وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة القادسية \ كلية العلوم
قسم علوم الحياة

تأثير الملوحة والمخصب الحيوي (Agrispoon) في نمو نبات عين البزون *Catharanthus roseus* (L.) G. Don وإنتاجه من قلويدي الفنكرستين والفنبلاستين

رسالة مقدمة إلى مجلس كلية العلوم – جامعة القادسية
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير
في علوم الحياة – نبات

من قبل
ليث سريع مطر الركابي

إشراف
الأستاذ الدكتور عبد الأمير علي ياسين

ذو القعدة (1431) هـ   تشرين الأول (2010) م

قائمة المحتويات

الفقرة	الموضـــوع	الصفحة
	الخلاصة باللغة العربية	I-II
	قائمة المحتويات	III-VI
	قائمة الأشكال	VII
	قائمة الجداول	VIII - X
	قائمة الملاحق	XI - XIII
1	المقدمة	2 – 1
2	أستعراض المراجع	27 – 3
2 –1	نبذة مختصرة عن العائلة الدفلية Apocynaceae .	3
2 –2	نبات عين البزون *Catharanthus roseus* (L.) G. Don الموطن والتصنيف .	4
2 –3	الأهمية الطبية لنبات عين البزون *C. roseus* .	6
2–4	التسمية و البناء الحيوي و آليات أنتقال وتراكم مركبي الفنكرستين Vincristineee والفنبلاستين Vinblastinee .	8
2–5	الأجهاد الملحي Salt stress .	11
2 –6	المخصب الحيوي Agrispoon .	12
2–7	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في بعض صفات النمو .	14
2–8	تأثير الملوحة و المخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى الأوراق من الكلوروفيل a والكلوروفيل b والكلوروفيل الكلي .	17

9–2	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى الأوراق من المغذيات (N و P و K و Na و Cl) .	20
10–2	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في النسبة المئوية للبروتين في الأوراق .	22
11–2	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى الأوراق من الحامض الاميني البرولين .	24
12–2	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى الأوراق من المركبات القلويدية الفنكرستين والفنبلاستين.	25
3	المواد وطرائق العمل	40 – 28
1–3	موقع وتحليل تربة التجربة .	28
2–3	تحضير المعاملات الملحية لمياه السقي ومستويات المخصب الحيوي المستعملة في التجربة .	30
1–2–3	تحضير المستويات الملحية	30
2–2–3	تحضير محلول المخصب الحيوي	30
3–3	مؤشرات النمو المدروسة .	30
1–3–3	صفات النمو المدروسة .	30
1–1–3–3	أرتفاع النبات (سم) .	30
2–1–3–3	قطر الساق (ملم) .	31
3–1–3–3	معدل مساحة الورقة (سم^2 / نبات) .	31
4–1–3–3	عدد تفرعات الساق (فرع / نبات) .	31
5–1–3–3	عدد الأوراق لكل نبات (ورقة / نبات) .	31
6–1–3–3	طول الجذر (سم) .	31
7–1–3–3	الوزن الطري و الجاف للمجموع الخضري (غم / نبات) .	31
8–1–3–3	الوزن الطري و الجاف للمجموع الجذري (غم / نبات) .	32

3-3-1-9	الوزن الطري و الجاف للنبات الكلي (غم / نبات) .	32
3-3-1-10	نسبة الوزن الجاف للمجموع الجذري / الوزن الجاف للمجموع الخضري .	32
3-3-2	تقدير الكلوروفيل a والكلوروفيل b والكلوروفيل الكلي .	32
3-3-3	تقدير المغذيات N و P و K و Na و Cl في أوراق النبات .	33
3-3-3-1	تقدير النسبة المئوية للنيتروجين .	33
3-3-3-2	تقدير عنصر الفسفور (ملغم / غم وزن جاف من الأوراق) .	34
3-3-3-3	تقدير عنصر البوتاسيوم (ملغم / غم وزن جاف من الأوراق) .	34
3-3-3-4	تقدير عنصر الصوديوم (ملغم / غم وزن جاف من الأوراق) .	34
3-3-3-5	نسبة البوتاسيوم / الصوديوم .	35
3-3-3-6	تقدير عنصر الكلوريد (ملغم / غم وزن جاف من الأوراق) .	35
3-3-4	تقدير النسبة المئوية للبروتين في الأوراق .	35
3-3-5	تقدير محتوى الأوراق من الحامض الاميني البرولين Proline (مايكرو غرام / غم وزن طري من الأوراق) .	35
3-3-6	تقدير قلويدي الفنكرستين والفنبلاستين .	36
3-3-6-1	أستخلاص قلويد الفنكرستين Vincristine.	36
3-3-6-2	أستخلاص قلويد الفنبلاستين Vinblastine .	37
3-3-6-3	التقدير الكمي لمركبي الفنكرستين والفنبلاستين بأستخدام تقنية السائل ذي الأداء العالي HPLC (مايكروغرام / غم وزن جاف من الأوراق) .	38
3-3-7	تصميم التجربة وتحليلها إحصائيا .	40
4	النتائج والمناقشة	41 – 98
4-1	تأثير المخصب الحيوي والملوحة وتداخلاتهما في بعض صفات النمو .	41

2–4	تأثير المخصب الحيوي والملوحة وتداخلاتهما في محتوى الأوراق من الكلوروفيل a و الكلوروفيل b و الكلوروفيل الكلي .	67
3–4	تأثير المخصب الحيوي والملوحة وتداخلاتهما في محتوى الأوراق من المغذيات .	73
1–3–4	النسبة المئوية للنتروجين Nitrogen percentage .	73
2–3–4	الفسفور (ملغم / غم وزن جاف من الأوراق) Phosphorus .	76
3–3–4	البوتاسيوم (ملغم / غم وزن جاف من الأوراق) Potassium .	78
4–3–4	الصوديوم (ملغم / غم وزن جاف من الأوراق) Sodium .	80
5–3–4	البوتاسيوم / الصوديوم (K / Na) .	82
6–3–4	الكلوريد (ملغم / غم وزن جاف من الأوراق) Chloride .	85
4–4	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في النسبة المئوية للبروتين في الأوراق .	87
5–4	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى الأوراق من الحامض الاميني البرولين Proline (مايكروغرام / غم وزن طري من الأوراق) .	90
6–4	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى الأوراق من المركبات القلويدية (مايكروغرام / غم وزن جاف من الأوراق) .	93
1–6–4	قلويد الفنكرستين Vincristine .	96
2–6–4	قلويد الفنبلاستين Vinblastine .	96
5	الأستنتاجات و التوصيات .	100 – 99
6	الملاحق .	113– 101
	المصادر العربية والأجنبية .	134 – 114
	الخلاصة باللغة الانكليزية .	A-C

قائمة الأشكال

الفقرة	عنوان الشكل	الصفحة
1	صورة توضيحية لنبات عين البزون *C. roseus* .	4
2	التركيب الكيميائي لقلويد الفنكرستين والفنبلاستين .	9
3	البناء الحيوي لمركبي Vincristine و Vinblastine في نبات عين البزون .	10
4	يوضح العلاقة بين تركيز الملوحة(ديسي سيمنز / م) ومساحة الورقة(سم^2 /نبات) .	46
5	يوضح العلاقة بين تركيز المخصب الحيوي (مل / لتر) و مساحة الورقة (سم^2 / نبات) .	46
6	يوضح العلاقة بين تركيز الملوحة(ديسي سيمنز / م)و الوزن الجاف للمجموع الخضري (غم / نبات) .	54
7	يوضح العلاقة بين تركيز المخصب الحيوي (مل / لتر) و الوزن الجاف للمجموع الخضري (غم / نبات) .	54
8	يوضح العلاقة بين تركيز الملوحة(ديسي سيمنز / م)و النسبة المئوية للنتروجين.	75
9	يوضح العلاقة بين تركيز المخصب الحيوي (مل / لتر) والنسبة المئوية للنتروجين .	75
10	يوضح العلاقة بين تركيز الملوحة (ديسي سيمنز /م) والنسبة المئوية للبوتاسيوم / الصوديوم	84
11	يوضح العلاقة بين تركيز المخصب الحيوي (مل / لتر) و النسبة المئوية للبوتاسيوم /الصوديوم .	84
12	يوضح العلاقة بين تركيز الملوحة(ديسي سيمنز / م) و تركيز قلويد الفنكرستين (مايكروغرام / غم وزن جاف من الأوراق) .	95
13	يوضح العلاقة بين تركيز المخصب الحيوي(مل / لتر) و تركيز قلويد الفنكرستين (مايكروغرام / غم وزن جاف من الأوراق) .	95
14	يوضح العلاقة بين تركيز الملوحة(ديسي سيمنز / م) و تركيز قلويد الفنبلاستين (مايكروغرام / غم وزن جاف من الأوراق) .	98
15	يوضح العلاقة بين تركيز المخصب الحيوي (مل / لتر) وتركيز قلويد الفنبلاستين (مايكروغرام / غم وزن جاف من الأوراق) .	98

قائمة الجداول

الفقرة	عنوان الجدول	الصفحة
A	بعض الصفات الكيميائية والفيزيائية للتربة المستخدمة في التجربة قبل الزراعة .	29
B	ظروف فصل الـ VINBLASTINE و VINCRISTINE بأستعمال جهاز كروماتوكرافيا السائل ذي الأداء العالي HPLC .	39
C	توضيح مختصرات المعاملات المستخدمة في الملاحق .	101
1	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في أرتفاع نبات عين البزون (سم) .	42
2	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في قطر ساق نبات عين البزون (ملم) .	43
3	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في معدل مساحة الورقة لنبات عين البزون (سم^2 / نبات).	45
4	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في عدد تفرعات نبات عين البزون (فرع / نبات) .	48
5	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في عدد أوراق نبات عين البزون (ورقة / نبات) .	49
6	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في طول جذر نبات عين البزون (سم) .	50
7	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في الوزن الطري للمجموع الخضري لنبات عين البزون (غم / نبات) .	51
8	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في الوزن الجاف للمجموع الخضري	53

	لنبات عين البزون (غم / نبات) .	
9	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في الوزن الطري للمجموع الجذري لنبات عين البزون (غم / نبات) .	56
10	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في الوزن الجاف للمجموع الجذري لنبات عين البزون (غم / نبات) .	57
11	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في الوزن الطري لنبات عين البزون (غم / نبات) .	58
12	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في الوزن الجاف للنبات عين البزون (غم / نبات) .	59
13	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في نسبة الوزن الجاف للمجموع الجذري / الوزن الجاف للمجموع الخضري لنبات عين البزون .	60
14	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى أوراق نبات عين البزون من الكلوروفيل a (ملغم/ غم وزن طري) .	68
15	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى أوراق نبات عين البزون من الكلوروفيل b (ملغم/ غم وزن طري) .	69
16	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى أوراق نبات عين البزون من الكلوروفيل الكلي (ملغم/ غم وزن طري) .	70
17	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في النسبة المئوية للنتروجين في أوراق نبات عين البزون .	74
18	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى أوراق نبات عين البزون من عنصر الفسفور (ملغم / غم وزن جاف من الأوراق) .	77
19	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى أوراق نبات عين البزون من	79

	البوتاسيوم (ملغم / غم وزن جاف من الأوراق) .	
20	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى أوراق نبات عين البزون من الصوديوم (ملغم / غم وزن جاف من الأوراق) .	81
21	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في نسبة البوتاسيوم /الصوديوم لأوراق نبات عين البزون .	83
22	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى أوراق نبات عين البزون من عنصر الكلوريد (ملغم / غم وزن جاف من الأوراق) .	86
23	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في النسبة المئوية للبروتين في أوراق نبات عين البزون .	89
24	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى أوراق نبات عين البزون من الحامض الاميني البرولين (مايكروغرام / غم وزن طري من الأوراق) .	92
25	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى أوراق نبات عين البزون من الفنكرستين (مايكروغرام / غم وزن جاف من الأوراق) .	94
26	تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى أوراق نبات عين البزون من الفنبلاستين (مايكروغرام / غم وزن جاف من الأوراق) .	97

قائمة الملاحق

الفقرة	عنوان الملحق	الصفحة
1	الفصل بجهاز HPLC يبين المساحة النسبية لقلويد الفنكرستين القياسي Vincristine Standard بالمقارنة مع قلويد الفنكرستين لمستخلص أوراق نبات عين البزون *C. roseus* عند المعاملة A1B1 .	102
2	الفصل بجهاز HPLC يبين المساحة النسبية لقلويد الفنكرستين القياسي Vincristine Standard بالمقارنة مع قلويد الفنكرستين لمستخلص أوراق نبات عين البزون *C. roseus* عند المعاملة A1B2 .	102
3	الفصل بجهاز HPLC يبين المساحة النسبية لقلويد الفنكرستين القياسي Vincristine Standard بالمقارنة مع قلويد الفنكرستين لمستخلص أوراق نبات عين البزون *C. roseus* عند المعاملة A1B3 .	103
4	الفصل بجهاز HPLC يبين المساحة النسبية لقلويد الفنكرستين القياسي Vincristine Standard بالمقارنة مع قلويد الفنكرستين لمستخلص أوراق نبات عين البزون *C. roseus* عند المعاملة A1B4 .	103
5	الفصل بجهاز HPLC يبين المساحة النسبية لقلويد الفنكرستين القياسي Vincristine Standard بالمقارنة مع قلويد الفنكرستين لمستخلص أوراق نبات عين البزون *C. roseus* عند المعاملة A2B1	104
6	الفصل بجهاز HPLC يبين المساحة النسبية لقلويد الفنكرستين القياسي Vincristine Standard بالمقارنة مع قلويد الفنكرستين لمستخلص أوراق نبات عين البزون *C. roseus* عند المعاملة A2B2 .	104
7	الفصل بجهاز HPLC يبين المساحة النسبية لقلويد الفنكرستين القياسي Vincristine Standard بالمقارنة مع قلويد الفنكرستين لمستخلص أوراق نبات عين البزون *C. roseus* عند المعاملة A2B3 .	105
8	الفصل بجهاز HPLC يبين المساحة النسبية لقلويد الفنكرستين القياسي Vincristine Standard بالمقارنة مع قلويد الفنكرستين لمستخلص أوراق نبات	105

	عين البزون *C. roseus* عند المعاملة A2B4 .	
9	الفصل بجهاز HPLC يبين المساحة النسبية لقلويد الفنكرستين القياسي Vincristine Standard بالمقارنة مع قلويد الفنكرستين لمستخلص أوراق نبات عين البزون *C. roseus* عند المعاملة A3B1 .	106
10	الفصل بجهاز HPLC يبين المساحة النسبية لقلويد الفنكرستين القياسي Vincristine Standard بالمقارنة مع قلويد الفنكرستين لمستخلص أوراق نبات عين البزون *C. roseus* عند المعاملة A3B2 .	106
11	الفصل بجهاز HPLC يبين المساحة النسبية لقلويد الفنكرستين القياسي Vincristine Standard بالمقارنة مع قلويد الفنكرستين لمستخلص أوراق نبات عين البزون *C. roseus* عند المعاملة A3B3 .	107
12	الفصل بجهاز HPLC يبين المساحة النسبية لقلويد الفنكرستين القياسي Vincristine Standard بالمقارنة مع قلويد الفنكرستين لمستخلص أوراق نبات عين البزون *C. roseus* عند المعاملة A3B4 .	107
13	الفصل بجهاز HPLC يبين المساحة النسبية لقلويد الفنبلاستين القياسي Vinblastine Standard بالمقارنة مع قلويد الفنبلاستين لمستخلص أوراق نبات عين البزون *C. roseus* عند المعاملة A1B1 .	108
14	الفصل بجهاز HPLC يبين المساحة النسبية لقلويد الفنبلاستين القياسي Vinblastine Standard بالمقارنة مع قلويد الفنبلاستين لمستخلص أوراق نبات عين البزون *C. roseus* عند المعاملة A1B2 .	108
15	الفصل بجهاز HPLC يبين المساحة النسبية لقلويد الفنبلاستين القياسي Vinblastine Standard بالمقارنة مع قلويد الفنبلاستين لمستخلص أوراق نبات عين البزون *C. roseus* عند المعاملة A1B3 .	109
16	الفصل بجهاز HPLC يبين المساحة النسبية لقلويد الفنبلاستين القياسي Vinblastine Standard بالمقارنة مع قلويد الفنبلاستين لمستخلص أوراق نبات عين البزون *C. roseus* عند المعاملة A1B4 .	109
17	الفصل بجهاز HPLC يبين المساحة النسبية لقلويد الفنبلاستين القياسي Vinblastine Standard بالمقارنة مع قلويد الفنبلاستين لمستخلص أوراق نبات	110

	عين البزون *C. roseus* عند المعاملة A2B1 .	
18	الفصل بجهاز HPLC يبين المساحة النسبية لقلويد الفنبلاستين القياسي Vinblastine Standard بالمقارنة مع قلويد الفنبلاستين لمستخلص أوراق نبات عين البزون *C. roseus* عند المعاملة A2B2 .	110
19	الفصل بجهاز HPLC يبين المساحة النسبية لقلويد الفنبلاستين القياسي Vinblastine Standard بالمقارنة مع قلويد الفنبلاستين لمستخلص أوراق نبات عين البزون *C. roseus* عند المعاملة A2B3 .	111
20	الفصل بجهاز HPLC يبين المساحة النسبية لقلويد الفنبلاستين القياسي Vinblastine Standard بالمقارنة مع قلويد الفنبلاستين لمستخلص أوراق نبات عين البزون *C. roseus* عند المعاملة A2B4 .	111
21	الفصل بجهاز HPLC يبين المساحة النسبية لقلويد الفنبلاستين القياسي Vinblastine Standard بالمقارنة مع قلويد الفنبلاستين لمستخلص أوراق نبات عين البزون *C. roseus* عند المعاملة A3B1 .	112
22	الفصل بجهاز HPLC يبين المساحة النسبية لقلويد الفنبلاستين القياسي Vinblastine Standard بالمقارنة مع قلويد الفنبلاستين لمستخلص أوراق نبات عين البزون *C. roseus* عند المعاملة A3B2 .	112
23	الفصل بجهاز HPLC يبين المساحة النسبية لقلويد الفنبلاستين القياسي Vinblastine Standard بالمقارنة مع قلويد الفنبلاستين لمستخلص أوراق نبات عين البزون *C. roseus* عند المعاملة A3B3 .	113
24	الفصل بجهاز HPLC يبين المساحة النسبية لقلويد الفنبلاستين القياسي Vinblastine Standard بالمقارنة مع قلويد الفنبلاستين لمستخلص أوراق نبات عين البزون *C. roseus* عند المعاملة A3B4 .	113

الخلاصة

أجريت هذه التجربة في قسم علوم الحياة - كلية العلوم ، جامعة القادسية خلال الفترة من 1/11/2009 إلى 1/4/2010 . وكان الهدف من التجربة هو الكشف عن تأثير أربعة تراكيز من الملوحة هي 0 و 6 و 9 و 12 ديسي سيمنز / م وثلاثة تراكيز من المخصب الحيوي (Agrispoon) هي 0 و 3 و 6 مل / لتر في النمو وأنتاج المادتين الفعالتين طبيا الفنكرستين Vincristine والفنبلاستين Vinblastine لنبات عين البزون *Catharanthus roseus* (L.) G. Don . حيث تم زراعة 48 شتلة بعمر شهر واحد وأرتفاع 12 سم في سنادين بلاستيكية بأبعاد 15 × 20 سم (شتلة واحدة لكل سندانة) بتأريخ 2009/11/1 .

رش المخصب الحيوي مرتين أثناء موسم النمو ؛ بتأريخ 1/ 2009/11 و 2009/12/1 في الصباح الباكر على المجموع الخضري لحين البلل الكامل . التراكيز الملحية أضيفت إلى النباتات متى ما أحتاجت إلى سقي .

صممت التجربة بالقطاعات العشوائية الكاملة Randomized Complete Blocks Design (RCBD) في ترتيب عاملي (4×3) وبأربع مكررات . وأستعمل أختبار أقل فرق معنوي المعدل Revised Least Significant Difference (RLSD) لمقارنة المتوسطات عند مستوى معنوية 5 % وعندما يكون التأثير معنويا .

بينت النتائج مايأتي :

1- زيادة تراكيز الملوحة من 0 و 6 و 9 إلى 12 ديسي سيمنز / م سببت أنخفاضاً معنوياً في بعض صفات النمو والمتضمنة أرتفاع النبات وقطر الساق ومعدل مساحة الورقة / نبات وعدد التفرعات / نبات وعدد الأوراق / نبات وطول الجذر والوزنين الطري والجاف للمجموع الخضري والجذري وللنبات الكلي .

2- زيادة تركيز الملوحة سببت أنخفاضاً معنوياً في نسبة الوزن الجاف للمجموع الجذري / الوزن الجاف للمجموع الخضري .

3-أستعمال تراكيز متزايدة من الملوحة سببت أنخفاضاً معنوياً في محتوى الأوراق من كلوروفيل a وكلوروفيل b و الكلوروفيل الكلي و العناصر الغذائية N و P و K و النسبة المئوية للبروتين .

4- زيادة تراكيز الملوحة سببت زيادة معنوية في محتوى الأوراق من Na^+ و Cl^- و K/Na والبرولين . القلويدات VIC و VIB أيضاً أزدادت معنوياً بتأثير الملوحة .

5- زيادة تراكيز المخصب الحيوي من 0 و 3 إلى 6 مل / لتر سبب زيادة معنوية في بعض صفات النمو ماعدا طول الجذر والذي أنخفض معنوياً .

6- أستعمال تراكيز متزايدة من المخصب الحيوي سبب زيادة معنوية في نسبة الوزن الجاف للمجموع الجذري / الوزنين الجاف للمجموع الخضري ومحتوى الأوراق من كلوروفيل a وكلوروفيل b والكلوروفيل الكلي و العناصر الغذائية N و P و K والنسبة المئوية للبروتين .

7- زيادة تراكيز المخصب الحيوي سبب أنخفاضاً معنوياً في محتوى الأوراق من Na^+ و Cl^- و K/Na والبرولين .

8- زيادة تراكيز المخصب الحيوي 0 و 3 و 6 مل / لتر سبب زيادة معنوية في محتوى الأوراق من قلويدي الفنكرستين و الفنبلاستين .

9- التداخل بين الملوحة والمخصب الحيوي سبب تأثيراً معنوياً في بعض صفات النمو ، نسبة الوزن الجاف للمجموع الجذري / الوزن الجاف للمجموع الخضري و محتوى الأوراق من كلوروفيل a وكلوروفيل b و الكلوروفيل الكلي و العناصر الغذائية N و P و K و Na^+ و Cl^- . التداخل أيضاً سبب تأثيراً معنوياً في نسبة البوتاسيوم/الصوديوم و النسبة المئوية للبروتين في الأوراق ومحتوى الأوراق من البرولين .

10- التداخل بين الملوحة والمخصب الحيوي سبب زيادة معنوية في محتوى الأوراق من قلويدي الفنكرستين VIC و الفنبلاستين VIB . بلغ أعلى محتوى للأوراق من القلويد VIC 0.3400 مايكروغرام / غم وزن جاف من الأوراق و VIB بلغ 0.6829 مايكروغرام / غم وزن جاف من الأوراق عند التوليفة المكونة من ملوحة تركيزه 12 ديسي سيمنز / م ومخصب حيوي تركيزه 6 مل / لتر .

المقدمة : Introduction

حث الحق سبحانه وتعالى على لسان رسوله الكريم محمد (صلى الله عليه واله وسلم) على التداوي وطلب الشفاء إذ قال عليه أفضل الصلاة والسلام (تداووا عباد الله فما أنزل الله من داء إلا وله دواء إلا السأم) صدق رسول الله (صلى الله عليه واله وسلم) .

كانت النباتات ومازالت مصدر مهم لتوفير الغذاء والدواء لأحتوائها على مواد فعالة ذات قيمة دوائية عالية تستعمل أما بصورة مباشرة بتناول الجزء النباتي الحاوي على المادة الفعالة طبياً أو بصورة غير مباشرة من خلال أستخلاص تلك المادة ومن ثم أستعمالها كدواء حيث قدر عدد الأنواع النباتية ذات الأهمية العلاجية بين 2000-7500 نوعاً نباتياً والمعروف أن جميع الحضارات ومنذ القدم أبدت اهتماماً جدياً بالنباتات الطبية بعد أن أدركت قيمتها العلاجية (حسين ، 1981) . أن الاهتمام الكبير بالنباتات الطبية في التداوي والعلاج بسبب كونها سهلة التداول وأمينة الاستعمال إلى حد ما ، إضافة إلى أن المادة الدوائية المصنعة مختبرياً قد لا تؤدي التأثير الفسيولوجي ذاته الذي تؤديه المادة الفعالة المستخلصة من مصادرها النباتية الطبيعية (Shukla و Tripathi ، 1987) ، لذا أتجهت أنظار الباحثين إلى أستعمال المواد الفعالة طبياً للنباتات كبدائل للأدوية الكيميائية المصنعة ، إذ تميز أواخر القرن العشرين بقيام الكثير من الباحثين بمسح عام للنباتات ذات الفوائد الطبية وكانت معظم أبحاثهم تدور حول استعمال المستخلص الخام Crude extract للنباتات (الشماع ، 1989) ، إلا أن هذا المستخلص قد لا يعطي نتيجة إيجابية أو جيدة في العلاج لأحتوائه على العديد من المركبات الكيميائية كالقلويدات Akaliods والكلايكوسيدات Glycosides والتانينات Tannins والزيوت الطيارة Volatile oils والتي تمتلك كل منها فعاليات متعددة وربما متضادة مع بعضها مما يفقد مستخلص النبات قيمته العلاجية (أبو زيد ، 2000) . فأصبح من الضروري دراسة المكونات الفعالة طبياً لكل نبات كلاً على حدة وإيجاد تقنيات خاصة تزيد من كميتها في النبات وكذلك عزلها وتنقيتها ودراسة تأثيراتها العلاجية للحصول على أكبر فائدة علاجية ممكنة (AL-Tikrity ، 1997) .

أن نبات عين البزون *Catharanthus roseus* العائد للعائلة الدفلية Apocynaceae يعتبر من النباتات الطبية المستخدمة منذ القدم ، وهو عبارة عن عشبه طبية تحتوي على أكثر من 130 مركب قلويدي ذات أهمية طبية وصيدلانية وأقتصادية كبيرة (Verpoorte وآخرون ، 1997) . يعد الموطن الأصلي للنبات جزيرة مدغشقر Medagascar الأفريقية ومنها أنتشر إلى مناطق واسعة من العالم كالمناطق الأستوائية وشبه الأستوائية الدافئة (Veeresham ، 2004) . يستخلص من أوراقه مركبين قلويديين مهمين طبياً هما الفنكرستين والفنبلاستين . لقد تم تشخيص قلويدي VIC و VIB بواسطة Robert L. Noble سنة 1953 ، وكما توصل العالم Svolboda ومساعدوه سنة 1961 من مركز أبحاث Eli Lilly الأمريكية إلى طريقة أستخلاص وتنقية VIB ، أما بالنسبة إلى قلويد VIC فقد استخلاصه وتنقيته بواسطة Lilly ومساعديه سنة 1963 (سعد وآخرون ، 1988) .

ونظراً للأهمية البالغة للمخصبات الحيوية في زيادة أنتاج المواد الفعالة لبعض النباتات الطبية (عبد الرؤوف ، 2009 على نبات الحلبة *Trigonella foenum – graecum* L.) ، و للدور الذي تلعبه الملوحة في تغير مسارات تخليق النواتج الأيضية الثانوية ومنها أنتاج المادة الفعالة طبياً لبعض النباتات الطبية (Hanafy وآخرون ، 1994 على نبات الحبة السوداء *Nigella sativa* L.) ولما كان زيادة أنتاج النبات للمركبات القلويدية يعد أمراً مهماً حيث يزيد من كميته وتوفيره بصورة تجارية واسعة وذلك لزيادة الطلب على تلك المواد المتواجدة طبيعياً فيه وخاصة مركبي الفنكرستين و الفنبلاستين والتي لا يمكن أنتاجهما صناعياً في المختبرات ، حيث أن أوراق نبات عين البزون تبقى المصدر الحيوي الوحيد لإنتاج قلويدي الفنكرستين VIC و الفنبلاستين VIB والتي عرفت منذ سنة 1958 لعلاج العديد من الأورام والأمراض السرطانية (Hernandez-Dominguez وآخرون ، 2005) . كما أن الترب العراقية تصنف على أنها ترب ملحية في أغلبها خاصة مناطق الوسط والجنوب أصبح من الضروري إيجاد السبل لتقليل الأثار السلبية للملوحة على نمو وأنتاجية النبات بشكل عام ومنها نبات عين البزون لأهميته الطبية ومن هذه السبل هو أستعمال المخصبات الحيوية .

إذ أصبح الهدف من هذه التجربة هو إيجاد تأثير الملوحة والمخصب الحيوي Agrispoon في نمو و أنتاج المادة الفعالة طبياً الفنكرستين Vincristine و الفنبلاستين Vinblastine لنبات عين البزون *Catharanthus roseus* (L.) G. Don .

2- أستعراض المراجع : Literature Review

2-1- نبذة مختصرة عن العائلة الدفلية Apocynaceae .

تعتبر العائلة الدفلية من العائلات النباتية المهمة والواسعة الأنتشار في العالم والتي تضم حوالي 180 جنس و 1500 نوعاً تنتشر أغلبها في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية (Townsend و Guest ، 1980). تمتاز نباتات هذه العائلة بأنها ذات قيمة جمالية لاحتوائها على أزهار ذات ألوان مختلفة ، كما أن معظم أنواعها سامة لاحتوائها على قلويدات ذات أهمية طبية (Veeresham ، 2004) .

كما أشار الزركاني (2003) أن أسم العائلة Apocynaceae لم يتغير وبقي على حاله دون تغير أذ أستعمله كل من Bentham و Hokar سنة 1873 و Willis ، 1973 ومن الأسماء الشائعة للعائلة الدفلية هي عائلة قاتل الكلب Dogebane وعائلة periwinkle ومن أهم أجناس العائلة الدفلية : *Catharanthus* و *Vinca* و *Nerium* و *Thevetia* و *Rhazya* و *Apocynum* و *Trachometum* و *Carissa* .

تعد العائلة الدفلية ذات موقع متميز في مجال صناعة العقاقير الطبية ، أذ أستعملت معظم أجناسها في علاج العديد من الأمراض القلبية والباطنية والجلدية وأمراض السرطان . فمثلاً أستعمل النوع *Nerium oleander* في علاج أمراض القلب والشرايين لأحتوائه على مركب Oleandrin ، وأستعمل النوع *Vinca herbacea* في علاج أرتفاع ضغط الدم ، كما أستعمل النوع *Thevetia peruviana* كمسكن ومهدئ للحمى الراجعة لاحتوائه على مركب Thevetin وزيت Teversin و Nereitolin . النوع *Trachometum venetum* أستعمل في رفع درجة الحرارة وتوسع صدفة العين لاحتوائه على مركب Cymarin ، وأستعمل النوع *Catharanthus roseus* في علاج العديد من الأمراض السرطانية وأرتفاع ضغط الدم ومرض السكري (Al-Rawi ، 1964 و Evans ، 2002) .

2-2- نبات عين البزون *Catharanthus roseus* (L.) G. Don الموطن والتصنيف .

يعد نبات عين البزون *C. roseus* أحد نباتات الزينة العائدة للعائلة الدفلية Apocynaceae ، أن الاسم الشائع لهذا النوع هو Medagascar periwinkle نسبة إلى موطنة الأصلي جزيرة مدغشقر الأفريقية والذي انتشر منها إلى بقاع مختلفة من العالم وخاصة المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية الدافئة (Verpoorte وآخرون ، 2002) . يتكاثر نبات عين البزون بالبذور seeds والتي تزرع أما مباشرة أو بواسطة الشتلات transplants (Joy وآخرون ، 1998) ويزرع عادة في العراق في الحدائق لأغراض الزينة شكل (1) من دون التركيز على أهميته الطبية إذ تظهر أزهاره لمدة طويلة تمتد من شهر حزيران إلى تشرين الثاني و تعد من النباتات المتحملة للحرارة (الزركاني ، 2003) .

شكل (1) صورة توضيحية لنبات عين البزون *C. roseus*

لقد صنف العالم لينيوس Linnaeus هذا النبات لأول مرة عام 1759 م تحت تسمية *Vinca rosea* ولكن بتطور علم التصنيف اتضح وجود أختلافات تركيبية بين نوع *V. rosea* والأنواع الأخرى العائدة للجنس *Vinca* مما دعا المصنف Ludwing Reichenback عام 1828م إلى أعادة تصنيفه ومن ثم أستبدلت تسميته العلمية إلى ما هو عليه الآن *C. roseus* عام 1835م من قبل المصنف George Don (Van Der Heijden وآخرون ، 2004) . يتألف جنس *Catharanthus* من ثمانية أنواع : *C. roseus , C. lanceus , C. ovalis , C. grandiflorus ,C. trichophyllus* ، *C. pusillus* , *C. coriaceu* و *C. jongifolius* حيث يعد الهند الموطن الأصلي للنوع *C. pusillus* في حين الأنواع المتبقية مستوطنة في جزيرة مدغشقر الأفريقية (Gupta وآخرون ، 2007) . يعتبر *C. roseus* من أفضل الأنواع لأهميته الطبية والصيدلانية (Stearn ، 1973). كما أشار كل من Townsed و Guest (1980) إلى أن تسميته *Catharanthus* مشتقة من الكلمتين Katharos التي تعني النقي pure و anthos التي تعني الأزهار .

أتفق كل من Townsed و Guest (1980) مع Bailey (1933) من ناحية الوصف النباتي وتصنيف النوع *C. roeus* إلى ثلاثة ضروب اعتمادا على لون الأزهار هي ocellatus ذات الأزهار البيض مع وجود حلقة وردية أو حمراء عند المركز ، roseus ذات الأزهار الوردية البنفسجية و albus ذات الأزهار البيض. ونجد أن جميع البحوث الحديثة أعتبرته جنساً مستقلاً عن الجنس *Vinca* أمثال Russell (1997) الذي قام بدراسة النوع *C. roeus* وفيما يلي المراتب التصنيفية لنبات عين البزون *C. roseus* :

Kingdom : Plantae
Class : Dicotyledons
Order : Gentianales
Family : Apocynaceae
Sub Family : Plumerioideae
Tribe : Alstonieae
Sub Tribe : Catharanthinae
Genus : *Catharanthus*
Species : *roseus* (L.) G. Don

2-3-الأهمية الطبية لنبات عين البزون *C. roseus* .

تعتبر النباتات الحاوية على القلويدات مهمة في عالم الدواء لما لها من تأثير فسيولوجي قوي في الكائن الحي حتى وان وجدت في النبات بكميات ضئيلة جداً (حسين ، 1979) .

لقد أشتهر نبات عين البزون من الناحية الطبية بوصفه مصدراً لإنتاج أكثر من 130 مركب قلويدي من القلويدات الاندولية التربينية Terpenoid Indole Alkaliods ذات الأهمية الطبية و الصيدلانية و الاقتصادية الكبيرة (Verpoorte وآخرون ، 1997) . ومن الملاحظ أن المركبات القلويدية الكلية تتوزع بنسب مختلفة في الأجزاء النباتية لنبات عين البزون . ففي الجذور تبلغ 0.14-1.34% والساق 0.074-0.480 % والأوراق 0.32-1.16 % والأزهار 0.005-0.84 % والبذور 0.18 % (Joy وآخرون ، 1998) .

أن نبات عين البزون أستعمل منذ القدم في علاج العديد من الأمراض كالسل الرئوي Tuberculosis وألتهاب البلعوم laryngitis والحمى القرمزية Scarlet Fever ومرض السكري Diabetes وأرتفاع ضغط الدم Hypertension و عسر الهضم Dyspepsia والملاريا Malaria وتنظيم الدورة الشهرية Regulate Menstruation (Rizk و El- Ghazaly ، 1995) . كما أستعمل العصير المأخوذ من الأوراق في علاج لسعة الزنابير أو النحل في الهند وجامايكا ، وكذلك أستعمل في علاج أحتقان الجلد وألتهاب العين المحتقنة وألتهاب الفم في أمريكا الوسطى والجنوبية ، و في الصين أستعمل كمسكن لتخفيف ألام بعض الأمراض ، أو كمدرر Diuretic أو مسهل قوي Catharatic (Joy وآخرون ، 1998) . كما أشار Russell (1997) إلى أن جميع أجزاء نبات عين البزون ذات تأثيرات سمية واطئة جداً . ومن أهم المركبات القلويدية في نبات عين البزون هي مركبي Vincristine و Vinblastine اللذان يستخدمان في علاج الكثير من أنواع الأمراض السرطانية منذ أكثر من 40 عاماً ، و مركبي Ajmalicine و Serpentine اللذان يستعملان في علاج مرض ارتفاع ضغط الدم Hypertension (Leveque وآخرون ، 1996 و Van Der Heijden وآخرون ، 2004) . أذ أشار Kinghorn وآخرون (1999) إلى أن الكثير من العلاجات الكيمياوية للسرطان هي عبارة عن مستخلصات لنباتات طبيعية أذ تم أستخلاص ما يقارب 60 علاجاً لأنواع سرطانية مختلفة . كما ذكر الباحثون أن أهم الأنواع التي أعتمدت في السنوات الأخيرة في الولايات المتحدة الأمريكية هي مركبات

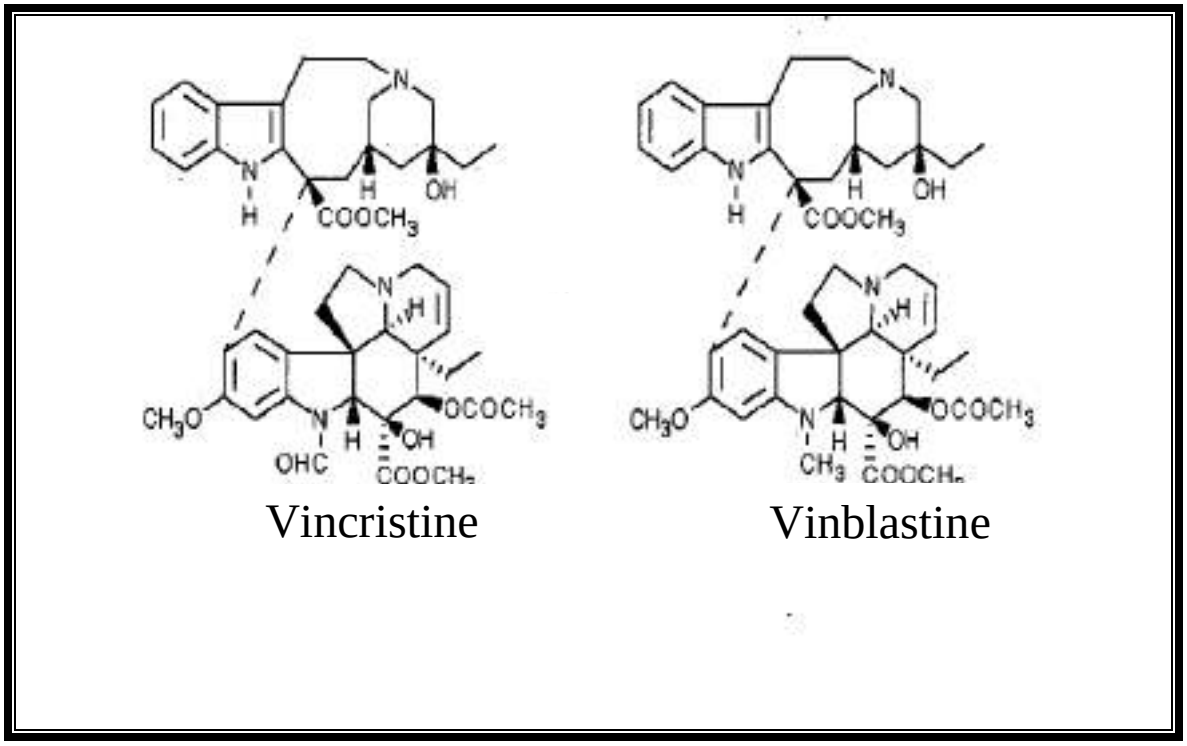
Vincristine و Vinblastine و Vinorelbine والمركبات القلويدية النصف مصنعة Vindesine و Vinorelbine و Vinflunine هي قلويدات مستخلصة من نبات *Catharanthus roseus* و التي تمتاز بقدرتها على إيقاف عملية الأنقسام الخلوي عن طريق تأثيرها في الأنيبيبات الدقيقة Microtubules (Ngan وآخرون ، 2000) . وفي الوقت الحاضر يستعمل مركبي Vincristine و Vinblastine في علاج الكثير من أنواع السرطانات ، أذ يستعمل الفنكرستين في علاج أبيضاض الدم اللمفاوي Lymphocytic leukemia لدى الأطفال ، سرطان العظم (الخلايا الشبكية) sarcoma Ewing´s وسرطان الكلى لدى الأطفال Wilm´s tumour وسرطان عنق الرحم Cervical Carcinoma وسرطان العضلات المخططة الجنينية Embryonal rhabdomyo sarcoma وأورام الغدد العصبية Neuroblastoma والأورام اللمفاوية lymphomas والأورام الدماغية Brain tumors وسرطان الدماغ Brain cancer وسرطان العضلات المخططة Rhabdomyo sarcoma وسرطان الرئة ذو الخلية الصغيرة Lung cancer-non small cell ، وكما يستعمل الفنبلاستين في علاج سرطان الغدد اللمفاوية Hodgkins disease وسرطان الأنسجة اللمفاوية للأعضاء Hodgkins non disease وسرطان المشيمة Chorio carcinoma وسرطان الثدي Breast Cancer وسرطان الأنسجة الرخوية في الجلد Kaposis Sarcoma وسرطان المثانة Bladder cancer و سرطان الكليةKidney cancer سرطان الخصية Testicular cancer و سرطان الخلايا الجرثومية Germ cell cancer في الخصية (Evans ، 2002 و Van Der Heijden وآخرون ، 2004) .

أن آلية عمل المادتين الطبيتين VIB و VIC بعد حقنهم إلى الجسم تعمل بالدرجة الأساس على وحدات Microtubule crystals أذ يقومان بإيقاف عمليات الانقسام الخلوي Mitotic في الخلية ، أن مستوى تأثير antimitotics يكون على مراحل عدة فهو أما يؤثر في وحدات البروتين المفردة protein Microtubule عن طريق منع تكوينها وبالتالي إيقاف الأنقسام الخلوي آو إيقاف الأنقسام بعد تكوين خيوط المغزل من خلال تأثيرها في بروتين التيوبيولين المكون لهذه العضيات Microtubule ، أو يقوم بتثبيط عمليات الأيض عن طريق التداخل مع أيض الأحماض الأمينية وتصنيع الأحماض النووية (Andres Goth ، 1981 و Rizk و Al-Nowaihi ، 1989 و Hadi ، 1999) .

2-4- التسمية و البناء الحيوي و آليات أنتقال وتراكم مركبي الفنكرستين Vincristine والفنبلاستين Vinblastine .

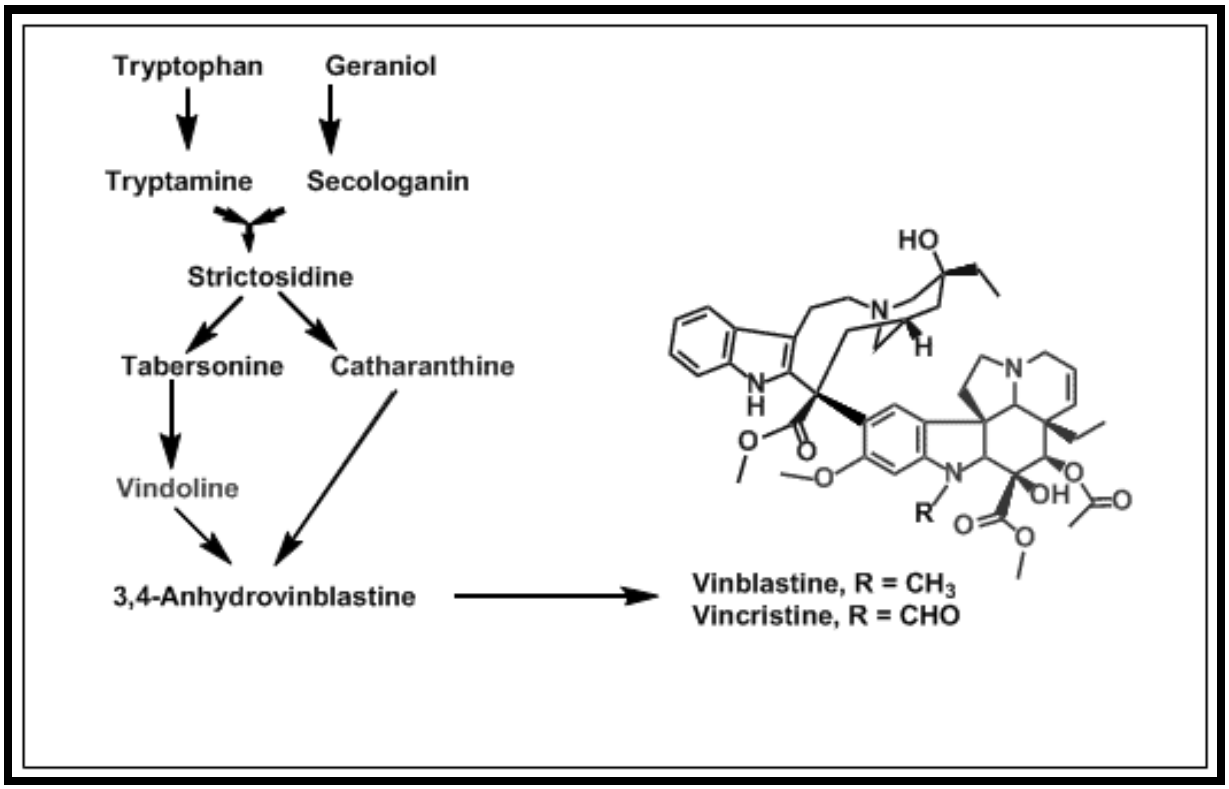
يعتبر مركبي الفنكرستين VIC والفنبلاستين VIB من القلويدات الأندولية الأحادية التربينية Monoterpenoid indole alkaloids ، والتي يتم بنائها في الجذور لتخزن بكميات قليلة جدا في الاوراق ، حيث ذكر Wickens (2001) بان طن واحد من أوراق النبات الجافة تنتج 0.5 غم من مركب VIC و 1 غم من مركب VIB ، كما أن أوراق نبات عين البزون تعتبر المصدر الحيوي الوحيد لإنتاج مركبي Vincristine و Vinblastine (Hernandez-Dominguez وآخرون ، 2005) .

أن الأسم العلمي للمركب VIB هو Vincaleukoblastine ولمركب VIC هو Leucocristine ، أما الأسم المتداول تجاريا فقد اطلقتة مؤسسة U.S Adopted Drug Names للمركب وهو Vinblastine (Velba) و Vincristine (Oncovin) أما المختصرات فهي VIB وVIC (Tyler وآخرون ، 1988) .يختلف مركبي VIC و VIB عن بعضهما في الصيغة الجزيئية حيث أن الصيغة الجزيئية لمركب Vincristine (VIC) هي $C_{46}H_{56}N_4O_{10}$ بينما الصيغة الجزيئية لمركب Vinblastine (VIB) هي $C_{46}H_{58}N_4O_9$ فضلاً عن اختلافهما يكون في مجموعة R ففي VIB تمثل مجموعة ميثايل Methyl ($R = CH_3$) أما في مركب VIC فتمثل مجموعة فورمايل Formyl ($R = CHO$) وكما مبين بالشكل (2) (Noble ، 1990) .



شكل (2) التركيب الكيميائي لقلويد الفنكرستين والفنبلاستين .

أن البناء الحيوي Biosynthesis لمركبي VIC و VIB يتم بمسار الحامض الاميني التربتوفان Tryptophan الذي يختزل إلى Tryptamine بواسطة أنزيم tryptophan decarboxylase ، كما يشتق Secologanin من المركب Geraniol بواسطة تحفيز أنزيم geraniol -10- hydroxylase ، وأخيرا يتحد مركبي Tryptamine و Secologanine بواسطة إنزيم strictosidine synthetase لتكوين مركب Strictosidine الذي يتحول إلى مركبي Catharanthine و Tabersonine . ثم يتحول مركب Tabersonine الى Vindoline والذي يعد البادئ لبناء مركبي VIC و VIB . وأخيراً يتم بناء الفنبلاستين والفنكرستين بواسطة أتحاد كاثارنثين Catharanthine و الفندولين Vindoline لتكوين مركب Anhydrovinblastin 3-4 والذي يتحول إلى الفنبلاستين و الفنكرستين واللذان يعتبران من النوع Dimeric Indoline Alkaliod وكما مبين بالشكل (3) (Fiore وأخرون ، 2004 و Hernandez-Dominguez وأخرون ، 2004 و El-Sayed و Verpoorte ، 2007) .



شكل (3) البناء الحيوي لمركبي Vincristine و Vinblastine في نبات عين البزون (Iwase وآخرون ، 2005)

أن آليات انتقال وتراكم مركبي VIC و VIB من مواقع التصنيع في السايتوبلازم إلى مواقع الخزن والتراكم في الفجوات Vacuoles يحدث في خلايا متخصصة specialized cells تكون مختلفة عن الخلايا المجاورة وتسمى هذه الخلايا laticifers والتي تتواجد في أوراق نبات عين البزون ، حيث لوحظ أن الخلايا المتخصصة لخزن مركبي VIC و VIB (laticifers) ذات pH = 3 نتيجة لضخ أيون الهيدروجين في غشاء الفجوة Tonoplast (Kapoor ، 1964 و Smolensk وآخرون ، 1972) . هنالك آليتان لانتقال وتراكم مركبي VIC و VIB وهما إلية الأنتشار Diffusion والتي تمر فيها القلويدات بشكل غير متأين خلال غشاء الفجوة Tonoplast إلى داخل الفجوة التي تكون ذات رقم هيدروجيني منخفض (حامضي) ثم تتأين داخل الفجوة بشكل أيون موجب مما يمنع خروجها من الفجوة ورجوعها إلى السايتوبلازم ، آما الألية الثانية فهي النقل الفعال والتي تكون حساسة للحرارة والرقم الهيدروجيني (Mende و Wink ، 1987 و Kurz و Constabel ، 1997) .

2-5- الإجهاد الملحي Salt Stress

يعرف الإجهاد Stress في علوم الحياة بأنه أي عامل بيئي خارجي يسبب تأثيرات غير ملائمة للكائن الحي (مظهرية وفيزيائية وكيميائية) (ياسين ، 2001) .

تقسم النباتات من ناحية تحملها للملوحة إلى مجموعتين هما النباتات الملحية Halophytes وهي تلك النباتات التي تكون لها القدرة على النمو والإنتاج وإكمال دورة الحياة في بيئة شديدة الملوحة ، والنباتات غير الملحية Glycophytes وهي تلك النباتات التي تتأثر بدرجات مختلفة بالملوحة ويتوقف نموها وإنتاجها عند تراكيز ملحية معينة (Flowers وآخرون ، 1977) .

أن آليات التأثير الملحي تسبب :

1- التأثير الازموزي Osmotic effect الناتج عن زيادة تركيز الأملاح الذائبة في محلول التربة والذي يؤدي إلى قلة توفر الماء (الشد المائي water stress) الجاهز للامتصاص من قبل النبات مؤدية إلى أجهاد مائي Water stress .

2- التأثير الأيوني Ion effect الناتج عن زيادة تركيز الايونات داخل الخلايا بكميات تزيد عن حاجة الخلايا والأنسجة النباتية مما يؤثر سلبا في العمليات الحيوية مؤدية إلى أجهاد ايوني Ion stress ، وقد يكون هذا التأثير أما سميا Toxic effect بسبب تراكم بعض الايونات في أنسجة النبات لدرجة السمية من خلال التأثير في العمليات الحيوية المختلفة ، أو تأثير غذائي Nutritional effect بسبب أن تراكم الايونات يؤدي إلى خلل في التوازن الغذائي Nutrition imbalance للنبات وذلك بسبب إعاقة أمتصاص الأيونات الضرورية لنمو النبات (Bar وآخرون ، 1996) .

3- أخلال في التوازن الهرموني Hormonal imbalance حيث يحصل تثبيط لإنتاج الهرمونات المشجعة للنمو كالاوكسينات والسايتوكاينينات والجبرلينات ، وتنشيط لإنتاج الهرمونات المثبطة للنمو كالابسيسيك والاثيلين (Hasegawa وآخرون ، 2000 و Munns ، 2005) . كما تسبب الملوحة إجهاداً تأكسدياً Oxidative stress بسبب زيادة توليد أنواع الأوكسجين الفعالة Reactive Oxygen Species (ROS) والمتمثلة ب Super oxide radical (O_2^-) ، Hydrogen peroxide

، (O_3) Photolytic ozonation radical ، (OH^-) Hydroxyl radical ، (H_2O_2) Sulfar monoxide radical (SO^-) ، Atomic oxygen radical (O^-) والتي تنتج خلال سلسلة نقل الالكترونات Electron transport chain في المايتوكوندريا والبلاستيدات أو خلال التنفس الضوئي Photorespiration و تعمل هذه المواد على تحطيم الجزيئات البيولوجية Biomolecules كالبروتينات والأحماض النووية ولبيدات الغشاء البلازمي مما يؤدي إلى ضرر كبير في عمليات الأيض metabolism processes واختلال وظيفي ثم موت خلايا الأنسجة النباتية (Chinnusamy وآخرون ، 2004 و Parida و Das ، 2005) .

أن استمرار النبات بالنمو يتطلب منه تحمل تأثيرات الإجهاد الملحي ، ويتم ذلك بعدة وسائل كضبط الضغط الأزموزي بأستعمال الواقيات الازموزية كالحوامض الأمينية البرولين Proline والكلايسين بيتاين Glysine betaine والمركبات القلويدية VIC و VIB و غيرها والتي تزيد من سالبية جهد ماء الخلية النباتية لتمكنها من سحب الماء من محيطها الخارجي ، كما تعمل على حماية النبات من الإجهاد التأكسدي وذلك بإنتاج الواقيات التأكسدية والتي تكبح عمل الجذور الحرة Free radicals للمحافظة على العضيات الخلوية من التلف (Orcutt و Nilsen ، 2000 و Evans ، 2002). كما أن النبات يقاوم الإجهاد بزيادة أنتاج هرمون الابسيسيك Abscisic acid والذي سمي بهرمون الإجهادStress hormone ، يكون مسؤلاً عن عملية غلق الثغور وذلك للتقليل من فقد ماء النبات بواسطة النتح Transpiration .

2-6- المخصب الحيوي(الأجرسبون Agrispoon)

يعرف المخصب الحيوي الأجرسبون بأنه مستحضر حيوي يحتوي على الأنواع المفيدة من الكائنات الحية الدقيقة التي لها القابلية على تجهيز العناصر بشكل ميسر في التربة ليسهل امتصاصها من قبل جذور النبات ، ويعتبر الاجرسبون مخصب حيوي مثبت للنيتروجين لاحتوائه على بكتريا مسؤولة عن الأكسدة البيولوجية للامونيا NH_4 إلى نترات NO_3 وهي ماتعرف بعملية النترجه Nitrification وعادة يجري ذلك من خلال أكسدة الامونيا NH_4 إلى نتريت NO_2 بواسطة بكتريا *Nitrosomonas* ثم أكسدة النتريت NO_2 إلى نترات NO_3بواسطة بكتريا *Nitrobacter* .

وان هذه العملية تحصل بصورة متسلسلة مما يجعل الامونيا تتحول بسرعة إلى نترات ، يعتبر امتصاص النترات أكثر من الامونيوم من قبل جذور النبات بسبب وجودها بصورة ميسرة للأمتصاص في محلول التربة وبعكس الامونيوم التي تكون مدمصة على الغرويات سالبة الشحنة أو مثبتة بين طبقات معادن التربة (النعيمي ، 1999) .

أن المخصب الحيوي يحتوي على أحياء مجهرية تفرز أنزيمات تعمل على تحلل المواد العضوية المعقدة ومعدنة العناصر الغذائية الموجودة بها أي تحولها من الصورة العضوية غير الذائبة إلى الصورة المعدنية الذائبة وهو مايسمى بالدبال Humus وهو تركيب معقد له طبيعة غروية يؤدي إلي زيادة السعة التشبعية Water Holding Capacity والسعة التبادلية Cation Exchange Capacity والقدرة التنظيمية لدرجة pH في التربة ، كما يعد الدبال مخزناً للمواد الغذائية في التربة مما يحسن من خصوبة التربة بوجه عام ، حيث استمرار استخدام المخصب الحيوي للتربة فإنه بعد ذلك تقل الحاجة إلى تكرار إضافته بسبب أن هذه الكائنات تتكاثر ذاتياً لتصبح التربة حية (Living Soil) وفي هذه الحالة يضاف في فترات متباعدة للمحافظة على أعداد هذه الكائنات في التربة. (مؤسسة EMIRO اليابانية ، 2002) .

كما أن الإحياء المجهرية تنتج مضادات حياتية تمتلك طيفاً واسعاً من الفعالية التثبيطية لنمو الإحياء المجهرية الممرضة للجذور النباتية والتي أيضاً تنافس النبات في أستهلاك العناصر الغذائية الضرورية لنمو النبات من التربة (Raaijmakes وآخرون ، 2002) ، كذلك تفرز الأحياء المجهرية أنزيمات محللة و محطمة لجدران الخلايا الفطرية الممرضة ومن أهمها أنزيم chitinase المحلل للكايتين chitin والذي يعتبر من المكونات الرئيسية لجدار الخلية الفطرية ، وكذلك تثبيط أنزيمات الفطريات الممرضة والتي يفرزها على جدران جذور النبات كالأنزيمات المحللة للبكتين pictinlytic والسيليلوز cellulase والكيوتين cutinase المؤثرة سلبا في نمو الجذر (Beraha وآخرون ، 1983) .

كما تنتج هذه الأحياء المجهرية مركبات السايدروفر Sideropher وهي مركبات ذات وزن جزيئي منخفض تحتوي على مجاميع فعالة ترتبط مع الحديد مما تسهل من امتصاصه من قبل النبات ، ويعد الحديد مهم كونه يدخل كعامل مساعد للعديد من أنزيمات البناء الضوئي وتثبيت النتروجين وذلك لفعاليته الاختزالية (Barker و Pilbeam ، 2007 و Zadeh وآخرون ، 2008) .

كما أن الأحياء مجهرية لها القابلية على أنتاج الأحماض العضوية Tartaric acid و Malic acid و Oxalic acid التي لها دور في خفض pH التربة وبالتالي فأن جاهزية العناصر الغذائية تزداد بزيادة حامضية التربة بعد إضافة المخصب الحيوي (Toro وآخرون ، 2007) .

2-7- تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في بعض صفات النمو .

تناولت عدد من الدراسات تأثيرات الملوحة في نمو النباتات ، فقد أوضح كل من Blaylock (1994) و Lantzke وآخرون (2007) أن تأثير الملوحة في نمو النبات يحدث نتيجة التأثير الازموزي Osmotic effect آذ تخفض من جهد ماء التربة لتجعله أكثر سالبيه مما يجعل النبات يواجه صعوبة في امتصاص الماء من التربة مؤدية إلى أجهاد مائي Water stress قد يصل لدرجة الجفاف الفسيولوجي للنبات ، كما قد يكون له تأثير ايوني نتيجة تراكم أيونات الأملاح داخل الأنسجة النباتية وقد تصل إلى تراكيز سمية مؤدية إلى تأثير سمي Toxic effect و كذلك أخلال في التوازن الغذائي Nutrition imbalance . وكنتيجة لذلك يعاني النبات من نقص في N و P و K بسبب أرتفاع تركيز أيوني Na^{+} و Cl^{-} اللذان ينافسان هذه الايونات إلى الدخول إلى الأنسجة النباتية مما ينعكس سلباً على العمليات الأيضية (Grattan و Grieve ، 1999) .

أن زيادة تراكم ايوني Na^{+} و Cl^{-} تعمل أيضاً على تثبيط عمل أنزيمات البناء وخاصة أنزيمات بناء البروتين Protein synthesis وأنزيمات دورة التحلل السكري Glycolysis (Tuteja ، 2005) ، كما تثبط مسارات تكوين الهرمونات المشجعة للنمو كالاوكسينات والجبرينات والسايتوكاينيات فضلاً عن تشجيع مسارات تكوين مثبطات النمو كحامض الأبسيسيك والأثيلين مؤدية إلى فقدان التوازن الهرموني Hormonal imbalance داخل النبات (David و Nilsen ، 2000) ، كما يتأثر بالملوحة العديد من العمليات الفسيولوجية للنبات كعملية البناء الضوئي من خلال التأثيرعلى الكلوروفيلات وبالتالي هبوط محتوى الأوراق من البروتينات (Levitt ، 1980 و Dubey ، 1990) .

كما أن الإجهاد الملحي يؤدي إلى توليد أنواع الأوكسجين الفعال(Reactive Oxygen (ROS species المسببة لإجهاد تأكسدي Oxidative stress والتي تقوم بمهاجمه الجزيئات البايولوجية

Biomolecules والمتمثلة بلبيدات الأغشية البلازمية والبروتينات والأحماض النووية DNA و RNA وتفككها ومن ثم الموت المبرمج للخلية النباتية Programmed cell death (Jenks و Hasegawa ، 2005) .

أشار Elfeky وآخرون (2007) أن سقي نبات عين البزون بمياه مالحة 0 و 6 و 9 ديسي سيمنز / م أدت إلى انخفاض ارتفاع النبات أذ بلغ 24.90 و 18.40 و 16.60 سم ، على التوالي ، كما انخفض الوزن الطري للنبات الكلي بنسبة 53.04 % عند ملوحة 9 ديسي سيمنز / م مقارنة بمعاملة المقارنة ، أما بالنسبة للوزن الجاف فانه انخفض بنسبة 50.43 % عند ملوحة 9 ديسي سيمنز / م مقارنة بمعاملة المقارنة .

كما بينت النتائج التي توصل إليها Jaleel وآخرون (2008 c) إلى أن زيادة تراكيز الملوحة 0 و 6 و 9 ديسي سيمنز / م أدت إلى انخفاض طول الجذر أذ بلغت 26 و 18 و 12 سم ،على التوالي ، كما انخفض ارتفاع النبات بنسبة 7.93 % و 34.92 % ، على التوالي ، مقارنة بمعاملة المقارنة (0 ديسي سيمنز / م) ، أما المساحة الورقية فقد انخفضت بنسبة (25 %) عند تركيز ملوحة 9 ديسي سيمنز / م مقارنة بمعاملة المقارنة . كما توصل Jaleel وآخرون (2007 c) ان سقي نبات عين البزون بمياه مالحة تركيزها 0 و 80 ملي مولر أدت إلى تقليل المساحة الورقية بنسبة 38.79 % ، وارتفاع النبات بنسبة 19.35 % و طول الجذر بنسبة 45.83 % .

وقد لاحظ Jaleel وآخرون (2008 b) إلى انخفاض في ارتفاع النبات بنسبة 34.92 % عند مستوى ملوحة 9 ديسي سيمنز / م وكذلك انخفض طول الجذر بنسبة 53.85% أما المساحة الورقية فقد انخفضت بنسبة 40.24 % . وذكر أيضاً كل من Jaleel و Gopi (2007 d) إلى أن سقي نبات عين البزون بمياه مالحة تركيزها 80 ملي مولر قد أدى إلى انخفاض طول الجذر بنسبة 45.83 % وارتفاع النبات بنسبة 38.79 % والوزن الجاف للنبات الكلي بنسبة 11.60% .

كما ذكر كل من Stoeva و Kaymakanova (2008) انه بتزايد تركيز كلوريد الصوديوم 0 و 6 و 9 ديسي سيمنز / م في وسط نمو نبات الفاصوليا *Phaseolus vulgaris* L. ادى الى زيادة نسبة الوزن الجاف للمجموع الجذري / الوزن الجاف للمجموع الخضري بنسبة 4.55 % و 7.65 % وكما أنخفض الوزن الجاف للمجموع الجذري بنسبة 4.17 % و 62.50 % ، وكذلك انخفض الوزن الجاف للمجموع الخضري بنسبة 33.33 % و 56.67 % ، على التوالي ، مقارنة بمعاملة المقارنة

(0 ديسي سيمنز / م) ، كما تشير نتائج Abou El-Maged وآخرون (2008) أن تعريض نبات الحبة الحلوة إلى الإجهاد الملحي أدى إلى اختزال عدد الأوراق وعدد التفرعات ، كما انخفض ارتفاع النبات والوزن الطري والجاف للنبات الكلي .

أن للمخصب الحيوي دوراً مهماً في زيادة مساحة المجموع الخضري من خلال زيادة أرتفاع وعدد تفرعات النبات وعدد الأوراق والمساحة الورقية والذي يزيد من أمكانية امتصاص الطاقة الضوئية لتحويلها إلى مركبات خازنة للطاقة بعملية البناء الضوئي (Zhao و Oosterhuis ، 2000) .

فقد ذكر Yousr وآخرون (1978) أن استعمال المخصب الحيوي أدى إلى خفض حامضية التربة وزاد من وفرة العناصر الغذائية وجاهزيتها . كما أشار وأخرون Abdolzadeh (2006) إلى زيادة في الوزنين الطري والجاف للمجموع الخضري والجذري لنبات عين البزون عند إضافة مصادر نتروجينية ، كما أزدادت نسبة الوزن الجاف للمجموع الجذري / الوزن الجاف للمجموع الخضري . وكما ذكر Jaleel وآخرون (a 2008) أن معاملة نبات عين البزون بمنظمات النمو قد أدت إلى زيادة ارتفاع النبات والمساحة الورقية والوزنين الطري والجاف للنبات الكلي .

وذكر كل من Sheteawi و Tawfik (2007) إلى انه عند إضافة المخصب الحيوي Biogin إلى نبات الماش .*Vigna radiate* L المجهد مائيا قد أدى إلى زيادة معدل الوزن الجاف للنبات . وذكر كل من Mahfouz و Sharaf-Eldin (2007) أن معاملة نبات الحبة الحلوة *Foeniculum vulgar* Mill بالمخصب الحيوي سبب زيادة معنوية في عدد من مؤشرات النمو الخضري كأرتفاع النبات وعدد التفرعات وعدد الأوراق والمساحة الورقية .

كذلك أكد كل من Gunel و Arslan (1997) و Strasil و Vorlicek (2002) أن معاملة نبات العصفر *Carthamus tinctorius* بالمخصبات النتروجينية أدى إلى زيادة في نمو النبات وارتفاعه والمساحة الورقية وعدد الأوراق والتفرعات وعدد من مؤشرات النمو الخضري . كما لاحظت الزلزلي (2008) أن معاملة نبات الباقلاء *Vicia faba* بالمخصب الحيوي Agrispoon أدى إلى زيادة ارتفاع النبات والوزنين الطري والجاف للنبات .

وفي دراسة على نبات زهرة الشمس *Helianthus annus* L بين كل من Shehata و El-Khawas (2003) أن إضافة المخصب الحيوي أدى إلى زيادة في معظم صفات النمو الخضري كارتفاع النبات والمساحة الورقية وطول الجذر وقطر الساق والوزن الطري والجاف للنبات الكلي ، وذكر Sharma وآخرون (1978) أن استعمال تراكيز مختلفة من النتروجين أدت إلى زيادة في مؤشرات النمو الخضري لنبات الطماطة *Lycopersicon esculentum* Mill. . كما أشار Abdolzadeh وأخرون (1998) إلى أمكانية الأستفادة من مصادر نتروجينية كالأمونيوم والنترات في زيادة تحمل نبات الدفلة *Nerium oleander* L. للملوحة . وكما توصل Tawfik وآخرون (2006) إلى أن معاملة نبات *Leptochloa fusca* L. المعرض للإجهاد الملحي بالمخصب الحيوي أدى إلى تقليل الأثر السلبي للملوحة في بعض مؤشرات النمو الخضري كأرتفاع النبات والمساحة الورقية والوزنين الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري .

2-8- تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى الأوراق من الكلوروفيل a والكلوروفيل b والكلوروفيل الكلي .

يعد الكلوروفيل حلقة أساسية في سلسلة صنع الغذاء في النبات حيث يقوم بامتصاص الطاقة الضوئية وتحويلها بسلسلة تفاعلات إلى طاقة مخزونة يستفيد منها النبات في انجاز جميع فعالياته الحيوية وتسمى عملية البناء الضوئي Photosynthesis والتي تعد من العمليات الفسلجية المهمة في نمو النبات وتطوره .

يتأثر الكلوروفيل بتراكيز الملوحة بشكل كبير أذ لوحظ تغير لون أوراق النباتات المعرضة للإجهاد الملحي إلى اللون الأخضر المزرق عند التراكيز الملحية الواطئة والمتوسطة من الملوحة والى اللون الأصفر الفاتح في التركيز الملحية العالية للملوحة (احمد ، 1984) ، كما أن التدهور الذي يحصل للكلوروفيل يحدث من خلال تنشيط ثلاثة أنزيمات هي Chlorophyllase الذي يقوم بأزالة طرف جزيئة الفيتول وأنزيم Mg - dechelatase الذي يعمل على إزالة ذرة المغنسيوم وأخيراً يتم فتح حلقة البروفين prophyin بواسطة أنزيم dioxygenase وتعرف هذه الظاهرة ب chlorosis ، كما يحدث

توقف تصنيع جزيئه الكلوروفيل في الأوراق (Grattan و Osten ، 1993) . أن الملوحة تسبب ايضاً نقص في المغذيات الضرورية لبناء الكلوروفيل مثل المغنيسيوم Mg والحديد Fe والنتروجين N (ألنعيمي ، 1990) ، ونقص في الكاربوهيدرات وزيادة الهرمون النباتي المثبط للنمو كحامض الابسيسيك Abscisic acid والاثيلين Ethylene الذي يقلل هو الأخر من تكوين الكلوروفيل (Maas و Grattan ، 1999) . كما أن لقلة المساحة الورقية نتيجة التعرض للملوحة تأثيراً غير مباشر في انخفاض محتوى الأوراق من الكلوروفيل (مينكل وكيربي ، 1971) .

كما لاحظ Mix (1973) أن كلوريد الصوديوم سبب انتفاخ البلاستيدات الخضر وتشوهها مما أدى إلى تحطم جزيئة الكلوروفيل ، ولاحظ أيضاً أن البلاستيدات أصبحت بدون صفائح الكرانا عند التراكيز الملحية العالية .

أثبتت النتائج التي توصل أليها Jaleel وآخرون (2008 c) أن سقي نبات عين البزون بمياه مالحة أدت إلى انخفاض محتوى الأوراق من الكلوروفيل ، كما وجد Elfeky وآخرون (2007) أن سقي نبات عين البزون بمياه مالحة 0 و 6 و 9 ديسي سيمنز / م أدت إلى أنخفاض محتوى الأوراق من الكلوروفيل a و الكلوروفيل b أذ انخفض محتوى الكلوروفيل a بنسبة 28.96 % عند ملوحة 9 ديسي سيمنز/ م مقارنة بمعاملة المقارنة ، وكذلك انخفض محتوى الكلوروفيل b بنسبة 32.86 % عند ملوحة 9 ديسي سيمنز / م مقارنة بمعاملة المقارنة .

أشار Jaleel وآخرون (2007 c) أن سقي نبات عين البزون بمياه مالحة تركيزها 0 و 80 ملي مولر أدت إلى انخفاض محتوى الأوراق من الكلوروفيل a بنسبة 33.37 % و الكلوروفيل b بنسبة 22.70 % ، كما انخفض محتوى الأوراق من الكلوروفيل الكلي بنسبة 33.95 % ، و كما أشار أيضا" كل من Jaleel و Gopi (2007 b) الى إن سقي نبات عين البزون بمياه مالحة تركيزها 80 ملي مولر أدى إلى انخفاض الكلوروفيل a بنسبة 33.33 % ، الكلوروفيل b بنسبة 33.70 % و الكلوروفيل الكلي بنسبة 39.59 % ، كما ذكر كل من Stoeva و Kaymakanova (2008) أنه بتزايد تركيز NaCl 0 و 6 و 9 ديسي سيمنز / م في وسط نمو نبات الفاصوليا. أدى إلى انخفاض محتوى الأوراق من الكلوروفيل a بنسبة 3.47 % و 25.00 % ، كما أنخفض محتوى الأوراق من الكلوروفيل b بنسبة 27.27 % و 33.29 % ،على التوالي ، مقارنة بمعاملة المقارنة .

وفي دراسة على نبات الرز بين كل من Ali وآخرون (2004) أن ملوحة مياه السقي سببت أختزال محتوى الأوراق من الكلوروفيل . وكما أكد ذلك كل من Turban و Eris (2005) عند تعريض نبات الفراولة إلى الملوحة أدى إلى انخفاض محتوى الأوراق من الكلوروفيل ، وذكر Khan وآخرون (2009) أن ملوحة مياه السقي سببت انخفاض محتوى أوراق نبات الحنطة *Triticum aestivum* L. من الكلوروفيل .

أما بالنسبة إلى تأثير المخصب الحيوي فقد وجد انه يؤدي الى زيادة محتوى الأوراق من الكلوروفيل من خلال زيادة المساحة الورقية للنبات وبالتالي زيادة كمية الكلوروفيل ، و كذلك زيادة جاهزية المغذيات التي تدخل في تركيب جزيئة الكلوروفيل كالنتروجين والحديد والمغنسيوم . كما أن المخصب الحيوي يعمل على زيادة معدل بناء الكلوروفيل من خلال تنشيط الأنزيمات الضرورية لبنائه وتثبيط أنزيم chlorophyllase الذي يهدم جزيئة الكلوروفيل .

ذكر El-Zeiny (2007) زيادة معنوية في محتوى أوراق نبات الفاصوليا من الكلوروفيل الكلي عند إضافة المخصبين الحيويين Phosphorein و Microbein مقارنة مع النباتات التي لم يضف لها المخصب الحيوي ، كما لاحظت الزلزلي (2008) أن معاملة نبات الباقلاء بالمخصب الحيوي Agrispoon أدى إلى زيادة محتوى الأوراق من الكلوروفيل ، وكما توصل عبد الرؤوف ، (2009) إن معاملة نبات الحلبة بالمخصب أدى إلى زيادة محتوى الأوراق من الكلوروفيل .

أما بالنسبة إلى تأثير التداخل بين المخصب الحيوي والإجهاد الملحي فتشير نتائج العديد من الباحثين الى أن إضافة المخصب الحيوي للنباتات التي تعاني من الإجهاد الملحي قد أدى إلى زيادة محتوى الأوراق من الكلوروفيل الكلي . حيث وجد Sheteawi و Tawfik (2007) ارتفاع ملحوظ في محتوى أوراق نبات الماش . المعرض للإجهاد من الكلوروفيل الكلي عند إضافة المخصب الحيوي Biogin ، وكما ذكر Tawfik واخرون (2006) زيادة محتوى أوراق نبات *Leptochloa fusca* المعرض للإجهاد الملحي من الكلوروفيل عند إضافة المخصب الحيوي Phosphorein .

2-9- تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى الأوراق من المغذيات (N و P و K و Na و Cl).

للعناصر الغذائية دور كبير في نمو النبات وإكمال دورة حياته حيث تدخل في العديد من العمليات الفسيولوجية الحيوية التي من خلالها يتم بناء جسم النبات (النعيمي ، 1999) . يعتبر عنصر النتروجين من أهم العناصر الضرورية للنبات وذلك لأنه يدخل في تركيب الأحماض الأمينية Amino acid المكونة للبروتينات Proteins والأنزيمات Enzymes ، كما يدخل في بناء الأحماض النووية DNA و RNA و الفيتامينات Vitamins و الهرمونات النباتية Plant Hormones و المرافقات الأنزيمية Co-Enzymes و القلويدات Alkaloids ، كما انه يعتبر مكوناً رئيسياً في بناء البيروفينات والتي يتكون منها مركبات الكلوروفيل Chlorophyll الضروري لإتمام عملية البناء الضوئي والسايتوكرومات الضرورية لإتمام عملية التنفس Respiration ، كما يدخل في بناء المركبات الخازنة للطاقة ATP (ياسين ، 2001) . لعنصر الفسفور ايضاً أهمية كبيرة للنبات ، فهو مكون أساسي لبناء الأحماض النووية DNA و RNA والأغشية البلازمية Plasma membranes و المرفقات الأنزيمية NADP و NADPH ، كما يدخل في بناء المركبات الخازنة للطاقة . أما بالنسبة لعنصر البوتاسيوم فهو ضروري جداً في فسيولوجيا النبات بالرغم من كونه لايدخل في تركيب أي مركب من المركبات الخلوية في النبات لكنه يعتبر الايون الأحادي الموجب الذي يحتاجه النبات لأنه يشترك في تنشيط أكثر من 60 أنزيم وأنه يلعب دوراً مهماً في تصنيع البروتينات ، كما يعمل على تنظيم الضغط الازموزي داخل النبات من خلال تنظيم حركة الذائبات داخل النبات وكذلك يلعب دوراً هاماً في فتح وغلق الثغور وبالتالي التحكم بالتوازن المائي داخل النبات (محمد ، 1990) . للصوديوم دور في تنشيط بعض الإنزيمات حيث وجد انه يحل محل البوتاسيوم أما بالنسبة إلى أهمية عنصر الكلور فهو يعتبر عاملاً مساعداً في أتمام عملية التحلل الضوئي Photolysis للماء (Jenk و Hasegawa ، 2005) .

يؤثر الإجهاد الملحي بشكل كبير على التوازن الأيوني للعناصر الغذائية في النبات من خلال تأثير أيوني الصوديوم Na^+ والكلوريد Cl^- اللذان ينافسان العناصر الغذائية N و P و K على

الامتصاص من قبل النبات بفعل ظاهرة التضاد Antagonism وذلك لزيادة تراكيز ايوني Na^+ و Cl^- في التربة بسبب السقي بمياه حاوية على كلوريد الصوديوم NaCl (عيسى ، 1990) .

ذكر كل من Karadge و Gaikwad (2003) أن الإجهاد الملحي أدى إلى انخفاض محتوى نبات عين البزون من العناصر الغذائية N و P و K وارتفاع محتوى أوراق النبات من ايوني Na^+ و Cl^- ، ولاحظ Abdolzadeh وآخرون (2008) أن تعريض نبات الدفلة إلى الإجهاد الملحي أدى إلى أنخفاض محتوى الأوراق من البوتاسيوم ونسبة البوتاسيوم / الصوديوم ، و زيادة في الصوديوم و الكلوريد ، كما وجد Al-Niemi (1980) أن زيادة الصوديوم في وسط النمو يقلل من امتصاص البوتاسيوم في نبات فول الصويا *Glycine max* L. . وأشار Sliman و Ghandorah (1988) إلى انخفاض محتوى أوراق نبات فول الصويا من العناصر الغذائية N و P و K وذلك بزيادة ملوحة مياه السقي .

كما ذكر Francois و Bernstein (1964) أن سقي نبات العصفر. بمياه مالحة أدى إلى زيادة محتوى الأوراق من الصوديوم والكلوريد في حين أن تراكيز البوتاسيوم والنتروجين والفسفور قد أنخفضت .وتوصل أيضاً Kandeel وأخرون (1999) إلى أن سقي نبات حلق السبع *Antirrhinum majus* L. بمياه حاوية على كلوريد الصوديوم أدت إلى أنخفاض أمتصاص العناصر الغذائية N و P و K من قبل النبات .

أما تأثير المخصب الحيوي في زيادة جاهزية العناصر الغذائية فقد درست من قبل Yousr وآخرون (1978) وأشار إلى أن استعمال المخصب الحيوي أدى إلى خفض حامضية التربة pH وبالتالي زاد من وفرة العناصر الغذائية الجاهزة للأمتصاص من قبل النبات والتي تسرع من نمو النبات .

و ذكر Abdolzadeh وآخرون (2008) أن معاملة نبات الدفلة بمصادر نتروجينية مختلفة أدى إلى زيادة محتوى الأوراق من البوتاسيوم ونسبة البوتاسيوم / الصوديوم ، وانخفاض في الصوديوم و الكلوريد ، ولاحظت الزلزلي (2008) أن معاملة نبات الباقلاء بالمخصب الحيوي Agrispoon أدى إلى زيادة العناصر الغذائية N و P و K .

كما ذكر El-Zeiny (2007) زيادة معنوية في محتوى أوراق نبات الفاصوليا من N و P و K عند إضافة المخصبين الحيويين Phosphorein و Microbein مقارنة مع النباتات التي لم يضاف لها

المخصب الحيوي . وفي دراسة على نبات الزعتر *Thymus vulgaris* L. من قبل Heikal (2005) توصل إلى أن معاملة النبات بالمخصب الحيوي أدت إلى زيادة في محتوى النبات من العناصر الغذائية N و P و K .

أن المخصب الحيوي يؤدي إلى تحفز نمو النبات من خلال أمداده بالعناصر الغذائية الضرورية للنمو وبالتالي تدعم نمو النبات تحت ظروف الإجهاد الملحي ، أذ توصل كل من Han و Lee (2005) بأن إضافة المخصب الحيوي إلى نبات فول الصويا النامي في وسط ملحي 5 ديسي سيمنز / م ، أدى إلى خفض محتوى الأوراق من ايون Na^+ ، Cl^- وزيادة العناصر N، P و K . وكما توصل Hu وآخرون (2008) إلى أن معاملة نبات الذرة *Zea mays* المعرض للإجهاد الملحي بالمخصب الحيوي أدى إلى زيادة العناصر الغذائية N و P و K .

2-10- تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في النسبة المئوية للبروتين في الأوراق .

تؤثر الملوحة في العديد من العمليات الفسلجية ومن ضمنها عملية بناء البروتين Protin synthesis من خلال التأثير السلبي للأملاح على أنزيمات بناء البروتين ، وكذلك من خلال زيادة تراكم مركب Glutathione disulfide المثبط لبناء البروتين (ياسين ، 1992) . كما لوحظ بان الملوحة سببت انخفاضاً في نسبة الأحماض النووية DNA و RNA وبالتالي انخفاض النسبة المئوية للبروتين (Jenks و Hasegawa ، 2005) . وذكر Hu وآخرون (2008) بان الإجهاد الملحي أدى إلى خفض العناصر الغذائية الضرورية لبناء الأحماض الأمينية والتي تعد المكونات الأساسية لبناء البروتين . كما إن أيون الصوديوم ينافس أيون البوتاسيوم على الامتصاص من قبل الجذور بفعل ظاهرة التضاد Antagonism حيث يعتبر البوتاسيوم ضرورياً في دورة تصنيع البروتين بسبب دوره في عملية فصل البروتين المتكون حديثا من الرايبوسوم وبالتالي إتاحة الفرصة لبناء بروتين جديد ، إضافة إلى أهميته في ربط الحامض النووي

الناقل tRNA للأحماض الأمينية مع الرايبوسوم لغرض تجميع الأحماض الأمينية وبناء البروتين (أبو ضاحي واليونس ، 1988) .

أشار Osman وآخرون (2007) إلى انخفاض في نسبة البروتين لنبات عين البزون المعرض إلى الإجهاد الملحي بتراكيز 0 و 9 و 12 ديسي سيمنز / م حيث أن نسبة الانخفاض بلغت 23.56 % و 31.53 % ، على التوالي ، مقارنة بمعاملة المقارنة 0 ديسي سيمنز / م ، كما بينت نتائج Mohammed (2007) إلى أنخفاض معنوي في محتوى أوراق نبات الماش من النسبة المئوية للبروتين عند تعرضه للإجهاد الملحي salt stress . وذكر أيضاً Kamal (2000) بأن تعرض نبات الحمص *Cicer areitinum* L. إلى الإجهاد الملحي أدى إلى انخفاض النسبة المئوية للبروتين . وفي دراسة قام بها Niknam وآخرون (2007) على نبات الحلبة توصل إلى أن سقي النبات بمياه حاوية على ملح كلوريد الصوديوم أدت إلى خفض محتوى النبات من البروتين .

وفيما يخص تأثير المخصب الحيوي في النسبة المئوية للبروتين فقد ذكر El–Komy وآخرون (2003) في دراستهم على نبات الحنطة بأن المخصب الحيوي سبب زيادة في النسبة المئوية للبروتين بسبب دوره في تثبيت النتروجين وبالتالي زيادة امتصاص النترات التي يتم اختزاله إلى آمونيا داخل النبات بواسطة أنزيم Nitrate reductase ومن ثم يزداد بناء الأحماض الأمينية والتي تعتبر من بوادئ بناء البروتين .

وأشار Abdolzadeh (2006) إلى زيادة نسبة البروتين في نبات عين البزون عند معاملته بمصادر نتروجينية مختلفة ، وكما ذكر عبد الرؤوف (2009) إلى زيادة محتوى أوراق نبات الحلبة *Trigonella foenum – graecum* L. من البروتين عند إضافة المخصب الحيوي Agrispoon مقارنة مع معاملة المقارنة والتي لم يضاف لها المخصب .

وقد لاحظ Tawfik وآخرون (2006) إلى ارتفاع النسبة المئوية للبروتين في نبات *Leptochloa fusca* المعرض للإجهاد الملحي عند إضافة المخصبين الحيويين Phosphorein و Cerealin .

2-11- تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما بينهما في محتوى الأوراق من الحامض الأميني البرولين .

أن الملوحة تسبب التأثير الأزموزي Osmotic effect للنبات من خلال زيادة سالبيه جهد ماء التربة water potential مما تجعل النبات يواجه صعوبة امتصاص الماء والمغذيات من التربة ، كما تعمل الملوحة أيضاً على رفع pH التربة لتصبح قاعدية مما يقلل من جاهزية العناصر الغذائية ، كما تسبب الملوحة إجهاداً تأكسدياً Oxidative stress بسبب زيادة توليد أنواع الأوكسجين الفعالة Reactive Oxygen Species (ROS) والتي تهاجم الجزيئيات البايولوجية Biomolecules كالبروتين والأحماض النووية DNA و RNA ولبيدات الأغشية البلازمية (Kaushik و Bhat ، 2003)

وللتقليل من التأثيرات السلبية للملوحة يقوم النبات ببناء الحامض الاميني البرولين proline الذي يعمل على تنظيم الضغط الازموزي للنبات من خلال زيادة سالبية جهد ماء الخلية (Delaunney و Verma ،1993) . كما يحافظ على ثباتية الاغشية البلازمية من خلال كبح Scavenger عمل الجذور الحرة والتي تهاجم لبيدات الأغشية البلازمية وكذلك من خلال تعديل ميوعة الأغشية البلازمية وحفظ البروتينات وهذا يزيد من ثبوتية تركيبها ، و تعمل أيضاً على حماية الأنزيمات الخلوية (Hoekstra و Buitink ، 2001)

و للبرولين دور مهم أيضا" في خزن الكاربون والنتروجين والطاقة والتي يستفيد النبات منها بعد زوال تأثير الإجهاد الملحي (Kavikishor واخرون ، 2005) ، كما يعتقد أن البرولين يلعب دوراً مهماً في معادلة التأثير السمي للأمونيا (Levitt ، 1980) .

و أشار كل من (Osman واخرون ، 2007 و Jaleel وآخرون ، 2007 a) إلى أرتفاع محتوى أوراق نبات عين البزون من البرولين عند تعرضه إلى الإجهاد الملحي . وكما ذكر كل من Stoeva و Kaymakanova (2008) انه بتزايد تراكيز كلوريد الصوديوم 0 و 6 و 9 ديسي سيمنز / م في وسط نمو نبات الفاصوليا أدى إلى زيادة محتوى الأوراق من الحامض الاميني البرولين proline بنسبة 63.27 % و 76.24 % ، على التوالي ، مقارنة بمعاملة المقارنة (0 ديسي سيمنز / م) ، كما وجد Hardan (2000) أن زيادة تراكيز الملوحة 4 و5 و 6 و 7 ديسينمز/ م أدت إلى زيادة محتوى أوراق نبات فول الصويا من البرولين .

كما ذكر Gasim (1998) ارتفاع محتوى نبات الخردل الاخضر *Brassica juncea* L. من البرولين عند تعريضه لتراكيز ملوحة 5 و 8 و 12 ديسي سيمنز / م ، كما أشار أيضاً كل من Gobinathan وآخرون (2009) أن تعرض نبات الخردل الأخضر *Pennisetum typoidies* لمستوى ملوحة 9 ديسي سيمنز / م أدى إلى زيادة محتوى النبات من البرولين .

أما تأثير المخصب الحيوي في محتوى النبات من البرولين فأنه يحفز النبات على تنشيط أنزيمي proline dehydrogenase و proline oxidase اللذين يحللان البرولين لغرض الأستفادة من مخزون النتروجين والكاربون ، لذلك يحصل انخفاض في محتوى البرولين عند إضافة المخصب الحيوي ،كما يعمل على توفير العناصر الغذائية وإعادة التوازن الهرموني للنبات مما يقلل من حاجة النبات لبناء البرولين . أذ توصل Han و Lee (2005) إلى أن إضافة المخصب الحيوي أدت إلى انخفاض في محتوى أوراق نبات فول الصويا من البرولين .

كما بين كل من Misra و Gupta (2006) أن تداخل المصادر النتروجينية المختلفة والإجهاد الملحي أدى إلى انخفاض محتوى أوراق نبات عين البزون من البرولين proline .ولاحظ أيضاً Tawfik وآخرون ، (2006) إلى انخفاض البرولين في نبات *Leptochloa fusca* المعرض للإجهاد الملحي عند إضافة المخصب الحيوي Phosphorein و Cerealin .

2-12- تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى الأوراق من المركبات القلويدية (الفنكرستين و الفنبلاستين) .

أن المركبات القلويدية هي عبارة عن مواد نتروجينية عضوية قاعدية تكون بهيئة مواد صلبة متبلورة تتكون كيميائياً من عنصر الكاربون والنتروجين والهيدروجين والأوكسجين . توجد القلويدات في النبات أما بصورة حرة أو على شكل أملاح لبعض الأحماض النباتية كالأسيتيك Acetic والماليك Malic والأوكساليك Oxalic والتانيك Tannic (Neumann وآخرون ، 1983 وأبو زيد ، 2000) .

تمتاز القلويدات بأهميتها للنبات من خلال حمايتها من الحشرات والحيوانات أكلة الأعشاب بسبب مذاقها غير المرغوب به وسميتها ، و قد توثر في حياة النبات كمنظمات للنمو plant growth regulators وكما تعتبر أيضاً مخزوناً للعناصر الغذائية وخاصة عنصر النتروجين (حسين ، 1979) .كما أن لها دوراً كبيراً في تنظيم الأزموزية للنبات من خلال زيادة سالبية جهد ماء الخلية ، وكذلك كبح عمل الجذور الحرة Free redicals التي تهاجم الجزيئات البايولوجية (Evans ،2002) .

تشير العديد من الدراسات إلى زيادة تكوين المركبات القلويدية في النباتات المعرضة إلى اجهادات بيئية مختلفة ومنها الإجهاد الملحي salt stress لما لها من دور مهم في تنظيم الجهد الأزموزي للخلية النباتية من خلال زيادة سالبية جهد ماء الخلية ، أو لخزن النتروجين والكاربون للاستفادة منها بعد زوال تأثير الإجهاد . فقد أثبتت دراسة قام بها Osman وآخرون (2007) الى أرتفاع محتوى الأوراق من قلويد الفنكرستين لنبات عين البزون عند سقيه بمياه مالحة وبتراكيز 0 و 9 و 12 ديسي سيمنز / م حيث أن نسبة الزيادة بلغت 13 % و 85 % ، على التوالي ، مقارنة بمعاملة المقارنة عند مستوى ملوحة 0 ديسي سيمنز / م .

وكما بينت النتائج التي توصل إليها Jaleel وآخرون (2008 c) إلى أن زيادة تراكيز الملوحة 0 و 6 و 9 ديسي سيمنز / م أدت إلى زيادة محتوى أوراق نبات عين البزون من القلويدات الكلية أذ بلغت 2.6 ، 2.8 ، 3.1 مايكروغرام / غم وزن جاف من الأوراق ، على التوالي .

وأثبتت دراسة كل من Misra و Gupta (2006) بان تعريض نبات عين البزون إلى الإجهاد الملحي أدى إلى زيادة في أنتاج المركبات القلويدية ، كما ذكر Zha وآخرون (2000) بإمكانية زيادة أنتاج نبات عين البزون للقلويدات عند تعريضه للصدمة الأزموزية Osmotic shock .

للمخصبات الحيوية دور كبير في زيادة المادة الفعالة طبياً VIC و VIB من خلال تزويد النبات بعنصر النتروجين الضروري لبناء تلك المواد ، وكذلك زيادة تركيز النتروجين في النبات جعلته يقوم بخزنها في مركبات غير ضارة بالنبات ومنها المركبات القلويدية .

أشار Abdolzadeh وأخرون (2006) إلى زيادة المركبات القلويدية في نبات عين البزون عند إضافة مصادر نتروجينية مختلفة ، وكما بين كل من Sreevalli وآخرون (2004) و Misra و Gupta (2006) إلى أن معاملة نبات عين البزون بالمخصب النيتروجيني Nitrogen fertilization أدى إلى زيادة القلويدات الكلية للنبات . وتوصل أيضاً عبد الرؤوف (2009) إلى زيادة قلويد التريجونيلين Trigonellin لنبات الحلبة عند إضافة المخصب الحيوي Agrispoon .

كما تشير نتائج المهداوي (2004) إلى أن زيادة تراكيز النتروجين قد أدت إلى زيادة المركبات القلويدية لثلاثة أنواع من الداتورا *Datura stramonium* L. و *Datura innoxia* M. و *Datura metel* L. ، وكما توصل Acosta (1985) إلى أن معاملة نبات الداتورا *Datura candida* بتراكيز مختلفة من النتروجين أدت إلى زيادة محتوى الأوراق من المركبات القلويدية . و كما بينت نتائج Grinier وآخرون (1996) أن معاملة نبات عين البزون بالسايتوكاينين أدى إلى زيادة قلويدي VIC و VIB .

كما توصل أيضاً كل من Srivastava و Srivastava (2007) إلى أن معاملة نبات عين البزون بحامض الجبرليك gibberellic acid أدى إلى زيادة محتوى الأوراق من القلويدات ، أذ توصل Schermeister وآخرون (1961) إلى أن تجهيز نبات البلادونا *Atropa belladonna* بمصادر مختلفة من النيتروجين أدت إلى تحفيز النبات لتخليق المركبات القلويدية . كما بينت نتائج Zhao وآخرون (2001) إن لعوامل الإجهاد و المنظمات الحيوية bioregulators دوراً هاماً في زيادة المركبات القلويدية لنبات عين البزون .

3- المواد وطرائق العمل : Materials and Methods

3-1- موقع وتحليل تربة التجربة

أجريت هذه التجربة في الظلة الخشبية التابعة إلى قسم علوم الحياة - كلية العلوم – جامعة القادسية للعام (2009 - 2010) لمعرفة تأثير الملوحة Salt stress والمخصب الحيوي Agrispoon في نمو وإنتاج المادة الفعالة طبياً Vincristine و Vinblastine لنبات عين البزون *Catharanthus roseus* (L.) G. Don ، أذ تم زراعة 48 شتلة (بعمر شهر واحد ومعدل أرتفاع 12 سم) لنبات عين البزون في سنادين بلاستيكية سعة 5 كغم أبعادها 15 × 20 سم وبواقع (شتلة واحدة لكل سندانة) بتاريخ 1/11/2009 ، ملئت السنادين بمزيج من سماد البتموس والتربة و بنسبة (2:1) . وكذلك تم إجراء تحليل الصفات الفيزيائية والكيميائية لتربة التجربة وكما مبين بالجدول (A) .

أستعملت الملوحة بأربعة تراكيز هي (0 و 6 و 9 و 12) ديسي سيمنز / م ، كما أستعمل المخصب الحيوي الاجرسبون بثلاثة تراكيز هي (0 و 3 و 6) مل / لتر . تم إضافة المخصب الحيوي مرتين الأولى بتاريخ 1/ 11/2009 و الثانية 1/12/2009 رشاً في الصباح الباكر على المجموع الخضري وحتى البلل الكامل ، أما بالنسبة للإجهاد الملحي فتم سقي النباتات بالتراكيز الملحية المذكورة وحسب حاجة النباتات ، أذ سقيت كل 12 نبتة بتركيز ملوحة محدد . يتألف المخصب الحيوي من بكتريا مثبتة للنتروجين وعناصر غذائية ومواد عضوية ولاعضوية وهرمونات نمو بشكل متوازن .

الجدول (A) . بعض الصفات الكيميائية والفيزيائية للتربة المستعملة في التجربة قبل الزراعة .

نـوع التحليـل		نتيجة التحليل
التوزيع النسبي لدقائق التربة (%)	الرمل	28
	الطين	33
	الغرين	39
نسجة التربة		مزيجيه طينية
درجة التفاعل (pH)		7.64
درجة التوصيل الكهربائي E.C ديسي سيمنز/م		2.50
(TDS)		1.8877
النسبة المئوية لكلوريد الصوديوم NaCl (%)		9.6
الايونات الموجبة (ملغم / لتر)	البوتاسيوم	11.30
	الصوديوم	7.32
الايونات السالبة (ملغم / لتر)	الكبريتات	9.75
	الكلوريد	8.75
النتروجين الكلي (ملغم / لتر)		17.22
الفسفور الكلي (ملغم / لتر)		10.50
المادة العضوية (%)		6.44

3-2- تحضير المعاملات الملحية لمياه السقي ومستويات المخصب الحيوي المستعملة في التجربة :

3-2-1 تحضير المستويات الملحية Preparation of Salt Levels .

تم تحضير ثلاثة مستويات من كلوريد الصوديوم هي : 6 و 9 و 12 ديسي سيمنز / م وذلك بإذابة الكمية المطلوبة من كلوريد الصوديوم NaCl في الماء المقطر و إكمال الحجم إلى 1 لتر للحصول على المستويات المذكورة في أعلاه ،على التوالي ، وحسب المعادلة أدناه ، كما تم السقي بالماء المقطر لنباتات المقارنة.

$$E.C.(\ dsm/m\ ) = Weight\ NaCl\ (\ mg/L) \ / \ 640$$

3-2-2 تحضير محلول المخصب الحيوي Preparation of Biofertilizer .

تم تحضير المخصب الحيوي (الأجرسبون Agrispoon) المصنع من قبل شركة Appropriat (Technology) الأمريكية – كاليفورنيا بتركيزين هما (3 و 6) مل / لتر ، و ذلك بأخذ الكمية المطلوبة من المخصب الحيوي و إكمال الحجم إلى 1 لتر بأستعمال الماء المقطر .

3-3- مؤشرات النمو المدروسة .

3-3-1 صفات النمو المدروسة .

تم اخذ قياسات النمو الخضري ولجميع النباتات لكل مكرر من كل معاملة ، بتاريخ 1/2/2010 وشملت :

3-3-1-1 أرتفاع النبات (سم) Plant height .

تم قياس ارتفاع النباتات بأستعمال المسطرة الاعتيادية وذلك أبتداءاً من سطح التربة إلى قمة النبات وذلك ولجميع النباتات من كل معاملة ، ثم استخرج معدل أرتفاع النبات لكل معاملة .

3-3-1-2 قطر الساق (ملم) Stem diameter .

تم قياس قطر الساق بأستعمال Digital Vernier Caliper ولجميع النباتات من كل معاملة ، ثم أستخرج معدل قطر ساق النبات لكل معاملة .

3-3-1-3- معدل مساحة الورقة (سم^2 / نبات) Leaf area / plant .

تم حساب المساحة الورقية لكل نبات بأخذ مجموعة من الأوراق النباتية من الجزء الوسطي للنبات ولجميع نباتات التجربة ، تم حساب أقصى طول وعرض للورقة بأستعمال المسطرة الاعتيادية وبتطبيق المعادلة آلاتية تم حساب المساحة الورقية:

المساحة الورقية = طول الورقة × عرض الورقة × 0.75 .

ثم استخرج معدل مساحة الورقة وذلك بقسمة المساحة الكلية للأوراق على عددها (Johson ، 1973) .

3-3-1-4 عدد تفرعات الساق (فرع / نبات) Branches number / plant .

تم حساب الفروع الجانبية للساق لكل نبات ولجميع النباتات من كل معاملة ، ثم أستخرج معدل عدد تفرعات النبات لكل معاملة .

3-3-1-5 عدد الأوراق لكل نبات (ورقة / نبات) Leaves number / plant .

تم حساب عدد الأوراق لكل نبات ولجميع النباتات من كل معاملة ، ثم أستخرج معدل عدد أوراق النبات لكل معاملة .

3-3-1-6 طول الجذر (سم) Root length .

تم قياس طول الجذر بأستعمال المسطرة الاعتيادية وذلك بعد فصل المجموع الخضري عن المجموع الجذري ولجميع النباتات من كل معاملة ، ثم أستخرج معدل طول جذر النبات لكل معاملة .

3-3-1 – 7 الوزنين الطري والجاف للمجموع الخضري (غم/ نبات) .

تم حساب الوزن الطري للمجموع الخضري والمتمثلة بالساق والأوراق بواسطة الميزان الحساس (نوع Metler HK 160 سويسري المنشأ) لكل نبات بعد قلعه مباشرةً وتنظيفه جيداً من الشوائب والأتربة العالقة ، بعد ذلك تم تقطيع المجموع الخضري ووضعه في أكياس ورقية مثقبة ووضعت في

فرن كهربائي (نوع Hirayama ياباني المنشأ) على درجة حرارة 70 °م لمدة 48 ساعة ولحين ثبات الوزن ثم وزن بالميزان الحساس لغرض حساب الوزن الجاف للمجموع الخضري .

3-3-1-8 الوزنين الطري والجاف للمجموع الجذري (غم / نبات) .

تم حساب الوزن الطري للمجموع الجذري بعد فصله عن المجموع الخضري وتنظيفه من الأتربة العالقة ، ثم وزن بواسطة الميزان الحساس . بعد ذلك وضع المجموع الجذري لكل نبات في أكياس ورقية مثقبة ووضعت في فرن كهربائي على درجة حرارة 70°م لمدة 48 ساعة ولحين ثبات الوزن ثم وزن بالميزان الحساس لغرض حساب الوزن الجاف للمجموع الجذري .

3-3-1-9 الوزنين الطري والجاف للنبات الكلي (غم / نبات) .

تم حساب الوزن الطري للنبات الكلي وذلك بجمع الوزن الطري للمجموع الخضري مع الوزن الطري للمجموع الجذري ، كما تم حساب الوزن الجاف للنبات الكلي وذلك بجمع الوزن الجاف للمجموع الخضري مع الوزن الجاف للمجموع الجذري .

3-3-1-10 نسبة الوزن الجاف للمجموع الجذري / الوزن الجاف للمجموع الخضري .

تم حساب نسبة الوزن الجاف للمجموع الجذري / الوزن الجاف للمجموع الخضري لكل نبات بقسمة الوزن الجاف للمجموع الجذري للنبات على الوزن الجاف للمجموع الخضري للنبات نفسه ، أذ تعد هذه النسبة مؤشراً لنشاط عملية البناء الضوئي وكفاءة الأمتصاص .

3-3 -2 حساب الكلوروفيل a والكلوروفيل b والكلوروفيل الكلي (ملغم / غم وزن طري) .

تم تقدير محتوى الأوراق من الكلوروفيل a والكلوروفيل b والكلوروفيل الكلي في الأوراق استناداً إلى طريقة Mackinney (1941) ، وذلك بأخذ 1 غم من الأوراق النباتية الطرية وتم تقطيعها إلى قطع صغيرة وسحقت في هاون خزفي بوجود 10 مل من الأسيتون تركيزه 80% بعدها تم فصل الراشح عن الراسب بأستعمال جهاز الطرد المركزي Centrifuge بسرعة 3000 دورة / دقيقة ولمدة 15 دقيقة . كررت عملية فصل الراشح عن الراسب عدة مرات حتى زوال الصبغة الخضراء عن الراسب . بعدها تم قياس الكثافة الضوئية للراشح بواسطة جهاز قياس الطيف الضوئي Spectrophotometer (نوع Bichrom – Libra S22 – UK 2005) عند الطولين الموجيين 645 و 663 نانوميتر ، وبتطبيق المعادلات الآتية تم حساب كمية الكلوروفيل a والكلوروفيل b والكلوروفيل الكلي :-

Chlorophyll a (mg /gm tissue) = [12.7(D663) -2.69(D645)] × $\frac{V}{1000 \times W}$

Chlorophyll b (mg /gm tissue) = [22.9(D645) - 4.68(D663)] × $\frac{V}{1000 \times W}$

Total chlorophyll (mg /gm tissue) = [20.2(D645) + 8.02(D663)] × $\frac{V}{1000 \times W}$

حيث أن :

V = الحجم النهائي للراشح (مل) .

D = قراءة الكثافة الضوئية للكلوروفيل المستخلص .

W = الوزن الطري (غم) .

3-3-3 تقدير المغذيات N و P و K و Na و Cl في أوراق النبات .

3-3-3-1 تقدير النسبة المئوية للنيتروجين .

تم تقدير النسبة المئوية للنتروجين حسب طريقة Chapman و Pratt (1961) ، وذلك بوزن 0.2 غم من المادة الجافة المطحونة للأوراق ووضعت في أنبوبة الهضم (Digestion tube) وأضيف لها 5 مل من حامض الكبريتيك المركز 99% و 2 مل من حامض البركلوريك المركز كعامل مساعد. ثم أضيف خليط من أملاح الهضم بوزن 1 غم ($CuSO_4$, $SeSO_4$, K_2SO_4) . وضعت الأنابيب على صفيحة التسخين وتم رفع درجة الحرارة تدريجيا إلى 450°م (حتى أصبح المحلول رائقاً). ثم بردت الأنابيب وأكمل الحجم إلى 100 مل بإضافة الماء المقطر .ثم اخذ 10 مل منه ووضع في أنبوبة التقطير وأضيف له 10مل من هيدروكسيد الصوديوم تركيزه 40% . وضعت أنبوبة التقطير في جهاز تقطير النتروجين ليتم جمع الامونيا حتى أصبح حجم حامض البوريك 50مل ثم وقفت عملية التقطير. سحح حامض البوريك الحاوي على الامونيا مع حامض الهيدروكلوريك 0.01N ثم حسب حجم الحامض المستهلك (في عملية التسحيح) وبتطبيق المعادلة التالية قدرت نسبة النيتروجين الكلية .

$$\%N = \frac{\text{حجم HCl المستهلك X العيارية X 0.014 X حجم التخفيف}}{\text{وزن العينة}} \times 100$$

3-3- 2-3 تقدير عنصر الفسفور (ملغم / غم وزن جاف من الأوراق) .

تم حساب محتوى الأوراق من الفسفور حسب طريقة Chapman و Pratt (1961) ، وذلك بوزن 0.5 غم من العينة المطحونة والمجففة وأذيبت في 5 مل من حامض الكبريتيك و2 مل من حامض البركلوريك . وتم استعمال موليبيدات الامونيوم وحامض الاسكوربيك (الطريقة اللونية) ثم قيست بأستعمال جهاز الطيف الضوئي Spectrophotometer (نوع Bichrom – Libra S22 – UK 2005) على طول موجي 700 نانوميتر .

3-3-3-3 تقدير عنصر البوتاسيوم (ملغم / غم وزن جاف من الأوراق) .

أخذ 50 ملغم من العينة المطحونة والمجففة للأوراق وأضيف إليها 5 مل من محلول الهضم (حامض النتريك المركز) وهضم بدرجة حرارة 180 °م إلى أن اكتملت عملية الهضم ، جفف الناتج على درجة حرارة 370 م لمدة خمس ساعات ، ثم بردت العينة وأضيف لها الماء المقطر الخالي من الايونات بحجم 22.5 مل . تم قياس تركيز البوتاسيوم بأستعمال جهاز المطياف الفوتومتري باللهب Flame Photometer (نوع Jenway – PFP7-UK 2002) (الصحاف ، 1989) .

4-3-3-3 تقدير عنصر الصوديوم (ملغم / غم وزن جاف من الأوراق) .

أخذ 50 ملغم من العينة المطحونة والمجففة للأوراق وأضيف إليها 5 مل من محلول الهضم (حامض النتريك المركز) وهضم بدرجة حرارة 180°م إلى أن اكتملت عملية الهضم ، جفف الناتج على درجة حرارة 370 م لمدة خمس ساعات ، ثم بردت العينة وأضيف لها الماء المقطر الخالي من الايونات 22.5 مل . تم قياس تركيز الصوديوم بأستعمال جهاز المطياف الفوتومتري باللهب Flame Photometer (نوع Jenway – PFP7-UK 2002) (الصحاف ، 1989) .

3-3-3-5 نسبة البوتاسيوم / الصوديوم .

تم حساب نسبة البوتاسيوم / الصوديوم وذلك بقسمة محتوى أوراق النبات من البوتاسيوم على محتوى الأوراق من الصوديوم لكل نبات .

3-3-3-6 تقدير عنصر الكلوريد (ملغم / غم وزن جاف من الأوراق) .

أخذ 0.2 غم من العينة المطحونة والمجففة للأوراق ووضعت في قناني زجاجية حجميه سعة 100 مل ، ثم أضيف إليها 10 مل من حامض الكبريتيك لكل عينة وتركت لمدة 24 ساعة بعد ذلك وضعت على صفيحة التسخين في درجة حرارة 200 °م ، ثم أضيف لها 3 مل من بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 حتى تحولت إلى محلول رائق، تركت لتبرد ثم أكمل الحجم إلى 50 مل بأستعمال الماء المقطر حسب الطريقة المذكورة في AOAC (1990) وثم قدر عنصر الكلوريد وذلك بالتسحيح مع نترات الفضة Sliver Nitrate أذ أضيفت نترات الفضة إلى المحلول الرائق حتى ظهور اللون البني المحمر وكما وصفها Chapman و Pratt (1961) .

3-3-4 تقدير النسبة المئوية للبروتين في الأوراق .

تم تقدير نسبة البروتين وذلك بضرب نسبة النتروجين المحسوبة سابقا" في 6.25 (دلالي والحكيم ، 1987) .

3-3-5 تقدير محتوى الأوراق من الحامض الأميني البرولين (مايكروغرام/غم وزن طري من الأوراق).

تم تقدير الحامض الاميني البرولين بالأعتماد على طريقة Bates وأخرون (1973) وذلك بأخذ 250 ملغم من الأوراق الطرية وسحقت في جفنة خزفية ثم وضعت قي أنبوبة و أضيف لها 10 مل من حامض السلفوسالسليك Sulfosalicylic تركيز 3% حتى تحول لون النموذج إلى الأصفر الفاتح ، ترك مدة من الزمن لكي يذيب الحامض النموذج النباتي ، ثم وضع النموذج في جهاز الطرد المركزي لمدة 10 دقائق . أخذ 2مل من الراشح ووضع في أنبوبة اختبار وأضيف إليه 2 مل من حامض الخليك الثلجي و 2 مل من محلول النهايدرين Ninhydrin ووضع الخليط في حمام مائي water bath بدرجة حرارة 100 مئوي لمدة نصف ساعة . تم إنهاء التفاعل بوضع أنبوبة الاختبار في حمام ثلجي حتى يبرد

ثم أضيف أليها 5 مل من محلول التولوين Toluene مع الرج لمدة نصف دقيقة . تمت قراءة الأمتصاصية بواسطة جهاز قياس الطيف الضوئي UV- Spectrophotometer نوع Bichrom – Libra S22 – UK 2005 عند طول موجي 520 نانوميتر .

3-3- 6 تقدير قلويدي الفنكرستين والفنبلاستين .

3-3 -6-1 استخلاص قلويد الفنكرستين Vincristine.

أستعملت طريقة Harborne (1984) لاستخلاص قلويد الفنكرستين من الأوراق . حيث أخذ 1 غم من الأوراق المجففة ومزجت مع 100 مل من الكحول الأثيلي وتركت لمدة 24 ساعة ثم وضع المزيج في حاوية الأستخلاص thumble وأدخلت في جهاز الأستخلاص Soxholet (نوع Julabo – Germany 2001) حيث جرى الأستخلاص ، وبعد الانتهاء من عملية الاستخلاص تم تجفيف المستخلص بأستعمال المبخر الدوار Rotary evaporator . ثم أذيبت المادة الجافة في 5مل من الكحول الاثيلي وأضيف 30 مل من حامض الكبريتيك 2 % ، ثم جفف المستخلص بأستعمال المبخر الدوار للتخلص من الكحول الاثيلي ليتخلف المحلول الحامضي فقط . ثم فحص المستخلص بواسطة كاشف ماير للتأكد من وجود القلويدات حيث يعطي هذا الفحص راسبا أبيض أو عكر عند إضافة قطرة من الكاشف إلى قطرة من المحلول الحامضي دليل على وجود القلويدات . تم إضافة كمية من هيدروكسيد الامونيوم 10% إلى المحلول الحامضي حتى أصبح الـ pH = 9 و أضيف 10 مل من الكلوروفورم القاعدي ورج عدة مرات ، ثم ترك المزيج ليستقر وينفصل إلى طبقتين ، أخذت الطبقة السفلى (طبقة الكلوروفورم المذابة فيها القلويدات) ، أعيدت الخطوة الأخيرة ثلاث مرات أخرى وتم فصل الطبقة السفلى في كل مرة بحيث أصبح حجم المحلول المتجمع 40 سم^3 تقريبا ، ثم وضع في جهاز المبخر الدوار لتبخير الكلوروفورم ، ثم ذوبت المادة القلويدية الجافة في 1مل من الميثانول ألحامضي ليكون نموذجاً جاهزاً للفحص بواسطة جهاز الـ HPLC .

3-3- 6-2 استخلاص قلويد الفنبلاستين Vinblastine .

أستعملت طريقة Arvind وآخرين (2007) لأستخلاص قلويد الفنبلاستين Vinblastin من الأوراق ، حيث اخذ 1 غم من الأوراق المجففة ومزجت مع 100 مل من حامض الهيدروكلوريك HCl (0.1 M) لمدة 30 دقيقة في حمام فوق الصوتية ultrasonic bath ، ثم وضع المزيج في جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة/ دقيقة لمدة 10 دقائق . أخذ الراسب وأعيد استخلاصه بإضافة 100 مل من حامض الهيدروكلوريك HCl (0.1 M) لمدة 30 دقيقة ثم جمع الرائق للحالتين ورشح ثم أضيف (200 مل) من الايثر البترولي Petroleum Ether لإزالة الكلوروفيل Chlorophyll والمركبات الأيوفيلية Lipophilic compounds الأخرى . أضيف حامض الأمبونيك (Embonic acid 10 %) وببطيء عند pH = 10.5 وحتى أصبح الـ pH = 5 لترسيب القلويد كمعقد امبونيت embonate complex ، فصل الراسب عن الراشح . ثم مزج 100 ملغم من الراسب مع 10 مل من حامض الهيدروكلوريك HCl (0.1 M) و 10 مل من حامض الستريك Citric acid (0.1 M) حتى أصبح الـ pH = 2.2 ، برد المزيج بواساطة حمام ثلجي ice bath لدرجة 5- °م وأضيف 10 مل من داي كلورو ميثان dichloromethane ، حيث أن تفاعلات الأكسدة والاختزال بدأت عند تحريك المزيج وإضافة 10 مل من بيروكسيد الهيدروجين المائي peroxide aqueous hydrogen (30 %) وبشكل قطرات وببطيء ، وأضيف أيضاً 10 مل من هايبوكلورات الصوديوم المائية (10 %) aqueous sodium hypochlorite ،وأضيف أيضا محلول صوديوم بوروهايدريت في الميثانول (0.1 %) sodium borohydride in methanol وبشكل متزامن ولمدة 3-5 ساعات ، pH المزيج أزدادت ببطيء من 1.8 إلى 9.5 ، ثم اخذ (1 مل) الطبقة العضوية وتم تبخيره حتى الجفاف ونذيب المادة الجافة في 500 مايكروليتر ميثانول Methanol ورشح بورق ترشيح (0.45 مايكروميتر) ليكون نموذجاً جاهزاً للفحص بواسطة جهاز الـ HPLC .

3-6-3-3 التقدير الكمي لمركبي الفنكرستين والفنبلاستين بأستعمال تقنية السائل ذي الأداء العالي HPLC (مايكروغرام / غم وزن جاف من الأوراق) .

أجريت عملية تقدير قلويد الفنكرستين والفنبلاستين بأستعمال جهاز (High Performance Liquid Chromatography) واختصاراً يسمى HPLC (نوع Shimadzu – Germany 2004) الذي يعد أسلوباً تقنياً متقدماً جداً يعطي صورة واضحة ودقيقة لتركيز المركبات المراد تقديرها .

تم قياس المادتين القلويديتين Vincristine ، Vinblastine بأستعمال جهاز HPLC وذلك بحقن 20 مايكروليتر من العينة Sample في عمود الفصل Column بواسطة حاقن Injection نوع Rheodye – 7125 . أستعمل عمود الفصل نوع ODS بأبعاد **(**5 µm × 100 mm**)** والطور المتحرك Mobile phase المكون من الميثانول والماء بنسبة 1 : 1 وأستعمل جهاز سيطرة نوع Automatic system controller (SIL 6A) ومضختين نوع shimadzu model – LC- 6A Pumps وكانت ظروف الفصل كما موضح بالجدول (B) ، كما تم أستعمال محاليل قياسية مختبرية من مركبي Vincristin Sulpher و Vinblastine Sulpher (المنتجان من قبل شركة Fluke) المعلومة التركيز للتعرف على المساحة النسبية للعينة ، وبتطبيق المعادلة التالية تم حساب تركيز القلويد (Hadi ، 1999) .

$$\text{تركيز القلويد للعينة} = \left[\frac{\text{المساحة النسبية للعينة}}{\text{المساحة النسبية للقياسي}} \right] \times \text{تركيز القلويد القياسي .}$$

جدول (B). ظروف فصل الـ VINCRISTIN & VINBLASTINE بأستعمال جهاز كروماتوكرافيا السائل ذي الأداء العالي HPLC .

نوع المذيب	Methanol + H2O (1-1)
نوع الحاقن	Injector Rheodye (7125)
نوع الكاشف	Uv- visible detector SPd-6AV Equipped with flew cell 8 µ L
جهاز السيطرة	Automatic system controller (S11-6A)
كمية النموذج المستعمل للحقن	20 µ L
نوع وعدد المضخات	Two shimadzu model (LC-6A Pumps)
أبعاد عمود الفصل	(5 µm × 100 mm)
الطور السائل	Liquid phase gradient elution: Solvent A buffer phosphate 0.01m PH=6.0 , Solvent B acetonitrile
الطور الصلب	Solid phase C .18 shim pack (L OD)
درجة حرارة العمود الابتدائية	(T1) (69)˚C – 2 min
درجة حرارة العمود النهائية	(T2) (210) ˚ C – 2 min
معدل أرتفاع درجة الحرارة	(21) ˚ C / min
درجة حرارة الحاقن	Injector temperature (197)˚C
درجة حرارة الكاشف	Detector temperature (194) ˚C
معدل جريان غاز النتروجين الحامل	Carrier gas 0.5 ml / min
حساسية الجهاز	Attenuation (10^3 × 213)
سرعة ورق التسجيل	(1 cm /min)

3-3-7 تصميم التجربة وتحليلها إحصائياً .

نفذت التجربة بأستعمال تصميم القطاعات العشوائي الكامل Randomized Complete Blocks Design (RCBD) بتجربة عامليه وبأربعة مكررات لكل معاملة . تضمن العامل الأول الملوحة بأربعة تراكيز و العامل الثاني المخصب الحيوي بثلاثة تراكيز وتمت مقارنة المتوسطات عندما كانت الفروق معنوية بأستعمال أختبار أقل فرق معنوي المعدل Revised Least Significant Difference (RLSD) عند مستوى معنوية 5 % (الراوي وخلف الله ، 2000) .

النتائج والمناقشة : Results and Discussion

4-1 تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في بعض صفات النمو .

تبين نتائج التحليل الإحصائي في الجدول (1) أن زيادة تراكيز الملوحة في مياه السقي من 0 إلى 12 ديسي سيمنز / م ، أدت إلى انخفاض معنوي في ارتفاع النبات أذ بلغ 22.58 و 16.67 و 15.00 سم ، على التوالي ، عند تراكيز الملوحة 6 ، 9 و 12 ديسي سيمنز / م قياسا بمعاملة المقارنة والتي بلغ ارتفاعها 27.42 سم . هذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه كل من Tozlu وأخرون (2000) على نبات البرتقال ثلاثي الاوراق *Poncirus trifolita* و Jaleel وأخرون (2008 b) على نبات عين البزون . كما أن زيادة تركيز المخصب الحيوي إلى 6 مل / لتر أدى إلى زيادة معنوية في ارتفاع النبات بلغت 21.31 سم في حين أن المعاملة 3 مل / لتر زادت من ارتفاع النبات ولكنها غير معنوية أد بلغت 20.06 سم قياسا بمعاملة المقارنة والتي بلغت 19.88 سم ، وهذه النتائج تتفق مع نتائج El-Ghadban وأخرون (2006) على نبات الحبة الحلوة و Jaleel وأخرون (2008 a) على نبات عين البزون . وقد أظهرت نتائج التحليل الإحصائي بان التداخل بين الملوحة والمخصب الحيوي له تأثير معنوي في أرتفاع النبات أذ بلغ أرتفاع النبات 23.25 سم عند التوليفة المكونة من المخصب الحيوي بتركيز 6 مل / لتر وملوحة 6 ديسي سيمنز / م ، بينما بلغ 14.25 سم عند التوليفة المكونة من المخصب الحيوي بتركيز 3 مل / لتر وملوحة 12 ديسي سيمنز / م أي بنسبة انخفاض 38.71 % . هذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه كل من Ashraf (1999) على نبات زهرة الشمس و Abdolzadeh وأخرون (2008) في دراستهم على نبات الدفلة . و كما يشير التداخل المعنوي في الجدول نفسه إلى أنه عند كل تركيز من تراكيز المخصب الحيوي فان زيادة تراكيز الملوحة من 0 إلى 12 ديسي سيمنز / م أدت إلى خفض معنوي في ارتفاع النبات . وان التوليفة المكونة من 6 ديسي سيمنز / م ملوحة مع جميع تراكيز المخصب الحيوي 0 و 3 و 6 مل / لتر كانت أعلى من جميع التوليفات الأخرى المكونة من ملوحة 9 أو 12 ديسي سيمنز / م مع جميع تراكيز المخصب الحيوي .

جدول (1). تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في أرتفاع نبات عين البزون (سم) .

المخصب الحيوي (مل / لتر) / تركيز الملوحة (ديسي سيمنز/ م)	0	3	6	معدل تأثير الملوحة
0	26.75	27.00	28.50	27.42
6	22.50	22.00	23.25	22.58
9	15.75	17.00	17.25	16.67
12	14.50	14.25	16.25	15.00
معدل تأثير المخصب الحيوي	19.88	20.06	21.31	

قيمة أقل فرق معنوي المعدل (RLSD)عند مستوى 5% :

المخصب الحيوي	الملوحة	التداخل
1.14	1.17	2.46

وفيما يتعلق بقطر الساق فتشير نتائج الجدول (2) أن زيادة تراكيز الملوحة في مياه السقي من 0 إلى 12 ديسي سيمنز / م أدت إلى نقص معنوي في أقطار سيقان نباتات عين البزون أذ بلغ قطر ساق النباتات غير المعاملة بالملوحة 5.762 ملم مقارنة ب 4.800 و 3.826 و3.358 ملم للنباتات المعرضة لملوحة 6 و 9 و 12 ديسي سيمنز / م ، على التوالي ، وهذه النتائج تتفق مع نتائج Younis وأخرون(1993) على نبات الفاصوليا و خليل (2004) على شتلات النارنج *Citrus aurantium* L. .

أما بالنسبة إلى أستعمال المخصب الحيوي ، فأن زيادة تركيزه من 3 إلى 6 مل/لتر أدى إلى زيادة معنوية في قطر الساق وبلغت 4.486 و 4.678 ملم ، على التوالي ، مقارنة بمعاملة المقارنة والتي بلغت 4.146 ملم . هذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه كل من الزلزلي (2008) على نبات الباقلاء وعبد الرؤوف (2009) على نبات الحلبة .

ويشير التداخل المعنوي في الجدول نفسه (2) إلى أن النباتات المعرضة لملوحة ب 6 و 9 و 12 ديسي سيمنز / م أزداد معدل أقطار سيقانها باستعمال المخصب الحيوي 3 و 6 مل / لتر مقارنة بتلك النباتات التي لم يتم معاملتها بالمخصب الحيوي ، حيث أن معدل قطر الساق للنباتات المعرضة لتركيز الملوحة 6 ديسي سيمنز / م وبدون استعمال المخصب الحيوي بلغ 4.390 ملم في حين أن استعمال المخصب الحيوي بتركيز 6 مل / لتر عند تركيز الملوحة نفسه أدى إلى زيادة في قطر الساق بلغ 5.073 ملم . أما النباتات المعرضة لتركيز الملوحة 12 ديسي سيمنز / م وبدون أستعمال المخصب الحيوي فبلغ أقطار سيقانها 3.032 ملم في حين أن استعمال المخصب الحيوي 6 مل / لتر عند تركيز الملوحة نفسه أدى إلى زيادة قطر الساق إلى 3.635 ملم أي بنسبة زيادة 16.59 % ، وهذه النتائج تتفق مع توصل إليه Hu وأخرون (2008) على نبات الذرة .

جدول(2) . تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في قطر ساق نبات عين البزون (ملم) .

المخصب الحيوي (مل / لتر) / تركيز الملوحة (ديسي سيمنز/ م)	0	3	6	معدل تأثير الملوحة
0	5.447	5.710	6.128	5.762
6	4.390	4.938	5.073	4.800
9	3.715	3.888	3.875	3.826
12	3.032	3.408	3.635	3.358
معدل تأثير المخصب الحيوي	4.146	4.486	4.678	

قيمة أقل فرق معنوي المعدل (RLSD)عند تركيز 5% :

المخصب الحيوي	الملوحة	التداخل
0.236	0.249	0.525

الجدول (3) يوضح تأثير عاملي الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاهما في معدل مساحة الورقة حيث يوضح أن جميع تراكيز الملوحة خفضت معنوياً من معدل مساحة الورقة لكل نبات وكانت نسب الأنخفاض 12.67% و 36.65% و 49.08% ، على التوالي ، قياساً بمعاملة المقارنة والتي بلغت 18.942 سم² .

هذه النتائج تتفق مع نتائج Ali وأخرون (2004) على نبات الرز و Neto وأخرون (2004) على نبات الذرة و Jaleel وأخرون (2008 c) على نبات عين البزون . كما يشير تحليل الانحدار في الشكل (4) إلى وجود علاقة ارتباط خطية سالبة بين تركيز الملوحة و مساحة الورقة حيث أن معامل الارتباط (r = 0.99 -) .

أما بالنسبة للمخصب الحيوي فأن زيادة تركيزه من 0 إلى 6 مل / لتر أدى إلى زيادة معنوية في معدل مساحة الورقة لكل نبات ، أذ بلغ معدل مساحة الورقة عند معاملة المقارنة والتي بلغت 12.175 سم² في حين زادت عند تركيز المخصب 3 و 6 مل / لتر إلى 14.704 سم² و 15.969 سم² ، على التوالي . هذه النتائج تتفق مع ماتوصل إليه كل من Acosta وأخرون (1985) على نبات الداتورا و Jaleel وأخرون (2008a) على نبات عين البزون . وتظهر نتائج تحليل الانحدار في الشكل (5) ، إلى وجود علاقة ارتباط خطية موجبة بين تركيز المخصب الحيوي و مساحة الورقة حيث أن معامل الارتباط (r = 0.86 +) .

أما بالنسبة لتداخل المخصب الحيوي مع الملوحة فكان تأثيرهما معنوياً في معدل مساحة الورقة لكل نبات ، حيث لوحظ انه عند كل تركيز من تراكيز الملوحة أدت إضافة المخصب الحيوي بتركيز 3 و 6 مل / لتر إلى زيادة معنوية في مساحة الورقة ، فعلى سبيل المثال التوليفة المكونة من 6 ديسي سيمنز / م ملوحة وبدون إضافة المخصب بلغت 13.063 سم² ولكن عند إضافة المخصب الحيوي بتركيز 3 مل / لتر عند تركيز الملوحة نفسه أدى إلى زيادة بلغت 16.688 سم² ، في حين إن إضافته بتركيز 6 مل / لتر زادت من مساحة الورقة إلى 19.875 سم². وكما يشير التداخل أيضاً إلى انه عند كل تركيز من تراكيز المخصب الحيوي أدت زيادة الملوحة من 0 إلى 12 ديسي سيمنز / م إلى أنخفاض معنوي في مساحة الورقة ، فعلى سبيل المثال بلغ معدل مساحة الورقة 20.563 سم² عند التوليفة المكونة من 6 مل / لتر مخصب و 0 ديسي سيمنز / م ملوحة في حين أن زيادة الملوحة إلى 12 ديسي سيمنز / م عند تركيز المخصب الحيوي نفسه خفضت مساحة الورقة إلى 10.688 سم² ،

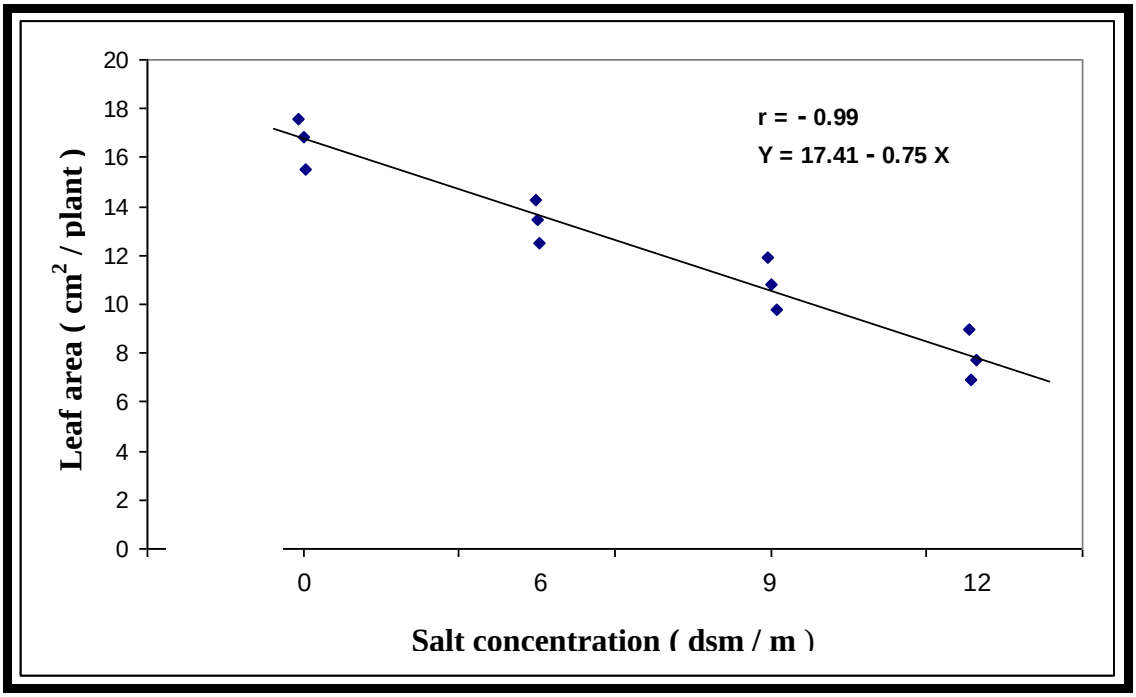
أي بنسبة انخفاض 48 % . وهذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه كل من Tawfik وأخرون (2006) على نبات *Leptochloa fusca* L. .

جدول(3) . تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في معدل مساحة الورقة لنبات عين البزون (سم^2 / نبات).

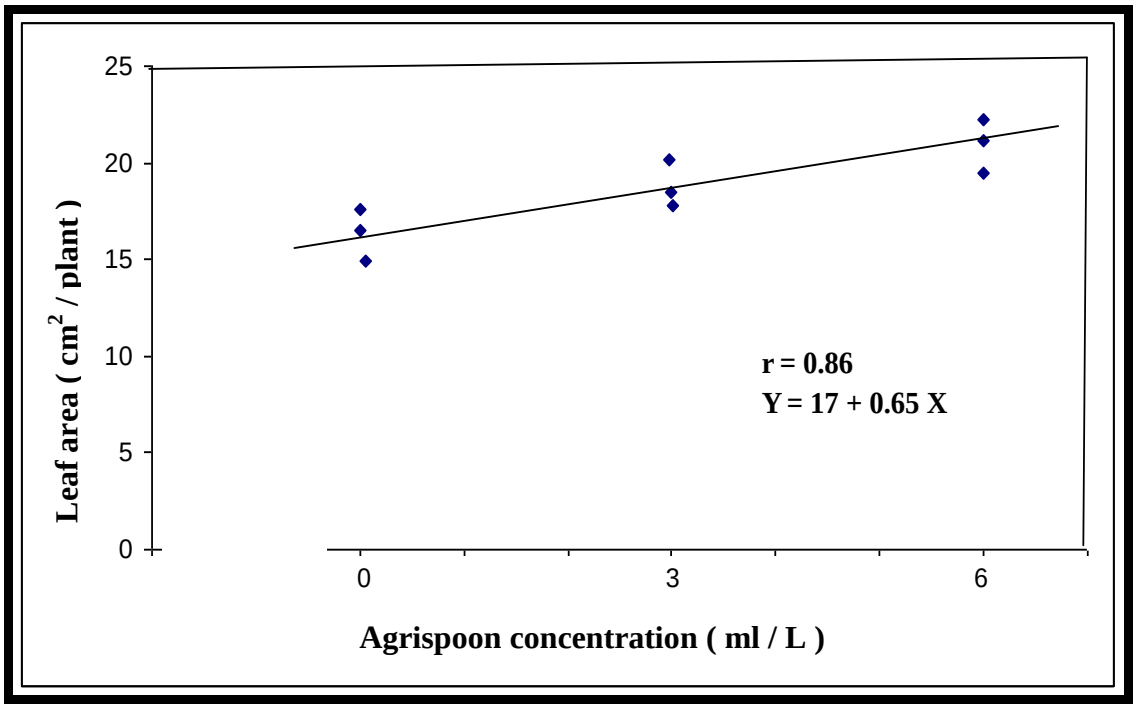
المخصب الحيوي (مل / لتر) / تركيز الملوحة (ديسي سيمنز/ م)	0	3	6	معدل تأثير الملوحة
0	17.325	18.938	20.563	18.942
6	13.063	16.688	19.875	16.542
9	10.188	13.063	12.750	12.000
12	8.125	10.125	10.688	9.646
معدل تأثير المخصب الحيوي	12.175	14.704	15.969	

قيمة أقل فرق معنوي المعدل (RLSD)عند تركيز 5% :

المخصب الحيوي	الملوحة	التداخل
0.261	0.301	0.549



الشكل(4). يوضح العلاقة بين تركيز الملوحة(ديسي سيمنز / م) ومساحة الورقة(سم^2 /نبات).



الشكل (5). يوضح العلاقة بين تركيز المخصب الحيوي (مل / لتر) و مساحة الورقة (سم^2 / نبات).

وفيما يتعلق بعدد التفرعات فيبين الجدول (4) أن زيادة تراكيز الملوحة في مياه السقي 0 و 6 و9 و 12 ديسي سيمنز / م أدت إلى انخفاض معنوي في معدل عدد التفرعات لكل نبات وبلغت 2.92 و 1.33 و 0.92 و 0.00 ، على التوالي ، وهذا يتفق مع ماتوصل إليه Kandeel و آخرون (1999) على نبات حلق السبع و Mahfouz و Sharaf-Eldin (2007) على نبات الحبة الحلوة. و تشير نتائج أستعمال المخصب الحيوي (الأجرسبون) إلى أن تركيز المخصب 6 مل / لتر قد أدى إلى ظهور زيادة معنوية في عدد التفرعات لكل نبات مقارنة بالتركيزين 0 و 3 مل / لتر اللذان لم يختلفا في عدد تفرعاتهما ، وهذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه كل من Hussein وأخرون (2000) على نبات الحمص وعباس (2009) على نباتات الورد المقزم *Rosa spp.* . أما بالنسبة لتداخل الملوحة و المخصب الحيوي يلاحظ من الجدول نفسه انه عند كل تركيز من تراكيز المخصب الحيوي أدت زيادة الملوحة 0 و 6 و 9 و 12 ديسي سيمنز / م إلى أنخفاض معنوي في عدد تفرعات النبات ، حيث انه عند التوليفة المكونة من مخصب حيوي 6 مل / لتر وملوحة 0 ديسي سيمنز / م بلغ 4.75 في حين أن زيادة تركيز الملوحة 6 و 9 و 12 ديسي سيمنز / م عند تركيز المخصب الحيوي نفسه بلغت 1.75 و 1.00 و 0.00 ، على التوالي . كذلك يلاحظ من الجدول انه عند تركيز ملوحة 0 ديسي سيمنز / م أدى إضافة المخصب الحيوي بتركيز 3 و 6 مل / لتر إلى زيادة معنوية في عدد التفرعات ، أما في تراكيز الملوحة 6 و 9 و 12 ديسي سيمنز / م فكانت إضافة المخصب غير معنوية بالنسبة إلى عدد التفرعات لكل نبات . وهذا يتفق مع ماتوصل إليه Abou El-Maged وأخرون (2008) على نبات الحبة الحلوة .

أما عن تأثير عاملي الدراسة في عدد الأوراق فتظهر النتائج المبينة بالجدول (5) أن زيادة تركيز الملوحة من 0 إلى 12 ديسي سيمنز / م أدت إلى انخفاض معنوي في عدد الأوراق لكل نبات وبلغ اقل عدد للأوراق 8.58 ورقة / نبات عند تركيز ملوحة 12 ديسي سيمنز / م ، مقارنة ب 31.33 ورقة / نبات عند تركيز ملوحة 0 ديسي سيمنز / م ، وهذا يتفق مع ماتوصل إليه كل من Hanafy وأخرون (1994) على نبات الحبة السوداء و Hardan (2000) على نبات فول الصويا . أما بالنسبة للمخصب الحيوي فلوحظ زيادة معنوية في معدل عدد الأوراق بزيادة تركيز المخصب حيث بلغت 13.56 و 15.31 و 21.06 ورقة / نبات للمعاملات 0 و 3 و 6 مل / لتر ، على التوالي ، وهذه النتائج تتفق مع نتائج كل من Acosta (1985) على نبات الداتورا و Heikal (2005) على نبات الزعتر .

كما يوضح الجدول (5) تأثير التداخل بين الملوحة والمخصب الحيوي في معدل عدد أوراق نبات عين البزون فتشير النتائج إلى أن استعمال المخصب الحيوي تحت ظروف الملوحة أدى إلى زيادة في معدل عدد الأوراق ،حيث انه عند تركيز الملوحة 6 ديسي سيمنز / م أدى أستعمال المخصب الحيوي بتركيز 6 مل / لتر إلى زيادة معنوية في عدد الأوراق مقارنة بالتركيزين 0 و 3 مل / لتر مخصب حيوي عند تركيز الملوحة نفسه . كما ويلاحظ من الجدول نفسه أن هنالك ميلاً للزيادة غير المعنوية في عدد الأوراق لكل نبات عند تراكيز الملوحة 9 أو 12 ديسي سيمنز / م وذلك بزيادة تركيز المخصب الحيوي من 0 إلى 6 مل / لتر . أما بالنسبة إلى تأثير الملوحة فان زيادة تركيزه من 0 إلى 12 ديسي سيمنز / م عند كل تركيز من تراكيز المخصب الحيوي أدت إلى انخفاض معنوي في عدد الأوراق . هذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه Khafagi وأخرون (1986) في دراستهم على بعض المحاصيل البقولية leguminous crops .

جدول(4). تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في عدد تفرعات نبات عين البزون (فرع / نبات) .

المخصب الحيوي (مل / لتر) / تركيز الملوحة (ديسي سيمنز/ م)	0	3	6	معدل تأثير الملوحة
0	1.75	2.25	4.75	2.92
6	1.00	1.25	1.75	1.33
9	1.25	0.50	1.00	0.92
12	0.00	0.00	0.00	0.00
معدل تأثير المخصب الحيوي	1.00	1.00	1.88	

قيمة أقل فرق معنوي المعدل (RLSD)عند تركيز 5% :

المخصب الحيوي	الملوحة	التداخل
0.78	0.83	1.78

جدول(5) . تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في عدد أوراق نبات عين البزون (ورقة / نبات) .

المخصب الحيوي (مل / لتر) / تركيز الملوحة (ديسي سيمنز/ م)	0	3	6	معدل تأثير الملوحة
0	28.00	26.50	39.50	31.33
6	10.75	16.00	22.75	16.50
9	8.25	10.00	12.25	10.17
12	7.25	8.75	9.75	8.58
معدل تأثير المخصب الحيوي	13.56	15.31	21.06	

قيمة أقل فرق معنوي المعدل (RLSD)عند تركيز 5% :

المخصب الحيوي	الملوحة	التداخل
2.71	2.86	6.76

أما عن تأثير عاملي الدراسة في طول الجذر يبين الجدول (6) أن زيادة تراكيز ملوحة مياه السقي من 0 إلى 12 ديسي سيمنز / م أدت إلى أنخفاض معنوي في طول الجذر حيث لوحظ أن طول الجذر عند معاملة الملوحة 12 ديسي سيمنز / م بلغ 13.09 سم قياسا بمعاملة المقارنة والتي بلغت 23.71 سم أي بنسبة انخفاض 44.79 % . هذه النتائج تتفق مع نتائج كل من أرديني (2003) على نبات العصفر و Jaleel وأخرون (2008 c) على نبات عين البزون . أما بالنسبة إلى تأثير المخصب الحيوي فقد لوحظ في نفس الجدول أنه بزيادة تركيز المخصب الحيوي من 0 إلى 6 مل / لتر حصل انخفاض في طول الجذر حيث لوحظ أعلى انخفاض عند تركيز 6 مل / لتر وبلغ 15.75 سم قياسا بمعاملة المقارنة والتي بلغت 21.22 سم وهذه النتائج تتفق مع نتائج Gunel و Arslan (1997) على نبات العصفر و El-Zeiny (2007) على نبات الفاصوليا .

ويشير التداخل بين الملوحة والمخصب الحيوي إلى تأثير معنوي في صفة طول الجذر . حيث انه كل من المخصب الحيوي والملوحة أدى إلى أنخفاض معنوي في طول الجذر ولكن كان للملوحة

تأثيراً أكبر في هذه الصفة ، حيث بلغ طول الجذر 14.13 سم عند التوليفة المكونة من 0 مل / لتر مخصب حيوي و 12 ديسي سيمنز / م ملوحة ، وبلغ 11.63 سم عند التوليفة المكونة من 6 مل / لتر مخصب حيوي و 12 ديسي سيمنز / م ملوحة ، في حين بلغ 50.20 سم عند التوليفة المكونة من 6 مل / لتر مخصب و 0 ديسي سيمنز / م ملوحة عند مقارنتها ب 26.50 سم والتي أعطت نباتاتها أكبر طول للجذر . هذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه كل من Han و Lee (2005) على نبات فول الصويا .

جدول(6) . تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في طول جذر نبات عين البزون (سم) .

المخصب الحيوي (مل / لتر) / تركيز الملوحة (ديسي سيمنز/ م)	0	3	6	معدل تأثير الملوحة
0	26.50	24.13	20.50	23.71
6	24.94	21.31	17.44	21.23
9	19.31	16.69	13.44	17.48
12	14.13	13.51	11.63	13.09
معدل تأثير المخصب الحيوي	21.22	18.91	15.75	

قيمة أقل فرق معنوي المعدل (RLSD)عند تركيز 5% :

المخصب الحيوي	الملوحة	التداخل
0.93	1.23	2.30

الجدول (7) يبين تأثير عاملي الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في الوزن الطري للمجموع الخضري ، أذ وضح أن زيادة تراكيز الملوحة في مياه السقي من 6 إلى 12 ديسي سيمنز / م أدت إلى انخفاض معنوي في الوزن الطري للمجموع الخضري وكانت نسب الانخفاض على التوالي 12.34 % و 32.95 % و 67.53 % ، على التوالي ، قياسا بمعاملة المقارنة والتي بلغت (17.599) غم / نبات ، وهذه النتائج تتفق مع نتائج كل من Elfeky و أخرون (2007) على نبات عين البزون . كما تشير نتائج الجدول نفسه إلى أن زيادة تركيز المخصب الحيوي أدت إلى

زيادة معنوية في الوزن الطري للمجموع الخضري وبلغت نسب الزيادة 6.39 % و 10.50% ، على التوالي ، عند التركيزين 3 و 6 مل / لتر مخصب حيوي قياسا بمعاملة المقارنة والتي بلغت 12.473 غم / نبات. هذه النتائج تتفق مع El-Ghadban وأخرون (2006) على نبات الحبة الحلوة و Abdolzadeh و أخرون (2006) على نبات عين البزون . أما بالنسبة إلى تأثير التداخل بين الملوحة والمخصب الحيوي فتشير نتائج الجدول إلى أنه عند كل تركيز من تراكيز الملوحة أدى إضافة المخصب الحيوي بتركيز 3 و 6 مل / لتر إلى زيادة معنوية في الوزن الطري للمجموع الخضري ، فعلى سبيل المثال عند التوليفة المكونة من 6 ديسي سيمنز / م ملوحة و 0 مل / لتر مخصب حيوي بلغ الوزن الطري للمجموع الخضري (14.588) غم / نبات في حين أن التوليفة المكونة من 6 ديسي سيمنز / م ملوحة و 6 مل / لتر مخصب حيوي بلغت 16.383 غم / نبات ، أي بنسبة زيادة 10.96% . هذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه Abou El-Maged وأخرون (2008) على نبات الحبة الحلوة .

جدول (7) . تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في الوزن الطري للمجموع الخضري لنبات عين البزون (غم / نبات) .

المخصب الحيوي (مل / لتر) / تركيز الملوحة (ديسي سيمنز/م)	0	3	6	معدل تأثير الملوحة
0	16.528	17.783	18.485	17.599
6	14.588	15.310	16.383	15.427
9	11.320	11.960	12.120	11.800
12	7.455	8.248	8.758	8.154
معدل تأثير المخصب الحيوي	12.473	13.325	13.937	

قيمة أقل فرق معنوي المعدل (RLSD)عند تركيز 5% :

المخصب الحيوي	الملوحة	التداخل
0.311	0357	0.761

وفيما يتعلق بالوزن الجاف للمجموع الخضري فيشير الجدول (8) أن زيادة تراكيز الملوحة 6 و 9 و 12 ديسي سيمنز / م سببت انخفاضا معنويا بنسبة 13.87 % و 34.86 % و 54.79 % ، على التوالي ، قياسا بمعاملة المقارنة والتي بلغت 7.020 غم / نبات ، وهذه النتائج تتفق مع نتائج Sliman و Ghandorah (1988) على نبات فول الصويا و Tozlu وأخرون (2000) على نبات البرتقال ثلاثي الاوراق . و كما يشير تحليل الانحدار في الشكل (6) إلى وجود علاقة أرتباط سالبة (r =0.96-) بين تركيز الملوحة و الوزن الجاف للمجموع الخضري .

أن استخدام المخصب الحيوي أدى إلى زيادة معنوية في الوزن الجاف للمجموع الخضري بلغ 5.253 و 5.462 غم / نبات عند التركيزين 3 و 6 مل / لتر على التوالي مقارنة بمعاملة المقارنة والتي بلغت 4.895 غم / نبات . هذه النتائج تتفق مع نتائج كل من Heikal (2005) على نبات الزعتر و Abdolzadeh وأخرون (2006) على نبات عين البزون . وكما بينت نتائج تحليل الانحدارالمبينة في الشكل (7) وجود علاقة ارتباط موجبة بين تركيز المخصب الحيوي و الوزن الجاف للمجموع الخضري حيث أن معامل الارتباط (r =0.69+) .

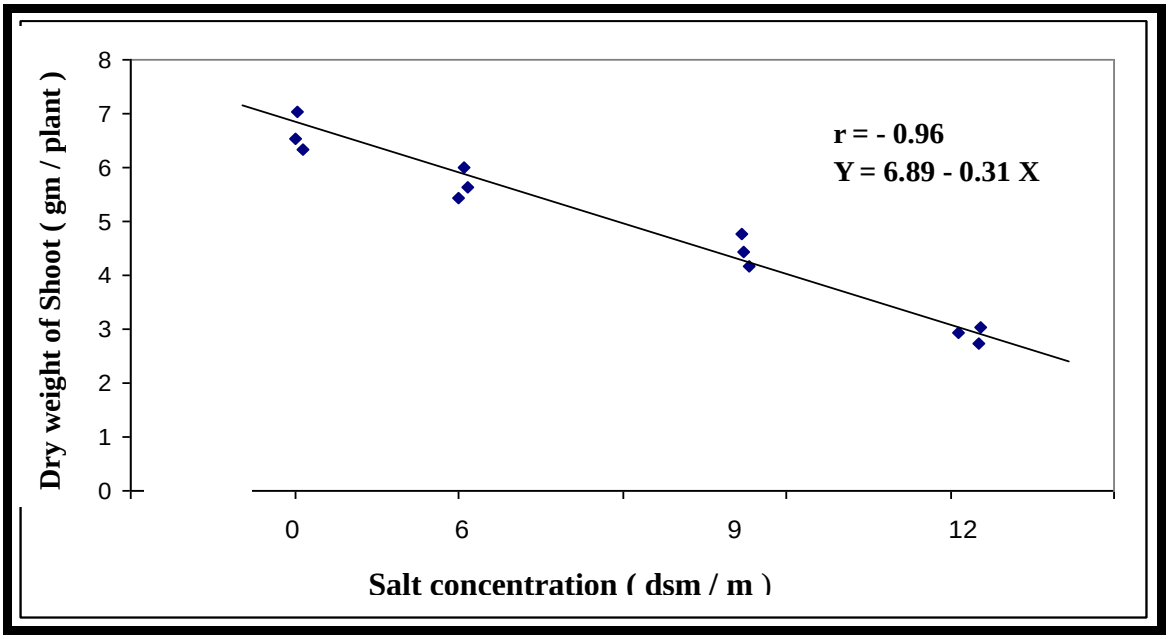
ويشير التداخل بين عاملي الدراسة إلى أن استخدام المخصب الحيوي مع معاملات الملوحة أدى إلى زيادة متفاوتة في معنويتها بالوزن الجاف للمجموع الخضري ، حيث تشير النتائج إلى انه عند تركيز ملوحة 6 ديسي سيمنز / م أدى إضافة المخصب الحيوي إلى زيادة معنوية في الوزن الجاف للمجموع الخضري حيث بلغ عند التوليفات المكونة من 6 ديسي سيمنز / م ملوحة + صفر مخصب حيوي ، 6 ديسي سيمنز / م ملوحة + 3 مل / لتر مخصب حيوي ، 6 ديسي سيمنز / م ملوحة + 6 مل / لتر مخصب حيوي 5.628 و 5.970 و 6.539 غم / نبات على التوالي . في حين لم يكن هذا التأثير معنوياً و واضحاً في التوليفات الأخرى المكونة من 9 أو 12 ديسي سيمنز / م مع 3 أو 6 مل / لتر من المخصب الحيوي ، وهذه النتائج تتفق مع نتائج Ashraf (1999) على نبات زهرة الشمس.

جدول(8) . تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في الوزن الجاف للمجموع الخضري لنبات عين البزون (غم / نبات) .

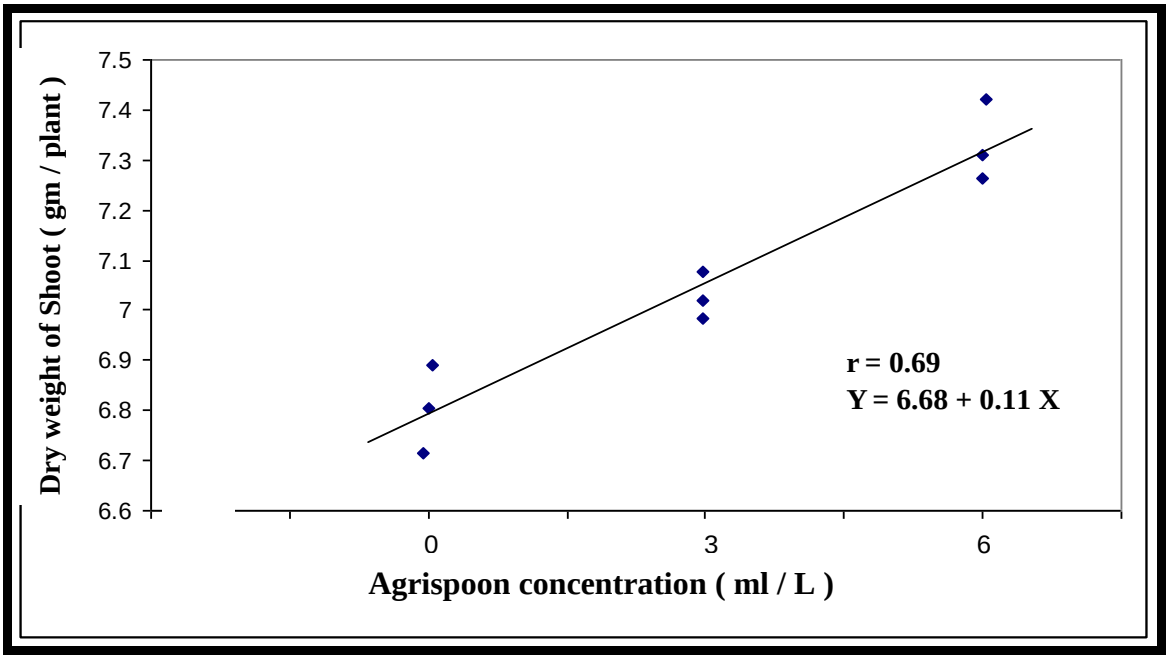
المخصب الحيوي (مل / لتر) / تركيز الملوحة (ديسي سيمنز/ م)	0	3	6	معدل تأثير الملوحة
0	6.578	7.112	7.369	7.020
6	5.628	5.970	6.539	6.046
9	4.386	4.681	4.652	4.573
12	2.986	3.248	3.288	3.174
معدل تأثير المخصب الحيوي	4.895	5.253	5.462	

قيمة أقل فرق معنوي المعدل (RLSD)عند تركيز 5% :

المخصب الحيوي	الملوحة	التداخل
0.130	0.143	0.319



الشكل (6) . يوضح العلاقة بين تركيز الملوحة (ديسي سيمنز / م) و الوزن الجاف للمجمو ع الخضري (غم / نبات) .



الشكل (7). يوضح العلاقة بين تركيز المخصب الحيوي (مل / لتر) و الوزن الجاف للمجموع الخضري (غم / نبات) .

أما عن تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما فتبين نتائج جدول (9) أن زيادة تراكيز الملوحة في مياه السقي من 6 إلى 12 ديسي سيمنز / م أدت إلى انخفاض معنوي في الوزن الطري للمجموع الجذري وكانت نسب الانخفاض 6.84 % و 37.65 % و 53.38 % ، على التوالي ، قياسا بمعاملة المقارنة والتي بلغت 3.859 غم / نبات ، وهذه النتائج تتفق مع نتائج Demiral وأخرون (2005) على نبات الشعير *Hordeum vulgare* L. . وفيما يخص المخصب الحيوي فتشير النتائج إلى زيادة معنوية في الوزن الطري للمجموع الجذري مع زيادة تركيز المخصب الحيوي وبلغت 9.41 % و 52.17 % مقارنة بمعاملة المقارنة والتي بلغت 2.637 غم / نبات ، وهذه النتائج تتفق مع نتائج كل من Heikal (2005)على نبات الزعتر و El-Ghadban وأخرون (2006)على نبات الحبة الحلوة .

ويلاحظ من جدول نفسه أن تداخل عاملي الملوحة والمخصب الحيوي اثر معنوياً في الوزن الطري للمجموع الجذري . حيث انه عند تركيز ملوحة 0 و 6 ديسي سيمنز / م أدى إضافة المخصب الحيوي بتركيزين 3 و 6 مل / لتر إلى زيادة معنوية في الوزن الطري للمجموع الجذري في حين أن زيادة تركيز الملوحة إلى 9 و 12 ديسي سيمنز / م ، جعلت من إضافة المخصب الحيوي تؤدي إلى زيادة غير معنوية في الوزن الطري للمجموع الجذري . أما بالنسبة إلى الملوحة فان زيادة تركيزه أدت إلى انخفاض معنوي في الوزن الطري للمجموع الجذري عند كل تركيز من تراكيز المخصب الحيوي 3 و 6 مل / لتر .

تبين نتائج الجدول (10) أن زيادة تراكيز الملوحة في مياه الري من 6 إلى 12 ديسي سيمنز / م أدت إلى انخفاض معنوي في الوزن الجاف للمجموع الجذري آذ بلغت نسب الانخفاض 9.28 % و 36.47 % و 53.11 % ، على التوالي ، قياسا بمعاملة المقارنة والتي بلغت 1.2922 غم / نبات . وهذه النتائج تتفق مع نتائج Sliman و Ghandorah (1988) على نبات فول الصويا و Elfeky وأخرون (2007) على نبات عين البزون . وتشير نتائج الجدول نفسه أن زيادة تركيز المخصب الحيوي أدت إلى زيادة معنوية في الوزن الجاف للمجموع الجذري وكانت النسب على التوالي 11.39 % و 21.49 % مقارنة بمعاملة المقارنة والتي بلغت 0.8578 غم / نبات . هذه النتائج تتفق مع نتائج Abdolzadeh وأخرون (2006) على نبات عين البزون .

كما بينت نتائج التحليل الإحصائي للتداخل بين الملوحة والمخصب الحيوي إلى أن إضافة المخصب الحيوي أدى إلى زيادة معنوية في الوزن الجاف للمجموع الجذري للنباتات المعرضة للملوحة وبلغت أعلى قيمة 1.5255 غم / نبات عند التوليفة المكونة من ملوحة تركيزها 0 ديسي سيمنز / م و مخصب حيوي تركيزه 6 مل / لتر و 1.3250 غم / نبات للتوليفة المكونة من 6 ديسي سيمنز / م مع 6 مل من المخصب الحيوي . مما يشير إلى أمكانية تحسين الوزن الجاف للمجموع الجذري بأستخدام المخصب الحيوي مع الملوحة .

جدول(9) . تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في الوزن الطري للمجموع الجذري لنبات عين البزون (غم / نبات) .

المخصب الحيوي (مل / لتر) / تركيز الملوحة (ديسي سيمنز/م)	0	3	6	معدل تأثير الملوحة
0	3.375	3.798	4.405	3.859
6	3.068	3.700	4.018	3.595
9	2.310	2.470	2.438	2.406
12	1.793	1.675	1.928	1.799
معدل تأثير المخصب الحيوي	2.637	2.911	3.197	

قيمة أقل فرق معنوي المعدل (RLSD)عند تركيز 5% :

المخصب الحيوي	الملوحة	التداخل
0.122	0.134	0.266

جدول (10). تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في الوزن الجاف للمجموع الجذري لنبات عين البزون (غم / نبات) .

المخصب الحيوي (مل / لتر) / تركيز الملوحة (ديسي سيمنز/ م)	0	3	6	معدل تأثير الملوحة
0	1.0853	1.2658	1.5255	1.2922
6	0.9860	1.2058	1.3250	1.1723
9	0.7705	0.8263	0.8658	0.8209
12	0.5893	0.5743	0.6540	0.6059
معدل تأثير المخصب الحيوي	0.8578	0.9681	1.0926	

قيمة أقل فرق معنوي المعدل (RLSD)عند تركيز 5% :

المخصب الحيوي	الملوحة	التداخل
0.0449	0.0493	0.0978

يتضح من نتائج الجدول (11) أنخفاض معنوي في الوزن الطري الكلي للنبات كلما زاد تركيز ملوحة مياه السقي من 6 إلى 12 ديسي سيمنز/ م وبنسبة 11.25 % و 33.80 % و 53.62% ، على التوالي ، قياسا بمعاملة المقارنة والتي بلغت (21.458) غم / نبات . هذه النتائج تتفق مع نتائج Demiral وأخرون (2005) على نبات الشعير و Mensah وأخرون (2006) على نبات فستق الحقل و Jaleel وأخرون (2008 b) على نبات عين البزون . أما بالنسبة للمخصب الحيوي فقد كان له دور ايجابي معنوي في زيادة الوزن الطري الكلي للنبات وبلغت نسبة الزيادة 6.94 % و 11.90 % عند التركيزين 3 و 6 مل / لتر مقارنة بمعاملة المقارنة والتي بلغت 15.109 غم / نبات . هذه النتائج تتفق مع نتائج Talaat وأخرون (2005) وAbdolzadeh وأخرون (2006) على نبات عين البزون . كما يشير التداخل المعنوي إلى أن توليفات المعاملات المكونة لتراكيز الملوحة مع المخصب الحيوي كان معدل الوزن الطري الكلي للنبات فيها أعلى من معاملات المقارنة التابعة لها رغم عدم معنوية بعضها ، فعلى سبيل المثال التوليفة المكونة من 6 ديسي سيمنز / م ملوحة مع 3 مل / لتر من المخصب بلغت 010.19 غم / نبات و التوليفة

المكونة من 6 ديسي سيمنز / م ملوحة مع 6 مل / لتر من المخصب أعطت أعلى قيمة معنوية 20.467 غم / نبات. هذا مايفسر أهمية استخدام المخصبات الحيوية عند الأجهادات الملحية لكي تعطي نباتات قوية النمو مقارنة مع النباتات المعرضة للملوحة والتي لم تعامل بالمخصب الحيوي .

جدول(11) . تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في الوزن الطري الكلي لنبات عين البزون (غم / نبات) .

المخصب الحيوي (مل / لتر) / تركيز الملوحة (ديسي سيمنز/م)	0	3	6	معدل تأثير الملوحة
0	19.903	21.580	22.890	21.458
6	17.655	19.010	20.467	19.044
9	13.630	14.430	14.558	14.206
12	9.248	9.923	10.685	9.952
معدل تأثير المخصب الحيوي	15.109	16.236	17.150	

قيمة أقل فرق معنوي المعدل (RLSD)عند تركيز 5% :

المخصب الحيوي	الملوحة	التداخل
0.325	0.356	0.749

الجدول (12) يوضح تأثير عاملي الدراسة وتداخلاتهما في الوزن الجاف الكلي للنبات ويتضح من الجدول أن هنالك انخفاضاً معنوياً في الوزن الجاف الكلي للنباتات الناتج من معاملتها بتراكيز متزايدة من 0 إلى 12 ديسي سيمنز / م وبلغت نسب الأنخفاض 13.15 % و 10.35 % و 54.53 % ، على التوالي ، قياسا بمعاملة المقارنة والتي بلغت 8.311 غم / نبات . هذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه كل من Sliman و Ghandorah (1988) على نبات فول الصويا و Jaleel soybean وأخرون (2008 c) على نبات عين البزون . كما يشير الجدول نفسه إلى أن استخدام المخصب الحيوي بتركيز 3 و 6 مل / لتر أدى إلى زيادة معنوية في الوزن الجاف الكلي للنبات بنسبة 7.52 % و 24.12 % عند التركيزين 3 و 6 مل / لتر قياسا بمعاملة المقارنة والتي بلغت 5.752 غم / نبات . هذه النتائج تتفق مع ماتوصل إليه كل من Talaat وأخرون (2005) .

التداخل المعنوي لعاملي الدراسة يشير إلى انه في النباتات المعرضة للملوحة تحسن الوزن الجاف لها بأستخدام المخصب الحيوي معنوياً ، حيث أن إضافة المخصب الحيوي بتركيز 3 و 6 مل / لتر عند كل تركيز من تراكيز الملوحة أدى إلى زيادة معنوية في الوزن الجاف الكلي للنبات مما يشير إلى أمكانية تحسين نمو النباتات المتعرضة للأجهادات الملحية بأستخدام المخصبات الحيوية التي أدت إلى تخفيف بعض التأثيرات الضارة في وزن الجاف الكلي للنبات ، فمثلاً التوليفة المكونة من 6 ديسي سيمنز / م ملوحة و 6 مل / لتر مخصب حيوي بلغ الوزن الجاف الكلي لنباتاتها7.865 غم / نبات مقارنة مع (6.614) غم / نبات عند التوليفة المكونة من 6 ديسي سيمنز / م ملوحة و 0 مل / لتر مخصب حيوي . هذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه كل من Hanafy وأخرون (1994) على نبات الحبة السوداء و Woitke وأخرون (2004) في دراستهم على نبات الطماطة .

جدول(12) . تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في الوزن الجاف الكلي لنبات عين البزون (غم/ نبات) .

المخصب الحيوي (مل / لتر) / تركيز الملوحة (ديسي سيمنز/م)	0	3	6	معدل تأثير الملوحة
0	7.663	8.378	8.893	8.311
6	6.614	7.175	7.865	7.218
9	5.157	5.507	5.518	5.394
12	3.575	3.821	3.942	3.779
معدل تأثير المخصب الحيوي	5.752	6.220	6.554	

قيمة أقل فرق معنوي المعدل (RLSD)عند تركيز 5% :

المخصب الحيوي	الملوحة	التداخل
0.130	0.143	0.283

تبين النتائج في الجدول (13) أن معاملة نبات عين البزون بمياه سقي ذات تراكيز متزايدة من الملوحة 0 إلى 12 ديسي سيمنز / م أدت إلى زيادة معنوية في مؤشر نسبة الوزن الجاف للمجموع الجذري / الوزن الجاف للمجموع الخضري حيث بلغ 0.177 للنباتات المروية

بالماء المقطر (معاملة المقارنة) ، بينما بلغ 0.183 و 0.189 و 0.203 عند تراكيز الملوحة 6 و 9 و 12 ديسي سيمنز / م ، على التوالي . هذه النتائج تتفق مع نتائج أرديني (2003) على نبات العصفر و Stoeva و Kaymakanava (2008) على نبات الفاصوليا .

المخصب الحيوي هو الأخر أدى إلى زيادة معنوية في نسبة الوزن الجاف للمجموع الجذري / الوزن الجاف للمجموع الخضري. حيث بلغ 0.179 و 0.187 و 0.198 ، على التوالي ، عند المعاملات 0 و 3 و 6 مل / لتر من المخصب الحيوي ، وهذه النتائج تتفق مع نتائج كل من Abdolzadeh وأخرون (2006) على نبات عين البزون .

التداخل المعنوي بين الملوحة والمخصب الحيوي يشير إلى انه عند كل تركيز من تراكيز الملوحة أدى استخدام المخصب الحيوي إلى زيادة معنوية في نسبة الوزن الجاف للمجموع الجذري / الوزن الجاف للمجموع الخضري مقارنة بعدم استخدام المخصب الحيوي فقد بلغ أعلى نسبة 0.208 عند توليفة مؤلفة من مخصب حيوي تركيزه 6 مل / لتر وملوحة تركيزها 12 ديسي سيمنز / م مقارنة مع معاملة المقارنة والتي بلغت 0.165 .

جدول(13) . تأثير الملوحة والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في نسبة الوزن الجاف للمجموع الجذري / الوزن الجاف للمجموع الخضري لنبات عين البزون .

المخصب الحيوي (مل / لتر) / تركيز الملوحة (ديسي سيمنز /م)	0	3	6	معدل تأثير الملوحة
0	0.165	0.178	0.187	0.177
6	0.175	0.181	0.193	0.183
9	0.176	0.188	0.203	0.189
12	0.198	0.202	0.208	0.203
معدل تأثير المخصب الحيوي	0.179	0.187	0.198	

قيمة أقل فرق معنوي المعدل (RLSD)عند تركيز 5% :

المخصب الحيوي	الملوحة	التداخل
0.008	0.011	0.017

يتضح من النتائج السابقة أن الملوحة قد سببت أنخفاضاً معنوياً في جميع مؤشرات النمو المدروسة ، حيث أنها سببت أنخفاضاً في أرتفاع النبات وقطر الساق ومعدل مساحة الورقة والذي يعود إلى التأثير السلبي للملوحة في انقسام واستطالة الخلايا من خلال تأثيرها في التفاعلات المؤدية إلى أنتاج مشجعات الانقسام كالاوكسينات Auxins و السايتوكاينينات Cytokinins والجبرلينات Gibberellins مؤدية إلى تحديد حجم وعدد الخلايا في الحزم الوعائية الناقلة والمتمثلة بالخشب واللحاء (أبو زيد ، 1990) ، كما لوحظ انه بزيادة تراكيز الملوحة في التربة تزداد فترة الانقسام الخيطي أو تثبط كليا مؤدية بذلك إلى تحديد في عدد الخلايا (Orcutt و Nilsen ، 2000) . كما أن امتصاص الأملاح قد يؤدي إلى زيادة تراكمها داخل أنسجة النبات بكميات تزيد عن حاجة النبات فتؤثر سلباً على العمليات الحيوية وهو ما يسمى بالتأثير السمي Toxic effect حيث أنها تؤدي إلى تغير في النشاطات الأنزيمية المؤدية إلى أستمرار التفاعلات الكيميائية المؤثرة في النمو وذلك بتثبيط عمل أنزيمات البناء وخاصة أنزيمات تصنيع البروتينات والكاربوهيدرات وأنزيمات دورة التحلل السكري (David و Nilsen ، 2000 و Tuteja ، 2005) ، إضافة إلى التأثير الغذائي Nutritional effect أذ تؤدي إلى اضطراب في التغذية المعدنية للنبات (الزبيدي ، 1989) . وقد يكون حصول حالة البلزمة plasmolysis للخلايا نتيجة تراكم أيوني الصوديوم Na^+ و الكلوريد Cl^- في المسافات البينية والجدران الخلوية apoplast ليؤدي إلى سحب الماء من فجوات وسايتوبلازم الخلايا إلى الخارج (بسبب انخفاض جهد الماء خارج الخلية) مما سبب تقليص حجم الخلايا وبالتالي نقص في أرتفاع و قطر الساق (Evers وآخرون ، 1999) . ومما يجدر ذكره أنه كل من Kawakami وآخرون (2006) لاحظوا بأن اختزال نمو الورقة تحت ظروف الشد الملحي العالي يعود نتيجة إلى أختزال طولي وعرضي في نمو الورقة ، و أنخفاض الضغط الانتفاخي Turgour pressure في خلايا الأوراق مما يسبب أنخفاض في تدفق الماء والعناصر الغذائية إليها ، وكذلك انتقال الهرمونات المشجعة للنمو من الجذور إلى باقي أجزاء النبات (David و Nilsen ، 2000) . أضف إلى إن مثل هذه الظروف من الملوحة يشجع النبات إلى أنتاج مثبطات النمو كالأبسيسيك والأثيلين اللذان يثبطان نمو وتوسع الأوراق من خلال غلق الثغور وقلة نفاذ CO_2 إلى الأوراق مما يقلل من إنتاج المواد الكاربوهيدراتية والمواد الضرورية لنمو الأوراق (Davis و Zhaug ، 1991) فتتحدد نتيجة لذلك المساحة الورقية .