تأثير مستخلص الشاي الأخضر على مقاومة البازلاء (*Pisum sativum* L) للإجهاد الحراري: (دراسة مورفولوجية وبيوكيميائية)

مبروكة ونيس شقلوف *
قسم الأحياء، كلية التربية، جامعة بني وليد، بني وليد، ليبيا
* البريد الإلكتروني (للباحث المرجعي): m.shaqluf@gmail.com

Effect of Green Tea Extract on Pea (*Pisum sativum* L.) Resistance to Heat Stress: (Morphological and Biochemical Study)

Mabroukah Wannees Shaqlouf *
Department of Biology, Faculty of Education, University of Bani Waleed, Bani Waleed, Libya

Received: 22-04-2025; Accepted: 15-06-2025; Published: 24-06-2025

الملخص:

هدفت الدراسة إلى تقييم تأثير مستخلص الشاي الأخضر في تعزيز مقاومة البازلاء للإجهاد الحراري. زُرعت بذور بازلاء في اصص صغيرة قسمت عشوائيا إلى أربع مجموعات، وبعد 10 أيام من الإنبات عُرضت ثلاث مجموعات للإجهاد الحراري، رُشت مجموعتين منها بمستخلص الشاي الأخضر بتركيزين مختلفين (100 ppm,500 ppm)، تم قياس طول الشتلة، وعدد الأوراق كمؤشرات مورفولوجية، ونشاط مضادات الأكسدة، ومحتوى الكلوروفيل كمؤشرات بيوكيميائية. نفذت التجربة باستخدام التصميم العشوائي الكامل، قُسمت إلى أربع مجموعات مع خمس مكررات (ضابطة، إجهاد، إجهاد+100 ppm، إجهاد+500 ppm). أظهرت النتائج تحسن في النمو ومحتوى الكلوروفيل وزيادة النشاط المضاد للأكسدة في المجموعات المعالجة بالمستخلص مقارنة بمجموعة الإجهاد، تشير نتائج الدراسة إلى إمكانية استخدام مستخلص الشاي الأخضر كحل طبيعي ومستدام في تحسين مقاومة المحاصيل الزراعية للإجهاد الحراري.

الكلمات المفتاحية: مستخلص، الشاي الأخضر، البازلاء، الإجهاد الحراري.

Abstract:

The study aimed to evaluate the effect of green tea extract in enhancing pea resistance to heat stress. Pea seeds were planted in small pots randomly divided into four groups, and after 10 days of germination, three groups were exposed to heat stress, two of which were sprayed with green tea extract at two different concentrations (100 ppm and 500 ppm), seedling height, number of leaves as morphological indicators, antioxidant activity, and chlorophyll content as biochemical indicators were measured. The experiment was carried out using a randomized complete block design, divided into four groups with five replicates (control, stress, stress+100 ppm, and stress+500 ppm). The results showed improved growth, chlorophyll content and increased antioxidant activity in the extract-treated groups compared to the stress group. The results of the study indicate that green tea extract can be used as a natural and sustainable solution in improving the resistance of agricultural crops to heat stress.

Keywords: Extract, Green Tea, Pea (*Pisum sativum*), Heat Stress.

المقدمة:

يعتبر نبات البازلاء *Pisum sativum* من المحاصيل الزراعية الهامة؛ نظرا لقيمته الغذائية العالية، فهو يحتوي على نسبة كبيرة من البروتينات، المعادن، والفيتامينات. نظرا للتغيرات المناخية العالمية يواجه محصول البازلاء تحديات بيئية كبيرة، خاصة الإجهاد الحراري، حيث يؤدي الإجهاد الحراري إلى انخفاض محتوى الكلوروفيل، قلة كفاءة التمثيل الضوئي، زيادة إنتاج الجذور الحرة، وتدهور في الخصائص المورفولوجية مثل طول النبات، وعدد الأزهار والقرون، مما يؤدي إلى ضعف النمو وخفض الإنتاجية (Hasanuzzaman et al., 2013;Bita & Greate, 2013).

اظهرت دراسات حديثة أن استخدام مركبات طبيعية يمكن أن تساعد النبات على تحمل الإجهاد البيئي. تشير الدراسات إلى أن مستخلص الشاي الأخضر (*Camellia sinnensis*) يحتوي على بوليفينولات تعمل كمضادات أكسدة قوية، مثل الكاتيكين قد تعزز من مقاومة النبات للإجهاد البيئي، حيث تعمل على تقليل الضرر التأكسدي وتحافظ على الوظائف الحيوية للخلايا النباتية (Upadhyaya & Panda, 2004; Pastoriza et al., 2017). بالرغم من ذلك لم يدرس تأثير مستخلص الشاي الأخضر على مقاومة البازلاء للإجهاد الحراري بشكل كاف، مما يؤكد أهمية هذا البحث. تهدف هذه الدراسة لتقييم تأثير مستخلص الشاي الأخضر على مقاومة البازلاء للإجهاد الحراري، بهدف تطوير حلول طبيعية ومستدامة لتحسين نمو المحاصيل وإنتاجيتها في ظل التحديات المناخية.

المواد والطرق:

استُخدمت بذور بازلاء *Pisum sativum* من صنف محلي، نُقعت حوالي 50–60 بذرة في ماء لمدة 12–24 ساعة، وزُرعت في 25–30 اصيص. تم ريّها مرتين يوميا بـ 5 مل ماء، بعد 10 أيام اختيرت 20 شتلة قُسمت إلى أربع مجموعات، عرضت ثلاث مجموعات للإجهاد الحراري مع رش مجموعتين منها بمستخلص الشاي الأخضر 10–15 مل يوميا لمدة 10 أيام.

تحضير مستخلص الشاي الأخضر:

تم تحضير مستخلص الشاي الأخضر بتركيزين (100 ppm, 500 ppm) وذلك بنقع 50 ملغم من أوراق الشاي الأخضر المجففة في 500 مل ماء عند 80م° وذلك للتركيز المنخفض، ونقع 250 ملغم من أوراق الشاي الأخضر المجففة في500 مل ماء عند 80م° للتركيز المرتفع لمدة 30 دقيقة، رُشح المحلول بعد ما طُرّد مركزيا عند 5000 دورة في الدقيقة لمدة 10 دقائق.

القياسات المورفولوجية

1- **طول الشتلة (سم):** باستخدام مسطرة من قاعدة الشتلة حتى أعلى قمة.

2- **عدد الأوراق:** وذلك بعد الأوراق يدويا في كل شتلة.

القياسات البيوكيميائية :

1- قياس مضادات الأكسدة:

تم تقدير مضادات الأكسدة باستخدام طريقة DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). (Brand-Wiliams et al., 1995). جمعت الأوراق (0.5 جم) وتم طحنها في 5 مل ميثانول. نقلت إلى أنابيب الطرد المركزي، وطُردت مركزيا عند 8000 دورة في الدقيقة لمدة 5-10دقائق عند درجة حرارة 4م°. تم إضافة 0.1 مل من المستخلص إلى 3.9 مل من DPPH. تم تغليف المحلول بورق قصدير ووضعه في الظلام لمدة 30 دقيقة، قيس امتصاص المحاليل عند 517 نانومتر، وتم حساب نسبة التثبيط باستخدام المعادلة:

$$Inhibition\% = \frac{[(A_{contrl} - A_{sample})}{A_{control}} * 100$$

حيث $A_{control}$ تعبر عن امتصاص DPPH بدون المستخلص.

A_{sample} تعبر عن امتصاص محلول DPPH مع المستخلص.

2- قياس محتوى الكلوروفيل

تم استخلاص الكلوروفيل بطحن 0.2 جم من الأوراق في 5 مل اسيتون 80% لمدة 5 دقائق باستخدام الهاون، ثم نقل المستخلص إلى أنابيب الطرد المركزي، وطُرد مركزيا عند 4000 دورة في الدقيقة لمدة 5 دقائق، قيس الامتصاص عند 663 و645 نانومتر باستخدام مطياف ضوئي، وحُسب تركيز الكلوروفيل a و b باستخدام معادلات Lichtenthaler (1987):

- الكلوروفيل a(µg/ml) = A_{663}*12.25 -A_{645}*2.79
- الكلوروفيلb(µg/ml) = A_{645}*21.50 - A_{663}*5.10
- الكلوروفيل الكلي(a+b) (µg/ml) = A_{663}*7.15 + A_{645}*18.71

التحليل الإحصائي:

أجري التحليل الإحصائي باستخدام تحليل التباين أحادي الاتجاه ANOVA، وتم مقارنة المتوسطات باستخدام Tukey's HSDعند مستوى دلالة P<0.05.

النتائج:

الصفات المورفولوجية:

1- طول الشتلة:

اظهرت النتائج الواردة في جدول(1) أن النباتات المعالجة بمستخلص الشاي الأخضر بتركيزين 500 ppm, 100 ppm اظهرت تحسن في الطول مقارنة بمجموعة الإجهاد (P<0.05)، لوحظ تفوق التركيز 500 ppm وسجل قيم لم تختلف معنويا (P>0.05) عن الضابطة.

2- عدد الأوراق:

كما موضح في الجدول(1) اظهرت النتائج فعالية مستخلص الشاي الأخضر في تعزيز نمو الأوراق في المجموعات التي عولجت بالمستخلص بتركيز 500 ppmو100 ppm (P<0.05) مقارنة مع مجموعة الإجهاد، حيث كانت نتائج المعالجة بتركيز 500 ppm لا تختلف معنويا (P>0.05) عن الضابطة التي سجلت أعلى قيم بين المجموعات، بينما سجلت الإجهاد أدنى قيم.

الخصائص البيوكيميائية:

1- نشاط مضادات الأكسدة:

تم تقدير نشاط مضادات الأكسدة في أوراق البازلاء واظهرت النتائج المبينة في جدول(1) زيادة كمية مضادات الأكسدة في المجموعات المعالجة بمستخلص الشاي الأخضر (P<0.05) مقارنة بمجموعة الإجهاد، ولوحظ تفوق التركيز 500 ppm على الضابطة في النشاط المضاد للأكسدة، حيث سجلت الإجهاد+500 ppm أعلى قيم، تليها الضابطة، الإجهاد+100 ppm، الإجهاد على التوالي.

2- محتوى الكلوروفيل

كما يوضح جدول(1). اظهرت النتائج أن المجموعات المعالجة بمستخلص الشاي الأخضر بتركيزين 500 ppm, 100 ppm زاد تركيز الكلوروفيل فيها ($P<0.05$) عكس مجموعة الإجهاد. سُجلت الضابطة كأفضل النتائج، تليها الإجهاد+500 ppm، والإجهاد+100 ppm. سُجلت أقل القيم لدى الإجهاد.

جدول1: تأثير مستخلص الشاي الأخضر على الخصائص المورفولوجية والبيوكيميائية للبازلاء تحت الإجهاد الحراري.

المجموعة	طول الشتلة (سم)	عدد الأوراق	تركيز الكلوروفيل الكلي (mg/g FW)	نسبة تثبيط DPPH (%)
الضابطة (بدون إجهاد)	(a)0.6±15.1	(a)0.42±6.3	(a)0.13±2.07	(b)2.45±50.6
الإجهاد الحراري	(c)0.80±9.8	(c)0.35±3.6	(c)0.15±1.21	(c)3.12±33.9
الإجهاد+100ppm	(b)0.74±12.6	(b)0.38±4.8	(b)0.12±1.70	(b)2.67±46.1
الإجهاد+500ppm	(ab)0.69±14.2	(ab)0.40±5.7	(ab)0.11±1.88	(a)2.89±61.3

المناقشة:

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم تأثير مستخلص الشاي الأخضر على نمو البازلاء في ظروف الإجهاد الحراري. اثبتت النتائج أن مستخلص الشاي الأخضر ساعد على التخفيف من الآثار السلبية للإجهاد الحراري، حيث أظهرت النتائج تحسنا ملحوظا في النمو مع المعالجة بـ 500 ppm من مستخلص الشاي الأخضر، حيث عزز من النشاط المضاد للأكسدة في الأوراق بنسبة 61% مقارنة مع 33% في الإجهاد الحراري؛ يعزى هذا إلى محتوى الشاي الأخضر من الكاتيكينات التي تعمل على إزالة الجذور الحرة، وتقليل الضرر التأكسدي والمحافظة على أغشية الخلايا، وتحفيز إنزيمات البيروكسيديز (POD)، والكاتالاز (CAT) التي تعمل على تحويل مركبات الأكسجين التفاعلية(ROS) مثل بيروكسيد الهيدروجين(H_2O_2) إلى مركبات غير ضارة (Roychoudhury et al., 2017)، مما ساهم في تحسن محتوى الكلوروفيل إلى (1.88mg/g) مقارنة بـ (1.21mg/g) في الإجهاد؛ وهذا يعزى إلى دور الكاتيكينات في المحافظة على أغشية البلاستيدات الخضراء ومنع تحلل الكلوروفيل، وتحفيز التمثيل الضوئي، وتحسين طول الشتلة (9.8 إلى 14.2سم)، وعدد الأوراق (3.6 إلى 5.7) (Ahammed et al., 2023)، وهذا يتوافق مع دراسة (Mahmoud et al., 2023) التي أكدت تفوق مستخلص الشاي الأخضر في زيادة معنوية في طول الساق ونظام الجدر والبيروكسيديز والكاتالاز لنبات *Vigna radiata*، ودراسة (Abada, 2014)، التي أكدت دور البوليفينولات مثل الكاتيكين، والغالوكاتيكين في معاكسة آثار أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) في كروم العنب. تظهر النتائج ان مستخلص الشاي الأخضر بتركيز 500 ppm تفوق على التركيز 100 ppm. يتوافق هذا مع دراسة (Sharma et al., 2019) التي أكدت فعالية المستخلصات الطبيعية في تخفيف الإجهاد البيئي. تشير هذه النتائج إلى أن مستخلص الشاي الأخضر يمكن أن يكون حلا طبيعيا لتحسين نمو البازلاء في ظروف الإجهاد الحراري، مما يسهم في تطوير حلول طبيعية لتحسين إنتاجية المحاصيل في ظل التغيرات المناخية.

الاستنتاجات:

أدى مستخلص الشاي الأخضر بتركيزي (500 ppmو 100 ppm) إلى تحسن نمو البازلاء في ظروف الإجهاد الحراري، وكان تركيز 500 ppm أكثر فعالية من 100 ppm في تعزيز مقاومة النبات للإجهاد الحراري. ساهمت الكاتيكينات في تقليل الاجهاد التأكسدي والمحافظة على صحة الخلايا، مما ساهم في زيادة محتوى الكلوروفيل وتحسن التمثيل الضوئي في النباتات المعالجة، وبالتالي تعزيز الإنتاجية في ظروف الإجهاد الحراري.

الخاتمة:

اظهرت هذه الدراسة أن مستخلص الشاي الأخضر بتركيزي 100 ppm و500 ppm ساهم في تعزيز نمو البازلاء تحت ظروف الإجهاد الحراري، حيث لوحظ تحسن في معايير النمو كطول الشتلة وعدد الأوراق، وزيادة النشاط المضاد للأكسدة ومحتوى الكلوروفيل a وb، وهذه النتائج تؤكد دور مضادات الأكسدة في الشاي الأخضر مثل الكاتيكينات في تحسين كفاءة التمثيل الضوئي، والمحافظة على العمليات الحيوية للنبات. تفوق التركيز 500 ppm على التركيز 100 ppm وكان أكثر فعالية في تعزيز نمو البازلاء في ظروف الإجهاد الحراري، مما يشير إلى تأثير إيجابي يعتمد على الجرعة المستخدمة، مما يعزز إمكانية استخدام المستخلصات النباتية كبدائل طبيعية لتحسين إنتاجية المحاصيل الزراعية. يُوصى بإجراء دراسات إضافية لتحديد التركيز الأمثل لمستخلص الشاي الأخضر ودراسة مدى فعاليته في ظروف الإجهاد البيئي الأخرى مثل الجفاف والملوحة، وتحليل المركبات النشطة في الشاي الأخضر وفهم آليات تأثيرها. تبرز هذه الدراسة إمكانية استخدام مستخلص الشاي الأخضر في الممارسات الزراعية لتحسين وتعزيز الإنتاجية خاصة في ظل التغيرات المناخية.

المراجع:

1. Abada, M. A. (2014). A comparative study for the effect of green tea extract and some antioxidants on Thompson seedless grapevines. *International Journal of plant & soil Science*, *3*(10), 1333-1342.
2. Ahammed, G. J., Wu, Y., Wang, Y., Guo, T., Shamsy, R., & Li, X. (2023). Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG): A unique secondary metabolite with diverse roles in plant-environment interaction. *Environmental and Experimental Botany*, *209*, 105299.
3. Bita, C. E., & Gerats, T. (2013). Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops. *Frontiers in plant science*, *4*, 273.
4. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, *28*(1), 25-30.
5. Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Alam, M. M., Roychowdhury, R., & Fujita, M. (2013). Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. *International journal of molecular sciences*, *14*(5), 9643-9684.
6. Lichtenthaler, H. K. (1987). [34] Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In *Methods in enzymology* (Vol. 148, pp. 350-382). Academic Press.
7. Mahmoud, R. W., Al-Hayani, E. H. H., & Mohammed, R. S. (2023). Effect of seed priming with green tea (Camellia sinensis L.) aqueous extract on germination and growth traits of mung bean (Vigna radiata L.). *SABRAO J. Breed. Genet*, *55*(6), 2250-2255.

8. Pastoriza, S., Mesías, M., Cabrera, C., & Rufián-Henares, J. A. (2017). Healthy properties of green and white teas: an update. *Food & function*, *8*(8), 2650-2662.
9. Roychoudhury, S., Agarwal, A., Virk, G., & Cho, C. L. (2017). Potential role of green tea catechins in the management of oxidative stress-associated infertility. *Reproductive biomedicine online*, *34*(5), 487-498.
10. Sharma, A., Kumar, V., Sidhu, G. P. S., Kumar, R., Kohli, S. K., Yadav, P., & Bhardwaj, R. (2019). Abiotic stress management in plants: Role of ethylene. *Molecular Plant abiotic stress: biology and biotechnology*, 185-208.
11. Upadhyaya, H., & Panda, S. K. (2004). Responses of Camellia sinensis to drought and rehydration. *Biologia plantarum*, *48*, 597-600.