------مجلة علوم الرافدين، المجلد 27، العدد 1، ص 222-234، 2018------

التحري عن مستوى بعض الاحماض الدهنية في مزارع الكالس لنبات البندق *Corylus avellana* L. المحفزة بإضافة الفينايل الانين

***رحاب عبد الجبار حامد البكر** **هناء سعيد الصالح** **فارس ذنون العباجي**

قسم علوم الحياة/ كلية العلوم/ جامعة الموصل كلية الصيدلة/ جامعة الموصل

***E-mail: rehabsra@Yahoo.com**

(أُستلم 16/ 2 /2014 ؛ قُبل 26 /5 /2014)

الملخص

عُزلت وشُخصت بعض الاحماض الدهنية وهي (Oleic acid, Linoleic acid, Palmitic, Lauric acid and Stearic acid) من المزارع النسجية لكالس نبات البندق *Corylus avellana* L. النامية على اوساط MS المدعمة بـ (1.5 و1.0) ملغم/ لتر من الـ BA والـ 2,4-D على التوالي. ومزارع الكالس النامية على نفس الوسط مع اضافة تراكيز مختلفة من الحامض الاميني الفينايل الانين .Phe، وكذلك أوساط MS الخالية من منظمات النمو كأوساط مقارنة. وقدرت الاوزان الرطبة للكالس النامي على تلك الاوساط بعد مرور 40 و80 يوماً من الزراعة.

شُخصت الاحماض الدهنية باستخدام تقانة كروماتوكرافيا الغاز (Gas Chromatography (GC ، وجد ان الاوليك Oleic acid واللينوليك Linoleic acid هما الاكثر تواجداً في مزارع الكالس لنبات البندق، كما وجد ان هناك اختلاف نوعي وكمي للأحماض الدهنية المعزولة والمشخصة في مزارع الكالس باختلاف تراكيز الحامض الاميني الفينايل الانين .Phe المضاف مع التراكيز القياسية لمنظمات النمو، وكذلك بزيادة أعمار المزارع النسيجية للكالس.

الكلمات الدالة: نبات البندق، مزارع الكالس، الاحماض الدهنية، الفينايل الانين.

Investigate about some of Fatty Acids in Callus Cultures of *Corylus avellana* L. Induce by Phenylalanine (Phe.)

Rehab A. Al-Bker **Hana S. Al Salih**

Department of Biology/College of Sciences/ University of Mosul

Faris T. Al Abachi

College of Pharmacy/ University of Mosul

ABSTRACT

Oleic, linoleic, palmitic, lauric and stearic acids were isolated and identified in the callus culture of hazelnut *Corylus avellana* L., which were induced and grown on MS media supplemented with l.5 and l.0 mg/l of BA and 2,4-D respectively, as well as the callus cultures that grown on the same medium in addition to different concentration of Phenylalanine (Phe.), Callus grown on MS medium without addition of growth regulators (MSO) was used as control. Fresh weights of callus were recorded after 40 and 80 days of culture.

Gas chromatography was used for identification of the fatty acid, and found that both oleic acid and linoleic acid were the most common in the callus cultures of hazelnut, also found that fatty acids identified in callus culture of hazelnut vary in their types as well as their quantity according to the concentration of Phenylalanine added with plant growth regulator to the medium, and that concentration of fatty acids in callus cultures increased with the increase of callus age.

Keywords: *Corylus avellana*, Callus, fatty acids, Phenylalanine.

المقدمة

تعد أشجار البندق.*Corylus avellana* L إحدى أشجار ثمار المكسرات، متساقطة الأوراق، من ذوات الفلقتين، يعود نبات البندق (Hazelnut) Corylus إلى عائلة Betulaceae، أو العائلة البندقية Corylaceae، (APG system III, 2009).

تتصدر تركيا المركز الاول في انتاج البندق، بلغ الانتاج العالمي للبندق عام 2009 ما يقارب 765 الف طن، انتاج تركيا لوحدها 500 الف طن، والباقي تجهزه كل من ايطاليا، الولايات المتحدة وإسبانيا بمقدار104، 42، 10 الف طن على التوالي(FAOSTAT, 2011).

يحتوي البندق على نسبة من البروتينات حوالي19%، سكريات ونشويات 12%، ماء7% (Stahl, 2007; Arab Encyclopedia, 2005)، البندق غني بالزيت ذي النكهة المميزة والوزن الخفيف، إذ يكون حوالي 60% منه (Li and Parry, 2011) وهو ما يعادل ثلاث مرات من محتوى فول الصويا Soybean من الزيت، وزيت البندق يشابه زيت الزيتون باحتوائه على 70% من الأحماض الدهنية الأحادية غير المشبعة مثل حامض اللينولك Linoleic acid وحامض اللينولنك Linoleic acid وغيرها التي تساعد في تقليل خطر الإصابة بأمراض القلب (Quarta *et al*., 2007; Amaral *et al*., 2006). كما ان لهذه الاحماض الدهنية فوائد صحية عديدة وخاصة حامض الاوليك Oleic acid او ما يسمى بـ Omega-3 والذي يشكل حوالي 75−80 غم /100 غم زيت في انواع البندق التركي (Li and Parry, 2011)، والذي يقلل من مخاطر الاصابة بأمراض تصلب الشرايين، السرطان، الامراض المناعية والتوتر العصبي (Iso *et al*., 2002; Aronson *et al*., 2001; Connor, 2000).

انطلاقاً من أهمية هذا النبات ولما يحتويه من مركبات مهمة طبياً، ولمحتواه العالي من أهم الاحماض الدهنية مثل حامض الاوليك Oleic acid واللينولك Linoleic acid وللفوائد التطبيقية لتقنية زراعة الانسجة النباتية، هدفت هذه الدراسة الى التحري عن محتوى مزارع كالس نبات البندق من الاحماض الدهنية ودراسة تأثير اضافة الحامض الاميني الفينايل الانين في بناء الاحماض الدهنية ومستوياتها في مزارع الكالس لهذا النبات، ومقارنتها مع مستواها في اوراق النبات نفسه.

المواد وطرائق العمل

تنمية واستحثاث مزارع الكالس (الادامة الدورية لمزارع الكالس)

حضر وسط MS الصلب (Murashige and Skoog, 1962)، وأُضيف اليه (1.5 و1.0) ملغم/ لتر من الـ BA والـ 2,4-D على التوالي بوصفه وسطاً قياسياً لتنمية مزارع الكالس من قطع السيقان (الحاوية على العقدة) لنبات البندق *Corylus avellana* (البكر و اخرون،2011)، وبعد اجراء الادامة الدورية لمزارع الكالس، أُخذ ما يقارب 1.5 غم من مزارع الكالس لكل معاملة، وزرع على اوساط MS المجهزة بالتراكيز المذكورة اعلاه واضافة الحامض الاميني الفينايل الانين .Phe بالتراكيز (0.6، 0.8،1.0) ملغم/ لتر وأُستخدم وسط MSO بدون اضافة منظمات النمو للمقارنة ايضاً، جرت العمليات السابقة باستخدام كابينة الزرع المعقمة (Hepaire). حفظت مزارع الكالس في حاضنة النمو بدرجة حرارة (25°±1م) والمجهزة بالإضاءة وبتعاقب يومي لمدة (16) ساعة ضوء و(8) ساعات ظلام.

تقدير الاوزان الرطبة للكالس

تم تسجيل الوزن الرطب للكالس بعد40 و 80 يوماً من الزراعة.

تجهيز نبات البندق

جهزت شتلات نبات البندق *Corylus avellana* بعمر 18 شهراً نامية في تربة مزيجية في أكياس بلاستيكية من مشتل مالطا / محافظة دهوك. حفظت في ظروف البيت الزجاجي وتم الاعتناء بها واستخدامها مصدراً للحصول على الاوراق النباتية وتحضير المستخلصات الكحولية لها لتشخيص وتقدير الاحماض الدهنية.

استخلاص الأحماض الدهنية من مزارع انسجة الكالس وأنسجة الأوراق النباتية

استخدمت الطريقة المحورة من قبل (Dalgarno and Birt) لسنة 1963 والتي تتضمن ازالة الدهون من النسيج النباتي بواسطة مذيب عضوي، ومن ثم تكوين اللاحق لمثيل الاسترات للأحماض الدهنية، وشُخصت الاحماض الدهنية بوساطة تقانة كروماتوكرافيا الغاز Gas Chromatography(GC)، (Mohammad, 1971).

حُضرت المستخلصات بأخذ 5 غم وزن طري من المعاملات المختلفة لنسيج الكالس النامي على اوساط MS المدعمة بمستويات مختلفة من الـ .Phe وبقية معاملات المقارنة وللعمرين (40 و80) يوماً من النمو، سحقت العينات في حجم 20 مل من مزيج كلوروفورم : ايثانول (2 : 1)(حجم: حجم)، حفظ المزيج لمدة (4) ساعات بدرجة حرارة 25 °م لحين اكتمال ذوبان الدهون. رُشح المستخلص خلال ورق الترشيح نوع Whatman No.1، غسل الراشح 5 مرات مع حجم 10 مل من كلوروفورم : ايثانول (2:1) (حجم: حجم) لتأكيد ازالة الدهون من متبقيات النسيج، ثم جمعت نواتج الغسل وتم تبخيرها حتى الجفاف تحت الضغط المنخفض وبدرجة حرارة (50–55) °م.

تستمر عملية الفصل والتنقية للتخلص من السكريات المتبقية في المستخلص، وذلك باستخدام حجم 50 مل من الكلوروفورم الذي سيعمل على اذابة الدهون فقط، المحلول الناتج (الكلوروفورم والدهون) تم تبخيره حتى الجفاف تحت الضغط المنخفض والناتج المتبقي سوف يحتوي على جزيئات الدهون المنقاة.

حُضرت مستخلصات الاوراق للنباتات النامية في البيت الزجاجي (بعد جمع الاوراق وتنظيفها جيداً وتقطيعها) أخذ 5 غم منها. سحقت العينات في حجم 100 مل من مزيج كلوروفورم : ايثانول (2 : 1) (حجم: حجم)، أُكمل السحق ومجانسة المستخلص باستخدام جهازي: السحق الكهربائي نوع (Ultra Turrax blender, Germany) وجهاز الترددات فوق صوتية Ultrasonic بتردد 22 كيلوهرتز/دقيقة، ولمدة 30 ثانية، وتمت خطوات عملية السحق داخل حمام ثلجي بعدها، حفظ المزيج لمدة (4) ساعات بدرجة حرارة 25 °م لحين اكتمال ذوبان الدهون.

بعدها جرت عمليات الترشيح والتبخير والفصل بالخطوات نفسها التي تمت مع عينات مستخلصات الكالس في الفقرة أعلاه.

تحضير الاملاح العضوية للدهون

أُضيف 50 مل من 1.5 عياري من حامض الهيدروكلوريك الميثانولي (Methanolic-HCl) الى الناتج المتبقي من عملية الاستخلاص، وسخن المزيج لحد الغليان في المكثف المنعكس Reflex Condenser بدرجة حرارة 100 °م ولمدة 3 ساعات. مثيل الاستر سوف يسترد من المحلول المبرد وذلك بإضافة 30 مل من مزيج بتروليوم إيثر في قمع الفصل مع الرج القوي وبذلك سوف تنفصل الطبقات، سحبت ونبذت طبقة الميثانول المائية.

يُحسب حجم طبقة البتروليوم – إيثر (الحاوية أسترات المثيل للأحماض الدهنية)، يجفف المذيب تحت ضغط منخفض، تذاب أسترات مثيل الأحماض الدهنية في حجم قياسي من الكلوروفورم وتصبح جاهزة للتحليل بتقانة كروماتوكرافيا الغاز.

فصل وتشخيص الاحماض الدهنية بكروماتوغرافيا الغاز Gas Chromatograph (GC)

شُخصت الأحماض الدهنية في مستخلصات الكالس والأوراق النباتية للبندق بواسطة جهاز كروماتوكرافيا الغاز (GC) المجهز من شركة Hewlett Packard نوع (Packard Model 438A) في مختبرات شركة ابن سينا التابعة لوزارة الصناعة والمعادن/ بغداد، باستخدام عمود فصل نوع SE-30 قطره 1/8 انج وطوله 3 متر وباستخدام كاشف شعلة التأين Film Ionization Detector (FID) درجة حرارته 325 °م، وبعد ان جهزت العينة أُضيفت في الانبوبة الخاصة بالجهاز وبهذا تكون

جاهزة للقراءة، قورنت أزمنة احتباس أسترات الأحماض الدهنية للعينات مع ازمنة احتباس أسترات الأحماض الدهنية القياسية. فصلت الاحماض الدهنية بين درجة 120−300 °م برفعها 10 درجات/ دقيقة باستخدام غاز الهيليوم He كغاز حامل Carrier Gas بسرعة 30 مل/دقيقة وغاز الهيدروجين بسرعة 30مل/دقيقة (Shaw, 1974; Smith *et al.*, 1969).

النتائج والمناقشة

تأثير تراكيز من الحامض الاميني .Phe على الوزن الرطب لكالس نبات البندق *Corylus avellana*

1- تقدير الاوزان الرطبة لمزارع الكالس بعد مرور 40 يوماً من الزراعة:

يبين الجدول (1) أن افضل الاوساط المحفزة لنمو واستحثاث الكالس هي أوساط MS الصلبة المجهزة بـ (1.5 و1.0) ملغم/ لتر من الـ BA والـ 2,4-D على التوالي، وهي الاوساط التي عُدت أوساطاً قياسية لتنمية مزارع كالس نبات البندق (البكر و اخرون،2011) أذ بلغ معدل الوزن الرطب للكالس النامي عليها 3.71 غم وكانت النسبة المئوية للزيادة بالوزن الرطب 147.3%. وهذا يبين دور منظمات النمو في زيادة الوزن الرطب للكالس، فالأوكسينات و السايتوكاينينات لها دور مهم في تنظيم دورة حياة الخلية النباتية والعمليات التطورية المختلفة فيها من خلال دورها المهم في الانقسام الخلوي للأنسجة النباتية، وقد لوحظ أن مستوى هذه الهرمونات يتغير خلال دورة حياة الخلايا النباتية المزروعة، ويصل إلى أعلى المستويات خلال مراحل الانقسام الخلوي (Schmülling, 2004; Mok *et al.*, 2000)، وتميز الكالس بلونه البني المصفر وقوامه الصلب المتماسك، الصورة (1−A).

أما أوساط MS المجهزة بمستويات مختلفة من الحامض الاميني الفينايل الانين .Phe مع التراكيز القياسية لمنظمات النمو، تدرجت فيها النسبة المئوية للزيادة بالوزن الرطب بين (60−98) % بانخفاض تركيز الحامض الاميني الفينايل الانين .Phe، الجدول (1). وتبين ان اضافة الحامض الاميني الى أوساط النمو لم تشجع الزيادة في الوزن الرطب كما هو الحال في الوسط القياسي، وقد يعود سبب ذلك الى ان الحامض الاميني الفينايل الانين .Phe يعد هو البادئ للمسارات الايضية لنواتج ثانوية في الخلايا النباتية (Bauer *et al.*, 2011).

وسُجلت أقل زيادة بالوزن الرطب للكالس النامي على اوساط MSO الخالية من منظمات النمو، اذ بلغ معدل الوزن الرطب للكالس النامي عليها 2.0 غم والنسبة المئوية للزيادة بالوزن الرطب 33.3% وذلك بعد مرور 40 يوما من اعادة الزراعة. هناك زيادة بالوزن الرطب بالرغم من عدم وجود منظمات النمو في الوسط الغذائي، الا انها قليلة، وقد يعود سبب هذه الزيادة الى وجود مستوى معين من الهرمونات النباتية في القطعة النباتية المزروعة وهو ما يشار له المستوى الداخلي من الهرمونات (Pierik, 1997).

الجدول 1 : الاوزان الرطبة والنسبة المئوية للزيادة بالوزن الرطب لمزارع كالس نبات البندق *Corylu savellana* بعد مرور 40 يوماً من الزراعة

تركيز المعاملات (ملغم/لتر)		معدل الوزن الرطب /غم	الزيادة بالوزن الرطب /غم	الزيادة بالوزن الرطب %
منظمات النمو القياسية (1.5) BA+(1.0)2,4-D	الحامض الاميني.Phe			
	0.6	2.97	1.47	98.0
	0.8	2.82	1.32	88.0
	1.0	2.41	0.9	60.0
	MS القياسي	3.71	2.21	147.3
MSO		2.0	0.5	33.3

ملاحظة: عدد المكررات عشرة لكل معاملة.

2- **تقدير الاوزان الرطبة لمزارع الكالس بعد مرور80 يوماً من الزراعة**

يبين الجدول (2) وبعد مرور80 يوماً من إعادة الزراعةأن اعلى معدل للوزن الرطب لمزارع الكالس كان على اوساط MS الصلبة القياسية المجهزة بـ (1.5 و1.0) ملغم/لتر من الـ BAو الـ 2,4-D على التوالي، حيث بلغ معدل الوزن الرطب للكالس النامي عليها 5.3غم وكانت النسبة المئوية للزيادة بالوزن الرطب 253.3%، ولوحظ تضاعف الوزن الرطب للكالس على هذه المعاملة اذا ما قورن بعمر 40 يوماً، وهذا يشير الى دور منظمات النمو النباتية الـ BA و الـ 2,4-D في تحفيز استحداث ونمو كالس العديد من النباتات، وقد أشار Qaderi وآخرون إلى أن استخدام الـ BA مع الـ 2,4-D شجع استحداث ونمو الكالس من قطع الاوراق والسيقان لنبات البندق (Qaderi *et al.*, 2012)، كما أشار (سعيد وآخرون، 2013) الى دور الـ BA في تحفيز التضاعف الخضري لعقد نبات الحور الاسود .*Populus nigra* L في نظام الزراعة النسيجية، وتميز كالس نبات البندق *Corylu savellana* بلونه الاصفر المائل الى البني وقوامه المتماسك، الصورة (B-1).

تأتي بعدها أوساط MS المجهزة بمستويات مختلفة من الحامض الامينيي الفينايل الانين .Phe مع التراكيز القياسية لمنظمات النمو، لوحظ زيادة بالوزن الرطب في هذا العمر وكانت اعلاها في اوساط MS الصلبة المدعمة بـ(1.5 و1.0) ملغم/لتر من الـ BAوالـ2,4-D على التوالي مع 0.6 ملغم/لتر من الحامض الامينيي الفينايل الانين .Phe، إذ بلغ معدل الوزن الرطب للكالس عندها 4.7 غم اما النسبة المئوية للزيادة بالوزن الرطب كانت 213.3 %. وقد تميز الكالس في هذه المعاملات بلونه البني المصفر وقوامه الصلب المتماسك، الصورة (C,D,E -1).

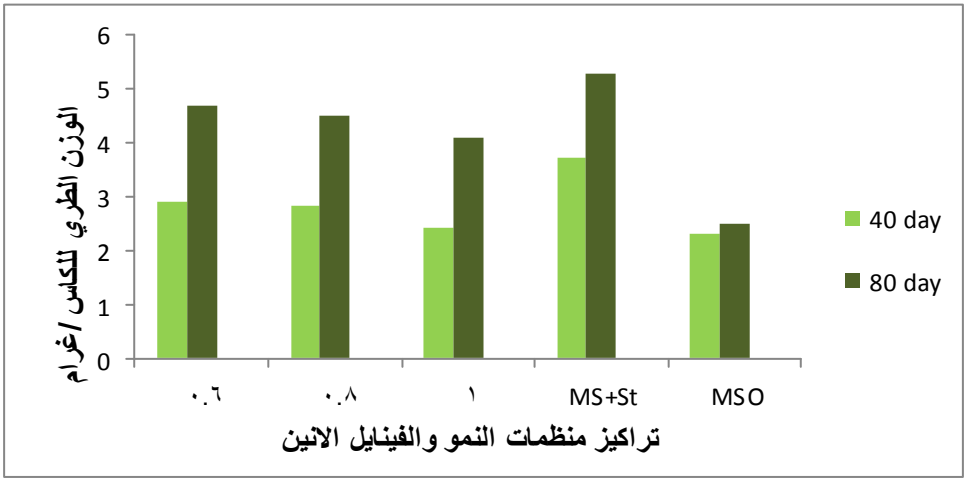
وكانت أقل زيادة للوزن الرطب للكالس على الأوساط الخالية من منظمات النموMSO، اذ بلغ معدل الوزن الرطب للكالس النامي عليها 2.3 غم والنسبة المئوية للزيادة بالوزن الرطب 53.33 % وذلك في عمر80 يوما من اعادة الزراعة. ويمكن تفسير النتائج على ضوء ما ذكر من دور منظمات النمو في تحفيز نمو الكالس بعمر 40 يوماً ويضاف لها انه مع زيادة عمر الكالس فأن الانقسامات المتتالية المحفزة بوجود منظمات النمو هي التي تساهم بزيادة الوزن الرطب في المرحلة اللاحقة من العمر، وهذا يشير الى دور منظمات النمو النباتية الـ BA و الـ2,4-D في تحفيز استحداث ونمو كالس العديد من النباتات، وقد أشار (البكر، 2013) الى ان استخدام 1.5 ملغم/لتر من الـ BA مع 0.5 ملغم/لتر من الـ2,4-D شجع استحداث ونمو الكالس من القطع النباتية الحاوية على العقد لبادرات نبات الخرنوب *Prosopis farcta*.

الجدول 2 : الاوزان الرطبة والنسبة المئوية للزيادة بالوزن الرطب لمزارع كالس نبات البندق *Corylu savellana* بعد مرور 80 يوماً من الزراعة

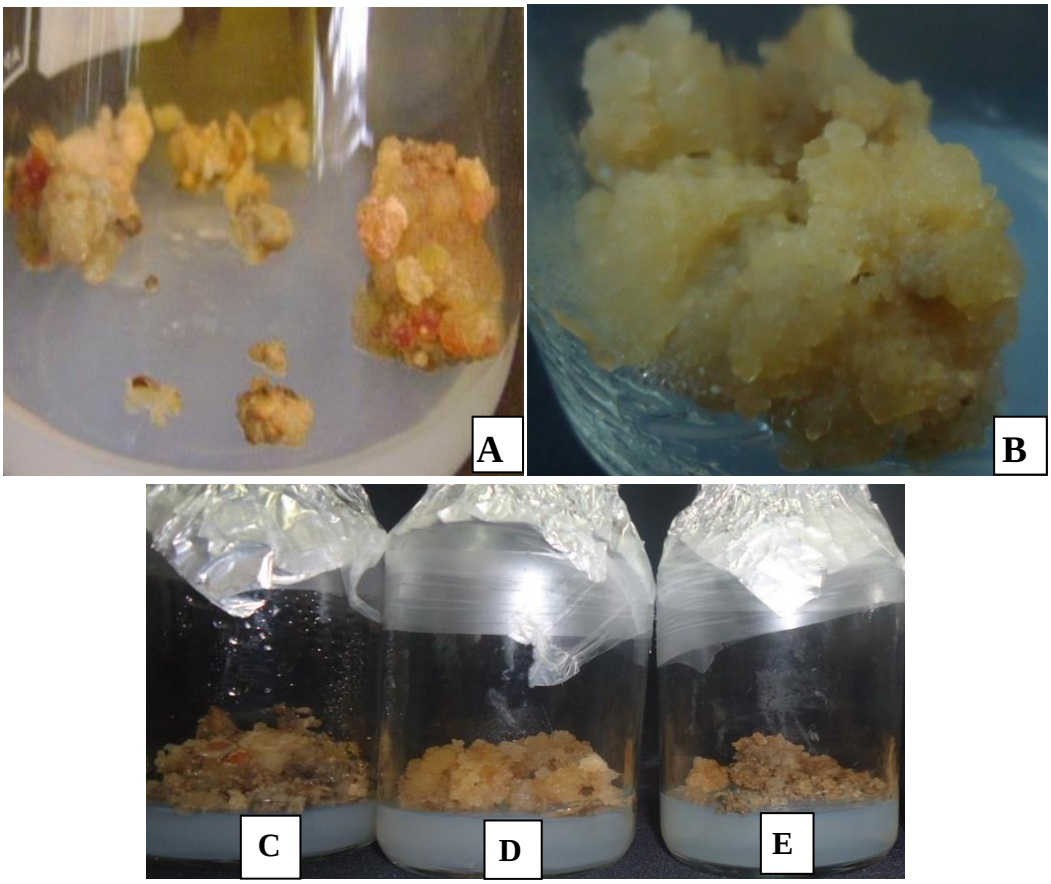
تركيز المعاملات (ملغم/لتر)		معدل الوزن الرطب /غم	الزيادة بالوزن الرطب /غم	الزيادة بالوزن الرطب %
منظمات النمو القياسية (1.5) BA+(1.0) 2, 4-D	الحامض الاميني.Phe			
	0.6	4.7	3.2	213.3
	0.8	4.5	3.0	200
	1.0	4.1	2.6	173
	MS القياسي	5.3	3.8	253.3
MSO		2.3	0.8	53.33

ملاحظة: عدد المكررات عشرة لكل معاملة.

لوحظ وبشكل عام أن افضل الاوساط المحفزة لنمو الكالس خلال العمرين 40 و80 يوم هي اوساط MS الصلبة المدعمة بـ (1.5 و1.0) ملغم/ لتر من الـ BA والـ 2,4-D على التوالي، تليها الاوساط المجهزة بـ (1.5 و1.0) ملغم/لتر من الـ BA والـ2,4-D على التوالي مع 0.6 ملغم/ لتر من الحامض الاميني الفينايل الانين .Phe، وأقلها تحفيزاً لنمو الكالس هي الأوساط الخالية من منظمات النمو MSO، لاحظ الشكل (1).



الشكل 1: معدل الزيادة في الوزن الرطب لمزارع كالس نبات البندق النامي على اوساط MS الصلبة المجهزة بمنظمات النمو وتراكيز مختلفة من الحامض الاميني .Phe خلال مرحلتي النمو (40 و80) يوماً من الزراعة



الصورة 1: كالس نبات البندق *Corylus avellana* L. **النامي على وسط** MS **المجهز بـ** 1.5 **ملغم/لتر**BA **و** 1.0 **ملغم/لتر** 2,4-D **والفينايل الانين بعد مرور 40 و80 يوم من الزراعة** MS:A **القياسي (بعد مرور40 يوماً)؛ MS:B القياسي (بعد مرور 80 يوماً)؛ C: MS القياسي +Phe. (0.6) ملغم/لتر (بعد 80 يوماً)؛ D: MS القياسي +Phe. (0.8) ملغم/لتر (بعد 80 يوماً)؛E: MS القياسي +Phe. (1.0) ملغم/لتر (بعد مرور 80 يوماً).**

تشخيص الاحماض الدهنية في مستخلصات مزارع الكالس والأوراق النباتية:

بينت نتائج التشخيص النوعي والكمي للأحماض الدهنية في كالس نبات البندق وبالاعتماد على تقنية كروماتوغرافيا الغاز GC احتواء الكالس على عدد من الاحماض الدهنية وهي: (Oleic, Linoleic, Palmitic, Stearic, Lauric acid)، الشكل (2)، كما تبين ان هناك اختلافاً في مستوياتها باختلاف المعاملات وفترة النمو وعمر الكالس، وكما مبين في الجدول (3).

فقد أظهرت نتائج الفصل للأحماض الدهنية في انسجة الكالس النامي على اوساط MS القياسية والمجهزة بـ (1.0و1.5) ملغم/لتر من الـ 2,4-D و الـBA على التوالي، وبعمر 40 يوماً وجود قمة امتصاصية واضحة للحامض الدهني الأوليك Oleic الذي شخص بزمن احتباس 15.21 الشكل (3–A) وهو نفس زمن الاحتباس لعينة حامض الأوليك Oleic القياسية، الشكل (2–A).

أما عينة مستخلص للكالس النامي على نفس الوسط ولكن بعد مرور 80 يوماً على النمو فقد بينت وجود اكثر من قمة امتصاصية للأحماض الدهنية. فقد شخصت قمة امتصاصية للحامض الدهني الأوليك Oleic ومن الواضح ان تركيز الحامض أعلى بكثير من تركيزه في عمر 40 يوماً. اضافة الى قمتين امتصاصية بزمن 13.48 و14.67 وهما للأحماض الدهنية Palmitic وLinoleic، الشكل (4–A).علماً أن تركيز الحامض الدهني الأوليك Oleic في عينة مستخلص الكالس بلغ 2.77 (محسوب من المساحة تحت المنحنى) وذلك بعمر 40 يوماً، في حين وصل الى 3.88 (محسوب من المساحة تحت المنحنى) في عمر 80 يوماً.

ويبين الشكل ان الكالس النامي على نفس وسط MS المذكور اعلاه ولكن مع اضافة 0.6 ملغم / لتر من الحامض الاميني الفينايل الانين .Phe وبعمر 40 يوماً أعطى قمم امتصاصية ولكن بتراكيز واطئة لعدد من الاحماض الدهنية وعند المقارنة مع ازمنة الاحتباس للعينات القياسية أصبح واضحاً وجود كل من Linoleic acid وOleic acid الشكل (3–B). اما بعد مرور 80 يوماً فبدا محتوى الاحماض الدهنية واضحاً بوجود قمتين امتصاصيتين في 14.01 و15.55 دقيقة وهما للأحماض الدهنية Palmitic و Oleic acid اعتماداً على مقارنة ازمنة الاحتباس مع العينات القياسية للأحماض الدهنية الشكل (4–B). ومن الجدير ذكره أن محتوى الكالس من حامض الـ Oleic acid هو اكثر من حامض الـ Palmitic acid، حيث بلغ تركيزه في عينة مستخلص الكالس 0.495، في حين وصل تركيز الحامض الدهني Palmitic acid إلى 0.192 في عمر 80 يوم الجدول (3).

ومع زيادة تركيز الفينايل الانين .Phe الى 0.8 ملغم / لتر في وسط نمو الكالس اشار تشخيص الاحماض الدهنية الى وجود قمم امتصاصية لعدد من الاحماض الدهنية اوضحها واكثرها تركيزاً في نسيج الكالس النامي لفترة 40 يوماً هو الحامض الدهني Oleic acid، الشكل (3–C). وقد بلغ تركيزه 0.06 (الجدول 3)، أما بعد مرور 80 يوماً على نمو الكالس على هذه الاوساط فقد ازداد تركيز الاحماض الدهنية المشخصة وأهمها Oleic acid وLinoleic وPalmitic، الشكل (4–C).

أما عند تنمية الكالس على وسط MS القياسي مع اضافة 1.0 ملغم / لتر من الفينايل الانين .Phe ولمدة 40 يوماً فقد شخص وجود Linoleic acid بوضوح بقمة امتصاصية ظهرت بزمن احتباس 14.7 وهو نفس زمن الاحتباس للعينة القياسية للحامض الشكل (3–D)، كما شخص الحامض الدهني Oleic ولكن بتراكيز أقل من حامض الـ Linoleic، الجدول (3). وبعد مرور 80 يوماً شخصت قمم امتصاصية للأحماض الدهنية Oleic acid وLinoleic acid وPalmitic acid، الشكل (4–D). وقد كان هناك زيادة ملحوظة في تركيز الحامض الدهني Oleic acid من 0.046 في عمر 40 يوماً الى 0.793 في عمر 80 يوماً، أما الـ Stearic acid فقد شخص في العمر الاول ولم يلاحظ له أي تركيز محسوس في العمر الثاني، الجدول (3). وبينت النتائج في الشكل (3–E) فصل قمم امتصاصية بتراكيز واطئة من الكالس النامي على وسط MSO الخالي من منظمات النمو في عمر 40 يوم، وقد لوحظت زيادة طفيفة في تركيز بعض الاحماض الدهنية المشخصة في عمر 80 يوم لنمو الكالس، الشكل (4–E)، وانخفاض في تركيز البعض منها

مثل حامض الـ Linoleic acid، الجدول (3)، ان الاحماض الدهنية ولو كانت بمستوى واطئ جداً فهي ناتجة من استمرار نمو الكالس بوجود مستوى معين من الهرمونات الداخلية.

أما مستخلص الاوراق النباتية فبدا واضحاً وجود قمم امتصاصية لعدد من الاحماض الدهنية ولكن بمستوى قليل مقارنة مع مستخلصات الكالس، الشكل (3– F). ومن أكثر الاحماض الدهنية المشخصة في هذه العينة هيOleic acid وLinoleic acid وPalmitic acid وبالتراكيز (0.013، 0.027، 0.024) على التوالي الجدول (3)، وهذا يشير الى أن اوراق نبات البندق لا تحتوي على مستويات عالية من الاحماض الدهنية فهي ليست المكان الذي تخزن فيه الاحماض الدهنية في نبات البندق بكميات كبيرة مثل البذور والثمار (Ozdemir, 2001).

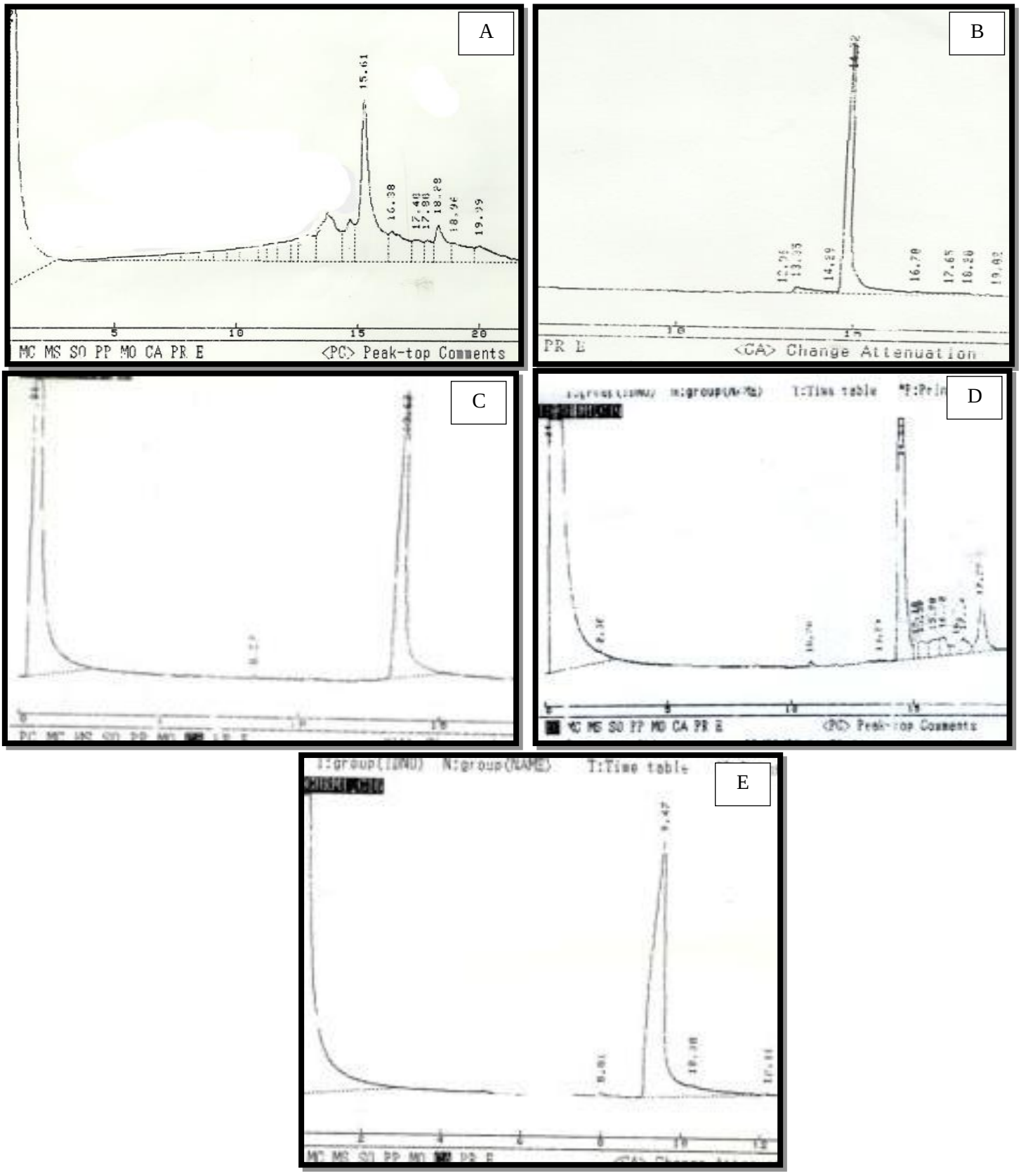
ويمكن القول أن اضافة منظمات النمو القياسية والحامض الاميني الفينايل الانين .Phe كان لها أثراً واضحاً في زيادة محتوى خلايا الكالس من الأحماض الدهنية، وهذا يؤكد دور منظمات النمو النباتية في تحفيز عدد من مسارات الايض الاولي والثانوي في النباتات (George *et al.*, 2008)، وهذا ما أشارت اليه العديد من الدراسات، فقد لوحظ تباين في مستويات الاحماض الدهنية في زيت كالس الحبة السوداء متأثراً بمكونات الوسط الغذائي (الشهواني، 2010)، كما يتأثر محتوى الكالس من الأحماض الدهنية بعدة عوامل منها الصدمة الحرارية، فقد بينت احدى الدراسات وجود تباين في تركيز ونوع الاحماض الدهنية في انسجة كالس نبات السمسم *Sesamum indicum* L. المتباينة في معاملاتها بالصدمة الحرارية فقد سببت زيادة تركيز الاحماض الدهنية غير المشبعة Oleic acid وLinoleic acid فيه (الطائي، 2013).

كما اوضحت الدراسة ان أكثر الاحماض الدهنية تواجداً في خلايا الكالس وبتراكيز عالية هما Oleic acid وLinoleic acid، وأقلها هي الاحماض الدهنية الـ Palmitic وLauric وStearic acid. ويتفق ذلك مع العديد من الدراسات التي أشارت الى ان اكثر الاحماض الدهنية المشخصة في نبات البندق هو حامض الـ Oleic acid لذا يعد نبات البندق مصدر جيد لهذا الحامض الدهني (Li and Parry, 2011 ; Quarta *et al.*, 2007).

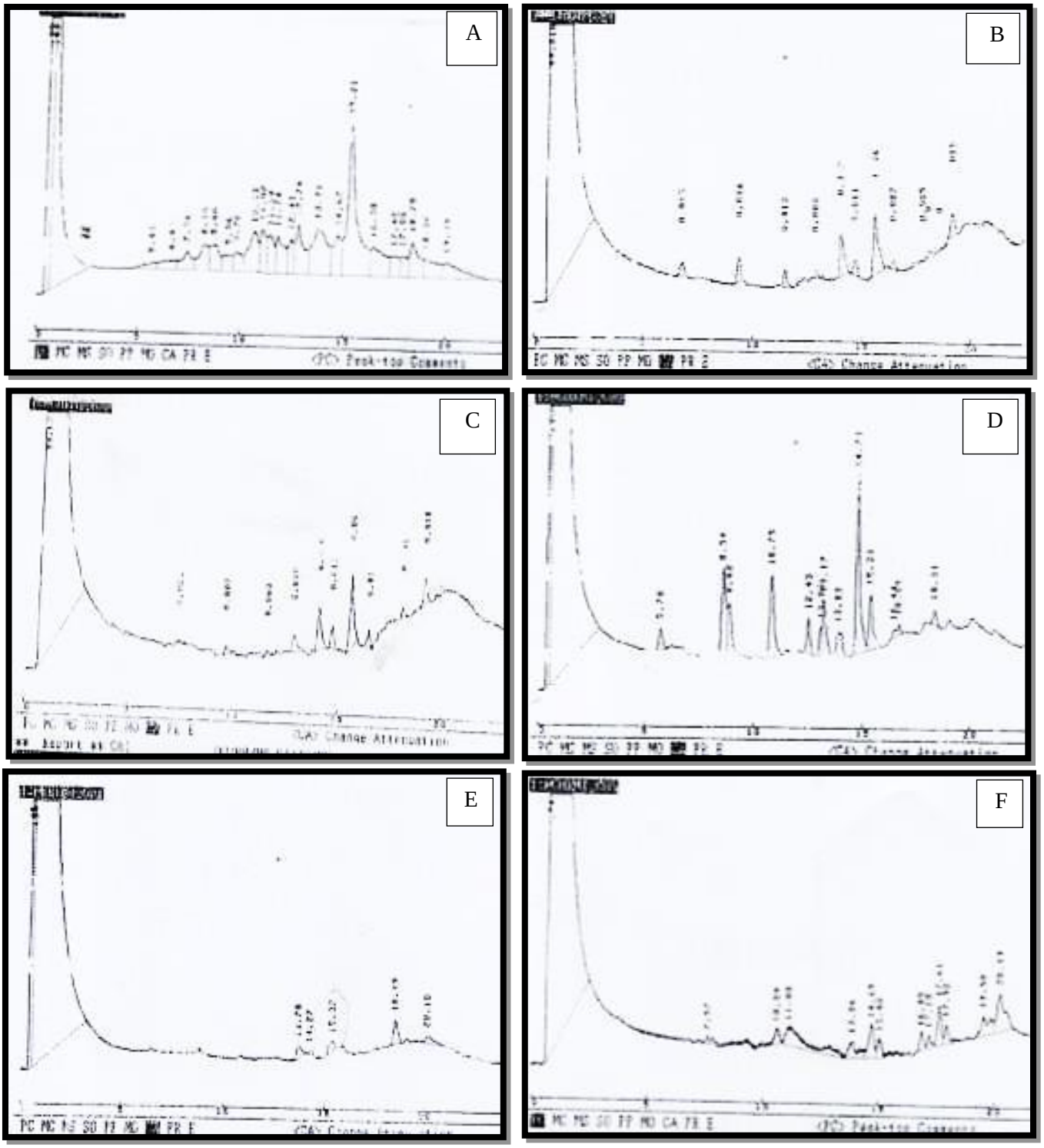
الجدول 3: الأحماض الدهنية المشخصة في مستخلصات كالس نبات البندق *Corylus avellana* **النامي على وسط** MS **القياسي (1.5 ملغم/ لتر**BA **و 1.0 ملغم/ لتر** 2,4-D**) بوجود تراكيز مختلفة من الـ** .Phe **باستخدام تقانة** Gas Chromatography

المعاملات (مستخلصات الكالس)		نوع الحامض الدهني القياسي	زمن الاحتباس للحامض الدهني القياسي/دقيقة	زمن الاحتباس للحامض الدهني في عينة الكالس /دقيقة	تركيز الحامض الدهني في العينة / Concentration (محسوب من المساحة تحت المنحنى)	
					40 يوم	80 يوم
MS+منظمات النمو القياسية (1.5) BA+(1.0) 2, 4-D ملغم/لتر	MS القياسي	Oleic acid	15.61	15.21	2.77	3.88
		Linoleic acid	14.72	14.67	0.62	0.99
		Palmitic	13.63	13.71	1.31	1.29
	+ 0.6 Phe.	Oleic acid	15.61	15.55	0.06	0.495
		Linoleic acid	14.72	14.85	0.016	0.061
		Palmitic	13.63	14.01	0.037	0.192
		Lauric	9.47	9.36	0.015	0.017
	+ 0.8 Phe.	Oleic acid	15.61	15.52	0.060	0.125
		Linoleic acid	14.72	14.60	0.016	0.158
		Palmitic	13.63	13.99	0.037	0.031
	+ 1.0 Phe.	Oleic acid	15.61	15.33	0.046	0.793
		Linoleic acid	14.72	14.70	0.131	0.019
		Stearic acid	14.55	13.93	0.026	----
		Palmitic	13.63	13.17	0.040	0.059
MSO		Oleic acid	1615.	15.07	0.006	0.010
		Linoleic acid	14.72	14.87	0.0013	0.0006

0.007	0.005	13.7	13.63	Palmitic	
0.013		15.03	1615.	Oleic acid	مستخلص الاوراق النباتية
0.027		14.69	14.72	Linoleic acid	
0.024		13.86	13.63	Palmitic	


A
15.61
16.38
17.40
17.86
18.28
18.94
19.39
MC MS SO PP MO CA PR E
<PC> Peak-top Comments
B
PR E
<CA> Change Attenuation
C
D
E

الشكل 2: زمن الاحتباس (دقيقة) وقمة الامتصاص للأحماض الدهنية القياسية باستخدام تقانة Gas Chromatography
A–الحامض الدهني Oleic acid / B– الحامض الدهني Linoleic acid/ C – الحامض الدهني Palmitic
D acid–الحامض الدهني Stearic acid / E – الحامض الدهني Lauric acid.



الشكل3: زمن الاحتباس(دقيقة) وقمم الامتصاص (الفولت) للأحماض الدهنية المشخصة في مستخلصات كالس نبات البندق *Corylus avellana* **النامي على وسط** MS **المجهز بـ** 1.5 **ملغم/لتر**BA **و** 1.0 **ملغم/لتر** 2,4-D **وتراكيز مختلفة من الـ** .Phe **بعد 40 يوم من النمو، باستخدام تقانة**Gas Chromatography.

A- MS **القياسي.**

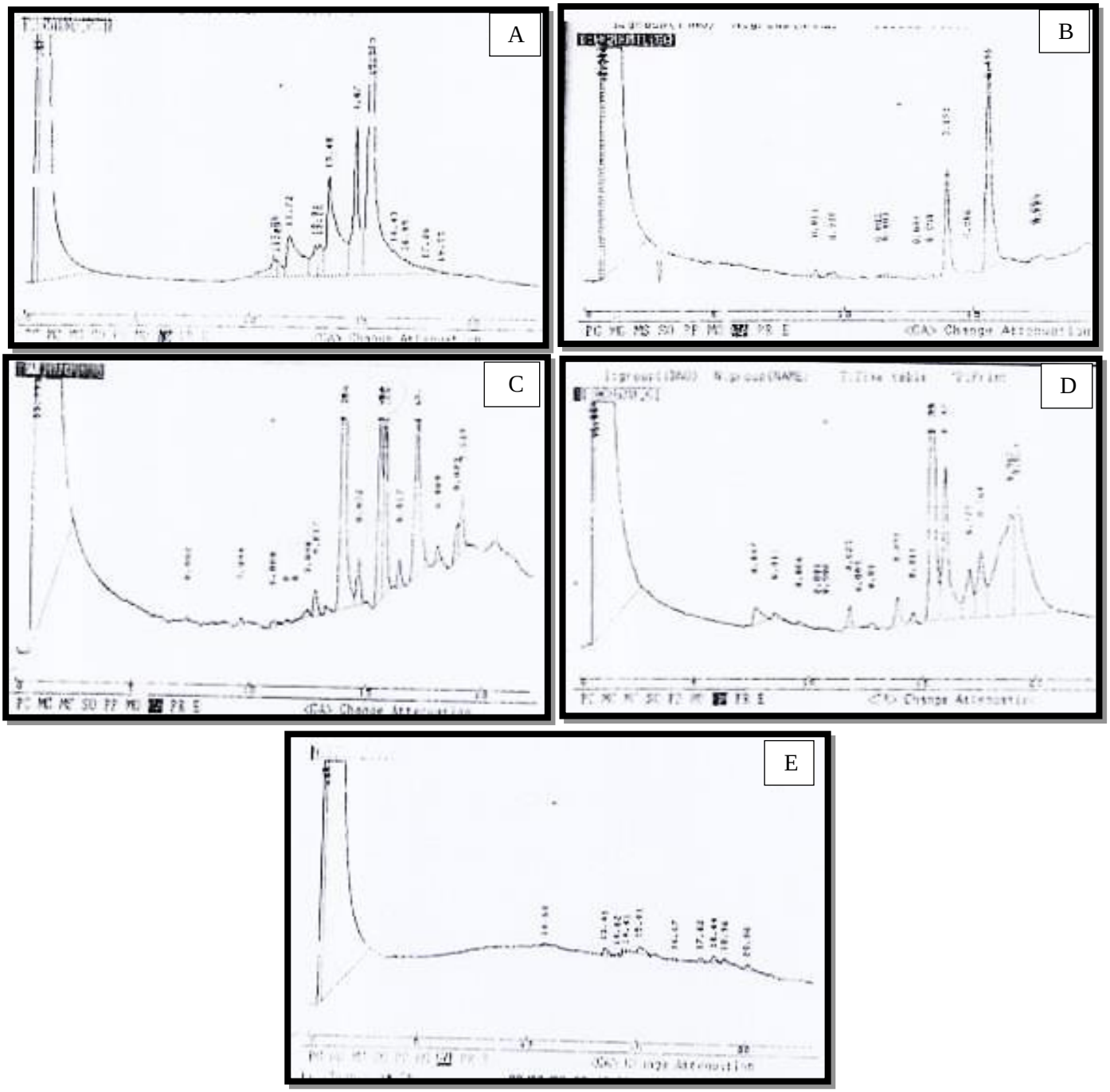
B- MS **القياسي +** (0.6) **ملغم/لتر** .Phe.

C- MS **القياسي +** (0.8) **ملغم/لتر** .Phe.

D- MS **القياسي +** (1.0) **ملغم/لتر** .Phe.

E- MSO

F - **مستخلص أوراق نبات البندق.**



الشكل 4: زمن الاحتباس(الدقيقة) وقمم الامتصاص (الفولت) للأحماض الدهنية المشخصة في مستخلصات كالس نبات البندق *Corylus avellana* **النامي على وسط** MS **المجهز بـ** 1.5 **ملغم/لتر** BA **و** 1.0 **ملغم/لتر** 2,4-D **بوجود تراكيز مختلفة من الـ** .Phe **بعد 80 يوماً من النمو، باستخدام تقانة** Gas Chromatography .

A- MS **القياسي.**

B- MS **القياسي +** (**0.6**) **ملغم/لتر** .Phe.

C- MS MS **القياسي +** (**0.8**) **ملغم/لتر** .Phe.

D- MS **القياسي +** (1.0) **ملغم/لتر** .Phe.

E- MSO.

المصادر العربية

البكر، رحاب عبد الجبار (2013). استحداث وتمايز كالس نبات الخرنوب *Prosopis farcta* واستخلاص حامض الكافائيك منه. مجلة علوم الرافدين، **6** (24)، 95-111

البكر، رحاب عبد الجبار؛ الصالح، هناء سعيد؛ العباجي؛ فارس ذنون (2011). دراسة كيميائية حيوية لثفن نبات البندق *Corylusa vellana* L. الحاوي على التاكسول. المجلة العربية للعلوم الصيدلية، مجلة اتحاد الجامعات العربية، ع6، مج 4، ص (117-126).

سعيد، ناظم ذنون ؛ قصاب باشي، عمار زكي ؛ عمر، مظفر عمر (2013). الإكثار الدقيق لأشجار الحور الأسود *Populus nigra* L. بالزراعة النسيجية. مجلة علوم الرافدين، **6** (24)، 1-17.

الشهواني، ازهار حسين علي (2010). دراسة بايوكيمياوية عن دور حامض الساليسيلك كمنظم نمو في أيض المزارع النسيجية لنبات الحبة السوداء *Nigella sativa* L.، اطروحة دكتوراه، جامعة الموصل، العراق.

الطائي، نهال عزت جمعة (2013). التلاعب الفيزياوي والوراثي لأنسجة السمسم *Sesamum indicum L.* وتأثيراته في فعالية انزيمات بناء نيوكليوتيد الثايمين والفوليت والزيت. أطروحة دكتوراه، جامعة الموصل، العراق.

المصادر الاجنبية

Amaral, J.S.; Casal, S.; Citova, I.; Santos, A.; Seabra, R.M.; Oliveira, B.P.P. (2006). Characterization of several hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars based in chemical, fatty acid and sterol composition. *Eur. Food Res. Technol*. **222**, 274–280.

APGsystem III (2009). "An Updated of the Angiosperm Phylogeny Group Classification for the Orders and Families of Flowering Plants". *Bot. J. Linnean Soc.*, **161**,105-121.

Arab Encycolpedia (2005). Web By B. O. C. International Copyright.

Aronson, W.J.; Glaspy, J.A.; Reddy, S.T.; Reese, D.; Heber, D.; Bagga, D. (2001). "Modulation of Omega-3/Omega-6 Polyunsaturated Ratios with Dietary Fish Oils in Men with Prostate Cancer". *Urology*, **58** (2), 283-288.

Bauer, N.; Fulgost, H.; Jelaska, S. (2011). Overexpression of phenylalamine aminonia. lyase in transgenic roots of coleus blumei alters growth and rosmarinic acid squtheis. *Food. Technol. Bio tecchnol.* **49**(1), 24 – 31.

Connor, W.E. (2000). Importance of n-3 Fatty acids in health and disease. *Americ. J. Clinic. Nutr*. **71**(1), 171S-175S.

Dalgarno, B.; Birt, L.M. (1963). Free fatty acids in carrot- tissue preparations and their effect on isolated carrot mitochondria. *Biochem. J.* **87**, 586.

Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAOSTAT data, 2011. http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor

George, E.F.; Hall, M.A.; De Klerk, G. (2008). " Plant Propagation By Tissue Culture". 3rd ed. Volume 1. The Background, Springer.

Iso, H.; Sato, S.; Umemura, U.; Kudo, M.; Koike, K.; Kitamura, A.; Imano, H.; Okamura, T.; Naito, Y. ; Shi-mamoto, T. (2002). Linoleic acid, other fatty acids, and the risk of stroke. *Stroke*. **33**, 2086-2093.

Li, H.; Parry, J.W. (2011). Phytochemical compositions, antioxidant properties, and colon cancer anti proliferation effects of turkish and oregon hazelnut. *Food and Nutrition Sci.*, **2**, 1142-1149.

Mohammad, A.M.S. (1971). Physiological Aspects of Cotyledonary Senescence in *Phaseolus vulgaris* L. Ph. D. Thesis/University of Liverpool/England.

Mok, M.C.; Martin, R.C.; Mok, W.S. (2000). Cytokinins: biosynthesis, metabolism and perception. in vitro cell. dev. *Biol. Plant* **36**,102–107.

Murashige, T.; Skoog, F. (1962). A Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant*, **15**, 473-497.

Ozdemir, M.; Ackurt, F.; Kaplan, M.; Yildiz, M.; Loker, M.; Gurcan, T.; Biringen, G.; Okay, A.; Seyhan, F.G. (2001). Evaluation of new turkish hybrid hazelnut (*Corylus avellana* l.) varieties: fatty acid composition, toco- pherol content, mineral composition and stability. *Food Chemistry*, **73**, 411-415.

Pierik, R.L.M. (1997). "*In Vitro* Culture of Higher Plants". Mart inus Nigh off Publishers. Canada.

Qaderi, A.; Omidi, M.; Etminan, A.; Oladzad, A.; Ebrahimi, C.; Dehghaui, M.MR.; Mehrafarin, A. (2012). Hazel (*Corylus avellana* L.) as a new source of Taxol and Taxanes. *J. Medicinal plants*.**11** (41).

Quarta, A.; Mita, G.; Santino, A.; Depaolis, A. (2007). "Molecular and Biochemical Characterisation of Lipoxygenase Gene Family in Hazelnut (*Corylus avellana*)". Proceedings of the 51st Italian Society of Agricultural Genetics Annual Congress Riva Del Garda, Poster Abstract-D. 81

Schmülling, T. (2004). Cytokinin. *In* Encyclopedia of Biological Chemistry. Academic Press/Elsevier Science.

Shaw, N. (1974). Lipid composition as a guide to the classification of bacteria. Adv. *Appl. Microbiol*. **17**, 63-108.

Smith, T.M.; Brooks, T.J.; White, H.B. (1969). Fatty acid composition of adult *Schistosomamanson*. *Lipids***. 4**, 31-36.

Stahl, L. (2007). *Third Crop Options,* Hybrid Hazelnuts. Rural Advantage, 1243 Lake Ave. Suite 222, Fairmont, MN 560.