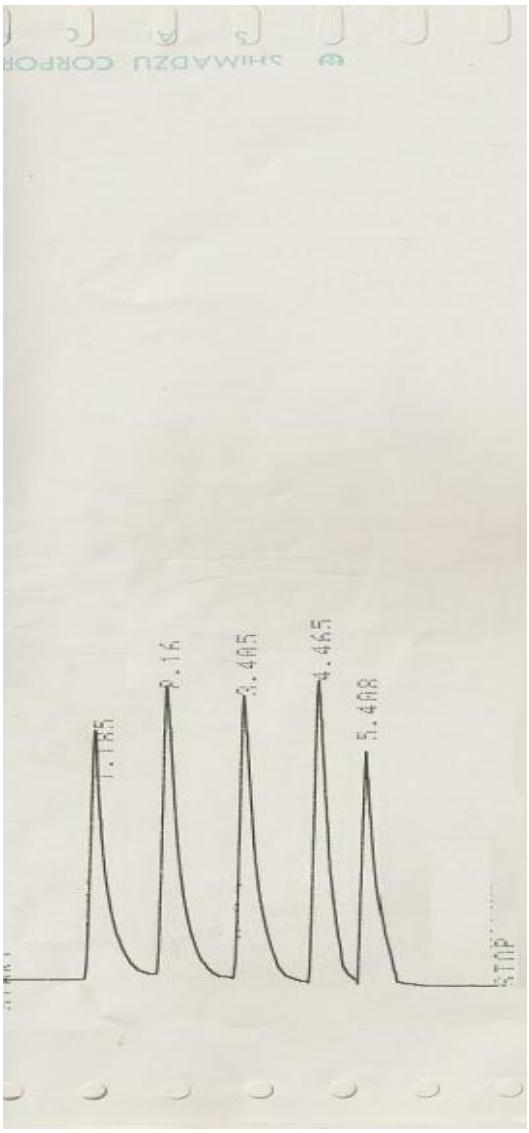
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	451.1	114870
2	Nargnine	162.	125586
3	Proanthocyanin	053.4	128661
4	Quercetin	564.4	134462
5	Rutin	4085.	131247

الملحق (19) تأثير الفلورسنت و0 ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



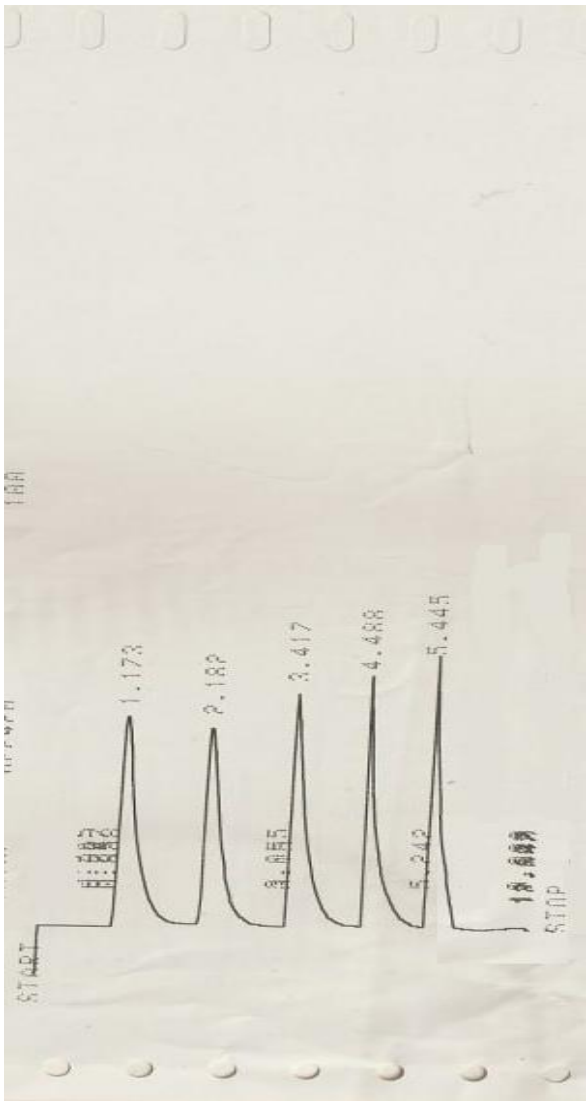
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	451.1	138532
2	Nargnine	1652.	143210
3	Proanthocyanin	053.4	155348
4	Quercetin	654.4	148896
5	Rutin	4085.	154225

الملحق (20) تأثير الـ LED الابيض و20 ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



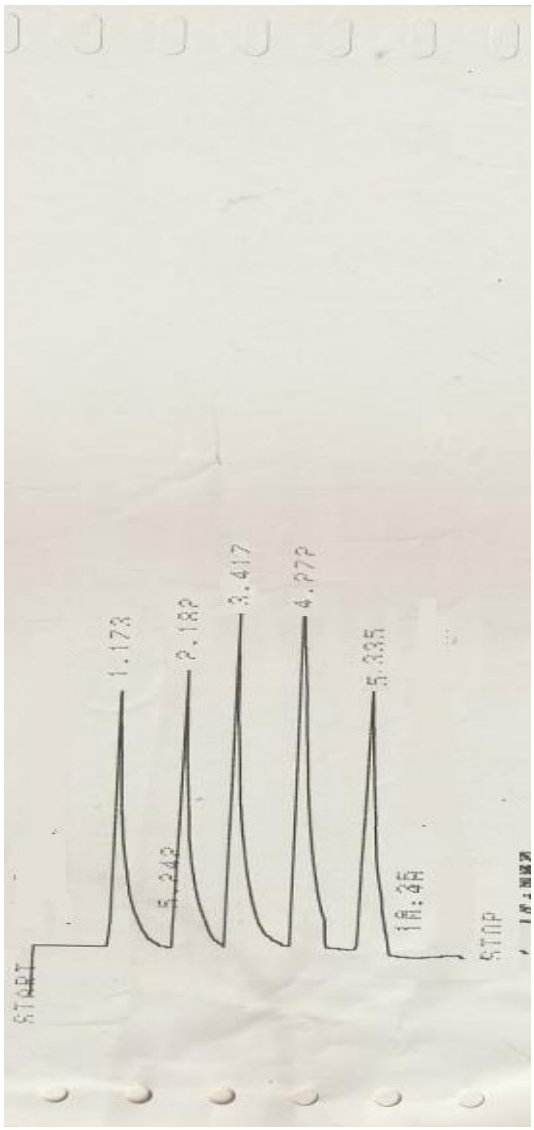
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	851.1	134750
2	Nargnine	162.	144301
3	Proanthocyanin	053.4	142567
4	Quercetin	654.4	143556
5	Rutin	4085.	128879

الملحق (21) تأثير الـ LED الابيض و15 ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



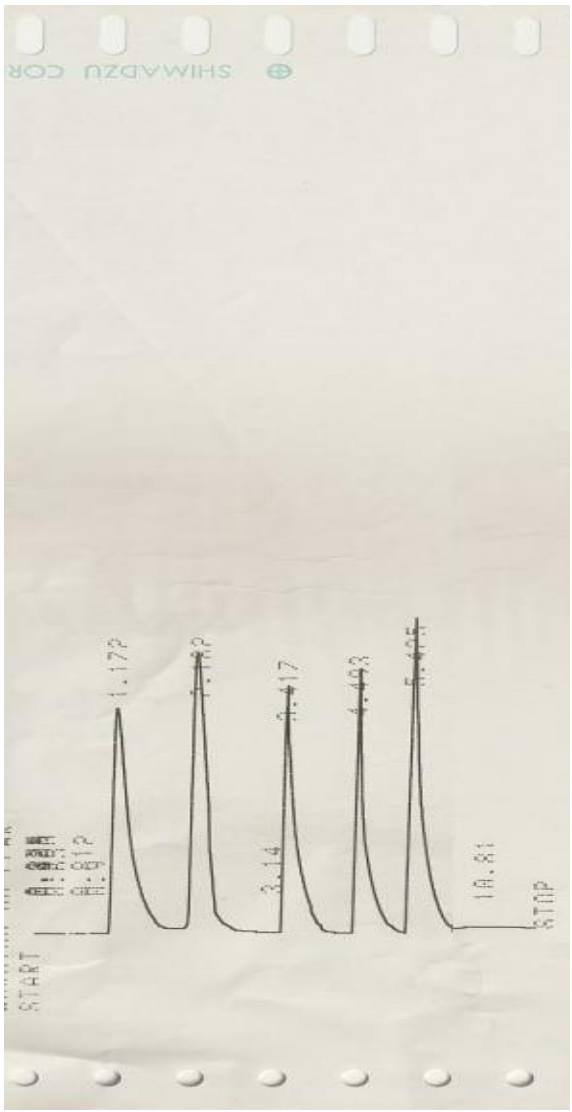
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	731.1	134475
2	Nargnine	1822.	132254
3	Proanthocyanin	173.4	143230
4	Quercetin	884.4	143010
5	Rutin	4455.	146510

الملحق (22) تأثير الـ LED الابيض و5 ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



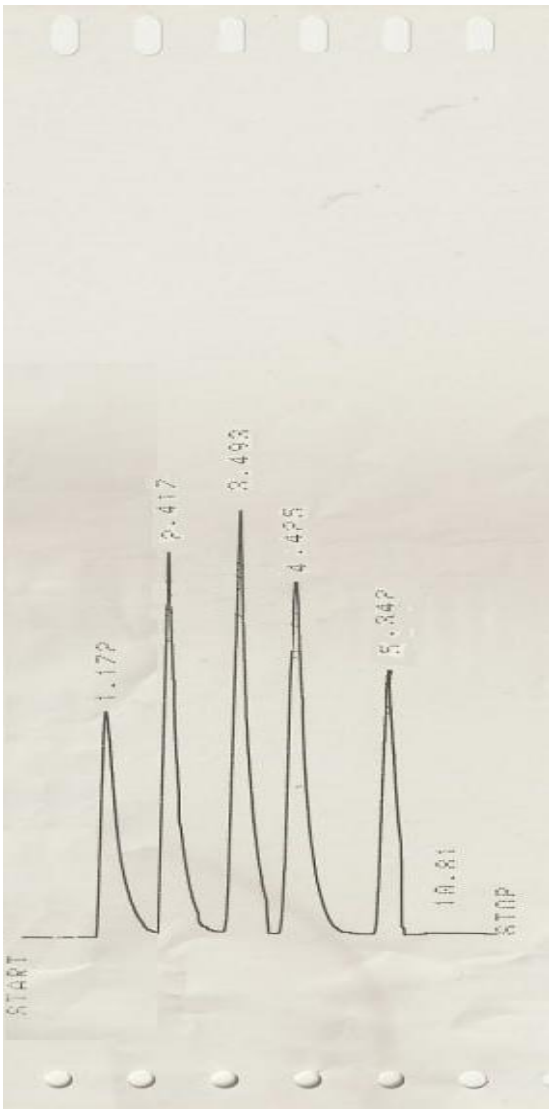
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	731.1	137600
2	Nargnine	1822.	138661
3	Proanthocyanin	173.4	145890
4	Quercetin	2724.	148790
5	Rutin	3355.	137554

الملحق (23) تأثير الـ LED الابيض و10 ملغم لتر$^{-1}$ فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



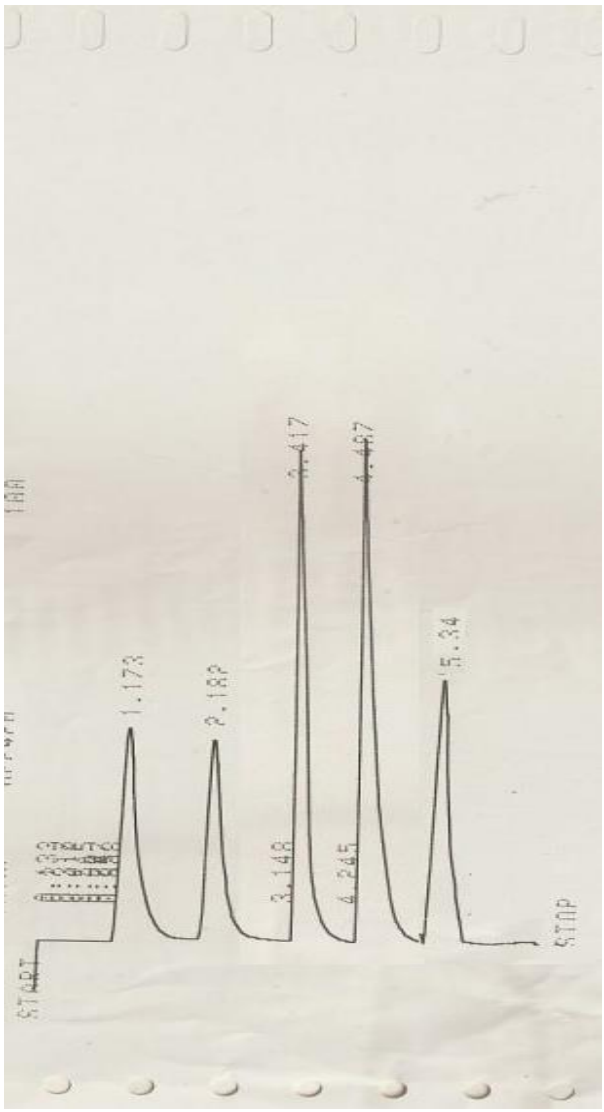
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	721.1	145032
2	Nargnine	1822.	1461786
3	Proanthocyanin	173.4	134711
4	Quercetin	4934.	134680
5	Rutin	4255.	144500

الملحق (24) تأثير الـ LED الملون و0 ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



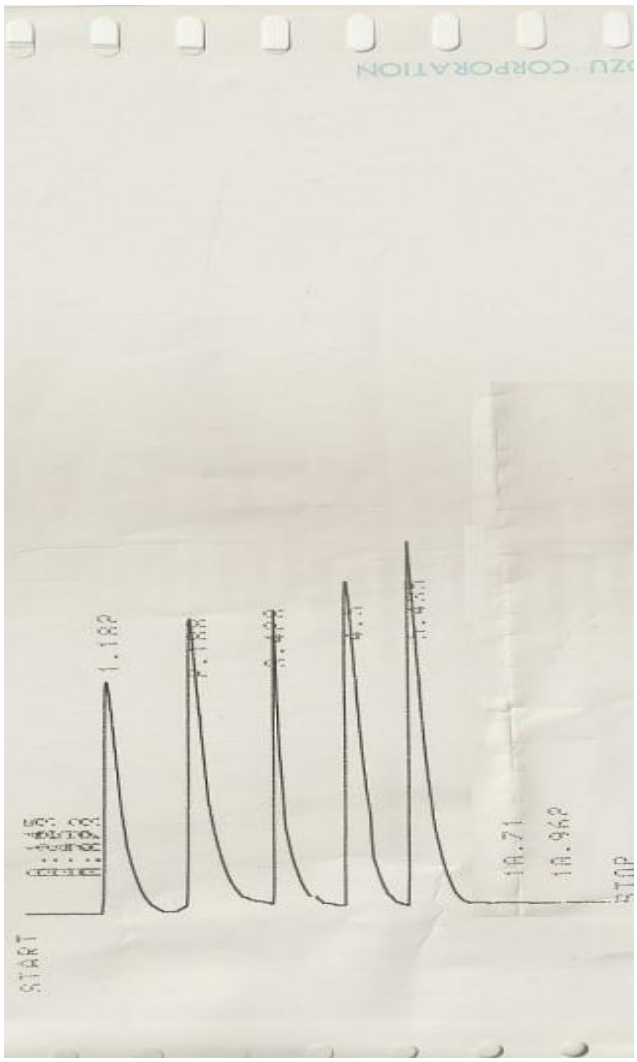
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	721.1	137565
2	Nargnine	4172.	154332
3	Proanthocyanin	933.4	154789
4	Quercetin	4254.	153041
5	Rutin	3425.	149885

الملحق (25) تأثير الـ LED الملون و10 ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



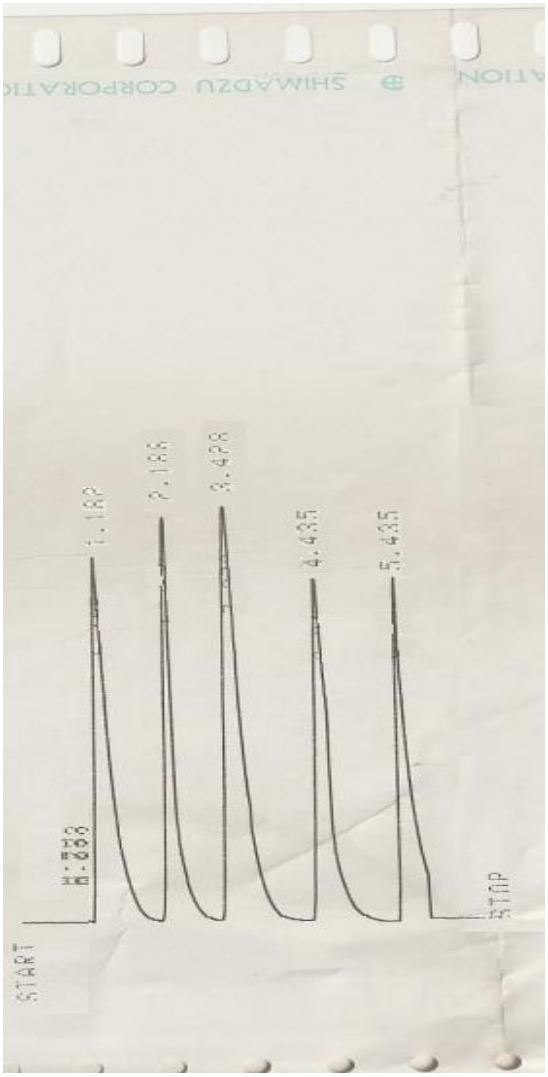
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	731.1	135660
2	Nargnine	1822.	134252
3	Proanthocyanin	173.4	146770
4	Quercetin	2724.	158756
5	Rutin	3355.	137885

الملحق (26) تأثير الـ LED الملون و5 ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



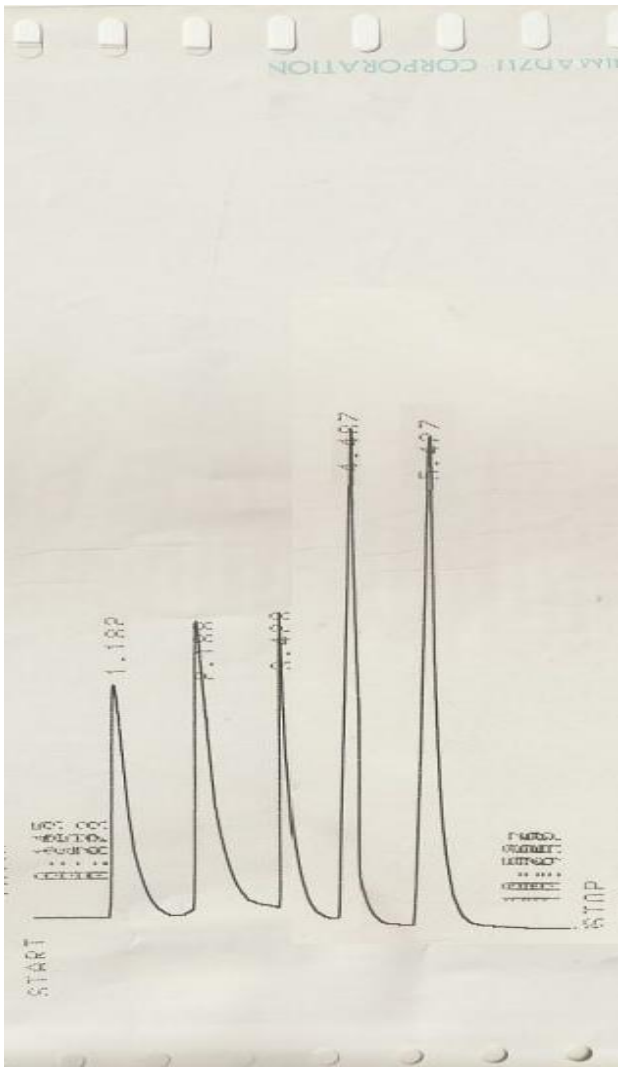
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	831.1	147556
2	Nargnine	1882.	155423
3	Proanthocyanin	283.4	148655
4	Quercetin	54.	157780
5	Rutin	4395.	158770

الملحق (27) تأثير الـ LED الملون و15 ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



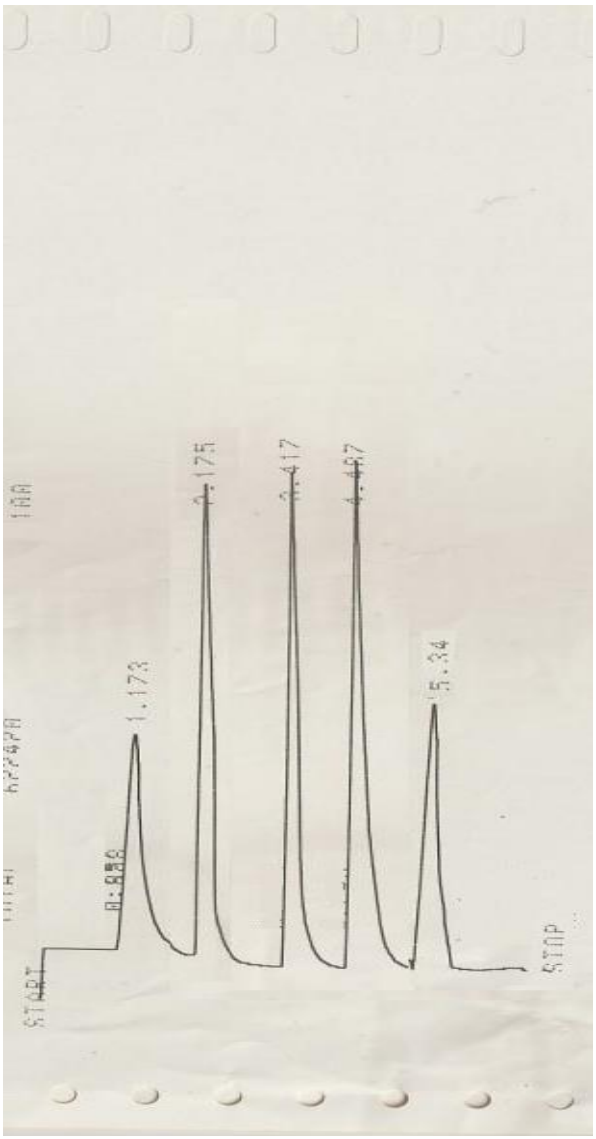
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	821.1	164452
2	Nargnine	1882.	168875
3	Proanthocyanin	283.4	175665
4	Quercetin	4354.	157508
5	Rutin	4355.	154899

الملحق (28) تأثير الـ LED الملون و 20 ملغم لتر$^{-1}$فنيل الانين في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



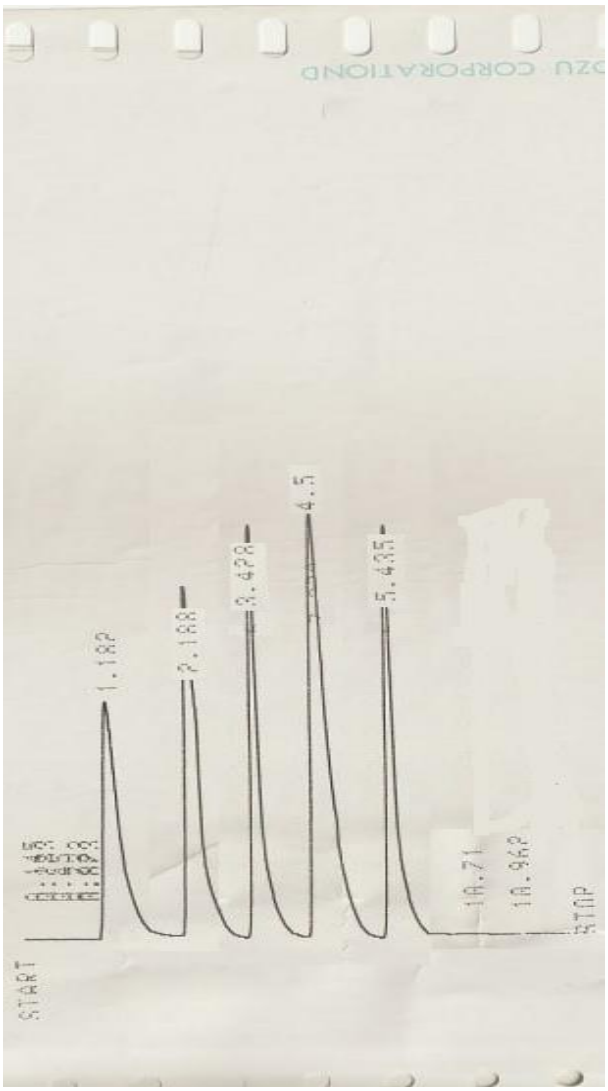
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	821.1	131125
2	Nargnine	1882.	145256
3	Proanthocyanin	283.4	143022
4	Quercetin	4874.	154420
5	Rutin	4275.	154233

الملحق (29) تأثير الفلورسنت و2 ملغم لتر$^{-1}$براسينولايد في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



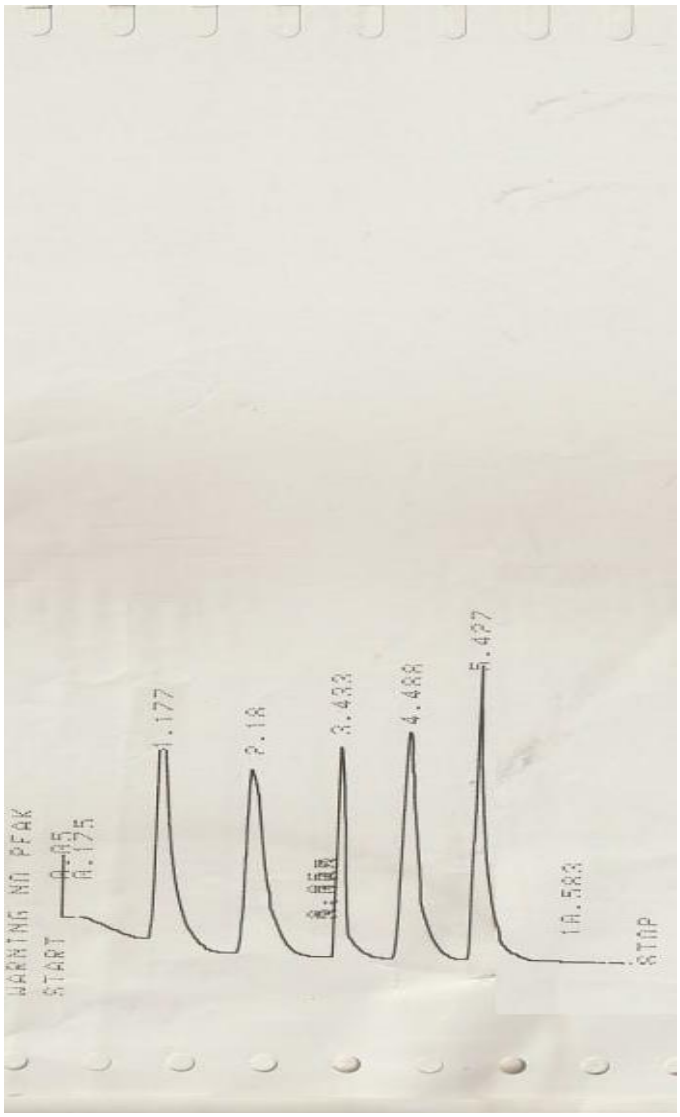
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	731.1	128875
2	Nargnine	1752.	134660
3	Proanthocyanin	173.4	135201
4	Quercetin	4874.	134766
5	Rutin	345.	127990

الملحق (30) تأثير الفلورسنت و1 ملغم لتر$^{-1}$براسينولايد في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



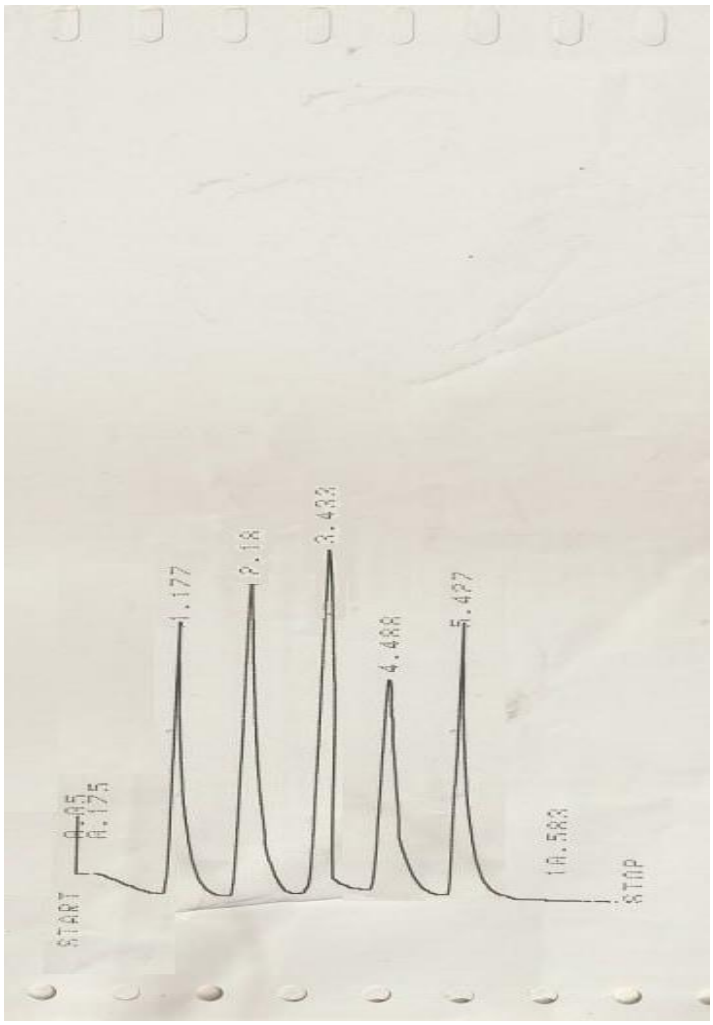
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	831.1	123665
2	Nargnine	1882.	149708
3	Proanthocyanin	283.4	146885
4	Quercetin	54.	165420
5	Rutin	4355.	143302

الملحق (31) تأثير الفلورسنت و3 ملغم لتر$^{-1}$براسينولايد في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



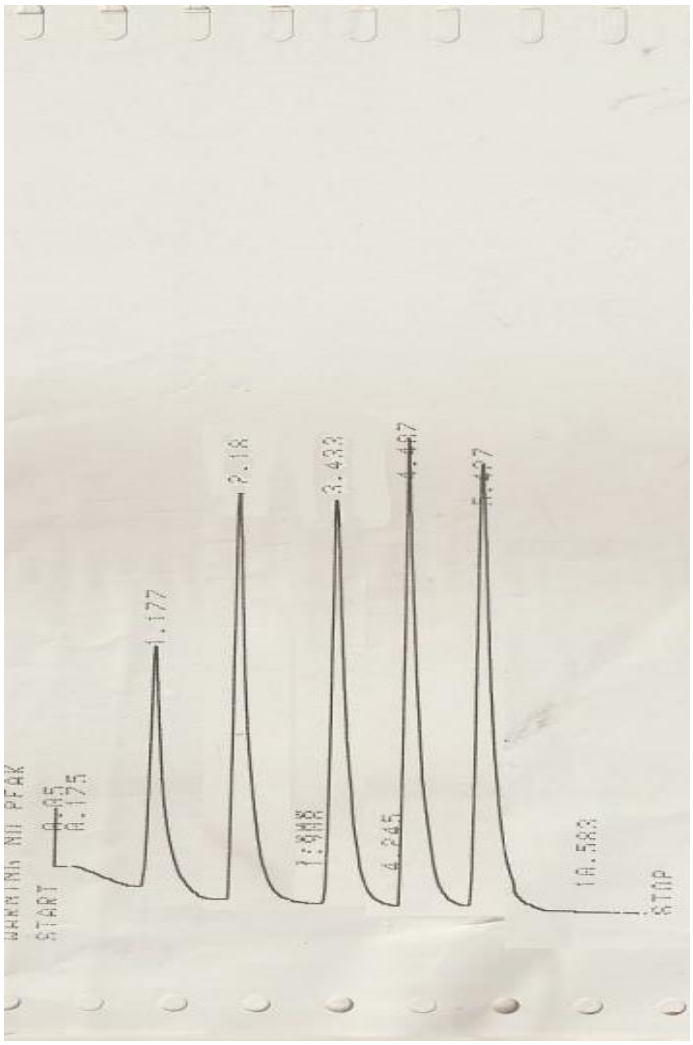
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	771.1	124475
2	Nargnine	182.	123366
3	Proanthocyanin	333.4	122588
4	Quercetin	4884.	132556
5	Rutin	4275.	134778

الملحق (32) تأثير الفلورسنت و0 ملغم لتر$^{-1}$براسينولايد في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



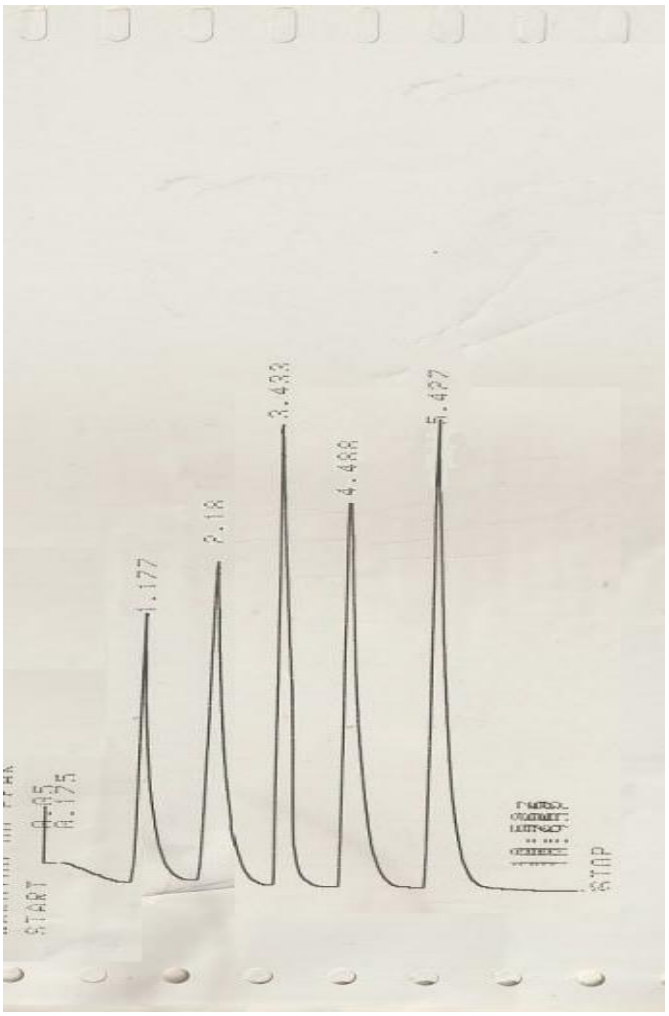
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	771.1	124600
2	Nargnine	182.	145421
3	Proanthocyanin	333.4	146550
4	Quercetin	4884.	137885
5	Rutin	4275.	124884

الملحق (33) تأثيرالـ LED الابيض و1 ملغم لتر$^{-1}$براسينولايد في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



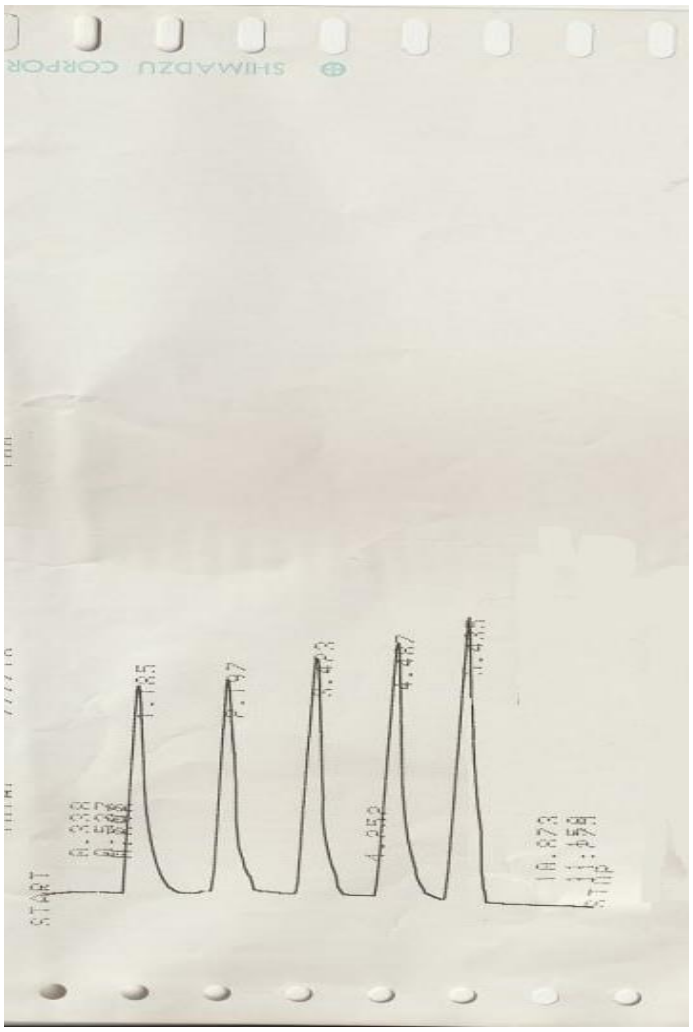
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	771.1	127885
2	Nargnine	182.	145812
3	Proanthocyanin	333.4	144220
4	Quercetin	4874.	154211
5	Rutin	4275.	154100

الملحق (34) تأثيرالـ LED الابيض و3 ملغم لتر$^{-1}$براسينولايد في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



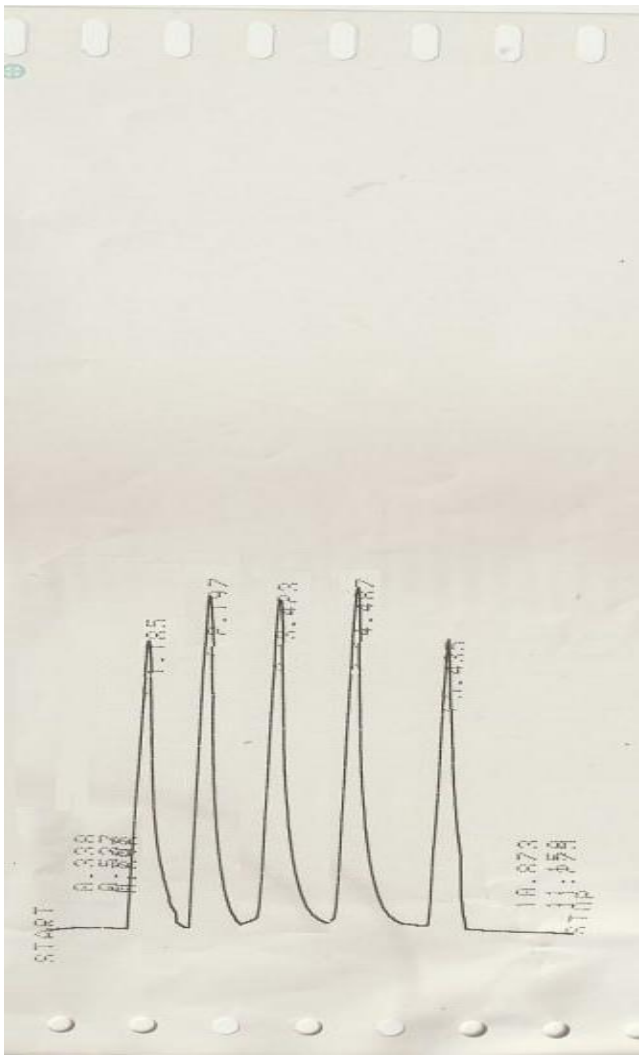
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	771.1	126203
2	Nargnine	182.	134669
3	Proanthocyanin	333.4	145520
4	Quercetin	4884.	142144
5	Rutin	4275.	144778

الملحق (35) تأثيرالـ LED الابيض و2 ملغم لتر$^{-1}$براسينولايد في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



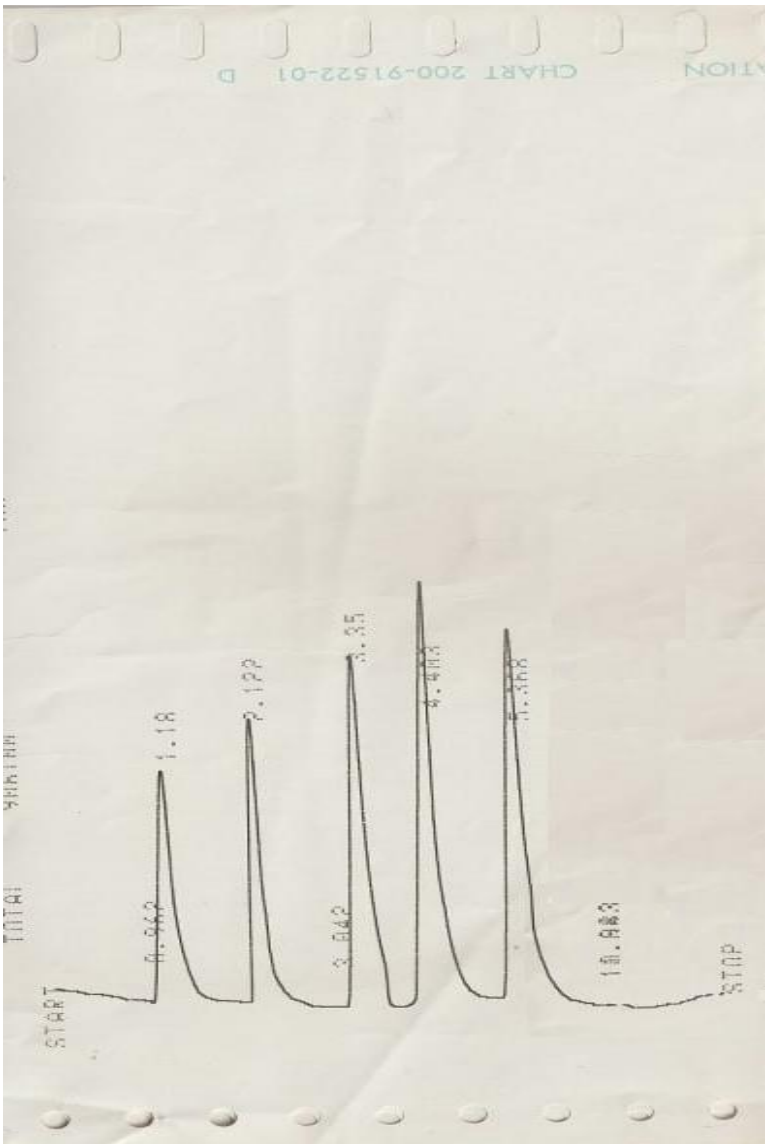
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	851.1	122455
2	Nargnine	1982.	126450
3	Proanthocyanin	233.4	126889
4	Quercetin	4874.	134540
5	Rutin	4355.	142424

الملحق (36) تأثيرالـ LED الابيض و0 ملغم لتر$^{-1}$براسينولايد في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



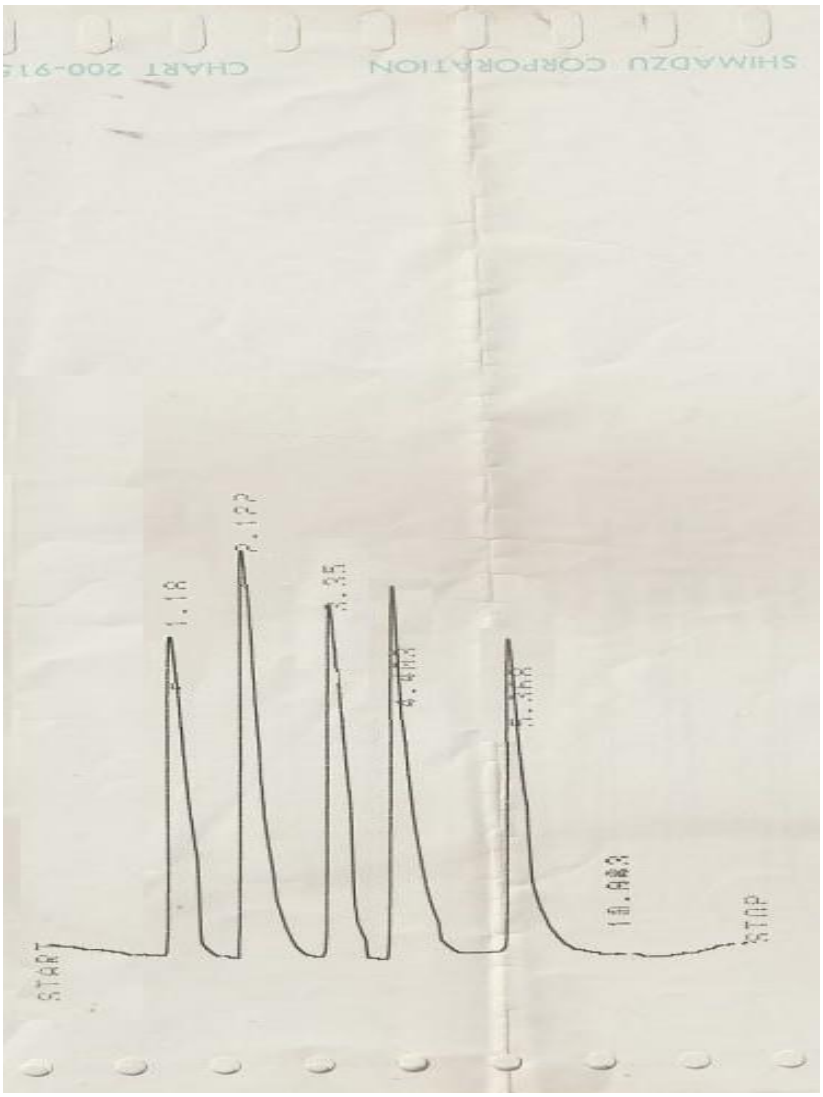
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	851.1	132202
2	Nargnine	1972.	135548
3	Proanthocyanin	233.4	145545
4	Quercetin	4874.	136556
5	Rutin	4355.	133850

الملحق (37) تأثيرالـ LED الملون و0 ملغم لتر$^{-1}$براسينولايد في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



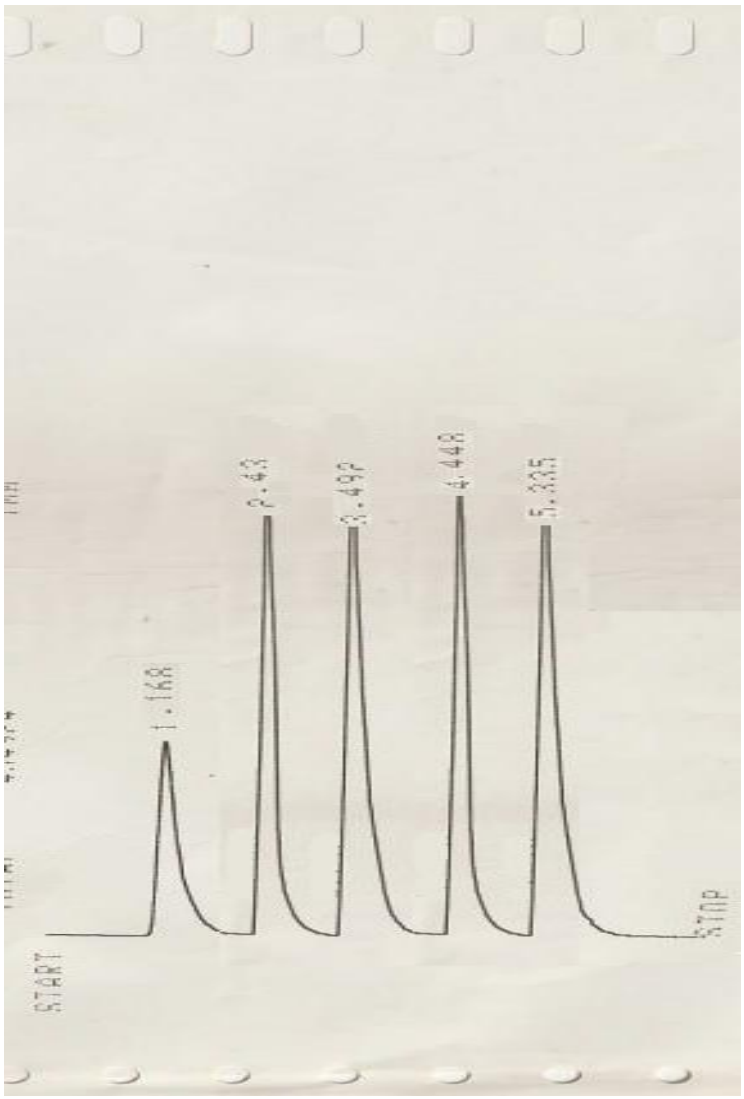
Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	81.1	132110
2	Nargnine	1222.	134551
3	Proanthocyanin	353.	153480
4	Quercetin	4034.	167555
5	Rutin	3685.	154660

الملحق (38) تأثيرالـ LED الملون و1 ملغم لتر$^{-1}$براسينولايد في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	81.1	156624
2	Nargnine	222.	1685542
3	Proanthocyanin	353.	159986
4	Quercetin	4034.	164520
5	Rutin	3685.	157554

الملحق (39) تأثيرالـ LED الملون و2 ملغم لتر$^{-1}$براسينولايد في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS



Seq	Compound	Retention time	Area
1	Hesperdine	681.1	138997
2	Nargnine	32.4	164558
3	Proanthocyanin	923.4	168889
4	Quercetin	484.4	164365
5	Rutin	355.3	164210

الملحق (40) تأثيرالـ LED الملون و3 ملغم لتر$^{-1}$براسينولايد في تركيز المركبات الفلافونويدية في كالس نبات العنب بعد شهر من الزراعة على الوسط MS

Abstract

This study was carried out in the Plant Tissue Culture Laboratory of the College of Agriculture - University of Karbala. HPLC Analysis was completed at the White Fields Company for Investments, Environmental and Engineering Studies for the period from 2023 to 2024.The study included the use of plant tissue culture technology to stimulate grape callus cultures and induce them to increase the production of flavonoid compounds of medical importance.

The study was carried out in two stages after the sterilization process was carried out. The first included establishing callus farms using different combinations of auxins and cytokinins. The second stage was carried out by exposing the callus farms to different combinations of phenylalanine, light and brassinolides to stimulate it to increase the production of flavonoid compounds in independent factorial experiments within a completely randomized design (CRD). The results can be summarized as follows:

- The best treatment for sterilizing plant parts was sodium hypochlorate at a concentration of(1.5% for 10 minutes). As for the triple interference, both parts outperformed with a period of(10 minutes and a concentration of 1.5)sodium hypochlorite.
- The developing top was significantly superior to the buds in achieving the highest response to callus induction.
- The concentration of(2mg l^{-1})2,4- D achieved the highest response to the fresh and dry weight of callus induced from the growing apex, and BA was at concentration of (0.2mg l^{-1})achieved the highest response. As for the interaction, the concentration of(2 mg/L^{-1})of 2.4-D with the concentration of (0.4 mg/L^{-1})of BA achieved the highest response for the same characteristics.
- The concentration of (4 mg l^{-1} 2-4 D and 0.4 mg l^{-1})BA is significantly increased the production of flavonoid compound, hesperdine, proanthocyanin and rutin. The concentration of(4 mg l^{-1} 2-4 D and 0.2 mg l^{-1})BA

significantly increased the production of narngnine, whereas concentration(3 mg l^{-1})2-4 D and 0.4mg l^{-1} BA is significantly increased the production of quercetin while the best response to carbohydrate production was at the concentration of(3 mg l^{-1})2-4 D and (0.1mg l^{-1})BA and the interaction at concentration (3 mg l^{-1} 2,4-D and 0.2 mg l^{-1})BA. As for the interaction, (3 mg l^{-1} 2,4-D and 0.4 mg l^{-1})BA were significantly superior in increasing quercetin & hesperdine compounds. The concentration(4 mg l^{-1})2,4 D interfering with(0.4 mg l^{-1})BA were superior in production of proanthocyanin, rutin and narngnine.

- The colored LED achieved the highest response to the fresh and dry weight of the callus compared to the white and fluorescent LED. The phenylalanine concentration of(15 mg l^{-1})also achieved the highest response to the same characteristics. While for interfering, the colored LED and concentration(15 mg l^{-1}) achieved highest response for the same properties.
- Colored LED has a significant effect on increasing production of hesperdine, narngnine, proanthocyanin , rutin and quercetin
- The concentration of (20mg l^{-1})of phenylalanine achieved the highest response to the production of proanthocyanins and rutin, while the concentration of(15 mg l^{-1}) of it achieved the highest response to the production of hesperdine, nargnine, quercetin and carbohydrates. As for interaction, the concentration(15 mg l^{-1})of phenylalanine with colored LED achieved highest response in metabolic compounds.
- The concentration of (3 mg l^{-1})Brassinolyde gave the highest response to the fresh and dry weight of callus and the interference was between (3 mg l^{-1} Brassinolyde with colored LED).
- The concentration of(3 mg l^{-1})Brassinolide was significantly superior in increasing the production of compounds hesperdine, narngnine, rutin and quercetin, while the concentration of(2 mg l^{-1})achieved the highest response to proanthocyanins and carbohydrates. As for interaction, the concentration (2

mgl^{-1})Brassinolyde with colored LED achieved increased in Hesperdine,Rutin, Narngnine and carbohydrates. The concentration (3 mg L^{-1} Brassinolyde with colored LED) achieved increasing in the Quercetin compound.

University of Kerbala
College of Agriculture
Horticulture and Landscape Department

Stimulation of some secondary metabolites in grape callus classify (*Vitis vinifera*) using some chemical and physical stimuli

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

Submitted By

Fatima kadhom shaker

Supervisered by

Prof. Dr. Sarab Abdul Hadi Mohammad Al-Mukhtar

Assist.Prof. Dr. Zaid Khaleel Kadhim

2024 A.D **1446A.H**