



جامعة كربلاء

كلية الزراعة

قسم البستنة وهندسة الحدائق

تأثير بعض منظمات النمو والمحفزات الكيميائية والفيزيائية في النمو
والمحتوى الكيميائي لنبات *Mentha piperita* L. خارج الجسم الحي

رسالة مقدمة الى مجلس كلية الزراعة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير
علوم في الزراعة / البستنة وهندسة الحدائق

من قبل

هبة جبار كاظم العامري

بإشراف

ا.د. سراب عبد الهادي محمد المختار

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

نَرْفَعُ دَرَجَاتٍ مِّنْ نَّشَأٍ^{قُلْ} وَفَوْقَ كُلِّ ذِي
عِلْمٍ عَالِمٌ

صدق الله العلي العظيم

سورة يوسف الآية (76)

إقرار المشرف

اشهد ان اعداد هذه الرسالة الموسومة (تأثير بعض منظمات النمو والمحفزات الكيميائية والفيزيائية في النمو والمحتوى الكيميائي لنبات *Mentha piperita* L. خارج الجسم الحي)، جرت تحت اشرافي في قسم البستنة وهندسة الحدائق / كلية الزراعة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير علوم في الزراعة - البستنة وهندسة الحدائق



التوقيع:

ا.د. سراب عبد الهادي محمد حسين

كلية الزراعة - جامعة كربلاء

التاريخ:

توصية رئيس القسم البستنة وهندسة الحدائق ورئيس لجنة الدراسات العليا
بناء على التوصية المقدمة من قبل الأستاذ المشرف أشرح هذه الرسالة للمناقشة العلمية



التوقيع:

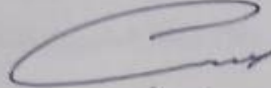
أ.م. د. حارث محمود عزيز

كلية الزراعة - جامعة كربلاء

التاريخ:

إقرار لجنة المناقشة

نشهد نحن أعضاء لجنة المناقشة قد أطلعنا على الرسالة الموسومة (تأثير بعض منظمات النمو والمحفزات الكيميائية والفيزيائية في النمو والمحتوى الكيميائي لنبات *Mentha piperita* L. خارج الجسم الحي) وناقشنا الطالبة في محتوياتها ووجدنا أنها جديرة بالقبول لنيل شهادة الماجستير علوم في الزراعة - البستنة وهندسة الحدائق.



رئيساً

أ.د. شامل أسماعيل نعمة

كلية الزراعة - جامعة الانبار

التاريخ: 2025 \ 7 \

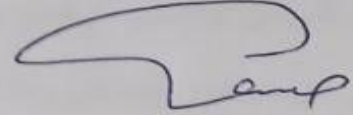


عضواً

أ.م. د. زيد خليل كاظم

كلية الزراعة - جامعة كربلاء

التاريخ: 2025 \ 7 \

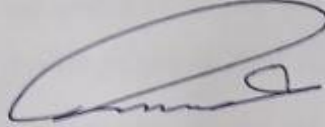


عضواً

أ.م. د. صباح عبد فليح

كلية الزراعة - جامعة كربلاء

التاريخ: 2025 \ 7 \



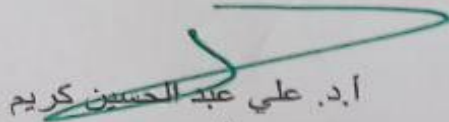
عضواً ومشرفاً

أ.د. سراب عبد الهادي محمد

كلية الزراعة - جامعة كربلاء

التاريخ: 2025 \ 7 \

صدققت الرسالة في مجلس كلية الزراعة - جامعة كربلاء.



أ.د. علي عبد الحسين كريم
العميد
كلية الزراعة - جامعة كربلاء
2025 / 7 /

الإهداء

الى من منحني نور العلم وصبر السعي ونعمة الاتمام اليك يا ربي ارفع ثمرة جهدي عرفاناً
بفضلك وامتناناً لنعمائك

الى الذي علمنا ان العلم عبادة والسعي في طريقه جهاد الى الرسول المؤيد أبي القاسم محمد
(ص) والى اهل بيته الطيبين الطاهرين.

الى صاحب العصر والزمان الإمام المهدي (عج) عنوان الامل في قلوب محبيه.

الى من غاب عني جسداً وبقي أثره خالداً في قلبي وذاكرتي الى تلك الروح الطاهرة والذي
الشهيد رحمه الله.

الى من أوصاني الرحمن بها براً وإحساناً والدتي اطل الله في عمرها.

الى من يفرحون بنجاحي وكأنه نجاحهم ... وشاركهم لحظاتي ... أخوتي وأخواتي.

الى شريك أيامي ورفيق دربي كنت سندي في كل لحظة فلك مني كل الحب والامتنان زوجي
الغالي علي.

الى من وهبني الله نعمة وجودهم لعله يكون بذرة تثمر في قلوبكم حب العلم والإصرار والطموح
.... اولادي يقين وعباس.

كل الشكر والتقدير الى أساتذتي الكرام فقد كنتم نعم المرشدين والداعمين في طريق العلم.

الى كل من رافقتني بدعوة صادقة وكلمة طيبة كانت لي حافزاً.

الباحثة

هبي

شكر وتقدير

الحمدُ لله في الأول والأخر والظاهر والباطن فلهُ الحمد كما ينبغي لجلال وجهه وعظيم سلطانه والصلاة والسلام على نبي الرحمة وعلى آل بيته الطيبين الطاهرين.

أتقدم بجزيل الشكر والامتنان الى الأستاذة المشرفة الدكتورة سراب عبد الهادي محمد المختار على ما تفضلت به من جهد علمي وتوجيهات سديدة طوال مراحل اعداد هذه الرسالة.

كما أتقدم بكامل الشكر والتقدير الى عميد كلية الزراعة - جامعة كربلاء الأستاذ الدكتور علي عبد الحسين كريم المحترم والى رئيس قسم البستنة وهندسة الحدائق الدكتور حارث التميمي والى الدكتور صباح الربيعي والدكتور زيد خليل والدكتور حميد خشان والى الست فاطمة كاظم وجميع أساتذتي على توفير بيئة علمية محفزة ساعدت على إنجاز هذا البحث.

كما أخص بالشكر لزملائي وزميلاتي طلبة الدراسات العليا الذين كانوا خير رفقة في طريق العلم وبالأخص رسل وعالية ومارلين ورفاة وصفا وسلوى.

جزى الله الجميع عني خير الجزاء وبارك في خطاهم ووفقهم كما وفقني.

الباحثة

هبة جبار العامري

المستخلص

نفذت هذه الدراسة في مختبر زراعة الانسجة النباتية التابع لكلية الزراعة - جامعة كربلاء واكملت تحاليل الـ HPLC في شركة الحقول البيضاء للاستثمارات والدراسات البيئية والهندسية للمدة من 2024/8/1 ولغاية 2025/4/1، تضمنت الدراسة استخدام تقانة زراعة الأنسجة النباتية بهدف نشوء وتضاعف مزارع الافرع الخضرية لنبات النعناع الفلفلي ومن ثم تحفيزها على زيادة انتاج بعض الزيوت الطيارة ذات التأثير الطبي الفعال. نفذت الدراسة بعدة تجارب مستقلة بعد اجراء عملية التعقيم: شملت الأولى نشوء المزارع النسيجية باستعمال تراكيز مختلفة من الـ BA و NAA (0، 1، 1.5) ملغم لتر⁻¹ و (0، 0.1) ملغم لتر⁻¹ على التوالي، ونفذت المرحلة الثانية بزراعة اطراف الافرع التي تم الحصول عليها من مرحلة النشوء على الوسط الغذائي MS المجهز بتراكيز مختلفة من الـ BA و KIN (0، 1، 2، 3) ملغم لتر⁻¹ و (0، 0.5، 1.0، 1.5) ملغم لتر⁻¹ على التوالي بوجود تركيز ثابت (0.1) ملغم لتر⁻¹ من NAA بهدف الحصول على اكبر افرع من مزارع الافرع الخضرية، ونفذت تجربة التحفيز بزراعة اطراف الافرع الخضرية التي تم الحصول عليها من مرحلة التضاعف وزراعتها على الوسط الغذائي MS المجهز بتراكيز مختلفة من الفينيل الانين و PEG (0، 1، 2، 4) ملغم لتر⁻¹ و (0، 2، 4) ملغم لتر⁻¹ بتجارب مستقلة وبوجود تركيز ثابت من BA و KIN و NAA تحت ظروف ثلاثة انواع من الاضاءة ، تم تصميم التجارب وفقا للتصميم العشوائي الكامل (CRD)، اظهرت نتائج الدراسة ما يلي:

- إن أفضل توليفة في تعقيم بذور نبات النعناع الفلفلي هي هايبوكلورات الصوديوم NaOCl بتركيز 2 % لمدة 15 دقيقة كانت 0.00%.
- ان أفضل توليفة للتدخل في النسبة المئوية للاستجابة كانت عند التركيز 0.1 ملغم لتر⁻¹ من NAA بالتدخل مع التركيز 1 ملغم لتر⁻¹ من BA اعلى متوسط بلغت 80%.
- إن الوسط الغذائي المجهز بالـ BA عند التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ مع التركيز 1 ملغم لتر⁻¹ من KIN سجل اعلى متوسط في زيادة عدد الافرع والارتفاع والوزن الطري والجاف للمجموع الخضري في مرحلة التضاعف بلغ 38.30 فرع نبات⁻¹ ، 12.30 سم، 19.85 ملغم، 4.17 ملغم على التوالي.

- أدت معاملة النموات الخضرية بتركيز مختلفة من الفينيل الانين والإضاءة الى وجود فروق معنوية حيث تفوق التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ بالتداخل مع LED الملون في تحقيق أعلى متوسط للصفات المدروسة والتي شملت في عدد الافرع الخضرية وكذلك تركيز إنزيم البيروكسيديز وإنزيم الكاتليز وإنزيم البرولين ومركب Menthol و 2, Menthofuran و Menthone حيث بلغ 65.67 فرع نبات⁻¹ و 2.17 وحدة امتصاص دقيقة غم⁻¹ و 3.88 وحدة امتصاص دقيقة غم⁻¹ و 3.77 مايكرو غرام غم⁻¹ 39.10 و 34.18 و 28.22 مايكرو غرام مل⁻¹ على التتابع، اما بالنسبة للتداخل بين التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ من الفينيل الانين مع مصابيح LED الملونة فقد حققت أعلى متوسط في ارتفاع النبات والوزن الطري والجاف وتركيز الكلوروفيل الكاربوهيدرات والبروتينات ومركب Menthy acetate و 1,8 Cineol بلغت 13.95 سم، 26.65 ملغم، 8.83 ملغم، 4.96، 6.80 ملغم غم⁻¹، 18.22 %، 33.71، 31.54 مايكرو غم مل⁻¹ على التتابع.
- أدت معاملة النموات الخضرية بتركيز مختلفة من PEG بالتداخل مع مصابيح LED الملونة الى وجود فروق معنوية حيث تفوق معاملة المقارنة في تحقيق أعلى متوسط للصفات المدروسة والتي شملت في عدد الافرع الخضرية و الارتفاع والوزن الطري والجاف والتي بلغ 38.15 فرع نبات⁻¹ و 10.10 سم و 19.08 و 6.46 ملغم ، اما بالنسبة لتركيز الكلوروفيل الكاربوهيدرات والبروتينات ومركب Menthy acetate و 1,8 Cineol فقد تفوق التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ بالتداخل مع مصابيح LED الملونة في تحقيق أعلى متوسط بلغ 3.75 ملغم غم⁻¹ و 3.74 ملغم غم⁻¹ و 13.28 % و 34.72 و 33.24 مايكرو غم مل⁻¹، اما بالنسبة لإنزيم البيروكسيديز وإنزيم الكاتليز و البرولين ومركب Menthol و 2, Menthofuran و Menthone فقد تفوق التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ بالتداخل مع مصابيح LED الملونة في تحقيق أعلى متوسط للاستجابة بلغ 2.94 و 6.94 وحدة امتصاص دقيقة غم⁻¹ و 4.28 مايكرو غرام غم⁻¹ و 40.32 و 35.02 و 31.83 مايكرو غم مل⁻¹ على التتابع.

قائمة المحتويات

الصفحة	الموضوع	التسلسل
1	المقدمة Introduction	1
3	استعراض المراجع Literature review	2
3	الوصف النباتي لنبات النعناع الفلفلي	1-2
4	الاسم العلمي والتصنيف النباتي لنبات النعناع الفلفلي	2-1-2
5	الأهمية الطبية لنبات النعناع الفلفلي	3-1-2
7	زراعة الانسجة النباتية	2-2
9	التعقيم	6-2
10	منظمات النمو النباتية	2-2-2
12	تأثير منظمات النمو في نشوء وتضاعف الأفرع الخضرية	1-2-2
13	مركبات الايض الثانوية وإنتاجها خارج الجسم الحي	3-2
14	الزيوت الطيارة	1-3-2
16	البناء الحيوي للزيت الطيار	1-1-3-2
18	تأثير المحفزات الفيزيائية في إنتاج المركبات الثانوية	4-2
18	الضوء	1-4-2
20	تأثير المحفزات الكيميائية في إنتاج المركبات الثانوية	5-2
23	الفنيل الأنين Phenylalanine	1-5-2
24	البولي أنثيلين كلايكول Polyethylene glycol	2-5-2
25	التشخيص الكمي والنوعي بواسطة تقانة (HPLC)	6-2
26	المواد وطرائق العمل Materials and Discussion	3
26	تحضير الوسط الغذائي	1-3
27	التعقيم Sterilization	2-3
27	تعقيم الأوساط الغذائية المستخدمة	1-3-3
28	تعقيم كابينة الهواء الطبقي Laminar air flow cabinet	2-2-3
28	تعقيم البذور وزراعتها	3-2-3

29	Initiation stage مرحلة النشوء	3-3
29	Multiplication stage مرحلة التضاعف	4-3
30	تجربة تحفيز إنتاج مركبات الأيض الثانوي في مزارع الأفرع الخضرية	5-3
30	تقدير الكلوروفيل الكلية	6-3
31	تقدير الكاربوهيدرات الكلية	7-3
31	المنحنى القياسي للكاربوهيدرات	1-7-3
32	تقدير البروتينات الكلية	8-3
34	قياس فعالية إنزيم الكاتليز (CAT) Catalase	9-3
35	قياس فعالية إنزيم البيروكسيداز (POD) Peroxidase	10-3
36	تقدير الحامض الاميني البرولين	11-3
37	المنحنى القياسي للبرولين	1-11-3
38	التقدير الكمي والنوعي للزيوت الطيارة باستخدام تقانة كروماتوغرافيا السائل فائق الاداء (HPLC)	12-3
39	تصميم التجربة والتحليل الإحصائي	13-3
40	النتائج والمناقشة Results and Discussion	4
40	تأثير تراكيز هايپوكلورات الصوديوم NaOCl والمدد في النسبة المئوية لتلوث نبات النعناع الفلفلي	1-4
42	تأثير تراكيز BA و NAA في نشوء الزروع	2-4
44	تأثير تراكيز BA و Kin في عدد الأفرع الخضرية	3-4
45	تأثير تراكيز BA و Kin في ارتفاع الأفرع الخضرية	4-4
46	تأثير تراكيز BA و Kin في الوزن الطري	5-4
47	تأثير تراكيز BA و Kin في الوزن الجاف	6-4
50	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في عدد الافرع الخضرية	7-4
51	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في ارتفاع الافرع الخضرية	8-4
52	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في الوزن الطري	9-4
53	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في الوزن الجاف	10-4
54	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز الكلوروفيل الكلي	11-4
55	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز الكاربوهيدرات	12-4

56	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز البروتينات	13-4
57	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في فعالية إنزيم البيروكسيداز	14-4
58	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في إنزيم الكاتليز	15-4
59	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز البرولين	16-4
60	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز مركب Menthol	17-4
61	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز مركب 2, Menthofuran	18-4
62	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز مركب Menthy acetate	19-4
63	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز مركب Menthone	20-4
64	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز مركب 1,8 Cineol	21-4
68	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في عدد الافرع الخضرية	22-4
69	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في ارتفاع الإفراع الخضرية	23-4
70	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في الوزن الطري	24-4
71	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في الوزن الجاف	25-4
72	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في تركيز الكلوروفيل الكلي	26-4
73	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في الكربوهيدرات	27-4
74	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في البروتينات	28-4
75	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في فعالية إنزيم البيروكسيداز	29-4
76	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في إنزيم الكاتليز	30-4
77	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في تركيز البرولين	31-4
78	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في تركيز مركب Menthol	32-4
79	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في تركيز مركب 2, Menthofuran	33-4
80	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في تركيز مركب Menthy acetate	34-4
81	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في تركيز مركب Menthone	35-4
82	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز البولي اثيلين كلايكول في تركيز مركب 1,8 Cineol	36-4

88	الاستنتاجات والتوصيات & Conclusions Recommendations	5
88	Conclusions الاستنتاجات	1-5
89	Recommendations التوصيات	2-5
90	References المصادر	6
90	Arabic References المصادر العربية	1-6
93	Foreign References المصادر الاجنبية	2-6
111	Appendices الملاحق	7

قائمة الجداول

الرقم	العنوان	الصفحة
1	مكونات وسط MS من الاملاح اللاعضوية المستخدمة في تحضير الوسط الغذائي	27
2	تأثير تراكيث هايبو كلورات الصوديوم والمدد في النسبة المئوية لتلوث بذور نبات النعناع الفلفلي بعد 14 يوم من الزراعة على وسط MS	41
3	تأثير تراكيث BA و NAA في استجابة الجزء النباتي للنشوء (%) بعد اربعة اسابيع من الزراعة على وسط MS لنبات النعناع الفلفلي	43
4	تأثير تراكيث BA و Kin في عدد الافرع الخضرية (فرع نبات ¹) لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	44
5	تأثير تراكيث BA و Kin في ارتفاع الافرع الخضرية (سم) لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	45
6	تأثير تراكيث BA و Kin في معدل الوزن الطري (ملغم) لنبات النعناع الفلفلي بعد أربعة أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	46
7	تأثير تراكيث BA و Kin في معدل الوزن الجاف (ملغم) لنبات النعناع الفلفلي بعد أربعة أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	47

50	تأثير نوع الإضاءة وتركيز الفينيل الانين في عدد الافرع الخضرية (فرع نبات ¹ -) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	8
51	تأثير نوع الإضاءة وتركيز الفينيل الانين في ارتفاع الافرع الخضرية (سم) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	9
52	تأثير نوع الإضاءة وتركيز الفينيل الانين في الوزن الطري (ملغم) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	10
53	تأثير نوع الإضاءة وتركيز الفينيل الانين في الوزن الجاف (ملغم) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	11
54	تأثير نوع الإضاءة والفينيل الانين في تركيز الكلوروفيل الكلي (ملغم غم ⁻¹) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	12
55	تأثير نوع الإضاءة وتركيز الفينيل الانين في تركيز الكاربوهيدرات الكلية (ملغم غم ⁻¹) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	13
56	تأثير نوع الإضاءة وتركيز الفينيل الانين في البروتينات (%) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	14
57	تأثير نوع الإضاءة وتركيز الفينيل الانين في فعالية إنزيم البيروكسيداز (وحدة امتصاص دقيقة غم ⁻¹) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	15
58	تأثير نوع الإضاءة وتركيز الفينيل الانين في إنزيم الكتلز (وحدة امتصاص دقيقة غم ⁻¹) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	16
59	تأثير نوع الإضاءة وتركيز الفينيل الانين في تركيز البرولين (مايكرو غرام غم ⁻¹) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	17

60	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز مركب Menthol (مايكرو غم مل ⁻¹) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.	18
61	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز مركب 2, Menthofuran (مايكرو غم مل ⁻¹) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.	19
62	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز مركب Menthy acetate (مايكرو غم مل ⁻¹) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.	20
63	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز مركب Menthone (مايكرو غم مل ⁻¹) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.	21
63	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز مركب 1,8 Cineol (مايكرو غم مل ⁻¹) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.	22
68	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في عدد الافرع الخضرية (فرع نبات ⁻¹) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	23
69	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في ارتفاع الافرع الخضرية (سم) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	24
70	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في الوزن الطري (ملغم) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	25
71	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في الوزن الجاف (ملغم) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	26
72	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في تركيز الكلوروفيل (ملغم غم ⁻¹) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	27

73	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في تركيز الكربوهيدرات (ملغم غم ⁻¹) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	28
74	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في نسبة البروتينات (%) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	29
75	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في فعالية إنزيم البيروكسيداز (وحدة امتصاص دقيقة غم ⁻¹) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	30
76	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في إنزيم الكتلز (وحدة امتصاص دقيقة غم ⁻¹) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	31
77	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في تركيز البرولين (مايكرو غرام غم ⁻¹) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	32
78	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في تركيز مركب Menthol (مايكرو غم مل ⁻¹) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.	33
79	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في تركيز مركب 2, Menthofuran (مايكرو غم مل ⁻¹) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.	34
80	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في تركيز مركب Menthy acetate (مايكرو غم مل ⁻¹) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.	35
81	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في تركيز مركب Menthone (مايكرو غم مل ⁻¹) لنبات النعاع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.	36

37	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الـ PEG في تركيز مركب 1,8 Cineol (مايكرو غم مل ⁻¹) لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.	82
----	--	----

قائمة الاشكال

الرقم	العنوان	رقم الصفحة
1	نبات النعناع الفلفلي	3
2	فوائد النعناع الفلفلي	7
3	مخطط العلاقة المتداخلة لمسارات التخليق المركبات الايض الثانوية والمركبات الايض الأولية	14
4	مسار البناء الحيوي للتربينات الأحادية	17
5	موجات الطيف المرئي	19
6	الصيغة التركيبية لحامض الفنيل الأنين	22
7	المنحنى القياسي للكاربوهيدرات	32
8	المنحنى القياسي للبرولين	38
9	إنبات بذور النعناع الفلفلي	41
10	تأثير تراكيز BA و NAA في نشوء نبات النعناع الفلفلي	43
11	تأثير تراكيز Kin و BA في مرحلة التضاعف لنبات النعناع الفلفلي	48
12	تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفنيل الانين في نبات النعناع الفلفلي	65
13	تأثير نوع الإضاءة و PEG في نبات النعناع الفلفلي	83

قائمة المختصرات

NaOCl	Sodium Hypochlorite
BA	Benzyl adenine
NAA	Naphthalene acetic acid
Kin	Kinetin
MS	Murashige and Skoog medium (1962)
CRD	Completely Randomized Design
LSD	Least Significant Difference
PH	Potenz Hydrogen
HPLC	High- Performance Liquid Chromatography
LED	Light Emitting Diodes
PEG	Polyethlenglycol
Phe	Phenylalanine
HOCl	Hypochlorous acid

قائمة الملاحق

الصفحة	عنوان الملحق	التسلسل
111	المحاليل القياسية للمركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي	1
112	تأثير الفلورسنت والفنيل الانين بتركيز 0 ملغم لتر ⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.	2
113	تأثير الفلورسنت والفنيل الانين بتركيز 1 ملغم لتر ⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	3
114	تأثير الفلورسنت والفنيل الانين بتركيز 2 ملغم لتر ⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	4
115	تأثير الفلورسنت والفنيل الانين بتركيز 3 ملغم لتر ⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.	5
116	تأثير الفلورسنت والفنيل الانين بتركيز 4 ملغم لتر ⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.	6
117	تأثير الـ LED الابيض والفنيل الانين بتركيز 0 ملغم لتر ⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	7
118	تأثير الـ LED الابيض والفنيل الانين بتركيز 1 ملغم لتر ⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	8
119	تأثير الـ LED الابيض والفنيل الانين بتركيز 2 ملغم لتر ⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	9
120	تأثير الـ LED الابيض والفنيل الانين بتركيز 3 ملغم لتر ⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	10
121	تأثير الـ LED الابيض والفنيل الانين بتركيز 4 ملغم لتر ⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	11

12	تأثير الـ LED الملون والفنيل الانين بتركيز 1 ملغم لتر ⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	122
13	تأثير الـ LED الملون والفنيل الانين بتركيز 0 ملغم لتر ⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	123
14	تأثير الـ LED الملون والفنيل الانين بتركيز 4 ملغم لتر ⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	124
15	تأثير الـ LED الملون والفنيل الانين بتركيز 2 ملغم لتر ⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	125
16	تأثير الـ LED الملون وPEG بتركيز 2 ملغم لتر ⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	126
17	تأثير الـ LED الملون وPEG بتركيز 4 ملغم لتر ⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	127
18	تأثير الفلورسنت وPEG بتركيز 2 ملغم لتر ⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	128
19	تأثير الفلورسنت وPEG بتركيز 4 ملغم لتر ⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	129
20	تأثير الـ LED الابيض وPEG بتركيز 2 ملغم لتر ⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	130
21	تأثير الـ LED الابيض وPEG بتركيز 4 ملغم لتر ⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS	131
22	جدول تحليل التباين لتعقيم بذور نبات النعناع الفلفلي	132
23	جدول تحليل التباين لمرحلة النشوء	132
24	جدول تحليل التباين للصفات الخضرية في مرحلة التضاعف	132
25	جدول تحليل التباين للصفات الخضرية لمرحلة التحفيز	133
26	جدول تحليل التباين للصفات الكيميائية	133
27	جدول تحليل التباين للمواد الفعالة	134

28	جدول تحليل التباين للصفات الخضرية لمرحلة التحفيز	134
29	جدول تحليل التباين للصفات الكيميائية لمرحلة التحفيز	135
30	جدول تحليل التباين للمواد الفعالة	135
31	بذور نبات النعناع الفلفلي	136
32	نسبة استجابة النبات في مرحلة النشوء	136
33	تأثير الساييتوكانيات المضافة للوسط الغذائي عند الاكثار الدقيق لنبات النعناع الفلفلي.	136
34	قياس تركيز الكلوروفيل بجهاز باستخدام جهاز ال-Spectrophotometer	137
35	سحق العينة باستخدام هاون الخزفي لغرض قياس الصفات الكيميائية.	137
36	هضم العينة النباتية لقياس نسبة البروتينات	138
37	غرفة النمو growth room	139

ينتمي النعناع الفلفلي (*Mentha piperita* L.) للعائلة الشفوية Lamiaceae وهو نبات عشبي معمر مستديم الخضرة، طبيعة نموه زاحفة أو قائمة موطنه الأصلي البحر الأبيض متوسط (نوفل ومنسي، 2019) و يعتبر مصدراً للزيوت الأساسية الغنية بالتربينات الأحادية إذ يتمتع زيت الطيار بخواص لمعالجة حالة التشنج التي تصيب الجهاز الهضمي وعلاج القولون المتهيج ويستخدم كمهدئات في علاج أمراض الكبد والمرارة ويستعمل في علاج الاغشية المخاطية في الفم والبلعوم والتهاب القصبات والجهاز التنفسي (Eftekhari وآخرون، 2021) ومضاداً فعالاً للبكتيريا والفيروسات والميكروبات ومضاداً للأكسدة ومضاداً للسرطان ولاسيما سرطان القولون والمستقيم، ويعطي زيت الطيار إحساس البرودة على الجلد في حالات التحسس الجلدي، يمتلك النعناع رائحة نفاذة فهي تستخدم في الطب الشعبي وذلك لامتلاكه مدى واسع من الفعالية البيولوجية والصيدلانية ومن فوائده الدوائية في علاج حالات عسر الهضم وفاتحاً للشهية وفي التغلب على الحموضة والتخلص من انتفاخ البطن ويخفف من أعراض الربو والسعال ومعالج للاكتئاب ويستعمل في علاج امراض ضغط الدم والغثيان وتحسين الذاكرة وتعزيز المناعة (Abbas وآخرون، 2022).

تنتج النباتات الطبية والعطرية المواد الفعالة علاجياً بنسب منخفضة مما شجع الباحثين على إيجاد عدة طرائق لزيادة المواد الفعالة وتشجيع النبات على إنتاجها لذا اتجهت الأبحاث والدراسات حالياً نحو استخدام التقنيات الحيوية الحديثة بما في ذلك تقنية زراعة الأنسجة النباتية لإنتاج كمية عالية من المركبات الفعالة وذات نقاوة عالية في النبات مقارنة بزراعته حقلياً، ونظراً للمزايا العديدة لهذه التقنية بما في ذلك عدم تأثرها بالعوامل البيئية وإمكانية التحكم في عملية الإنتاج في مراحلها المختلفة بالإضافة الى توفيرها على مدار السنة دون التقيد بموسم محدد ولا يتطلب إنتاجها مساحات كبيرة (Mohamad وآخرون، 2022).

فضلاً عن دورها في نمو وتضاعف الافرع الخضرية عن طريق استخدام بعض منظمات النمو التي تساعد في بناء مركبات أولية أو وسطية وتكوين المواد الفعالة التي تدخل في المسارات البنائية المؤدية لإنتاج مركبات معينة، أذ انها تعمل على زيادة انقسام الخلايا وتحفيز بناء البروتينات والكلوروفيل ونقل المغذيات وتنشيط الأنزيمات (Cavallaro وآخرون، 2022).

تُعد المحفزات الفيزيائية منها الضوء العوامل المهمة للحصول على النمو المطلوب في الزراعة خارج الجسم الحي بدلالة تأثيرها على نمو النبات وما تحتويه من المواد المؤثرة طبيياً كماء و نوعاً إذ يُعد مصدراً ضرورياً للطاقة لتنشيط الكربون ومن مصادر الإضاءة المستخدمة في زراعة النسيجية المصابيح البيضاء (الفلورسنت) حالياً تم استخدام الثنائيات الباعثة للضوء مصابيح Light Emitting Diodes (LED) في تطوير وإنتاج النباتات المختلفة تحت المصابيح البيضاء والملونة ومنها الحمراء والزرقاء وبأطوال موجية مختلفة (Lu وآخرون، 2018).

تشير بعض الدراسات الى إمكانية تحفيز بعض الأجزاء النباتية لإنتاج مركبات الأيض الثانوية عند إضافة بعض الأحماض الأمينية الى الوسط الغذائي التي تعمل كبادئ لبعض المركبات الطبية فضلاً عن دورها المهم في تحفيز بعض العمليات الفسيولوجية والكيموحيوية داخل النبات إذ تزيد من مقاومة النبات للإجهادات المائية والحرارية والملحية والعناصر المعدنية الثقيلة إذ تعمل هذه المركبات على انخفاض الضغط الأزموزي الذي بدوره يقلل الجهد المائي للخلية إذ تزداد قابلية الخلية على سحب الماء والعناصر الغذائية من أوساط النمو وتؤدي الى زيادة النمو الخضري بالإضافة الى زيادة مركبات الأيض الأولية ومن ثم زيادة مركبات الأيض الثانوية (Radkowski وآخرون، 2020).

وبناء على ما تقدم ولأهمية نبات النعناع الفلفلي من الناحية الطبية هدفت الدراسة الى:

1. تحفيز نشوء مزارع الافرع الخضرية لنبات النعناع باستعمال توليفة من منظمات النمو BA وNAA.
2. تحديد دور منظم النمو BA وNAA في تضاعف الافرع الخضرية لنبات النعناع الفلفلي.
3. دراسة مدى تأثير الإضاءة والفنيل الانين في صفات النمو الفسلجية والكيموحيوية وإنتاج المركبات الثانوية لنبات النعناع الفلفلي المكثّر خارج الجسم الحي.
4. تأثير نوع الإضاءة ومركبات PEG الانين في صفات النمو الفسلجية والكيموحيوية وإنتاج المركبات الثانوية لنبات النعناع الفلفلي المكثّر خارج الجسم الحي.

2- استعراض المراجع

Literature review

2-1- الوصف النباتي لنبات النعناع

نبات النعناع هو نبات عشبي معمر ذو رائحة نفاذة محببة، ينمو البيئات الرطبة وشبه الرطبة، والجزء المستعمل هو جميع أجزاء النبات الهوائية ويضم أكثر من 60 نوعاً (Wei وآخرون، 2023)، يتراوح ارتفاع نبات النعناع الفلفلي بين 30-90 سم ذو لون أخضر داكن، يمتلك النبات سيقان مربعة الشكل في المقطع العرضي ومتفرعة وتتميز الفروع بلونها الأحمر أو الأرجواني (Mieso وBefa، 2020)، تنمو منها رايزومات سمكية سريعة الانتشار تحمل جذور ليفية، الأوراق بسيطة ومعنقة وتوزع بشكل متبادل على الساق ذات حافة مسننة والسطح العلوي لها أخضر غامق، يبلغ طول الأوراق 4-9 سم وعرضها 4-5 سم، تحتوي الأوراق عادة على شعيرات، الأزهار لونها أبيض أرجواني على شكل نورة سنبلية الشكل يبلغ طولها 6-8 سم تتكون الزهرة من 4 أوراق كأسية انبوعية الشكل و 4 أوراق تويجية و 4 أسدية والميسم منفرج النهاية، تنتج أزهاره بذور بيضوية الشكل الى كروية وملمس ناعم ذات لون بني وتتراوح أبعاده بين 0.5-0.7 ملم (هيكل وعمر، 2012 و Abbas وآخرون، 2022)، وتتميز أوراقه بالرائحة النفاذة والنكهة المميزة لمحتواها العالي من الزيت العطري الذي يوجد في الغدد الزيتية على السطحين السفلي والعلوي للورقة (نوفل ومنيسي، 2019).



شكل (1) نبات النعناع الفلفلي

2-1-2- الاسم العلمي والتصنيف النباتي للنعناع الفلفلي.

الاسم العلمي لنبات النعناع الفلفلي (*Mentha piperita*) ينتمي الى عائلة *Lamiaceae* والاسم الإنكليزي Peppermint (الطائي، 2020)، تمكن حديثا تصنيف جنس النعناع *Mentha* الى 18 نوعا و 11 هجينا من بين مئات الأنواع والاصناف، ومن الأنواع مهمة طبيا *M. piperita* و *M. arvensis* و *M. Japanese* و *M. puleglum* و *M. spicata*، يُعد النعناع الفلفلي الجيل الأول الناتج من تضريب النعناع المائي *M. aquatica* والنعناع المدبب *M. spicata* (EMA، 2020).
والتصنيف النباتي كما ورد في Sharma و Gautam (2022).

Kingdom: Plant

Sub-kingdom: Tracheobionta

Superdivision: Spermatophyta

Phyllum: Angiospermophyta

Class: Magnoliopsida

Order: Lamiales

Family: Lamiaceae

Genus: *Mentha*

Species: *Piperita*

2-1-3- الأهمية الطبية لنبات النعناع الفلفلي

يُعد النعناع الفلفلي أحد أكثر أنواع النعناع أهمية في مختلف المجالات الحياتية وقد اشارت عدد من الدراسات الى تعدد الفوائد والاستعمالات الطبية والصناعية على مستوى المجموع الخضري (الجاف والطري) أو الزيت العطري (Brahmi وآخرون، 2016).

توجد المركبات الفعالة لنبات النعناع في جميع أجزائه ومنها الزيوت الطيارة وهي عبارة عن خليط معقد من الاسترات والكحولات والالديهيدات والتربينات والكيثونات تتميز بعطرها القوي وتتجمع داخل النبات لتكون الزيوت العطرية ويتركز في القنوات الإفرازية والغدد والخلايا الدهنية (Oualdi وآخرون، 2023).

يحتوي النعناع على نسبة عالية من المنثول الذي يشكل أعلى نسبة من بين المركبات المكونة لزيته مما يجعله من المركبات الفعالة في الوسط الحيوي الذي يوجد فيه (Dehghani وآخرون، 2018)، لذا نجد انه يستخدم في علاج تهيج القولون وأزاله عفونة الأمعاء وتنشيطها وطرد غازاتها وفي علاج سوء الهضم وضد التهابات البنكرياس وهو مفيد للصداع والشقيقة (Al-Bayati، 2009)، كما انه يحتوي على الحديد والكالسيوم والبوتاسيوم فضلا عن فيتامين (C) وفيتامين (A) لذا يستعمل ضد التسمم الغذائي والتحسس الجلدي وهو مفيد لتنشيط القلب والدورة الدموية والمخ (Dorman وآخرون، 2003)، كذلك يستنشق بخار نبات النعناع لمعالجة احتقان الجهاز التنفسي (Tarhan و Candan، 2012).

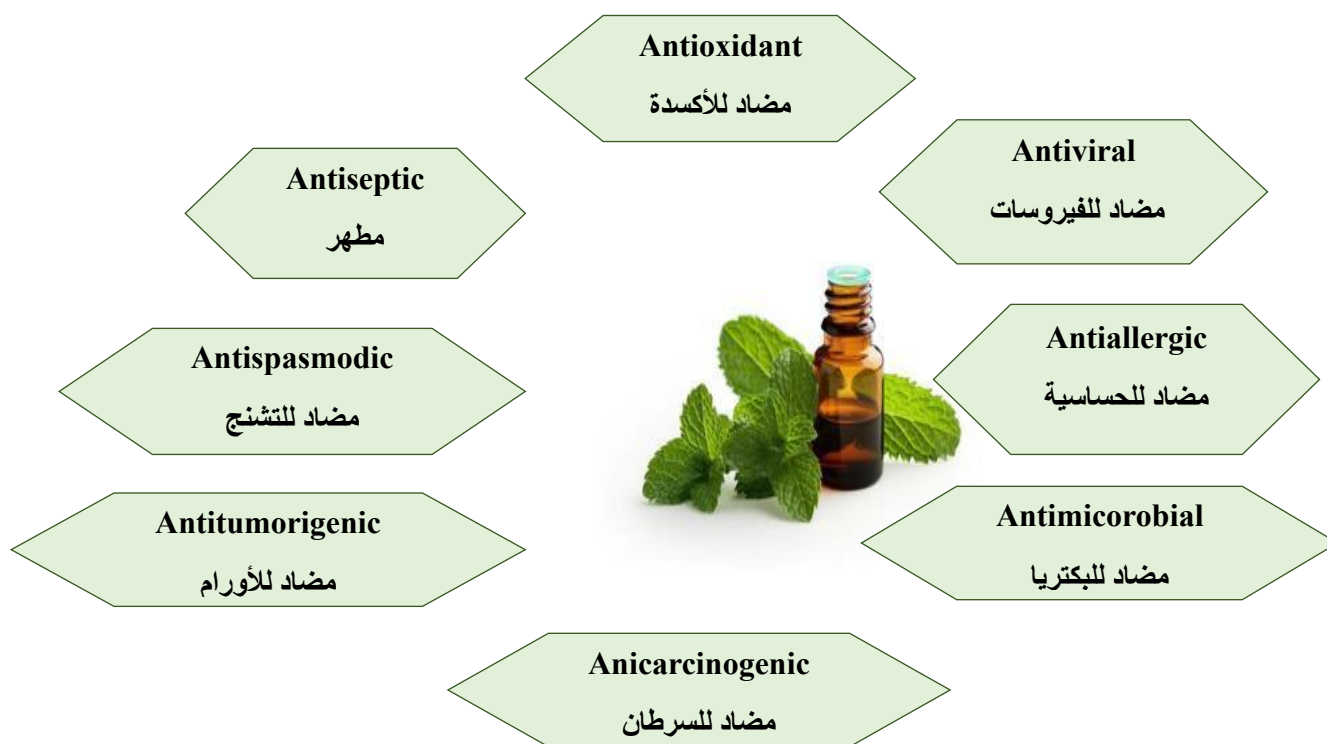
أما شاي النعناع فيشرب لعلاج السعال coughs والتهاب الفم والحنجرة وخافض للحرارة antipyretic ومخفف الاحتقان diaphoretic ومسكن للألام (Trevisan وآخرون، 2017).

يمتلك مستخلص النبات مفعولاً حيويًا فهو مضاد للحساسية antiallergic ومضاد لالتهابات الشعب التنفسية (نزلة البرد الشعبية) ومهدئ الأعصاب (Muntean وآخرون، 2019).

لاحظ Li وآخرون (2017) أن محتوى النبات العالي من الأحماض الفينولية والفلافونويدات الكاوية والتربينات كان لها دور في المضادات لأحد فايروسات الجهاز الهضمي الذي تزامن مع خفض عامل الالتهابات، تنتمي الفينولات الى فئة مهمة من المركبات المسؤولة عن النشاط المضاد للأكسدة في نبات النعناع أذ تمتاز بفعالية علاجية قوية مضادة للأمراض السرطانية والالتهابات (Nardini، 2022).

تُعد عملية تعقيم الفم أول مرحلة من مراحل صحة الجهاز الهضمي وسلامته، إذ يستخدم مستخلص أوراق النعناع أو مسحوق الأوراق الجافة كغسول للفم وتقليل الأم اللثة وللوقاية من التسوس وعلى هذا الأساس أُسْتُعمل النعناع في صناعة معاجين الاسنان بهدف القضاء على البكتيريا والخمائر الضارة (Efekhari وآخرون، 2021)، بالإضافة الى دوره كمضاد للأكسدة لاحتوائه على كمية كبيرة من المركبات الفينولية التي تعمل على كبح الجذور الحرة والتي تسبب أضرار صحية للإنسان مثل سرطان الدم والرئة والمعدة (AL- Juhaimi وGhafoor، 2011)، بين Gaafar وآخرون (2018) نشاط نبات النعناع الفلفلي في مكافحة الجذور الحرة (النشاط المضاد للأكسدة) بسبب احتوائه على مركبات فعالة بيولوجياً تمثلت بالفينولات والفلافونويدات والتانينات وبتراكيز عالية أذ تدخل هذه المركبات في نمو النبات وتطوره وايضاً كعوامل مقاومة للمسببات المرضية والحشرية (Tungmunthum وآخرون، 2018) غالباً ما تكون المواد الفعالة المهمة طبيياً في نباتات العائلة الشفوية هي المركبات الفينولية والزيوت الطيارة تشكل فئة كبيرة من المكونات النشطة بيولوجياً (Pliego وآخرون، 2022). تتميز بدورها كمضادات للأكسدة ضد الفطريات والميكروبات (Nardini، 2022)، أظهر المستخلص الميثانولي للنعناع فعاليتَهُ ضد فايروس نقص المناعة لدى الانسان HIV-1 لاحتوائه على الفلافونيدات (Amzazi وآخرون، 2003).

شهدت الفترة الأخيرة اهتماماً متزايداً بدراسة تأثير المستخلص المائي للنعناع باستعماله في حفظ المنتجات الغذائية بدل المواد الحافظة المصنعة لماله من تأثير على الاحياء الدقيقة والمسببات المرضية واطالة عمر هذه المنتجات (Alvarenga، 2017)، اذ وجد ان استعمال الزيت العطري له فعالية عالية ضد الحشرات ومن الممكن استعماله كمبيد حشري لا يؤثر على جسم الانسان وصادق للبيئة (Salehi وآخرون، 2018)، كما إن له دور في الوقاية من فايروسات الجهاز التنفسي وخصوصاً فايروس كورونا (COVID-19) (Kim وآخرون، 2020، Daglia وآخرون، 2023)، تتميز العائلة الشفوية بصورة عامة باحتوائها على مركبات Rosmarinic وهو من المركبات الطبية المهمة اذ دخل هذا المركب ضمن البرنامج الوقائي للعلاج والتخفيف من الآثار الضارة للبكتيريا والفيروسات (Chen وآخرون، 2023)، والشكل التالي يوضح فوائد النعناع الفلفلي الطبية والعلاجية.



الشكل (2) يوضح فوائد النعناع الفلفلي (Trevisan، وآخرون 2017).

2-2- زراعة الانسجة النباتية Plant tissue culture

تقنية زراعة الانسجة النباتية أو الزراعة خارج الجسم الحي وهي تقانة لنمو الخلايا أو الأنسجة النباتية المختلفة في أوساط غذائية صناعية تتكون من العناصر المغذية والفيتامينات ومنظمات النمو النباتية التي يحتاجها النبات في ظل ظروف معقمة وظروف بيئية ملائمة مسيطر عليها كدرجة الحرارة والرطوبة والاضاءة (Mazri وآخرون، 2023)، تعتبر زراعة الأنسجة النباتية من الوسائل الجديدة والهامة لأكثر العديد من النباتات ومفيدة لحل العديد من مشاكل المحاصيل الزراعية، أجريت العديد من الأبحاث العلمية كانت أهدافها زيادة التعرف على كيفية نمو وتكوين الأعضاء أو الأجزاء النباتية المفصولة عن نبات الأم والمنماة في بيئات صناعية معقمة ، وتحسين نوعيتها والتغلب على المشاكل التي تواجه الكثير من النباتات الاقتصادية المهمة وابتكار العديد من طرق الأكتار، وزيادة وتطوير الإنتاج (Ozyigit وآخرون، 2023).

نتيجة التطور العلمي واتساع مجالات الاستخدامات التطبيقية لزراعة الانسجة النباتية من اهمها الاكثار الخضري المختبري، أي انتاج النباتات في المختبر بدلا من الحقل، وانتاج الهجن الجسمية بعمليات اندماج البروتوبلاست بدلا من التلقيح والتضريب، وحفظ المصادر الوراثية وانتاج نباتات سليمة وخالية من مسببات المرضية خاصة الفايروسات بدلا من مكافحتها بالمبيدات الكيميائية بالإضافة الى دراسة العمليات الحيوية الفسلجية في الانسجة والخلايا النباتية (Sujata، 2013 و Sudheer وآخرون، 2022).

أن استعمال النباتات الطبية في العلاج بدلا من الأدوية الكيميائية والتوجه الكبير اليها في السنوات الأخيرة والحاجة الملحة اليها أصبح خطر يهدد النباتات الطبية والموارد الطبيعية نتيجة ازالتها وتخریب البيئة، لذا تعد تقانة زراعة الانسجة وأنتاج الخلايا والاعضاء النباتية الجديدة خارج الجسم الحي طريقة لا غنى عنها في انتاج مواد دوائية مستخلصة من النباتات (Pistelli وآخرون، 2013).

تتميز النباتات الناتجة من هذه التقنية بأنها قادرة على النمو وإنتاج مواد فعالة على مدار السنة دون التقيد بموسم محدد ودون التأثير بالتغيرات المناخية، (Naik و Buckseth، 2018)، ويتم الاعتماد بشكل متزايد على زراعة الانسجة النباتية كبديل للزراعة التقليدية في انتاج المركبات الثانوية وتطور الأجزاء النباتية هي أحد الأهداف المهمة باستخدام هذه التقنية (Murphy وآخرون، 2018).

إنتاج مركبات الايض الثانوي تواجهها الكثير من المشاكل أذ ان كمية وتركيز المادة الفعالة في المستخلص النباتي تكون قليلة وصعوبة استخلاصها لذا نحتاج الى كمية كبيرة من النباتات، وان بعض النباتات تنمو في مناطق صعب الوصول اليها لذلك تم استخدام تقنية زراعة الانسجة النباتية خارج الجسم الحي لإنتاج مركبات الايض الثانوية باستخدام التعقيم وظروف بيئية ملائمة (Nhut، 2022)، يكون العقار المستخلص من خلال هذه التقانة أكثر فعالية في علاج الامراض نتيجة النقاوة العالية اذا ما قورنت بتلك المصنعة كيميائيا في ظل غياب عامل التلوث (الناجي، 2012).

6-2- التعقيم Sterilization

تعد عملية التعقيم الخطوة الأساسية لنجاح تقانة الزراعة النسيجية وعليها يعتمد اكمال المراحل اللاحقة، ويمكن تعريف عملية التعقيم بأنها عملية القضاء على بعض الاحياء

المجهرية التي يمكن ان ترتبط بنمو الجزء المزروع وتؤدي الى هلاكه عن طريق نموها السريع ومنافستها للجزء النباتي Explant على المواد الغذائية المتوفرة في الوسط الغذائي أو نتيجة لقيامها بأفراز بعض المواد السامة التي يؤدي امتصاصها الى قتل ذلك الجزء وبالنتيجة فشل الزراعة النسيجية ويحتاج العمل بها الى مهارة فائقة ودقة عالية في تعقيم (Babu وآخرون، 2022).

أشار Ramawat (2009) ان عملية التعقيم هي إزالة جميع الكائنات الدقيقة التي تنمو على السطح الخارجي للجزء المستعمل كبداية لمرحلة الزراعة النسيجية كالبكتريا والفطريات وغيرها لذا يطلق عليها التعقيم السطحي Surface sterilization ، تختلف نوع المادة الكيميائية المستخدمة وتركيزها ومدة التعقيم باختلاف الجزء النباتي المراد تعقيقه وحسب ظروف التجربة ، ومن أهم مميزات المادة المعقمة هي درجة فعاليتها في التعقيم وسهولة ازالتها بعد انتهاء فترة التعقيم (Johns، 2019) ، وبشكل عام فإن أهم المعقمات المستخدمة لتعقيم الأجزاء النباتية وهي هاييوكلورات الصوديوم ، هاييوكلورات البوتاسيوم ، بيروكسيد الهيدروجين ، كلوريد الزئبق ، نترات الفضة ، الكحول الايثيلي والمضادات الحيوية (Al-Ghasheem وآخرون، 2018).

يستخدم بشكل شائع محلول هاييوكلورات الصوديوم في تعقيم الجزء النباتي الذي يتحلل ويعطي الكلور وهو العامل الفعال في التعقيم وان التركيز المستعمل من هذه المادة يعتمد على نوع النبات ونوع العضو النباتي المستعمل في الزراعة ومدة التعقيم (الخليفة، 2002).

قام Wijaya وآخرون (2019) بتعقيم بذور النعناع الفلفلي بالغمر بالايثانول بتركيز 70% لمدة دقيقة واحدة وغمرها بمحلول هاييوكلورات الصوديوم بتركيز 3% لمدة خمسة دقائق ثم بعد ذلك تم غسلها بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات.

حصلت طه (2020) على أفضل تعقيم لبذور نبات البردقوش باستخدام NaOCl بتركيز 5% لمدة 15 دقيقة ثم غسلها بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات.

بينت الفتلاوي (2023) ان أفضل تركيز لتعقيم بذور نبات الحلبة كان عند تركيز 2% من هاييوكلورات الصوديوم NaCl لمدة 15 دقيقة.

2-2-2- منظمات النمو النباتية

تعد منظمات النمو النباتية من المتطلبات الأساسية لنجاح زراعة الأنسجة النباتية خارج الجسم الحي، والتي هي عبارة عن مجموعة من المركبات العضوية غير الغذائية تصنع طبيعياً في النبات حيث يتم بنائها داخل جسم النبات من خلال عمليات الأيض الخلوي والتي تسمى الهرمونات النباتية أو تصنع مختبرياً والتي لها نفس التأثير الفسيولوجي للهرمونات النباتية بتحفيز أو تثبيط أو معوق نمو أو تحويل العمليات الفسيولوجية في النبات وتسبب في تغير نموه وتطوره وتسمى الهرمونات المصنعة مختبرياً بمنظمات النمو (Ahmad و Strand، 2021).

تنتقل منظمات النمو عند اضافتها الى الوسط الغذائي وامتصاصها من قبل النسيج النباتي الى مواقع ترتبط فيها بمستقبل (Receptor)، ومن ثم تنشيط نظام ارسال ثانوي لتحفيز أو تثبيط فعالية الخلية، وتعمل منظمات النمو عملاً رئيسياً في تحديد الهدف المطلوب لزراعة الأنسجة النباتية ولا سيما عمليات التشكل خارج الجسم الحي – In Vitro Morphogenesis (Williams، 2011)، ومن أنواع منظمات النمو الأوكسينات و الساييتوكانينات و الجبرلينات والاثلين و حامض الأبسيسك والبراسينوسيتيرويدات (BRs) (George وآخرون، 2008) وتم إضافة ثلاث مركبات إليها في الأونة الأخيرة هي متعدد الأمين Polyamine و حامض الجاسمونك Jasmonic acid و حامض الساليسليك Salicylic acid (Hayat و Ahmed، 2007).

تنتج الاوكسينات الطبيعية في جميع النباتات الراقية ومن أهم مراكز بناء الاوكسينات هي المرستيمات القمية كما تعد أجنة البذور والبراعم الجانبية مواقع أساسية يتم فيها بناءها وإنتاجها، إلا إن إنتاجه في الأوراق الحديثة يكون بنسبة أقل فالأوكسين يتراكم في الأوراق الحديثة النمو عند قمة أو نهاية طرف قمة الورقة، وعند تطور الورقة يتراكم في حافات الورقة، ثم يبدأ تدريجياً بالانتقال والتراكم أسفل قاعدة الورقة بعدها يتراكم في مركز نصل الورقة ثم يعود، ويتراكم في قاعدة الورقة عند تطورها في النمو (Bajguz و Piotrowska، 2023).

تعد الاوكسينات أول الهرمونات المكتشفة وأطلقت الجمعية الأمريكية للفيسيولوجيين النباتيين مصطلح Auxin على المركبات التي لها القدرة على تحفيز الاستطالة في خلايا الساق، الاوكسينات عبارة عن مجموعة من الاحماض العضوية ذات الأوزان الجزيئية العالية، تستخدم بتركيزات قليلة جداً ولكن لها تأثيراً كبيراً في الجزء المزروع (الخفاجي

Indole acetic acid)، وتوجد أنواع عديدة للأوكسينات، منها الطبيعية مثل (IAA) والصناعية مثل (NAA) Naphthalene acetic acid و (IBA) Indole و (Butric acid) و 2,4-D (Dichlorophenoxy acetic) (Davies، 2010)، وللاوكسينات عمل في تحفيز الأنزيمات المسؤولة عن بناء الجدار الخلوي وتحلله ومن ثم التأثير في الخصائص الميكانيكية له (Taiz و Zeiger، 2010) وتحفيز ليونة الجدار الخلوي من طريق كسر روابط الجدار الخلوي واعادتها تحت تأثير الضغط الانتفاخي مما يسهم في زيادة حجم الخلية واتساعها واستطالة الخلايا وتطور الأعضاء أو تكوينها كما تساعد على تجذير النباتات مختبرياً (الشكري والمعقل، 2013).

عرفت السيتوكانيات على انها قواعد نيتروجينية ذات أوزان جزيئية عالية، تستخدم بتركيزات قليلة جداً ولها تأثيرات كبيرة ولاسيما بزراعة الانسجة النباتية، وتعرف بهرمونات الاستطالة وانقسام الخلايا، إذا انها تشجع انقسام الخلايا النباتية وتمايزها ونمو البراعم الابطية وكسر السيادة القمية (Mohamad وآخرون، 2022)، السيتوكانيات هي مشتقات القاعدة النيتروجينية للأدينين تعد من المحفزات والمنظمات المسؤولة عن الانقسام الخلوي بالإضافة الى قابليتها على تحفيز انقسام الخلية بوجود الاوكسين في الزراعة خارج الجسم الحي، علماً بأن تحفيز وتنظيم الانقسام الخلوي يعد مركزاً للنمو والتمايز والتطور في النباتات (Lee وآخرون، 2022).

أشارت بعض الدراسات العلمية الى أن السيتوكينات تنتج في النبات طبيعياً مثل الزيئات والكايبتين او تصنع مختبرياً مثل (BA) Benzyl Adenine و (TDZ) Thidiazur والـ Kin، ويعد الـ BA من أكثر السيتوكينات شيوعاً في الزراعة النسيجية (Wybouw و De Rybel، 2019).

2-2-1- تأثير منظمات النمو في نشوء و تضاعف الأفرع الخضرية

تُستخدم في هذه المرحلة أوساط غذائية جديدة بهدف الحصول على أعداد كبيرة من الأفرع، كما يتداخل الاوكسين مع الساييتوكانينين لتحفيز نمو البراعم الابطية على الفروع المزروعة المأخوذة من مرحلة نشوء النبيتات، توصلت العديد من الدراسات الى أهمية اضافة الاوكسين مع الساييتوكانينين الى الوسط الغذائي في هذه المرحلة اذا تزداد فعالية الساييتوكانينين بوجود الاوكسين بالوسط الغذائي في تحفيز الخلايا على الانقسام التضاعف وبالتالي زيادة نمو النبات (Gray و Trigianano، 2016).

أشار Vaidya وآخرون (2019) بان استخدام منظمات النمو BAP و 2ip بتركيز 0.5 و 2 ملغم لتر⁻¹ على التتابع أدت الى انتاج أكبر عدد ممكن في تضاعف الأفرع الخضرية لنبات النعناع.

بين Łyczko وآخرون (2020) بأن استخدم IBA بتركيز 0.5 في الوسط الغذائي MS أدى الى زيادة الأفرع الخضرية لنبات النعناع الفلفلي وزيادة في الوزن الطري والجاف.

أكد Khan وآخرون (2021) في تضاعف الأفرع لنبات النعناع أن الزراعة على وسط MS المضاف اليه 2.2 ملغم لتر⁻¹ من BA و 0.01 من NAA أدى الى زيادة عدد الأفرع الخضري، بينت الشمري (2022) تأثير منظمات النمو في مرحلة نشوء الزروع على نبات النعناع الفلفلي إذ سجلت اعلى نسبة استجابة والتي بلغت 100% عند اضافة BA عند التركيز 1 ملغم لتر⁻¹ و NAA عند التركيز 2 ملغم لتر⁻¹.

لاحظ Wijaya وآخرون (2022) في دراسة على نبات النعناع الفلفلي *Mantha piperita* L. ان أفضل معاملة لاستجابة عدد الأفرع وطول النبات وزيادة الوزن الطري والجاف كانت عند BAP بتركيز 1 ملغم لتر⁻¹ و NAA بتركيز 1 ملغم لتر⁻¹.

توصل نصر الله (2023) في دراسته على نبات أكليل الجبل ان الوسط الغذائي المجهز بالBA بتركيز 2 ملغم لتر⁻¹ و NAA بتركيز 0.2 ملغم لتر⁻¹ كان الأفضل في تضاعف الأفرع الخضرية وزيادة عدد الأوراق.

2-3- مركبات الأيض الثانوية وأنتاجها خارج الجسم الحي

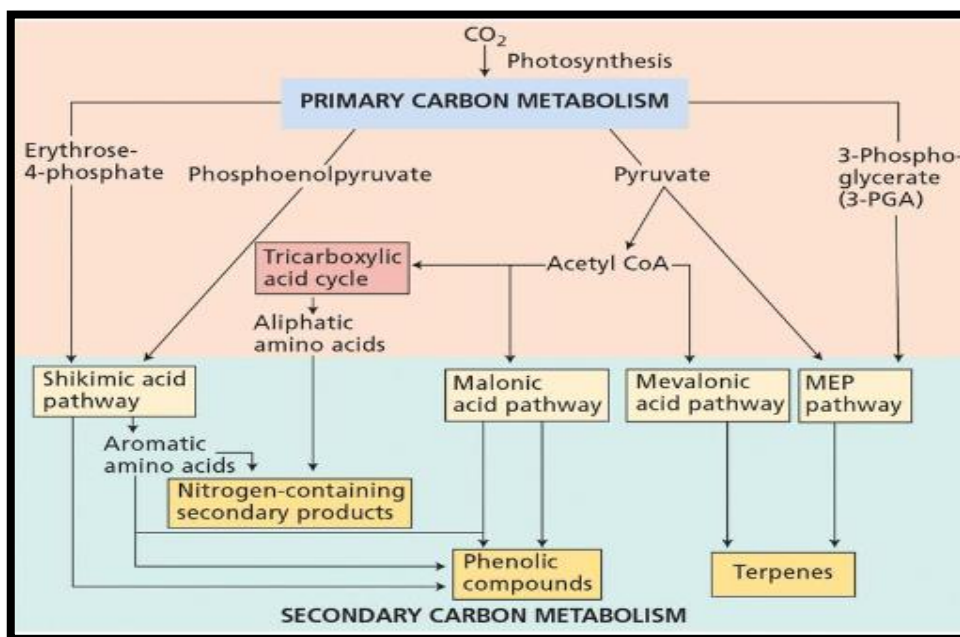
تعرف مركبات الأيض الثانوي بأنها نواتج وسطية للأيض الأولي وتكون ذات نسب قليلة ومحددة في النبات وتتجمع في مراحل معينة من تطور الخلايا النباتية مثل القلويدات والستيرويدات والفينولات والزيوت الطيارة والتانينات واللكنين وغيرها (Ramawat، 2004)، تتكون هذه المركبات بأشكال وأنواع مختلفة وتُخزن بصورة غير فعالة ويتم تفعيلها إنزيمياً كوسيلة وقائية أو دفاعية أو عند تعرضها للإجهادات الاحيائية والإحيائية (Mazid وآخرون، 2011).

أكدت الدراسات الحديثة الى الأهمية الكبيرة للمركبات الثانوية إذ تدخل في صناعة الأدوية والصناعات الغذائية ومستحضرات التجميل، ومؤخراً تم أنتاج العقاقير الطبية من مصادر نباتية (Anand وآخرون، 2019)، كما أشارت الدراسات السابقة أنه بالأماكن زيادة كمية المركبات الثانوية التي لها خصائص طبية وغذائية في النبات وبشكل دائم وعلى مدار العام من خلال تقنية زراعة الأنسجة النباتية بنفس قيمتها النوعية التي تنتجها نبات الأم (Tripathi وآخرون، 2019)، كما انه يُسهم في حث الجينات المرتبطة بجهاز المناعة النباتي مما يؤدي الى زيادة مقاومة النباتات للمسببات المرضية (Kumari وآخرون، 2023).

لاحظ Bekircan وآخرون (2018) زيادة أنتاج المركبات الفعالة عند إضافة منظمات النمو لنبات الزعتر أبيض الشعر *Thymus leucotrichus* في الزراعة المختبرية وقد سجلت تراكيز أعلى مقارنة بمحتواها في النباتات الحقلية ولاحظ أيضاً زيادة في أنتاج المركبات الفينولية والزيوت الطيارة، قامت Skrypik وآخرون (2019) من تحسين محتوى الزيوت العطرية وزيادة أنتاج المركبات الفينولية المضادة للأكسدة عند إضافة بعض المحفزات الكيميائية للريحان الحلو *Ocimum basilicum* L.

توصلت السعيدى (2022) الى زيادة Rosmarinic acid والزيوت الطيارة لنبات اكليل الجبل عند إضافة منظمات النمو والجيتوسان.

اشارت الشمري (2022) بأن تأثير منظمات النمو والميلاتونين أدت الى زيادة مركبات الزيوت الطيارة مثل Limonene و Pinene و Menthone لنبات النعناع لفللي *Mantha piperita* L.



شكل (3) يوضح مخطط العلاقة المتداخلة لمسارات التخليق المركبات الأيض الثانوية والمركبات الأيض الأولية (Taiz و Zeiger، 2010).

2-3-1- الزيوت الطيارة

تُعد النباتات الطبية المصدر الأساسي للمركبات الكيميائية النباتية، بالإضافة إلى أن الخلايا تنتج نوعين من نواتج الأيض منها نواتج الأيض الأولية والتي تنتجها النباتات بكميات كبيرة وتشترك مباشرة في نمو النبات كالبروتينات والكربوهيدرات والليبيدات (Schlatmann وآخرون، 2020)، تشتق هذه المركبات من عملية البناء الضوئي وتدخل في بناء مكونات الخلية أما النوع الثاني من المركبات العضوية التي تنتجها النباتات بأشكال عديدة ومتغيرة كما إن ليس لها دور مباشر في نمو وتطور النباتات هي مركبات الأيض الثانوية أو المنتجات الطبيعية (إبراهيم، 2017)، الزيوت الطيارة (Volatile oils) وهي عبارة عن مستخلصات زيتية تتطاير عند تعرضها للهواء وبدرجة حرارة الغرفة أو تتبخر دون أن تتحلل مقارنة بالزيوت الثابتة وتحلل بالتسخين، وبشكل عام تعتبر العائلة الشفوية Lamiaceae من أهم العائلات النباتية في إنتاج الزيوت العطرية ومن نباتاتها المهمة النعناع الفلفلي وذلك لتميزه بكمية الزيت الطيار ونوعيته (Franz وآخرون، 2007).

الزيت الطيار عبارة عن مركبات هيدروكربونية تتكون من مجموعة مواد عضوية مختلفة ذات تراكيب متفاوتة ومثال على ذلك الهيدروكربونات والكيثونات والالديهايدات

والاسترات والكحولات ويتشكل على صورة حرة سائلة والبعض منها غير حر صلبة نتيجة ارتباطها مع مركبات كلايكوسيدية أو راتنجية وتستعمل أما دوائياً أو عطرياً ولا يمكنها الصوبنة مع القلويدات (Butnariu، 2021).

تتكون هذه الزيوت بأشكال غير منتظمة في أجزاء معينة بالنباتات وتختلف نسبة الزيوت حسب عمر النبات ونوع النسيج (الاسدي، 2018).

يتم تخليق الزيوت الطيارة في الشعيرات الغدية على سطح البشرة كناتج عرضي لعمليات الأيض وتتجمع داخل هذه الغدد وخارجها التربينات الثنائية والثلاثية (Taiz و Zeiger، 2010)، تتميز الزيوت الطيارة بعبير عطرها القوي ورائحتها المميزة وذات طعم يشبه الكافور وهي عديمة اللون أو مصفرة ويتم تصنيفها على أنها مركبات ثانوية في النبات (Yingngam، 2022).

أشار Salehi وآخرون (2018) إلى أن الزيت المستخلص من النعناع الفلفلي يكون ذو نوعية أفضل ويتميز بطعم حلو المذاق لذا يكون أغلى ثمناً حيث يعمل على تنشيط مستقبلات التحسس بالبرودة نتيجة ارتباطه بخلايا الإنسان، ومن ناحية التركيب الكيميائي يتكون زيت النعناع الفلفلي من Menthol و 2, Menthofuran و Menthy acetate و 1,8 Cineol و Menthone، يُعد المنثول Menthol من أهم مركبات النعناع الفلفلي وهو مركب تربيني كحولي يتميز بخصائص مضادة للأكسدة والالتهابات الفيروسية يعطي تأثير الإحساس بالبرودة وله رائحة مميزة في زيت النعناع (Brahmi وآخرون، 2016).

أشار Pergolizzi وآخرون (2018) إلى أن المنثول هو أحد المواد الفعالة التي يمكن أن تكون من البدائل عن المسكنات الأفيونية مستقبلاً كونه فعالاً آمناً في استخدامه، وكمسكن موضعي من الألم الصداع النصفي والأعصاب والعظام والاصابات الرياضية والأم العضلات.

بين كل من Viljoen و Erasto (2008) بأن المركبات الرئيسية التي تم تحديدها في الزيوت العطرية 2, Menthofuran و Menthy acetate و 1,8 Menthone و Cineol بأنها مركبات من التربينات الأحادية تعطي رائحة والنكهة مميزة للنعناع الفلفلي وتنتشر بصورة واسعة في زيت النعناع الفلفلي، تتميز هذه المركبات من الناحية الطبية بنشاطها المضاد للأكسدة والالتهابات ومضاداً للميكروبات ولها دور موضعي في تعزيز الادوية الجلدية، أما من الناحية الصناعية فأنها تدخل في صناعة مواد التجميل والشامبو

والصابون وتعتبر صديقة للبيئة لذا يستخدم كمبيد للحشرات (Al-Maqtari وآخرون، 2022)، تضيف الزيوت الطيارة نكهة جيدة ومميزة لبعض الأطعمة والمأكولات كما تضاف الى المشروبات الغازية والحلوى والعصائر (Brud، 2020).

تحتوي الزيوت الطيارة على مواد ذات تأثير طبي وغذائي مفيدة لصحة الإنسان حيث تضاف في بعض المستحضرات الصيدلانية مثل أدوية الأطفال وذلك لإكسابها طعم مستساغ ورائحة مقبولة وبجانب ذلك تتميز بقلّة تأثيراتها الجانبية الضارة مقارنة بالأدوية الكيميائية المصنعة (Sharma و Rani، 2022).

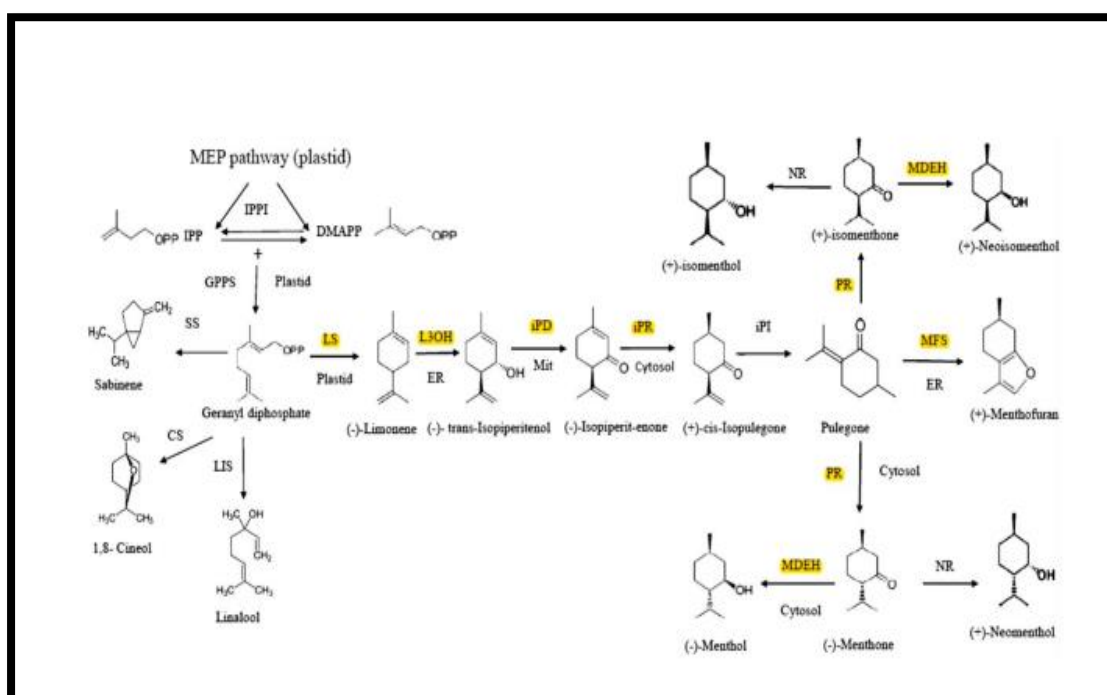
توجد العديد من الطرق لاستخلاص زيت النعناع ومنها التقطير وتعتبر تقنية استخراج الزيوت الأساسية ومنها التقطير بالبخار والتقطير المائي (Moghader، 2013) أو الفصل باستخدام الضغط العالي والضغط الواطي أو باستعمال طريقة أشعة المايكرويف (Fletcher وآخرون، 2010).

2-3-1-1- البناء الحيوي للزيت الطيار:

تبين أن وحدة بناء الزيوت الطيارة هي الأيزوبرين Isoprene التي يجب أن ترتبط مع مجموعة فوسفات ثنائية ليتكون مركب Isopentenyl pyrophosphate وهو الصورة الفعالة للأيزوبرين في بناء الزيوت الطيارة وعموماً يمكن تلخيص بناء Isopentenyl pyrophosphate من هدم الأحماض الأمينية في Cytosol وتكوين Pyruvate في الخلايا النباتية الذي يتحول الى صورة الخلايا النشطة Acetyl-CoA تتحول الى Acetate وأن كل ثلاث وحدات من الخلايا تتحول الى الحامض العضوي Mevalonate وهذا الحامض يتحول الى مركب Isopentenyl pyrophosphate (IPP) بعدة خطوات وباتجاه هذا المركب (DMAP-P) لتكوين وحدة من Geranyl-pyrophosphate ومنها تتكون بقية المركبات التربينية عن طريق تكوين الحلقات وتتكاثف حتى يتكون الزيت الطيار من مركبات أساسية تسمى التربينات ويتم بناء الزيوت الطيارة الحاوية على المركبات التربينية الأحادية أو الثنائية أو المتعددة من مركب Isopentenyl pyrophosphate (أبو زيد، 2000).

يعد مركب المنثول Menthol من أبرز التربينات الأحادية في مكونات زيت النعناع الفلفلي وأهمها، حيث يتم مسار التخليق الحيوي للمنثول في العقد الزيتية على الاسطح

الهوائية للنبات من الأيض الأولي ويتطلب ثمان خطوات أنزيمية (Croteau وآخرون، 2000)، بين Rahimi وآخرون (2017) بأنه يتم إنتاج Geranyl-diphosphate في الخطوة الأولى ثم يتحول إلى بادئ Limonene الذي يتحول بالهدرجة إلى Trans-isopiperitenol ثم بعد ذلك تتم عمليتي الأكسدة والاختزال وصولاً إلى إنتاج مركب Pulegone حيث يكون بادئ لإنتاج Menthofuran و Menthone و Isomenthone ومن ثم الاختزال Menthone إلى Menthol في الخطوة الأخيرة من قبل الأنزيم Menthone reductase.



الشكل (4) يبين مسار البناء الحيوي للتربينات الأحادية (Rahimi وآخرون، 2017)

2-4- تأثير المحفزات الفزيائية في إنتاج المركبات الثانوية

أكدت الدراسات الحديثة أن التنوع النباتي قد أنخفض وذلك بسبب العوامل البيئية غير المتوازنة وعليه يجب دراسة الخصائص الفسيولوجية والأيضية المتغيرة للنباتات نحو تغير المناخ لأنقاذ التنوع النباتي المتدهور حيث توفر تقنية زراعة الانسجة النباتية نظاماً بيئياً دقيقاً يمكن التحكم في نمو النباتات

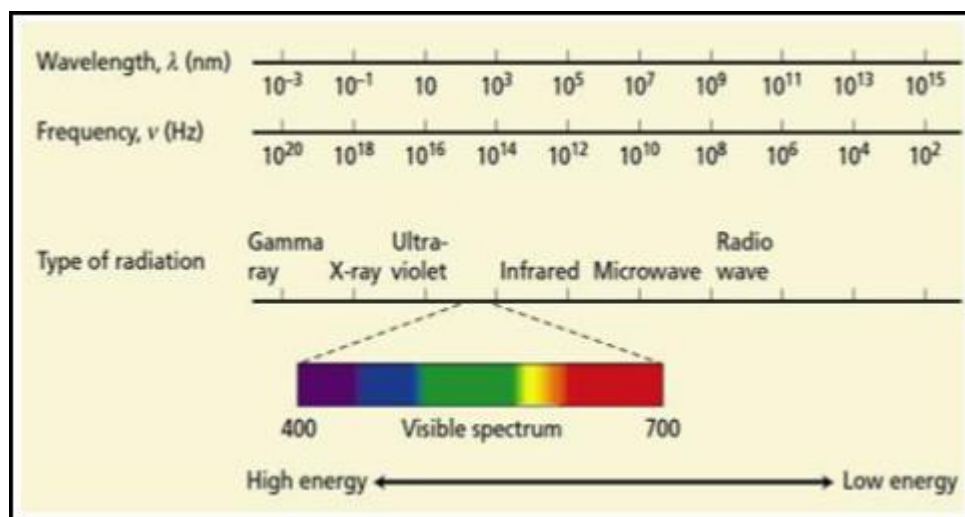
وتطورها وذلك من خلال التلاعب بالعوامل المحيطة بدلاً من التعامل مع النباتات التي تنمو بشكل طبيعي (Orsini، 2020).

ركز العلماء في القرن الحالي على الفيزياء الحيوية ودورها في المجال الزراعي ومن أهم المحفزات الفيزيائية المستخدمة في الزراعة النسيجية هي الأشعة فوق البنفسجية والضوء والكهرباء والمجال المغناطيسي والموجات فوق الصوتية ودرجة الحرارة وهذه العوامل تقلل من تكلفة الإنتاج لجعل التكاثر الدقيق اقتصادياً (Carvalho وآخرون، 2016)، ومن أهم هذه العوامل هي الضوء.

2-4-1- الضوء

يعد الضوء أحد العوامل الرئيسية التي تؤثر على نمو النباتات وما تحتويه من مركبات فعالة كماً ونوعاً لأنه مصدر الطاقة اللازمة للتفاعلات الكيميائية من البناء الضوئي ويبرز أهمية الضوء في بناء بعض المركبات مثل الكلوروفيل، تؤثر شدة ونوعية الإضاءة والاطوال الموجية المتغيرة في محتوى النباتات من المركبات الثانوية (Aphalo، 2006).

يمكن تمثيل ضوء الشمس بتيار من الفوتونات ذات الترددات المختلفة، فالعين البشرية لا تتحسس إلا لنطاق ضيق الترددات في منطقة الضوء المرئي الواقعة في النطاق الكهرومغناطيسي، يتكون الضوء المرئي من مجموعة من الموجات الضوئية ذات الألوان والاطوال المختلفة ويمكن تقسيمها عن طريق تمرير شعاع من الضوء عبر موشور زجاجي وتتوزع موجات الضوء المكونة لها حسب معامل انكسار كل موجة منها وتظهر على شكل طيف متواصل وبالتالي يتم ترتيبها حسب الألوان الرئيسية لضوء الشمس وهي الحمراء والبرتقالية والصفراء والخضراء والزرقاء والبنفسجي (Taiz و Zeiger، 2010)، كما مبين في الشكل (5).



الشكل (5) يبين موجات الطيف المرئي (Taiz و Zeiger، 2010).

تُمتص طاقة الفوتون الضوئية من قبل الصبغات النباتية ونتيجة لذلك تُثار الإلكترونات فتبدء العمليات الحيوية حيث يتطلب البناء الضوئي أشعة نشطة ضمن المدى 400-700 نانومتر وتسمى بالضوء المرئي Visible light (Catoni وآخرون، 2015).

توجد العديد من الدراسات التي تؤكد مزايا مصابيح LED (Light Emitting Diode) ذات الأطوال الموجية المختلفة مقارنة بالإضاءة العادية التقليدية فهي متينة وموفرة للمساحة وتنتج ضوءاً بأطوال موجية محددة عند تدفق ضوئي عالي وحرارة مشعة منخفضة والتي يمكن أن تُحسن توزيع الضوء في الحاضنات الزراعية (Saengtharatip وآخرون، 2020)، يتم تنشيط المستقبلات الضوئية بموجات طولية مختلفة من الضوء ثم تنتقل المستقبلات الضوئية النشطة إشارات الضوء عبر سلسلة لتعديل التعبير الجيني المتعدد وتُنظم في النهاية العمليات الفسيولوجية ولها تأثير إيجابي على النمو وتراكم المركبات الثانوية في النبات (Yadav وآخرون، 2020).

وعلى هذا السياق أُجريت العديد من الدراسات لمعرفة تأثير الإضاءة بأنواعها، فقد بين Behn وآخرون (2010) أن الضوء الأزرق ذو الطول الموجي (505 نانومتر) كان له أفضل النتائج في زيادة محتوى الزيت العطري لنبات النعناع الفلفلي مقارنة بالضوء الأبيض.

توصل Fletcher وآخرون (2010) إلى زيادة بعض المركبات الفعالة في نوعين مختلفين من نبات النعناع هما (*Mentha piperita* L.) و (*Mentha spicata* L.) عند زيادة الفترة الضوئية عن 16 ساعة.

وتم تحقيق أفضل نتائج من حيث نمو النبات وزيادة الأفرع الخضرية ومحتوى الزيت العطري لنبات النعناع الفلفلي (*Mentha piperita* L.) عند تعريضه للضوء الأحمر والازرق (Sabzalian وآخرون، 2014).

أكد Tabbert وآخرون (2022) ان تعريض نبات النعناع الفلفلي للإضاءة الملونة قد أدى الى زيادة محتوى Pulegone و Menthone في الزيوت الطيارة.

2-5- تأثير المحفزات الكيميائية في إنتاج المركبات الثانوية

تُعد عملية إضافة المحفزات الكيميائية الى الوسط الغذائي من الطرق فعالية في زيادة إنتاج مركبات الأيض الثانوي لأنها تعمل على تفعيل المسار الحيوي للمركبات الثانوية في النبات (Jingming و Gaosheng، 2012). ويمكن تحفيز النبات على إنتاج المركبات الثانوية عن طريق التنظيم والتحكم بالعوامل الكيميائية والمغذيات وبهدف تحقيق أفضل إنتاجيه من مركبات الأيض الثانوي يتم ذلك بخطوتين، الأولى زيادة الكتلة الحيوية (Biomass growth- medium)، والثانية فهي زيادة الوسط الغذائي لإنتاج المركبات الثانوية (Production medium)، يتوقف النمو عملياً في بيئة الإنتاج بفضل التحكم في العناصر (Ramawat، 2009).

وجد من خلال دراسات عدة توصل اليها العلماء الى أن المادة التي تضاف بتركيز منخفضة تدخل الى نظام الخلية النباتية تؤدي الى تغير البناء الحيوي للمركبات الفعالة عن طريق الزيادة أو النقصان وهذه تعرف بالمحفز Elicitor (Chen وآخرون، 2019) وقسمت الى محفزات داخلية أو خارجية اعتماداً على مصدرها أو محفزات إحيائية (biotic) وغير إحيائية (abiotic) اعتماداً على طبيعتها (Park وآخرون، 2008).

2-5-1- الفينيل الأنين Phenylalanine

تعد الأحماض الأمينية مركبات حيوية مهمة وهي نوع من الأحماض العضوية التي تحتوي على مجموعة كربوكسيلية (COOH) ومجموعة أمينية (NH₂) وهي وحدات البناء للبروتينات والكربوهيدرات وكوسيط في عملية التمثيل الغذائي وتزيد من مقاومة النباتات للإجهادات اللاحيوية (Leonard و Scot، 2006 و Radkowski وآخرون، 2020).

تعتبر الاحماض الأمينية من المركبات المهمة كونها المكون الأساسي للمادة الحية والبروتوبلازم وتؤدي دوراً مهماً في الخلية النباتية بسبب تأثيرها في النشاط الإنزيمي فهي تمتص وتنتقل بسرعة داخل أجزاء النبات المختلفة (Shapoval و Mozharova، 2020)

تدخل الحوامض الامينية في العمليات الفسلجية والكيموحيوية في النباتات بشكل مباشر من خلال تعزيز عملية التنفس ورفع كفاءة عملية التمثيل الضوئي وتنشيط بناء الكلوروفيل وتحفيز نمو وتطور الخلايا النباتية او بشكل غير مباشر في بناء الانزيمات وكمخزن للطاقة وبالتالي تؤدي زيادة النمو الخضري في النبات (Kawade وآخرون، 2023).

كما تُعد مصدراً للهرمونات النباتية حيث تزيد من نوعية وإنتاجية المركبات الايض الثانوية في النبات وتسهل عملية نقل المغذيات والاستفادة منها مما يزيد من جودة المواد الفعالة في النبات (Calvo وآخرون، 2014).

تساهم الاحماض الأمينية في بناء عدد من المركبات المهمة كالأنزيمات والامينات (Lu وآخرون، 2018) ويمكن للأحماض الامينية أن تؤدي دوراً مهماً في عملها كجزيئات تنظيمية في النباتات المعرضة للإجهاد اذ يظهر ذلك بوضوح عند تراكم البرولين والاحماض الامينية الأخرى فضلاً عن دورها في فتح الثغور وتنظيم النقل الايوني والتعبير الجيني ونشاط بعض الانزيمات (Zhangl وآخرون، 2021).

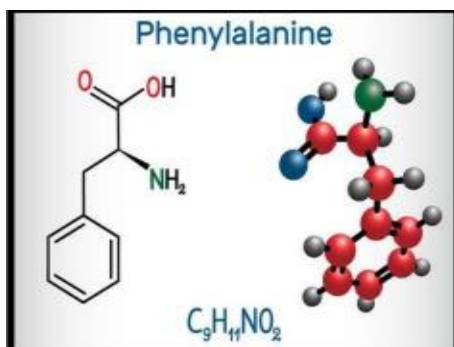
يُعد الفينيل الأنين من الأحماض الامينية الأساسية غير القطبية والكارهة للماء الفريدة من نوعها كما إنها تحتوي على حلقات ذات روابط مزدوجة غير ثابتة ويكون عملها في الانزيمات كقنوات تسمح بنقل الالكترونات من سلسلة جانبية عطرية الى أخرى، كما تعمل على امتصاص الاشعة فوق البنفسجية بسهولة مما يسهل قياس تركيز البروتينات في المحلول (Hyun وآخرون، 2011).

لا يصنع الفينيل الأنين بكميات كافية في الثدييات لتخليق البروتين، أما في الفطريات والنباتات فيصنع عبر مسار حامض الشيكيميك ويدخل مباشرة لتخليق البروتين في التمثيل الغذائي من خلال مسار Phenylpropanoid pathway الذي يحفز التخليق الحيوي للمركبات الأيض الثانوي (Yoo وآخرون، 2013 و Barros و Dixon، 2020).

والفينيل الأنين هو مقدمة لمسار Phenylpropanoid مما يؤدي الى تكوين الأحماض الفينولية والفلافونويدات والمركبات الفينولية الأخرى (Kintzios وآخرون، 2010).

معظم المركبات الفينولية في النبات مشتقة من Transcinnaic acid الذي يتكون من نزع مجموعة الأمين L-Phenylalanine بواسطة تحفيز أنزيم Phenylalanine ammonia lyase

(Proestos وآخرون، 2013)، يتم استخدام الفينيل الأنين لزيادة إنتاج المركبات الثانوية خارج الجسم الحي في العديد من النباتات الطبية المختلفة عن طريق إضافة المحفزات Precures وهي الخطوة الأولى لزيادتها (Mallick وآخرون، 2016).



الشكل (6) يوضح الصيغة التركيبية لحمض الفينيل الأنين.

يلعب الفينيل الأنين دوراً مهماً في زيادة نسبة الصفات الخضرية والمركبات العطرية حيث بينت العكايشي (2020) أن إضافة Phenylalanine بتركيز 100 ملغم لتر⁻¹ الى نبات الريحان *Ocimum basilicum* أعطى زيادة معنوية في نسبة المجموع الخضري والفينولات الكلية ومحتوى الزيوت الطيارة، وجد Reham وآخرون (2016) أن رش نبات الريحان بالأحماض الأمينية مثل الفينيل الأنين والنيكل بتركيز مختلف أدى الى زيادة معنوية في خصائص النمو الخضري ومحتواها من الزيت الطيار. بين A El-Shennawy وآخرون (2017) في دراسة إجريت على نبات النعناع ان إضافة الفينيل الأنين زاد محتوى الكلوروفيل والمركبات الفينولية ونسبة الزيت الطيار.

وجد Roy وآخرون (2020) ان إضافة الفينيل الأنين لنبات النعناع الفلفلي *Mantha piperita* قد أدى الى زيادة حامض Rosmarinic و Pulegone في محتوى الزيوت الطيارة. أوضحت ساجت (2021) تأثير Phenylalanine على نبات الشبنت أعطى زيادة معنوية في محتوى الكلوروفيل الكلي والكربوهيدرات والفينولات الكلية وحامض الاسكوربك.

2-5-2- البولبي أثيلين كلايكول (PEG) Polyethylene glycol

يعرف الإجهاد بأنه نقصان المحتوى المائي الداخلي في النبات نتيجة إضافة المحفزات الاحيائية او الإحيائية بدرجة تؤثر على العمليات الحيوية للنبات مما ينعكس سلبياً على نمو النبات وتطوره (Lama و Neamah، 2023).

يعتبر الكلايكول متعدد الأثيلين (PEG) Polyethylene glycol من أكثر المواد استعمالاً في تجارب الإجهاد المائي وهو عبارة مادة بايوكيميائية خاملة غير أيونية محب للماء متوفرة في مجموعة من الأوزان الجزيئية عالية (4000-6000-8000) غم مول⁻¹ وقد تتراوح من 3000-14000 غم مول⁻¹ أو قد تكون مركبات سائلة ولها أوزان جزيئية منخفضة أو على شكل مسحوق ناعم، وينتج PEG من عملية التكسر الحراري للبترول (Thermal cracking) وذلك بأكسدة الأثيلين الى أوكسيد الأثيلين مضاف اليه الماء وهو بوليمر محايد غير متجانس ذو سلسلة طويلة (Wani وآخرون، 2010).

إن من مميزات مركب PEG إنه لا يدخل أو يمتص من الخلايا أنما يعمل على ترك الخلايا النباتية تحت حالة من العجز المائي بطريقة مماثلة للحالة التي يسببها الجفاف في الظروف الطبيعية وتكون ذات سمية منخفضة للنباتات وبسبب هذه الخصائص فقد تم استخدامه من قبل العديد من الباحثين لغرض الإجهاد المائي على النباتات (Rakoczy- Trojanowska، 2002).

يولد PEG إجهاداً تناضحياً يؤثر على معدل الكتلة الحيوية للنبات عن طريق انخفاض النمو وتثبيط استطالة الخلايا (Hatami وآخرون، 2019)، يلعب دوراً رئيسياً في التأثير على الانزيمات المشاركة في دورة كالفن وانخفاض في امتصاص الماء والأيونات وبالتالي يقلل معدل التمثيل الضوئي مما يؤثر لاحقاً على محتويات الكلوروفيل حيث ترتبط الكمية النسبية للكلوروفيل ارتباطاً مباشراً بقدرة التمثيل الضوئي للنباتات (Kijne، 2006).

يؤثر PEG على اختلال في العلاقات المائية داخل الخلية كالجهد المائي والأسموزي والجهد الانتفاخي مما يسبب في غلق الثغور وبالتالي تقل كمية غاز ثنائي أوكسيد الكربون (CO₂) الداخلة للخلايا مما يؤدي الى انكماش بروتوبلازم الخلايا وارتفاع تراكيز المحاليل مما يؤثر على البناء الحيوي للخلايا فينخفض متوسط حدوث عملية البناء الضوئي وينتج عن ذلك شيخوخة الأوراق وتساقطها وتحدث العديد من التغيرات الإنزيمية، إذ يزداد نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة بزيادة مستويات الجفاف وتحدث تغيرات في محتوى الخلايا من الكربوهيدرات والبروتينات (Yavas وآخرون، 2024).

يوثر PEG على النبات من خلال تأثيره على المستوى الخلوي التي تشمل الاصباغ والأنظمة الضوئية ونظام نقل الإلكترون ومسارات اختزال CO₂ (Ashraf وآخرون، 2018)، يكون تأثير الإجهاد التأكسدي على العمليات الحيوية والفسولوجية داخل الخلايا من خلال تأثيرها على الجزيئات الحيوية الكبرى كالإنزيمات والبروتينات والدهون والكربوهيدرات والـ DNA فضلاً عن تثبيط عمل العديد من الإنزيمات والتأثير في المكونات الخلوية ومن ثم انكماش الخلية وموتها (Xia وآخرون، 2015).

تعمل الإنزيمات المضادة للأكسدة على تقليل الإجهاد التأكسدي وزيادة الضغط الإزموزي وزيادة انتقائية استيعاب الأيونات المفيدة ومنع تراكم الأيونات السامة الزائدة وبذلك يساعد النبات في تحمل إجهاد الجفاف ومن هذه الإنزيمات إنزيم البيروكسيداز Peroxidase (POD) وهو أحد إنزيمات النظام الدفاعي في النبات ضد أنواع الـ ROS والذي يعمل على إزالة جذور الأوكسجين الحرة وحماية دهون الأغشية من الأكسدة (Nawaz وآخرون، 2021) وإنزيم الكاتاليز Catalase (CAT) ويعد من الإنزيمات المهمة في تحليل بيروكسيد الهيدروجين المتولد أثناء الإجهاد (Rajput وآخرون، 2021)، إن أهم ميكانيكيات تأقلم النبات مع الجفاف هو التعديل الإزموزي الذي يسمح بالحفاظ على انتفاخ الخلايا النباتية المجهدة بتراكم عدة من المواد كالنترات والسكريات والأحماض الأمينية كالبرولين والأحماض العضوية وأملاح البوتاسيوم يتكون البرولين بسرعة أكبر تحت تأثير إجهاد الجفاف Yang وآخرون (2021)، يعتبر البرولين من المركبات الأزموزية الأكثر توزيعاً في النباتات المجهدة ومؤشر على تأقلمها و يخلق في الأوراق ويتراكم في الجذور ويبدأ البناء التركيبي للبرولين مع Glutamine وينتهي بحامض الكربوكسليك برولين (Ingrisano وآخرون، 2023).

استطاع Bufalo وآخرون (2016) الحصول زيادة في إنزيم البيروكسيد مما أدى الى زيادة نشاط الانزيم المضاد للأكسدة لنبات النعناع الفلفلي عند إضافة PEG الى الوسط الغذائي MS بتركيز 50 ملغم لتر⁻¹.

أشار Dehghani (2018) عند دراسته تأثير PEG على نبات النعناع Mantha puleglum حيث انخفضت معظم الخصائص المورفولوجية بشكل ملحوظ مع زيادة تركيز PEG بنسبة 10% الذي يتوافق مع زيادة كمية التربينات ومحتوى Rosmarinic acid والفينولات الكلية وزاد نشاط مضاد الأكسدة.

حصل El-naggar وOsman (2024) في دراسته على نبات النعناع زيادة في الانزيمات المضادة للأكسدة وكانت عدد الأفرع الخضرية وأطوالها تتناسب عكسياً مع تركيز PEG حيث زاد محتوى الزيت العطري ومنها Menth furan وMenthone عند زيادة تركيز PEG عن 10 ملغم لتر⁻¹.

6-2- التشخيص الكمي والنوعي بواسطة تقانة (HPLC)

تعد عملية تحديد فعالية المركبات الثانوية الحيوية وتشخيص مكوناتها عملية تتطلب وقتاً وتكاليف عالية، إذ تحتاج هذه العملية إلى أسابيع أو أشهر أو سنين وهذا حسب درجة تعقيد وطبيعة المركب، ومع التطور في أجهزة المختبرات مما جعل من هذه العملية أكثر سرعة ومن هذه الأجهزة هو جهاز (HPLC) ومن خلال هذه التقنية يمكن التعرف على المواد المطلوبة عند مقارنتها بعينات القياس، إذ تستخدم المحاليل القياسية لمركبات الزيوت الطيارة والتي تحقق في الجهاز من أجل تحديد مساحة العينة وزمن الاحتجاز، وارتفاع الحزم على شكل منفرد لكل نموذج لضمان عدم وجود تداخل بينها في ظروف الفصل المستعملة فيتم قياس مركبات العينات من خلال المقارنة بين مساحة حزم العينات ومساحات الحزم للمادة القياسية وهذا حسب تركيز المركبات (Meyer، 2013).

أجريت كثير من الدراسات على تشخيص الزيوت الطيارة وتقديرها النوعي والكمي إذ بين Choi وآخرون (2019) بواسطة Column 4.6mm × 250mm، وmobile phase يحتوي على 1% من Acetic acid و99% من Water وسرعة جريان Flow rate 1 ml/min لنبات اكليل الجبل.

تمكن نصر الله، (2023) من التعرف على الزيوت الطيارة والمواد الفينولية بتقانة HPLC بواسطة عمود فصل Column C-18 بأبعاد 4.6mm × 50 وسرعة جريان R.T. بلغت 1.2 ml/min.

3-المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

إجريت الدراسة في مختبر زراعة الانسجة النباتية التابع لكلية الزراعة - جامعة كربلاء و اكملت تحاليل الـ HPLC في شركة الحقول البيضاء للاستثمارات والدراسات البيئية والهندسية للمدة من 2024/8/1 ولغاية 2025/4/1، استعملت بذور النعناع الفلفلي التي تم الحصول عليها من المكاتب الزراعية المحلية.

3-1- تحضير الوسط الغذائي

استخدم الوسط الغذائي الجاهز MS (Skoog و Murashige، 1962) والمبينة مكوناته في الجدول (1) المنتج من شركة Caisson Lab الأمريكية الحاوي على المغذيات الكبرى والصغرى والمدعم بالفيتامينات وبوزن 4.9 غم لتر⁻¹ في جميع مراحل التجربة. و اضيف السكروز بمقدار 30 غم لتر⁻¹، اضيفت منظمات النمو النباتية حسب نوع التجربة ، ثم عدلت الدالة الهيدروجينية pH (Potenz Hydrogen) الى 5.7 ± 1 وذلك باستخدام حامض الهيدروكلوريك Hydrochloric HCl واحد عياري او هيدروكسيد الصوديوم Sodium hydroxide NaOH ثم اكمل الحجم الى لتر وأضيف اكار من نوع (Agar- Agar) بمقدار 7 غم لتر⁻¹ الى الوسط ثم سخن الوسط مع المزج المستمر لحين الاذابة بشكل تام باستخدام جهاز التسخين الهزاز Hot plate magnetic stirrer لحين التجانس ووزع بعد ذلك في قناني الزراعة لغاية 10 مل وغطيت بالأغطية المناسبة لها.

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

المجموعة	اسم المركب	الصيغة الكيميائية	التركيز (ملغم، لتر ⁻¹)
النترات	نترات الامونيوم	NH ₄ NO ₃	1650
	نترات البوتاسيوم	KNO ₃	1900
الكبريتات	كبريتات المغنيسيوم المائية	MgSO ₄ .7H ₂ O	370
	كبريتات المنغنيز المائية	MnSO ₄ .4H ₂ O	22.3
	كبريتات الخارصين المائية	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.6
	كبريتات النحاس المائية	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
الهاليدات	كلوريد الكالسيوم المائي	CaCl ₂ .2H ₂ O	440
	كلوريد الكوبلت المائي	CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
	يوديد البوتاسيوم	KI	0.83
B-P-Mo	فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين	KH ₂ PO ₄	170
	مولبيدات الصوديوم المائية	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25
	حامض البوريك	H ₃ BO ₃	6.2
الحديد المخلبي	كبريتات الحديدوز المائية	FeSO ₄ .7H ₂ O	27.8
	المادة المخلبية	EDTA-Na ₂	37.3

2-3- التعقيم Sterilization

عُقمَت الأوساط الغذائية بجهاز المؤصدة (Autoclave) على درجة حرارة 121 م وضغط 1 بار لمدة 20 دقيقة

3-2-1- تعقيم الأوساط الغذائية المستخدمة:

عُقمَت جميع الأدوات المستعملة في عملية الزراعة من ملاقط ومشارط بعد تغليفها بورق الألومنيوم وكذلك الماء المقطر وأطباق بتري بجهاز المؤصدة (Autoclave) بدرجة حرارة 121 م وتحت ضغط 1 بار لمدة 20 دقيقة أما الشفرات والملاقط فتعقم باستخدام الكحول الأيثيلي تركيز 98% مع الحرق بمصباح بنزن Burner للتخلص من الملوثات التي

قد تنتقل إليها أثناء الزراعة، ويُستعمل الكحول الايثيلي تركيز 70% في تعقيم الأيدي، وعند الزراعة تم إدخال جميع متطلبات العمل داخل كابينة انسياب الهواء الطبقي المعقمة مسبقاً.

2-2-3-2-3 تعقيم كابينة الهواء الطبقي Laminar air flow cabinet :-

تم تعقيمها برش جدرانها الداخلية وأرضيتها بمادة الايثانول (70%) ومسحها بالقطن الطبي وبعد ذلك تم تشغيل شمعة الأشعة فوق البنفسجية UV لمدة 20 دقيقة قبل استخدام الكابينة لغرض الزراعة وتترك الكابينة لمدة 20 دقيقة بعد التعقيم للتخلص من الاشعاع.

3-2-3-3- تعقيم البذور وزراعتها: -

أجريت عملية استنبات البذور بعد غسلها بالماء الجاري tap water والزاهي لمدة 30 دقيقة ومن ثم نُقلت الى كابينة انسياب الهواء الطبقي و عُقمت بواسطة هايبيوكلورات الصوديوم NaOCl (القاصر التجاري) حُضرت منه تراكيز مختلفة عن طريق التخفيف بواقع 100 مل لكل تركيز وكانت التراكيز (0, 1, 2, 4) % للمدة الزمنية (5, 10, 15) دقيقة على التتابع، ثم غسلت البذور بالماء المقطر المعقم لثلاث مرات لمدة 5 دقائق في كل فترة مع التحريك المستمر للتخلص من محلول هايبيو كلورات الصوديوم، وبعد ذلك تمت عملية زراعة البذور في أنابيب الزراعة معقمة ومجهزه بجسور مصنوعة من ورق الترشيح المعقم الذي غمر جزء منه في وسط MS الخالي من منظمات النمو ووضعت بذور النعناع الفلفلي على الجسر الورقي بواقع 10 مكررات لكل تركيز و لكل مكرر 10 بذرات وحُضنت الزروع في غرفة النمو بشدة أضواء 1000 لوكس لمدة 16 ساعة ضوء/ يوم و 8 ساعة ظلام على درجة حرارة 25 ± 2 سجلت النتائج بعد حوالي 14 يوم من الزراعة على أساس النسبة المئوية للتلوث.

$$\text{نسبة التلوث} = \text{عدد النباتات الملوثة} / \text{العدد الكلي} \times 100$$

3-3- مرحلة النشوء Initiation stage

بناء على نتائج تجربة التعقيم تم انتخاب افضل معاملة تم الحصول عليها من الفقرة (3-2-3) وزرعت الاجزاء النباتية على وسط MS المجهز بتركيز مختلفة من BA (0، 1، 1.5) ملغم لتر⁻¹ بالتداخل مع NAA (0، 0.1) ملغم لتر⁻¹ وبواقع عشرة مكررات لكل تركيز، حضنت الزروعات في غرفة النمو growth room على درجة حرارة 25 ± 2° م و اضاءة 1000 لوكس لمدة 16 ساعة يوم⁻¹، اخذت النسبة المئوية للاستجابة بعد 4 اسابيع من الزراعة وفق المعادلة الاتية:

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

3-4- مرحلة التضاعف Multiplication stage

بناء على النتائج التي تم الحصول عليها من مرحلة النشوء (الفقرة 3-3) تم انتخاب أفضل معاملة اذ استخدمت الافرع الخضرية اذ تم تقطيعها بمعدل طول 1 سم وزرعت على الوسط الغذائي MS المجهز بتركيز (0، 1، 2، 3) ملغم لتر⁻¹ BA بالتداخل مع KIN بالتركيز (0.1، 0.5، 1، 1.5) ملغم لتر⁻¹ مع اضافة تركيز ثابت من NAA بتركيز (0.1) بواقع 10 مكررات لكل تركيز، حضنت الزروعات في غرفة النمو بنفس الظروف السابقة، اخذت مؤشرات الدراسة بعد 4 اسابيع والتي شملت: -

- عدد الأفرع (فرع نبات⁻¹)

- ارتفاع النبات (سم)

- الوزن الطري (ملغم)

- الوزن الجاف (ملغم)

3-5- تجربة تحفيز إنتاج مركبات الأيض الثانوي في مزارع الأفرع الخضرية: -

بعد أربع أسابيع وبالاتماد على أفضل توليفة من مرحلة التضاعف تم أخذ الأفرع بطول 1 سم وأعاده زراعتها (subculture) على وسط MS المجهز بحامض الفينيل الانين بتركيز (0، 2، 4) ملغم لتر⁻¹ و PEG بتركيز (0، 2، 4) ملغم لتر⁻¹ بوجود تركيز ثابت من الـ BA و KIN و NAA (0.1، 1، 2) ملغم لتر⁻¹ على التتابع خزنت الزروع في غرفة الحضان تحت ثلاث أنواع من الإضاءة والتي شملت مصابيح الفلورسنت العادي ومصابيح LED الأبيض ومصابيح LED الملونة (18أحمر، 2 أزرق) اخذت مؤشرات الدراسة بعد ست أسابيع من الدراسة والتي شملت

- عدد الأفرع (فرع نبات⁻¹)

- ارتفاع النبات (سم)

- الوزن الطري (ملغم)

- الوزن الجاف (ملغم)

3-6- تقدير الكلوروفيل الكلية.

قدرت صبغة الكلوروفيل باتباع طريقة (Goodwin، 1976) إذ: -

أخذ 1 غم من النموات الخضرية النامية في مجال زراعة الانسجة ووضعت في هاون خزفي واضيف لها 10 مل من الاسيتون 80% ثم سحقت الانسجة النباتية لحين الحصول على بقايا عديمة اللون، رشح المحلول بورق الترشيح الى انبوبة حجمية وأكمل الى الحجم 10مل باستخدام الاسيتون نفسه، سحب 1 مل من المحلول واجري له التخفيف المناسب، قرئ الامتصاص الضوئي للمحلول على طول موجتين 663 و 645 نانوميتر باستخدام جهاز الـ Spectrophotometer حسب المحتوى الكلي للكلوروفيل وحسب المعادلة الآتية: -

$$\text{Total Chlorophyll (mg g}^{-1}\text{)} = 20.2D(645) + 8.02D(663).$$

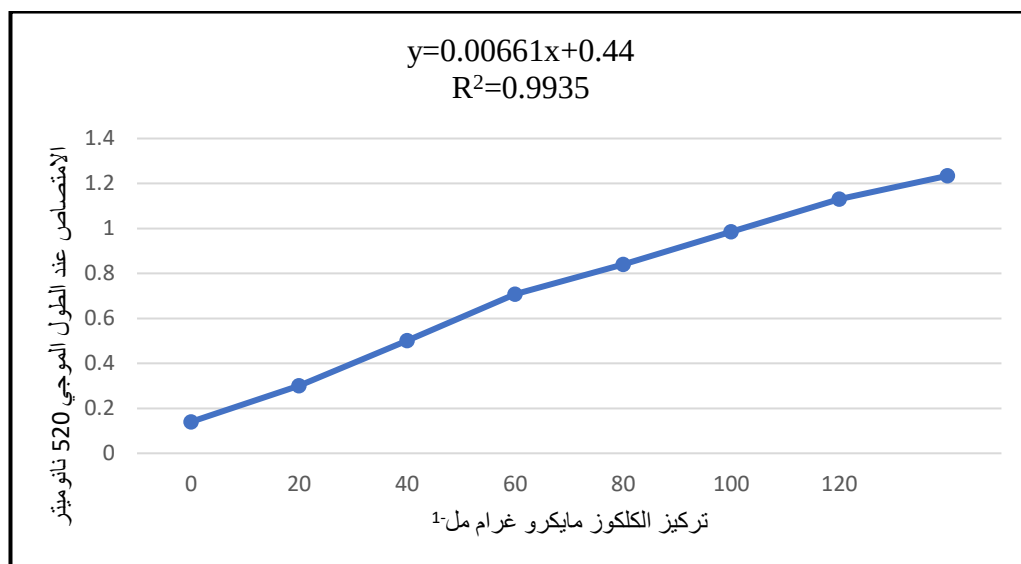
- حيث ان $D =$ قراءة الجهاز

3-7- تقدير الكربوهيدرات الكلية.

اتبعت طريقة Herbert وآخرون (1971) المسماة طريقة الفينول حامض الكبريتيك. إذ أخذ 0.1 غم من العينات المطحونة ووضعت في انبوبة اختبار جافة وبعد الرج الجيد وضعت الانابيب في جهاز الطرد المركزي لمدة 10 دقائق وعلى سرعة 1500 دورة / دقيقة، أخذ 1 مل من الراشح الى انبوبة اختبار واضيف له 1 مل من كاشف الفينول ذي تركيز 5% مع 5 مل من حامض الكبريتيك 99%. مزج الخليط جيداً وحضن في حمام مائي على درجة حرارة (25-30) م° لمدة 20 دقيقة، تركت الانابيب لتبرد وقدر تركيز الكربوهيدرات بقياس شدة اللون بواسطة جهاز المقياس الطيفي عند الطول الموجي 490 نانومتر وبواقع ثلاث مكررات لكل معاملة.

3-7-1- المنحنى القياسي للكربوهيدرات الكلية.

تم رسم المنحنى القياسي للكربوهيدرات بحسب طريقة Herbert وآخرون (1971)، باستعمال تراكيز مختلفة من الكربوهيدرات تراوحت بين (0-120) ميكروغرام مل⁻¹، أخذ 1 مل من كل تركيز وأضيف إليه 1 مل من كاشف الفينول بتركيز 5% واضيف 5 مل من حامض الكبريتيك المركز ومزج الخليط جيداً، حضن المزيج في حمام مائي على درجة حرارة (25-30) م° لمدة 20 دقيقة وقدر تراكيز الكربوهيدرات بقياس شدة اللون بواسطة جهاز المقياس الطيفي عند الطول الموجي 488 نانومتر وعلى ضوءه قدر تركيز الكربوهيدرات في النموات المعاملة بالمواد المحفزة.



الشكل (7) المنحنى القياسي للكربوهيدرات طريقة Herbert وآخرون 1971

8-3- تقدير البروتينات الكلية.

تم تقدير نسبة المئوية للبروتينات من خلال تقدير النسبة المئوية للأوراق من النتروجين بواسطة جهاز مايكروكلدال Micro Kjeldahl، ثم تحويل النسبة المئوية للنتروجين إلى النسبة المئوية للبروتين استناداً إلى محتوى البروتين من النتروجين (إبراهيم وآخرون، 2000) والتي تتضمن ثلاث مراحل.

- **مرحلة الهضم (Digestion):** تم أخذ عدد من الأوراق الناضجة المكتملة النمو من كل معاملة وجففت هوائياً ووضعت في أكياس ورقية مثقبة في فرن كهربائي على درجة حرارة 70م ± 1 لمدة (72 ساعة) ولحين ثبات الوزن ثم طحنت العينات وأخذ منها (0.2 غم) منها وأضيف لها (3 مل) من حامض الكبريتيك المركز و (1 مل) من حامض البيروكلوريك المركز وحامض الكبريتيك المركز بنسبة 1:1 ووضعت في دوارق الهضم وتم غلقها بإحكام وتركتم لمدة (24 ساعة) أجريت عملية الهضم بوضع الدوارق على صفيح على صفيح ساخن وتركتم حتى الحصول على محلول عديم اللون وهو مؤشر على انتهاء عملية الهضم، تركت العينات لتبرد وبعدها وضعت في علب بلاستيكية سعة (50 مل) حيث أكمل المحلول بالماء المقطر إلى العلامة وفق ما ورد في (الصحاف، 1989).

- **مرحلة التقطير (Distillation):** بعد إتمام عملية الهضم تم تقدير النتروجين في العينة بواسطة جهاز مايكروكلدال Micro Kjeld بأخذ (10 سم³) من هيدروكسيد الصوديوم NaOH تركيز (40 %) لتقطير محتوى العينة من الامونيا المتصاعدة بفعل الحرارة داخل بيكر سعة (50 سم³) والحاوي على (10 سم³) حامض البوريك والصبغات المستخدمة كدليل الأزرق ميثيل Bromocresol Blue Methyl والأحمر ميثيل Red Methyl بتراكيز معينة لإعطاء اللون الأخضر في الوسط القاعدي وذلك لمعرفة نقطة انتهاء التفاعل.
- **مرحلة التسحيح:** أجريت عملية تسحيح محتويات البيكر الحاوي على الأمونيا المقطرة مقابل حامض الهيدروكلوريك HCL عياريته (0.014) وحساب الكمية المضافة من HCL عند تغير لون دليل المخلوط الأخضر إلى اللون الأحمر ومن ثم حسبت نسبة النتروجين بتطبيق المعادلة الآتية:

$$N\% = \frac{V1 \times N1 \times V2 \times 14 \times 100}{A \times B \times 1000}$$

حيث أن:

V1 = حجم حامض HCl سم³ من السحاحة.

N1 = عيارية حامض HCl المستعمل.

14 = الوزن الذري المكافئ للنتروجين.

100 = التحويل الى النسبة المئوية.

V2 = حجم العينة المهضومة المخففة (50 سم³) اي الحجم المستخلص الكلي.

A = حجم المستخلص المستخدم (10 سم³) الموضوع في جهاز التقطير.

B = وزن العينة النباتية الجافة المستخدمة في عملية الهضم (0.2 غم).

100 = لتحويل الملغم إلى الغرام.

وبالاعتماد على محتوى البروتين من النتروجين يتم تحويل النسبة المئوية للنتروجين

الى نسبة مئوية للبروتين من خلال المعادلة الآتية:

(معامل التحويل = 6.25)

$$\% \text{Protein} = \% N \times 6.25$$

9-3- قياس فعالية إنزيم الكاتليز (CAT)

تم تقدير نشاط إنزيم الكاتليز بالطريقة التي ذكرها Aebi (1984) بواسطة جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer).

تحضير المحاليل:

- محلول فوسفات البوتاسيوم ثنائي القاعدية (K_2HPO_4): حضر بإذابة 1.7420 غم من فوسفات البوتاسيوم ثنائي القاعدية (K_2HPO_4) في كمية قليلة من الماء المقطر ثم أكمل الحجم الى 200 مل بالماء المقطر.
- محلول فوسفات البوتاسيوم احادي القاعدة (KH_2PO_4): اذيب 1.3608 غم من فوسفات البوتاسيوم احادي القاعدة (KH_2PO_4) في كمية قليلة من الماء ثم أكمل الحجم الى 200 مل من الماء المقطر.
- محلول دارى الفوسفات (50 مليمول) المنظم عند الاس الهيدروجيني 7: يحتوي على حجم معين من محلول (KH_2PO_4) يضاف إلى 50 مل من محلول (K_2HPO_4) حتى وصول قيمة الاس الهيدروجيني 7.
- محلول بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 تركيزه (30 مليمول): تم تحضيره بأخذ 0.34 مل من بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) 30% وأكمل الحجم الى 100 مل من المحلول المنظم دارى الفوسفات (50 مليمول) المنظم عند الاس الهيدروجيني 7.

طريقة العمل:

تم خلط 0.1 مل من العينة مع 1.9 مل من المحلول المنظم، ثم أضيف 1 مل من محلول بيروكسيد الهيدروجين وخلطت المكونات جيداً بالتردد المركزي وعلى سرعة 1000 دورة\ دقيقة لمدة 10 دقائق لتؤخذ بعدها القراءات لكل عينة عند الطول الموجي 240 نانومتر بواسطة جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer). قيست فعالية إنزيم الكاتليز (CAT) من خلال المعادلة التالية:

$$\text{فعالية CAT وحدة مل}^{-1} = \frac{\Delta \text{قراءة الجهاز} / \Delta \text{الزمن}}{0.1 \times 0.01}$$

حيث:

0.1: مل حجم العينة.

0.01: الوحدة الواحدة لإنزيم البيروكسيديز (كمية الانزيم التي تسبب زيادة في امتصاص الضوء مقدارها 0.01 وحدة في الدقيقة الواحدة عند طول موجي مقداره 420 نانومتر).

Δt : التغير بالوقت / دقيقة.

10-3 قياس فعالية إنزيم البيروكسيديز (POD) Peroxidase

اتبعت طريقة العمل الموضحة من قبل الصوفي (2001) في قياس إنزيم البيروكسيديز في العينات النباتية.

تحضير المحاليل:

1- محلول الكوايكول ((Guaicol): حضر بخلط 1.36 مل من الكوايكول في ورق زجاجي وأكمل الحجم الى 250 مل بالماء المقطر.

2- محلول بيروكسيد الهيدروجين (H₂O₂) 0.1%: حضر بأخذ 0.4 مل من بيروكسيد الهيدروجين (30%) وأكمل الحجم الى 120 مل ماء مقطر.

محلول الترس Tris (0.04 مولاري) مع 1 مولاري من كلوريد الصوديوم (NaCl)، ثم خلطت هذه المحاليل بنسبة 1:1:1:7 مع 7 أجزاء ماء مقطر.

طريقة العمل:

1- اخذ 1 غم من نباتات النعناع الفلفلي وسحقت في هاون خزفي معقم بوجود 4 مل من محلول دارى الفوسفات 0.2 مولاري ذات الأس الهيدروجيني 7.5.

2- اخضعت العينة الى عملية الطرد المركزي بدرجة حرارة 4 م° ولمدة 20دقيقة وبسرعة 6000 دورة /دقيقة.

3- اخذ 0.1 مل من المستخلص الصافي واضيف اليه 3 مل من المحلول المحضر من كوايكول (0.05 مولاري) وبيروكسيد الهيدروجين 30% بتركيز 0.02 مولاري.

4- وضعت العينة في جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer) وعلى الطول الموجي 420نانومتر، مع مراعاة اخذ 6 قراءات متتالية وبفترات فاصلة 30 ثانية

لقياس كمية إنزيم البيروكسيديز، طبقت المعادلة الاتية والمذكورة من قبل

Whitaker و Bernard (1972).

$$\frac{\Delta \text{ قراءة الجهاز} / \Delta \text{ الزمن}}{0.1 \times 0.01} = \text{POD وحدة امتصاص مل}^{-1}$$

حيث:

0.1: مل حجم العينة.

0.01: الوحدة الواحدة لإنزيم البيروكسيديز (كمية الانزيم التي تسبب زيادة في امتصاص الضوء مقدارها 0.01 وحدة في الدقيقة الواحدة عند طول موجي مقداره 420 نانوميتر).

Δt : التغير بالوقت / دقيقة.

11-3- تقدير الحامض الاميني البرولين

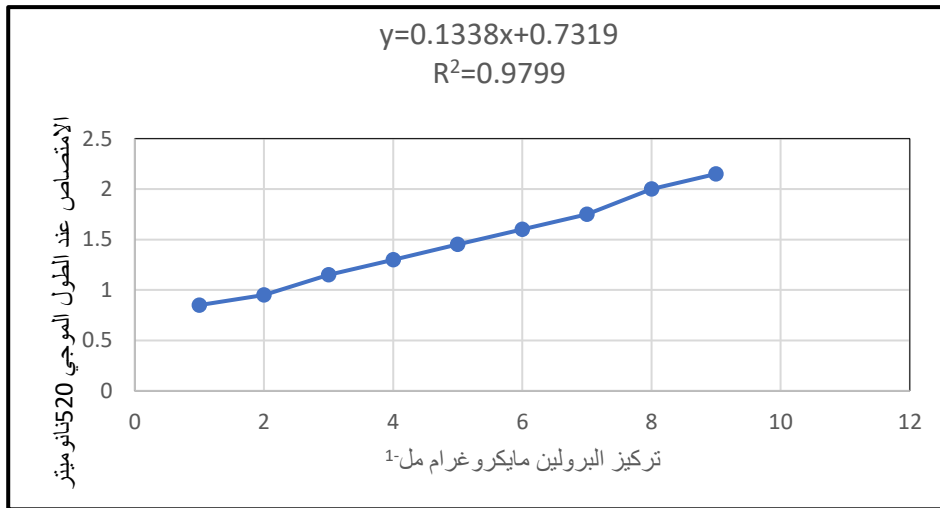
اعتمدت طريقة العمل المذكورة من قبل Bates وآخرون (1973) في قياس محتوى البرولين لنباتات النعناع الفلفلي واتباع الخطوات الآتية:

1. اخذ 0.5 غم من النباتات الطرية لغرض سحقها في 10 مل من المحلول المائي سلفاسوليك أسيد (Sulphosalicylic acid) في هاون خزفي وبمساعدة مدقة ثم وضع الخليط في جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة/ دقيقة لمدة 10 دقائق
2. اخذ 2 مل من الطبقة السطحية وأضافت 2 مل من حامض الخليك الثلجي (Glacial acetic) و2 مل من ننهايدرين (Ninhydrin) في انبوبة زجاجية
3. وضعت الانبوبة في حمام مائي في درجة 100 م° لمدة ساعة، ثم برد المخلوط مباشرة في حمام ثلجي لإيقاف التفاعل. اضيف 4 مل من مادة التولوين (Toluene) ومزج الخليط جيداً لمدة 20 ثانية وترك بعدها في درجة حرارة الغرفة
4. فصلت طبقة التولوين (Toluene) وما تحمله من الحامض الاميني البرولين المتجمع في الطبقة العلوية من الخليط والتي أخذ منها 1 مل لغرض اخذ القراءة بواسطة جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer) على الطول الموجي 520 نانو ميتر على تركيز البرولين من خلال تطبيق المعادلة التالية:

البرولين بالميكرو غرام / الوزن الرطب للعينة بالغرام = (قراءة الجهاز $\times 4 \times 5$ /
الوزن الرطب بالغرام) $\times 1.47$.

3-11-1 المنحنى القياسي للبرولين.

تم رسم المنحنى القياسي للبرولين بحسب طريقة (Bates وآخرون، 1973) باستعمال تراكيز مختلفة منه (2، 4، 6، 8، 10) ميكروغرام مل⁻¹، ثم تم أخذ 2 مل من كل تركيز وأضيف إليه 2 مل محلول الننهايدرلين ومزج الخليط جيداً، ثم سخن الخليط في حمام مائي بدرجة حرارة 100 م° لمدة ساعة وتم تبريد المحلول بواسطة حمام ثلجي و أضيف إليه 4 مل من مادة Tolowen، ومزجت جيداً بجهاز Test tube stirrer لمدة دقيقة واحدة وسُحب 3 مل من الطبقة العليا الملونة باللون الأحمر، قيست شدة اللون بجهاز المقياس الطيفي (Spectrophotometer) عند الطول الموجي 520 نانوميتر ورسم المنحنى القياسي للبرولين وعلى ضوئه قدر تركيز البرولين في النموات المعاملة بالمواد المحفزة.



الشكل (8) المنحنى القياسي للبرولين طريقة Bates وآخرون 1973

3-12- التقدير الكمي والنوعي للزيوت الطيارة باستخدام تقانة كروماتوغرافيا السائل فائق الاداء (HPLC)

تم فصل للزيوت الطيارة في مستخلص نبات النعناع الفلفلي على وفق ما ذكره (Badifu، 1991) وتحت الظروف الآتية: -

*نوع الجهاز: HPLC

*الشركة والموديل: Shimadzu 10 AV- LC

*عمود الفصل Stationary phase

تم استخدام عمود فصل نوع (Macherey- Nagle, C18- Column (USA) بإبعاد (50×2.0 I.D mm) اذ ان مادة الفصل في العمود (الطور الثابت) هي Octadecyl Silane (ODSI) المرتبطة كيميائياً بمادة silica gel وقطر الجزيئات 3 مايكرو ميتر وعند درجة حرارة 40 م⁰.

*الطور المتحرك Mobile phase

تم تحضير هذا الطور بمزج acetonitrile مع ammonium acetate بنسبة 20:80 (حجم: حجم) ammonium acetate: acetonitrile على التوالي، ثم تم ترشيحه والتخلص من الفقاعات الموجودة فيه بواسطة جهاز الترددات فوق الصوتية (Ultrasonic) وبعد ذلك أصبح الطور المتحرك جاهزاً للاستخدام.

*سرعة الجريان Flow rate

اعتمد معدل الجريان 1.1 مل/ دقيقة وعند طول موجي 285 wave length نانو ميتر. حقن 10 مايكرو ليتر لكل عينة من العينات المراد قياسها وقورن زمن الاحتجاز ومساحة المنحنى للعينات القياسية، وتم حساب تركيز المركبات في مستخلصات العينات النباتية على وفق المعادلة الآتية: -

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

3-13- التصميم والتحليل الاحصائي

حللت بيانات النتائج كتجارب عاملية باستخدام التصميم التام العشوية (CRD) Complete Randomized Design وبواقع 10 مكررات لكل معاملة وقورنت المتوسطات بحسب اختبار اقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 0.05 باستعمال البرنامج الاحصائي (GenStat) (الساهوكي وهيب، 1990).

4-1 تأثير هايپوكلورات الصوديوم (NaOCl) ومدد التعقيم في النسبة المئوية لتلوث بذور نبات النعناع الفلفلي.

يبين الجدول 2 والشكل 9 تأثير تراكيز NaOCl المستخدمة ومدة التعقيم في تقليل نسبة التلوث لبذور نبات النعناع الفلفلي المزروع على الوسط الغذائي MS السائل الخالي من منظمات النمو النباتية، إذ بلغ متوسط التلوث 100% في معاملة المقارنة ولجميع المدد وبزيادة تراكيز NaOCl كيز انخفضت نسبة التلوث معنوياً لتصل 3.33, 26.67, 46.67% عند التراكيز 1، 2، 4 % على التتابع، سُجلت مدة التعقيم فروقات معنوية، اذا انخفض متوسط التلوث بزيادة المدة الزمنية الى 15 دقيقة بلغ 30% بينما ارتفع متوسط التلوث 57.50% عندما كانت مدة التعقيم خمس دقائق.

أثر التداخل بين تراكيز وفترة NaOCl لتعقيم معنوياً في تقليل نسبة التلوث إذ سُجلت معاملة المقارنة اعلى متوسط في التلوث بلغ 100% مع اختلاف مدة التعقيم، كما لوحظ من تتابع الجدول ذاته ان زيادة التركيز الى 4 % من NaOCl وعند المدد (10، 15) دقيقة NaOCl قد أدى الى تأخير أو عدم أنبات البذور فضلاً عن ظهور نبيتات صغيرة جداً بيضاء اللون وخالية من الكلوروفيل، مقارنة بالتركيز 2 % من NaOCl وعند المدة 15 الذي أعطى أقل متوسط في التلوث بلغ 0.0 % دون التأثير على حيوية أنبات البذور، أن تأثير هايپوكلورات الصوديوم وعمله كمادة معقمة للأنسجة النباتية يعود الى أن حامض Hypoclorous (HOCl) من المواد المؤكسدة القوية ذات الكفاءة العالية في عملية التعقيم السطحي للبذور، وذلك لسرعة نفاذيته عبر الأغشية الخلوية وقدرته في التخلص من أغلب الأحياء المجهرية التي تنافس الجزء النباتي على المواد الغذائية، أو إفراز المواد السامة التي من الممكن أن تؤثر في الجزء المزروع وتسبب فشل في عملية زراعة الأنسجة خارج الجسم الحي (محمد ومبشر، 1990)، اتفقت هذه الدراسة مع ما توصل اليه عدد من الباحثين الذين وجدوا أن استعمال تركيز 2 % من هايپوكلورات الصوديوم لمدة 15 دقيقة أعطى أقل نسبة تلوث من بينهم Wijaya وآخرون (2019) لتعقيم بذور نبات النعناع الفلفلي *Mentha piperita* وطه (2020) عند تعقيم بذور لنبات البردقوش *Origanum Vulgare* والفتلاوي (2023) عند تعقيم بذور نبات الحلبة *Trigonella Foenum-graecum*.

جدول (2) تأثير تراكيز هاييوكلورات الصوديوم والمدد في النسبة المئوية لتلوث بذور للنعناع الفلفلي بعد 14 يوم الزراعة على وسط MS.

متوسط الزمن	تركيز هاييوكلورات الصوديوم %				الزمن (دقيقة)
	4	2	1	0	
57.50	10.00	50.00	70.00	100	5
45	00.00	30.00	50.00	100	10
30	00.00	00.00	20.00	100	15
5.46	10.92				L.S.D _(0.05)
	3.33	26.67	46.67	100	المتوسط
	6.31				L.S.D _(0.05)



شكل (9) يبين إنبات بذور النعناع الفلفلي.

4-2- تأثير تراكيز BA و NAA في نشوء الزروعات.

تشير النتائج الواردة في جدول 3 والشكل 10 لتأثير منظّمات النمو في نشوء الزروعات، إذ كان تأثير BA واضح في زيادة نسبة الاستجابة إذا تفوق التركيز 1 ملغم لتر⁻¹ معنوياً على بقية التراكيز وأعطى أعلى متوسط في الاستجابة بلغ 67.5%، أما عند زيادة تركيز BA فانه سبب تناقص في معدل نسبة الاستجابة وهذا ما حصل عند التركيز 1.5 ملغم لتر⁻¹ والتي بلغت 60.20% بينما حققت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 30%.

كما أظهرت نتائج الجدول ذاته تفوق NAA عند التركيز 0.1 ملغم لتر⁻¹ معنوياً في تحقيق أعلى متوسط بلغ 58.34% قيسياً بمعاملة المقارنة التي حققت اقل متوسط بلغ 46.8%.

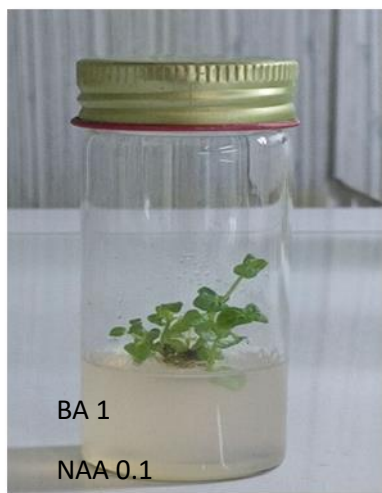
أما بالنسبة لتأثير التداخل بين تراكيز الاوكسين السايتوكانيبين في نسبة الاستجابة فقد حقق التداخل عند التركيز 1 ملغم لتر⁻¹ من BA مع التركيز 0.1 ملغم لتر⁻¹ من NAA أعلى متوسط في الاستجابة بلغ 80% في حين حققت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 20%،

قد يعود السبب في تفوق معاملة BA في نسبة الاستجابة للنموات الخضرية إلى الفعل التحفيزي لمنظم النمو BA على حث خلايا على الانقسام وزيادة النمو (Hairuddin وآخرون، 2023). بالإضافة الى ان السايتوكانيينات تساعد في حصول الانقسام الغير مباشر ثم انقسام الخلية وتحفيز البراعم الخضرية من الانسجة المرستيمية وكذلك بناء الحامض الرايبوزي RNA و DNA والانزيمات والبروتينات (الخفاجي، 2014).

اتفقت هذه النتائج مع ما توصل اليه Husain و Jawad (2019) عند اكثار نبات اكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* ، والشمري (2022) عند اكثار نبات النعناع الفلفلي *Mentha piperita*، ونصر الله (2023) في دراسته على نبات اكليل الجبل في تضاعف الافرع الخضرية.

الجدول (3) تأثير تراكيز BA و NAA في النسبة المئويةية الجزء النباتي لمرحلة النشوء (%) بعد اربعة اسابيع من الزراعة على وسط MS للنوع الفلفلي.

تركيز BA (ملغم لتر ⁻¹)	تركيز NAA (ملغم لتر ⁻¹)		متوسط BA (ملغم لتر ⁻¹)
	0.1	0.0	
30	40	20	0
67.50	80	55	1
60.20	55	65	1.5
10.30	14.56		L.S.D _(0.05)
	58.34	46.80	متوسط NAA
	8.41		L.S.D _(0.05)



الشكل (10) تأثير تراكيز BA و NAA في نشوء نبات النوع الفلفلي.

3-4- تأثير تراكيز BA و Kin في عدد الأفرع الخضرية.

يلاحظ من الجدول 4 والشكل 11 بأن هناك فروق معنوية حيث تفوق BA معنوياً بالتركيز 2 ملغم لتر⁻¹ بإعطائه أعلى متوسط لعدد الأفرع بلغ 34.02 فرع نبات⁻¹ في حين كان أقل متوسط عند معاملة المقارنة بلغ 11.27 فرع نبات⁻¹.

كما أشار الجدول ذاته الى وجود فروق معنوية في عدد الافرع الخضرية حيث تفوق Kin عند التركيز 1 ملغم لتر⁻¹ معنوياً الذي أعطى أعلى متوسط بلغ 25.10 فرع نبات⁻¹ مقارنة بمعاملة المقارنة التي أعطت أقل متوسط بلغ 17.44 فرع نبات⁻¹.

اما عن تأثير التداخل بين تراكيز BA و Kin في عدد الافرع الخضرية فيلاحظ من الجدول ذاته وجود فروق معنوية إذا تفوق التداخل بين التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ من BA مع تركيز 1 ملغم لتر⁻¹ من Kin في تحقيق أعلى متوسط لعدد الأفرع بلغ 38.30 فرع نبات⁻¹، بينما حققت المقارنة لكلا المنظمين أقل متوسط بلغ 6.30 فرع نبات⁻¹.

جدول (4) تأثير تراكيز BA و Kin في عدد الافرع الخضرية (فرع نبات⁻¹) للنعناع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط BA	Kin تركيز (ملغم لتر ⁻¹)				BA تركيز (ملغم لتر ⁻¹)
	1.5	1.0	0.5	0.0	
11.27	15.35	12.66	10.75	6.30	0
17.55	18.60	20.75	16.50	14.37	1
34.02	36.05	38.30	33.14	28.60	2
24.12	25.16	28.70	22.14	20.50	3
0.86	1.73				L.S.D (0.05)
	23.79	25.10	20.63	17.44	متوسط Kin
	0.86				L.S.D (0.05)

4-4 تأثير تراكيز BA و Kin في ارتفاع الأفرع الخضرية.

توضح نتائج الجدول 5 بأن هناك فروق معنوية في ارتفاع الأفرع لنبات النعناع الفلفلي اذ تفوق BA عند التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ في إعطاء أعلى متوسط في ارتفاع الأفرع الخضرية بلغ 9.05 سم، بينما أعطت معاملة المقارنة أقل متوسط بلغ 3.26 سم، اما عن تأثير تراكيز Kin المضافة الى الوسط الغذائي في ارتفاع الأفرع الاخضرية فقد تبين ان هناك فروق معنوية حيث تفوق التركيز 1 ملغم لتر⁻¹ في إعطاء أعلى متوسط بلغ 7.72 سم في حين حققت معاملة المقارنة أقل متوسط بلغ 4.89 سم،

اما عن تأثير التداخل ما بين BA و Kin في ارتفاع الأفرع فيلاحظ من الجدول ذاته وجود فروق معنويه فقد حقق التداخل بين التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ من BA مع التركيز 1 ملغم لتر⁻¹ من Kin أعلى متوسط ارتفاع الأفرع بلغ 12.30 سم، اما أقل متوسط بلغ 2.87 سم عند الوسط الخالي من منظمات النمو.

جدول (5) تأثير تراكيز BA و Kin في ارتفاع الأفرع الخضرية (سم) للنعناع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط BA	Kin تركيز (ملغم لتر ⁻¹)				BA تركيز (ملغم لتر ⁻¹)
	1.5	1.0	0.5	0.0	
3.26	3.40	3.55	3.20	2.87	0
5.12	4.88	5.65	5.37	4.60	1
9.05	9.50	12.30	8.75	5.67	2
7.32	6.44	9.40	7.00	6.44	3
0.75	1.50				L.S.D (0.05)
	6.05	7.72	6.08	4.89	متوسط Kin
	0.75				L.S.D (0.05)

5-4 تأثير تراكيز BA و Kin في الوزن الطري.

تشير بيانات الجدول 6 الى وجود فروق معنوية عند إضافة BA بتركيزه المختلفة الى الوسط الغذائي اذ تفوق التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ BA معنويا في تسجيل اعلى متوسط للوزن طري بلغ 17.84 ملغم في حين كان اقل متوسط عند معاملة المقارنة بلغ 5.51 ملغم.

كما اشارت النتائج ذاتها الى وجود فروق معنوية عند إضافة Kin الى الوسط الغذائي في الوزن الطري حيث تفوق التركيز 1 ملغم لتر⁻¹ معنويا في تحقيق اعلى متوسط بلغ 13.19 ملغم مقارنة مع معاملة المقارنة التي حققت اقل متوسط بلغ 8.70 ملغم.

اما بالنسبة لتأثير التداخل بين تراكيز BA و Kin فيلاحظ من نتائج الجدول ذاته وجود فروق معنوية إذا تفوق الـ BA معنويا عند التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ وبالتداخل مع Kin عند التركيز 1 ملغم لتر⁻¹ في تحقيق اعلى متوسط بلغ 19.85 ملغم بينما حققت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 3.28 ملغم.

جدول (6) تأثير تراكيز BA و Kin في الوزن الطري (ملغم) للنعناع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

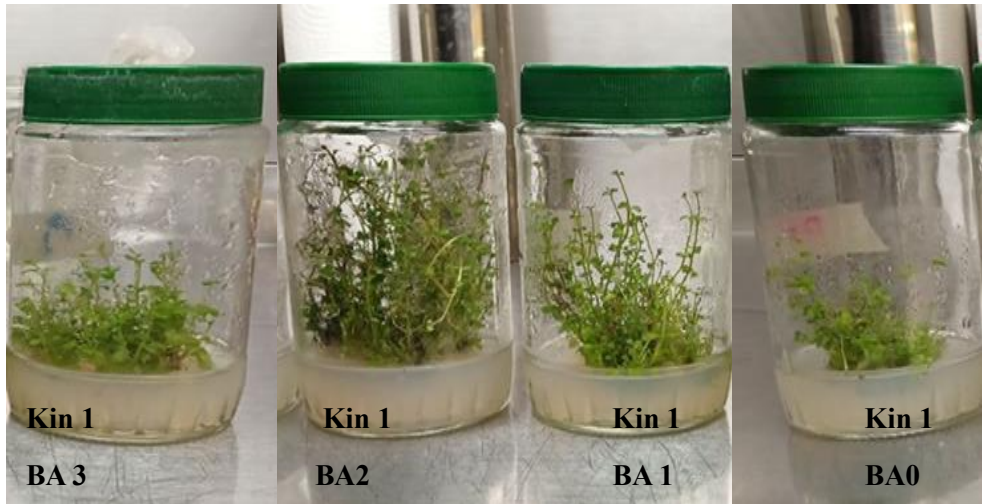
متوسط BA	Kin تركيز (ملغم لتر ⁻¹)				BA تركيز (ملغم لتر ⁻¹)
	1.5	1.0	0.5	0.0	
5.51	7.45	6.01	5.30	3.28	0
8.77	9.35	10.38	8.25	7.10	1
17.84	18.72	19.85	18.52	14.28	2
13.41	14.89	16.53	12.09	10.15	3
0.65	1.34				L.S.D (0.05)
	12.60	13.19	11.04	8.70	موسط Kin
	0.65				L.S.D (0.05)

6-4 تأثير تراكييز BA و Kin في الوزن الجاف.

يبين الجدول 7 وجود فروق معنوية في تأثير تراكييز مختلفة من BA و Kin في الوزن الجاف لنبات النعناع الفلفلي أذ تفوق BA بتركيز 2 ملغم لتر⁻¹ معنوياً بإعطائه أعلى متوسط للوزن الجاف بلغ 3.85 ملغم والذي لم يختلف معنوياً عن التركيز 3 ملغم لتر⁻¹ والذي بلغ 3.23 ملغم، في حين كان أقل متوسط عند معاملة المقارنة بلغ 1.62 ملغم. كما أظهرت نتائج الجدول ذاته وجود فروق معنوية عند إضافة Kin بتركيز مختلفة للوسط الغذائي MS في الوزن الجاف حيث تفوق التركيز 1 ملغم لتر⁻¹ منه معنوياً في تحقيق أعلى متوسط للوزن الجاف بلغ 3.15 ملغم والذي لم يختلف معنوياً عن التركيز 1.5 ملغم لتر⁻¹ بلغ 3.10 ملغم في حين بلغ أقل متوسط للوزن الجاف عند معاملة المقارنة بلغ 2.33 ملغم، أما بالنسبة لتأثير التداخل بين التراكييز BA و Kin فيلاحظ من نتائج الجدول الى وجود فروق معنوية اذا تفوق BA معنوياً عند التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ وبالتداخل مع Kin عند التركيز 1 ملغم لتر⁻¹ في تحقيق أعلى متوسط للوزن الجاف بلغ 4.17 ملغم بينما حققت معاملة المقارنة أقل متوسط بلغ 1.10 ملغم.

جدول (7) تأثير تراكييز BA و Kin في الوزن الجاف (ملغم) للنعناع الفلفلي بعد أربعة أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط BA	Kin تركيز (ملغم لتر ⁻¹)				BA تركيز (ملغم لتر ⁻¹)
	1.5	1.0	0.5	0.0	
1.62	2.35	1.74	1.28	1.10	0
2.54	2.71	3.01	2.30	2.05	1
3.85	3.95	4.17	3.82	3.46	2
3.23	3.38	3.66	3.15	2.72	3
0.43	0.85				L.S.D (0.05)
	3.10	3.15	2.64	2.33	متوسط Kin
	0.43				L.S.D (0.05)



شكل (11) تأثير تراكيز Kin و BA في مرحلة التضاعف لنبات النعناع الفلفلي

استناداً لما تم عرضه من نتائج الجداول (3-7) بشكل عام تفوق منظم النمو BA في الصفات المدروسة والتي شملت عدد وارتفاع الأفرع الخضرية والوزن الطري والجاف لنبات النعناع الفلفلي مقارنة بمعاملة المقارنة وقد يعزى السبب في ذلك إلى الفعل التحفيزي لمنظم النمو BA في حث الخلايا على الانقسام والتطور وتمايز الأنسجة كذلك إن إضافة التراكيز الملائمة من السايتوكانيات لتمايز الخلايا من المتطلبات الأساسية لتنظيم عمل المرستيم القمي ونمو الأوراق والتكوين الشكلي للنبات بالتالي يؤثر على صفات النمو الخضري كما إن السايتوكانيات لها دوراً مهماً ورئيساً في أيض العناصر المغذية والتمثيل الكاربوني وانقسام الخلايا وتطور الكلوروبلاست مما ينعكس إيجابياً على زيادة الوزنين الطري والجاف للنموات الخضرية المتميزة (الخفاجي، 2014 و Lee وآخرون، 2022).

وقد أيد ذلك (Baday، 2020) ان السايتوكانيات تلعب دوراً هاماً في انقسام الخلايا النباتية والقضاء على السيادة القمية وتكوين الأفرع الخضرية بالإضافة إلى إن السايتوكانيات تعمل على تخليق بروتينات الـ RNA الذي يحفز نشاط إنزيمات الخلية المسؤولة عن الانقسام والاستطالة وزيادة نفاذية جدران الخلية.

أو قد يعزى سبب تفوق الصفات المدروسة الى دور الساييتوكانيات في عملية التمثيل الضوئي كونها مركبات مستقرة لا تتحلل بسهولة اذ تعمل على تكشف واتساع الاوعية الناقلة لكل من الخشب واللحاء ومنع تحلل الكلوروفيل وتحفيز انقسام الخلايا وزيادة انتاج الاحماض النووية وإلى استقطاب المواد الغذائية الذائبة والصلبة، تلعب منظمات النمو دوراً هاماً في عملية النمو والتطور للأنسجة النباتية حيث تعمل على زيادة الكتلة الحيوية مما انعكس إيجابياً على الوزن الطري والجاف لها (Al-Amery و Al-Jubori، 2020).

تزداد فعالية الساييتوكانيات عند زيادة الاواصر المزدوجة على السلسلة الجانبية لها إذ من المعروف أن BA يرتبط بسلسلته الجانبية ثلاث أواصر مزدوجة مما يجعله يتفوق في نشاطه على باقي الساييتوكانيات بخلاف Kin الذي يحتوي على أصرتين وكذلك احتوائها على حلقة Benzyl ولهذا السبب كان دور BA أكبر في تضاعف الأفرع الخضرية مقارنة مع Kin (Khan وآخرون، 2015).

تؤدي المستويات العالية من الساييتوكانيين الى انخفاض عدد النموات الخضرية المتميزة وارتفاع الوزنين الطري والجاف قد يعزى السبب في ذلك إلى التراكيز العالية من الـ BA قد تؤدي إلى تثبيط نمو الخلايا أو توقفها عن الانقسام والاستطالة أو بسبب الخلل الهرموني الذي يؤدي الى انخفاض نمو الأجزاء النباتية وهذا الانخفاض لا يعني بالضرورة موت الخلايا لكنه عادة ما يكون أعاقا النمو (Jha وآخرون، 2020).

ان هذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه Roy وآخرون (2020) عند أكثر نبات النعناع الفلفلي *Mantha piperita* L. خارج الجسم الحي و السعيدى (2022) عند أكثر نبات اكليل الجبل *Rosmarinus officinalis*، و El-Naggar و Osman (2024) في دراسته على نبات النعناع.

4-7 تأثير نوع الإضاءة و تراكيز الفينيل الانين في عدد الافرع الخضرية.

بينت نتائج الجدول 8 وجود فروقاً معنوية في عدد الافرع الخضرية للنعناع الفلفلي باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح نوع LED الملونة في تحقيق اعلى متوسط بلغ 51.22 فرع نبات¹، في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل متوسط بلغ 31.17 فرع نبات¹.

كما كان لتراكيز الفينيل الانين المضافة للوسط الغذائي تأثير معنوي في معدل الصفة ذاتها إذ تفوق التركيز 4 ملغم لتر¹ في تسجيل اعلى متوسط بلغ 50.25 فرع نبات¹، في حين حققت معاملة المقارنة اقل متوسط في عدد الأوراق بلغ 30.41 فرع نبات¹.

يلاحظ من الجدول ذاته هناك تأثير معنوي عند التداخل بين نوع الاضاءة وتراكيز الفينيل الانين في صفة عدد الافرع فقد حققت مصابيح نوع LED الملونة وبالتداخل مع التركيز 4 ملغم لتر¹ اعلى متوسط بلغ 65.67 فرع نبات¹ في حين سجلت مصابيح الفلورسنت عند معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 22.08 فرع نبات¹.

جدول (8) تأثير نوع الإضاءة والفينيل الانين في عدد الافرع الخضرية (فرع نبات¹) لنعناع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الإضاءة	تراكيز الفينيل الانين (ملغم لتر ¹)				نوع الإضاءة
	4	2	1	0	
31.17	39.45	35.16	28.00	22.08	الفلورسنت
39.32	45.63	42.22	38.28	31.15	LED الابيض
51.22	65.67	55.93	45.27	38.01	LED الملون
0.24	0.49				L.S.D _(0.05)
	50.25	44.42	37.18	30.41	متوسط تراكيز الفينيل الانين
	0.28				L.S.D _(0.05)

8-4 - تأثير نوع الإضاءة و تراكيز الفينيل الانين في ارتفاع الافرع الخضرية.

اشارت نتائج الجدول 9 وجود فروق معنوية في ارتفاع الافرع الخضرية للنوع الفلفلي باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق اعلى متوسط بلغ 12.69 سم، في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل متوسط بلغ 5.73 سم. كما كان لتراكيز الفينيل الانين المضافة للوسط الغذائي تأثير معنوي في الصفة ذاتها حيث تفوق التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ في تسجيل اعلى متوسط بلغ 9.69 سم ثم قلت الاستجابة عند التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ الذي بلغ 9.45 سم، في حين حققت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 6.84 سم.

يلاحظ من الجدول ذاته هناك تأثير معنوي عند التداخل بين نوع الاضاءة وتراكيز الفينيل الانين في صفة ارتفاع الافرع فقد حققت مصابيح LED الملونة وبالتداخل مع التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ اعلى متوسط بلغ 13.95 سم في حين سجلت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 4.17 سم.

جدول (9) تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في ارتفاع الافرع الخضرية (سم) للنوع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الاضاءة	تراكيز الفينيل الانين (ملغم لتر ⁻¹)				نوع الاضاءة
	4	2	1	0	
5.73	7.37	6.16	5.22	4.17	الفلورسنت
7.41	8.11	8.23	7.01	6.28	LED الابيض
12.69	13.60	13.95	13.15	10.07	LED الملون
0.01	0.03				L.S.D _(0.05)
	9.69	9.45	8.46	6.84	متوسط تراكيز الفينيل الانين
	0.02				L.S.D _(0.05)

4-9- تأثير نوع الإضاءة و تراكيز الفينيل الانين في الوزن الطري.

اوضحت نتائج الجدول (10) وجود فروق معنوية في الوزن الطري للنعناع الفلفلي باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق اعلى متوسط بلغ 23.23 ملغم في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل متوسط بلغ 14.18 ملغم.

كما كان لتراكيز الفينيل الانين المضافة للوسط الغذائي تأثير معنوي في الصفة ذاتها إذ تفوق التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ في تسجيل اعلى متوسط بلغ 20.78 ملغم التي لم تختلف معنوياً عن التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ الذي بلغ 20.73 ملغم في حين حققت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 15.14 ملغم.

يلاحظ من الجدول ذاته هناك تأثير معنوي عند التداخل بين نوع الاضاءة وتراكيز الفينيل الانين في صفة الوزن الطري إذا حققت مصابيح LED الملون وبالتداخل مع التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ اعلى متوسط بلغ 26.65 ملغم في حين سجلت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 10.85 ملغم.

جدول (10) تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في الوزن الطري (ملغم) للنعناع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الاضاءة	تراكيز الفينيل الانين (ملغم لتر ⁻¹)				نوع الاضاءة
	4	2	1	0	
14.18	16.22	15.08	14.54	10.85	الفلورسنت
18.91	20.32	20.61	19.14	15.57	LED الابيض
23.23	25.64	26.65	21.64	19.00	LED الملون
0.24	0.49				L.S.D _(0.05)
	20.73	20.78	18.44	15.14	متوسط تراكيز الفينيل الانين
	0.28				L.S.D _(0.05)

4- 10-تأثير نوع الإضاءة وتركيز الفينيل الانين في الوزن الجاف.

اوضحت نتائج الجدول 11 وجود تفوق معنوي في الوزن الجاف للنعناع الفلفلي باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق اعلى متوسط بلغ 7.48 ملغم في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل متوسط بلغ 4.90 ملغم.

كما كان لتراكيز الفينيل الانين المضافة للوسط الغذائي تأثير معنوي في الصفة ذاتها إذ تفوق التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ في تسجيل اعلى متوسط بلغ 7.06 ملغم التي لم تختلف معنوياً عن التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ الذي بلغ 6.87 ملغم في حين حقق التركيز 0.0 ملغم لتر⁻¹ اقل متوسط بلغ 4.81 ملغم.

يلاحظ من الجدول ذاته هناك تأثير معنوي عند التداخل بين نوع الاضاءة وتركيز الفينيل الانين في صفة الوزن الجاف فقد حققت مصابيح LED الملونة وبالتداخل مع التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ اعلى متوسط بلغ 8.83 ملغم في حين سجلت معاملة المقارنة مصابيح الفلورسنت مع التركيز 0.0 ملغم لتر⁻¹ من الفينيل الانين اقل متوسط بلغ 3.62 ملغم.

جدول (11) تأثير نوع الإضاءة وتركيز الفينيل الانين في الوزن الجاف (ملغم) للنعناع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

نوع الإضاءة متوسط	تركيز الفينيل الانين (ملغم لتر ⁻¹)				نوع الاضاءة
	4	2	1	0	
4.90	5.92	5.24	4.83	3.62	الفلورسنت
6.27	6.74	7.12	6.38	4.82	LED الابيض
7.48	7.96	8.83	7.13	6.01	LED الملون
0.01	0.03				L.S.D _(0.05)
	6.87	7.06	6.11	4.81	متوسط تراكيز الفينيل الانين
	0.02				L.S.D _(0.05)

4- 11- تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز الكلوروفيل الكلي.

تشير النتائج في الجدول 12 الى وجود فرق معنوي في تركيز كلوروفيل الكلي المقدر للنوع الفلبي باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق اعلى متوسط بلغ 4.40 ملغم غم⁻¹، في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل متوسط بلغ 3.10 ملغم غم⁻¹.

كما كان لتراكيز الفينيل الانين المضافة للوسط الغذائي تأثير معنوي في الصفة ذاتها إذ تفوق التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ في تسجيل اعلى متوسط بلغ 4.41 ملغم غم⁻¹ التي لم تختلف معنوياً عن التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ الذي بلغ 4.30 في حين حققت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 2.87 ملغم غم⁻¹.

يلاحظ من الجدول ذاته هناك تأثير معنوي عند التداخل بين نوع الاضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز الكلوروفيل إذ سجلت مصابيح LED الملونة بالتداخل مع التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ اعلى متوسط بلغ 4.96 ملغم غم⁻¹ في حين سجلت معاملة المقارنة للفينيل الانين مع مصابيح الفلورسنت اقل متوسط بلغ 2.30 ملغم غم⁻¹.

جدول (12) تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز الكلوروفيل الكلي (ملغم غم⁻¹) للنوع الفلبي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الإضاءة	تراكيز الفينيل الانين (ملغم لتر ⁻¹)				نوع الإضاءة
	4	2	1	0	
3.10	3.87	3.45	2.77	2.30	الفلورسنت
3.91	4.77	4.50	3.98	2.40	LED الابيض
4.40	4.60	4.96	4.15	3.90	LED الملون
0.04	0.09				L.S.D _(0.05)
	4.41	4.30	3.63	2.87	متوسط تراكيز الفينيل الانين
	0.05				L.S.D _(0.05)

4-12 - تأثير نوع الإضاءة و تراكيز الفينيل الانين في تركيز الكربوهيدرات.

تشير بيانات الجدول 13 وجود فروق معنوية في تركيز الكربوهيدرات الكلية المقدرة للنوع الفلفلي باختلاف نوع الإضاءة اذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق اعلى متوسط بلغ 5.34 ملغم غم¹ في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل متوسط بلغ 3.47 ملغم غم¹.

كما كان لتراكيز الفينيل الانين المضافة للوسط الغذائي تأثير معنوي في الصفة ذاتها إذ تفوق التركيز 4 ملغم لتر¹ في تسجيل اعطى متوسط بلغ 5.31 ملغم غم¹ والذي لم يختلف معنوياً عن التركيز 2 ملغم لتر¹ الذي بلغ 5.25 ملغم غم¹ في حين حققت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 3.02 ملغم غم¹.

يلاحظ من الجدول ذاته هناك تأثير معنوي عند التداخل بين نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز الكربوهيدرات الكلية فقد حققت مصابيح LED الملون وبالتداخل مع التركيز 2 ملغم لتر¹ اعلى متوسط بلغ 6.80 ملغم غم¹ في حين سجلت مصابيح الفلورسنت معاملة المقارنة للفينيل الانين اقل متوسط بلغ 2.68 ملغم غم¹.

جدول (13) تأثير نوع الإضاءة والفينيل الانين في تركيز الكربوهيدرات الكلية (ملغم غم¹) للنوع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الإضاءة	تراكيز الفينيل الانين (ملغم لتر ¹)				نوع الإضاءة
	4	2	1	0	
3.47	4.33	3.71	3.15	2.68	الفلورسنت
4.34	5.37	5.25	3.87	2.88	LED الابيض
5.34	6.24	6.80	4.83	3.49	LED الملون
0.11	0.24				L.S.D _(0.05)
	5.31	5.25	3.95	3.02	متوسط تراكيز الفينيل الانين
	0.13				L.S.D _(0.05)

4-13- تأثير نوع الإضاءة و تراكيز الفينيل الانين في البروتينات.

تشير بيانات الجدول 14 وجود فروق معنوية في نسبة البروتينات المقدرة في للنوع الفلفلي باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق اعلى متوسط بلغ 16.02% في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل متوسط بلغ 13.07%.

كما كان لتراكيز الفينيل الانين المضافة للوسط الغذائي تأثير معنوي في الصفة ذاتها إذ تفوق التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ في تحقيق اعلى متوسط بلغ 16.38% التي لم يختلف معنوياً عن التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ الذي بلغ 16.32% في حين حققت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 11.60%.

يلاحظ من الجدول ذاته هناك تأثير معنوي عند التداخل بين نوع الاضاءة وتراكيز الفينيل الانين في نسبة البروتينات فقد حققت مصابيح LED الملونة وبالتداخل مع التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ اعلى متوسط بلغ 18.22% في حين سجلت مصابيح الفلورسنت مع معاملة المقارنة للفينيل الانين اقل متوسط بلغ 11.15%.

جدول (14) تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في البروتينات (%) للنوع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الإضاءة	تراكيز الفينيل الانين (ملغم لتر ⁻¹)				نوع الاضاءة
	4	2	1	0	
13.07	14.82	14.15	12.14	11.15	الفلورسنت
14.71	16.17	16.78	14.24	11.63	LED الابيض
16.02	17.98	18.22	15.86	12.03	LED الملون
0.08	0.17				L.S.D _(0.05)
	16.32	16.38	14.08	11.60	متوسط تراكيز الفينيل الانين
	0.09				L.S.D _(0.05)

14-4- تأثير نوع الإضاءة و تراكيز الفينيل الانين في فعالية إنزيم البيروكسيديز.

تشير بيانات الجدول 15 هناك فروق معنوية في تركيز انزيم البيروكسيديز المقدره للنوع الفلبي باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق اعلى متوسط بلغ 2.00 وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻ في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل متوسط بلغ 1.75 وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻.

تبين في الجدول ذاته فروقاً معنوية في فعالية انزيم البيروكسيديز بزيادة تراكيز الفينيل الانين المضافة الى الوسط الغذائي 1 و 2 و 4 ملغم لتر¹⁻ بلغت 1.80 و 1.99 و 2.08 وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻ على التتابع، في حين حققت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 1.64 وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻. يلاحظ من الجدول ذاته هناك تأثير معنوي عند التداخل بين نوع الاضاءة وتراكيز الفينيل الانين في فعالية أنزيم البيروكسيديز فقد حققت مصابيح LED الملونة وبالتداخل مع التركيز 4 ملغم لتر¹⁻ من الفينيل الانين اعلى متوسط بلغ 2.17 وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻ في حين سجلت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 1.52 وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻.

جدول (15) تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في فعالية إنزيم البيروكسيديز (وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻) للنوع الفلبي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الإضاءة	تراكيز الفينيل الانين (ملغم لتر ¹⁻)				نوع الإضاءة
	4	2	1	0	
1.75	1.93	1.86	1.68	1.52	الفلورسنت
1.90	2.15	1.96	1.83	1.64	LED الابيض
2.00	2.17	2.15	1.90	1.77	LED الملون
0.01	0.03				L.S.D _(0.05)
	2.08	1.99	1.80	1.64	متوسط تراكيز الفينيل الانين
	0.02				L.S.D _(0.05)

4-15- تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في إنزيم الكتليز.

تشير بيانات الجدول 16 هناك فروق معنوية في تركيز إنزيم الكتليز المقدرة للنعناع الفلفلي باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح الـ LED الملونة في تحقيق اعلى متوسط بلغ 3.29 وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻ في حين كان اقل متوسط في معاملة المقارنة مصابيح الفلورسنت بلغت 2.63 وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻.

كما أشارت بيانات الجدول ذاته هناك فروق معنوية في فعالية إنزيم الكتليز بزيادة تراكيز الفينيل الانين المضافة الى الوسط الغذائي 1 و 2 و 4 ملغم لتر¹⁻ بلغت 2.68 و 3.01 و 3.60 وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻ على التوالي، في حين حققت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 2.43 وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻.

يلاحظ من الجدول ذاته هناك تأثير معنوي عند التداخل بين نوع الاضاءة وتراكيز الفينيل الانين في إنزيم الكتليز فقد حققت مصابيح LED الملونة مع التركيز 4 ملغم لتر¹⁻ من الفينيل الانين اعلى متوسط بلغ 3.88 وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻ في حين سجلت مصابيح الفلورسنت مع معاملة المقارنة للفينيل الانين اقل متوسط بلغ 2.17 وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻.

جدول (16) تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في إنزيم الكتليز (وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻) للنعناع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

نوع الإضاءة	تراكيز الفينيل الانين (ملغم لتر ¹⁻)				متوسط تراكيز الفينيل الانين
	4	2	1	0	
الفلورسنت	3.15	2.65	2.44	2.17	2.63
LED الابيض	3.76	2.79	2.75	2.27	2.87
LED الملون	3.88	3.60	2.84	2.85	3.29
L.S.D _(0.05)	0.03				0.01
متوسط تراكيز الفينيل الانين	3.60	3.01	2.68	2.43	
L.S.D _(0.05)	0.02				

4-16- تأثير نوع الإضاءة و تراكيز الفينيل الانين في تركيز البرولين.

تشير بيانات الجدول 17 هناك فروق معنوية في تركيز البرولين المقدرة للنوع الفلفلي باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق اعلى متوسط بلغ 2.85 مايكرو غرام غم¹ في حين كان اقل متوسط في معاملة المقارنة مصابيح الفلورسنت بلغت 1.76 مايكرو غرام غم¹.

كما أشارت بيانات الجدول ذاته هناك فروق معنوية في تركيز البرولين بزيادة تراكيز الفينيل الانين المضافة الى الوسط الغذائي 1 و 2 و 4 ملغم لتر¹ أدى الى زيادة تركيز البرولين بلغ 1.92 و 2.59 و 3.4 مايكرو غرام غم¹ على التتابع في حين حققت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 1.32 مايكرو غرام غم¹.

يلاحظ من الجدول ذاته هناك تأثير معنوي عند التداخل بين نوع الاضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز البرولين فقد حققت مصابيح LED الملونة وبالتداخل مع التركيز 4 ملغم لتر¹ من الفينيل الانين اعلى متوسط بلغ 3.77 مايكرو غرام غم¹ في حين سجلت مصابيح الفلورسنت مع معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 1.16 مايكرو غرام غم¹.

جدول (17) تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز البرولين (مايكرو غرام غم¹) للنوع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الإضاءة	تراكيز الفينيل الانين (ملغم لتر ¹)				نوع الإضاءة
	4	2	1	0	
1.76	2.96	1.66	1.27	1.16	الفلورسنت
2.34	3.57	2.84	1.75	1.18	LED الابيض
2.85	3.77	3.26	2.75	1.62	LED الملون
0.01	0.03				L.S.D _(0.05)
	3.43	2.59	1.92	1.32	متوسط تراكيز الفينيل الانين
	0.02				L.S.D _(0.05)

17-4 - تأثير نوع الإضاءة و تراكيز الفينيل الانين في تركيز مركب Menthol.

تشير بيانات الجدول 18 هناك فروق معنوية في تراكيز مركب Menthol للنوع الفلفلي باختلاف نوع الإضاءة اذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق اعلى متوسط بلغ 37.57 مايكرو غرام مل⁻¹ في حين كان اقل متوسط في معاملة المقارنة لمصابيح الفلورسنت بلغت 25.76 مايكرو غرام مل⁻¹.

كما أشارت بيانات الجدول ذاته هناك فروق معنوية في تركيز مركب Menthol بزيادة تراكيز الفينيل الانين المضافة الى الوسط الغذائي إذ تفوق التركيز 1 و 2 و 4 ملغم لتر⁻¹ والذي بلغ 31.95 و 34.44 و 34.67 مايكرو غرام مل⁻¹، في حين حققت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 27.19 مايكرو غرام مل⁻¹.

يلاحظ من الجدول ذاته هناك تأثير معنوي عند التداخل بين نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في مركب Menthol فقد حققت مصابيح LED الملونة وبالتداخل مع التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ من الفينيل الانين اعلى متوسط بلغ 39.01 مايكرو غرام مل⁻¹ في حين سجلت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 18.63 مايكرو غرام مل⁻¹.

جدول (18) تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز مركب Menthol (مايكرو غم مل⁻¹) للنوع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الإضاءة	تراكيز الفينيل الانين (ملغم لتر ⁻¹)				نوع الإضاءة
	4	2	1	0	
25.76	29.35	28.84	26.21	18.63	الفلورسنت
32.86	35.65	35.86	31.62	28.32	LED الابيض
37.57	39.01	38.62	38.01	34.62	LED الملون
0.08	0.16				L.S.D _(0.05)
	34.67	34.44	31.95	27.19	متوسط تراكيز الفينيل الانين
	0.09				L.S.D _(0.05)

18-4 تأثير نوع الإضاءة و تراكيز الفينيل الانين في تركيز مركب 2, Menthofuran

تشير بيانات الجدول 19 هناك فروق معنوية في تركيز مركب 2, Menthofuran للنوع الفلفلي باختلاف نوع الإضاءة اذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق أعلى متوسط بلغ 31.26 مايكرو غرام مل⁻¹ في حين كان اقل متوسط في معاملة المقارنة لمصابيح الفلورسنت بلغت 21.19 مايكرو غرام مل⁻¹.

كما أشارت بيانات الجدول ذاته هناك فروق معنوية في تركيز مركب 2, Menthofuran بزيادة تراكيز الفينيل الانين المضافة الى الوسط الغذائي حيث تفوق التركيز 1 و 2 و 4 ملغم لتر⁻¹ بلغت 25.70 و 29.02 و 29.83 مايكرو غرام مل⁻¹ على التوالي في حين حققت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 22.21 مايكرو غرام مل⁻¹.

يلاحظ من الجدول ذاته هناك تأثير معنوي عند التداخل بين نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز مركب 2, Menthofuran فقد حققت مصابيح LED الملونة وبالتداخل مع التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ من الفينيل الانين أعلى متوسط بلغت 34.18 مايكرو غرام مل⁻¹ في حين سجلت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 16.34 مايكرو غرام مل⁻¹.

جدول (19) تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز مركب 2, Menthofuran (مايكرو غم مل⁻¹) للنوع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الإضاءة	تراكيز الفينيل الانين (ملغم لتر ⁻¹)				نوع الإضاءة
	4	2	1	0	
21.19	24.30	23.76	20.35	16.34	الفلورسنت
27.63	31.01	29.85	25.37	24.28	LED الابيض
31.26	34.18	33.45	31.37	26.02	LED الملون
0.11	0.24				L.S.D _(0.05)
	29.83	29.02	25.70	22.21	متوسط تراكيز الفينيل الانين
	0.13				L.S.D _(0.05)

19-4- تأثير نوع الإضاءة و تراكيز الفينيل الانين في تركيز مركب Menthy acetate.

تشير بيانات الجدول 20 هناك فروق معنوية في تركيز مركب Menthy acetate للنوع الفلفلي باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح الـ LED الملونة في تحقيق اعلى متوسط بلغ 29.73 مايكرو غرام مل⁻¹ في حين كان اقل متوسط في معاملة المقارنة مصابيح الفلورسنت بلغ 20.51 مايكرو غرام مل⁻¹ .

كما كان لتراكيز الفينيل الانين المضافة للوسط الغذائي تأثير معنوي في الصفة ذاتها إذ تفوق التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ في تسجيل اعلى متوسط بلغ 28.08 ميكرو غرام مل⁻¹ ثم قلت عند التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ الذي بلغ 27.07 مايكرو غرام مل⁻¹ في حين حققت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 20.63 مايكرو غرام مل⁻¹،

يلاحظ من الجدول ذاته هناك تأثير معنوي عند التداخل بين نوع الاضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز مركب Menthy acetate فقد حققت مصابيح LED الملونة وبالتداخل مع التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ من الفينيل الانين اعلى متوسط بلغ 33.71 مايكرو غرام مل⁻¹ في حين سجلت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 16.02 مايكرو غرام مل⁻¹.

جدول (20) تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز مركب Menthy acetate (مايكرو غم مل⁻¹) للنوع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي .MS

متوسط نوع الاضاءة	تراكيز الفينيل الانين (ملغم لتر ⁻¹)				نوع الإضاءة
	4	2	1	0	
20.51	23.34	22.61	20.07	16.02	الفلورسنت
24.77	26.85	27.91	24.29	20.03	LED الابيض
29.73	31.02	33.71	28.37	25.83	LED الملون
0.11	0.24				L.S.D _(0.05)
	27.07	28.08	24.24	20.63	متوسط تراكيز الفينيل الانين
	0.13				L.S.D _(0.05)

20-4 تأثير نوع الإضاءة و تراكيز الفينيل الانين في تركيز مركب Menthone.

تشير بيانات الجدول 21 هناك فروق معنوية في تركيز مركب Menthone للنعناع الفلفلي باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق اعلى متوسط بلغ 26.75 مايكرو غرام مل⁻¹ في حين كان اقل متوسط في معاملة المقارنة مصابيح الفلورسنت بلغت 18.90 مايكرو غرام مل⁻¹.

كما أشارت بيانات الجدول ذاته هناك فروق معنوية في تركيز مركب Menthone بزيادة تراكيز الفينيل الانين المضافة الى الوسط الغذائي حيث تفوق التركيز 1 و 2 و 4 ملغم لتر⁻¹ بلغ 22.67 و 24.02 و 25.25 مايكرو غرام مل⁻¹ على التوالي في حين حققت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 19.79 مايكرو غرام مل⁻¹.

يلاحظ من الجدول ذاته هناك تأثير معنوي عند التداخل بين نوع الاضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز مركب Menthone فقد حققت مصابيح الـ LED الملونة وبالتداخل مع التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ من الفينيل الانين اعلى متوسط بلغ 28.22 مايكرو غرام مل⁻¹ في حين سجلت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 14.15 مايكرو غرام مل⁻¹.

جدول (21) تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز مركب Menthone (مايكرو غم مل⁻¹) للنعناع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الاضاءة	تراكيز الفينيل الانين (ملغم لتر ⁻¹)				نوع الإضاءة
	4	2	1	0	
18.90	22.74	20.00	18.70	14.15	الفلورسنت
23.15	24.78	24.38	22.55	20.90	LED الابيض
26.75	28.22	27.69	26.77	24.32	LED الملون
2.49	4.90				L.S.D _(0.05)
	25.25	24.02	22.67	19.79	متوسط تراكيز الفينيل الانين
	2.83				L.S.D _(0.05)

4-21 تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز مركب 1,8 Cineol.

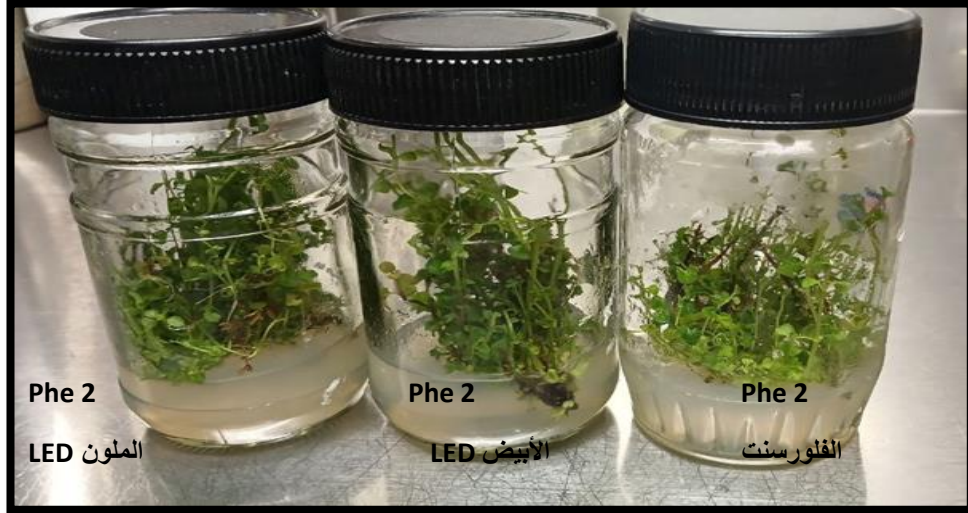
تشير بيانات الجدول 22 هناك فروق معنوية في تركيز مركب 1,8 Cineol للنعناع الفلفلي باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح الـ LED الملونة في تحقيق اعلى متوسط بلغ 28.53 مايكرو غرام مل⁻¹ في حين كان اقل متوسط في معاملة المقارنة مصابيح الفلورسنت بلغت 19.47 مايكرو غرام مل⁻¹.

كما كان لتراكيز الفينيل الانين المضافة للوسط الغذائي تأثير معنوي في الصفة ذاتها إذ تفوق التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ في تسجيل اعلى متوسط بلغ 27.02 مايكرو غرام مل⁻¹ في حين حققت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 20.69 مايكرو غرام مل⁻¹.

يلاحظ من الجدول ذاته هناك تأثير معنوي عند التداخل بين نوع الاضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز 1,8 Cineol فقد حققت مصابيح LED الملونة وبالتدخل مع التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ من الفينيل الانين اعلى متوسط بلغ 31.54 مايكرو غرام مل⁻¹ في حين سجلت مصابيح الفلورسنت مع معاملة المقارنة لتركيز الفينيل الانين اقل متوسط بلغ 14.02 مايكرو غرام مل⁻¹.

جدول (22) تأثير نوع الإضاءة وتراكيز الفينيل الانين في تركيز مركب 1,8 Cineol (مايكرو غم مل⁻¹) للنعناع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الاضاءة	تراكيز الفينيل الانين (ملغم لتر ⁻¹)				نوع الإضاءة
	4	2	1	0	
19.47	21.01	23.45	19.40	14.02	الفلورسنت
24.83	26.93	26.07	23.56	22.74	LED الابيض
28.53	28.22	31.54	29.02	25.32	LED الملون
0.12	0.26				L.S.D _(0.05)
	25.39	27.02	24.00	20.69	متوسط تراكيز الفينيل الانين
	0.14				L.S.D _(0.05)



شكل (12) تأثير نوع الإضاءة وتركيز الفينيل الانين في نبات النعناع الفلفلي.

يلاحظ من النتائج الواردة في الجداول (8-22) والشكل (13) ان هناك تفاوتاً معنوياً في الصفات المدروسة. مما أثر على نمو وتطور النبات بالإضافة الى سير العمليات الأيضية داخل الأجزاء النباتية المزروعة، تعد الأحماض الأمينية اللبنة الأساسية لبناء البروتينات مما ينعكس إيجابياً على بناء بروتوبلازم الخلية وتكوين الأنسجة النباتية، كما ان لها دور فعال في تحفيز نمو الخلايا من خلال تجهيزها بالنيتروجين والكربون والطاقة للقيام بالعمليات الحيوية (Nahed وآخرون، 2010).

يؤثر حامض الفينيل الانين في زيادة محتوى النبات من العناصر وخاصة النيتروجين وقد يعزى السبب في ذلك الى التركيب الكيميائي لحامض Phenylalanine الذي يحتوي على مجموعة أمين NH_2 مما ينعكس على محتوى النبات من خلال دخولها في تجهيز النيتروجين وبناء البروتينات والانزيمات ولها دور غير مباشر في بناء الهرمونات النباتية وعدد من المركبات الأروماتية (Al-asadi و Al-jebory، 2020)، كما أن النيتروجين العضوي المشتق من الأحماض الأمينية يتم امتصاصه ونقله بواسطة الخلية بشكل أسرع من النيتروجين الغير عضوي لكونه يتمتع بميزة انخفاض متطلبات طاقة النقل (Faizy وآخرون، 2024).

يعد حامض الفينيل الانين البادئ الرئيسي للعديد من المسارات الحيوية لإنتاج جزيئات متعددة الوظائف الفسلجية الهامة لتطور النبات ومنها حث الخلايا على الانقسام والاستطالة وزيادة نشاط الانزيمات التي تعمل على تحلل المركبات العضوية لإنتاج العناصر المهمة منها مما ينعكس على زيادة الكتلة الحيوية للنباتات، ان المحتوى العالي من النتروجين في الحامض الاميني يعمل على تحفيز النبات لإنتاج الاوكسينات من خلال تحويل Phenyl acetic acid (PAA) وهو أحد صور الاوكسينات الطبيعية التي تتركز في الانسجة النباتية مقارنة لتركيز IAA والإنزيم الذي يحول Indol-3 Pyruvic acid الى IAA وهذا دليل على أن الاوكسين المشتق من Phenylalanine هو الذي يؤدي الى زيادة النمو والتطور في النباتات (Sugawara وآخرون، 2015 و Hamdeni وآخرون، 2022).

تتميز ايونات الاحماض الامينية بسهولة تحللها ودخولها الى سايتوبلازم الخلية النباتية مما يؤدي مما الى زيادة عملية التمثيل الضوئي حيث تدخل في تركيب إنزيمات هذه العملية ومن خلال تجهيزها السريع للنتروجين المهم في زيادة تصنيع الكربوهيدرات وفي عملية التمثيل الكربوني (Sharma وآخرون، 2020).

أما بالنسبة لدور الاحماض الأمينية في تحسين المؤشرات الفسلجية فأن حامض الفينيل الانين كان له دور في انقسام الخلايا واستطالتها وتكوين أنسجتها قد يعزى سبب ذلك الى أهمية الفينيل الانين في بناء حامض الجبرليك من خلال توفر المادة الأساس Acetate في البناء الحيوي للجبرلين اذا ان هدم الحامض الاميني Phenylalanine ينتهي بتخليق Acetate و Fumarate (Tamboli وآخرون، 2012)، تمتلك النباتات العديد من الآليات الدفاعية التي تقلل من الآثار السلبية للظروف غير الملائمة وأكثرها فعالية هي الإنزيمات الدفاعية أو ما تسمى بمضادات الأكسدة الإنزيمية ويأتي في مقدمتها إنزيم البيروكسيداز والكاتاليز قد يعود السبب الزيادة في مستوى هذه الإنزيمات ربما حفز الفينيل الانين الجينات المسؤولة عن إنتاج هذا الإنزيم إلى كون هذه الإنزيمات تبقى ضمن مستوياتها الدنيا تحت ظروف النمو الطبيعية (Al-Taei و Al-Shmarey، 2019) قد يعزى تراكم البرولين في التراكيز المرتفعة من الفينيل الانين كوسيلة مقاومة، إذ يعمل البرولين على تنشيط الإنزيمات المضادة للأكسدة التي لها تأثير مهم في التخلص من الجذور الحرة وربما ترجع هذه الزيادة الى اختلال التوازن الإزموزي داخل الخلايا حيث يتم خلق توازن فسيولوجي لتعديل الأزموزية بين مكونات الخلية والمحيط الخارجي (Spormann وآخرون، 2023)، تدخل الاحماض الامينية في مسار تصنيع الزيوت الطيارة ومكوناتها اذ يعد مسار تحويل الفينيل

الانين أكثر مسار مسؤول عن التصنيع الحيوي للزيوت الطيارة فضلاً عن دورها في زيادة تراكم المادة الجافة من المركبات الأليض الأولي وبالتالي تكوين نواتج الأليض الثانوي (Vogt، 2010)، ان زيادة المركبات الفعالة Menthol و Menthofuran و 2, Menthy و Phenylalanine acetate و Menthone و 1,8 Cineol و نبات النعناع الفلفلي عند إضافة Phenylalanine للوسط الغذائي بسبب سرعة امتصاصه من قبل النبات واشترائه في تصنيع الهرمونات النباتية المسؤولة عن تصنيع الزيوت الطيارة (Demirci وآخرون، 2022).

اتفقت هذه الدراسة مع ما توصل اليه A El-Shennawy وآخرون (2017) عند استعمال الفينيل الانين بتركيز مختلفة على نبات *Mentha longifolia* L. أدى الى تفوق معنوي في الصفات الخضرية والكيميائية، ومع ما توصل اليه Roy وآخرون (2020) في نبات النعناع الفلفلي *Mantha piperita* L. والعكايشي (2020) في نبات الريحان أدى الى تفوق الصفات الخضرية والكيميائية والزيوت الطيارة.

ان المعاملة بالتركيز العالية من حامض الفينيل الانين قد يؤثر سلباً في بعض الصفات الخضرية والمركبات الفعالة قد يعزى السبب في ذلك الى زيادة الجهد المسلط على نمو وحيوية الخلايا المنماة تحت الظروف نفسها مسببة تلفها، مما أدى ذلك الى انخفاض فعالية الإنزيمات المسؤولة عن تخليق الأليض الثانوي، او قد يعود السبب الى عدم قابلية الخلايا على امتصاص الماء والعناصر الغذائية الضرورية للقيام بالعمليات الحيوية الأساسية التي تحتاجها النباتات لإنتاج مركبات الأليض الأولي وبالتالي قلة في إنتاج الأليض الثانوي الذي يعد مرحلة انتاج نهائية للأليض الأولي (Hildebrandt وآخرون، 2015).

4- 22- تأثير نوع الإضاءة وتركيز PEG في عدد الأفرع الخضرية.

تبين نتائج الجدول 23 وجود فروق معنوية في عدد الأفرع الخضرية للنعناع الفلفلي باختلاف نوع الإضاءة إذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق أعلى متوسط بلغ 32.79 فرع نبات¹ في حين حققت مصابيح الفلورسنت أقل متوسط بلغ 20.61 فرع نبات¹.

أما عن تأثير تركيز ال PEG المضافة للوسط الغذائي فقد أشارت بيانات الجدول ذاته بأن هناك فروق معنوية في متوسط عدد الأفرع الخضرية إذ تفوقت معاملة المقارنة وسجلت أعلى متوسط بلغ 30.49 فرع نبات¹، ثم قلت الاستجابة عند زيادة تركيز PEG الى 2 و 4 ملغم لتر¹ الذي بلغ 27.38 و 22.48 فرع نبات.

إثر التداخل بين نوع الإضاءة وتركيز PEG معنوياً في صفة عدد الأفرع الاخضرية، أذا تفوقت مصابيح LED الملونة مع معاملة المقارنة في تسجيل أعلى متوسطاً لعدد الأفرع بلغ 38.15 فرع نبات¹ فيما تحقق أقل متوسط بتداخل مصابيح الفلورسنت مع التركيز 4 ملغم لتر¹ من PEG بلغ 18.10 فرع نبات¹.

جدول (23) تأثير نوع الإضاءة وتركيز PEG في عدد الأفرع الخضرية (فرع نبات¹) للنعناع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الإضاءة	تركيز PEG (ملغم لتر ¹)			نوع الإضاءة
	4	2	0	
20.61	18.10	20.97	22.75	الفلورسنت
26.96	23.81	26.50	30.58	LED الأبيض
32.79	25.54	34.68	38.15	LED الملون
0.60	1.03			L.S.D _(0.05)
	22.48	27.38	30.49	متوسط PEG
	0.60			L.S.D _(0.05)

4-23- تأثير نوع الإضاءة و تراكيز PEG في ارتفاع الافرع الخضرية.

تبين نتائج الجدول 24 وجود فروق معنوية في ارتفاع الافرع الخضرية للنوع الفلبي باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق اعلى متوسط بلغ 8.14 سم في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل متوسط بلغ 4.18 سم.

اما عن تأثير لتراكيز PEG المضافة للوسط الغذائي في نسبة طول الافرع الخضرية فقد أشارت بيانات الجدول ذاته بأن هناك فروق معنوية حيث تفوقت معاملة المقارنة وسجلت اعلى متوسط بلغ 6.85 سم ثم قلت الاستجابة عند زيادة تراكيز PEG 2 و 4 ملغم لتر⁻¹ بلغ 6.22 و 5.20 سم.

أثر التداخل بين نوع الاضاءة و تراكيز PEG معنوياً في صفة ارتفاع الافرع الخضرية اذا تفوقت معاملة المقارنة في تسجيل أعلى متوسط لطول الافرع الخضرية بلغ 10.10 سم فيما تحقق أقل متوسط لارتفاع الافرع الخضرية بتداخل مصابيح الفلورسنت مع التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ PEG بلغ 3.85 سم.

جدول (24) تأثير نوع الإضاءة و تراكيز PEG في ارتفاع الافرع الخضرية (سم) لنوع الفلبي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الإضاءة	تراكيز PEG (ملغم لتر ⁻¹)			نوع الإضاءة
	4	2	0	
4.18	3.85	4.50	4.20	الفلورسنت
5.94	5.41	6.17	6.25	LED الابيض
8.14	6.33	8.00	10.10	LED الملون
0.64	1.11			L.S.D _(0.05)
	5.20	6.22	6.85	متوسط PEG
	0.64			L.S.D _(0.05)

24-4 - تأثير نوع الإضاءة و تراكيز PEG في الوزن الطري.

تبين نتائج الجدول 25 وجود فروق معنوية في الوزن الطري للنعناع الفلفلي باختلاف نوع الإضاءة إذ تفوقت مصابيح الـ LED الملونة في تحقيق أعلى متوسط للوزن الطري بلغ 15.74 ملغم في حين حققت مصابيح الفلورسنت أقل متوسط بلغ 9.97 ملغم.

أما عن تأثير لتراتيز PEG المضافة للوسط الغذائي فقد أشارت بيانات الجدول ذاته بأن هناك فروق معنوية في متوسط الوزن الطري إذ تفوقت معاملة المقارنة وسجلت أعلى متوسط بلغ 15.25 سم ثم قلت الاستجابة عند زيادة تراكيز الـ PEG 2 و 4 ملغم لتر⁻¹ بلغ 12.70 و 10.57 ملغم.

أثر التداخل بين نوع الإضاءة وتراكيز PEG معنوياً في الوزن الطري إذ تفوقت معاملة المقارنة مع مصابيح LED الملونة في تسجيل أعلى متوسط للوزن الطري بلغ 19.08 ملغم، فيما تحقق أقل متوسط للوزن الطري بتداخل مصابيح الفلورسنت مع التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ من PEG بلغ 9.05 ملغم.

جدول (25) تأثير نوع الإضاءة وتراكيز PEG في الوزن الطري (ملغم) للنعناع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الإضاءة	تراكيز PEG (ملغم لتر ⁻¹)			نوع الإضاءة
	4	2	0	
9.97	9.05	9.48	11.38	الفلورسنت
12.81	10.90	12.25	15.29	LED الأبيض
15.74	11.77	16.37	19.08	LED الملون
0.58	1.16			L.S.D _(0.05)
	10.57	12.70	15.25	متوسط PEG
	0.58			LSD _(0.05)

4-25- تأثير نوع الإضاءة و تراكيز PEG في الوزن الجاف.

تبين نتائج الجدول 26 بأن هناك فروق معنوية في الوزن الجاف للنعناع الفلفلي باختلاف نوع الإضاءة إذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق أعلى متوسط للوزن الجاف بلغ 5.07 ملغم في حين حققت مصابيح الفلورسنت أقل متوسط بلغ 3.17 ملغم.

أما عن تأثير لتراكيز PEG المضافة للوسط الغذائي في صفة الوزن الجاف فقد أشارت بيانات الجدول ذاته بأن هناك فروق معنوية إذ تفوقت معاملة المقارنة وسجلت أعلى متوسط بلغ 5.15 ملغم، ثم قلت الاستجابة عند زيادة تركيز PEG 2 و 4 ملغم لتر⁻¹ بلغ 4.26 و 3.16 ملغم.

أثر التداخل بين نوع الإضاءة و تراكيز PEG معنوياً في صفة الوزن الجاف، إذا تفوقت مصابيح LED الملونة مع معاملة المقارنة في تسجيل أعلى متوسط للوزن الجاف بلغ 6.46 ملغم، فيما تحقق أقل متوسط للوزن الجاف عند تداخل مصابيح الفلورسنت مع التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ من PEG بلغت 2.66 ملغم.

جدول (26) تأثير نوع الإضاءة و تراكيز PEG في الوزن الجاف (ملغم) للنعناع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الإضاءة	تراكيز PEG (ملغم لتر ⁻¹)			نوع الإضاءة
	4	2	0	
3.17	2.66	3.06	3.80	الفلورسنت
4.33	3.25	4.54	5.19	LED الأبيض
5.07	3.56	5.19	6.46	LED الملون
0.35	0.61			L.S.D _(0.05)
	3.16	4.26	5.15	متوسط PEG
	0.35			L.S.D _(0.05)

4-26 تأثير نوع الإضاءة و تراكيز PEG في تركيز الكلوروفيل الكلي.

تبين نتائج الجدول 27 وجود فروق معنوية في تركيز الكلوروفيل للنوع الفلبي باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق اعلى متوسط بلغ 3.18 ملغم غم¹ في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل متوسط بلغ 2.29 ملغم غم¹.

اما عن تأثير لتراكيز PEG المضافة للوسط الغذائي في تركيز الكلوروفيل فقد أشارت بيانات الجدول ذاته بأن هناك فروق معنوية إذ تفوق التركيز 2 ملغم لتر¹ من ال-PEG في إعطاء اعلى متوسط بلغ 3.26 ملغم غم¹ في حين حقق التركيز 4 ملغم لتر¹ اقل متوسط بلغ 2.12 ملغم غم¹.

أثر التداخل بين نوع الاضاءة وتراكيز PEG معنوياً في تركيز الكلوروفيل، إذا سجلت اعلى متوسط عند تداخل مصابيح LED الملونة مع التركيز 2 ملغم لتر¹ من PEG بلغ 3.75 ملغم غم¹، فيما تحقق أقل متوسط عند تداخل مصابيح الفلورسنت مع التركيز 4 ملغم لتر¹ من PEG بلغ 1.85 ملغم غم¹.

جدول (27) تأثير نوع الإضاءة وتراكيز PEG في تركيز الكلوروفيل (ملغم غم¹) لنبات النعاع الفلبي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الإضاءة	تراكيز PEG (ملغم لتر ¹)			نوع الإضاءة
	4	2	0	
2.29	1.85	2.85	2.16	الفلورسنت
2.57	2.14	3.18	2.38	LED الابيض
3.18	2.37	3.75	3.42	LED الملون
0.01	0.3			L.S.D _(0.05)
	2.12	3.26	2.65	متوسط PEG
	0.02			L.S.D _(0.05)

4-27 تأثير نوع الإضاءة و تراكيز PEG في محتوى الكربوهيدرات الكلية.

تبين نتائج الجدول 28 وجود فروق معنوية في تركيز الكربوهيدرات الكلية للنعناع الفلفلي باختلاف نوع الاضاءة اذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق اعلى متوسط بلغ 3.10 ملغم غم⁻¹ في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل متوسط بلغ 2.53 ملغم غم⁻¹.

اما عن تأثير تراكيز PEG المضافة للوسط الغذائي فقد أشارت بيانات الجدول ذاته بأن هناك فروق معنوية في تركيز الكربوهيدرات الكلية إذ تفوق التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ معنوياً في تسجيل اعلى متوسط بلغ 3.41 ملغم غم⁻¹ ثم قلت الاستجابة عند التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ وسجل اقل متوسط بلغ 2.19 ملغم غم⁻¹.

أثر التداخل بين نوع الاضاءة وتراكيز PEG معنوياً في تركيز الكربوهيدرات الكلية، اذا سجلت أعلى متوسط لمحتوى الكربوهيدرات عند تداخل مصابيح LED الملونة مع التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ بلغ 3.74 ملغم غم⁻¹ فيما تحقق اقل متوسط عند تداخل مصابيح الفلورسنت مع التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ من PEG بلغ 2.02 ملغم غم⁻¹.

جدول (28) تأثير نوع الإضاءة وتراكيز PEG في محتوى الكربوهيدرات الكلية (ملغم غم⁻¹) للنعناع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الإضاءة	تراكيز PEG (ملغم لتر ⁻¹)			نوع الإضاءة
	4	2	0	
2.53	2.02	2.93	2.64	الفلورسنت
2.82	2.14	3.55	2.77	LED الابيض
3.10	2.42	3.74	3.14	LED الملون
0.01	0.02			L.S.D _(0.050)
	2.19	3.41	2.85	متوسط PEG
	0.01			L.S.D _(0.05)

4-28- تأثير نوع الإضاءة و تراكيز PEG في النسبة المئوية للبروتينات الكلية.

تبين نتائج الجدول 29 وجود فروق معنوية في محتوى البروتينات الكلية للنوع الفلبي باختلاف نوع الإضاءة اذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق اعلى متوسط بلغ 12.25 % في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل متوسط بلغ 10.42%.

اما عن تأثير لتراكيز PEG المضاف للوسط الغذائي فقد أشارت بيانات الجدول ذاته بأن هناك فروق معنوية في نسبة البروتينات إذ تفوق التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ من PEG في تسجيل اعلى متوسط بلغ 12.35% ثم قلت الاستجابة عند زيادة تراكيز PEG 4 ملغم لتر⁻¹ من PEG وسجلت اقل متوسط بلغ 10.21%.

أثر التداخل بين نوع الإضاءة وتراكيز PEG معنوياً في نسبة البروتينات، إذا سجلت أعلى متوسط لنسبة البروتينات عند تداخل مصابيح LED الملونة مع التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ بلغ 13.28%، فيما تحقق أقل متوسط في نسبة البروتينات عند تداخل مصابيح الفلورسنت مع التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ من PEG بلغ 9.55%.

جدول (29) تأثير نوع الإضاءة وتراكيز PEG في نسبة البروتينات (%) للنوع الفلبي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

نوع الإضاءة	تراكيز PEG (ملغم لتر ⁻¹)			متوسط نوع الإضاءة
	0	2	4	
الفلورسنت	10.22	11.48	9.55	10.42
LED الابيض	11.74	12.28	9.88	11.30
LED الملون	12.24	13.28	11.22	12.25
L.S.D _(0.05)	2.97			1.71
متوسط PEG	11.40	12.35	10.21	
L.S.D _(0.05)	1.72			

4-29 تأثير نوع الإضاءة و تراكيز PEG في فعالية إنزيم البيروكسيديز.

تبين نتائج الجدول 30 وجود فروق معنوية في فعالية إنزيم البيروكسيديز للنعناع الفلفلي باختلاف نوع الإضاءة اذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق أعلى متوسط بلغ 2.52 وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻ في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل متوسط بلغ 2.07 وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻.

كما أشارت بيانات الجدول ذاته هناك فروق معنوية في فعالية إنزيم البيروكسيديز بزيادة تراكيز PEG المضافة للوسط الغذائي اذ تفوق التراكيز 2 و 4 ملغم لتر¹⁻ في تسجيل أعلى متوسط والذي بلغ 2.46 و 2.76 وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻ على التتابع، في حين حققت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 1.61 وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻.

أثر التداخل بين نوع الإضاءة و تراكيز PEG معنوياً في تقدير فعالية إنزيم البيروكسيديز، اذا سجلت أعلى متوسط عند تداخل مصابيح LED الملونة مع التركيز 4 ملغم لتر¹⁻ من PEG بلغ 2.94 وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻، فيما تحقق أقل متوسط في معاملة المقارنة بلغ 1.58 وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻.

جدول (30) تأثير نوع الإضاءة و تراكيز PEG في فعالية إنزيم البيروكسيديز (وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻) للنعناع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الإضاءة	تراكيز PEG (ملغم لتر ¹⁻)			نوع الإضاءة
	4	2	0	
2.07	2.52	2.16	1.53	الفلورسنت
2.25	2.83	2.34	1.58	LED الابيض
2.52	2.94	2.88	1.74	LED الملون
0.01	0.02			L.S.D (0.05)
	2.76	2.46	1.61	متوسط PEG
	0.01			L.S.D (0.05)

30-4 تأثير نوع الإضاءة و تراكيز PEG في فعالية إنزيم الكاتليز.

تبين نتائج الجدول 31 وجود فروق معنوية في إنزيم الكاتليز للنعناع الفلفلي باختلاف نوع الإضاءة اذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق اعلى متوسط بلغ 5.44 وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻ في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل متوسط بلغ 4.24 وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻.

كما أشارت بيانات الجدول ذاته هناك فروق معنوية في إنزيم الكاتليز بزيادة تراكيز PEG المضافة للوسط الغذائي اذ تفوق التراكيز 2 و 4 ملغم لتر¹⁻ في تسجيل اعلى متوسط بلغ 5.57 و 6.15 وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻، في حين حققت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 2.56 وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻.

أثر التداخل بين نوع الإضاءة و تراكيز PEG معنوياً في إنزيم الكاتليز، اذا تفوق التداخل عند مصابيح LED الملونة مع التركيز 4 ملغم لتر¹⁻ من PEG في تسجيل اعلى متوسط بلغ 6.94 وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻، فيما تحقق اقل متوسط في معاملة المقارنة بلغ 2.33 وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻.

جدول (31) تأثير نوع الإضاءة و تراكيز PEG في إنزيم الكاتليز (وحدة امتصاص دقيقة غم¹⁻) للنعناع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الإضاءة	تراكيز PEG (ملغم لتر ¹⁻)			نوع الإضاءة
	4	2	0	
4.24	5.63	4.75	2.33	الفلورسنت
4.60	5.87	5.33	2.60	LED الابيض
5.44	6.94	6.63	2.76	LED الملون
0.01	0.02			L.S.D (0.05)
	6.15	5.57	2.56	متوسط PEG
	0.01			L.S.D (0.05)

31-4 تأثير نوع الإضاءة و تراكيز PEG في تركيز البرولين.

تبين نتائج الجدول 32 وجود فروق معنوية في تركيز البرولين للنعناع الفلفلي باختلاف نوع الإضاءة اذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق اعلى متوسط بلغ 3.43 مايكرو غرام غم¹ في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل متوسط بلغ 2.39 مايكرو غرام غم¹.

كما أشارت بيانات الجدول ذاته هناك فروق معنوية في تركيز البرولين بزيادة تراكيز PEG المضافة للوسط الغذائي أذ تفوق التراكيز 2 و 4 ملغم لتر¹ في تسجيل اعلى متوسط بلغ 4.07 و 3.34 مايكرو غرام غم¹ على التتابع، في حين حققت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 1.38 مايكرو غرام غم¹.

أثر التداخل بين نوع الإضاءة وتراكيز و PEG معنوياً في تركيز البرولين، أذا تفوق التداخل بين مصابيح LED الملونة ل مع التركيز 4 ملغم لتر¹ من PEG في تسجيل اعلى متوسط بلغ 4.28 مايكرو غرام غم¹ فيما تحقق اقل متوسط عند معاملة المقارنة بلغ 1.14 مايكرو غرام غم¹.

جدول (32) تأثير نوع الإضاءة وتراكيز PEG في تركيز البرولين (مايكرو غرام غم¹) للنعناع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الإضاءة	تراكيز PEG (ملغم لتر ¹)			نوع الإضاءة
	4	2	0	
2.39	3.75	2.27	1.14	الفلورسنت
2.97	4.18	3.58	1.15	LED الابيض
3.43	4.28	4.17	1.84	LED الملون
0.01	0.02			L.S.D (0.05)
	4.07	3.34	1.38	متوسط PEG
	0.01			L.S.D (0.05)

32-4 تأثير نوع الإضاءة و تراكيز PEG في تركيز مركب Menthol.

تبين نتائج الجدول 33 وجود فروق معنوية في تركيز مركب Menthol للنعناع الفلفلي باختلاف نوع الإضاءة اذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق أعلى متوسط بلغ 37.89 مايكرو غرام مل⁻¹ في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل متوسط بلغ 21.56 مايكرو غرام مل⁻¹.

كما أشارت بيانات الجدول ذاته هناك فروق معنوية في تركيز مركب Menthol عند إضافة تراكيز PEG للوسط الغذائي اذ تفوق التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ في تسجيل أعلى متوسط بلغ 33.62 مايكرو غرام مل⁻¹، في حين حققت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 27.19 مايكرو غرام مل⁻¹.

أثر التداخل بين نوع الإضاءة وتراكيز و PEG معنوياً في تركيز مركب Menthol ، اذا سجلت أعلى متوسط عند تداخل مصابيح LED الملونة مع التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ من PEG بلغ 40.32 مايكرو غرام مل⁻¹ فيما تحقق أقل متوسط في معاملة المقارنة مع مصابيح الفلورسنت بلغ 18.63 مايكرو غرام مل⁻¹.

جدول (33) تأثير نوع الإضاءة و تراكيز و PEG في تركيز مركب Menthol (مايكروغم مل⁻¹) للنعناع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الإضاءة	تراكيز PEG (ملغم لتر ⁻¹)			نوع الإضاءة
	4	2	0	
21.56	25.82	20.23	18.63	فلورسنت
31.06	34.72	30.13	28.32	LED الأبيض
37.89	40.32	38.70	34.62	LED الملون
0.11	0.22			L.S.D _(0.05)
	33.62	29.69	27.19	متوسط تراكيز PEG
	0.11			L.S.D _(0.05)

33-4 تأثير نوع الإضاءة و تراكيز PEG في تركيز مركب 2, Menthofuran

تبين نتائج الجدول 34 وجود فروق معنوية في تركيز مركب 2, Menthofuran للنوع الفلفلي باختلاف نوع الإضاءة اذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق أعلى متوسط بلغ 30.83 مايكرو غرام مل⁻¹ في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل متوسط بلغ 18.23 مايكرو غرام مل⁻¹.

كما أشارت بيانات الجدول ذاته هناك فروق معنوية عند إضافة تراكيز PEG للوسط الغذائي في تركيز مركب 2, Menthofuran اذ تفوق التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ في تسجيل أعلى متوسط بلغ 27.97 مايكرو غرام مل⁻¹، في حين حققت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 20.63 مايكرو غرام مل⁻¹.

أثر التداخل بين نوع الإضاءة و تراكيز و PEG معنوياً في تركيز مركب 2, Menthofuran ، اذا سجلت أعلى متوسط عند تداخل مصابيح LED الملونة مع التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ من PEG بلغ 35.02 مايكرو غرام مل⁻¹ فيما تحقق أقل متوسط في معاملة المقارنة بلغ 16.02 مايكرو غرام مل⁻¹.

جدول (34) تأثير نوع الإضاءة و تراكيز و PEG في تركيز مركب 2, Menthofuran (مايكرو غم مل⁻¹) للنوع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

نوع الإضاءة	تراكيز PEG (ملغم لتر ⁻¹)			متوسط تركيز PEG
	0	2	4	
فلورسنت	16.02	17.94	20.72	18.23
LED الابيض	20.03	24.38	28.18	24.20
LED الملون	25.83	31.64	35.02	30.83
L.S.D _(0.05)	0.24			0.12
متوسط تراكيز PEG	20.63	24.65	27.97	
L.S.D _(0.05)	0.12			

34-4- تأثير نوع الإضاءة و تراكيز PEG في تركيز مركب Menthy acetate.

تبين نتائج الجدول 35 وجود فروق معنوية في تركيز تركيز مركب Menthy acetate للنوع الفلبي باختلاف نوع الإضاءة اذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق اعلى متوسط بلغ 30.42 مايكرو غرام مل⁻¹ في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل متوسط بلغ 19.17 مايكرو غرام مل⁻¹.

كما أشارت بيانات الجدول ذاته هناك فروق معنوية عند إضافة تراكيز PEG للوسط الغذائي في تركيز تركيز مركب Menthy acetate اذ تفوق التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ في تحقيق اعلى متوسط بلغ 27.57 مايكرو غرام مل⁻¹ ثم قلت الاستجابة عند التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ والذي بلغ 26.00 غرام مل⁻¹ ، في حين حققت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 22.21 مايكرو غرام مل⁻¹.

أثر التداخل بين نوع الإضاءة وتراكيز PEG معنوياً في تركيز مركب Menthy acetate ، اذا سجل أعلى متوسط عند تداخل مصابيح LED الملونة مع التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ من PEG بلغ 34.72 مايكرو غرام مل⁻¹ فيما تحقق اقل متوسط عند معاملة المقارنة بلغ 16.34 مايكرو غرام مل⁻¹.

جدول (35) تأثير نوع الإضاءة وتراكيز PEG في تركيز مركب Menthy acetate (مايكروغم مل⁻¹) للنوع الفلبي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الإضاءة	تراكيز PEG (ملغم لتر ⁻¹)			نوع الإضاءة
	4	2	0	
19.17	22.16	19.02	16.34	فلورسنت
26.20	25.33	28.98	24.28	LED الابيض
30.42	32.52	34.72	26.02	LED الملون
0.11	0.22			L.S.D(0.05)
	26.00	27.57	22.21	متوسط تراكيز PEG
	0.11			L.S.D(0.05)

35-4 تأثير نوع الإضاءة و تراكيز PEG في تركيز مركب Menthone

تبين نتائج الجدول 36 وجود فروق معنوية في تركيز مركب Menthone للنعناع الفلفلي باختلاف نوع الإضاءة اذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق أعلى متوسط بلغ 28.79 مايكرو غرام مل⁻¹ في حين حققت مصابيح الفلورسنت أقل متوسط بلغ 17.84 مايكرو غرام مل⁻¹.

كما أشارت بيانات الجدول ذاته هناك فروق معنوية عند زيادة تراكيز PEG المضافة للوسط الغذائي في تركيز مركب Menthone إذ تفوق التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ في إعطاء أعلى متوسط بلغ 27.23 مايكرو غرام مل⁻¹، في حين حققت معاملة المقارنة أقل متوسط بلغ 20.69 مايكرو غرام مل⁻¹.

أثر التداخل بين نوع الإضاءة وتراكيز و PEG معنوياً في تركيز مركب Menthone، أذا سجلت أعلى متوسط عند تداخل مصابيح LED الملونة مع التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ من PEG بلغ 31.23 مايكرو غرام مل⁻¹ فيما تحقق أقل متوسط في معاملة المقارنة بلغ 14.02 مايكرو غرام مل⁻¹.

جدول (36) تأثير نوع الإضاءة و تراكيز الـ PEG في تركيز مركب Menthone (مايكروغم مل⁻¹) للنعناع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الإضاءة	تراكيز PEG (ملغم لتر ⁻¹)			نوع الإضاءة
	4	2	0	
17.84	20.83	18.66	14.02	فلورسنت
26.03	29.02	26.32	22.74	LED الأبيض
28.79	31.83	29.23	25.32	LED الملون
0.13	0.26			L.S.D _(0.05)
	27.23	24.74	20.69	متوسط تراكيز PEG
	0.13			L.S.D _(0.05)

36-4 تأثير نوع الإضاءة و تراكيز PEG في تركيز مركب 1,8 Cineol

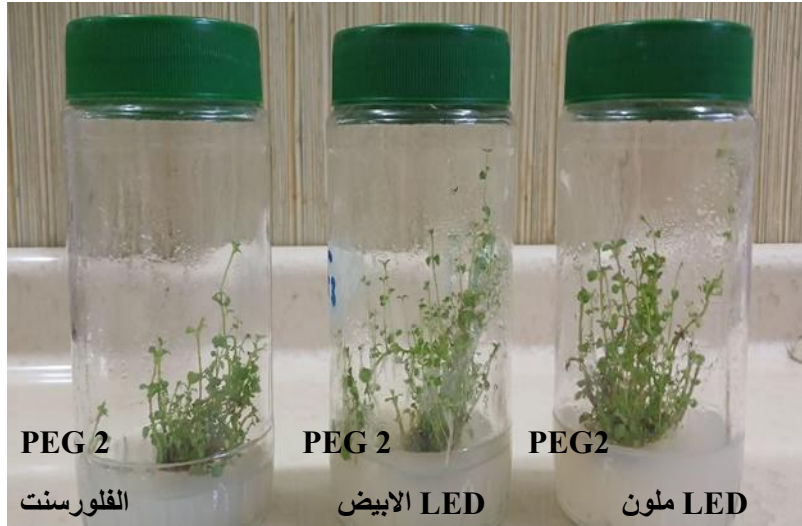
تبين نتائج الجدول 37 وجود فروق معنوية في تركيز مركب 1,8 Cineol لنبات النعناع الفلفلي باختلاف نوع الإضاءة اذ تفوقت مصابيح LED الملونة في تحقيق أعلى متوسط بلغ 28.60 مايكرو غرام مل⁻¹ في حين حققت مصابيح الفلورسنت اقل متوسط بلغ 17.15 مايكرو غرام مل⁻¹.

كما أشارت بيانات الجدول ذاته هناك فروق معنوية بزيادة تراكيز PEG المضافة للوسط الغذائي في تركيز مركب 1,8 Cineol اذ تفوق التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ في إعطاء أعلى متوسط بلغ 25.26 مايكرو غرام مل⁻¹ ثم قلت نسبة الاستجابة عند التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ الذي بلغ 24.59 مايكرو غرام مل⁻¹، في حين حققت معاملة المقارنة اقل متوسط بلغ 19.76 مايكرو غرام مل⁻¹.

أثر التداخل بين نوع الإضاءة وتراكيز و PEG معنوياً في تركيز مركب 1,8 Cineol ، اذا سجل أعلى متوسط عند تداخل مصابيح LED الملونة مع التركيز 2 ملغم لتر⁻¹ من PEG بلغ 33.24 مايكرو غرام مل⁻¹ فيما تحقق أقل متوسط في معاملة المقارنة بلغ 14.15 مايكرو غرام مل⁻¹.

جدول (37) تأثير نوع الإضاءة و تراكيز PEG في تركيز مركب 1,8 Cineol (مايكروغم مل⁻¹) للنعناع الفلفلي بعد 6 أسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.

متوسط نوع الإضاءة	تراكيز PEG (ملغم لتر ⁻¹)			نوع الإضاءة
	4	2	0	
17.15	20.12	17.17	14.15	فلورسنت
23.87	25.42	25.36	20.82	LED الابيض
28.60	29.23	33.24	24.32	LED الملون
0.09	0.17			L.S.D _(0.05)
	24.59	25.26	19.76	متوسط تراكيز PEG
	0.09			L.S.D _(0.05)



شكل (13) تأثير البولي أثلين كلايكول في نبات النعناع الفلفلي

استنادا لما تم عرضه من نتائج الجداول 17-25 والشكل 14 يظهر بشكل عام ان هناك فروق معنوية عند اضافة PEG الى الوسط الغذائي MS في الصفات الدروسة، إذا لوحظ هناك زيادة معنوية عند معاملة المقارنة لمركب PEG وقد يعزى السبب الى نمو وتطور الخلايا في بيئة خالية من الاجهادات، بالإضافة الى وجود الساييتوكانيينات والاكسين بتركيز ثابتة في الوسط الغذائي لماله من تأثير في سير العمليات الأيضية داخل الأجزاء النباتية النامية وتؤثر بشكل إيجابي في تحسين صفات النمو حيث تعمل في حث الخلايا على الانقسام وزيادة النمو (Lee وآخرون، 2022).

ان انخفاض مستوى عدد وطول الافرع الخضرية والوزن الطري والجاف لنبات النعناع الفلفلي عند زيادة تراكيز PEG في الوسط الغذائي قد يعزى السبب في ذلك ان إضافة مركبات الاجهاد تؤدي الى زيادة في الضغط الازموزي للإوساط الزراعية إذ يعمل على نقص تركيز الماء داخا الخلايا نتيجة خروجه الى وسط الزراعة معيقاً إنقسام الخلايا وعدم كبر حجمها ان انخفاض المحتوى المائي يؤدي الى فقدان الانتفاخ في الخلايا مما ينتج عنه إيقاف نموها وانخفاض التمثيل الضوئي مما يؤثر سلباً على العمليات الحيوية للخلية، كما ان تعرض النبات للإجهادات تؤدي الى خفض مستويات الهرمونات النباتية المحفزة للنمو مثل الاوكسينات الساييتوكانيينات والجبر لينات ورفع مستوى الهرمونات المثبطة للنمو وتراكمها مثل حامض الابسيسك ABA والاثلين المؤدي الى تثبيط نمو النبات (Wahab وآخرون، 2022)، تؤثر اجهادات الجفاف الناتج عن اضافة PEG بصورة عامة على الايض الاولي

للنبات مؤدية الى انخفاض نواتج التمثيل الضوئي الضرورية في بناء الكلوروفيل الكربوهيدرات والبروتينات بسبب عجز الخلايا على امتصاص الماء مما يؤدي الى جفاف الساييتوبلازم وتقل الأنشطة الانزيمية المختلفة بالإضافة الى تراكم الايونات مع تغير الاس الهيدروجيني او بسبب زيادة طاقة التنفس بفعل الاجهاد الازموزي مما يسبب زيادة مقاومة لهذا الضغط البيئي من الاتجاه الى الانقسام الخلوي (Yavas وآخرون، 2024)، او قد يعود سبب انخفاض هذه الصفات الى النمو المنخفض للخلايا بسبب السرعة في تراكم المواد الفعالة تحت تأثير الاجهاد وعدم التوازن الغذائي وزيادة الجهد الكهربائي وان انخفاض المحتوى الخلوي مع زيادة الجفاف المستمر يسبب اضرار فيزيائية لآلية التمثيل الكربوني للخلية النباتية (Hu وآخرون، 2023).

بينت الدراسات الحديثة ان الاجهادات تولد ظروف العجز المائي والتي تؤدي الى ارتفاع تراكيز المحاليل وانكماش الساييتوبلازم في الخلايا مما يؤدي الى انخفاض نسبة الكلوروفيل والكربوهيدرات والبروتينات نتيجة عدم التوازن في العلاقات المائية في الخلية كالجهد الانتفاخي والازموزي وانخفاض الجهد المائي في وسط النمو مما يسبب انخفاض كمية الماء الداخلة في أنسجة الخلايا وبالتالي قلة انتقالها من خلية الى أخرى حيث تعمل الخلايا على غلق الثغور وبالتالي تقل كمية غاز ثاني أكسيد الكربون الداخلة في الخلايا فتتخفض معدلات عملية البناء الضوئي (جروني، 2020).

كما يتضح مما سبق عرضه في الجداول (30 و 31 و 32) الى الدور الفعال لتراكيز PEG في زيادة تراكيز الإنزيمات في النموات الخضرية لنبات النعناع الفلفلي ولاسيما زيادة فعالية أنزيم البيروكسيداز قد يعود السبب بأن الاجهادات ربما حفزت الجينات المسؤولة عن انتاج هذا الإنزيم لماله من دور فعال في التخلص من مستويات الجذور الحرة ROS التي تزداد بزيادة الاجهادات اللاحيوية حيث يعتبر إنزيم البيروكسيداز من الآليات الدفاعية التي تقلل من الآثار السلبية في الظروف الغير ملائمة او ما يعرف بمضادات الأكسدة الإنزيمية (Rajput وآخرون، 2021).

ان الاجهادات اللاحيوية الناتجة عن إضافة PEG للإوساط الغذائية تعمل على حث الوسائل الدفاعية في النباتات وفي مقدمتها إنزيم الكاتليز الذي يزداد تكوينه عند تعرض الخلية للجفاف كونه من العوامل المقاومة لظروف الإجهاد حيث يعمل على حث الاجهاد التأكسدي لكبح جذور الأوكسجين الضارة للنباتات التي تتكون في المستويات العالية من الجفاف وإنزيم الكاتليز دور فعال في التخلص من جذر الأوكسجين عن طريق تفكيك

بيروكسيد الهيدروجين الى أوكسجين وماء (Cara وآخرون، 2023)، اما في ظروف النمو الطبيعي تبقى هذه الانزيمات ضمن مستوياتها الدنيا وأن زيادة تراكيز الاجهادات يؤدي الى انتاج كميات كبيرة من الجذور الحرة التي تعمل على اضرار أغشية الخلية حيث يعمل أنزيم البيروكسيداز والكتليز على التخلص منها (Mishra وآخرون، 2023)، او قد تعود هذه الزيادة الى إختلال التوازن الازموزي داخل الخلايا ولمعالجة هذا الاختلال تقوم الخلايا بزيادة إنتاج هذه الانزيمات في سايتوبلازم الخلية المجهدة لتوليد حالة توازن فسيولوجي بين الفجوة والساييتوبلازم والمحيط الخارجي ، حيث تتمكن هذه النباتات تحت ظروف الإجهاد الشديد الى تقليل نسبة فقدانها للماء اذ تحتفظ بالمحتوى المائي داخل أنسجتها الداخلية لما لها صفة المقاومة ضد الإجهادات لتجنب نقص المحتوى المائي (Seleiman وآخرون، 2021).

قد تعزى زيادة تركيز البرولين في النباتات التي تتعرض للإجهادات اللاحيائية الى دور البرولين الوقائي لتحمل الجفاف وكذلك يعمل البرولين على تعديل الضغط التناضحي مع زيادة مستويات الازموزية بالإضافة الى عمله على إزالة السموم الناتجة عن الأكسدة ويوفر الحماية للخلايا من المركبات النتروجينية الضارة الناتجة من تحلل البروتين وعدم قدرة الخلية على بناءها نتيجة التعرض للإجهادات فتستغل هذه الخلايا المركبات النتروجينية في بناء البرولين لانه يُعد حامض أميني غير سام حيث يعمل على تعديل الازموزية بين الخلايا ومحيطها الخارجي وهذا يزيد من قدرتها على سحب الماء (Hosseini-fard وآخرون، 2022 و Yang وآخرون، 2021)، أظهرت نتائج هذه الدراسة وكما مبين في الجداول (33 و 34 و 35 و 36 و 37) ان استخدام PEG كان لها تأثير معنوياً في تحسين مؤشرات المركبات الفعالة ويرجع سبب ذلك ان الخلايا النامية تحت ظروف الإجهاد ممكن ان يصنع Polyamines التي تُعد مفتاحاً لبناء مركبات الايض الثانوية اذ ان الإجهاد يزيد من سالبية الجهد الازموزي للخلايا ومن ثم يزيد تبادل الذائبات في الخلية ومن يتم تصنيع المستقلبات الثانوية (Spormann وآخرون، 2023).

هناك العديد من الدراسات التي أتفقت مع هذه النتائج منها ماتوصل اليه Bufalo وآخرون (2016) اذ وجد ان زيادة معظم الإنزيمات والزيوت الطيارة لنبات النعناع الفلفلي نتيجة استخدام PEG، كذلك مع ماتوصل اليه Dehghani (2018) عند دراسته على نبات النعناع Mantha puleglum حيث انخفضت معظم الصفات الخضرية بشكل ملحوظ مع زيادة تركيز PEG الذي يتوافق مع زيادة كمية التربينات ونشاط مضاد الأكسدة وما وجدته

Osman and El-naggar (2024) في دراسته على نبات النعناع حيث زاد محتوى الزيت العطري ومنها Menthfuran وMenthone عند زيادة تركيز PEG.

كما يتضح مما سبق عرضه في نتائج الجداول (7-25) وجود تفوق معنوي في الصفات الخضرية والصفات الكيميائية لنبات النعناع الفلفلي تحت تأثير أنواع الإضاءة المختلفة وثبت من خلال النتائج ذاتها تفوق إضاءة LED الملونة في تحقيق أعلى النسب وقد يعزى السبب في ذلك الى دورها الأساسي في عملية النمو والتشكل المورفولوجي والعمليات الحيوية التي تقوم بها النباتات بالإضافة الى تحفيز الأجزاء النباتية على إمتصاص منظمات النمو وخاصة الساييتوكاينينات المسؤولة عن زيادة إنقسام وإستطالة الخلايا النباتية (Kozai، 2019)، يؤثر الطيف الضوئي على فسلجة النبات وتطوره في بيئة النمو من خلال الاطوال الموجية وشدها لما لها من تأثير مباشر في زيادة إنتاجية الخلايا من المركبات الرئيسية اذ ان شدة الإضاءة العالية التي تسلطها مصابيح LED لها دور فعال في زيادة إمتصاص الصبغات للضوء بالإضافة الى أن الطول الموجي يكون فعال ضمن المدى من 400 - 700 نانومتر من الطيف الضوئي حيث تعتبر منطقة ذات أعلى إمتصاص من قبل الصبغات النباتية وطاقة 3 الفوتونات الضوئية لها القدرة على تجهيز الطاقة الممتصة مكونة حالة الاثارة للإلكترونات من قبل الصبغات مما ينعكس ايجابياً في زيادة النمو وزيادة العناصر الغذائية الضرورية للبناء الحيوي للهرمونات النباتية (Dabrowski وآخرون، 2015).

كما أن لنوع الإضاءة تأثير في بناء وإنتقال الهرمونات الداخلية وكذلك إختزال منظمات النمو الخارجية، حيث يؤثر الضوء الأحمر على مرحلة الإنقسام الخلوي من خلال تأثيره على تكوين الساييتوكاينينات والجبرلينات وهذه الهرمونات هي المسؤولة عن زيادة إنقسام وإستطالة الخلايا النباتية، قد يعزى سبب تفوق الضوء الاحمر في الصفات الخضرية الى إنخفاض سمك خلايا البشرة والخلايا البرنكيميية في النباتات النامية تحت الاضاءة الحمراء في الزراعة النسيجية بينما يزداد سُمك الخلايا عند الضوء الازرق فيؤثر على النفاذية للأغشية الخلوية فيسمح بحركة منظمات النمو والمغذيات ومرورها الى داخل الخلية (Macedo وآخرون، 2011، Eichhorn Bilodeau وآخرون، 2019) ، بين (Agarwal و Gupta، 2017) ان وجود الضوء الأزرق في مصابيح LED الملونة تؤثر على بناء مركبات الأيض الأولية التي تعتبر الأساس للمركبات الايض الثانوية بإضافة الى تحفيزها لبعض الهرمونات والإنزيمات لبناء المركبات الفعالة داخل الخلايا النباتية، كذلك تؤثر نوع الإضاءة على جاهزية العناصر الغذائية وزيادة امتصاصها وبالتالي تؤثر على

محتوى النتروجين مما يسبب زيادة في محتوى الاوراق من الكلوروفيل كما ان للأطوال الموجية دورا كبيرا في إنزيمات تكوين الصبغات ونشوء البلاستيدات الخضراء، ومن المعروف أن وجود الضوء الأحمر والأزرق يؤثران في استجابة النبات من خلال تأثيرهما على البروتينات المستقبلة للضوء إضافة الى ذلك فان الذي تم ملاحظته إن لنوع الإضاءة دوراً واضحاً على انتاج مركبات الأيض الثانوية وقد يعزى السبب في ذلك إن للضوء تأثير على عملية التمثيل الكربوني مما ينعكس إيجابياً على بناء المركبات الأساسية الأولية والثانوية، أو قد يعزى سبب زيادة المركبات الفعالة الى زيادة المجموع الخضري والوزن الطري والجاف وبالتالي زيادة كفاءة عملية التركيب الضوئي وتصنيع المركبات الداخلة في بناء المركبات الأولية والتي تعتبر الأساس في بناء المركبات الفعالة (Tabbert وآخرون، 2021).

اما بالنسبة لتأثير مصابيح LED الأبيض و الفلورسنت فقد تفوق LED الأبيض في تأثيره على المؤشرات الفسلجية للنبات وذلك بسبب إحتواء الضوء الأبيض على جميع الأطوال الموجية التي تعمل على تحفيز وبناء المركبات الفعالة بالإضافة الى أن شدة الإضاءة وإنبعائها لدرجات الحرارة تكون أعلى من مصابيح الفلورسنت كونها تحول 20% من الطاقة الكهربائية الى ضوء أما الإضاءة الاعتيادية تحول حوالي 4% فقط والباقي يشتت كحرارة لذلك كمية الضوء التي تستقبلها النبات تكون ضئيلة جداً مما ينعكس سلبياً على طبيعة نموها وتقل فيها بناء المركبات الايضية (Tahira وآخرون، 2011، Murthy وآخرون، 2024)،

إتفقت هذه النتائج الى ماتوصل اليه Tabbert وآخرون (2022) ان تعريض نبات النعناع الفلفلي للضوء الأحمر والأخضر قد أدى الى زيادة محتوى Pulegone و Menthone في الزيوت الطيارة.

وجد Sabzalain وآخرون، 2014 نمو النبات وزيادة الأفرع الخضرية ومحتوى الزيت

العطري لنبات النعناع الفلفلي (*Mentha piperita* L.) عند تعريضه للضوء الأحمر والأزرق.

5-الاستنتاجات والتوصيات Conclusions and Recommendation

1-5 الاستنتاجات

في ضوء النتائج التي تم الحصول عليها من الدراسة التي أجريت على نبات النعناع الفلفلي يمكن استنتاج ما يلي: -

- ❖ أفضل تركيز لتعقيم بذور نبات النعناع الفلفلي باستعمال هايوكلورات الصوديوم بالتركيز 2 % ولمدة 15 دقيقة.
- ❖ اظهرت منظمات النمو النباتية الـ BA وNAA استجابة في مرحلة النشوء.
- ❖ أدى استخدام نوعين من الساييتوكانيينات BA وKin مع التركيز الثابت من الاوكسين NAA الى الوسط الغذائي في الزراعة خارج الجسم الحي استجابة واضحة في إعطاء اعلى نسبة في عدد الافرع الخضرية واطوالها وكذلك الوزن الطري والجاف.
- ❖ وجد ان تدعيم الوسط الغذائي بالفنيل الانين وPEG وبتراكيز مختلفة أثر معنوياً في مؤشرات النمو ومركبات الايض الثانوية.
- ❖ كان لمصابيح LED الملونة تأثير إيجابي ملحوظ في تعزيز الصفات الخضرية والكيميائية للنبات.

5-2 التوصيات

- ❖ استثمار المركبات الفعالة التي تم تحديدها في هذه الدراسة تمتلك بعض الإمكانيات البيولوجية الهامة لتطوير العقاقير الطبية مستقبلاً.
- ❖ دراسة تأثير منظمات النمو الأخرى المضافة للوسط الغذائي في الإكثار الدقيق لمزارع الأفرع الخضرية.
- ❖ إجراء دراسات مستقبلية حول تأثير عوامل فيزيائية أخرى مثل أشعة كاما والليزر والمجال المغناطيسي لما لها من تأثير إيجابي ينعكس على زيادة المركبات الايض الثانوية.
- ❖ اختيار تأثير أنواع أخرى من الإجهادات والمحفزات الكيميائية وبمستويات مختلفة لما لها من تأثير فعال في تقدير الإنزيمات.
- ❖ إجراء دراسة لبيان مدى تأثير المطفرات الكيميائية على محتوى نبات النعناع الفلفلي من المركبات الايضية وزيادة تركيزها.

6- المصادر

6-1- المصادر العربية

إبراهيم، عاطف محمد ومحمد نظيف حجاج خليف وإبراهيم درويش مصطفى (2000). الطرق العملية لتقدير مكونات الكيميائية في الانسجة النباتية. منشأة المعارف الإسكندرية، الطبعة الأولى، جمهورية مصر العربية

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

ابو زيد، الشحات نصر (2003). الهرمونات النباتية والتطبيقات الزراعية. الطبعة الثالثة. الدار العربية للنشر والتوزيع. مصر.

الاسدي، ماهر حميد سلمان (2018). أساسيات النباتات الطبية ومركباتها الفعالة. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة القاسم الخضراء – كلية الزراعة. دار الكتب والوثائق ببغداد (دار الوارث للطباعة والنشر). 324.

جروني، عيسى (2020). فيسيولوجيا البيئة والنبات. قسم بيولوجيا البيئة والنبات – كلية علوم الطبيعة والحياة – جامعة الأخوة منتوري قسنطينة – الجزائر. ص. 234.

الخفاجي، مكي علوان (2014). منظمات النمو النباتية، تطبيقاتها واستعمالاتها البستنية. الدار الجامعية للطباعة والنشر والترجمة. جامعة بغداد. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. العراق.

الخليفة، ناصر بن صالح. (2002). دور الزراعة النسيجية في اكثار نباتات الحدائق والمنتزهات. مدينة الملك عبد العزيز للعلوم والتقنية. المملكة العربية السعودية.

الربيعي، داود جاسم (2013). الموسوعة العربية للعلاج بالأعشاب الطبية. دار احياء التراث العربي. بيروت -لبنان. المجلد الأول. جزء (1-4)، ص (645-646).

ساجت، ثمينة فرحان كاظم (2021). تأثير التسميد بالمخصب الحيوي والرش بمستخلص الشمبلان و Phenylalanine في نمو وحاصل الشبنت ومحتواه من الزيت وبعض المركبات الفعالة. أطروحة الدكتوراه. قسم البستنة وكلية الزراعة. جامعة الكوفة.

الساهاوكي، مدحت ووهيب، كريمة احمد (1990). تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي / جمهورية العراق.

السعيدى. عبير عبد الرحمن (2022). تأثير منظمات النمو والجيتوسان في نمو وإنتاج المواد الفعالة لنبات أكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* L. خارج الجسم الحي. رسالة ماجستير. كلية العلوم. جامعة القادسية. العراق.

شكري، وفاء محمد والمعيقل، ريم محمد (2013). زراعة الخلايا والأنسجة النباتية. مكتبة المتنبى. الدمام – المملكة العربية السعودية.

الشمري، الحان حامد (2022). تأثير منظمات النمو والميلاتونين في نمو وإنتاج المواد الفعالة لنبات النعناع الفلفلي. *Mantha piperita* L. خارج الجسم الحي. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة القادسية. العراق.

الصحاف، فاضل حسين (1989). تغذية النبات التطبيقي. مطبعة دار الحكمة. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. العراق، ص 259.

الصوفي، محمد عبد الرزاق علي (2001). فصل إنزيم البيروكسيداز وتنقيته وتوصيفه من الحليب النباتي الديباج *Procera Calotropis* وإمكانية استخدامه التطبيقية. رسالة ماجستير. قسم الصناعات الغذائية. كلية الزراعة. جامعة بغداد. ع ص 96.

الطائي، علاء هاشم (2020). مدونة زراعة النعناع -كلية الزراعة والغابات -جامعة الموصل -العراق portal. arid-

طه، مريم واثق (2020). تأثير المانتول وبعض منظمات النمو النباتية في إكثار وإنتاج الزيوت الطيارة لنبات البردقوش *Origanum vulgare* L. خارج الجسم الحي. رسالة ماجستير. كلية الزراعة- جامعة بغداد – العراق.

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

الفتلاوي، شروق حاكم كاظم (2023). تأثير بعض المحفزات الفيزيائية والكيميائية في بعض المؤشرات الفسيولوجية وإنتاج المركبات الايضية الثانوية في نبات الحلبة *Trigonella Foenum-graecum*. L. خارج الجسم الحي. رسالة ماجستير- كلية الزراعة- جامعة كربلاء.

الناجي، سالي بدويز (2012). تأثيرات مستخلصات ورق الزيتون والكالس على بعض معايير الكيمياء الحيوية والمناعية في الفئران المصابة بالسكري المحدث تجريبيا بواسطة لالوسكان. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة النهرين. العراق.

محمد، عبد المطلب سيد ومبشر صالح عمر (1990). المفاهيم الرئيسية في زراعة الخلايا والأنسجة والاعضاء للنبات. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة الموصل. ص146.

نصر الله، الحسن علي (2023). تأثير استخدام UV وحامض الساليسيليك في إنتاج بعض المركبات الفعالة لنبات إكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* L. خارج الجسم الحي. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة كربلاء. العراق.

نوفل، امام محمد صابر وفردوس عبد السلام منيسي (2019). الزيوت العطرية ونباتاتها. الجزء الأول. المكتبة الأكاديمية. ص 572.

هيكل، محمد السيد وعبد الله عبد الرزاق عمر (2012). النباتات الطبية والعطرية كيميائياً. انتاجها. فوائدها. منشأة المعارف بالإسكندرية. ص 514.

- Abbas, S., Sultana, S., Chishti, A. W., Akram, M., Ali Shah, S. M. A., Sareen, A., ... and Aftab, A. (2022).** *Mentha piperita*: Medicinal uses and pharmacological properties. *Int. J. Sch. Res. Biol. Pharm*, 1, 041-045.
- Aebi, H. (1984).** [13] Catalase in vitro. In *Methods in enzymology* (Vol. 105, pp. 121-126). Academic press.
- AEL-Shennawy, O., G El-Torky, M., E El-Mokadem, H., and I Abass, B. (2017).** Effect of Nacl and Phenylalanine on the Production of some Secondary Metabolites in In Vitro Cultures of *Mentha longifolia*. *Alexandria Science Exchange Journal*, 38(July-September), 577-587.
- Ahmad, N., and Strnad, M. (Eds.). (2021).** *Meta-topolin: A Growth Regulator for Plant Biotechnology and Agriculture*. Springer Singapore.
- Al Ghasheem, N., STĂNICĂ, F., PETICILĂ, A. G., and Venat, O. (2018).** In vitro effect of various sterilization techniques on peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) explants. *Scientific Papers*, 227, 227-234.
- Al-Amery, L. K. J., and ALjubori, M. T. (2020).** Effect of benzyl adenine and meta-topolin on in vitro propagation of c-35 citrange rootstocks. *Int. J. Agricult. Stat. Sci*, 16(1), 1639-1643.
- Al-Asadi, R. A. A., and Al-Jebory, K. D. (2020).** Effect of spraying amino acids on growth and yield of bitter gourd plant genotypes *Momordica charantia* L. and its charantin content. *Iraqi Journal of Agricultural Sciences*, 51(4). 991-1000.
- Al-Bayati, F. A. (2009).** Isolation and identification of antimicrobial compound from *Mentha longifolia* L. leaves grown wild in Iraq. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 8, 1-6.
- Al-Juhaimi, F., and Ghafoor, K. (2011).** Total phenols and antioxidant activities of leaf and stem extracts from coriander, mint and parsley grown in Saudi Arabia. *Pak. J. Bot*, 43(4), 2235-2237.

- Al-Maqtari, Q. A., Rehman, A., Mahdi, A. A., Al-Ansi, W., Wei, M., Yanyu, Z., ... and Yao, W. (2022).** Application of essential oils as preservatives in food systems: challenges and future perspectives—a review. *Phytochemistry Reviews*, 21(4), 1209-1246.
- Al-Taei, Y. I. H., and Al-Shamarey, I. A. H. (2019).** Evaluation of water stress effect on some chemical properties of several sunflower varieties callus treated with colocynth fruit extract. *Plant Archives*, 19(2), 430-434.
- Alvarenga, J. P., Pacheco, F. V., Bertolucci, S. K. V., Silva, S. T., de Oliveira, T., and Pinto, J. E. B. P. (2017, April).** In vitro culture of *Mentha viridis*: quality and intensity of light on growth and production of volatiles. In *VII International Symposium on Production and Establishment of Micropropagated Plants 1224* (pp. 175-182).
- Amzazi, S., Ghouami, S., Bakri, Y., Idrissi, A. I., Fkih-Tétouani, S., and Benjouad, A. (2003).** Human immunodeficiency virus type 1 inhibitory activity of *Mentha longifolia*. *Therapies*, 58(6), 531-534.
- Anand, U., Jacobo-Herrera, N., Altemimi, A., and Lakhssassi, N. (2019).** A comprehensive review on medicinal plants as antimicrobial therapeutics: potential avenues of biocompatible drug discovery. *Metabolites*, 9(11), 258.
- Aphalo, P. J. (2006).** light signals and the growth and development of plants-a gentle introduction. *The plant photobiolo.*, 1, 39.
- Ashraf, M.A., Iqbal, M., Rasheed, R., Hussain, I., Riaz, M., Arif, M.S., Ahmad, P., Ahanger, M.A., and Singh, V.P. (2018).** *Plant metabolites and regulation under environmental stress*. Academic Press, Cambridge;153–167.
- Babu, G. A., Mosa Christas, K., Kowsalya, E., Ramesh, M., Sohn, S. I., and Pandian, S. (2022).** Improved sterilization techniques for successful in vitro micropropagation. In *Commercial Scale Tissue Culture for Horticulture and Plantation Crops* (pp. 1-21). Singapore: Springer Nature Singapore.

- Baday, S. J. (2020, November).** Sugarcane of Rapid Multiplication by Callogenesis. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1660, No. 1, p. 012005). IOP Publishing.
- Badifu, G. I. O. (1991).** Chemical and physical analyses of oils from four species of Cucurbitaceae. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 68, 428-432.
- Bajguz, A., and Piotrowska-Niczyporuk, A. (2023).** Biosynthetic pathways of hormones in plants. *Metabolites*, 13(8), 884.
- Barbalho, S.M., Trevisan¹, S.C.C., Menezes, A. P. P. and Guiguer, É. L. (2017).** Properties of *Mentha Piperita*: A Brief Review. *World Journal of Pharmaceutical and Medical Research*. 3(1), 309-313.
- Barros, J., and Dixon, R. A. (2020).** Plant phenylalanine/tyrosine ammonia-lyases. *Trends in plant science*, 25(1), 66-79.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. A., and Teare, I. D. (1973).** Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39, 205-207.
- Behn, H., Albert, A., Marx, F., Noga, G., and Ulbrich, A. (2010).** Ultraviolet-B and photosynthetically active radiation interactively affect yield and pattern of monoterpenes in leaves of peppermint (*Mentha × piperita* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(12), 7361-7367.
- Bekircan, T., Yaşar, A., Yıldırım, S., Sökmen, M., and Sökmen, A. (2018).** Effect of cytokinins on in vitro multiplication, volatiles composition and rosmarinic acid content of *Thymus leucotrichus* Hal. shoots. *3 Biotech*, 8, 1-9.
- Brahmi, F., Abdenour, A., Bruno, M., Silvia, P., Alessandra, P., Danilo, F., ... and Mohamed, C. (2016).** Chemical composition and in vitro antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities of the essential oils of *Mentha pulegium* L. and *Mentha rotundifolia* (L.) Huds growing in Algeria. *Industrial Crops and Products*, 88, 96-105.
- Brud, W. S. (2020).** Industrial uses of essential oils. In *Handbook of Essential Oils* (pp. 1029-1040). CRC Press.

- Búfalo, J., Rodrigues, T. M., de Almeida, L. F. R., dos Santos Tozin, L. R., Marques, M. O. M., and Boaro, C. S. F. (2016).** PEG-induced osmotic stress in *Mentha x piperita* L.: structural features and metabolic responses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 105, 174-184.
- Butnariu, M. (2021).** Plants as source of essential oils and perfumery applications. *Bioprospecting of plant biodiversity for industrial molecules*, 261-292.
- Calvo, P., Nelson, L., and Kloepper, J. W. (2014).** Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and soil*, 383, 3-41.
- Candan, N., and Tarhan, L. (2012).** Tolerance or sensitivity responses of *Mentha pulegium* to osmotic and waterlogging stress in terms of antioxidant defense systems and membrane lipid peroxidation. *Environmental and experimental botany*, 75, 83-88.
- Carvalho, S. D., Schwieterman, M. L., Abrahan, C. E., Colquhoun, T. A., and Folta, K. M. (2016).** Light quality dependent changes in morphology, antioxidant capacity, and volatile production in sweet basil (*Ocimum basilicum*). *Frontiers in plant science*, 7, 1328.
- Catoni, R., Granata, M. U., Sartori, F., Varone, L., and Gratani, L. (2015).** *Corylus avellana* responsiveness to light variations: morphological, anatomical, and physiological leaf trait plasticity. *Photosynthetica*, 53, 35-46.
- Cavallaro, V., Pellegrino, A., Muleo, R., and Forgione, I. (2022).** *Light and Plant Growth Regulators on In Vitro Proliferation*. *Plants* 2022, 11, 844.
- Chen, D., Shao, Q., Yin, L., Younis, A., and Zheng, B. (2019).** Polyamine function in plants: metabolism, regulation on development, and roles in abiotic stress responses. *Frontiers in plant science*, 9, 1945.
- Chen, T. H., Tsai, M. J., Chang, C. S., Xu, L., Fu, Y. S., and Weng, C. F. (2023).** The exploration of phytochemicals theoretically combats SARS-CoV-2 pandemic against virus entry, viral replication and immune evasion. *Journal of Infection and Public Health*, 16(1), 42-54.

- Choi, S. H., Jang, G. W., Choi, S. I., Jung, T. D., Cho, B. Y., Sim, W. S., ... and Lee, O. H. (2019).** Development and validation of an analytical method for carnosol, carnosic acid and rosmarinic acid in food matrices and evaluation of the antioxidant activity of rosemary extract as a food additive. *Antioxidants*, 8(3), 76.
- Coleman, J., Evans, D., and Kearns, A. (2020).** Plant cell culture. Taylor & Francis.
- Croteau, R., Kutchan, T. M., and Lewis, N. G. (2000).** Natural products (secondary metabolites). *Biochemistry and molecular biology of plants*, 24, 1250-1319.
- Dąbrowski, P., Cetner, M. D., Samborska, I. A., and Kalaji, M. H. (2015).** Measuring light spectrum as a main indicator of artificial sources quality. *Journal of Coastal Life Medicine*, 3(5), 400-406.
- Daglia, M., Pasdaran, A., Ahandani, E. A., and Selamoglu, Z. (2023).** Medicinal plants as a hopeful therapeutic approach against COVID-19 infection. *Central Asian Journal of Medical and Pharmaceutical Sciences Innovation*, 1(3), 1.
- Davies, P. J. (2010).** The plant hormones: their nature, occurrence, and functions. In *Plant hormones* (pp. 1-15). Springer, Dordrecht.
- Dehghani, N., Afsharmanesh, M., Salarmoini, M., and Ebrahimnejad, H. (2018).** Characterization of pennyroyal (*Mentha pulegium*) essential oil as an herbal, antibacterial, and antioxidant substance. *Comparative Clinical Pathology*, 27, 1575-1581.
- 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.
- Dorman, H. D., Koşar, M., Kahlos, K., Holm, Y., and Hiltunen, R. (2003).** Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(16), 4563-4569.
- Eftekhari, A., Khusro, A., Ahmadian, E., Dizaj, S. M., Hasanzadeh, A., and Cucchiarini, M. (2021).** Phytochemical and nutra-pharmaceutical attributes of

Mentha spp.: A comprehensive review. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(5), 103106.

Eichhorn Bilodeau, S., Wu, B. S., Rufyikiri, A. S., MacPherson, S., and Lefsrud, M. (2019). An update on plant photobiology and implications for cannabis production. *Frontiers in plant science*, 10, 296. doi:10.3389/fpls.2019.00296.

El-Naggar, H. M., and Osman, A. R. (2024). Enhancing growth and bioactive metabolites characteristics in *Mentha pulegium* L. via silicon nanoparticles during in vitro drought stress. *BMC Plant Biology*, 24(1), 657.

EMA (European Medicines Agency). (2020). Assessment report on *Mentha x piperita* L., folium and aetheroleum. Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). Pp 101.

Erasto, P., and Viljoen, A. M. (2008). Limonene-a review: biosynthetic, ecological and pharmacological relevance. *Natural Product Communications*, 3(7), 1934578X0800300728.

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.

Fletcher, R. S., Slimmon, T., and Kott, L. S. (2010). Environmental factors affecting the accumulation of rosmarinic acid in spearmint (*Mentha spicata* L.) and peppermint (*Mentha piperita* L.). *The Open Agriculture Journal*, 4(1).

Franz, C., Bauer, R., Carle, R., Tedesco, D., Tubaro, A., and Zitterl-Eglseer, K. (2007). Study on the assessment of plants/herbs, plant/herb extracts and their naturally or synthetically produced components as ‘additives’ for use in animal production. *EFSA Supporting Publications*, 4(4), 1-297.

Gaafar, A. A., Nooman, M. U., Ibrahim, E. A., Ali, M. M., and Alkashef, A. S. (2018). Prophylactic and Therapeutic Uses of Egyptian (*Mentha. spicata* L., *Mentha piperita* L. and *Ocimum basilicum* L.) Stalks as Agro-industrial Byproducts. *Journal of Biological Science*. 18(7):354-363.

- Gaosheng, H., and Jingming, J. (2012).** Production of useful secondary metabolites through regulation of biosynthetic pathway in cell and tissue suspension culture of medicinal plants. *Recent advances in plant in vitro culture*, 10, 53038.
- George, E. F., Hall, M. A., and De Klerk, G. J. (2008).** Plant propagation by tissue culture 3rd Edition. *The Netherland, The Back Ground Springer*, 65-175.
- Goodwin, T. W. (1976).** Chemistry and Biochemistray of plant pigment. 2 nd Academic. Press. London. NewYork. San Francisco, 373, 1-10.
- Gupta, S. D., and Agarwal, A. (2017).** Light emitting diodes for agriculture. *LED supplementary lighting*, 27-36.
- Hairuddin, R., Idris, M., and Nur, K. (2023).** Organogenesis of corn plants (*Zea mays* L.) at various concentrations of auxin and cytokinin plant growth regulators in vitro. *Asian Journal of Agriculture and Rural Development*, 13(1), 91-97.
- 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(22), 3087.
- Hatami, M., Naghdi Badi H, and Ghorbanpour, M. (2019).** Nano-elicitation of second- ary pharmaceutical metabolites in plant cells: a review. *J Med Plants*.;18:6–36.
- Hayat, S., and Ahmed, A. (2007).** Salicylic acid: A plan hormone (Published in Springer) 401.
- Herbert, D., Phipps, P. J., and Strange, R. E. (1971).** Chapter III chemical analysis of microbial cells. In *Methods in microbiology* (Vol. 5, pp. 209-344). Academic press.
- Hildebrandt, T. M., Nesi, A. N., Araújo, W. L., and Braun, H. P. (2015).** Amino acid catabolism in plants. *Molecular plant*, 8(11), 1563-1579.
- Hosseini-fard, M., Stefaniak, S., Ghorbani Javid, M., Soltani, E., Wojtyla, L., and Garnczarska, M. (2022).** Contribution of exogenous proline to abiotic stresses

tolerance in plants: a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 5186. doi: 10.3390/ijms23095186. PMID: 35563577; PMCID: PMC9101538.

Hu, F., Zhang, Y., and Guo, J. (2023). Effects of drought stress on photosynthetic physiological characteristics, leaf microstructure, and related gene expression of yellow horn. *Plant Signaling & Behavior*, 18(1), 2215025.

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

Hyun, M. W., Yun, Y. H., Kim, J. Y., and Kim, S. H. (2011). Fungal and plant phenylalanine ammonia-lyase. *Mycobiology*, 39(4), 257-265.

Ingrisano, R., Tosato, E., Trost, P., Gurrieri, L., and Sparla, F. (2023). Proline, cysteine and branched-chain amino acids in abiotic stress response of land plants and microalgae. *Plants*, 12(19), 3410.

Jha, P., Ochatt, S. J., and Kumar, V. (2020). WUSCHEL: a master regulator in plant growth signaling. *Plant cell reports*, 39, 431-444.

Johns, A. E. (2019). *Lessons for plant micropropagation*. Educreation Publishing.

Kawade, K., Tabeta, H., Ferjani, A., and Hirai, M. Y. (2023). The roles of functional amino acids in plant growth and development. *Plant and Cell Physiology*, 64(12), 1482-1493.

Khan, N.; Maqsood, A.; Ishfaq, H.; Nadeem, A.; Shaghef, E. and Muhammad, A. (2015). Optimizing The Concentrations of Plant Growth Regulators for in vitro Shoot Cultures, Callus Indication and shoot Regeneration from callus of Grapes. manuscript received 24th July - revised manuscript received 2nd January. *Int. Sci. Vigne Vin*, 49,37-45.

Khan, S., Shende, S. M., and Bonde, D. R. (2021). In vitro micropropagation of mint (Mentha). *World J. Pharm. Pharmaceut. Sci*, 10, 1688-1692.

Kijne, J. W. (2006). Abiotic stress and water scarcity: identifying and resolving conflicts from plant level to global level. *Field Crops Research*, 97(1), 3-18.

- Kim, M. H., Park, S. J., and Yang, W. M. (2020).** Inhalation of essential oil from *Mentha piperita* ameliorates PM10-exposed asthma by targeting IL-6/JAK2/STAT3 pathway based on a network pharmacological analysis. *Pharmaceuticals*, 14(1), 2.
- Kintzios, S., Papageorgiou, K., Yiakoumettis, I., Baričević, D., and Kušar, A. (2010).** Evaluation of the antioxidants activities of four Slovene medicinal plant species by traditional and novel biosensory assays. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 53(3), 773-776.
- Kozai, T. (2019).** Towards sustainable plant factories with artificial lighting (PFALs) for achieving SDGs. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 12(5), 28-37. doi:10.25165/j. ijabe.20191205.5177.
- Kumari, P., Thakur, R., Singh, N., Rastogi, A., and Yadav, S. (2023).** Relationships of oxidative stress and ultraviolet-B radiation in plants. In *UV-B Radiation and Crop Growth* (pp. 277-291). Singapore: Springer Nature Singapore.
- Lama, D. I., and Neamah, S. I. (2023).** Metabolic responses to in vitro in drought-tolerant in a *Cucurbita pepo* L. elicited by salicylic acid and zinc oxide nanoparticles. *Iraqi Journal of Agricultural Sciences*, 54(5), 1223-1233.
- Lee, K., Kim, J. H., Park, O. S., Jung, Y. J., and Seo, P. J. (2022).** Ectopic expression of WOX5 promotes cytokinin signaling and de novo shoot regeneration. *Plant Cell Reports*, 41(12), 2415-2422.
- Li, Y., Kong, D., Fu, Y., Sussman, M. R., and Wu, H. (2020).** The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant physiology and biochemistry*, 148, 80-89.
- Li, Y., Liu, Y., Ma, A., Bao, Y., Wang, M., and Sun, Z. (2017).** In vitro antiviral, anti-inflammatory, and antioxidant activities of the ethanol extract of *Mentha piperita* L. *Food science and biotechnology*, 26, 1675-1683.
- Lu, C., Chen, H., Teng, Z., Yuan, L., Ma, J., He, H., ... and Shi, Y. (2018).** Effects of N fertilization and maize straw on the dynamics of soil organic N and amino

acid N derived from fertilizer N as indicated by ¹⁵N labeling. *Geoderma*, 321, 118-126.

Łyczko, J., Piotrowski, K., Kolasa, K., Galek, R., and Szumny, A. (2020). *Mentha piperita* L. micropropagation and the potential influence of plant growth regulators on volatile organic compound composition. *Molecules*, 25(11), 2652.

Macedo, A. F., Leal-Costa, M. V., Tavares, E. S., Lage, C. L. S., and Esquibel, M. A. (2011). The effect of light quality on leaf production and development of in vitro-cultured plants of *Alternanthera brasiliana* Kuntze. *Environmental and experimental botany*, 70(1), 43-50.

Mahendran, G., and Rahman, L. U. (2020). Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological updates on Peppermint (*Mentha* × *piperita* L.)—A review. *Phytotherapy Research*, 34(9), 2088-2139.

Mallick, B., Sinha, S., and Roy, D. (2016). Evaluation of antioxidative potential of field grown and tissue culture derived *Mentha piperita* L. plants. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 5(3), 382-391.

Mazid, M., Khan, T. A., and Mohammad, F. (2011). Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants.

Mazri, M. A., Koufan, M., Rham, I., Radi, H., and Belkoura, I. (2023). Use of Tissue Culture Methods to Improve Stress Tolerance in Plants. In *New Frontiers in Plant-Environment Interactions: Innovative Technologies and Developments* (pp. 425-460). Cham: Springer Nature Switzerland.

Meyer, V. R. (2014). *Practical high-performance liquid chromatography*. John Wiley & Sons Inc.

Mieso, B., and Befu, A. (2020). Physical Characteristics of the Essential Oil Extracted from Released and Improved Lemongrass Varieties, Palmarosa and Citronella Grass. *Agriculture and Food Sciences Research*, 7(1), 65-68.

Mishra, N., Jiang, C., Chen, L., Paul, A., Chatterjee, A., and Shen, G. (2023). Achieving abiotic stress tolerance in plants through antioxidative defense

mechanisms. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1110622. doi: 10.3389 /fpls. 2023.1110622. PMID: 37332720; PMCID: PMC10272748.

Moghtader, M. (2013). In vitro antifungal effects of the essential oil of *Mentha piperita* L. and its comparison with synthetic menthol on *Aspergillus niger*. *African Journal of Plant Science*, 7(11), 521-527.

Mohamad, M. E., Awad, A. A., Majrashi, A., Abd Esadek, O. A., El-Saadony, M. T., Saad, A. M., and Gendy, A. S. (2022). In vitro study on the effect of cytokines and auxins addition to growth medium on the micropropagation and rooting of *Paulownia* species (*Paulownia* hybrid and *Paulownia tomentosa*). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(3), 1598-1603.

Muntean, D., Licker, M., Alexa, E., Popescu, I., Jianu, C., Buda, V., ... and Danciu, C. (2019). Evaluation of essential oil obtained from *Mentha* × *piperita* L. against multidrug-resistant strains. *Infection and Drug Resistance*, 2905-2914.

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

Murphy, K. M., Matanguihan, J. B., Fuentes, F. F., Gómez-Pando, L. R., Jellen, E. N., Maughan, P. J., and Jarvis, D. E. (2018). Quinoa breeding and genomics. *Plant breeding reviews*, 42, 257-320.

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.

Nabil, A. (2022). Effect of different plant growth regulators on plant regeneration and callus induction of *Plumbago auriculata* and some secondary metabolites content. *Al-Azhar Journal of Pharmaceutical Sciences*, 65(1), 40-49.

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.

- Naik, P. S., and Buckseth, T. (2018).** Recent advances in virus elimination and tissue culture for quality potato seed production. *Biotechnologies of Crop Improvement, Volume 1: Cellular Approaches*, 131-158.
- Nardini, M. (2022).** Phenolic compounds in food: Characterization and health benefits. *Molecules*, 27(3), 783.
- Nawaz, M., Anjum, S. A., Ashraf, U., Azeem, F., and Wang, Z. (2020).** Antioxidant defense system and reactive oxygen species (ROS) interplay in plants under drought condition. *Handbook of Climate Change Management: Research, Leadership, Transformation*, 1-25.
- Nhut, D. T. (2022).** General information: Some aspects of plant tissue culture. In *Plant tissue culture: New techniques and application in horticultural species of tropical region* (pp. 1-23). Singapore: Springer Singapore.
- Orsini, F., Pennisi, G., Zulfqar, F., and Gianquinto, G. (2020).** Sustainable use of resources in plant factories with artificial lighting (PFALs). *European Journal of Horticultural Science*, 85(5), 297-309.
- Oualdi, I., Elfazazi, K., Azzouzi, H., Oussaid, A., and Touzani, R. (2023).** Chemical composition and antimicrobial properties of Moroccan *Mentha pulegium* L. essential oil. *Materials Today: Proceedings*, 72, 3768-3774.
- Ozyigit, I. I., Dogan, I., Hocaoglu-Ozyigit, A., Yalcin, B., Erdogan, A., Yalcin, I. E., ... and Kaya, Y. (2023).** Production of secondary metabolites using tissue culture-based biotechnological applications. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1132555.
- Pergolizzi Jr, J. V., Taylor Jr, R., LeQuang, J. A., Raffa, R. B., and NEMA Research Group. (2018).** The role and mechanism of action of menthol in topical analgesic products. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*, 43(3), 313-319.
- Pistelli, L., Noccioli, C., D'Angiolillo, F., and Pistelli, L. (2013).** Composition of volatile in micropropagated and field grown aromatic plants from Tuscany Islands. *Acta Biochimica Polonica*, 60(1), 43-50.

- Pliego, A. B., Tavakoli, M., Khusro, A., Seidavi, A., Elghandour, M. M., Salem, A. Z., ... and Rene Rivas-Caceres, R. (2022).** Beneficial and adverse effects of medicinal plants as feed supplements in poultry nutrition: A review. *Animal Biotechnology*, 33(2), 369-391.
- Proestos, C., Lytoudi, K., Mavromelanidou, O. K., Zoumpoulakis, P., and Sinanoglou, V. J. (2013).** Antioxidant capacity of selected plant extracts and their essential oils. *Antioxidants*, 2(1), 11-22.
- Radkowski, A., Radkowska, I., Bocianowski, J., Sladkovska, T., and Wolski, K. (2020).** The effect of foliar application of an amino acid-based biostimulant on lawn functional value. *Agronomy*, 10(11), 1656.
- Rahimi, Y., Taleei, A., and Ranjbar, M. (2017).** Changes in the expression of key genes involved in the biosynthesis of menthol and menthofuran in *Mentha piperita* L. under drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39, 1-9.
- Rajput, V. D., Harish, Singh, R. K., Verma, K. K., Sharma, L., Quiroz-Figueroa, F. R., ... and Mandzhieva, S. (2021).** Recent developments in enzymatic antioxidant defence mechanism in plants with special reference to abiotic stress. *Biology*, 10(4), 267.
- Rakoczy-Trojanowska, M. (2002).** Alternative methods of plant transformation-a short review. *Cellular and molecular biology letters*, 7(3), 849-858.
- Ramawat, K. G. (Ed.). (2009).** *Desert plants: biology and biotechnology*. Springer Science & Business Media.
- Rani, R., and Sharma, S. (2022).** Recent advances in medicinal applications of essential oil. *Materials Today: Proceedings*, 68, 891-898.
- Reham, M. S., Khattab, M. E., Ahmed, S. S., and Kandil, M. A. M. (2016).** Influence of foliar spray with phenylalanine and nickel on growth, yield quality and chemical composition of genoveser basil plant. *African Journal of Agricultural Research*, 11(16), 1398-1410.

- Roy, D., Mallick, B., and Samanta, D. (2020).** Augmentation of antioxidative potential of in vitro propagated *Mentha piperita* L. *Indian Journal of Experimental Biology*, 131-137.
- Sabzalain, M. R., Heydarizadeh, P., Zahedi, M., Boroomand, A., Agharokh, M., Sahba, M. R., and Schoefs, B. (2014).** High performance of vegetables, flowers, and medicinal plants in a red-blue LED incubator for indoor plant production. *Agronomy for sustainable development*, 34, 879-886.
- Saengtharatip, S., Goto, N., Kozai, T., and Yamori, W. (2020).** Green Light Penetrates Inside Crisp Head Lettuce Leading to Chlorophyll and Ascorbic Acid Content Enhancement. *Acta Hort.* 1273, 261–270.
- Salehi, B., Valussi, M., Jugran, A. K., Martorell, M., Ramírez-Alarcón, K., Stojanović-Radić, Z. Z., ... and Sharifi-Rad, J. (2018).** *Nepeta* species: From farm to food applications and phytotherapy. *Trends in food science & technology*, 80, 104-122.
- Schlatmann, J. E., ten Hoopen, H. J., and Heijnen, J. J. (2020).** Large-scale production of secondary metabolites by plant cell cultures. In *Plant Cell Culture Secondary Metabolism Toward Industrial Application* (pp. 11-60). Crc Press.
- Scot, R. and S. Leonard, S. (2006).** New functions for amino acids: effects on gene transcription and translation. *Am. J. Clin. Nut.* 83(2): 500-507.
- Seleiman, M. F., Al-Suhaibani, N., Ali, N., Akmal, M., Alotaibi, M., Refay, Y., ... and Battaglia, M. L. (2021).** Drought stress impacts on plants and different approaches to alleviate its adverse effects. *Plants*, 10(2), 259.
- Shapowal, O., and Mozharova, I. (2020).** A comparative study of application of multifunctional fertilizers based on amino acids and trace elements for winter wheat. In *BIO Web of Conferences* (Vol. 17, p. 00251). EDP Sciences.
- Sharma, M., and Gautam, D. (2022).** Phytoconstituents and medicinal value of *Mentha piperita*. *Modern Phytomorphology*, 15, 156-160.

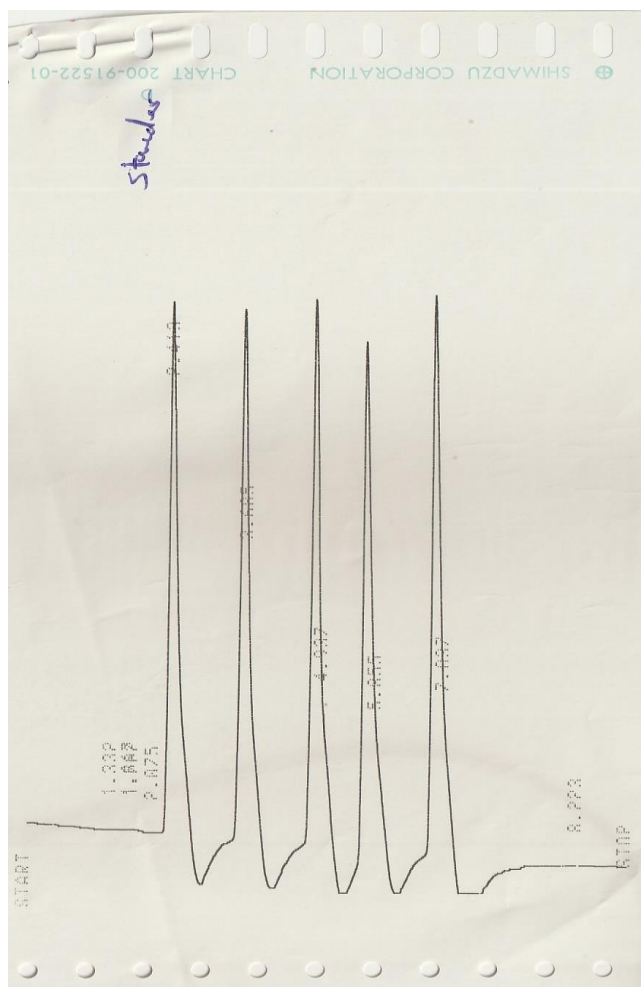
- Sharma, T., Kaur, A., Saajan, S., and Thakur, R. (2020).** Effect of nitrogen on growth and yield of medicinal plants: A review paper. *Eur. J. Mol. Clin. Med*, 7(7), 2771-2776.
- Shelepova, O. V., Tkacheva, E. V., and Golosova, E. V. (2021).** The history of the introduction of peppermint (*Mentha× piperita* L.) in Imperial Russia. In *BIO Web of Conferences* (Vol. 38, p. 00115). EDP Sciences.
- Skrypnik, L., Novikova, A., and Tokupova, E. (2019).** Improvement of phenolic compounds, essential oil content and antioxidant properties of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) depending on type and concentration of selenium application. *Plants*, 8(11), 458.
- Spormann, S., Nadais, P., Sousa, F., Pinto, M., Martins, M., Sousa, B., ... and Soares, C. (2023).** Accumulation of proline in plants under contaminated soils—are we on the same page? *Antioxidants*, 12(3), 666.
- Sudheer, W. N., Praveen, N., Al-Khayri, J. M., and Jain, S. M. (2022).** Role of plant tissue culture medium components. In *Advances in Plant Tissue Culture* (pp. 51-83). Academic Press.
- Sugawara, S., Mashiguchi, K., Tanaka, K., Hishiyama, S., Sakai, T., Hanada, K., ... and Kasahara, H. (2015).** Distinct characteristics of indole-3-acetic acid and phenylacetic acid, two common auxins in plants. *Plant and Cell Physiology*, 56(8), 1641-1654.
- Sujata, M. (2013).** Conservation of Biodiversity Through Tissue Culture, Research and Reviews: *Jornal of Microbiology and Biotechnology*, Volum 2, Issue 3.
- Tabbert, J. M., Schulz, H., and Krähmer, A. (2021).** Increased plant quality, greenhouse productivity and energy efficiency with broad-spectrum LED systems: A case study for thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Plants*, 10(5), 960.
- Tabbert, J. M., Schulz, H., and Krähmer, A. (2022).** Investigation of LED light qualities for peppermint (*Mentha x piperita* l.) cultivation focusing on plant quality and consumer safety aspects. *Frontiers in Food Science and Technology*, 2, 852155. doi: 10.3389/frfst.2022.852155

- Tahira, R. I. F. F. A. T., Naeemullah, M., Akbar, F., and Masood, M. S. (2011).** Major phenolic acids of local and exotic mint germplasm grown in Islamabad. *Pak. J. Bot*, 43, 151-154.
- Taiz, L., and Zeiger, E. (2010).** Plant Physiology. 5th edn Sinauer Associates Inc., Publishers.Sunderland. American Journal of Plant Sciences, Vol.5 No.18.
- 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.
- Trevisan, S. C. C., Menezes, A. P. P., Barbalho, S. M., and Guiguer, É. L. (2017).** Properties of *Mentha piperita*: a brief review. *World J Pharm Med Res*, 3(1), 309-13.
- Trigiano, R. N., and Gray, D. J. (2016).** *Plant tissue culture, development, and biotechnology*. CRC Press.
- Tripathi, M. K., Mishra, N., Tiwari, S., Shyam, C., Singh, S., and Ahuja, A. (2019).** Plant tissue culture technology: Sustainable option for mining high value pharmaceutical compounds. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(2), 102-110.
- Tungmunnithum, D., Thongboonyou, A., Pholboon, A., and Yangsabai, A. (2018).** Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview. *Medicines*, 5(3), 93.
- Vaidya, B. N., Asanakunov, B., Shahin, L., Jernigan, H. L., Joshee, N., and Dhekney, S. A. (2019).** Improving micropropagation of *Mentha* × *piperita* L. using a liquid culture system. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 55, 71-80.
- Vogt, T. (2010).** Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular plant*, 3(1), 2-20.
- Wahab, A., Abdi, G., Saleem, M. H., Ali, B., Ullah, S., Shah, W., ... and Marc, R. A. (2022).** Plants' physio-biochemical and phyto-hormonal responses to alleviate

- the adverse effects of drought stress: A comprehensive review. *Plants*, 11(13), 1620. doi: 10.3390/plants11131620. PMID: 35807572; PMCID: PMC9269229
- Wani, S. H., Sofi, P. A., Gosal, S. S., and Singh, N. B. (2010).** In vitro screening of rice (*Oryza sativa* L) callus for drought tolerance. *Communications in Biometry and Crop Science*, 5(2), 108-115.
- Wei, H., Kong, S., Jayaraman, V., Selvaraj, D., Soundararajan, P., and Manivannan, A. (2023).** *Mentha arvensis* and *Mentha* × *piperita*-vital herbs with myriads of pharmaceutical benefits. *Horticulturae*, 9(2), 224.
- Wijaya, B. K., Hardjo, P. H., and Emantoko, S. (2019, June).** Menthol from the stem and leaf in-vitro *Mentha piperita* Linn. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 293, No. 1, p. 012009). IOP Publishing.
- Wijaya, N. R., Safrina, D., Herera, P. B., and Budiarti, M. (2022).** EFFECT OF NAA AND BAP APPLICATION ON THE GROWTH RESPONSES OF *Mentha* × *piperita* L. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, 15(2), 109-117.
- Williams, M.E. (2011).** Introduction to phytohormones. Doi / 10. 1105 / tpc.110. Tt 0310.
- Wybouw, B., and De Rybel, B. (2019).** Cytokinin—a developing story. *Trends in plant science*, 24(2), 177-185.
- Xia, X. J., Zhou, Y. H., Shi, K., Zhou, J., Foyer, C. H., and Yu, J. Q. (2015).** Interplay between reactive oxygen species and hormones in the control of plant development and stress tolerance. *Journal of experimental botany*, 66(10), 2839-2856.
- Yadav, A., Singh, D., Lingwan, M., Yadukrishnan, P., Masakapalli, S. K., and Datta, S. (2020).** Light signaling and UV-B-mediated plant growth regulation. *Journal of Integrative Plant Biology*, 62(9), 1270-1292.
- Yang, X., Lu, M., Wang, Y., Wang, Y., Liu, Z., and Chen, S. (2021).** Response mechanism of plants to drought stress. *Horticulturae*, 7(3), 50, pp.1-36.

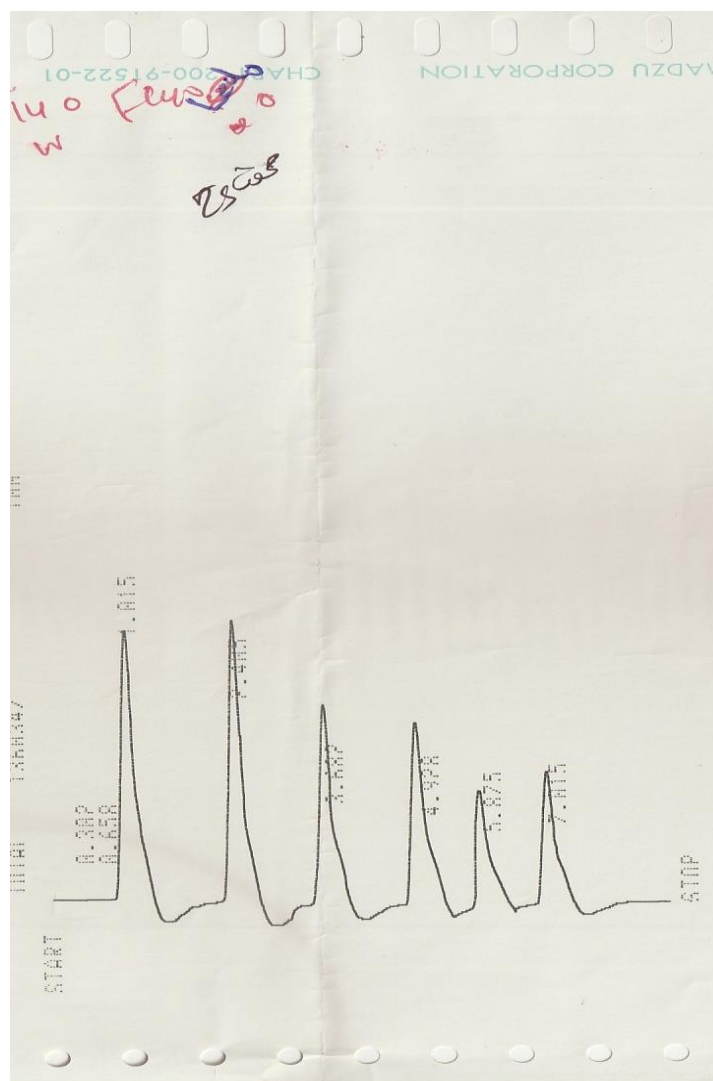
- Yavas, I., Jamal, M. A., Ul Din, K., Ali, S., Hussain, S., and Farooq, M. (2024).** Drought-Induced Changes in Leaf Morphology and Anatomy: Overview, Implications and Perspectives. *Polish Journal of Environmental Studies*, 33(2). pp.1517 -1530.
- Yingngam, B. (2022).** Chemistry of Essential Oils. In *Flavors and Fragrances in Food Processing: Preparation and Characterization Methods* (pp. 189-223). American Chemical Society.
- Yoo, H., Widhalm, J. R., Qian, Y., Maeda, H., Cooper, B. R., Jannasch, A. S., ... and Dudareva, N. (2013).** An alternative pathway contributes to phenylalanine biosynthesis in plants via a cytosolic tyrosine: phenylpyruvate aminotransferase. *Nature communications*, 4(1), 2833.
- Zhang, Q., Liu, M., Mumm, R., Vos, R. C., and Ruan, J. (2021).** Metabolomics reveals the within-plant spatial effects of shading on tea plants. *Tree Physiology*, 41(2), 317-330.

7- الملاحق Appendices



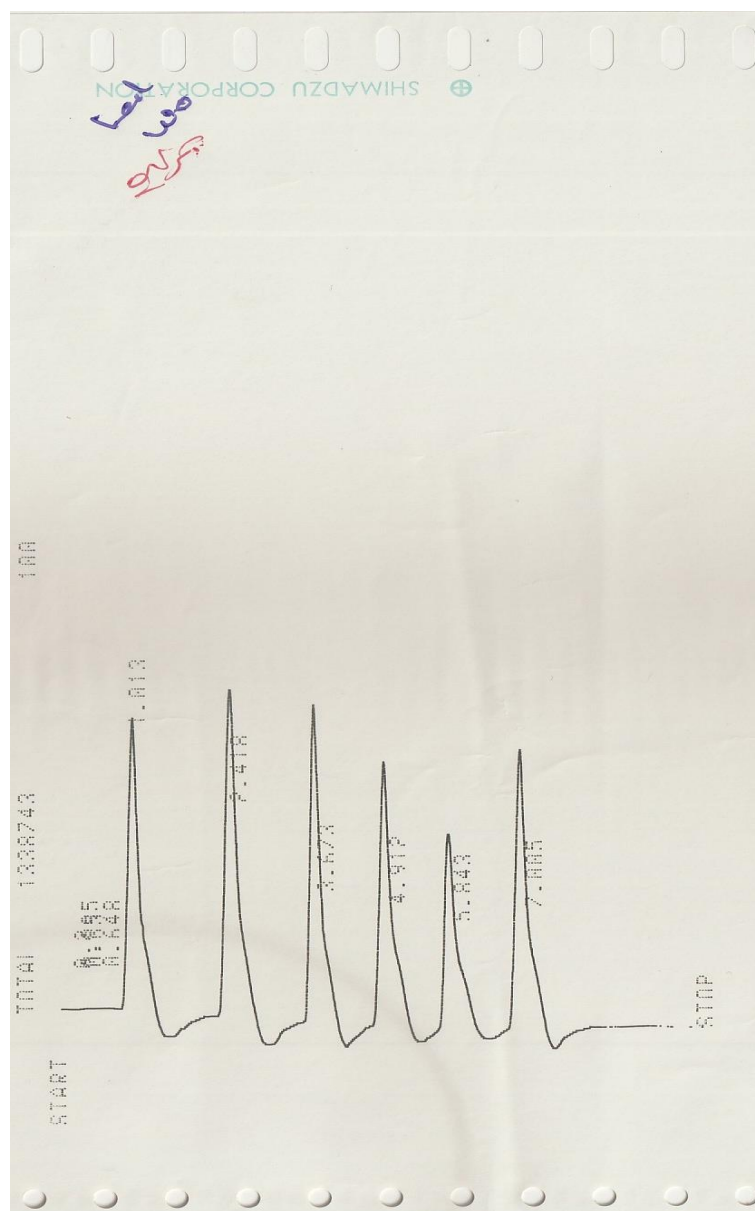
seq	Subjects	Retention Time minute	Area
1	Menthol	2.413	346626
2	2, Menthofuran	3.685	421144
3	Menthy acetate	4.685	439142
4	Menthone	5.855	382345
5	1,8 cineol	7.037	451464

ملحق (1) المحاليل القياسية للمركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي.



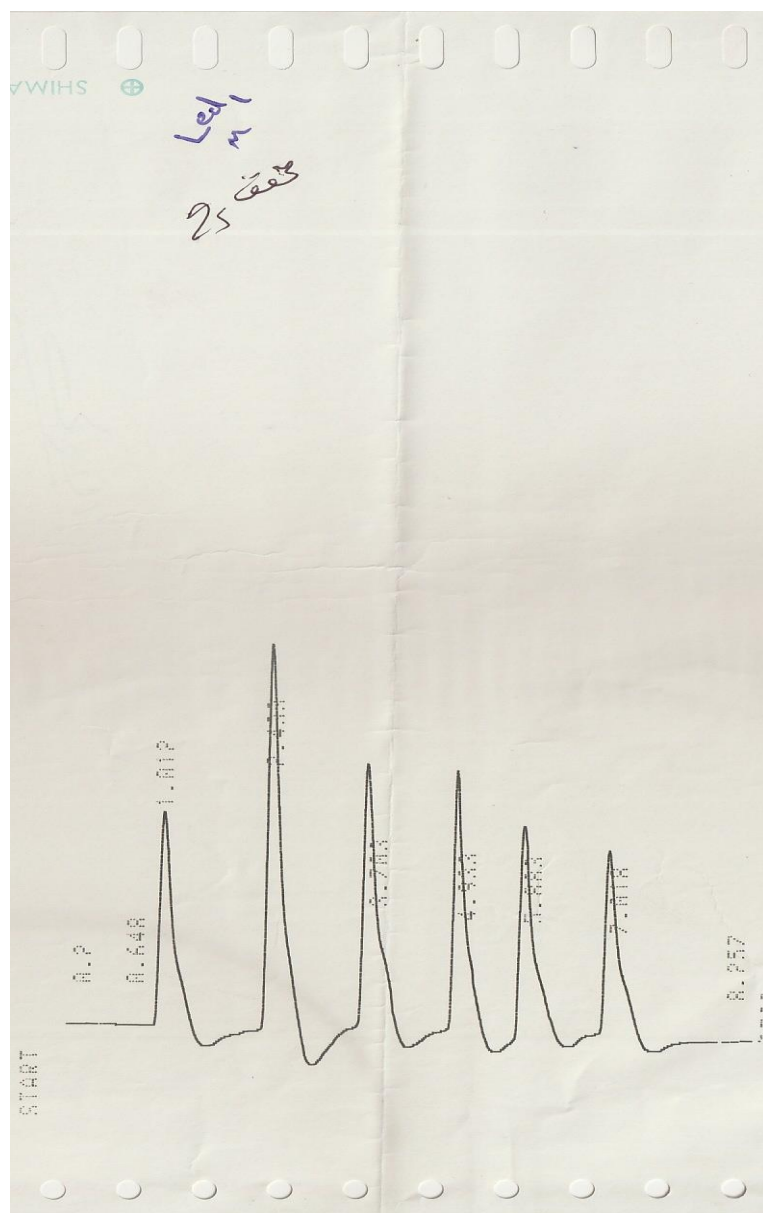
seq	Subjects	Retention Time minute	Area
1	Menthol	2.463	236060
2	2, Menthofuran	3.682	111597
3	Menthy acetate	4.928	178270
4	Menthone	5.875	111534
5	1,8 cineol	7.815	101953

ملحق (2) تأثير الفلورسنت والفنيل الانين بتركيز 0 ملغم لتر⁻¹ في تركيز المركبات الايضية
لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



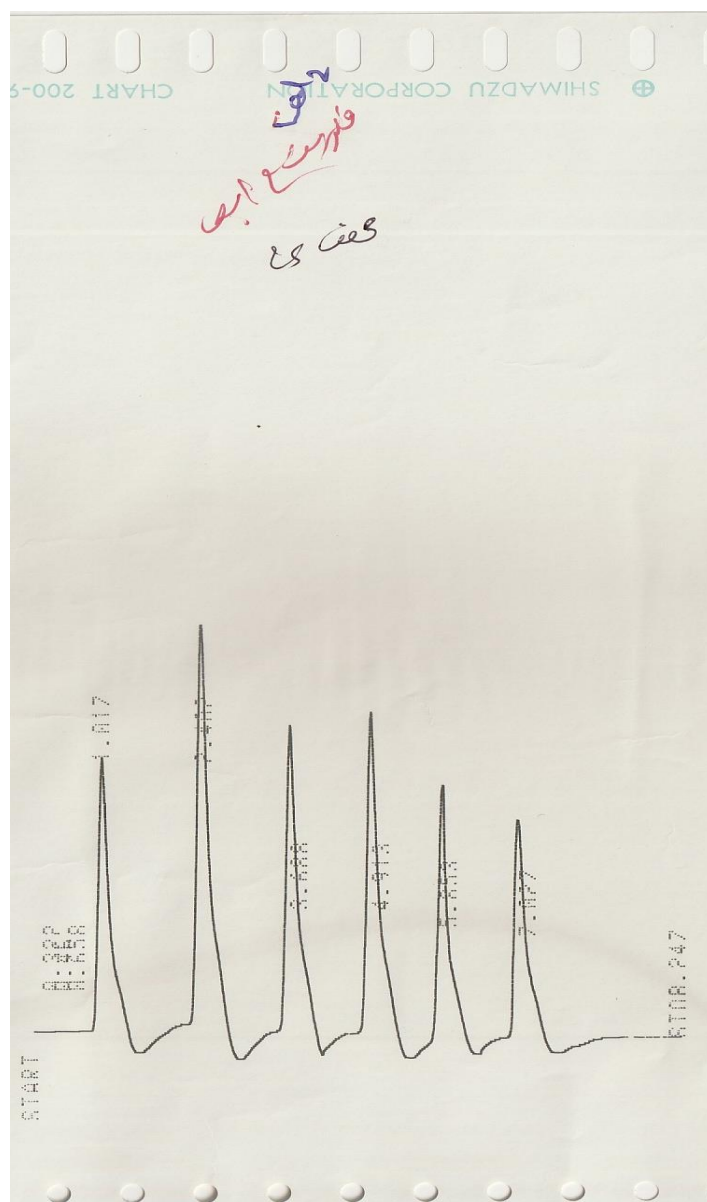
seq	Subjects	Retention Time minute	Area
1	Menthol	2.418	25903
2	2, Menthofuran	3.673	222108
3	Menthy acetate	4.912	200557
4	Menthone	5.843	150778
5	1,8 cineol	7.005	136303

ملحق (3) تأثير الفلورسنت والفنيل الانين بتركيز 1 ملغم لتر⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



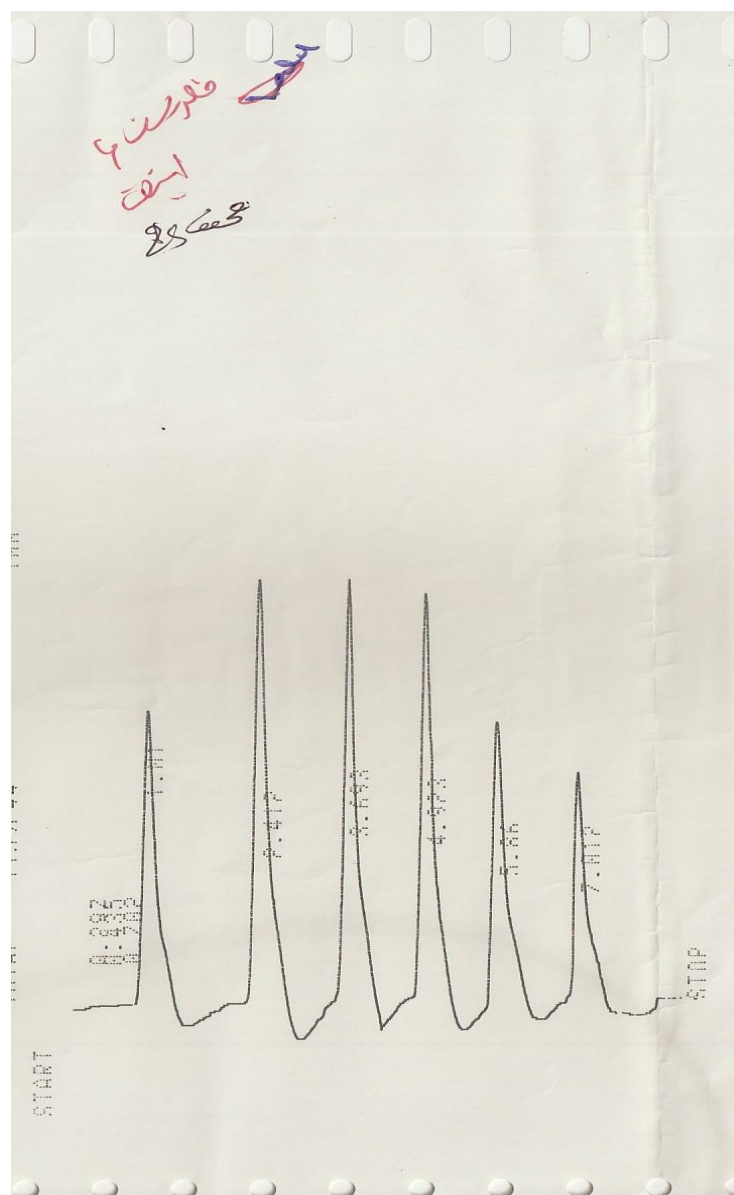
seq	Subjects	Retention Time minute	Area
1	Menthol	2.433	279816
2	2, Menthofuran	3.703	250758
3	Menthy acetate	4.933	232159
4	Menthone	5.883	149622
5	1,8 cineol	7.018	161716

ملحق (4) تأثير الفلورسنت والفنيل الانين بتركيز 2 ملغم لتر⁻¹ في تركيز المركبات الايضية
لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



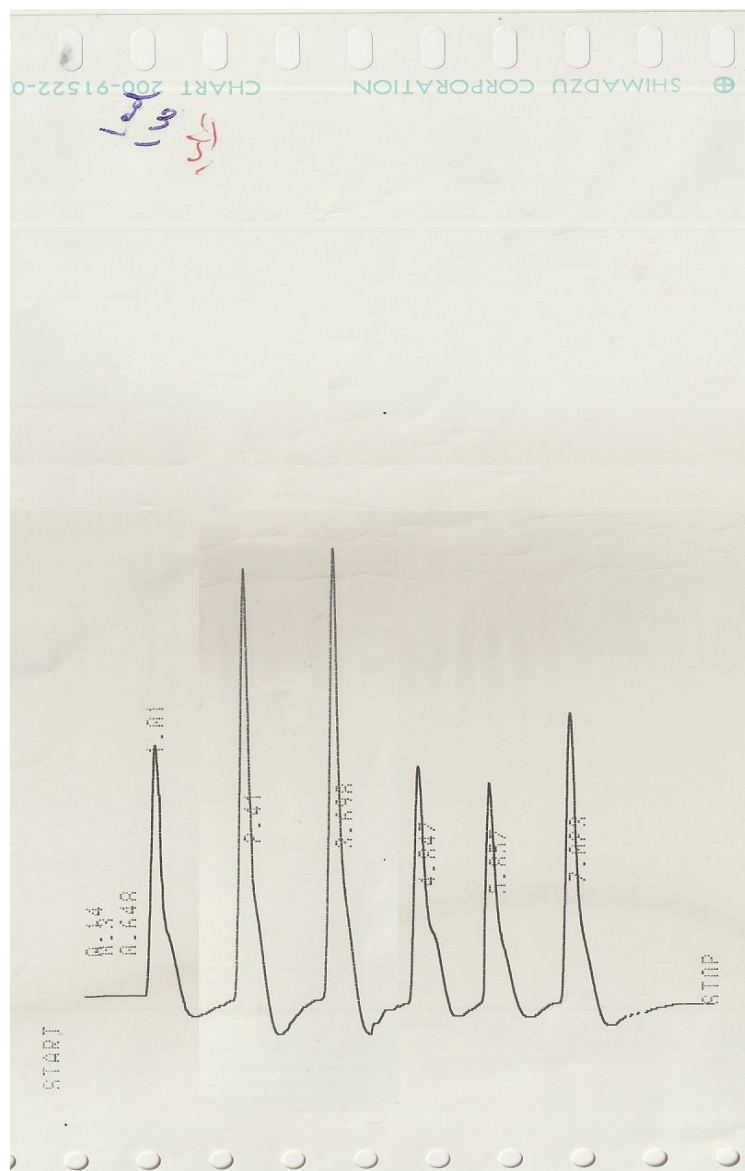
seq	Subjects	Retention Time minute	Area
1	Menthol	2.402	262148
2	2, Menthofuran	3.688	250119
3	Menthy acetate	4.313	248661
4	Menthone	5.853	216128
5	1,8 cineol	7.027	193151

ملحق (5) تأثير الفلورسنت والفنيل الانين بتركيز 3 ملغم لتر⁻¹ في تركيز المركبات الايضية
لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



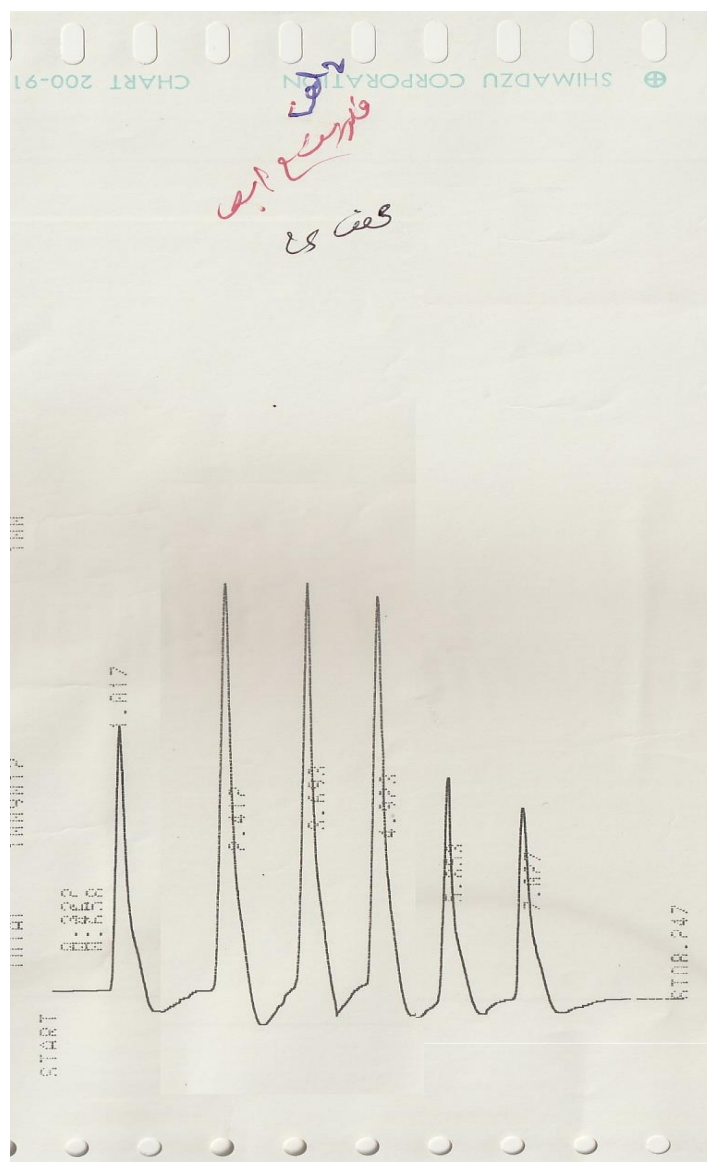
seq	Subjects	Retention Time minute	Area
1	Menthol	2.412	29844
2	2, Menthofuran	3.693	28966
3	Menthy acetate	4.923	27450
4	Menthone	5.86	19856
5	1,8 cineol	7.812	16640

ملحق (6) تأثير الفلورسنت والفنيل الانين بتركيز 4 ملغم لتر⁻¹ في تركيز المركبات الايضية
لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



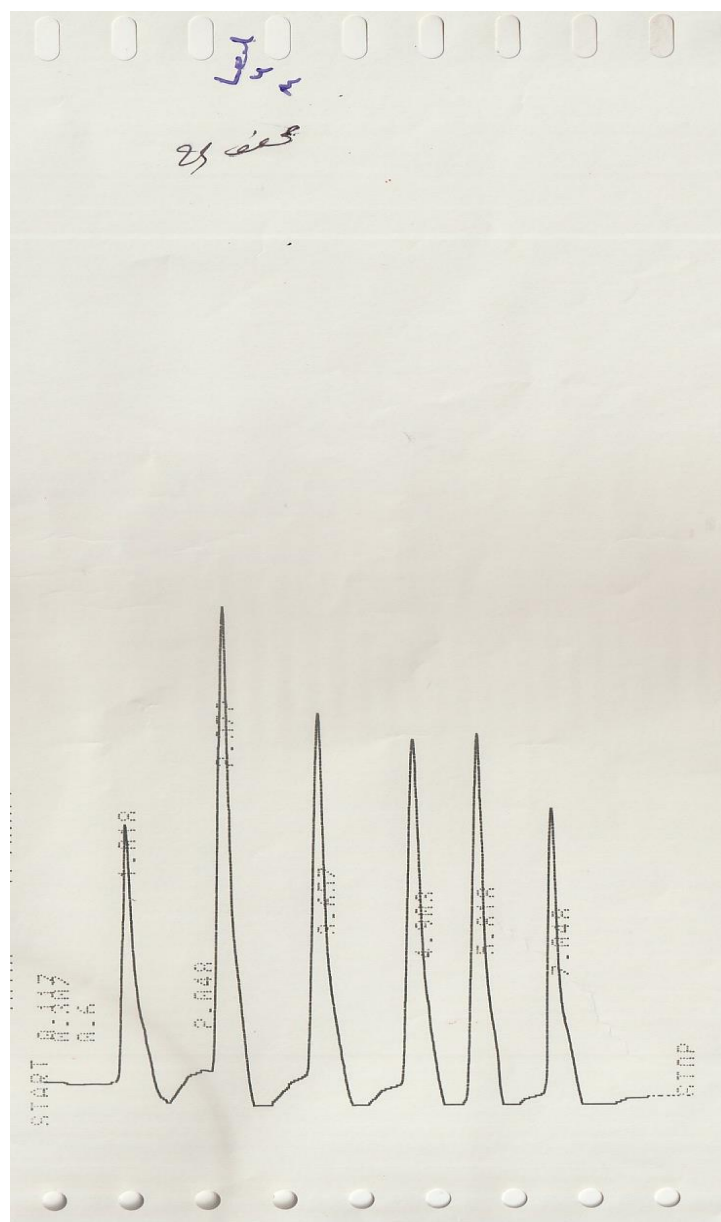
seq	Subjects	Retention Time minute	Area
1	Menthol	2.41	226010
2	2, Menthofuran	3.698	210106
3	Menthy acetate	4.847	189397
4	Menthone	5.837	143393
5	1,8 cineol	7.023	186189

ملحق (7) تأثير الـ LED الابيض والفنيل الانين بتركيز 0 ملغم لتر⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



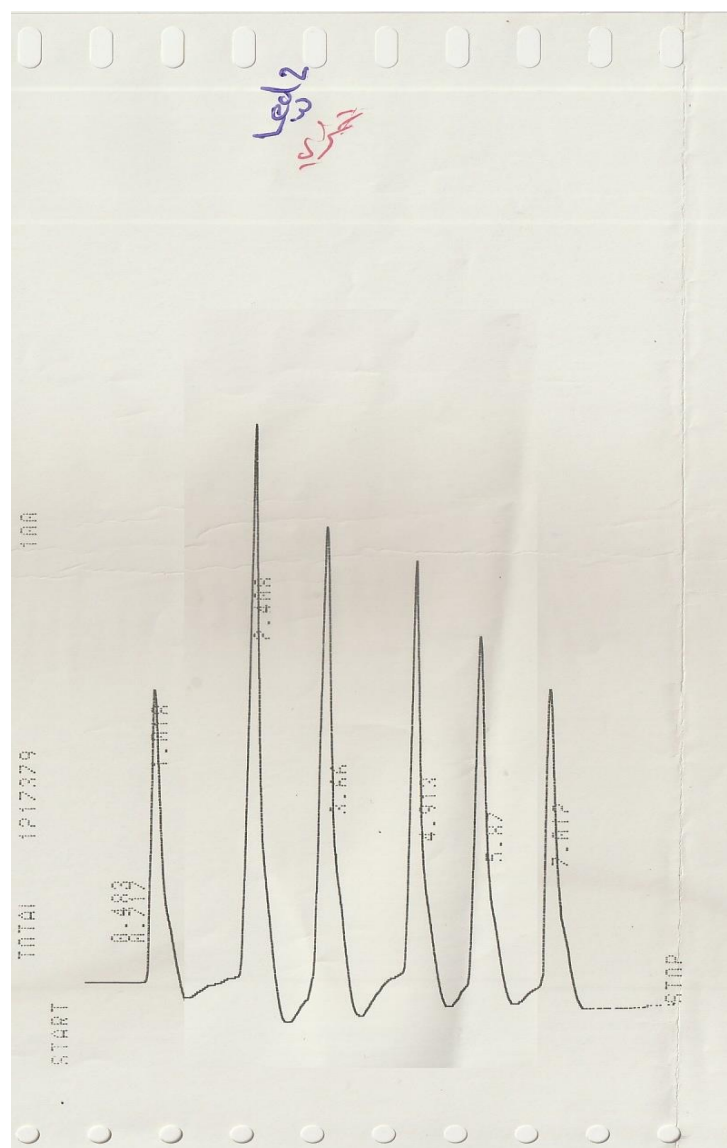
seq	Subjects	Retention Time minute	Area
1	Menthol	2.412	226615
2	2, Menthofuran	3.693	221155
3	Menthy acetate	4.923	198388
4	Menthone	5.853	160495
5	1,8 cineol	7.027	150189

ملحق (8) تأثیر الـ LED الابیض والفنیل الانین بترکیز 1 ملغم لتر⁻¹ فی ترکیز المركبات الایضیة لنبات النعناع الفلفلی بعد 6 اسابیع من الزراعة علی الوسط الغذائی MS.



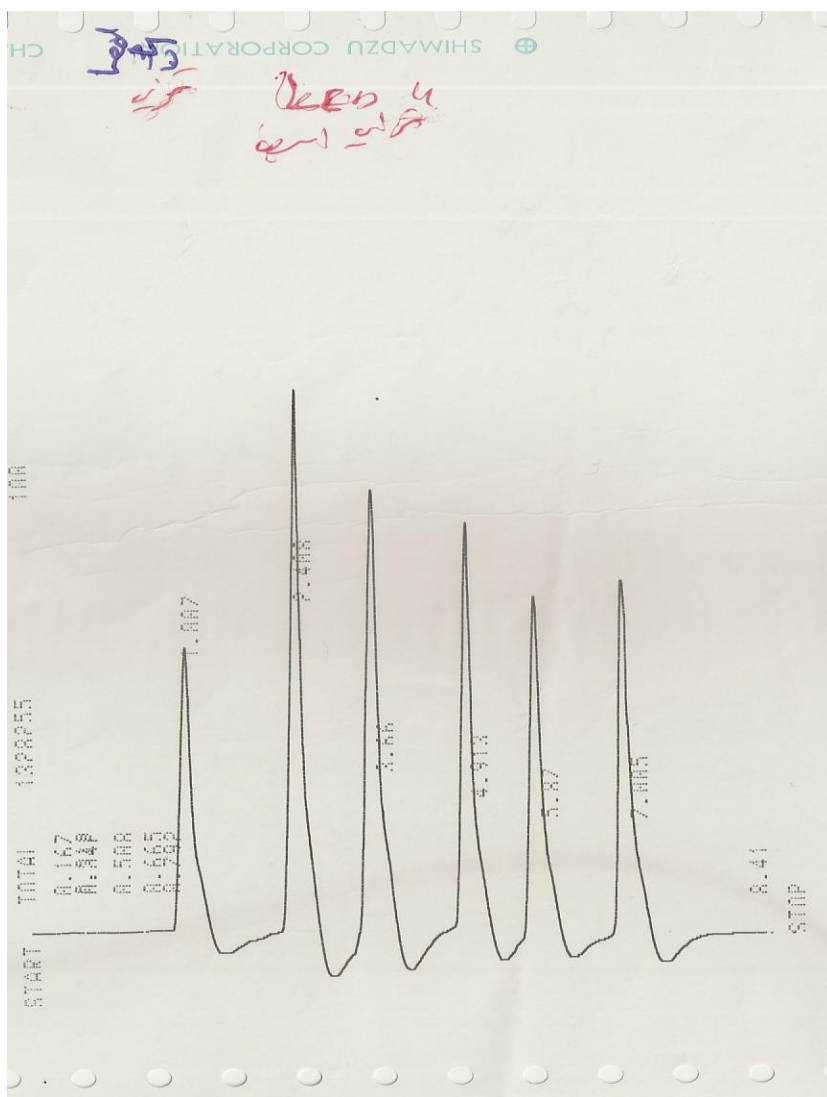
seq	Subjects	Retention Time minute	Area
1	Menthol	2.372	158332
2	2, Menthofuran	3.657	235480
3	Menthy acetate	4.303	228963
4	Menthone	5.818	165578
5	1,8 cineol	7.048	143325

ملحق (9) تأثير الـ LED الابيض والفنيل الانين بتركيز 2 ملغم لتر⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



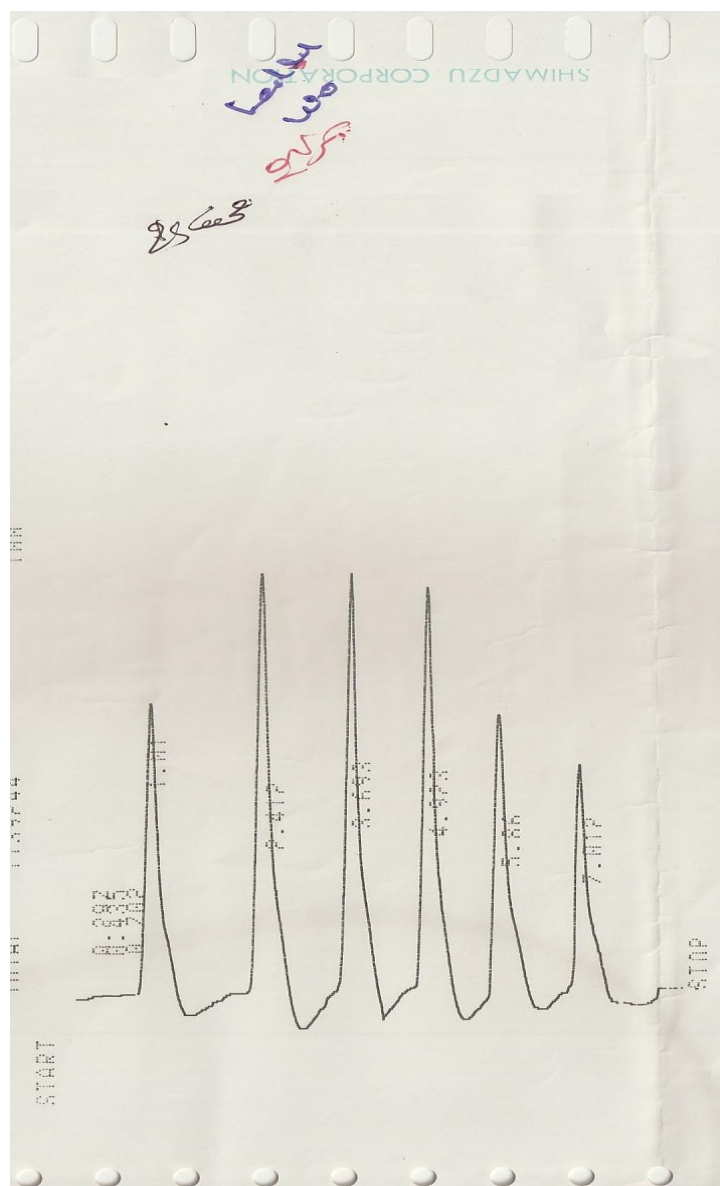
seq	Subjects	Retention Time minute	Area
1	Menthol	2.408	260247
2	2, Menthofuran	3.66	249258
3	Menthy acetate	4.913	216602
4	Menthone	5.87	166291
5	1,8 cineol	7.012	145999

ملحق (10) تأثير الـ LED الابيض والفنيل الانين بتركيز 3 ملغم لتر⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



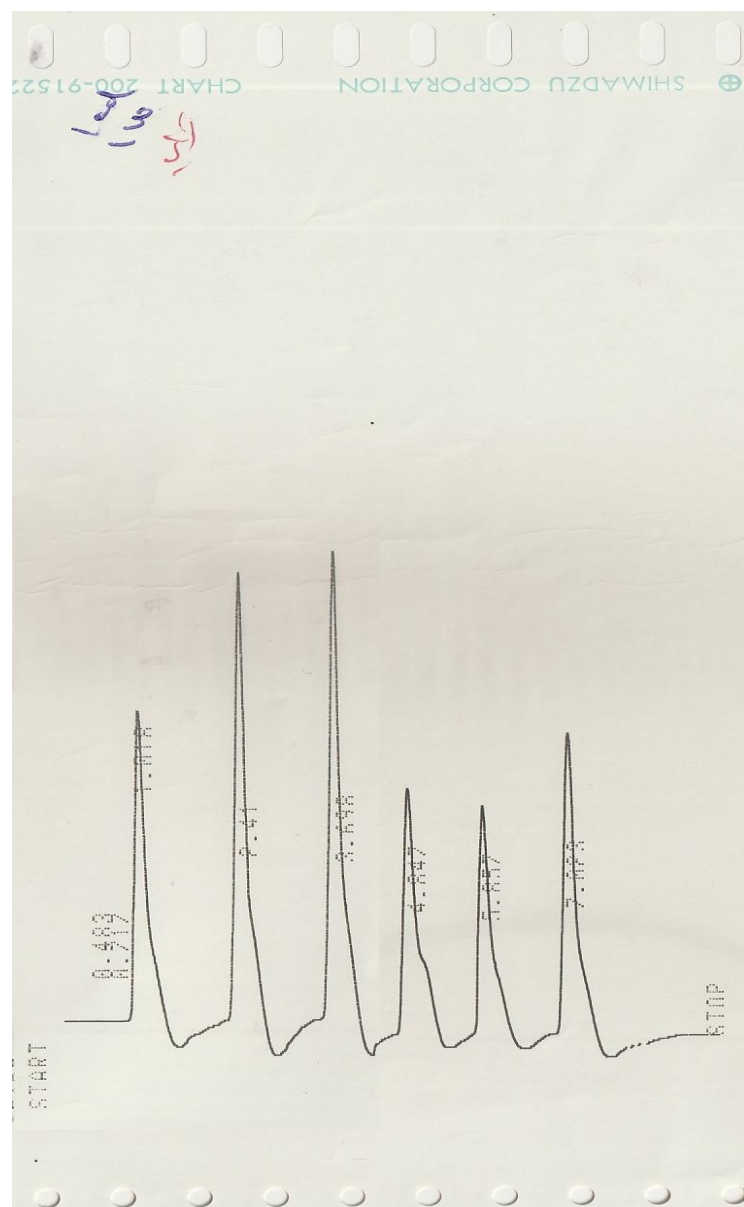
seq	Subjects	Retention Time minute	Area
1	Menthol	2.408	270248
2	2, Menthofuran	3.66	259287
3	Menthy acetate	4.913	235487
4	Menthone	5.87	201578
5	1,8 cineol	7.005	213658

ملحق (11) تأثير الـ LED الابيض والفيل الانين بتركيز 4 ملغم لتر⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



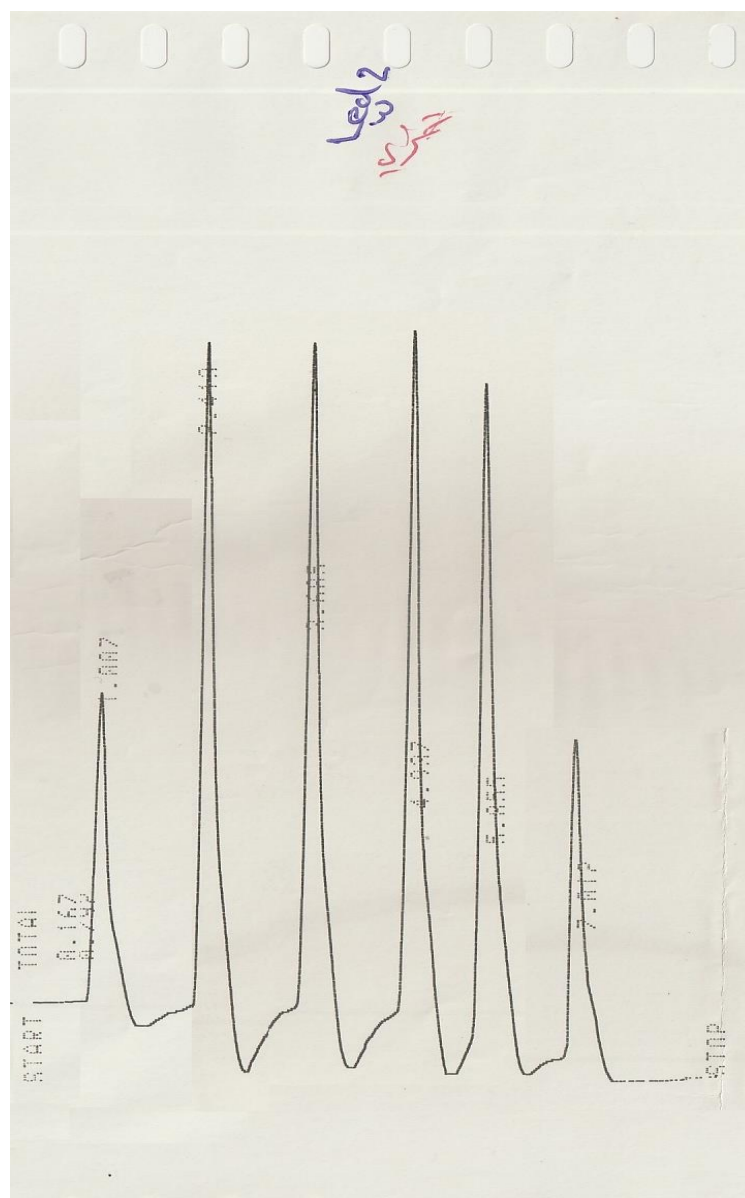
seq	Subjects	Retention Time minute	Area
1	Menthol	2.412	241345
2	2, Menthofuran	3.693	231287
3	Menthy acetate	4.923	214081
4	Menthone	5.86	150257
5	1,8 cineol	7.012	110154

ملحق (12) تأثير الـ LED الملون والفنيل الانين بتركيز 1 ملغم لتر⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



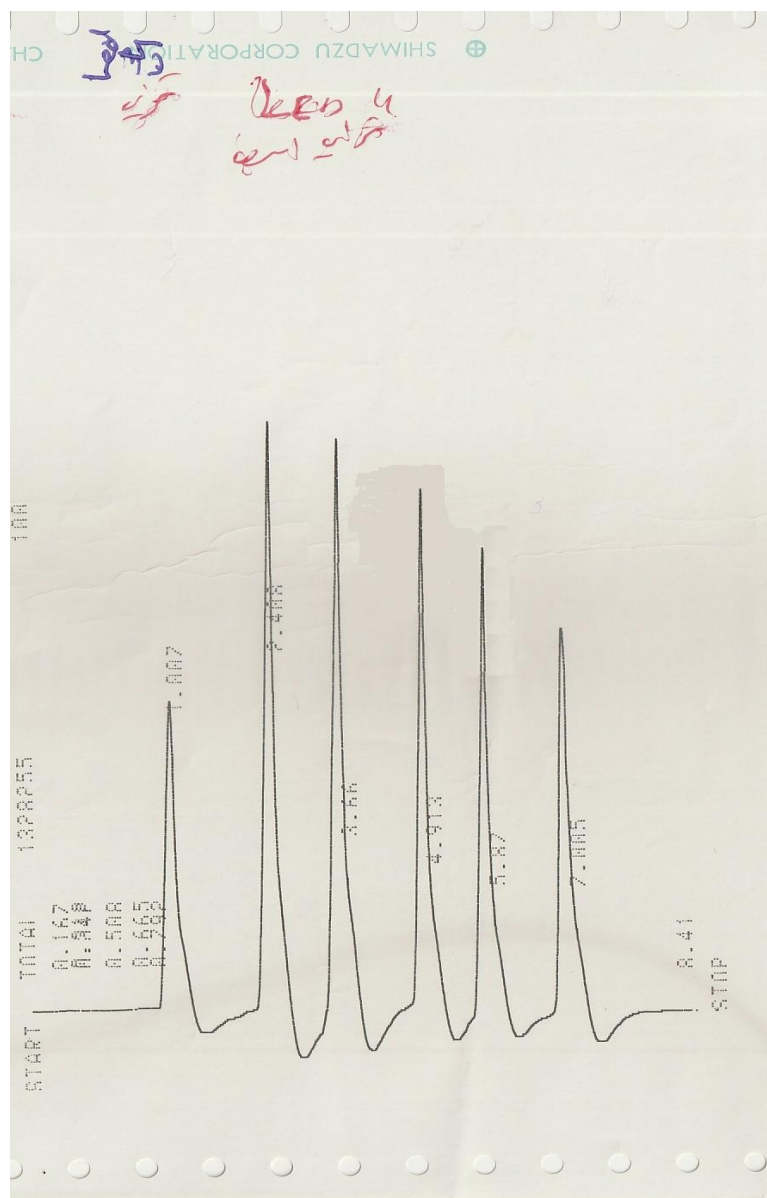
seq	Subjects	Retention Time minute	Area
1	Menthol	2.41	285131
2	2, Menthofuran	3.698	262550
3	Menthy acetate	4.847	155980
4	Menthone	5.837	148790
5	1,8 cineol	7.023	184663

ملحق (13) تأثير الـ LED الملون والفنيل الانين بتركيز 0 ملغم لتر⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



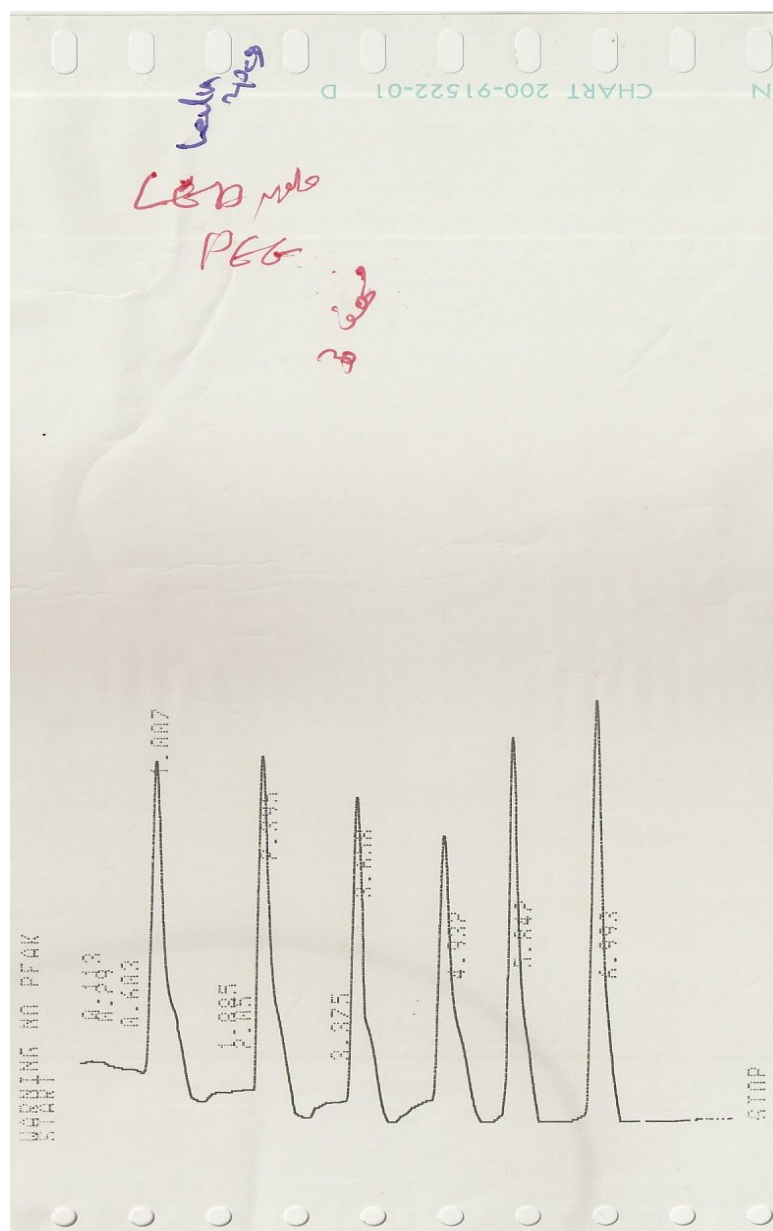
seq	Subjects	Retention Time minute	Area
1	Menthol	2.413	282415
2	2, Menthofuran	3.685	281351
3	Menthy acetate	4.937	281466
4	Menthone	5.055	278546
5	1,8 cineol	7.012	168580

ملحق (14) تأثير الـ LED الملون والفنيل الانين بتركيز 4 ملغم لتر⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



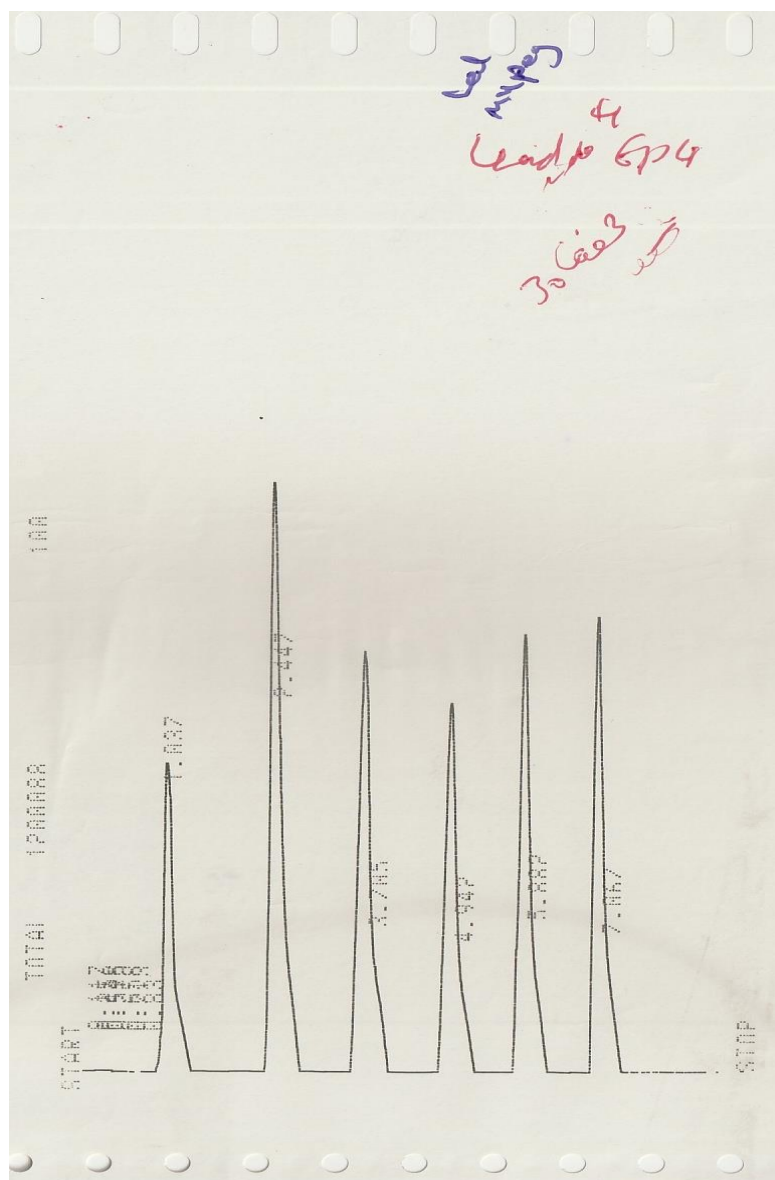
seq	Subjects	Retention Time minute	Area
1	Menthol	2.408	270410
2	2, Menthofuran	3.66	266350
3	Menthy acetate	4.913	230067
4	Menthone	5.87	208845
5	1,8 cineol	7.005	1228515

ملحق (15) تأثير الـ LED الملون والفنيل الانين بتركيز 2 ملغم لتر⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



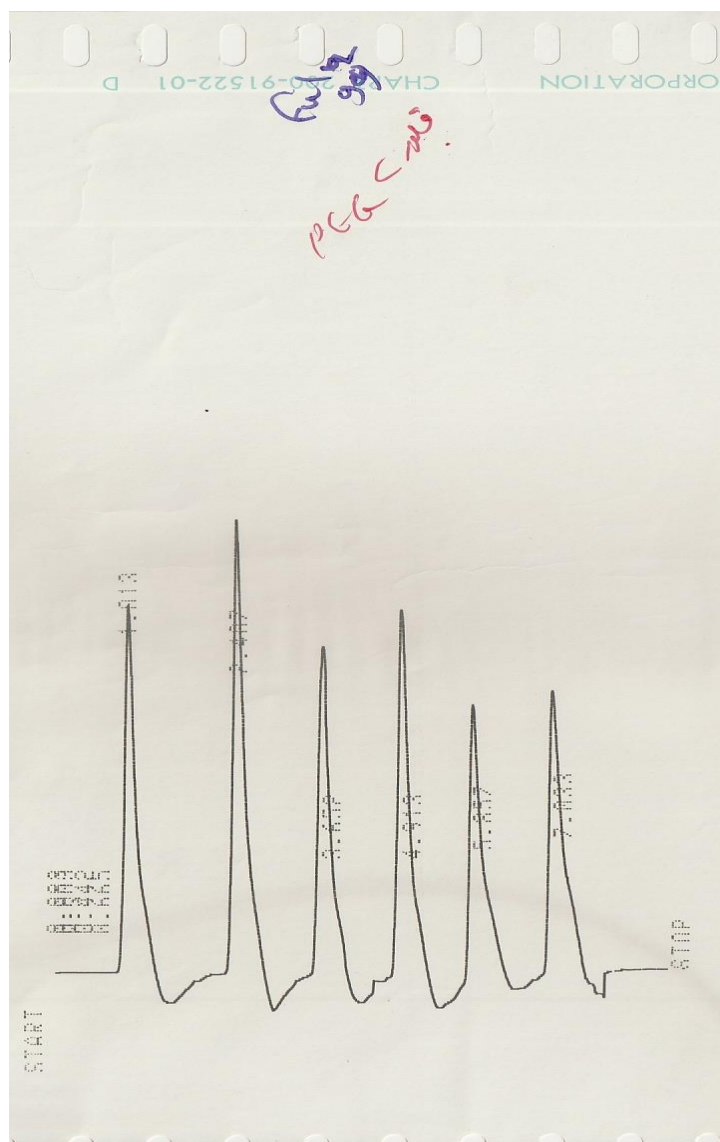
seq	Subjects	Retention Time minute	Area
1	Menthol	2.399	203882
2	2, Menthofuran	3.618	193665
3	Menthy acetate	4.932	188574
4	Menthone	5.842	212520
5	1,8 cineol	6.993	220451

ملحق (16) تأثير الـ LED الملون و PEG بتركيز 2 ملغم لتر⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



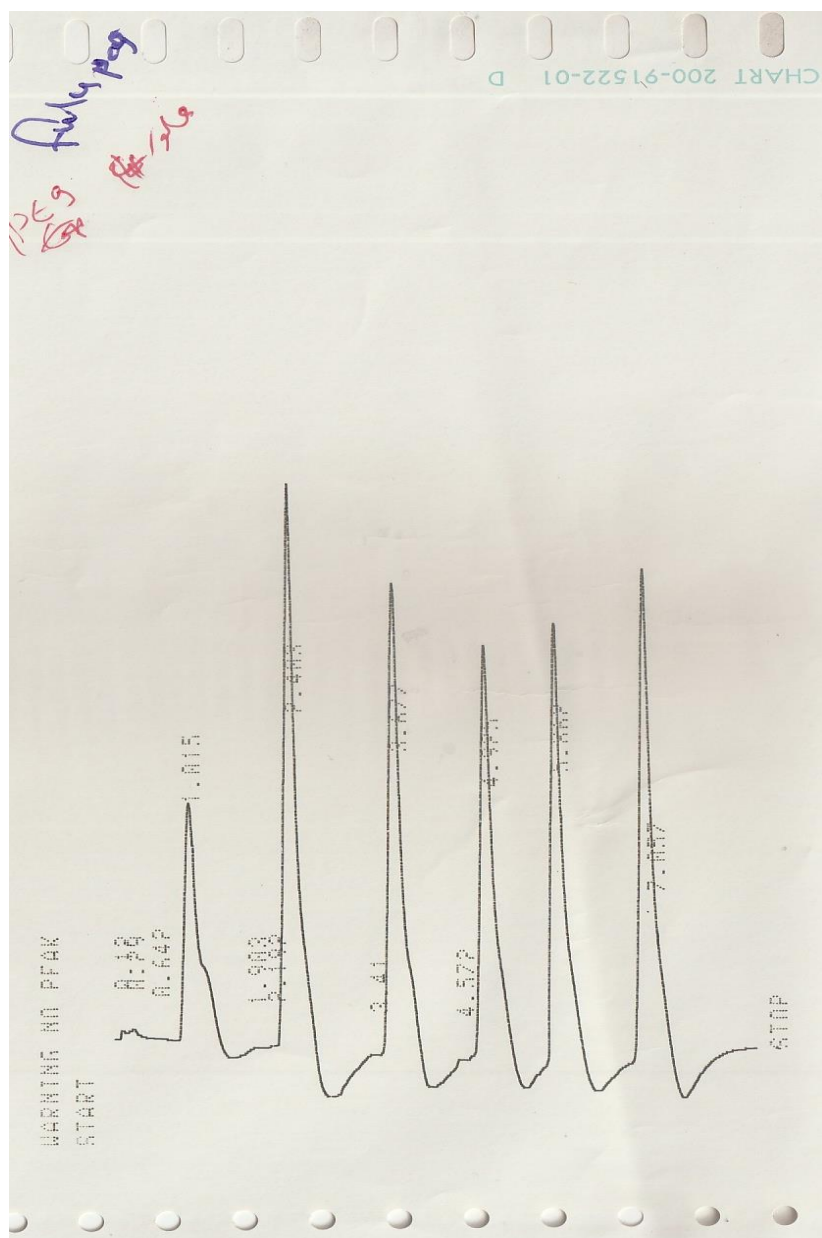
seq	Subjects	Retention Time minute	Area
1	Menthol	2.447	352001
2	2, Menthofuran	3.785	288427
3	Menthy acetate	4.942	252230
4	Menthone	5.882	260428
5	1,8 cineol	7.867	275570

ملحق (17) تأثير الـ LED الملون و PEG بتركيز 4 ملغم لتر⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



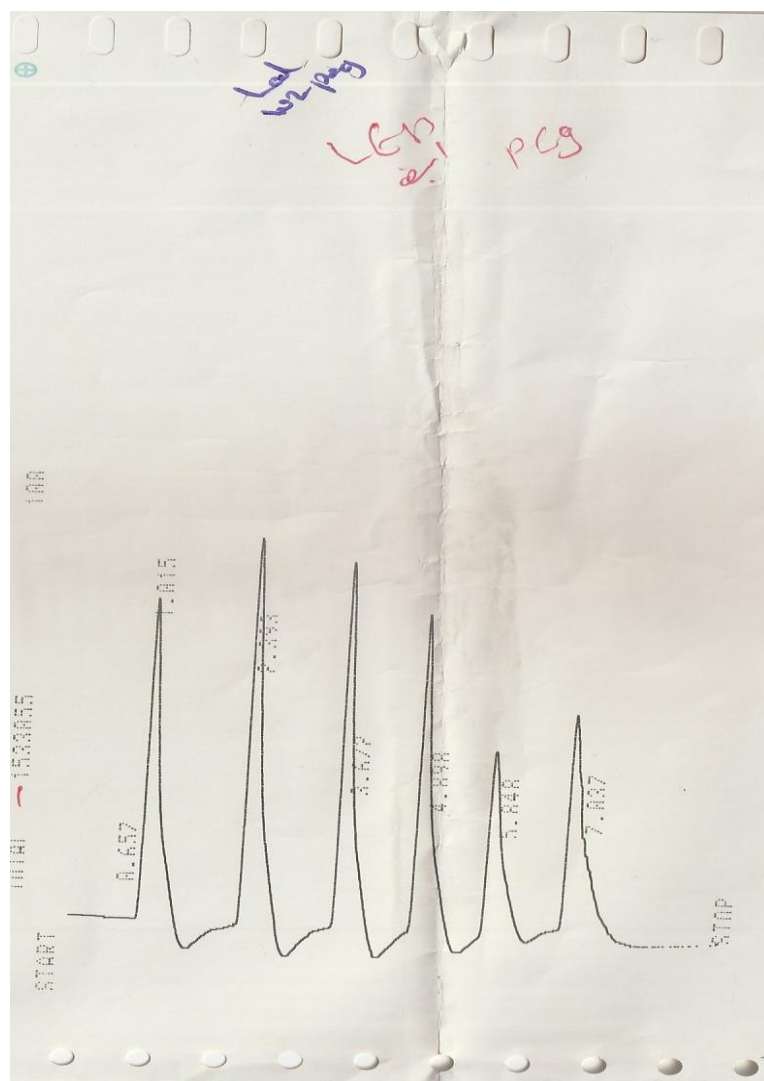
seq	Subjects	Retention Time minute	Area
1	Menthol	2.407	309832
2	2, Menthofuran	3.652	246043
3	Menthy acetate	4.313	260423
4	Menthone	5.899	199540
5	1,8 cineol	7.033	218586

ملحق (18) تأثير الفلورسنت و PEG بتركيز 2 ملغم لتر⁻¹ في تركيز المركبات الايضية
لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



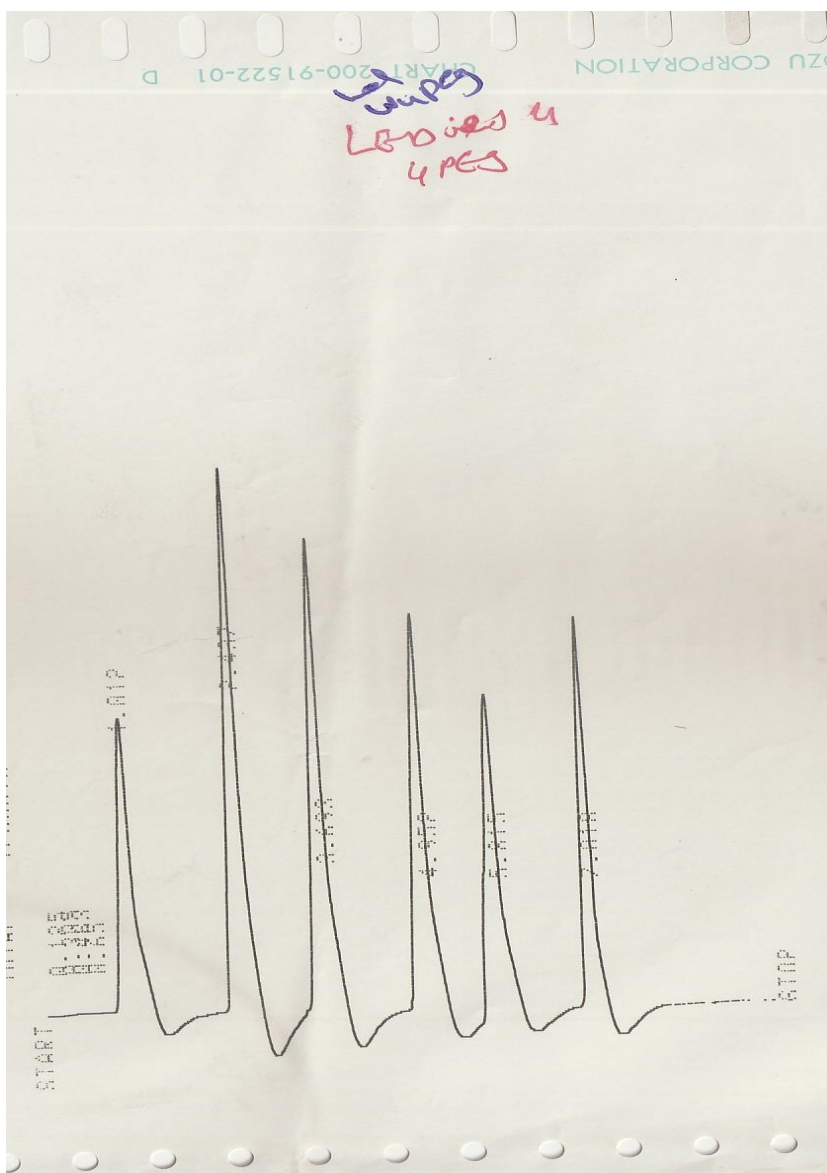
seq	Subjects	Retention Time minute	Area
1	Menthol	2.488	296834
2	2, Menthofuran	3.677	274045
3	Menthy acetate	4.827	261897
4	Menthone	5.882	265771
5	1,8 cineol	7.857	292540

ملحق (19) تأثير الفلورسنت و PEG بتركيز 4 ملغم لتر⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



seq	Subjects	Retention Time minute	Area
1	Menthol	2.393	284997
2	2, Menthofuran	3.672	264856
3	Menthy acetate	4.898	235811
4	Menthone	5.848	140025
5	1,8 cineol	7.037	163489

ملحق (20) تأثير الـ LED الابيض و PEG بتركيز 2 ملغم لتر⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS.



seq	Subjects	Retention Time minute	Area
1	Menthol	2.477	734491
2	2, Menthofuran	3.683	320068
3	Menthy acetate	4.952	282426
4	Menthone	5.15	206556
5	1,8 cineol	7.018	260063

ملحق (21) تأثير الـ LED الابيض و PEG بتركيز 4 ملغم لتر⁻¹ في تركيز المركبات الايضية لنبات النعناع الفلفلي بعد 6 اسابيع من الزراعة على الوسط الغذائي MS

الملحق (22) جدول تحليل التباين لتعقيم بذور نبات النعناع الفلفلي

متوسط التباين لفترة التعقيم	درجات الحرية	مصادر التباين
2275.001	2	هايبوكلورات الصوديوم
15291.67	3	الزمن
541.67	6	هايبوكلورات الصوديوم×الزمن
42.001	24	الخطأ التجريبي

الملحق (23) جدول تحليل التباين لمرحلة النشوء

متوسط التباين لمرحلة النشوء	درجات الحرية	مصادر التباين
2370.061	2	NAA
600.89	1	BA
548.39	2	NAA×BA
50.56	12	الخطأ التجريبي

الملحق (24) جدول تحليل التباين للصفات الخضرية في مرحلة التضاعف

متوسط التباين لصفات النمو الخضري				درجات الحرية	مصادر التباين
الوزن الجاف	الوزن الطري	طول الافرع	عدد الافرع		
348.69	348.69	71.389	1135.15	3	BA
48.25	48.725	13.369	140.82	3	Kin
3.011	3.0102	3.359	5.6601	9	BA× Kin
0.659	0.645	0.818	1.0804	32	الخطأ التجريبي

الملحق (25) جدول تحليل التباين للصفات الخضرية لمرحلة التحفيز

مصادر التباين	درجات الحرية	متوسط التباين لصفات النمو الخضري			
		عدد الافرع	طول الافرع	الوزن الطري	الوزن الجاف
الفنيل الانين	2	1219.78	1.584	246.423	19.990
نوع الإضاءة	3	669.84	1.509	63.463	9.356
الفنيل الانين × نوع الإضاءة	6	32.132	1.286	3.369	0.0418
الخطأ التجريبي	24	0.08	1.001	0.081	0.0013

الملحق (26) جدول تحليل التباين للصفات الكيميائية

مصادر التباين	درجات الحرية	متوسط التباين للصفات الكيميائية					
		الكلوروفيل	الكاربوهيدرات	البروتينات	البيروكسيديز	الكاتليز	البرولين
الفنيل الانين	2	5.2147	10.5337	2.634	0.1895	1.3609	3.5512
نوع الإضاءة	3	4.585	11.0320	4.620	0.34360	2.2966	7.40369
الفنيل الانين × نوع الإضاءة	6	0.459	0.0678	1.665	0.0045	0.14146	0.2301
الخطأ التجريبي	24	0.0023	0.0175	1.0023	0.0012	0.0016	0.0014

الملحق (27) جدول تحليل التباين للمواد الفعالة

متوسط التباين للمواد الفعالة					درجات الحرية	مصادر التباين
Menth acetate	1,8 Cineol	Menthone	2, Menthofuran	Menthol		
255.657	2.487	185.096	312.0514	4.240	2	الفنيل الانين
100.347	6.504	81.250	108.982	1.086	3	نوع الاضاءة
1.9363	7.256	4.387	2.515	7.900	6	الفنيل الانين × نوع الاضاءة
0.0176	1.0016	8.443	0.01771	1.0001	24	الخطاء التجريبي

الملحق (28) جدول تحليل التباين للصفات الخضرية لمرحلة التحفيز

متوسط التباين للصفات الخضرية				درجات الحرية	مصادر التباين
الوزن الجاف	الوزن الطري	طول الافرع	عدد الافرع		
8.2201	74.9142	35.4273	334.1863	2	PEG
8.9764	49.3446	6.2615	146.7633	2	نوع الاضاءة
0.6461	5.7027	2.7007	15.9523	4	PEG × نوع الاضاءة
0.1256	0.3393	0.4171	0.3623	18	الخطاء التجريبي

الملحق (29) جدول تحليل التباين للصفات الكيميائية لمرحلة التحفيز

متوسط التباين للصفات الكيميائية						درجات الحرية	مصادر التباين
البرولين	الكاتليز	البيروكسيديز	البروتينات	الكاربوهيدرات	الكلوروفيل		
2.4606	3.4489	0.4372	7.7622	0.7311	1.8789	2	PEG
17.4624	33.3190	3.1771	12.7295	3.3199	2.4281	2	نوع الاضاءة
0.5487	0.4662	0.0812	0.7827	0.0677	0.1527	4	PEG× نوع الاضاءة
0.0013	0.0014	0.0011	0.0013	0.0011	0.0012	18	الخطأ التجريبي

الملحق (30) جدول تحليل التباين للمواد الفعالة

متوسط التباين للمواد الفعالة					درجات الحرية	مصادر التباين
Menth acetate	1,8 Cineol	Menthone	2, Menthofuran	Menthol		
2.9052	2.980	2.922	3.5772	6.0512	2	PEG
6.8341	8.088	9.7851	1.2182	9.4551	2	نوع الاضاءة
1.6081	1.336	2.2211	4.8240	3.394	4	×PEG نوع الاضاءة
1.004	1.0012	1.0041	1.0051	1.0041	18	الخطأ التجريبي

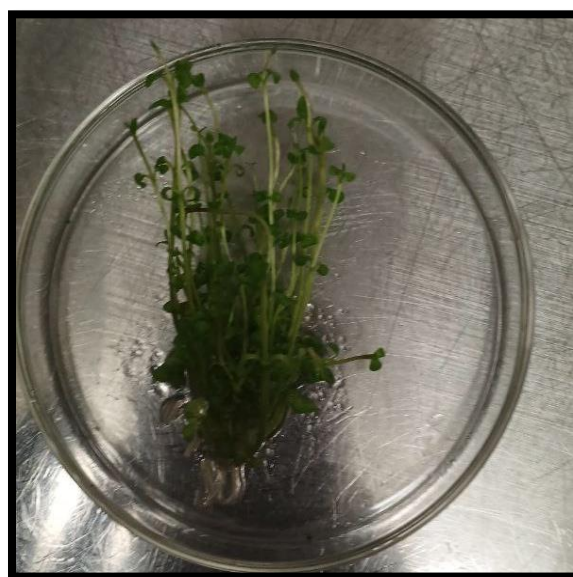
ملحق (32) يوضح نسبة الاستجابة



ملحق (31) يوضح بذور النعناع الفلفلي



ملحق (33) يوضح تأثير الساييتوكانيات المضافة للوسط الغذائي عند الاكثار الدقيق لنبات النعناع الفلفلي.



ملحق (34) يوضح طريقة قياس تركيز الكلوروفيل باستخدام جهاز ال-Spectrophotometer



ملحق (35) يوضح طريقة سحق العينة باستخدام هاون الخزفي لغرض قياس الصفات الكيميائية.



ملحق (36) طريقة هضم العينة النباتية لقياس نسبة البروتينات.



ملحق (37) غرفة النمو growth room



Abstract

This study was carried out in the Plant Tissue Culture Laboratory of the College of Agriculture - University of Karbala and HPLC analyses were completed at the White Fields Company for Investments, Environmental and Engineering Studies for the period from 1/8/2024 to 1/4/2025. The study included the use of plant tissue culture technology with the aim of establishing and multiplying the vegetative branch farms of the peppermint plant and then stimulating them to increase the production of some volatile oils with effective medical effects. The study was carried out through several independent experiments after the sterilization process: the first included the emergence of tissue cultures using different concentrations of BA and NAA (0, 1, 1.5) mg L⁻¹ and (0, 0.1) mg L⁻¹, respectively. The second stage was carried out by cultivating the tips of the branches obtained from the emergence stage on the MS medium prepared with different concentrations of BA and KIN (0, 1, 2, 3) mg L⁻¹ and (0, 0.5, 1.0, 1.5) mg L⁻¹, respectively, in the presence of a fixed concentration (0.1) mg L⁻¹ of NAA, with the aim of obtaining the largest branches from the vegetative branch cultures. The stimulation experiment was carried out by cultivating the tips of the vegetative branches obtained from the multiplication stage and cultivating them on the MS medium prepared with different concentrations of phenylalanine and PEG (0, 1, 2, 4) mg L⁻¹ and (0, 2, 4) mg L⁻¹ in independent experiments with fixed concentrations of BA, KIN, and NAA under three lighting conditions. The experiments were designed according to a completely randomized design (CRD). The results of the study showed the following:

- The best combination for sterilizing peppermint seeds was sodium hypochlorite (NaOCl) at a concentration of 2% for 15 minutes, which was 0.00%.

- The best combination for interaction in terms of percentage response was at a concentration of 0.1 mg L⁻¹ of NAA, with the highest average interaction with a concentration of 1 mg L⁻¹ of BA reaching 80%.
- The nutrient medium prepared with BA at a concentration of 2 mg L⁻¹ and KIN at a concentration of 1 mg L⁻¹ recorded the highest average increase in the number of branches, height, and fresh and dry weight of the vegetative system in the multiplication stage, reaching 38.30 branches/plant-1, 12.30 cm, 19.85 mg, and 4.17 mg, respectively.
- Treatment of vegetative growths with different concentrations of phenylalanine and lighting led to significant differences, as the concentration of 4 mg L⁻¹, in interaction with colored LED, achieved the highest average for the studied traits, which included the number of vegetative branches, as well as the concentration of peroxidase enzyme, catalase enzyme, proline enzyme, Menthol compound, 2, Menthofuran, and Menthone, which reached 65.67 plant branches, 2.17 minute absorption units g⁻¹, 3.88 minute absorption units g⁻¹, 3.77 micrograms g⁻¹, 39.10, 34.18, and 28.22 micrograms ml⁻¹, respectively. As for the interaction between the concentration of 2 mg L⁻¹ of phenylalanine with colored LED lights, it achieved the highest average in plant height, fresh and dry weight, chlorophyll concentration, carbohydrates, proteins, Menthy acetate compound, and 1,8 Cineol, which reached 13.95 cm, 26.65 mg, 8.83 mg, 4.96, 6.80 mg g⁻¹, 18.22%, 33.71, 31.54 µg mL⁻¹, respectively.
- Treating vegetative growths with different concentrations of PEG in interaction with colored LED lights led to significant differences, as the comparison treatment was superior in achieving the highest average for the studied traits, which included the number of vegetative branches, height, fresh and dry weight, which reached 38.15 branch/plant-1, 10.10 cm, 19.08, and 6.46 mg. As for the concentration of chlorophyll, carbohydrates, proteins, Menthy acetate, and 1,8 Cineol, the concentration of 2 mg L⁻¹ in interaction with colored LED lights was superior in achieving the highest average of 3.75 mg g⁻¹, 3.74 mg g⁻¹, 13.28%, 34.72, and 33.24 micrograms ml⁻¹. As for the enzyme

peroxidase, the enzyme catalase, proline, Menthol, 2, Menthofuran, and Menthone, the concentration of 4 mg L⁻¹ was superior. The interaction with colored LEDs resulted in the highest average response of 2.94 and 6.94 micro-absorption units g⁻¹, 4.28 µg g⁻¹, 40.32, 35.02 and 31.83 µg mL⁻¹, respectively.



University of Kerbala
College of Agriculture
Department of Horticulture and Landscape Architecture

**Effect of some Growth regulators and chemical and
physical stimulants on the growth and chemical content
of *Mentha piperita* L. In vitro**

**A thesis Submitted to the College of Agriculture Council/ University of
Kerbala, as Partial Fulfillment of the Requirements for the degree of
Master of Science in Agriculture/Horticulture and Landscape
Architecture.**

**Submitted By
Hiba Jabbar Kazim Al-Amiri**

**Supervised by
Prof. Dr. Sarab Abd Al Hadi Mohammed Al-Mukhtar**

2025A.H

1447 A.D