



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة بغداد
كلية التربية للعلوم الصرفة ابن الهيثم
قسم علوم الحياة

دور فيتامين C وهرمون البراسينولايد في تحمل نبات الماش
(*Vigna radiata* L.) للاجهاد الملحي والنامي في
المزارع النسيجية والحقل

أطروحة مقدمة إلى
مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة- ابن الهيثم - جامعة بغداد
وهي جزء من متطلبات نيل درجة دكتوراه فلسفة علوم في علوم الحياة
علم النبات / زراعة انسجة

من قبل

حسن عبدالرزاق علي السعدي

(بكالوريوس علوم-علوم الحياة - جامعة بغداد 2002)

(ماجستير علوم-علوم الحياة- علم النبات- جامعة بغداد 2006)

بإشراف

ا.د. وفاق امجد محمد خالد القيسي

ر.ب.د. أخلاص عبد الكريم جاسم الكعبي

ايلول 2019 م

محرم 1441هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

((... وَعَلَّمَكَ مَا لَمْ تَكُن تَعْلَمُ
وَكَانَ فَضْلُ اللَّهِ عَلَيْكَ عَظِيمًا))

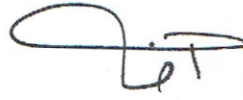
صدق الله العلي العظيم

سورة النساء:

من الآية ١١٣

اقرار المشرفين على الأطروحة

نشهد ان اعداد هذه الأطروحة قد جرى تحت اشرافنا في قسم علوم الحياة/كلية التربية للعلوم الصرفة
– ابن الهيثم/جامعة بغداد، وهي جزء من متطلبات نيل درجة الدكتوراه في علوم الحياة/علم النبات/ زراعة
انسجة.

التوقيع: 

الأسم: د.اخلاص عبدالكريم جاسم الكعبي

المرتبة العلمية: رئيس باحثين

التخصص الدقيق: زراعة انسجة

التاريخ: ١٤/١٢/٢٠١٩

التوقيع: 

الأسم: د.وفاق امجد محمد القيسي

المرتبة العلمية: أستاذ

التخصص الدقيق: فسلةجة نبات

التاريخ: ١٤/١٢/٢٠١٩

توصية رئيس قسم علوم الحياة

اشارة الى التوصية اعلاه ، ارشح هذه الأطروحة الى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها.

التوقيع: 


رئيس القسم: د. ثامر عبد الشهيد محسن

المرتبة: استاذ مساعد

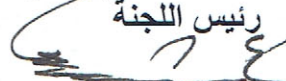
التاريخ: ١٥/١٢/٢٠١٩

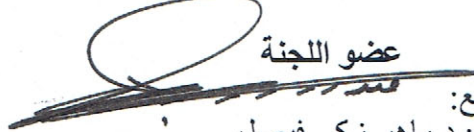
اقرار لجنة المناقشة

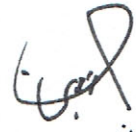
نحن اعضاء لجنة المناقشة الموقعين ادناه، نشهد اننا اطلعنا على الأطروحة الموسومة: دور فيتامين C وهرمون البراسينولايد في تحمل نبات الماش (*Vigna radiata L.*) للاجهاد الملحي والنامي في المزارع النسيجية والحقل المقدمة من قبل الطالب (حسن عبد الرزاق علي السعدي) وهي جزء من متطلبات نيل درجة الدكتوراه في علوم الحياة- علم النبات- زراعة انسجة وقد ناقشنا الطالب في محتوياتها وفيما له علاقة بها وذلك بتاريخ 2019/11/26 ووجدناها مستوفية لمتطلبات درجة الدكتوراه في العلوم وعليه نوصي بقبول الأطروحة بتقدير (امتياز).


التوقيع: 
الأسم: د. بهاء الدين مكي فيروز
المرتبة: استاذ
العنوان: كلية التربية الاساسية/ الجامعة المستنصرية


التاريخ: ٢٠١٩/١٤/١٤


التوقيع: 
الأسم: د. عباس جاسم حسين
المرتبة: استاذ متمرس
العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة (ابن الهيثم)/ جامعة بغداد
التاريخ: ٢٠١٩/١٤/١٤

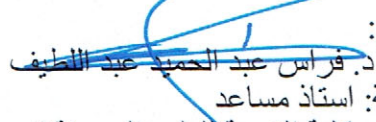
التوقيع: 
الأسم: د. ماهر زكي فيصل
المرتبة: استاذ مساعد
العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة (ابن الهيثم)/ جامعة بغداد
التاريخ: ٢٠١٩/١٤/١٤

التوقيع: 
الأسم: د. كاظم هاشم ياسين
المرتبة: استاذ
العنوان: كلية العلوم/ الجامعة المستنصرية
التاريخ: ٢٠١٩/١٤/١٤

التوقيع: 
الأسم: د. وفاق أمجد محمد خالد
المرتبة: استاذ
العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة (ابن الهيثم)/ جامعة بغداد
التاريخ: ٢٠١٩/١٤/١٤

التوقيع: 
الأسم: د. فاضل عليوي عطية
المرتبة: استاذ مساعد
العنوان: وزارة التربية/ المركز الوطني لتطوير المناهج والتقويم
التاريخ: ٢٠١٩/١٤/١٤

التوقيع: 
الأسم: د. اخلاص عبد الكريم جاسم
المرتبة: رئيس باحثين
العنوان: وزارة العلوم والتكنولوجيا/ دائرة البحوث الزراعية
التاريخ: ٢٠١٩/١٤/١٤
مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة- ابن الهيثم/ جامعة بغداد

التوقيع: 
الأسم: د. فراس عبد الحميد عبد اللطيف
المرتبة: استاذ مساعد
العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة (ابن الهيثم)/ جامعة بغداد
التاريخ: ٢٠١٩/١٤/١٥

الإهداء

إلى رسول المحبة والانسانية وخاتم النبيين مُحَمَّد وآله الأَطهار صلوات الله عليهم.
إلى من احتضنتها رحمةُ ربي.....روح والدتي زخليداً للذكرى.

إلى من أحمل اسمه فخراً طول حياتيوالدبي العزيز.

إلى من أشدُّد بهم أزرِي وأشركُهُم في أمرِي.....أخوتي وأخواتي.

إلى من أرى في وجهها إشراقَ الأمل وصدق المشاعر.....زوجتي الغالية.

إلى نور عيوني وامتدادِي في الحياة.....أولادِي (فاطمة - أمير. محمد).

إلى كل من أحب العراق موحداً.....تقديراً لهم.

✍

حسن

شكر وامتنان

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على سيدنا

محمد وعلى آله الميامين

أتقدم بخالص شكري وامتناني إلى أستاذتي الفاضلة الدكتورة وفاق امجد القيسي التي أشرفت على هذه اطروحة ولما أبدت من جهد في إبداء الملاحظات السديدة ومتابعتها المستمرة من أجل إخراج الاطروحة بهذا الشكل فجزاها الله خير الجزاء.

شكري الجزيل وامتناني الكبير الى الاستاذة الفاضلة الدكتورة اخلاص عبد الكريم الكعبي التي تفضلت بالاشراف المشترك على اطروحتي لما وجدته من الاحترام والتعاون وتذليل الصعاب التي اعترضت طريقي في مرحلة العملي وكتابة الاطروحة فجزاها الله خير الجزاء. ولا بد ان اشكر رئيس واعضاء لجنة المناقشة الكرام على تفضلهم وتكرمهم بالموافقة و المناقشة للاطروحة وإبداء آرائهم القيمة.

أود أن أسجل شكري وتقديري إلى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة(ابن الهيثم)/جامعة بغداد لتفضلهم في قبولي على شهادة الدكتوراه.

أتقدم بالشكر الخاص الى رئاسه واساتذته قسم علوم الحياة لاسيما ا.م.د. ثامر عبد الشهيد الابراهيمي لدعمه المتواصل لطلاب الدراسات العليا و ا.د. عباس جاسم الساعدي الذي لم يتردد لحظة في تقديم المساعدة طيلة مدة البحث.

تحيةً ملؤها الاحترام والتقدير إلى منتسبي مختبر الزراعة النسيجية/دائرة البحوث الزراعية / وزارة العلوم والتكنولوجيا في توفير مستلزمات العمل وتذليل الصعاب واخص منهم الاخوات جنان واشواق وفرح ووفاء.

أقدم محبتي واحترامي إلى زملائي طلبة الدراسات العليا الذين أكملوا المشوار معي. كما لا يفوتني واجب الوفاء أن أشكر رئاسة الجامعة المستنصرية وعمادة كلية العلوم لتفضلهم باعطائي الاجازة الدراسية لاكمال شهادة الدكتوراه.

كثير القطوف بليغ الاثر

وخير الكلام قليل الحروف

الباحث

الخلاصة

نفذت التجربة النسيجية في مختبر الزراعة النسيجية العائد لقسم الهندسة الوراثية / دائرة البحوث الزراعية / وزارة العلوم والتكنولوجيا حسب تصميم التام التعشيرية، كما نفذت التجربة الحقلية في كلية التربية للعلوم الصرفة (ابن الهيثم) / جامعة بغداد للموسم الزراعي 2018 حسب اسلصميم القطاعات العشوائية الكاملة بهدف دراسة تاثير تراكيز كلوريد الصوديوم NaCl و الفيتامين C وهرمون البراسينولايد على نبات الماش (*Vigna radiata L.*).

شملت تجربة زراعة الانسجة تعقيم البذور واختيار الجزء النباتي المناسب لحث الكالس ضمن توليفات هرمونية مختلفة، ودراسة بعض مؤشرات الكالس وتقدير المادة الفعالة فيه، فضلا عن الاخلاف والتجذير ثم الاقلمة. اظهرت النتائج كالآتي:

1- ان تعقيم البذور قد تحقق باستعمال 70% كحول اثيلي لمدة 30 ثانية متبوعا بـ 2% NaOCl لمدة 15 دقيقة.

2- تفوق السويقتين الجنينيتين العليا (Epicotyle) والسفلى (Hypocotyl) في اعطاء اعلى نسبة لاستحثاث الكالس عند التوليفة الهرمونية 0.5 ملغم. لتر⁻¹ من NAA + 2.0 ملغم. لتر⁻¹ من BA.

3- ان الكالس المزروع في وسط Murashige and Skoog (MS) المضاف اليه تراكيز NaCl (6، 9، 12، 15) ديسيمنز.م⁻¹ انخفض تدريجيا ومعنويا في مؤشرات المدروسة (الوزنين الطري والجاف، دليل تحمل الاجهاد الملحي، معدلي النمو المطلق والنسبي، استدامة الكتلة الحيوية، محتوى العناصر (Mg، Ca، K، P، N) ونسبة البروتين) لاسيما في التركيز 15 ديسيمنز.م⁻¹ وبنسبة (52.41، 55.91، 55.91، 55.91، 79.84، 79.78، 38.51، 68.95، 54.21، 65.63، 57.21، 71.90، 29.51)% بالتتابع، وزيادة معنوية في النضج الالكترووليتي النسبي ومحتوى الصوديوم والكلور وتركيز البرولين وبنسبة (43.21، 41.48، 37.09، 333.67)% بالتتابع قياسا بالتركيز 6 ديسيمنز.م⁻¹.

4- لوحظ ان تراكيز فيتامين C (0، 20، 40) ملغم. لتر⁻¹ وهرمون البراسينولايد (0، 0.02، 0.04) ملغم. لتر⁻¹ سببت زيادة في مؤشرات الكالس اعلاه لاسيما التركيزين 40 ملغم. لتر⁻¹ و 0.04 ملغم. لتر⁻¹ من الفيتامين والهرمون بالتتابع.

5- لوحظ ان التداخلات الثنائية والثلاثية بين عوامل الدراسة الثلاث مؤثرة بصورة معنوية، واعطت التوليفة المركبة من 40 ملغم. لتر⁻¹ فيتامين C و 0.02 ملغم. لتر⁻¹ براسينولايد افضل معالجة لاضرار الاجهاد الملحي لاسيما في التركيز الملحي 15 ديسيمنز.م⁻¹.

6- اخلفت النباتات الناتجة من الكالس المعامل بالتراكيز الملحية (6، 9، 12) ديسيمنز م⁻¹ على وسط MS مضافا اليه ثلاثة انواع من التوليفات الهرمونية المختلفة (0.2TDZ، 1.01ZE، 5BAP+20Ads) ملغم. لتر⁻¹، ومن ثم حثها للتجدير باستعمال 1 ملغم. لتر⁻¹ من حامض اندول بيوترك (IBA)، واقلمتها و زراعتها في اصص في البيت البلاستيكي وقورنت مع النباتات المستنبته من البذور النامية في وسط MS في بعض مؤشرات النمو (ارتفاع النبات، المساحة الورقية، عدد الافرع، الوزن الجاف، محتوى الكلوروفيل) و مكونات الحاصل (عدد القرنتات، عدد البذور في القرنة، وزن 100 بذرة).

7- تقييم الاداء الحقل للنباتات الناتجة من الكالس المعرض لاجهاد الملحي، مع تفوق النباتات الناتجة من التركيز 6 ديسيمنز م⁻¹ في معظم الصفات المدروسة.

اعتمد مؤشر التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال لسلسله الدنا للكشف عن التغيرات الوراثية للنباتات الناتجة من الكالس المعرض للاجهاد الملحي بتراكيزه المختلفة. اظهرت نتائج الدراسة الجزيئية ان مؤشر التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال لسلسله الدنا وجود تغاير وراثي استناداً الى عدد وحجم الحزم المتضاعفة.

شملت التجربة الحقلية دراسه استعمال مياه مالحة (كلوريد الصوديوم) بتراكيز (5.5، 10، 15) ديسيمنز م⁻¹، فضلا عن معاملة السيطرة 0.9 ديسيمنز م⁻¹ (ماء حنفيه) فضلا عن الرش بتراكيز فيتامين C (0، 60، 120) ملغم. لتر⁻¹ وهرمون البراسينولايد (0، 2، 4) ملغم. لتر⁻¹ وتداخلهما في تاثير بعض المؤشرات المظهرية والفسولوجية والنمو الزهري و مكونات الحاصل والمواد الفعالة و اظهرت النتائج كالاتي:

1- انخفضت المؤشرات المدروسة (ارتفاع النبات، المساحة الورقية، عدد الافرع، الوزن الجاف، محتوى الكلوروفيل، نسبة الكربوهيدرات، عدد النورات الزهرية، عدد الازهار، عدد القرنتات، عدد البذور في القرنة، وزن 100 بذرة، حاصل البذور، نسبة البروتين في البذور) معنويا بزياده التراكيز الملحية لاسيما في التركيز 15 ديسيمنز م⁻¹ قياسا بمعاملة السيطرة وبنسبة (31.09، 23.88، 49.74، 33.61، 25.49، 38.82، 36.50، 35.20، 37.09، 23.28، 32.86، 29.40، 26.18) % بالتتابع، بينما ظهرت الزيادة المعنوية في مضادات الاكسدة الانزيمية (الكاتيليز و البيروكسيديز) وغير الانزيمية (البرولين، حامض السالسليك، فيتامين C، الفاتكوفيرول) وبنسبة (124.22، 123.03، 83.01، 282.87، 29.04، 13.10) % بالتتابع.

- 2- ادى الرش بالفيتامين C لاسيما التركيز 120 ملغم.لتر¹ وهرمون البراسينولايد لاسيما التركيز 4 ملغم.لتر¹ الى زيادة معنوية في جميع الصفات والمضادات الاكسدة الانزيمية وغير الانزيمية اعلاه.
- 3- اظهرت نتائج التداخل الثنائي والثلاثي بين عوامل الدراسة مؤثرة بصورة معنوية في الصفات المدروسة ومضادات الاكسدة مع تفوق النباتات المروية بماء الحنفية و المرشوشة بتركيزين من الفيتامين والهرمون (2 و 120) ملغم.لتر¹ بالتتابع عن النباتات الاخرى، في حين كانت اقل القيم في النباتات المروية بالتركيز الملحي 15ديسيسمنز.م¹ وغير المرشوشة بالفيتامين والهرمون، فيما ساهمت عملية الرش بالفيتامين والهرمون بأختزال الاثار السلبية للاجهاد الملحي لاسيما في التراكيز العالية لكلا العاملين اعلاه، مع وجود تآزر بين فيتامينC وهرمون البراسينولايد في معظم المؤشرات المدروسة.
- 4- استعمل جهاز الكرموتوغرافيا السائل العالي الاداء للكشف عن المواد الفعالة الموجودة في كالس وبنذور الماش، اظهرت النتائج تفوق المعاملة المولفة من 15ديسيسمنز.م¹ و 40ملغم.لتر¹ فيتامينC و0.04ملغم.لتر¹ براسينولايد للكالس والمعاملة المولفة من 15 ديسيسمنز.م¹ و120ملغم.لتر¹ فيتامينC و4ملغم.لتر¹ براسينولايد للبنذور في معظم المواد الفعالة.

قائمة المحتويات

الصفحة	الموضوع	التسلسل
	الفصل الاول	
1	المقدمة	1
	الفصل الثاني	
4	استعراض المراجع	2
4	نبات الماش Mung bean	1-2
4	ألسماء الشائعة لنبات الماش	1-1-2
4	التصنيف النباتي	2-1-2
4	الموطن والانتشار	3-1-2
5	الوصف المظهري لنبات الماش وظروف زراعته	4-1-2
6	المحتوى الكيمائي والماده الفعالة في نبات الماش	5-1-2
9	الاهميه الغذائية لنبات الماش وقيمه الطبيه	6-1-2
10	تقانة زراعة الأنسجة النباتية	2-2
11	تعقيم الأجزاء النباتية	1-2-2
12	استحثاث الكالس	2-2-2
13	تأثير الاوكسين والسايٲوكينين في استحثاث الكالس	1-2-2-2
15	إدامة الكالس	3-2-2
15	تطبيقات مزارع انسجة الكالس	4-2-2
15	مراحل الاكثار الدقيق	5-2-2
17	الثبات الوراثي في النباتات الناتجة خارج الجسم الحي	6-2-2
18	مفهوم الاجهاد	3-2
19	الاجهاد الملحي	1-3-2
20	الاجهاد التأكسدي	2-3-2
20	مواقع توليد الجذور الحرة	3-3-2
21	آليات تحمل الاجهاد الملحي	4-3-2
28	البراسينوستيرويدات (BRs) Brassinosteroids	4-2
29	البناء الحيوي للبراسينوستيرويدات	1-4-2
30	الوظائف الفسيولوجية للبراسينوستيرويدات	4-2-2
31	تأثير الاجهاد الملحي في نمو الكالس	5-2
32	تأثير الاجهاد الملحي في نمو النباتات في ظروف الحقل	6-2
33	دور فيتامين C وهرمون البراسينولايد في معالجة الاجهاد الملحي	7-2
35	المؤشرات الجزيئية	8-2
36	مؤشرات الـDNA ذات التضاعف العشوائي	1-8-2
36	تقانة تفاعل البلمرة المتسلسل	9-2

الصفحة	الموضوع	التسلسل
	الفصل الثالث	
38	المواد وطرائق العمل	3
38	التجربة النسيجية	1-3
38	الوسط الغذائي	1-1-3
39	تعقيم الأجهزة والأدوات	2-1-3
39	تعقيم منضدة سريان الهواء الطبقي	1-2-1-3
39	تعقيم الميزان	2-2-1-3
39	تعقيم أدوات العمل	3-2-1-3
39	التعقيم السطحي للبذور وزراعتها	4-2-1-3
40	استحثاث الكالس من الاجزاء النباتية المختلفة لبادرات نبات الماش	3-1-3
42	إدامة الكالس	4-1-3
42	معاملات تجربة الزراعة النسيجية	5-1-3
42	المؤشرات المدروسة في الكالس	6-1-3
42	الوزن الطري (ملغم)	1-6-1-3
42	الوزن الجاف (ملغم)	2-6-1-3
42	دليل تحمل الاجهاد الملحي (%)	3-6-1-3
43	معدل النمو المطلق (ملغم.يوم ⁻¹)	4-6-1-3
43	معدل النمو النسبي (%)	5-6-1-3
43	استدامة الكتلة الحيوية (ملغم.يوم)	6-6-1-3
43	النضج الالكتروليتي النسبي (%)	7-6-1-3
43	محتوى بعض العناصر (مايكروغرام.غم ⁻¹)	8-6-1-3
44	نسبة البروتين (%)	9-6-1-3
44	تركيز البرولين (مايكروغرام.غم ⁻¹)	10-6-1-3
45	المواد الفعالة في الكالس (مايكروغرام.مل ⁻¹)	7-1-3
47	طريقة استخلاص المواد الفعالة	1-7-1-3
47	اخلاف النباتات	8-1-3
48	تجذير الافرع العرضية المتمايضة	9-1-3
48	الاقلمة	10-1-3
49	ظروف الزراعة في البيت البلاستيكي	11-1-3
50	مؤشرات النمو المدروسة	12-1-3
50	مكونات الحاصل	13-1-3
51	الدراسة الجزيئية	2-3
51	استخلاص الحامض النووي DNA	1-2-3
51	قياس تركيز الحامض النووي DNA	2-2-3

الصفحة	الموضوع	التسلسل
52	تحضير تفاعلات التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال	3-2-3
53	طريقة عمل تفاعلات التضاعف العشوائي المتسلسل	4-2-3
54	تحضير هلام الاكاروز	5-2-3
54	عملية الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز	6-2-3
55	تحليل نتائج مؤشرات الـ RAPD	7-2-3
55	التجربة الحقلية	3-3
55	تحضير التربة وتهيئتها وتصميم التجربة	1-3-3
56	المعاملات المستعملة في التجربة	2-3-3
57	تحضير عوامل الدراسة	3-3-3
57	الزراعة وخدمة المحصول	4-3-3
59	المؤشرات المظهرية والفسلجية المدروسة	5-3-3
59	ارتفاع النبات(سم)	1-5-3-3
59	المساحة الورقية(دسم ²)	2-5-3-3
59	عدد الافرع(فرع.نبات ⁻¹)	3-5-3-3
59	الوزن الجاف(غم)	4-5-3-3
59	محتوى الكلوروفيل الكلي في الاوراق(وحدة SPAD)	5-5-3-3
59	تركيز الكربوهيدرات(%)	6-5-3-3
59	تركيز حامض البرولين (مايكروغرام.غم ⁻¹ وزن طري)	7-5-3-3
59	تركيز حامض الساليسليك(مايكروغرام.مل ⁻¹)	8-5-3-3
60	تركيز فيتامينC(ملغم.100غم ⁻¹)	9-5-3-3
61	تركيز الفاتوكوفيرول(مايكروغرام.غرام ⁻¹)	10-5-3-3
61	تقدير فعالية الإنزيمات المضادة للأكسدة(وحدة.مل ⁻¹)	11-5-3-3
61	تقدير فعالية إنزيم الكاتليز	1-11-5-3-3
62	تقدير فعالية إنزيم البيروكسيداز	2-11-5-3-3
63	مؤشرات النمو الزهري	6-3-3
63	عدد النورات الزهرية(نورة.نبات ⁻¹)	1-6-3-3
63	عدد الأزهار(زهرة.نبات ⁻¹)	2-6-3-3
63	صفات الحاصل(الكمية والنوعية)	7-3-3
63	عدد القرينات(قرنة.نبات ⁻¹)	1-7-3-3
63	عدد البذور في القرنة الواحدة(بذرة.قرنة ⁻¹)	2-7-3-3
63	وزن 100بذرة(غم)	3-7-3-3
63	حاصل البذور(غم.م ⁻¹)	4-7-3-3
63	نسبة البروتين(%) في البذور	5-7-3-3
63	المواد الفعالة في البذور(مايكروغرام.مل ⁻¹)	8-3-3
65	التحليل الاحصائي	4-3

الصفحة	الموضوع	التسلسل
	الفصل الرابع	
66	النتائج والمناقشة	4
66	تجربة الزراعة النسيجية	1-4
66	تأثير تراكيز مختلفة من هاييوكلورات الصوديوم ومدة التعقيم في النسبة المئوية (%) لتلوث وانبات بذور نبات الماش	1-1-4
67	تأثير التوليفات الهرمونية (NAA و BA) في نسبة (%) استحداث الكالس من الاجزاء النباتية المختلفة لبادرات نبات الماش	2-1-4
68	تأثير التوليفات الهرمونية (IAA و KINT) في نسبة (%) استحداث الكالس من الاجزاء النباتية المختلفة لبادرات نبات الماش	3-1-4
72	دور فيتامين C و هرمون البراسينولايد في بعض المؤشرات المدروسة لكالس نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	4-1-4
72	الوزن الطري (ملغم)	1-4-1-4
74	الوزن الجاف (ملغم)	2-4-1-4
76	دليل تحمل الاجهاد الملحي (%)	3-4-1-4
78	معدل النمو المطلق (ملغم.يوم ⁻¹)	4-4-1-4
80	معدل النمو النسبي (%)	5-4-1-4
81	استدامة الكتلة الحيوية (ملغم.يوم)	6-4-1-4
87	النضج الالكتروليتي النسبي (%)	7-4-1-4
88	محتوى عنصر النتروجين (مايكرو غرام.غم ⁻¹)	8-4-1-4
90	محتوى عنصر الفسفور (مايكرو غرام.غم ⁻¹)	9-4-1-4
92	محتوى عنصر البوتاسيوم (مايكرو غرام.غم ⁻¹)	10-4-1-4
94	محتوى عنصر الكالسيوم (مايكرو غرام.غم ⁻¹)	11-4-1-4
96	محتوى عنصر المغنسيوم (مايكرو غرام.غم ⁻¹)	12-4-1-4
99	محتوى عنصر الصوديوم (مايكرو غرام.غم ⁻¹)	13-4-1-4
101	محتوى عنصر الكلور (مايكرو غرام.غم ⁻¹)	14-4-1-4
104	نسبة البروتين (%)	15-4-1-4
106	تركيز البرولين (مايكرو غرام.غم ⁻¹)	16-4-1-4
109	تأثير فيتامين C و هرمون البراسينولايد في تركيز المواد الفعالة (مايكرو غرام.مل ⁻¹) للكالس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	5-1-4
111	تأثير مستويات كلوريد الصوديوم في نسبة الاخلاف (%) للنباتات من كالس نبات الماش المزروع على معاملات هرمونية مختلفة	6-1-4
112	تأثير مستويات كلوريد الصوديوم في عدد الافرع العرضية (فرع) من كالس نبات الماش المزروع على معاملات هرمونية مختلفة	7-1-4

الصفحة	الموضوع	التسلسل
115	عملية التجذير	8-1-4
115	عملية الاقلمة	9-1-4
115	مؤشرات النمو ومكونات الحاصل بين النباتات الناتجة من البذور والكالس المعرض بالمستويات الملحية في ظروف البيت البلاستيكي	10-1-4
117	الدراسة الجزيئية	2-4
117	تفاعلات التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال	1-2-4
120	عدد الحزم في معاملات الدراسة بأختلاف نوع البادئ	2-2-4
121	البوادئ المستعملة والحزم الناتجة ونسبة التعددية الشكلية والقدرة التمييزية وكفائتها	3-2-4
122	التجربة الحقلية	3-4
122	دور رش فيتامين C وهرمون البراسينولايد في بعض مؤشرات النمو الخضري لنبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	1-3-4
122	ارتفاع النبات (سم)	1-3-3-4
125	المساحة الورقية (دسم ²)	2-1-3-4
128	عدد الافرع (فرع نبات ⁻¹)	3-1-3-4
130	الوزن الجاف (غم)	4-1-3-4
132	دور رش فيتامين C وهرمون البراسينولايد في بعض المؤشرات الفسلجية لنبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	2-3-4
132	محتوى الكلوروفيل الكلي (وحدة SPAD)	1-2-3-4
135	نسبة الكاربوهيدرات (%) في المجموع الخضري	2-2-3-4
137	تركيز حامض البرولين (مايكروغرام.غم ⁻¹)	3-2-3-4
139	تركيز حامض السالسيلك (مايكروغرام.مل ⁻¹)	4-2-3-4
142	تركيز فيتامين C (ملغم.100غم ⁻¹)	5-2-3-4
144	تركيز الفاتكوفيرول (مايكروغرام.غم ⁻¹)	6-2-3-4
146	فعالية إنزيم الكاتليز (وحدة.مل ⁻¹)	7-2-3-4
148	تركيز إنزيم البيروكسيديز (وحدة.مل ⁻¹)	8-2-3-4
150	دور رش فيتامين C وهرمون البراسينولايد في بعض مؤشرات النمو الزهري لنبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	3-3-4
150	عدد النورات (نورة.نبات ⁻¹)	1-3-3-4
153	عدد الازهار (زهرة.نبات ⁻¹)	2-3-3-4
155	دور رش فيتامين C وهرمون البراسينولايد في بعض مكونات الحاصل (الكمية والنوعية) لنبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	4-3-4
155	عدد القرنات (قرنة.نبات ⁻¹)	1-4-3-4
157	عدد البذور في القرنة (بذرة.قرنة ⁻¹)	2-4-3-4

الصفحة	الموضوع	التسلسل
160	وزن 100 بذرة (غم)	3-4-3-4
162	حاصل البذور (غم)	4-4-3-4
164	نسبة البروتين (%) في البذور	5-4-3-4
167	دور رش فيتامين C وهرمون البراسينولايد في تركيز بعض المواد الفعالة (مايكروغرام.مل ⁻¹) في بذور نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	5-3-4
169	الاستنتاجات والتوصيات	
171	المصادر العربية	
174	المصادر الاجنبية	
202	الملاحق	

قائمة الجداول

الصفحة	عنوان الجدول	رقم الجدول
4	اسماء نبات الماش في بعض اللغات المختلفة	1
19	تصنيف نوعية المياه وفق تركيز الاملاح	2
19	تأثير الاجهاد الملحي في نمو النبات عبر الزمن	3
38	الأملاح اللاعضوية في وسط MS	4
39	المركبات العضوية في وسط MS	5
41	التوليفات الهرمونية في استحثاث الكالس	6
45	ظروف الفصل في جهاز HPLC	7
46	المركبات القياسية 11 وبعض مواصفاتها بتركيز 25 مايكروغرام.مل ⁻¹	8
50	بعض الصفات الكيميائية والفيزيائية لتربة تجربة البيت البلاستيكي	9
52	التسلسل النيوكليوتيدي للبوادئ المستعملة في تقنية PCR- RAPD	10
53	مكونات محلول Master Mix	11
53	مكونات مزيج تفاعل PCR- RAPD	12
53	برنامج تفاعل الـ PCR- RAPD	13
56	بعض الصفات الكيميائية والفيزيائية لتربة الحقل	14
57	بعض التحاليل الكيميائية لماء الحنفية المستعمل في التجربة الحقلية	15
64	المركبات القياسية 11 وبعض مواصفاتها بتركيز 25 مايكروغرام.مل ⁻¹	16
66	تأثير تراكيث هايبوكلورات الصوديوم ومدة التعقيم في النسبة المئوية (%) لتلوث وانبات بذور نبات الماش	17
67	تأثير التوليفات الهرمونية المختلفة من (BA وNAA) والجزء النباتي في نسبة (%) استحثاث الكالس لبادرات نبات الماش	18
68	تأثير التوليفات الهرمونية المختلفة من (KINT و IAA) والجزء النباتي في نسبة (%) استحثاث الكالس لبادرات نبات الماش	19
70	حجم ولون وشكل الكالس لنبات الماش بتوليفات هرمونية مختلفة	20
73	دور تراكيث فيتامين C وهرمون البراسينولايد في الوزن الطري (ملغم) للكالس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	21
75	دور تراكيث فيتامين C وهرمون البراسينولايد في الوزن الجاف (ملغم) للكالس في نبات الماش للاجهاد الملحي	22
77	دور تراكيث فيتامين C وهرمون البراسينولايد في دليل تحمل الاجهاد الملحي (%) للكالس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	23
79	دور تراكيث فيتامين C وهرمون البراسينولايد في معدل النمو المطلق (ملغم.يوم ⁻¹) للكالس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	24
81	دور تراكيث فيتامين C وهرمون البراسينولايد في معدل النمو النسبي (%) للكالس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	25

رقم الجدول	عنوان الجدول	الصفحة
26	دور تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في استدامة الكتلة الحيوية (ملغم.يوم) للكالس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	82
27	دور تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في النضح الالكتروليتي النسبي (%) للكالس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	88
28	دور تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في محتوى عنصر النتروجين (مايكرو غرام.غم ⁻¹) للكالس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	90
29	دور تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في محتوى عنصر الفسفور (مايكرو غرام.غم ⁻¹) لكالس نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	91
30	دور تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في محتوى عنصر البوتاسيوم (مايكرو غرام.غم ⁻¹) للكالس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	93
31	دور تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في محتوى عنصر الكالسيوم (مايكرو غرام.غم ⁻¹) للكالس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	95
32	دور تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في محتوى عنصر المغنسيوم (مايكرو غرام.غم ⁻¹) للكالس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	97
33	دور تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في محتوى عنصر الصوديوم (مايكرو غرام.غم ⁻¹) للكالس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	100
34	دور تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في محتوى عنصر الكلور (مايكرو غرام.غم ⁻¹) للكالس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	102
35	دور تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في نسبة البروتين (%) للكالس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	105
36	دور تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في تركيز البرولين (مايكرو غرام.غم ⁻¹) للكالس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	107
37	دور تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في تركيز المادة الفعالة (مايكرو غرام.مل ⁻¹) للكالس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	110

رقم الجدول	عنوان الجدول	الصفحة
38	تأثير تراكيز كلوريد الصوديوم في نسبة الاخلاف (%) للنباتات الناتجة من كالس نبات الماش المزروع على معاملات هرمونية مختلفة	112
39	تأثير تراكيز كلوريد الصوديوم في عدد الافرع العرضية (فرع) للنباتات الناتجة من كالس نبات الماش المزروع على معاملات هرمونية مختلفة	113
40	تأثير مصدر الزراعة النسيجية (بذور وكالس) في بعض مؤشرات النمو ومكونات الحاصل في نبات الماش	116
41	عدد الحزم الناتجة وإحجامها الجزيئية (bp) لعينات الدنا باستخدام البادئ OP-F07	117
42	عدد الحزم الناتجة وإحجامها الجزيئية (bp) لعينات الدنا باستخدام البادئ OP-G02	118
43	عدد الحزم الناتجة وإحجامها الجزيئية (bp) لعينات الدنا باستخدام البادئ OP-G03	119
44	عدد الحزم في معاملات الدراسة بأختلاف نوع البادئ	120
45	البوادئ المستعملة والحزم الناتجة ونسبة التعددية والقدرة التمييزية وكفائتها	121
46	دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في ارتفاع النبات (سم) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	124
47	دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في المساحة الورقية (دسم ²) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	126
48	دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في عدد الافرع (فرع.نبات ⁻¹) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	129
49	دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في الوزن الجاف (غم) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	131
50	دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في محتوى الكلوروفيل الكلي (وحدة SPAD) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	134
51	دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في تركيز الكربوهيدرات (%) في المجموع الخضري في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	136
52	دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في تركيز البرولين (مايكروغرام.غم ⁻¹) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	139
53	دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في تركيز حامض السالسليك (مايكروغرام.مل ⁻¹) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	141

الصفحة	عنوان الجدول	رقم الجدول
143	دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في تركيز فيتامين C (ملغم. 100غم ⁻¹) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	54
145	دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في تركيز الفاتكوفيرول (مايكروغرام. غم ⁻¹) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	55
147	دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في فعالية انزيم الكاتليز (وحدة. مل ⁻¹) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	56
149	دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في فعالية انزيم البيروكسيديز (وحدة. مل ⁻¹) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	57
152	دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في عدد النورات (نورة. نبات ⁻¹) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	58
154	دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في عدد الازهار (زهرة. نبات ⁻¹) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	59
156	دور رش وتراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في عدد القرينات (قرنة. نبات ⁻¹) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	60
159	دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في عدد البذور في القرنة (بذرة. قرنة ⁻¹) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	61
161	دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في وزن 100 بذرة (غم) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	62
164	دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في حاصل البذور (غم) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	63
166	دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في تركيز البروتين (%) في بذور نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	64
168	دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في تركيز المادة الفعالة (مايكروغرام. مل ⁻¹) في بذور نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي	65

قائمة الأشكال

الصفحة	عنوان الشكل	رقم الشكل
5	الاجزاء المظهرية لنبات الماش(الورقة، الزهرة، البذور، القرنات)	1
6	المسالك الايضية المنتجة للمركبات الثانوية	2
8	مجاميع الفلافونويدات	3
13	مراحل نمو الكالس	4
18	انواع الشدود اللاأحيائية المؤثرة في النبات	5
20	انواع الأوكسجين الفعال	6
24	تحولات حامض الاسكوريك	7
25	البناء الحيوي لحامض الاسكوريك	8
26	تحويل حامض الكلوتامين الى حامض البرولين	9
27	التركيب الكيميائي لحامض السالسيلك	10
28	التركيب الكيميائي الفاتوكوفيرول	11
29	التركيب الكيميائي للمركب Brassinolide	12
30	البناء الحيوي لمركب Brassinolide	13
40	البذور المعقمة من نبات الماش	14
40	بادرات نبات الماش بعد مرور سبعة أيام من الانبات	15
41	الاجزاء النباتية المستأصلة من بادرات نبات الماش	16
46	منحني النموذج القياسي للمواد الفعالة في كالس نبات الماش باستعمال جهاز HPLC	17
48	اقلمة النبيئات الناتجة من الكالس المعامل بالتراكيز الملحية(6، 9، 12) ديسيمنز.م ¹⁻ من اليمين الى اليسار	18
49	النبيئات الناتجة من البذور (نسيجيا) والكالس في ظروف البيت البلاستيكي	19
52	جهاز Quantus Fluorometer لقياس تركيز DNA	20
56	تصميم التجربة في الحقل قبل الزراعة	21
57	نمو بادرات نبات الماش بعمر سبعة ايام في الوحدة التجريبية الواحدة	22
58	نمو نبات الماش بعمر 25 يوما قبل اضافة معاملات التجربة	23
58	نمو نبات الماش بعمر 50 يوما بعد اضافة معاملات التجربة ووقت اخذ العينات	24
65	منحني النموذج القياسي للمواد الفعالة في بذور نبات الماش باستعمال جهاز HPLC	25
71	اشكال متنوعة للكالس لأجزاء نبات الماش وضمن التوليفات الهرمونية المختلفة	26
84	شكل وحجم ولون الكالس لنبات الماش تحت تركيز 15 ديسيمنز.م ¹⁻	27

الصفحة	عنوان الشكل	رقم الشكل
85	شكل وحجم ولون الكالس لنبات الماش تحت تركيز 9ديسيمنز.م ¹⁻	28
86	شكل وحجم ولون الكالس لنبات الماش تحت تركيز 15ديسيمنز.م ¹⁻ و تركيزين (0.02 + 40) ملغم.لتر ¹⁻ من الفيتامين والهرمون بالتتابع	29
113	الافرع العرضية في معاملة التداخل (5BAP+20Ads) ملغم.لتر ¹⁻ وضمن التركيز 6ديسيمنز.م ¹⁻	30
114	الافرع العرضية في المعاملات الهرمونية (1.01ZE، 0.2TDZ، 5BAP+20Ads) ملغم.لتر ¹⁻ من اليمين الى اليسار وضمن التركيز 12ديسيمنز.م ¹⁻	31
118	البادئ OP-F07	32
119	البادئ OP-G02	33
120	البادئ OP-G03	34

قائمة الملاحق

الصفحة	عنوان الملحق	رقم الملحق
202	الصيغ التركيبية لبعض المواد الفعالة في نبات الماش	1
203	العوامل المناخية لمدينة بغداد خلال الاشهر الاربعة للموسم 2018 في التجربة الحقلية (شبكة الارصاد الجوية الزراعية العراقية/ وزارة الزراعة).	2

الفصل الاول

المقدمة

يعد نبات الماش [*Vigna radiata* (L.)Wilczek syn. *Phaseolus mungo*] من المحاصيل الصيفية، الذي ينتمي الى العائلة البقولية (Fabaceae Lambrides and Godwin, 2007)، المنتشر زراعته في مختلف مناطق العالم لاسيما المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية، اذ قدرت مساحته المزروعة في العالم 5.5 مليون هكتار وبأنتاجية وصلت 2.5-3 طن. ه⁻¹ و عدت الهند وبنغلادش والصين وتايلاند من اكثر الدول انتاجا لهذا المحصول (Kole,2011)، فيما تبرز اهميته في التغذية البشرية الى احتواء بذوره على تركيز عالٍ من البروتين يتراوح بين 20-29 % (الغنيه بالحامض الاميني اللايسين) ومركبات اخرى كالكاربوهيدرات والزيوت والفيتامينات ومركبات ثانوية متعددة، كذلك تستخدم اوراقه الجافه علفاً للحيوانات لاحتوائها على بروتين يتراوح بين 13 الى 21% (Pataczek *et al.*,2018).

اصبحت مشكلة قلة الانتاج الزراعي من المشاكل الاساسية لدى الانسان بسبب التغيرات البيئية السلبية وزيادة النمو السكاني والزحف باتجاه المناطق الزراعية لاسيما في الدول النامية، وبموجب الباحثين العاملين في منظمة الاغذية والزراعة الدولية FAO فان الانتاج الزراعي يرفع الى 70% تلبية لحاجة 2.3 مليار نسمة اضافية في عدد سكان العالم بحلول عام 2050، لذلك وجب زيادة الانتاج الزراعي ليواجه النمو السكاني المتزايد، وان من اهم الاسباب في انخفاض الانتاج الزراعي في العراق هو انتشار ظاهرة التملح في اراضيه، اذ قدرت مساحة اراضيه المتأثرة بالملوحة بحوالي 14% (FAO,2009).

تحتوي التربة على نسب مختلفة من الاملاح واكثرها سيادة هو ملح كلوريد الصوديوم NaCl، ويحتل ايون الصوديوم Na⁺ المرتبة الثانية في مياه المحيطات بتركيز 470مليمول و المرتبة السادسة في القشرة الارضية بنسبة 2.6% (Epstein and Bloom,2005)، كذلك يعد الايون المفيد لبعض النباتات المتحملة للملوحة Halophyte وغير المفيد للنباتات غير المتحملة للملوحة Glycophyte، اذ يتنافس مع ايون البوتاسيوم K⁺ على مواقع الامتصاص وله دور تخريبي في بناء الاغشية الخلوية لمزاحمته لأيون الكالسيوم Ca⁺² (Turan *et al.*,2009). تبرز مخاطر الملوحة في النبات نتيجة لتولد الاجهاد الايوني العالي Hyperionic والاجهاد الازموزي العالي Hyperosmotic مؤديه الى تعطيل الايض Metabolic Dysfunction وأضرار في

الاعشبية الخلوية وخلل في توازن المغذيات، يتبعه تصلب في جدران خلايا النبات ومن ثم موتها (Al-Hattab,2018).

لقد اصبحت زيادة المادة الفعالة في نبات معين حقلنا عائقا لعدة اسباب منها طول المدة الزمنية الكافية للنمو والنضج(موسم النمو) والمساحة الكبيرة، فضلا عن تعرض النبات للعديد من العوامل الاحيائية كالآفات والامراض والعوامل اللاأحيائية كالاجهادات البيئية(الملوحة، الجفاف، الحرارة والمعادن الثقيلة) المؤثرة سلبا في نمو النبات وحاصله، ومن ثم كمية ونوعية المادة الفعالة المنتجة(Ramawat,2004)، ولجل تجاوز هذه العوائق اعتمد الباحثون عدة تقانات أحيائية زراعية Agricultural Biotechnology منها تقنية زراعة الأنسجة النباتية Plant Tissue Culture Technique لزياده انتاج المادة الفعالة وضمن مدة زمنية قصيرة وحيز صغير وبشكل مستمر على مدار السنة وبظروف معقمة خالية من الامراض وبعيدة عن تداخل العوائق التي ذكرت مسبقا(Zhao and Verpoorte,2007)، وتزودنا هذه التقانة ايضا السبل الجيدة في الدراسات الوراثية وتكوين الاعضاء والاكتثار الدقيق وتحسين نمو النبات، اذ برز دور المزارع النسيجية التي يمكن وصفها بانها مصانع تحويل حيوي Bioconversion من مركبات ذات قيمة واطئة الى نواتج ذات قيمة عالية(Yong et al.,2008)، وان مبدأ عملها يستند الى ظاهرة القدرة الذاتية للخلايا Totipotency وتعرف بقابلية كل خلية نباتية على الانقسام والنمو والتكثف وانتاج نبات كامل مطابق للأم اذا ما توافرت لها العوامل الملائمة من العناصر الغذائية ومنظمات النمو والحرارة والرطوبة والاضاءة(شكري والمعقل،2013).

تعرف المؤشرات الجزيئية Molecular Markers على انها تسلسلات من القواعد النتروجينية للحامض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين DNA في موقع معين على الكروموسوم مرتبط بمؤشر مظهري او بايوكيميائي يظهر فيه هوية فرد ويمكن التعرف عبر مجس معلم Prob لتحديد موقع وراثي معين، كذلك تعد من اهم الطرائق المهمة المستخدمة في علم الوراثة الجزيئية Molecular Genetics عبر التميز والمقارنة بين الكائنات الحية كون الاختلافات الجينية قابلة للتتبع والتحقق في كل مراحل تطور الكائن الحي وإمكانية تحديد موقع وراثي مطلوب لطرز وراثي معين مباشرة على عكس المؤشرات الاخرى كالمظهرية والبايوكيميائية Morphology and Biochemical Markers المتأثرة بالظروف البيئية والمختلفة عبر مراحل الكائن الحي(Kordrostami and Rahimi,2015).

هناك العديد من الاستراتيجيات التي عملت على الحد من مشكله التملح في الترب الزراعية، منها غسل الأملاح من التربة عن طريق إنشاء منظومات ري وبزل، وإستنباط اصناف نباتية

متحملة للملوحة عن طريق الإنتخاب والتجهين، ونقل الجينات الخاصة بتحمل الملوحة من النباتات المتحملة الى النباتات غير المتحملة للملوحة، الا ان هذه التقنيات جميعها تتطلب إمكانيات مادية و بشرية لذلك يصعب في كثير من الأحيان اللجوء الى بعض من هذه الاستراتيجيات (Kordrostami and Rabiei,2019).

حاول الباحثين إعتداد استراتيجيات سهلة التطبيق وقليلة التكلفة وأمنة من الناحية البيئية منها استخدام الفيتامينات (C و E) ومنظمات النمو (الأوكسينات والجبرلينات والسايوتوكاينينات والبراسينوستيرويدات) وبعض المغذيات (الزنك والسليكون)، كل هذه الأمور تقودنا الى التفكير ب استراتيجية مكملة وهي استراتيجية المزج بين إستعمال فيتامين C الذي يندرج تحت مجموعة مضادات الاكسدة غير الانزيمية وهرمون البراسينولايد للتخفيف من الآثار الضاره للاجهاد الملحي في نبات الماش باعتماد تقنية الزراعة النسيجية وظروف الحقل. تهدف هذه الدراسة الى :

- 1- تحديد أفضل توليفة هرمونية وجزء نباتي لاستحثاث الكالس ذات صفات تلائم استعماله في التجارب اللاحقة.
- 2- دراسة تأثير ملح كلوريد الصوديوم (الاجهاد الملحي) في مؤشرات نبات الماش المزروع خارج الجسم الحي وداخله.
- 3- دراسة تأثير فيتامينC وهرمون البراسينولايد في تحمل نبات الماش المزروع خارج الجسم الحي وداخله للاجهاد الملحي.
- 4- دراسة تأثير ملح كلوريد الصوديوم وفيتامينC وهرمون البراسينولايد في انتاج وتراكم المادة الفعالة في الكالس والبنور.
- 5- انتاج نباتات من الكالس المعرض للتراكيز الملحية المختلفة وفحص التغيرات الوراثي باستعمال مؤشر التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال لسلسلة الدنا ومقارنتها مع النباتات الناتجة من البنور (نسيجيا).

الفصل الثاني استعراض المراجع

2-1 نبات الماش Mung bean :

2-1-1 الأسماء الشائعة لنبات الماش :

يسمى نبات الماش بتسميات شائعة ومختلفة حسب دول العالم والموضحة في الجدول (1)
(Ganesan and Xu,2018).

جدول(1): أسماء نبات الماش في بعض اللغات المختلفة.

اللغة	اسم نبات الماش	اللغة	اسم نبات الماش
العربية	Mash	الروسية	Fasol
الفرنسية	Haricot Mungo	اليابانية	Bundou
الانكليزية	Mung Bean, Green Gram	الاسبانية	Frijo
الألمانية	Jerusalembohne	السويدية	Mungböna
الايطالية	Fagiolino Verde	الهندية	Mung
النرويجية	Mungboon	الصينية	Lü Dou

2-1-2 التصنيف النباتي :

يعود نبات الماش إلى نباتات مغطاة البذور وهو من ذوات الفلقتين وادناه يوضح التصنيف
النباتي للنبات (Lambrides and Godwin,2007):

Kingdom: Plantae
Sub kingdom: Tracheobionta
Super division: Spermatophyta
Division: Magnoliophyta
Class: Magnoliopsida
Sub class: Rosidae
Order: Fabales
Family: Fabaceae
Sub family: Papilionaceae
Tribe: Phaseoleae
Genus: *Vigna*
Sub genus *Ceratotropis*
Species: *radiata*

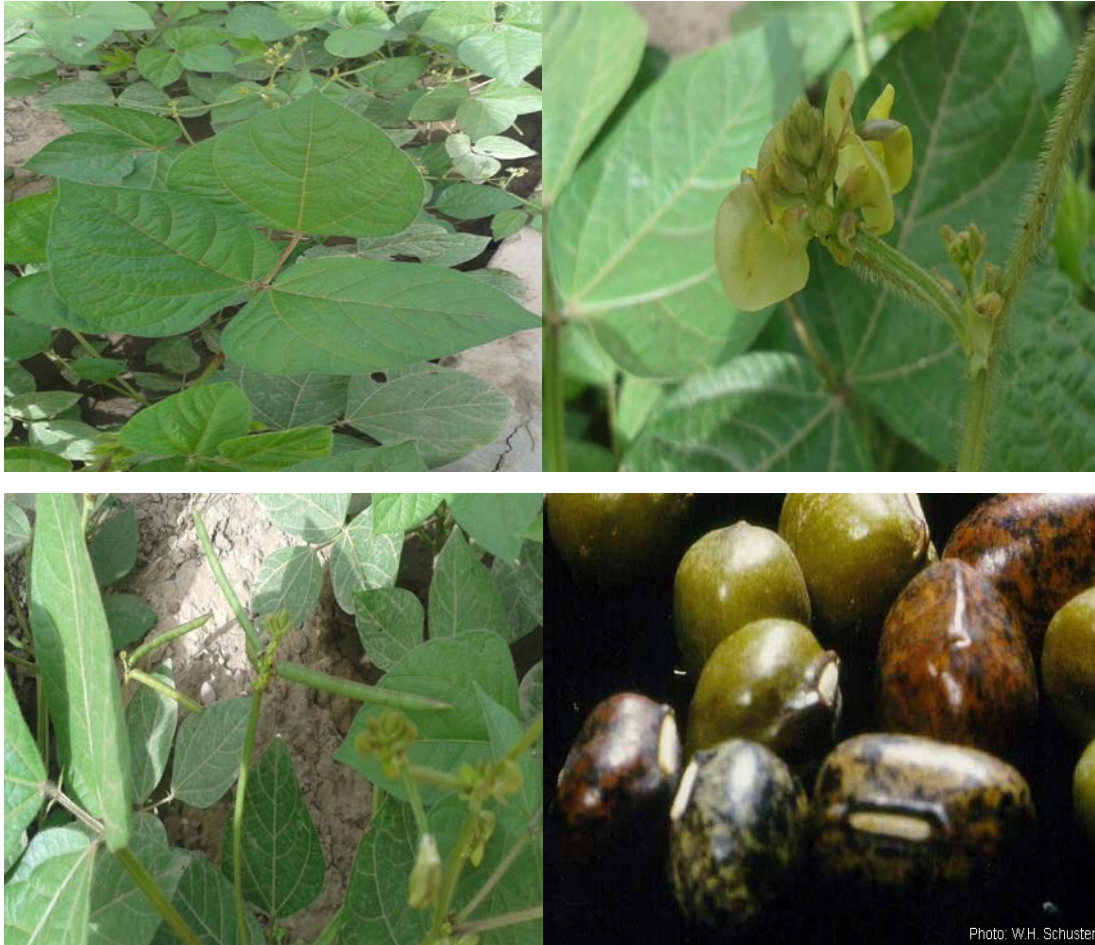
2-1-3 الموطن والانتشار :

يضم نبات الماش 170 نوعاً منتشراً في دول العالم (120 نوعاً في افريقيا و22 في الهند و
الآخري منتشرة في مناطق مختلفة)، إلا ان موطنه الاصلي الهند والبلدان المجاورة كالصين و
بنغلادش والفلبين وجنوب اسيا، وهناك ادله تدعم وجوده في الهند في بقايا المتحجرات قبل

1500 سنة قبل الميلاد، ويزرع في مناطق مختلفة من العراق وايران وشمال استراليا وامريكا وكندا وغرب افريقيا لاسيما في كينيا (Mogotsi,2006).

2-1-4 الوصف المظهري لنبات الماش وظروف زراعته :

يعد نبات الماش ($2n=22$) من النباتات الصيفية الحولية، قائم او شبه قائم كثير التفرع يصل ارتفاعه حوالي 100سم او اكثر، جذره وتدي متفرع يحتوي على عقد جذرية، ساقه قائم كثير التفرع ومغطى بشعيرات ويحمل أوراقا متبادلة ثلاثية Trifoliate alternate ببيضوية مع سويق طويل، ازهاره ثنائية الجنس Bisexual ذات كأس جرسية Campanulate والتسويج فراشي Papilionaceous متميز بأوراقه الخمس صفراء اللون، عدد الاسدية عشرة (تسعة متحدة وواحدة حرة)، مدقة مفردة Single Style، مبيض مرتفع ونورة متكونة من (5-20) زهرة، اما الثمار شريطية-اسطوانية (بقلة pod) ذات لون اخضر او اسود وتحتوي على (15-20) بذرة كروية Ellipsoidal او بيضوية ذات لون اخضر او بني وتنتبت علويا Epigeal germination (Singh,2013) والشكل (1) يوضح الاجزاء المظهرية لنبات الماش.



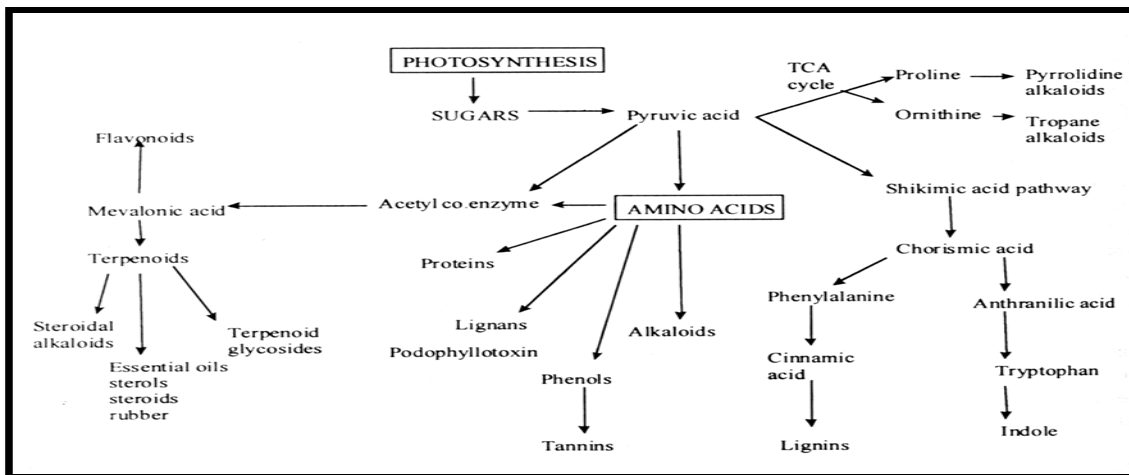
شكل (1): الاجزاء المظهرية لنبات الماش (الزهرة، الورقة، البذور، القرنات).

يزرع نبات الماش بموسمي الربيع والخريف وفضل نمو له يكون بمدى حراري بين (22-30)م°، ويعد من النباتات ذات النهار القصير اذ ان التعرض لظروف النهار الطويل يطيل من مرحلة التزهير ويؤخر النضج، بينما تؤدي ظروف النهار القصير الى التأثير على موعد التزهير وعقد الأزهار (Mogotsi,2006)، كذلك تتميز دورة حياته قصيرة تتراوح بين 75 الى 90 يوما ويزهر بعد 30 الى 45يوما من تاريخ زراعته، ويحتاج لكميات قليلة من المياه قياسا بالنباتات الاخرى (Anjum et al.,2006)، فيما تمتاز جذوره بقدرتها على تثبيت النتروجين بمقدار يصل 109-58كغم.ه⁻¹سنه⁻¹ وذلك بعلاقتها التكافلية Symbiotic relationship مع بكتريا الرايزوبيا (Singh and Singh,2011) *Rhizobium*.

يفضل زراعة نبات الماش في الترب المزيجية جيدة البزل او المزيجة الرملية ذات الاس الهيدروجيني (pH) 5-8، ومتحمل جيد للملوحة حسب مراحل نموه، اذ لوحظ ان بذوره لها القدرة على الانبات في حدود 5 الى 6ديسيمنزم⁻¹، فيما يتحمل النبات ملوحة في حدود 9 الى 18 ديسيمنزم⁻¹، فضلا عن تحمله للجفاف ودرجات الحرارة المرتفعة (Rao et al.,2016)، وقدرت مساحته المزروعة في العراق حوالي 8256.75هكتار وبتأجعية وصلت الى 95.95كغم.ه⁻¹ (مديرية الاحصاء الزراعي،2016).

2-1-5 المحتوى الكيميائي والماده الفعالة في نبات الماش:

تنتج النباتات نوعين من المركبات اولهما المركبات الاولية(الكاربوهايدرات والبروتينات و الدهون) ناتجة من عملية البناء الضوئي وتشترك في بناء مكونات الخلية المختلفة، وثانيهما المركبات الثانوية ناتجة من المركبات الاولية التي تشمل القلويدات والكلايكوسيدات والفلافونيدات والفينولات والثانينات والزيوت الطيارة كما في الشكل(2) (Ramawat,2004).



شكل(2): المسالك الايضية المنتجة للمركبات الثانوية.

تحتوي اجزاء نبات الماش على العديد من المركبات الاولية وبنسب متفاوتة، عموماً في البذور الجافة يصل تركيز الدهون 1 الى 1.5% متمثلة بالاحماض الدهنية المشبعة 71% وغير المشبعة الاحادية 18% والمتعددة 11%، وتركيز عالٍ من حامضي oleic و linoleic في النباتات Sprouts يصل تقريباً (24 و 14)% بالتتابع من مجموع الاحماض الدهنية، فضلاً عن تراكيز قليلة للمشتقات الكوليسترول (Beta-Sitosterol، Stigmasterol، Campesterol) (Anwar *et al.*, 2007)، بينما يصل تركيز الكربوهيدرات في بذوره من 55 الى 65% بشكل نشأ (Amylose %28.8، Amylopectin %71.2) فضلاً عن السكريات الاخرى (Raffinose، Stachyose، Verbascose) (Nair *et al.*, 2013)، كذلك تحتوي بذوره ايضاً على تركيز عالٍ من البروتين يصل بحوالي 20 الى 29% واهمها Globulin و Albumin، وتراكيز عاليه من الاحماض الامينية (Isoleucine، Leucine، Phenylalanine، Arginine، Lysine، Methionine، Tryptophan، Valine) (Yi-Shen *et al.*, 2018).

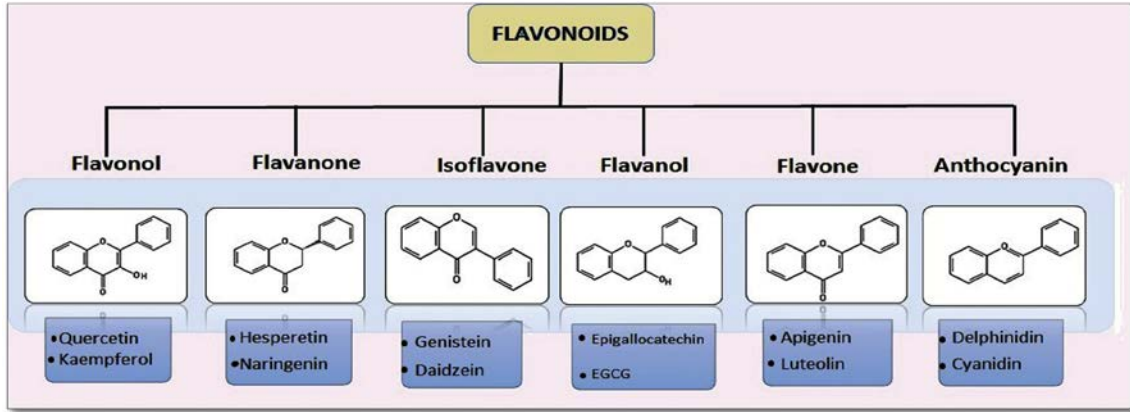
تمتاز بذوره ايضاً بكونها غنية بالالياف يصل تركيزها 3.5 الى 4.5%، مع احتوائها على 21 حامضاً عضوياً منها (Aconitic، Citric، Succinic، Quinic، Malic، Oxalic، Phosphoric، Fumaric)، ويشكل حامض Malic و Quinic نسبة 55 الى 86% بالتتابع من مجموع الاحماض العضوية، كذلك تحتوي على الفيتامينات (A، B، C، E، K) والعناصر الكبرى (Ca، Mg، P، K) والصغرى (Fe، Mn، Zn، Cu) (Silva *et al.*, 2013). تحتوي بذوره ونبوتاته ايضاً على المركبات الفعالة المتمثلة بالفينولات Phenols والستيرويدات Steroid والقلويدات Alkaloids والتانينات Tannins والكلايكوسيدات Glycosides والتربينات Terpenoids والكومارين Comarin (Shukla and Tyagi, 2017).

الفينولات Phenols وهي احدى المركبات الفعالة وثاني اكبر مجموعة من مركبات الايض الثانوي في النبات، تتميز بحلقة اروماتية سداسية الكربون تحتوي على مجموعه هيدروكسيل واحدة او اكثر وذات وزن جزيئي واطى ولها فعالية عالية، فتستعمل كمضادات للاكسدة وكسح الجذور الحرة فضلاً عن فائدتها الطبية (مضاد للاورام Anti-carcinogenic، مضاد للالتهابات Anti-inflammatory) وترتبط عادة مع السكريات والاحماض العضوية وتقسم على مجموعتين بسيطة Simple (الاحماض الفينولية) ومتعددة Poly (الفلافونويدات) (Tava *et al.*, 2019).

تحتوي الاحماض الفينولية Phenolic acids على حلقة البنزين مرتبطة بمجموعة حامضية وهي مجموعه الكربوكسيل COOH فضلاً عن ارتباطها بواحد او اكثر من مجموعه الهيدروكسيل OH واحياناً مجموعة المثلل CH₃، وتقسم على مجموعتين (C₁-C₆) Hydrobenzoic acids

و Hydroxycinnamic acids (C_3-C_6)، اما تصنعها في النبات عبر مسلك حامض الشيكميك Shikimic acid pathway او مسلك الاستيت مالونيت Acetate malonate pathway، ويعد الحامض الاميني Phenylalanine البادئ الاول في بناء الفينولات وبمساعدة انزيم L-phenylalanine ammonia-lyase (PAL) (الاسدي، 2018).

اما الفلافونويدات ($C_6-C_3-C_6$) Flavonoids وتعرف بانها مركبات ذات لون اصفر مشتقة من 1,3-diphenylpropane منتشرة في النباتات بشكل كلايكوسيدات على هيئة سكر احادي او ثنائي، ذات طبيعة حامضية وجيدة الذوبان في المحاليل القطبية (Karak, 2019)، وعموما فهي تتواجد في الاوراق، الاجزاء الزهرية وحبوب اللقاح ولها وظائف عديدة منها تلوين الازهار و الثمار، الحماية من اشعة UV، الدفاع ضد الممرضات ومضادات للاكسدة، وتقسم على ست مجاميع موضحة في شكل (3) (Nigula and Wairkar, 2019).



شكل (3): مجاميع الفلافونويدات.

يحتوي المستخلص المائي الحار والبارد لبذور الماش على انواع من الفلافونويدات منها الفلافونول (Rhamnetin ، Kaempferitrin ، Kaempferol3-o-rutinoside) والفلافون (Luteolin ، Apigenin ، Hypolaetin ، Chrysin) والايذوفلافون (Genistein ، Daidzein ، Glycitein ، Pomiferin ، Genistin ، Formononetin ، Prunetin ، Dulcinoside) و الفلافانون (Naringenin ، Naringin ، Neohesperidin ، Eriodictyol) والانتوسيانينات (Delphinidi-3-o-glucoside) والكالكون (2,4,4-Trihydroxychalcone)، فضلا عن المركبات الفينولية الاخرى (Scopoletin ، Scopolin ، Rhododendrin ، Coumestrol) و الاحماض الفينولية (Gallic acid ، Vanillic acid ، Gentisic acid ، Caffeic acid ، Ellagic acid ، Syringic acid ، Ferulic acid ، Chlorogenic acid ، Coumaric acid) (Sosulski and (Protocatechuic acid ، p-Hydroxybenzoic acid ، Shikimic acid

(Dabrowski,1984)، وجد ايضا ان البذور والاوراق تحتوي على 12 نوعاً من الفلافونويدات وهي كالاتي ثلاث من Anthocyanine، واثنان من Leucoanthocyanins، واثنان من Glycoflavones، وخمسة من Flavanol glycosides (Tang *et al.*,2014). تحتوي بذوره ايضا على الفلافونويدات اخرى (Myricetin، Quercetin-3-O-glucoside، Quercetin) (Meenu *et al.*,2016)، فيما وجد نوعان اخران من الفلافونويدات Vitexin و Isovitexin في اغلفة البذور (Huo *et al.*,2019). توجد الكلايكوسيدات بكميات جيدة في بذور والبادرات مثل Benzyl، Benzaldehyde، Hxanol، Genistin و Daidzin، فضلا عن المركبات الطيارة (Phenyl acetaldehyde، alcohol) (Silva *et al.*,2013).

6-1-2 الاهمية الغذائية لنبات الماش وقيمه الطبية:

لقد عرف نبات الماش كغذاء رئيس عند الهنود والصينيين لاكثر من 2000 سنة وذلك بعد غليان حبوبه واستعماله كحساء او يؤكل بشكل طازج كسلطة، اما في باكستان فتستعمل بذوره في صناعة الخبز والمعكرونة والحلويات والتوابل، فيما تستعمل اوراقه وسيقانه كغذاء للحيوانات سيما الدواجن (Rafiq *et al.*,2012)، اما في بنغلادش فيعد بمثابة لحوم للفقراء نظرا لرخص ثمنه واحتوائه على تركيز عالٍ من الكربوهيدرات والبروتين، فضلا عن فوائده العلاجية لمشاكل الجهاز الهضمي وازالة السموم والحماية من ضربة الشمس Heat stroke وانتعاش الذاكرة Refresh mentality (Kahraman *et al.*,2014). تستعمل بذوره كمسحوق في صناعة المستحضرات التجميلية Cosmetics لاحتوائها على مواد مضادة للتهيج وعلاجا مهما لمرض البهاق Vitiligo، فيما يستعمل جذوره كمادة مخدرة Narcotic (Ann *et al.*,2004)، ويمكن تلخيص قيمته الطبية كما يأتي:

1- مضاد للاحياء المجهرية Antimicrobial: يحتوي مستخلص بذوره على عديد من المركبات يطلق عليها بمصطلح Biocides التي لها الفعالية التثبيطية لنمو الاحياء المجهرية، فمثلا البروتين Mungin وانزيم Chitinase لهما الفعالية التثبيطية لنمو الفطريات (*oxysporum*، *Botrytis cinerea*، *Coprinus comatus*، *Rhizoctonia solani*)

(Fusarium) و بكتريا (*Staphylococcus aureus*) (Wang *et al.*,2005).

2- مضاد للاكسدة Antioxidant: تحتوي بذوره على عدد من البروتينات (Mung bean protein hydrolysate) والبتيدات المتعددة والسكريات المتعددة والفينولات المتعددة (Isovitexin، Vitexin) وفيتامينات (C،E) وانزيم Superoxide dismutase التي تعمل على كسح الجذور الحرة، فمثلا مركب vitexin يقوم بكسح جذر

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ويحمي الجلد من خطر الأشعة فوق البنفسجية (UV) (Kim *et al.*, 2005).

3- مضاد لمرض السكري Antidiabetic: لوحظ عند حقن مستخلص بذوره في الفئران يساعد على خفض السكر والكوليسترول واليوريا مع زيادة تركيز الانسولين (Yao *et al.*, 2008).

4- مضاد للالتهابات Anti-inflammatory: استعمل سكان اسيا قديما نبات الماش لمعالجة اعراض ضربه الشمس وحالات التسمم نتيجة لاحتواء بذوره على المركبات تحفز الجهاز المناعي والمتلهمات الكبيره Macrophages، ومن هذه المركبات Gallic acid و Vitexin و Isovitexin (Lee *et al.*, 2011).

5- مضاد لارتفاع الضغط Antihypertensive: اثبتت دراسة ان تعاطي مستخلص او مسحوق نبات الماش في الفئران ولمده ساعات يسبب انخفاض ضغط الدم الانقباضي Systolic Blood Pressure (Hsu *et al.*, 2011).

6- مضاد للأورام Antitumor: يستعمل مستخلصه لمعالجة الاورام الخبيثة واعاقه تكاثر وحركة الخلايا السرطانية عبر ميكانيكيات مختلفة (Yi-Shen *et al.*, 2018).

2-2: تقانة زراعة الأنسجة النباتية :

تعرف زراعة الأنسجة النباتية (Plant Tissue Culture (PTC) على انها استئصال او عزل جزء معين صغير Explant من النبات الأم كالبراعم أو القمم المرستيمية أو أجزاء الورقة أو الجذور أو السوق وزراعتها في أوساط غذائية صناعية مسيطر عليها وداخل ظروف معقمة لكي يتطور نموه باتجاه الهدف المطلوب من زراعته، كما يعرفها البعض الاخر بأنها العلم الذي يختص بزراعة الخلايا او الأنسجة النباتية او الاعضاء المفصولة من النبات الأم في اوساط غذائية اصطناعية وتحت ظروف معقمة (الرفاعي والشوبكي، 2007). تستند هذه التقانة إلى مفهومين أساسيين: اولا الطاقة الكامنة للنشوء Totipotency وتعرف قدرة الخلية على تكوين نبات كامل بمواصفات وراثية مشابهة للنبات الام، وثانيا اللدانة Plasticity وتعرف قابلية الخلية غير المتخصصة على التحول أو التخصص الى أشكال مختلفة كالجذور والنموات الخضرية من خلال التحكم بعوامل النمو كمنظمات النمو النباتية (Maheswaran *et al.*, 1997). بدأت المحاولات الأولى في زراعه الانسجة مع تزامن المفهوم المقترح من قبل Schwann و Schliden عام 1839 على ان الخلية وحدة مستقلة وظيفيا، وطرحت فكرة Totipotency من قبل Haberland عام 1902 التي تعرف أن أي خلية من خلايا النبات لها القدرة على الانقسام والنمو إلى نبات كامل مشابه للنبات الأم اذا ماتوفرت الظروف البيئية المناسبة، بعد ذلك جاء Hannig عام 1904 بمحاولة

لزراعة أجنة بعض نباتات العائلة الصليبية (Ramawat,2004)، تلتها دراسات عديدة باهداف متنوعة منها الاكثار الدقيق للنباتات مختلفة في مدة قصيرة و على مدار السنة او لأنتاج نباتات تتحمل للظروف البيئية غير الملائمة او انتاج نباتات تخلو من الامراض او لزيادة إنتاج المركبات الطبية خارج الجسم الحي، فضلا عن توفير المعلومات الكثيرة للعلوم الاخرى كفسلجة وامراض وتشريح وتربية النبات، الوراثة، الخلية والكيمياء الحياتية (Efferth,2019).

2-2-1: تعقيم الأجزاء النباتية :

تعد مشكلة تلوث الأجزاء النباتية من أهم المشاكل الاساسية التي تواجه زراعة الأنسجة النباتية، لذلك يتطلب العمل في هذا المجال عمليات التعقيم Sterilization غاية بالدقة للجزء النباتي، وتعرف عملية التعقيم بأنها إزالة الأحياء المجهرية التي تنمو على السطح الخارجي للجزء المستعمل لذلك تسمى بالتعقيم السطحي Surface sterilization، إذ أن نمو هذه الأحياء مع الجزء النباتي المزروع تؤدي إلى هلاكه بسبب نموها السريع ومنافستها على المواد الغذائية أو نتيجة لافرازها نواتج اضرارية البعض منها سام يؤدي الى قتل الجزء النباتي ومن ثم فشل الزراعة النسيجية (محمد وعمر، 1990)، ولأجراء هذه العملية يستعمل الباحثون انواع مختلفه من المركبات بموجب تركيزها وشددة فعاليتها وطول مدتها وسهولة إزالتها عن الجزء النباتي فضلا عن عدم سميتها له، ومن هذه المركبات: هايبيوكلورات الصوديوم NaOCl وهايبيوكلورات الكالسيوم $Ca(OCl)_2$ والكحول الايثيلي C_2H_5OH و نترات الفضة $AgNO_3$ وكلوريد الزئبق $HgCl_2$ و بعض المضادات الحيوية (Trigiano and Gray,2011)، وأكثرها شيوعا هي الكحول الايثيلي و هايبيوكلورات الصوديوم (القاصر التجاري Commercial Clorax)، كما يضاف لبعض الحالات قطرات من المادة الناشرة مثل Tween-20 الى محلول التعقيم عند وجود طبقات من مواد شمعية كالكيوتكل او السوبرين تغطي السطح الخارجي للجزء النباتي، بعدها تغسل المواد بشكل جيد بالماء المقطر المعقم ولثلاث مرات او اكثر من اجل ضمان ازالة بقايا المادة المعقمة (Ramawt,2004).
اختلف الباحثون في طريق تعقيم بذور نبات الماش و تركيز المادة المعقمة المستعملة وضمن مدد متعددة، إذ استعمل (Park et al.(2002) مادة NaOCl (2%) في التعقيم لمدة 10 دقائق ومن ثم غسلها ثلاثة مرات بالماء المقطر المعقم، كذلك استعمل (Sagare and Mohanty(2015) مادة NaOCl (0.1%) في التعقيم لمدة ثلاث دقائق مع غسلها بالماء المقطر المعقم اربع مرات و المعاملة بالكحول الايثيلي (70%) لمدة دقيقة واحدة ثم تغسل مباشرة بالماء المقطر المعقم اربع مرات ايضا لازالة الكحول، فيما كانت طريقة التعقيم عند عبود وجمعة (2018) بغمر البذور بالكحول الايثيلي (98%) لمدة دقيقتين ثم تنقل الى محلول NaOCl (2) حجم ماء :1 حجم المادة

المعقمة) لمدة سبع دقائق وبعدها تغسل بالماء المقطر المعقم عدة مرات. استعملت عبد الرزاق (2012) مادة $HgCl_2$ (1%) ولمدة خمس دقائق، في حين استعمل (Patra et al., 2018) الكحول الايثيلي (70%) لمدة دقيقتين ثم غسلت البذور بالماء المقطر مرتين وبعدها غمرت بمحلول $HgCl_2$ (0.1%) لمدة ثلاث دقائق بعدها غسلت اربع مرات بالماء المقطر المعقم.

2-2-2 استحثاث الكالس :

الكالس callus عباره عن خلايا برنكيميية (نسيج ورمي Tumor) مفككه غير متمايضة وغير منتظمه الشكل تنشأ طبيعيا نتيجة لاستجابة الجروح في الأجزاء النباتية أو في مناطق التطعيم، وتستعمل في تكوين الاجنه الجسمية Somatic embryos والاعضاء وفي المفاعلات الحيوية و انتاج المركبات المهمه طبيا (Trigiano and Gray, 2011)، وجاءت التسمية من كلمة اللاتينية "Callum" وتعني الصلابة وطبيا تشير الى تسمك في الانسجة (Ikeuchi et al, 2013).

ان عملية استحثاث الكالس للاجزاء النباتية المزروعة في الوسط الغذائي المناسب من العمليات الاساسية في الزراعة النسيجية التي تمر بمراحل تطويرية هي الاستحثاث Induction والانقسام Division والتماييز Differentiation فعند المرحلة الاولى تحدث تغيرات عديدة كبناء البروتينات والاستنساخ DNA لتمهد الى المرحلة الثانية وهي انقسام الخلايا بشكل سريع وتكوين كتلة من خلايا غير متمايضة (الكالس)، ويكون قوام الكالس المستحث أما صلب او هش ولونه أصفر أو أبيض أو أخضر، لتليها المرحلة الاخيرة وهي مرحلة توسع الخلايا المرستيمية وتماييزها (تخصصها) الى أجنة لاجنسية بشرط توفر عوامل النمو المناسبة (محمد وعمر، 1990)، وهناك عوامل مهمه تؤثر في نشوء الكالس منها الحيوية (الجزء النباتي، التركيب الوراثي، عمر النبات)، الفيزيائية (درجة الحرارة، الاضاءة، الرطوبة) والكيميائية (مكونات الوسط الغذائي، توليفة منظمات النمو، pH) (الصميدعي، 2017).

يؤثر الوسط الغذائي في نشوء الكالس واستحثاثه اعتماداً على محتويات الوسط ونوع الجزء النباتي المزروع لإنتاج الكالس وظروف الحضان، وقد ابتكر (Murashige و Skoog 1962) أفضل تركيبة للبيئة الغذائية واشهرها استعمالا في زراعه الانسجة النباتية، وأشار (Staba 2000) إن الكالس يحضن عادة في الظلام لكي يتجنب تكوين الأعضاء، إذ ينشط الضوء أنزيم IAA oxidase الذي يؤكسد الاوكسينات ومن ثم تحطيمها، لذلك فان إعادة الزراعة للكالس في أوساط جديدة واستمرار تحضينه في الظلام يزيد من كمية الكالس المستحث من الأجزاء النباتية، فضلا عن التحضين في الظلام يؤدي إلى تثبيط المواد الفينولية وانعدام ظهور البقع السوداء في

الكالس (Ramawat,2008)، من جهة اخرى واستنادا الى (Nunez-Palenius *et al.*(2006) فان نمو الكالس يمر بخمس مراحل هي:

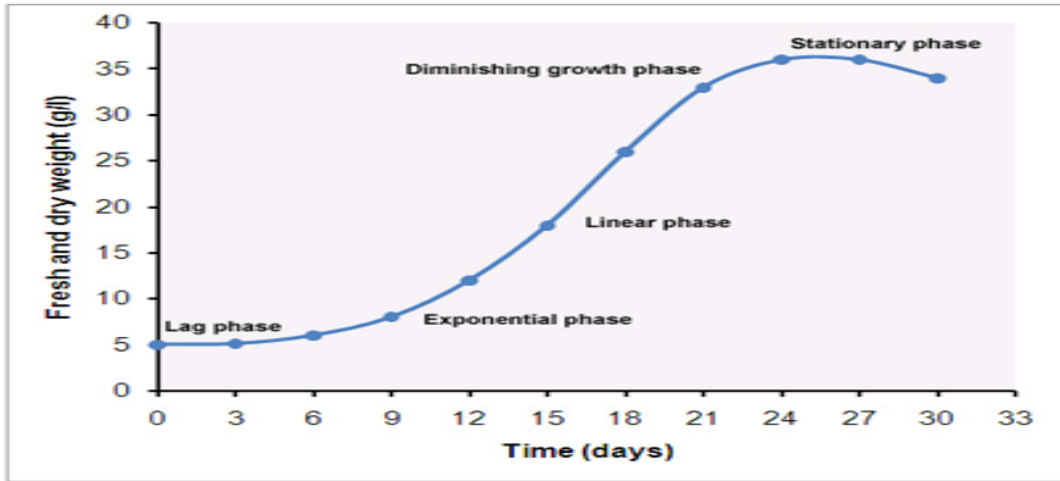
1-مرحلة الالاسية Lag phase: وهو الطور التحضيرى قبل بدء عملية انقسام الخلايا النباتية كبناء البروتين والاحماض النووية.

2-مرحلة اللوغارتمية Log phase او التسارعية Exponential phase: وعندها تبدأ الخلايا بالانقسام وبنسبة زيادة لوغارتمية logarithmic.

3-مرحلة الخطية Linear phase: وهي الزيادة الخطية في مجاميع الخلايا التي تؤدي الى زيادة الوزن الطري والجاف للمزرعة النسيجية، وتكون سرعة انقسام الخلايا بطيئة إلا أنها تزداد في الحجم.

4-مرحلة التناقص Diminishing phase او مرحلة التباطؤ Deceleration phase: يقل معدل الانقسام والاستطالة الخلايا نتيجة لاستنفاد المغذيات في الوسط الزراعي وتراكم الفضلات التي تفرزها الخلايا.

5- مرحلة الاستقرار Stationary phase: يتم توقف انقسام الخلايا ويبقى عدد وحجم الخلايا ثابتا على الأغلب، وشكل (4) يوضح مراحل نمو الكالس بشكل حرف S او مايسمى بالمنحنى السيني Sigmoid curve.



شكل(4): مراحل نمو الكالس.

2-2-2-1 تأثير الاوكسين والساييتوكاينين في استحثاث الكالس:

يعرف الأوكسين بأنه حامض عضوي ذو وزن جزيئي عالٍ ويحتوي على حلقة Indole وله القابلية في التأثير على العمليات الحيوية داخل النبات وبتراكيز قليلة جداً وذات الاستعمال الواسع في الزراعة النسيجية، وان اهم مراكز بنائه هي المناطق المرستيمية(قمم السوق والجذور)،

واكثرها شيوعا هو الأوكسين الطبيعي Indole acetic acid (IAA) والآخرى الصناعية مثل Naph- و 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) و Indole butyric acid (IBA) thalene acetic acid (NAA) (Farooq *et al.*, 2018)، واهم تأثيراته هو تحفيز استطالة الأنسجة وزيادة الانقسام الخلوي لاسيما في الأنسجة المرستيمية خلال نشوء الكالس، وقد يكون لنوع الأوكسين تأثير في سلوك الكالس اذ يؤدي إلى إحداث تغيرات كروموسومية للأنسجة خلال مراحل نمو وأنقسام خلايا الكالس (أبو زيد، 2000)، وان مواقع فعله هي الاحماض النووية والغشاء البلازمي (Leyser, 2018).

اما السايتوكاينين فهو عبارة عن قاعدة عضوية ذات أوزان جزيئية عالية تتكون من D-ribos و Ortho-Topolin (oT) منه طبيعي و N6-substitused adenine و phosphoric acid و Zeatin (ZT) و 2-Isopentenyl Adenine (2ip) وصناعي (BA) Benzyl Adenine و Kinetin (Kin) و Thidiazuron (TDZ)، وله تأثيرات تحفيزية في عملية الانقسام الخلوي فهي تساعد الاوكسينات على استحثاث الكالس، فضلا عن تشجيع البراعم العرضية من انسجة الكالس وكسر السيادة القمية وتكوين الافرع وتاخير الشيخوخة (Osugi and Sakakibara, 2015)، وان اكثرها استعمالا في زراعة الانسجة هو BA لكونه اكثر فعالية مقارنة بال Kin و 2ip لاحتوائه على اكثر من اصرة مزدوجة (Krishnamurthy *et al.*, 1984).

اصبح من الضروري تكوين موازنه دقيقة بين تركيز الأوكسينات والسايتوكينينات في الوسط الغذائي، ففي حال زيادة تركيز السايتوكاينين إلى الأوكسين يحفز تكوين الأفرع الخضرية، بينما في زيادة تركيز الأوكسين إلى السايتوكاينين يحفز تكوين الجذور العرضية والتراكيز المتوازنة تؤدي إلى ظهور الكالس ونموه (Huan *et al.*, 2004). اظهرت العديد من الدراسات تفاوتها في استعمال تراكيز الاوكسينات والسايتوكينينات في حث الكالس لاجزاء نبات الماش المختلفة، ففي دراسة كل من (Khatun *et al.*, 2008) و (Mojumder *et al.*, 2014) ان اضافة 1 ملغم لتر⁻¹ من Benzylaminopurine (BAP) و 2.5 ملغم لتر⁻¹ من NAA الى وسط MS قد اعطت اعلى نسبة لاستحثاث الكالس، فيما اكد (Rafiq *et al.*, 2012) ان اضافة (1.8، 3.65) مايكرومول من BAP و NAA بالتتابع الى وسط MS اعطى افضل استحثاث للكالس من الفلقات والقلم النامية والاوراق، فيما اعطت التوليفة المتكونه من (2، 0.5) ملغم لتر⁻¹ BA و NAA بالتتابع والمستعملة من قبل عبد الرزاق (2012) افضل نسبة لاستحثاث الكالس، كذلك توصل (Patra *et al.*, 2018) ان اعلى نسبة لاستحثاث الكالس عند التوليفة المركبة (2.5، 1.5) ملغم لتر⁻¹ BAP و NAA بالتتابع.

2-2-3 إدامة الكالس :

يمكن إعادة زراعة الكالس Subculture بعد إنتاجه لعدد غير محدود من المرات عن طريق تقطيع نسيج الكالس المتكون إلى قطع ذات وزن مناسب ونقله الى وسط غذائي جديد للحصول على كمية كافية منه، وتعتمد مدة نقله على النوع النباتي والجزء النباتي المستعمل والوسط الغذائي (Tripathi and Tripathi,2003). إن إعادة زراعة الكالس على أوساط غذائية جديدة وفي أوقات زمنية منتظمة تعدُّ أساسية في نمو وتطوره، إذ أن استمرار نموه في الوسط الغذائي نفسه يؤدي إلى استنزاف المواد الغذائية من الوسط وجفافه، فضلاً عن تجمع وتراكم النواتج النهائية للفعاليات الأيضية حتى تصل إلى التراكيز السامة تؤثر بصورة مباشرة في نمو وتطور الكالس، لذا أوصى الباحثون بضرورة إعادة زراعة الكالس بعد حوالي 21 إلى 28 يوماً من استحثائه، وتعاد الزراعة بعد المدة نفسها إلى أن يتم الحصول على الكمية المطلوبة منه (محمد وعمر، 1990).

2-2-4 تطبيقات مزارع انسجة الكالس :

تتميز مزارع الكالس بكونها ذات نمو بطيء ممايسمح اجراء العديد من الدراسات منها (الصميدعي، 2017):

- 1- دراسة الاحتياجات الغذائية للنبات عبر التركيز الجزيئي.
- 2- دراسة تمايز الخلايا والاعضاء النباتية.
- 3- دراسة وانتاج مركبات الايض الاولي والثانوي وتنظيمهما.
- 4- التحري والاستفادة من التغيرات الجسمية .
- 5- سهولة الحصول على المعلقات الخلوية والخلايا المفردة.

2-2-5 مراحل الاكثار الدقيق :

قسمت مراحل الاكثار خارج الجسم الحي على خمس مراحل (George *et al.*,2008) :

- 1- مرحلة الصفر Zero stage او مرحلة التحضير Preparation stage: هي المرحلة التي يتم فيها اختيار نباتات أصل نموذجية سليمة خالية من الاصابات المرضية والأضرار الميكانيكية، وتتصف بالحيوية والحدائة Juvenility والحالة التغذوية الجيدة، والتي ستكون مصدراً لتجهيز الأجزاء النباتية المستعملة في تأسيس المزارع النسيجية وتؤثر الحالة الفسيولوجية للنبات الأم عند أخذ الأجزاء النباتية في استجابتها.
- 2- مرحلة نشوء الزروعات Initiation stage: هي المرحلة التي يتم فيها فصل الأجزاء النباتية المراد زراعتها وتعقيمها وزراعتها في ظروف معقمة للحصول على مزارع نسيجية خالية من التلوث.

- 3- مرحلة التضاعف Shoot multiplication stage: هي المرحلة التي يحدث فيها زيادة المزروعات وتكون لدينا مزرعة نسيجية واسعة ممكن ادخالها في التجارب اللاحقة.
- 4- مرحلة التجذير Rooting stage: ان الهدف من هذه المرحلة هو تجذير الأفرع الناتجة من مرحلة التضاعف وتهيئتها للنقل خارج انابيب الاختبار الى ظروف البيت الزجاجي او الحقل ويتم ذلك بمساعدة انواع وتركيز الاوكسينات واكثرها شيوعا الـ IBA لانه يمتاز ببطء انتقاله داخل النبات وثباته كيميائياً وعند اضافته الى الوسط الغذائي يكون تأثيره محصوراً في منطقة المعاملة ولايؤدي الى تحفيز النمو في الاجزاء المزروعة (Paduchuri et al.,2010).
- تبرز اهمية هذه المرحلة من خلال اكساب القدرة الذاتية للنموات الخضرية الناتجة من زراعة الانسجة على امتصاصها للماء والمغذيات اللازمة للنمو، وان عملية نشوء الجذور العرضية خارج الجسم الحي تتم بمايلي: تبدأ بنشوء مناطق مرستيمية نتيجة عملية فقدان التمايز لخلية او عدد من الخلايا في الساق (انسجة اللحاء او الكامبيوم او اللب) بعد ذلك تتضاعف هذه الخلايا مكونة بشكل مجاميع كروية، ومع استمرار عملية التضاعف تحدث انقسامات مبرمجة لتكوين مرستيمات الجذور والتي تستطيل الخلايا الموجودة في الجزء القاعدي للمرستيمات المتطورة لتكون بروزات الجذور الجديدة (Blakesley et al.,1991).
- 5- مرحلة الأقامة Acclimatization stage :
- هي المرحلة التي يتم فيها تهيئة النباتات للتكيف من ظروف النمو داخل اوعية الزراعة *In vitro* الى الظروف الطبيعية *In vivo* متمثلة بانخفاض الرطوبة وارتفاع شدة الاضاءة، وتعد هذه المرحلة من اهم المراحل، اذ تقشل وتموت فيها اعداد كبيرة من النبيتات المنقولة الى التربة، بسبب صعوبة تحول هذه النبيتات في تغذيتها من التغذية الرمية Heterotrophic الى التغذية الذاتية Autotrophic، كما ان هذه النبيتات تنصف بغياب طبقة الكيوتكل التي تغطي سطح الاوراق وعدم قيام الثغور بوظيفتها بصورة طبيعية وذلك بسبب نمو النبيتات في بيئة عالية الرطوبة لذا تحتاج النبيتات في الاسبوع الاول تقريبا الى 90% رطوبه قبل نقلها الى الاصص، فضلاً عن تعرضها للاصابة بالمسببات المرضية (Trigiano and Gray,2011). تضاف مرحلة أخرى احيانا قبل عملية الأقامة هي مرحلة التقسية Hardening stage من خلال تعريض النبيتات المجذرة الى اضاءة عالية ووضعها في محاليل حاوية على نصف قوة أملاح وسط MS هذا بدوره يشجع نمو الجذور الحديثة قبل النقل الى التربة، تتطلب عملية نقل النبيتات من ظروف الزراعة داخل الزجاج الى مخاليط التربة عناية فائقة تبدأ بغسل الجذور لازالة الاكار وبقايا الوسط الغذائي الملصق بها، ثم تنقل بعدها النبيتات للزراعة في اوساط زرعية معقمة مكونة من الزميج

والبتموس بنسبة 1:1 ومغطاة بأغطية زجاجية شفافة، وترفع هذه الاغطية بين مدة واخرى لتقليل الرطوبة الناتجة من عملية النتج ومنع نمو الفطريات وتستمر لمدة اسبوعين او اكثر لكي تصبح النباتات الناتجة من الزراعة النسيجية مستعدة للنمو في ظروف الحقل(التميمي،2016; Ahmad,2017).

2-2-6 الثبات الوراثي في النباتات الناتجة خارج الجسم الحي :

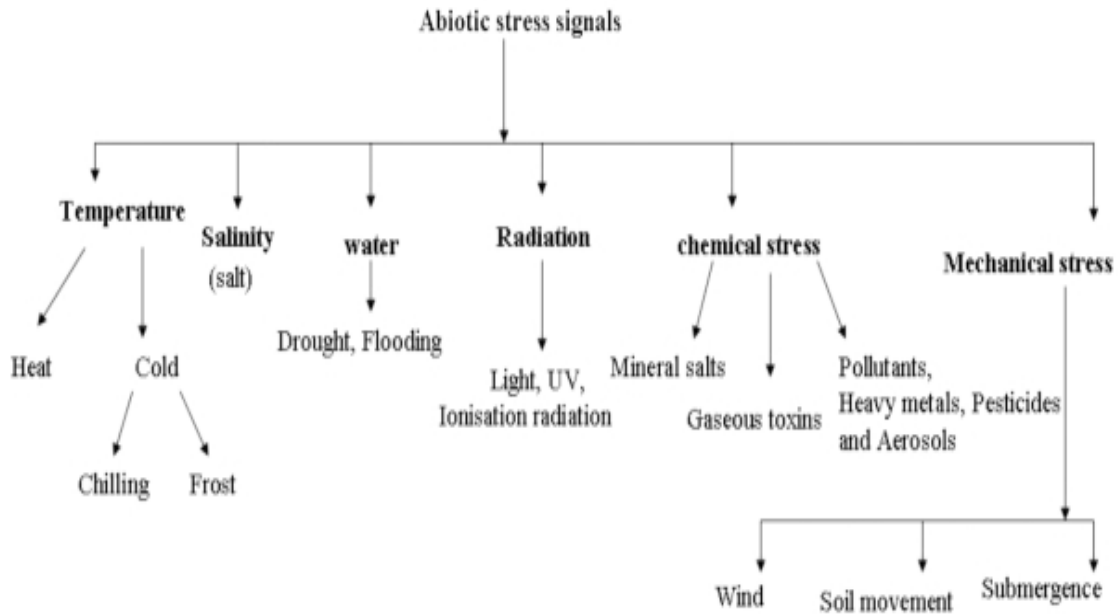
اوضحت العديد من الدراسات الى وجود تطابق وراثي بين النباتات الناتجة من الزراعة النسيجية وامهاتها بغض النظر عن طريقة الاكثار، فيما اوضحت دراسات اخرى الى وجود العديد من التغيرات في مزارع الخلايا والأنسجة النباتية وتدعى بالتغيرات الجسمية Somaclonal Variations (SVs) (الساھوكي والخفاجي،2014)، وان مثل التغيرات الحاصلة في الانسجة النباتية ناتجة من تاثير عوامل متعددة منها استمرار اعادة الزراعة subculture لمدة طويلة او الجزء النباتي المدروس او قد تسبب التوليفة الهرمونية المضافة في الوسط الغذائي الخاص باستحثاث الكالس كالاوكسينات مثلا التي تؤدي دورا كبيرا في احداث مثل هذه التغيرات (Leva et al.,2012 ; Mallaya and Ravishankar,2013)، وقد تؤكد الدراسات الاخرى ان هذه التغيرات ليس لها علاقة بتغيير عدد او تتابع قواعد الـDNA وانما هنالك عوامل اخرى محتملة منها:

- 1- وجود مايسمى بالجينات القافزة (Transposable Elements (TS).
- 2- حدوث حالة فقدان سننرومير من الكروموسوم Acentric او تغيير موقعه الى احد اطراف الكروموسوم Acrocentric او اتحاد كروموسومين يحملان قطعتين من سننرومير .Dicentric.
- 3- احيانا يتم حذف بعض الجينات الساكنة Silent genes فتصبح فعالة لظرف معين.
- 4- التغيرات التي تحدث اثناء عملية الربط Splicing عندما يتم ازالة انترون Intron معين من الصبغيات ليحل اكسون Exon محله (Elsahookie,2007).

3-2 مفهوم الاجهاد :

يشير مصطلح الاجهاد Stress من الناحية الفيزيائية الى القوة الميكانيكية المجهزة للجسم في وحدة المساحة، اما بيولوجيا فيعرف بأنه القوة التي يثبط الوظائف الطبيعية للكائنات الحية ومنها النباتات او الظروف المعيقة لفسلجة ايض الكائن الحي (Munns and Tester,2008).

يقسم الإجهاد في النبات على نوعين الاجهاد الحيوي Biotic stress الناتج عن مسببات المرضية Pathogens (فطرية، بكتيرية، فايروسية، حشرية، طفيلية) والأحيائي Abiotic stress ناتج من العوامل البيئية كالملوحة المفرطة، التعطيش (الجفاف)، الاشعاع، ارتفاع وانخفاض درجة الحرارة والمعادن الثقيلة وغيرها الموضحة تفصيلها في الشكل (5) (Wang *et al.*,2013).



شكل (5): أنواع الشدود اللاأحيائية المؤثرة في النبات.

- يقسم إجهاد ايضا الى أضراره على الأحياء الى مايلي (Laniewski and Grayson,2004):
- 1-الضرر الابتدائي المباشر: وهو تأثير سريع للإجهاد اذ قد يموت النبات خلال مدة وجيزة عند التعرض لذلك الاجهاد.
 - 2-الضرر الابتدائي غير المباشر: وهو تأثير طويل المدى للاجهاد، فمثلا قد يحدث نقص في المركبات الايضية الوسيطة أو انتاج مواد سامة نتيجة اضطرابات في الأيض الخلوي والذي يؤدي إلى ضرر واضح للنبات عند بقاءه لمدة طويلة.
 - 3-الضرر الثانوي: لا يؤثر الإجهاد بشكل مباشر أو غير مباشر لكنه يحدث اجهدا ثانويا.

2-3-1 الاجهاد الملحي :

يعرف الاجهاد الملحي Salt Stress بأنه زيادة تركيز الاملاح الذائبة في وسط نمو النبات ينتج عنها خلل في العمليات الأيضية للنبات وفعاليتها الانزيمية واختزال نموه مع احتمالية موته (Zhu,2007)، وان اهم الاملاح الذائبة في الترب العراقية هي كلوريد الصوديوم NaCl و كبريتات الصوديوم Na₂SO₄ وكلوريد المغنسيوم المائي MgCl₂.6H₂O وكبريتات المغنسيوم المائية MgSO₄.7H₂O، وتصنف التربة على انها ملحية عندما يكون التوصيل الكهربائي لمستخلص محلولها المشبع أعلى من 4ديسيمنز.م⁻¹، والتي تكون مكافئة حوالي 40مليمول من NaCl (Muhaimed *et al.*,2018)، فيما صنف (Pitman and Lauchli,2002) نوعية المياه وفق تركيز الاملاح الموضحة في الجدول(2).

جدول(2): تصنيف نوعية المياه وفق تركيز الاملاح.

تركيز الملح (mg.l ⁻¹)	الملوحة (dS.m ⁻¹)	نوع الماء
500 >	>0.6	Fresh water الماء العذب
1000-500	1.5-0.6	Slightly brackish ماء مالح قليلا
2000-1000	3.0-1.5	Brackish ماء مالح
5000-2000	8.0-3.0	Moderately saline معتدل الملوحة
10000-5000	15.0-8.0	Saline مالح

يؤثر الاجهاد الملحي في نمو النبات (مظهريا وخلويا) وبشكل احداث متسلسلة عبر الزمن والموضحة في الجدول(3) (Munns,2002).

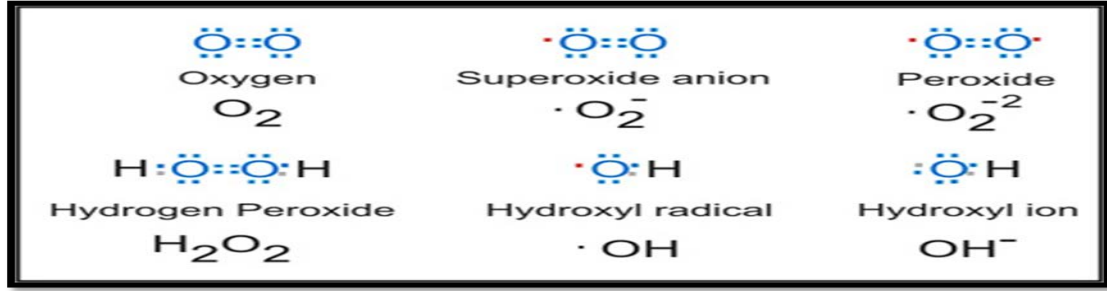
جدول(3): تاثير الاجهاد الملحي في نمو النبات عبر الزمن.

التاثيرات	المسببات	المدة الزمنية
مظهريا: اختزال مؤقت في استطالة الجذور والورقة. خلويا: انكماش حجم الخلية.	الاجهاد المائي	ثواني الى دقائق
مظهريا: اختزال دائم في استطالة الجذور والورقة. خلويا: تغيير في سلوك جدار الخلية.	الاجهاد المائي ونقص الكالسيوم	ساعات
مظهريا: اختزال ظهور الورقة وزيادة حجم الجذور على المجموع الخضري. خلويا: تثبيط تطور الخلية.	الاجهاد المائي ونقص الكالسيوم	ايام
مظهريا: قلة تكوين الافرع وموت الاوراق القديمة. خلويا: تراكم كبير لايونات الكلوريد والصوديوم	الاجهاد المائي وسمية الايونات	اسباب
مظهريا: تحوير وقت التزهير وخفض انتاج البذور والموت المبكر. خلويا: تحوير تطور الاعضاء التكاثرية وقلة انتاج المواد الممتلئة.	الاجهاد المائي وسمية الايونات	اشهر

كذلك يؤثر الاجهاد الملحي فسلجيا في فعالية الانزيمية ومسارات الفعالية الايضية للنبات كعملية بناء البروتين والكاربوهيدرات والتنفس والنتح والنقل عبر الأغشية والبناء الضوئي وزيادة انتاج جذور الأوكسجين الفعالة (Reactive Oxygen Species (ROS) او حدوث مايسمى بالاجهاد التأكسدي Oxidative Stress (الحمزاوي، 2016)، وزيادة سالبية الجهد الازموزي وسمية الايونية واختلال التوازن الأيوني ونقص امتصاص الماء لتظهر الاعراض المظهرية المتمثلة باختزال مؤشرات الانبات وضعف المجموع الخضري وتقرم الجذور وانخفاض الوزنين الطري والجاف واختزال مساحة الاوراق واحترق نهاياتها (Taher et al., 2018).

2-3-2 الاجهاد التأكسدي :

يعرف الاجهاد التأكسدي بانه زيادة الجذور الحرة Free radicles التي تشترك في تكوينها الاوكسجين التي تتميز بفعالية عالية على اكسدة المركبات تبدا من مركبات الغشاء البلازمي وصولا الى المادة النووية (تمزيق اشراطه DNA) وحدث الطفرات والتشوهات كون هذه الجذور غير مستقرة كيميائيا وتميل نحو الاستقرار بتفاعلها مع المركبات الاخرى (Singh et al., 2016)، وتشمل أنواع الاوكسجين الفعال مجموعة كبيرة منها: السوبر أوكسيد ($O_2^{\cdot-}$) و الهيدروكسيل (OH^{\cdot}) والبيروكسيد (O_2^{-2}) وبيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) والأوزون (O_3)، و الشكل (6) يوضح انواع الاوكسجين الفعال (Engwa, 2018).



شكل(6): انواع الاوكسجين الفعال.

2-3-3 مواقع توليد الجذور الحرة :

لوحظ ان جميع الكائنات الحية الهوائية ومن ضمنها النباتات تنتج أنواع الاوكسجين الفعال في العضيات الخلوية (البلاستيدات الخضراء والمايتوكوندريا والبيروكسيسومات) بشكل طبيعي وتحت ظروف الاجهاد المختلفة (Hasan et al., 2016).

1- البلاستيدات الخضراء: تعد هذه العضيات المصدر الرئيس في انتاج ROS، وان عملية اثاره الضوء لجزيئات الكلوروفيل ينتج عنها حث لعملية التحلل الضوئي المائي ومن ثم يتحرر جذر الاوكسجين

المفرد و انتاج ATP في موقع Cytochrome f في النظام الضوئي الثاني PSII وسريان الالكترونات عبر سلسلة نقل الالكترون (Electron Transport Chain(ETC) التي تحتوي على انزيمات وعوامل مختزلة (Ferredoxin) وبالنهاية يختزل NADP الى NADPH الذي يدخل في دورة كالفن، لكن في حالات الاجهاد فأن جزء من الالكترونات المتدفقة تنحرف عن حامل Ferredoxin وتتحد مع الاوكسجين ليتكون جذر السوبر اوكسيد $O_2^{\cdot -}$ وهذا مايسمى بتفاعل ملر Mhlar reaction كما في المعادلة ادناه (Oukarroum,2016).



2- المايوتوكوندرية: اكدت العديد من الدراسات التي ابتدئت من عام 1966 على ان المايوتوكوندرية تنتج انواعا مختلفة من الجذور الحرة وبشكل طبيعي من خلال نقل الالكترون عبر السلسلة التنفسية وتزداد انتاج هذه الجذور في ظروف الاجهاد الحيوي واللاحيوي (Belt *et al.*,2017)، اذ تنطلق الالكترونات متحدة مع الاوكسجين منتجة جذر $O_2^{\cdot -}$ الذي يختزل مرة اخرى بفعل انزيم السوبر اوكسيد دسميوتيز الى جذر بيروكسيد الهيدروجين (Haber-Weiss reaction) والذي يتفاعل مع Fe^{+2} او Cu^{+2} لانتاج OH^{\cdot} (Fenton reaction) عالي السمية المخترق للاغشية الخلوية و المسبب اكسدة الدهون والبروتينات مولدا بذلك مركبات سامة (4-Hydroxy-2-nonenal) ، Malondialdehyde) المنشطة لعملية الموت الخلية المرمج Programmed Cell Death (PCD) كما في المعادلتين ادناه(الحمزاوي،2016).



3- البيروكسيسومات: تمتاز هذه العضيات بغشاء منفرد ثنائي الطبقة الدهنية Single lipid bilayer membrane وذات ايض من النوع التاكسدي، وان هناك موقعان للانتاج جذر $O_2^{\cdot -}$ بمساعدة انزيمات Oxidases، فالاول يحدث في الارضية عبر مسار اكسدة Xanthine and Hypo- (Corpas *et al.*) xanthine oxidase بمساعدة uric acid الى حامض اليوريك (2001)، والثاني يحدث في الغشاء ويعتمد على NAD(P)H اذ تتكون سلسلة نقل الالكترون من الفلافوبروتين Flavoprotein و NADH وساييتوكروم b وهنا فان $O_2^{\cdot -}$ ينتج خلال سلسلة نقل الالكترون في البيروكسيسوم وبمساهمة انزيم Monodehydroascorbate reductase (MDHAR)(del Rio *et al.*,2002).

2-3-4 آليات تحمل الاجهاد الملحي :

تمثلت آليات تحمل الاجهاد الملحي بمجموعة متنوعة نذكر منها :

1-الامتصاص الاختياري للأيونات والسيطرة على إمتصاصها في الجذور وانتقالها نحو المجموع الخضري: لوحظ في الظروف الاعتيادية(عدم وجود اجهاد ملحي) ان خلايا الجذور تمتاز بصفة الانتقائية Selectivity في امتصاص الايونات البوتاسيوم عن الصوديوم، لكن هذه الصفة تفقد وظيفتها في حالة زيادة التراكيز الملحية في وسط النمو نتيجة للمنافسة الشديدة على مواقع الامتصاص في الجذور ومن ثم تراكم ايونات الصوديوم في الانسجه، ولكي يتخلص النبات من هذا التراكم للايون يقوم النبات بحجزه في فجوات داخل الجذر وتقليل معدل انتقاله الى المجموع الخضري وحث مضخة الصوديوم- بوتاسيوم Sodium-Potassium pump في تخفيض تركيزه (الحمزاوي،2013)، كما لوحظ دور الكالسيوم في معادلة الأزوموزية فإنه يعمل كناقل ثانوي للإشارة وكذلك يعمل على استحثاث منظومة الاستغاثة (SOS) Save Our Souls هذه المنظومة من ضمن منظومات معالجة الضرر الذي يصيب الـ DNA نتيجة تعرض الخلية الحية الى الإجهاد وتتضمن حث مجموعة واسعة من الجينات منها SOS1 و SOS2 و SOS3 التي تشفر على إنتاج البروتين المسؤول عن اعاققة دخول الصوديوم عبر الغشاء البلازمي وفي الوقت نفسه تحفز نقل ايونات الصوديوم وإحتجازه داخل الفجوة العصارية(Zhu,2007).

2- إنتاج المترايد من المنظمات الأزوموزية Osmolytes او المحاليل المتوافقة Compatible Solutes : وهي مركبات ايضية تعمل على خفض الجهد الازموزي وتقليل الضغط الانتفاخي في الخلية دون انكماشها(عملية البلزمة) ومستودع لبعض المغذيات والمحافظة على pH الغشاء الخلوي وازالة السموم من الخلايا، واهم هذه المركبات الاحماض الامينية(البرولين والارجنين والسيرين والكلاسين والكلايسين بيتائين) والسكريات(المالتوز والفركتوز والسكروز) والاحماض العضوية(الماليت والاوكرالات) ذات الاوزان الجزيئية الصغيرة(Bahmani et al.,2015).

3-التحويل الكيميائي في التركيب الكيميائي للأغشية الخلوية(الوهيبي،2009).

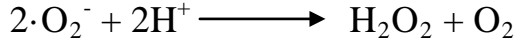
4- زيادة حث انتاج مضادات الأكسدة الإنزيمية وغير الإنزيمية -Enzymatic and Non-enzymatic antioxidants(Saisanthosh et al.,2018):

1-مضادات الأكسدة الإنزيمية :

1- إنزيم السوبر أوكسيد دسميوتيز (EC1.15.1.1) Superoxide dismutase(SOD)

يعد هذا الانزيم من الانزيمات التي توفر الخط الدفاعي الاول في النبات، وتم أكتشافه من قبل Mann و Keilin اللذين إعتقدا ان هذا الانزيم عبارة عن بروتين مرتبط بالناحس، وكانت له تسميات Erythrocuprein ، Indophenol oxidase ، Tetrazolium oxidase ، الا ان تم تعرف عليه من قبل MacCord و Fridovich واطلق عليهSuperoxide dismutase ، ولهذا

الانزيم وظيفة مهمة هي اختزال جذر السوبرأوكسيد واحد الى بيروكسيد الهيدروجين والاكسجين في عموم الاحياء الهوائية فضلا عن بعض الاحياء اللاهوائية كما في المعادلة الآتية (Abouzari and Fakheri,2015):



لوحظ في النباتات الوعائية ان هذا الانزيم يرتبط مع بعض العناصر الصغرى كعوامل مساعدة للانزيم وهي (Perry *et al.*,2010):

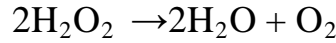
1-(Cu/Zn SOD): المتواجد في الساييتوسول Cytosol والكلوروبلاست والبيروكسيوسوم.

2-(Mn SOD): المتواجد بصورة سائدة في الماييتوكوندريا فضلا عن وجوده في البيروكسيوسوم.

3-(Fe SOD): المتواجد بصورة سائدة في الكوربلاست فضلا عن وجوده في الساييتوسول.

2- إنزيم الكاتليز (EC.1.11.1.6) Catalase (CAT):

يعد هذا الانزيم من إنزيمات الأكسدة والإختزال الحاوية على جزء غير عضوي Proshetic group وهو عنصر الحديد المكمل للانزيم SOD، ويتواجد في عموم الكائنات الحية الهوائية ويعمل هذا الانزيم على قلب Dismutate بيروكسيد الهيدروجين الناتج من البيروكسيومات بواسطة انزيمات Roxidases التي تدخل في اكسدة الأحماض الدهنية والتنفس الضوئي وهدم البيورين و تحويله الى أوكسجين وماء وبما يقارب ستة ملايين جزيئة في الدقيقة الواحدة كما في المعادلة الآتية (الحمزاوي،2016):



3- 2 إنزيم البيروكسيديز (EC1.11.1.7) Peroxidase(POD):

يعد إنزيم البيروكسيديز من انزيمات الاكسدة والاختزال Oxidoreductase ويضم هذا الانزيم مجموعة كبيرة من الانزيمات تصنف الى مجموعتين الاولى فاقدة للحديد Non-heme peroxidases والثانية حاوية للحديد Heme peroxidases والتي تقسم على عائلتين هما Peroxidase-Cyclooxygenase الموجودة في الخلايا الحيوانية و Peroxidase-Catalase التي تقسم على ثلاثة صفوف (Zamocky and Obinger,2010):

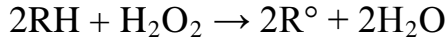
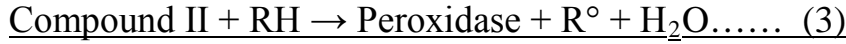
1- PeroxidasesI: منتشرة في بكتريا وخلايا حقيقة النواة ومثالها Ascorbate

peroxidase، Catalase peroxidase، Cytochrome c-peroxidase.

2- PeroxidasesII: منتشرة في الفطريات ومثالها Lignin peroxidases، Versatile

peroxidases، Manganese peroxidases.

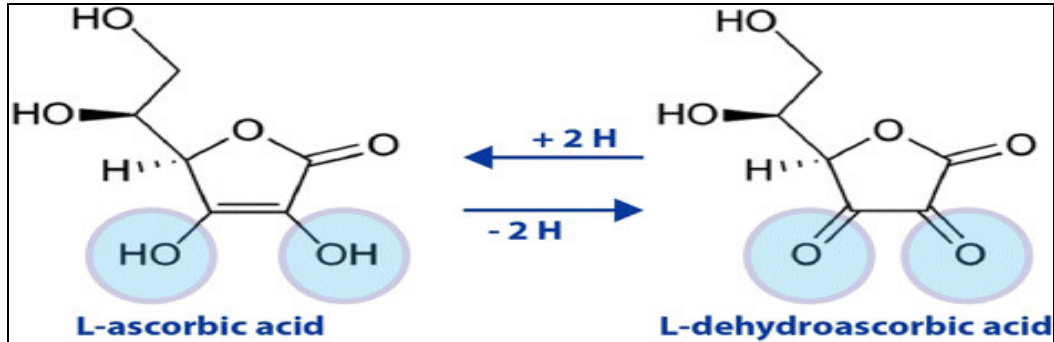
3- Peroxidases III: وهي سائدة في الخلايا النباتية وذات الأهمية في كسح الجذور الحرة (ROS، RNS) وايض الأوكسين والتئام الجروح Wound healing وعملية التلكنن و التوبر Lignification and Suberization ونضج الثمار Fruit ripening.
اما ميكانيكية عمل الانزيم في كسح الجذور الحرة فيمكن تختصر بثلاث خطوات (Pandey et al.,2017):



2- مضادات الأكسدة غير الإنزيمية :

1- فيتامين C او حامض الاسكوربيك (Ascorbic acid or Vitamin C):

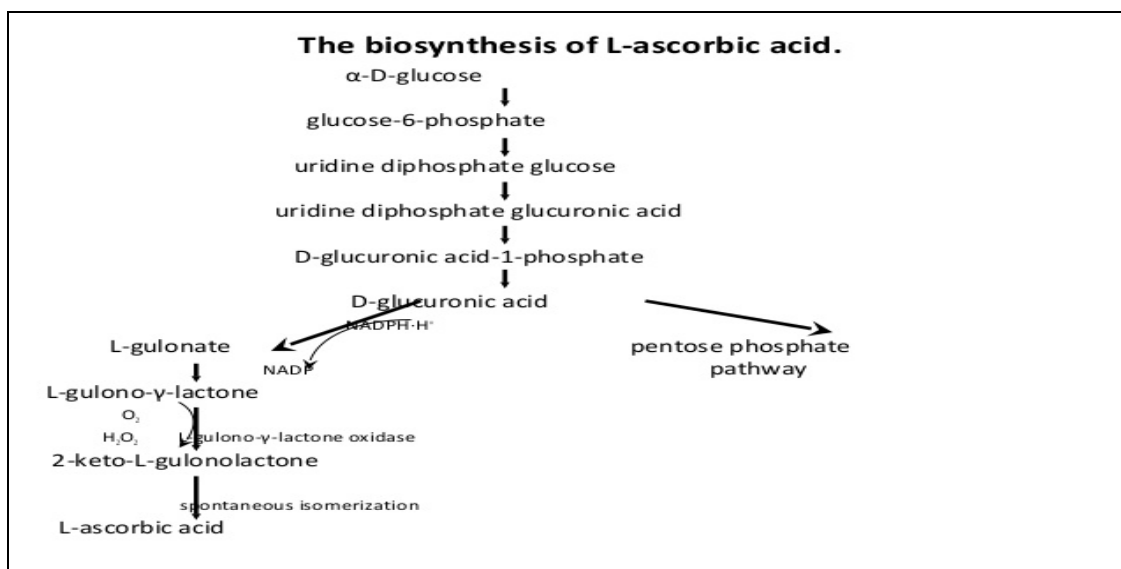
حامض قوي نسبيا (C₆H₈O₆) في درجة حرارة 25م° وتعود هذه الخاصية الى وجود مجموعة OH الايونية الحامضية على C التي تزداد حامضيتها بوجود كاربونيل اللاكتون المجاورة لـC، ويظهر حامض الاسكوربيك امتصاصا قويا مختارا في المنطقة فوق البنفسجية ويختلف الطول الموجي لقيمة الامتصاص مع الرقم الهيدروجيني للمحلول فهو 244 نانومتراً في pH=2 و 266 نانومتر في pH=6-10 في حين 294 نانومتراً في pH أعلى من 10، وتعود هذه الخواص الى مجاميع Enediol للجزئية، فعند الأكسدة يفقد ذرتي هيدروجين ويتحول الى حامض Dehydro- ascorbic(DHAR) كما في شكل(7)(Hossain et al.,2017).



شكل(7): تحولات حامض الأسكوربيك.

يوجد حامض الاسكوربيك في مختلف الانسجة النباتية ولكن بتركيز عالٍ في المناطق القائمة بها البناء الضوئي لاسيما الاوراق الحديثة ذات المحتوى الكلوروفيلي العالي (Smirnoff,2000)، ويتم بنائه في النبات كنتاج وسطي لا يرض حامض الكلورونك Glucuronic acid pathway (Smirnoff-Wheeler pathway) في المايكوكونديريا كما في شكل(8)، ثم بعد ذلك يتوزع الى

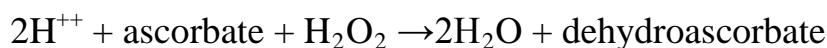
الاجزاء الاخرى من الخلية ليصل تركيزه العالي 20-300مليمول في حشوة البلاستيكية وبشكل مختزل، فيما يصل تركيزه 20-50مليمول في السايوتوبلازم و 0.2-2مليمول في ما بين الخلايا (De Gara,2004).



شكل(8): البناء الحيوي لحمض الاسكوربيك.

اثبت العديد من الدراسات ان فيتامين C له وظائف عديده منها :

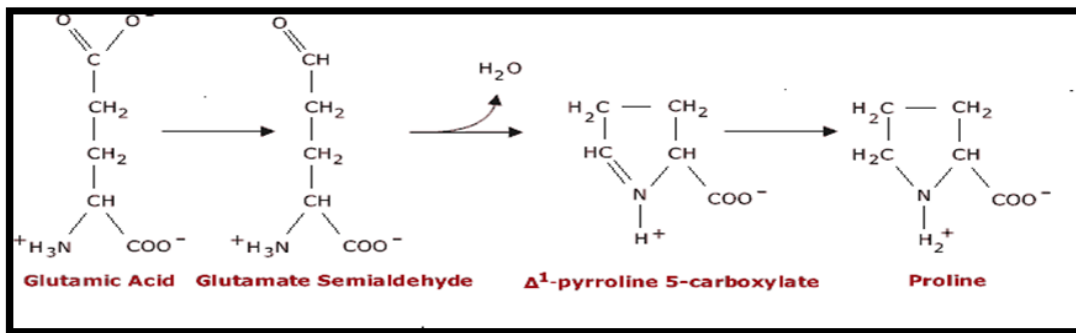
- 1- اعادة توليد فيتامين E من جذر ألفا توكوفيروكسيل α -tocopheroxyl radical وتحويل الكلوتاثيون الموكسد الى المختزل (Noctor and Foyer,1998).
- 2- يشترك كعامل مساعد في انزيم violaxantin de-ePODase المهم في بناء صبغة Zeaxanthin (Blokina *et al.*,2003).
- 3- يعمل على تنشيط عمليات البناء الضوئي ومنظم لحالات الأوكسدة والاختزال للبروتوبلازم، ويؤثر في أكسدة ونشاط الانزيمات، ويدخل في انتقال ايون الهيدروجين من NADPH الى الأوكسجين، ومهم لتنظيم الشخوخة وحماية النبات من المسببات المرضية (عبد الحافظ،2006).
- 4- يعد احد مضادات التأكسد غير الأنزيمية الذي له القدرة على تقليل أو اخمد التأثير الضار للجذور الحرة في النبات لاسيما في قابليته على اعطاء الالكترونات للعديد من التفاعلات الأنزيمية وغير الأنزيمية، ويستطيع حماية الأغشية بالاخمد المباشر لجذر السوبر أوكسيد وجذور الهيدروكسيل والأوكسجين المفرد واختزال بيروكسيد الهيدروجين إلى ماء عن طريق تفاعل أنزيم Ascorbate peroxidase كما في المعادله ادناه (Athar *et al.*,2008):



- 5- يخفف الاثر السلبي للاجهاد الملحي من خلال تحفيز بناء البروتين واختزال فعالية انزيم Protase والمحافظة على الجهد الازموزي والتوازن الايوني (El-Hariri *et al.*, 2010).
- 6- يشجع في تكوين العقد الجذرية والبراعم الجانبية وعملية التزهير وتحفيز بناء mRNA (Azzedine *et al.*, 2011).
- 7- يعمل كمرفق مهم في التصنيع الحياتي للعديد من الهرمونات النباتية لاسيما الجبرلين من خلال تحفيزه لانزيم Gibberellin 3- β -dioxxygenase والاثيلين من خلال تحفيزه لانزيم 1-aminocyclopropane-1-carboxylateoxidase، وتأثيره في ارسال الايعازات الجينية للهرمونات النباتية تحت ظروف الاجهاد (Khan *et al.*, 2011).
- 8- يؤدي دورا كبيرا في تخفيف الاثار السلبية للاجهاد H_2O_2 (الاركوازي، 2016).
- 9- يساهم في زيادة تحمل النبات للتعطيش والاجهاد المائي (عبد العظيم واحمد، 2017).
- 10- يعد الخط الدفاعي الاول في حمايه النبات من ضرر الأوزون (Smirnoff, 2018).
- 11- عامل مساعد للانزيمات Hydroxylase و Oxygenase (Fenech *et al.*, 2019).

2- حامض البرولين Proline acid:

يعد البرولين (Pyrrolidine-2-carboxylic acid $(C_5H_9NO_2)$) من الاحماض الامينية المهمة وذات الاوزان الجزئية الصغيرة المستقطبة التي ينتجها النبات، ويتم بناؤه في البلاستيدات او في الساييتوبلازم من خلال استحداث انزيم Pyrroline-5-carboxylate synthase وانزيم Pyrroline-5-carboxylate reductase المسؤولين عن تحويل حامض الكلوتامين الى حامض البرولين الموضحة في شكل (9) (Kavi Kishor *et al.*, 2015).



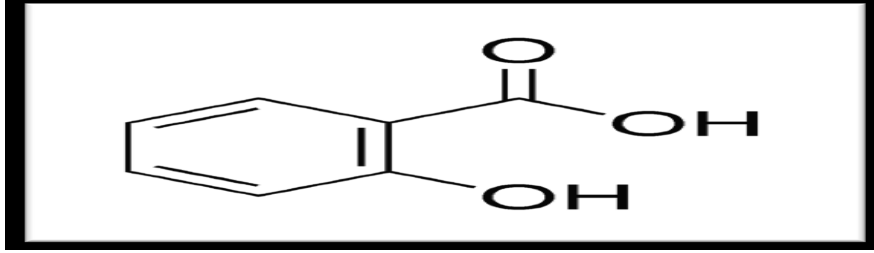
شكل (9): تحويل حامض الكلوتامين الى حامض البرولين.

يؤدي البرولين دورا مهما في السيطرة على العديد من العمليات الحيوية داخل الخلية النباتية فيعمل كمضاد للاكسدة غير انزيمي، ويؤثر في انزيمات البناء الضوئي والسيطرة على انتاج الاوكسجين الفعال والموت الخلية المبرمج (وهيب، 2015). تكمن اهميته ايضا في تنظيم

الجهد الازموزي في الخلايا وحفظ الطاقة ومخزن لعنصري النتروجين والكاربون ويساعد في تقليل الاثر السمي لـ H_2O_2 وذلك من خلال تشجيع انزيمات CAT و POD المضادة للاكسدة وبقدرته في اخماد جذر الهيدروكسيل والاكسجين المفرد وتثبيط اكسدة الدهون وبذلك يعد كقنص Quencher للجذور الحرة (Dar et al.,2016).

3-حامض الساليسيك Salicylic Acid:

حامض الساليسيك $C_6H_4(OH)CO_2H$ (Orthohydro-xybenzoic acid) مركب كيميائي ينتمي الى مجموعة المركبات الفينولية، يتكون من حلقة بنزين ترتبط بها مجموعتا الهيدروكسيل و الكاربوكسيل (الشكل 10)، وعزل لأول مرة عام 1828 في مدينة ميونخ الالمانية من قلف شجرة الصفصاف واطلق عليه اسم Salicin وبعد 10 سنوات تم تسميته بـ Salicylic acid وذلك من قبل العالم Raffaele Piria (Protasiuk and Olejnik,2018).

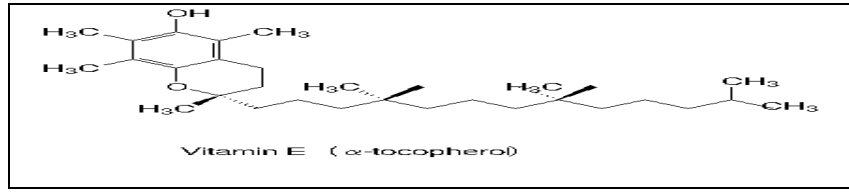


شكل(10): التركيب الكيميائي لحامض الساليسيك.

يتميز حامض الساليسيك عن الهرمونات الاخرى بصفات فريدة اذ يعمل على تنظيم العديد من العمليات الفسيولوجية للنبات لاسيما أثناء التعرض للاجهادات المختلفة(السعدي واخرون،2016)، كذلك لوحظ دوره في الحفاظ على الجبرلينات والاكسينات الداخلية عند التعرض للجهاد وفي تثبيط حامض الابسيسيك ومضاد للثلاثين المؤدي الى شيخوخة وتساقط الاوراق، فضلاً عن ذلك فانه يعمل على زيادة فعالية انزيمي Protein kinase و Nitrate reductase (Kham et al.,2010)، والحث على إنتاج الأمينات المتعددة والمنظمات الأزموزية، وله دور في زيادة كمية فيتامين C عن طريق زيادة نشاط انزيم Ascorbate oxidase الذي يسهم في بناء الفيتامين (Yusuf et al.,2013). ان لهذا الحامض دوراً هاماً في الحفاظ على اغشية البلاستيدات من الهدم اذ يحد من إنتاج الجذور الحرة من ثايوكليدات البلاستيدة ويرفع من تركيز مضادات الاكسدة الانزيمية (CAT،POD)، وتثبيط عمل انزيم Chlorophylase، ويساهم ايضا في تفعيل آليات إستبعاد ايوني Na^+ و Cl^- وزيادة امتصاص ايونات K^+ و Ca^{+2} و Mg^{+2} (Khan et al.,2019).

4- الفا توكوفيرول (α -Tocopheryl):

الفا توكوفيرول (α TOC) (Vitamin E) او (5,7,8Trimethyl-tocol) ($C_{29}H_{50}O_2$) هو من الفيتامينات الذائبة في الدهون، ويصنع في البلاستيدات بوساطة انزيم α -Tocopherol methyltransferase، ويوجد في اغشية الخلايا لاسيما اغشية الكرانا، ويتكون من نواة سداسية استبدلت بمجموعة المثل في المواقع 5، 7، 8 تسمى Chromanol head وبسلسلة ايزوبرنيويد Isoprenoid متفرعة في الموقع 2 يسمى Phytyl tail (شكل 11)، وهو اكثر فعالية عن بقية الاشكال الاخرى (بيتا (β) وكاما (γ) ودالتا (δ)) (Mène-Saffrané, 2018).



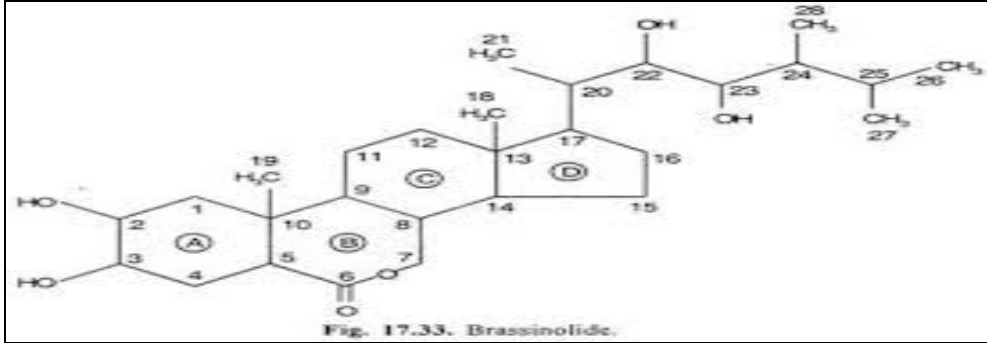
شكل (11): التركيب الكيميائي الفاتوكوفيرول.

يمثل الفاتوكوفيرول مستضدا لعدد من الاجهادات البيئية من خلال حماية الاغشية الخلوية من الاكسدة واقتناص الجذور الحرة ومنع اكسدة الاحماض الدهنية غير المشبعة خارج الخلايا ومن ثم يحمي البلاستيدات الخضر من الاكسدة الضوئية وكسح الجذور الحرة الناتجة من النظام الضوئي الثاني التي تدمر اغشية البلاستيدات وتثبط الفعالية الانزيمية المسؤولة عن بناء الكربوهيدرات عبر منح الالكترونات وتحويل α TOC الى 8-hydroperoxytocopherone الذي يعاد مرة اخرى الى α TOC بوساطة فيتامين C، ولقد ثبت ان جزيئة واحدة من α TOC تكسح 120 جزيئة من O_2^{-1} ، وكذلك يحافظ على بعض المركبات (فيتامين A و C) من الاكسدة ومن ثم منع الشيخوخة واطالة عمر الخلايا (الوهبي، 2009).

4-2 البراسينوستيرويدات (BRs):

اكتشف J. W. Mitchell مع مجموعة من الباحثين العاملين في وزارة الزراعة الامريكية في السيتينات في حبوب اللقاح مركبا فعالا اطلقوا عليه براسينولايد (Brassinolide) الموضح تركيبه الكيميائي في شكل (12)، ثم اعدوا تسميته الى البراسينوستيرويد (Brassinosteroid)، وبعد سنوات قليلة اكتشف علماء يابانيون مركب Castasterone من انسجة نبات الكستناء الذي يعد السلف الاول في بناء البراسينولايد (Rao et al., 2002). تعد البراسينوستيرويدات المجموعة السادسة من الهرمونات التي اضيفت الى قائمة الهرمونات النباتية وتتميز بانها تحمل اوكسجين على ذرات الكربون رقم 2، 3، 6، 22، 23، اوهي مشتقات متعددة الهيدروكسيل لمركب

Cholestane السائد في النباتات، ولها تأثيرات فسيولوجية مهمة من انقسام الخلايا وتوسعها ونموها (Haubrick and Assmann, 2006).



شكل(11): التركيب الكيميائي للمركب Brassinolide.

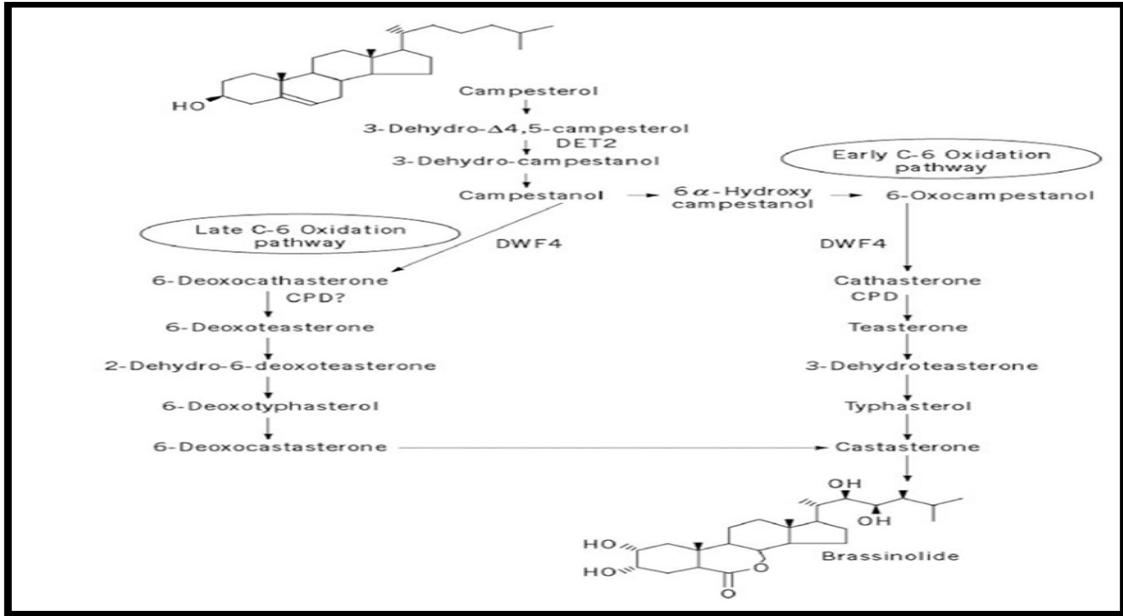
توجد البراسينوستيرويدات في النباتات البذرية والنباتات الواطئة (عاريات البذور والسرخسيات والحزازيات وبعض الطحالب الخضراء)، كذلك وجدت بتركيزات قليلة في اجزاء النبات كالجذور والسوق والاوراق، بينما بتركيزات عالية في الازهار وحبوب اللقاح والبذور، وتوجد البراسينوستيرويدات في النبات بشكل مركبات حرة او متحدة بمركبات اخرى كالسكريات والاحماض الدهنية، وقد تم استخلاص اكثر من 60 مركبا واعطيت لها ارقاما لتمييزها (BR1 و BR2 و BR3 و BR4)، كذلك وجد البعض منها ذات فعالية فسيولوجية (brassinolide و-24 epibrassinolide و 28-homobrassinolide) (Zullo, 2018).

استخلصت هذه المركبات لأول مرة من حبوب اللقاح لنباتي *Brassica napus* و *Alnus glutinosa* وسميت بمصطلح Brassins وبعدها اكتشف في نباتات اخرى، وتم استعمالها حديثاً في مجال زراعة الانسجة النباتية لما لها من تأثيرات فسيولوجية في استطالة وانقسام الخلايا وتمايز الاوعية الناقلة وفعالها التعاوني مع الاوكسين، فضلا عن دورها في تحفيز الانبات والتزهير وتأخير شيخوخة الاوراق وزيادة امتصاص العناصر (Peres et al., 2019).

2-4-1 البناء الحيوي للبراسينوستيرويدات :

يتم بناء البراسينوستيرويدات من مركبات ستيرويدية وهي Campesterol و Sitosterol و Cholesterol، اذ ان الخطوة الاولى تبدأ من مركب Campesterol الذي يعد السلف الاول Primary precursor ثم يتحول الى مركب Campestanol بعد نزع الهيدروجين من قبل الجين DET2 ثم يتحول إلى 6-Alpha- hydroxyl campestanol عبر اكسدة اولية مبكرة (Early C-6 Oxidation pathway) ثم إلى 6-Oxocampestanol، بعد ذلك تحدث عملية اكسدة لذرة الكربون السادسة بوجود الجين Dwarf4 ليتحول إلى Cathasterone وبوساطة

بروموتر cpd يشفر المركب إلى Teasterone ثم يتحول إلى Typhasterol بفعل عملية نزع الهيدروجين ثم إلى Castasterone ثم ليتحول بعدها إلى Brassinolide، اما مسار اكسدة C-6 المتأخر (Late C-6 Oxidation pathway) فيتم تحويل المركب Campestanol بشكل مباشر إلى Deoxocathasterone من قبل الجين DWF4 ليتحول إلى Deoxoteasterone الذي يتحول إلى 6-Deoxytyphasterol ومن ثم إلى 6-deoxo castasterone ليتكون Brassinolide كما في الشكل (13)، ومن المحتمل يكون بناء Brassinolide في الشبكة البلازمية الداخلية (Tanveer *et al.*, 2018).



شكل (13): البناء الحيوي لمركب Brassinolide.

2-4-2 الوظائف الفسيولوجية للبراسينوستيرويدات :

اثبتت العديد من الدراسات ان البراسينوستيرويدات لها وظائف فسيولوجية عديدة منها:

- 1- لها الدور التآزري Synergistically مع عمل الاوكسين في الاستطالة للخلايا (Sasse, 1990).
- 2- ان مركب Brassinolide له تأثيرات فسيولوجية منها تحفيز انقسام الخلايا وتوسعها وانحناء السلامة الثانية لنبات الفاصوليا ويعرف بفعالية البراسين Brassin activity (Davies, 1995).
- 3- تعمل على ثبوتية الغشاء البلازمي وتنظيم العملية الازموزية (Wang *et al.*, 1995).
- 4- تساهم في زيادة بناء صبغات البناء الضوئي ومحتوى السكريات، كما وجد انها تشجع على بناء 1-Amino Cyclopropane-1-Carboxylic acid (ACC) الذي يعد المركب الوسطي في بناء الاثلين في النباتات (Kandil *et al.*, 2007).

- 5- تعمل على ازاله سمية NaCl عن طريق زيادة فعالية انزيم Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase(Rubisco) ومن ثم زيادة محتوى السكريات وفعالية الانزيمات المضادة للاكسدة ومن ثم كسح الجذور الحرة (Ali *et al.*,2008).
- 6- تحفز عملية التزهير من خلال تقليل مستوى قوة معيق الازهار Potent floral repression وزيادة الافرع الزهرية (Divi and Krishna,2009).
- 7- تساهم في تحفيز الانزيمات المثبتة للنتروجين (Shu *et al.*,2016).
- 8- تعمل على حث مضادات الاكسدة الانزيمية (POD،CAT،SOD) وغير الانزيمية (البرولين و فيتامين C والكلوتاثيون) المقاومة للاجهاد المائي (المنتفجي،2016).
- 9- تساهم في زيادة محتوى المركبات الفعالة في النباتات الطبية كالزيوت الطيارة والقلويدات و الكلايكوسيدات (الجبوري،2017).
- 10- تقلل من سمية المبيدات وزيادة مقاومة النبات للامراض (Sharma *et al.*,2018).
- 11- تشجع على عملية إنبات البذور ونمو البادرات وتكشف وتمايز النظام الوعائي، كذلك تؤدي دورا مهما في تخفيف الاثار السلبية لاجهاد المعادن الثقيلة (Anwar *et al.*,2018).
- 12- تؤدي دورا فعالا في تثبيط فعالية حامض الابسيسك (Peres *et al.*,2019).

2-5 تأثير الاجهاد الملحي في نمو الكالس:

أكدت العديد من الدراسات إن زيادة ملح كلوريد الصوديوم الى الوسط الغذائي المستعمل في زراعة الكالس يؤدي الى فقدان الاختيارية النفاذية للاغشية الخلوية لخلايا الكالس وانخفاض عمل العضيات الخلوية واختزال الانقسام الخلوي ومن ثم انخفاض نمو الكالس وتغير مظهره الخارجي نتيجة لتاثير الايوني والازموزي (Sami *et al.*,2016). لوحظ ان التركيز 100مليمول من NaCl سبب زيادة معنوية في الوزنين الطري والجاف لكالس نبات الماش، بينما التركيز 150مليمول سبب انخفاضاً معنوياً للوزنين الطري والجاف قياساً بمعاملة السيطرة (Rao and Patil,2012)، كذلك لوحظ انخفاضاً معنوياً في الوزنين الطري والجاف للكالس المستحث لنبات الفلفل النامي في وسط MS مضاف اليه NaCl بالتركيز الملحي 12ديسيسمنز.م⁻¹ (الكعبي،2016)، فيما لوحظ ان التركيز 1.5% من NaCl سبب انخفاضاً معنوياً في الوزن الطري، فيما سبب التركيز 0.5% زيادة معنوية قياساً بمعاملة السيطرة لكالس صنفين نبات الحنطة (الكعبي واخرون،2016)، كذلك لوحظ ان التركيز 150مليمول من NaCl سبب زيادة معنوية في الوزنين الطري والجاف لكالس نبات الفاصولياء، بينما التركيز 200مليمول سبب انخفاضاً معنوياً في الوزنين الطري والجاف

للكالس قياساً بمعاملة السيطرة (Hamad,2017)، فيما وجدت زيادة معنوية في محتوى البرولين وفعالية الانظمة الانزيمية وتركيز الصوديوم وانخفاض تركيز البوتاسيوم والوزن الطري في نسيج كالس نبات الطماطة بزيادة التراكيز الملحية (8.5، 12.7، 18.5) ديسيمنز.م⁻¹ المضافة الى الوسط الغذائي قياساً بمعاملة السيطرة (2.75 ديسيمنز.م⁻¹) (Abdul-Qadir,2017)، بينما وجد انخفاض في الوزنين الطري والجاف وتركيز العناصر N وP وK وزيادة في ايوني Na⁺ و Cl⁻ لكالس نبات الحنطة النامي في وسط MS المجهز بتراكيز (0.5، 1.0، 1.5، 2.0) % من NaCl (زيدان، 2017)، فيما لوحظ ان تركيز 200مليمول من NaCl سبب انخفاض الوزنين الطري و الجاف وزيادة في تركيز البرولين في كالس نبات الرز (Alhasnawi et al.,2017)، كذلك لوحظ انخفاض تدريجي ومعنوي في نسبة البروتين في كالس نبات البنج الاسود *Hyoscyamus niger* بزيادة تراكيز NaCl (50، 100، 150)مليمول (Samsampour et al.,2018).

ذكر (Hussein and Aqlan,2011) ان تركيز المواد الفينولية والفلافونويدات ازدادت في كالس نبات الحلبة عند التركيز 0.1% من NaCl، ولكن انخفضت عند التركيز 0.3%، فيما ذكر (Hassan and Jassim,2018) ان بعض القلويدات في كالس نبات الحلبة ازدادت بزيادة التركيز 1غم/لتر⁻¹ من NaCl والبعض الاخر تزداد عند التركيز 2غم/لتر⁻¹، كذلك اشارت Al-Amin (2018) الى تفوق المواد الفينولية في كالس نبات السجاد *Coleus blumei* على انسجة النبات الام بزيادة التراكيز الملحية من NaCl (100، 200، 300)مليمول في وسط النمو.

2-6 تأثير الاجهاد الملحي في نمو النباتات في ظروف الحقل :

اشارت العديد من الدراسات على التأثير السلبي للاجهاد الملحي في النمو المظهري والأبيض الخلوي ومحتوى المادة العضوية لنبات الماش، اذ وجد انخفاض معنوي اخر في ارتفاع النبات والمساحة الورقية وعدد الافرع محتوى الكلوروفيل ومكونات الحاصل لصنفين المروية بتراكيزين (50، 75)مليمول من NaCl (Sehrawat et al.,2015)، ووجد ايضا اختزال معنوي في مؤشرات النمو المظهري ومحتوى الكلوروفيل لاربعة اصناف اخرى نامية في تربة ملوحتها 5 ديسيمنز.م⁻¹ قياساً بمعاملة السيطرة (Ullah et al.,2016). ان زيادة التراكيز NaCl (25، 50، 100)مليمول تقود النبات الى الزيادة المعنوية لمضادات الاكسدة الانزيمية (SOD ، CAT) (Ghosh et al.,2015)، وحول الموضوع نفسه سببت مياه السقي بتراكيز 50مليمول من NaCl اضراراً سلبية في صفات النمو (ارتفاع النبات والوزن الجاف وعدد الافرع) ومكونات الحاصل قياساً بمعاملة السيطرة (Rahman et al.,2017)، كذلك اثرت مياه السقي بتراكيز (30، 60، 90، 120)مليمول من NaCl باختزال معنوي في صفات النمو (ارتفاع النبات وعدد التفرعات) و

مكونات الحاصل (عدد القرينات، وزن 100 حبة ووزن الحاصل) (Hasan *et al.*, 2017)، ومن جهة أخرى لوحظ ان التركيزين الملحيين (50، 100) ملليمول لها تأثيرات سلبية في محتوى الكلوروفيل والبروتين والكاربوهيدرات ووزن المادة الجافة (Tayde *et al.*, 2018)، فيما لوحظ في دراسة أخرى زيادة في تركيز الفينولات الكلية والانزيمات المضادة للاكسدة بزيادة تراكيز ملح NaCl (30، 40، 50) ملليمول في مياه السقي (Ramzan *et al.*, 2018).

تناولت دراسات أخرى تأثير الاجهاد الملحي في نمو البقوليات الأخرى، فتسببت التراكيز الملحية (0.23، 3.13، 6.25) ديسيسمنز م⁻¹ بانخفاض مؤشرات النمو ومكونات الحاصل وزيادة في تركيز البرولين والفينولات في نبات الحمص (Ebtihal *et al.*, 2018)، كذلك سبب ري نبات الحمص بمياه مالحة (6 ديسيسمنز م⁻¹) انخفاضاً في النمو المظهري والمحتوى المائي النسبي (Neelam and Kumar, 2018)، كما تم التوصل الى نتائج مشابهة في نبات الباقلاء عند سقيها بمياه مالحة (0.5، 2.5، 5.0، 7.5) ديسيسمنز م⁻¹، اذ انخفض وزن المادة الجافة ومكونات الحاصل (0.5، 2.5، 5.0، 7.5) ديسيسمنز م⁻¹، في حين لوحظ ان التركيز 12 ديسيسمنز م⁻¹ تسبب زيادة في محتوى البرولين ومضادات الاكسدة الانزيمية لنبات البازلاء (Singh and Dwivedi, 2018)، كذلك وجد ارتفاع في تراكيز مضادات الاكسدة الانزيمية (CAT و POD) والبرولين لنبات الحلبة بزيادة تراكيز NaCl (50، 100، 150، 200) ملليمول (Mickky *et al.*, 2019).

هناك دراسات أخرى اجريت على نباتات عديدة تؤكد على زيادة الفينولات بزيادة التراكيز الاجهاد الملحي، اذ لوحظ زيادة في فعالية انزيم (PAL) Phenylalanin ammonia-lyase ومن ثم زيادة المواد الفينولية في بذور نبات الكمون المروي بتراكيز ملحية (NaCl) (50، 75، 125) ملليمول (Rebey *et al.*, 2017). ذكر (Alla *et al.*, 2019) ان التركيزين الملحيين (150، 225) ملليمول من NaCl سببت زيادة في تركيز البرولين والفينولات في نبات الحنطة.

2-7 دور فيتامين C وهرمون البراسينولايد في معالجة الاجهاد الملحي:

ان لفيتامين C اهمية في نمو النبات لحفاظه على نظام المضاد للاكسدة التي تحمي النبات من اضرار الجذور الحرة الناتجة من الاجهادات المختلفة (Athar *et al.*, 2009)، اذ اشارت دراسة Arab and Ehsanpour (2006) ان تركيزي (1 و 2) ملليمول من فيتامين C المضافة الى وسط MS النامي فيه كالس نبات الجت ادت الى التأثير الاصلاحى Ameliorative effect لاجهاد NaCl (120 ملليمول) عبر الزيادة المعنوية في الوزن الطري ومحتوى ايون البوتاسيوم وبالمقابل الانخفاض المعنوي في محتوى ايون الصوديوم، كذلك اشارت دراسة Munir *et al.* (2013) ان تركيز 0.5 ملليمول من فيتامين C قد زاد من الوزن الطري ونسبة البروتين لكالس نبات قصب

السكر النامي في وسط MS المضاف اليه تراكيز مختلفة من NaCl، فيما لوحظ *Alhasnawi et al.* (2016) ان التراكيز المضافة من فيتامين C (0.5 و 1) ملليمول الى وسط MS ادت الى ازدياد الوزن الطري والجاف ومعدل النمو النسبي وتركيز البرولين والانزيمات المضادة للاكسدة في كالس نبات الرز المتعرض للاجهاد الملحي (200 ملليمول). لوحظ ان تركيز 2 ملليمول من فيتامين C ادى الى حدوث زيادة معنوية في النمو وتركيز مضادات الاكسدة ومحتوى الفينولات الكلية لنباتي زهرة الشمس والذرة الصفراء المرورية بتركيزين (50، 100) ملليمول من NaCl (العلوي، 2015)، كذلك لوحظ ان الرش الورقي بتركيز (0.5، 1.0، 2.0) ملليمول من فيتامين C ادى الى حدوث زيادة معنوية في ارتفاع النبات ووزن المادة الجافة وحاصل نبات الماش المروري بمياه ملوحتها 150 ملليمول من NaCl (Nagda *et al.*, 2017)، كذلك ادى التركيز 0.4 غم/لتر⁻¹ من فيتامين C الى زيادة معنوية في ارتفاع النبات والمساحة الورقية والمادة الجافة وحاصل نبات الفاصوليا المروري بمياه مالحة (4 و 8) ديسيمنز. م⁻¹ (AL-Amery and Mohammed, 2017).

اشارت دراسة (Mittal *et al.* 2018) ان نقع بذور نبات السلجم بتركيز 100 ملغم/لتر⁻¹ من فيتامين C لمدة 24 ساعة ادى الى تقليل الضرر النسبي للملحة NaCl من خلال زيادة معنوية في صفات النمو الخضري ومحتوى المادة العضوية لنباتات المعاملة قياسا مع النباتات غير المعاملة، فيما اشارت دراسة (Neelambari *et al.* 2018) ان تركيز 100 ملغم/لتر⁻¹ من فيتامين C سبب اختزال الاثار الضارة للاجهاد الملحي في نبات الحنطة، كذلك اشارا Zaki and Mohamed (2018) ان الرش الورقي لنبات الباقلاء بتركيز 1 ملليمول من فيتامين C ادى الى تخفيف الاثار السلبية لملح NaCl (150 ملليمول) عبر الزيادة في الوزن المادة الجافة وتركيز مضادات الاكسدة (فيتامين C والفاثكوفيرول)، في حين اشار (Hamed and Abd Elgawad 2018) ان نقع بذور نبات الفاصولياء بتركيز 0.5 ملليمول من فيتامين C ادى الى اختزال الاثار السلبية لملح NaCl (100 ملليمول) عبر الزيادة في النمو الخضري وتركيز مضادات الاكسدة والفينولات.

اشارت العديد من الدراسات الى اهمية البراسينوستيرويدات في معالجة الاجهاد الملحي للعديد من النباتات، اذ لوحظ ان الرش الورقي بتركيز 0.5 ppm من البراسينولايد ادى الى تحفيز نشاط الانظمة الاكسدة الانزيمية وغير الانزيمية وتلافى التأثيرات الضارة للاجهاد الملحي في نبات اللوبياء (El-Mashad and Mohamed, 2011). ادى الرش بتركيز 1 ppm من البراسينولايد الى زيادة تركيز الكربوهيدرات والبروتين والكلوروفيل وفعالية انزيم POD لنبات الماش (Riaz *et al.*, 2014)، ايضا ساهم التركيز 10⁻⁸ M من 24-epibrassinolide الى زيادة معنوية في ارتفاع النبات ووزن المادة الجافة ومحتوى الكلوروفيل لنبات الماش المروري بتركيز 100 ملليمول من

NaCl (Mir *et al.*, 2015)، كذلك لوحظ ان تركيز 1ppm من البراسينولايد ادى الى حدوث زيادة معنوية في النمو الخضري والحاصل لنبات الحنطة النامي تحت تركيزين من NaCl (4 و 8) ديسيمنز.م⁻¹ (Jangid *et al.*, 2017). اشارت دراسة Machado *et al.* (2016) ان تركيز 0.4 Mg من البراسينولايد ادى الى التأثير الاصلاحى للاجهاد الملحي (NaCl) عبر الزيادة المعنوية في ارتفاع النبات ووزن المادة الجافة والمساحة الورقية لنبات اللوبياء، كذلك اشارت دراسة Lalotra *et al.* (2017) ان تركيزي (0.01 و 0.05) ملليمول من براسينولايد ادى الى تقليل الضرر النسبي للملوحة في نبات الماش عبر زيادة معنوية في ارتفاع النبات ومحتوى الكلوروفيل والبرولين.

2-8 المؤشرات الجزيئية:

يمكن تعريفها على انها تسلسلات معينة من الـDNA يمكن الأستدلال بها على موقع معين من الكروموسوم او المجين، وتستعمل لدراسة الاختلافات الوراثية بين الافراد الناتجة عن طريق الحذف Deletion أو الحشر Insertion أو إعادة الترتيب Rearrangement او الاستبدال Substitutional او الانقلاب Inversion للنوكلو تيدات في الأفراد المدروسة، وتتصف بصفات مميزة منها (Kordrostami and Rahimi, 2015):

1. الاستقرارية Stability: ومنعها عدم تأثرها بالظروف البيئية مقارنة مع المؤشرات

الاخري (المظهرية Morphological و البايوكيميائية Biochemical).

2. الشمولية Universal: ويقصد بها استعمالها لجميع الكائنات الحية احادية الخلية ومتعددة الخلايا.

3. البصمة الوراثية DNA Fingerprinting: وهي القدرة على كشف أعداد هائلة من

التباينات Numerous polymorphic.

لقد اصبحت المؤشرات الجزيئية (مؤشرات الـDNA) في وقتنا الحاضر من الطرائق المهمة لمعرفة الارتباط بين الكائنات الحية، فضلا عن قدرتها في الكشف عن أعداد كبيرة من التباينات مما جعلها قادرة على أيجاد أي أختلاف مهما كان طفيفا بين الأفراد، كذلك قدرتها في تتبع التغيرات الوراثية عبر الأجيال لكونها تستند الى قوانين مندل في التوريث (Weigand *et al.*, 1993).

تقسم مؤشرات الـDNA حسب نوع التقانة وطريقة الكشف عنها الى عدة تقانات منها ما يأتي

(Singh *et al.*, 2014):

1. تقانة الـDNA المعتمدة على التهجين الجزيئي: ومثالها مؤشرات مقاطع تباين التقييد

(RFLP) Restriction Fragment Length Polymorphism.

2. تقانة التضاعف العشوائي لقطع من الـDNA: ومثالها مؤشرات العشوائي المتضاعف Random Amplified Polymorphic-DNA (RAPD).
3. تقانة التضاعف الشبه العشوائي لقطع من الـDNA: ومثالها مؤشرات مقاطع تباين التضخيم Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP).
4. تقانة المقاطع البسيطة المتكررة (SSR) Simple Sequence Repeats أحد المؤشرات الجزيئية التي تتسم في إمكانية الكشف عن التباينات لمناطق من الـDNA التي لها تتابعات متكررة ترادفياً.

2-8-1 مؤشرات الـDNA ذات التضاعف العشوائي:

لقد بدأت المحاولة الاولى لهذه المؤشرات من قبل Welsh and McClelland عام 1990 باستعمال تقنية PCR في تضخيم قطعة DNA عشوائية ومجهولة التسلسل والوظيفة وبمساعدة بادئات متشابهة طولها حوالي 8 الى 10 زوج قاعدة واعتمادا على مواقع الارتباط التي يجدها البادئ المستعمل مع دنا المجين والبعد بين هذه المواقع ينتج التباين في عدد احجام الحزم المتضاعفة الناتجة من عملية التضاعف، وان هذا التباين ينتج اما طبيعيا من الاتحادات الجديدة اثناء الانقسام الخلوي، واما عن طريق مختلف انواع الطفرات وان أي تغير حتى لو كان على مستوى قاعدة واحدة بالحذف او الاضافة أو التبدل يسبب فقدان أو اكتساب موقع ارتباط للبادئ مما يؤدي الى ظهور أو حذف حزمة في تقنية RAPD (Baum *et al.*, 1998). تتميز مؤشرات RAPD ان بادئاتها ذات تسلسل عشوائي قصير وتحتوي على أكثر من 50% من قواعد Cytosin و Guanine وشمولية بحيث تستعمل لمختلف الكائنات الحية (Williams *et al.*, 1990).

تعد مؤشرات الـDNA ذات التضاعف العشوائي من الأكثر المؤشرات استعمالا في مختبرات الوراثة الجزيئية وتعتمد على تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction (PCR) وتعرف بأنها الطريقة التي يتضاعف بها مواقع من تتابع DNA معين باستعمال بادئ عشوائي واحد وبمساعدة أنزيم DNA polymerase لينتج عنها الملايين من القطع المتضاعفة ذات الاوزان الجزيئية المختلفة خارج الجسم الحي تشابه لما يحصل في الطبيعة في داخل الجسم الحي (Kumar and Gurusubramanian, 2011).

2-9 تقانة تفاعل البلمرة المتسلسل :

تعد تقانة تفاعل البلمرة المتسلسل من التقانات المهمة في مجال البيولوجيا الجزيئية، يتم من خلالها تضخيم قطعة معينة من DNA بالتضاعف اللوغارتمي، اذ كل دورة منه نحصل على نسختين من كل شريط حتى نصل الى ملايين من النسخ في وقت قصير فضلا عن إمكانية استعمال

شريط منفرد من DNA (Mousumi *et al.*, 2010). لقد أصبحت هذه التقنية القاعدة الأساسية لكثير من الدراسات والبحوث التي تتناول مجالات عديدة، منها دراسة التنوع الوراثي وإيجاد البصمة الوراثية وتشخيص الأمراض الوراثية والوبائية والإصابات الفيروسية للإنسان فضلا عن استعمالها الواسع في مجال اثبات النسب، التحقيق الجنائي والطب العدلي (Rahman *et al.*, 2013). تستخدم في تقنية الـ PCR الكثير من المؤشرات لغرض معرفة البصمة الوراثية وأكثرها شيوعا مؤشر RAPD الذي استعمل للكشف عن التغيرات الوراثية في النباتات الناتجة من الزراعة النسيجية (Yadav *et al.*, 2019).

أما المتطلبات التي يجب ان تتوفر لاجراء عمليات الـ PCR هي وجود جهاز البلمرة الحراري Thermalcycler ومجموعة من المواد الكيميائية التي تشمل على (Williams *et al.*, 1990):

1. إنزيم بلمرة الدنا Taq DNA polymerase.
 2. نيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات (Deoxynucleosid triphosphates (dNTPs).
 3. البادئات Primers.
 4. قالب الدنا DNA template.
 5. المحلول الدائري PCR buffer الحاوي على ايونات المغنيسيوم (Mg^{+2}).
- يمر التفاعل البلمرة المتسلسل بثلاث خطوات اساسية موضحة كالآتي (Williams *et al.*, 1990):
1. المسخ denaturation: وهي فك ارتباط شريطي الحلزون المزدوج للـ DNA عبر رفع درجة حرارة محلول التفاعل الى (92-95)م للحصول على شريطين منفردين يعمل كل واحد منهم كقالب Templet لبناء القطعة المكملة.
 2. ارتباط البادئ Primer annealing: وهي ارتباط البادئات مع التتابعات من القواعد النتروجينية في شريط الـ DNA المنفرد، ويتم ذلك عبر الارتباط بالواصر الهيدروجينية مع العلم تنخفض درجة حرارة التفاعل الى (35-65) م.
 3. الاستطالة Extension: وهي اضافة dNTPs في النهاية OH من البادئ في منطقة ارتباطه بشريط الـ DNA لتكوين الشريط المكمل، مع ارتفاع درجات حرارة الى (72-75)م وبساعة انزيم TaqDNA polymerase والذي له القدرة على بناء (35-100) نيوكليوتيدة في الثانية.

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

1-3 التجربة النسيجية :

نفذت التجربة النسيجية في مختبر زراعة الأنسجة النباتية العائد لقسم الهندسة الوراثية/ دائرة البحوث الزراعية/ وزارة العلوم والتكنولوجيا، بهدف معرفة تأثير تراكيز من فيتامين C وهرمون البراسينولايد وتداخلهما في تحمل تراكيز الاجهاد الملحي (NaCl) في كالس نبات الماش صنف المحلي *Vigna radiata* مع تقدير المادة الفعالة واخلاف واقلمة النبيتات الناتجة من الكالس المعرض للملوحة ودراسة التغيرات الوراثي وبموجب التصميم العشوائي الكامل.

1-1-3 الوسط الغذائي :

استعمل الوسط الغذائي MS (Murashige and Skoog, 1962) الجاهز والمدرجة تفاصيل مكوناته في الجدول (4) مع اضافة الفيتامينات والسكريوز (جدول 5). عدلت الدالة الحامضية (pH) للوسط إلى 5.7 بمحلولي M1 من حامض الهيدروكلوريك أو هيدروكسيد الصوديوم وأكمل الحجم النهائي بالماء المقطر واطيف الاكار 6غم. لتر⁻¹ نوع Agar Agar من شركة Himedia الهندية. سخن الوسط باستعمال جهاز الخلاط المغناطيسي Magnetic stirrer حتى الغليان ثم صب في قناني زجاجية معقمة ونقله الى جهاز المعقم autoclave على درجة حرارة 121م° وضغط 1.04 كغم. سم⁻² لمدة 20 دقيقة.

جدول (4): الأملاح اللاعضوية في وسط MS.

المجموعة	أسم المركب	الصيغة الكيميائية	التركيز (ملغم. لتر ⁻¹)
النترات	نترات الأمونيوم	NH ₄ NO ₃	1650
	نترات البوتاسيوم	KNO ₃	1900
الكبريتات	كبريتات المغنيسيوم المائية	MgSO ₄ .7H ₂ O	370
	كبريتات المنغنيز المائية	MnSO ₄ .H ₂ O	22.3
	كبريتات الزنك المائية	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.60
	كبريتات النحاس المائية	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
الهاليدات	كلوريد الكالسيوم المائي	CaCl ₂ .2H ₂ O	440
	كلوريد الكوبلت المائي	CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
	يوديد البوتاسيوم	KI	0.83
B-P-Mo	فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين	KH ₂ PO ₄	170
	مولبيدات الصوديوم المائية	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25
	حامض البوريك	H ₃ BO ₃	6.20
الحديد المخلبي	كبريتات الحديدوز المائية	FeSO ₄ .7H ₂ O	27.84
	أثلين ثنائي الأمين رباعي حامض الخليك ثنائي الصوديوم	Na ₂ -EDTA	37.25

جدول(5): المركبات العضوية في وسط MS.

المادة	الصيغة الكيميائية	التركيز(ملغم.لتر ⁻¹)
Pyrodoxine- HCl (B6)	C ₈ H ₁₁ NO ₃ .HCl	0.5
Nicotinc acid (B3)	C ₂ H ₅ NO ₂	0.5
Glycine	C ₆ H ₅ O ₂	2.0
Thiamine- HCl (B1)	C ₁₂ H ₁₇ ClN ₄ OS.HCl	0.1
Myo-Insitol	C ₆ H ₁₂ O ₆	100
Sucrose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	30000
Agar	C ₂₄ H ₃₈ O ₁₉	6000

2-1-3 تعقيم الأجهزة والأدوات:

1-2-1-3 تعقيم منضدة سريان الهواء الطبقي :

عقمت من خلال تشغيل اشعه فوق البنفسجية UV لمدة ساعة قبل بداية العمل ثم رشت المنضدة بالكحول الايثيلي بتركيز 70% مع مسحها بورق النشاف Tissue papers.

2-2-1-3 تعقيم الميزان :

عقم داخل منضدة الهواء الطبقي برشه بكحول الايثيلي(70%) ومسحه مباشرة بورق النشاف.

3-2-1-3 تعقيم أدوات العمل :

عقمت جميع الأدوات المستعملة في عملية الزراعة من ملاقط ومشارط وزجاجيات بجهاز المعقم على درجة حرارة 121م° وتحت ضغط 1.04 كغم.سم⁻² لمدة 20 دقيقة وبعد أخراجها وضعت الملاقط والمشارط في فرن التجفيف (Dryer oven) على درجة حرارة 50م° ولمدة 24 ساعة، عند الزراعة يتم إدخال جميع متطلبات العمل داخل منضدة سريان الهواء الطبقي المعقمة مسبقاً، أما الشفرات والملاقط فتعقم قبل البدء بالعمل وأثناء العمل باستعمال الكحول الايثيلي(95%) مع تعريضها الى اللهب من Burner للحرق الى درجة الاحمرار وتركها لتبرد للضمان الاضافي للقضاء على الملوثات مع استعمال الكحول الايثيلي(70%) في تعقيم الأيدي، اما تعقيم الاطباق الزجاجية فيتم وضعها داخل حاويات معدنية (Canisters) وتوضع في جهاز المعقم بدرجة حرارة 121م° وتحت ضغط 1.04 كغم.سم⁻² لمدة 20 دقيقة.

4-2-1-3 التعقيم السطحي للبذور وزراعتها :

عقمت البذور داخل منضدة سريان الهواء الطبقي سطحيا بعد نقعها بالكحول الايثيلي(70%) لمدة 30 ثانية، ثم نقلها إلى قناني زجاجية معقمة حاوية على محلول هايبوكلورات الصوديوم(6%) بتراكيز (0، 1، 2)% ولمدة (10، 15) دقيقة مع التحريك المستمر.

غسلت البذور بالماء المقطر المعقم اربع مرات من اجل إزالة بقايا المادة المعقمة من سطحها، ثم زرعت بعد تعقيمها في قناني زجاجية معقمة سعة 125مل وبواقع عشرة بذور لكل قنينة داخل منضدة سريان الهواء الطبقي على وسطMS(الجدول4و5) بقوة أملاح كاملة والخالي من المنظمات النمو وبواقع عشرة تكررات لكل معاملة، ثم وضعت في غرفة التحضين Incubator Chamber وعلى شدة إضاءة مقدارها 1000لوكس ولمدة 16ساعة ضوء و 8ساعة ظلام وعلى درجة الحرارة 25 ± 2 °م كما في الشكل(14). سجلت النتائج عن نسبتي الانبات والتلوث Contamination percentage بعد مرور سبعة أيام من الزراعة كما في الشكل(15) باعتماد المعادلة الآتية:

النسبة المئوية للتلوث = معدل عدد البذور التي ظهر فيها التلوث والمزروعة في قنينة واحدة / معدل عدد البذور في القناني الكلية $\times 100$



شكل(14): البذور المعقمة من نبات الماش. شكل(15): بادرات نبات الماش بعمر سبعة الايام.

3-1-3 استحثاث الكالس من الاجزاء النباتية المختلفة لبادرات نبات الماش :

اجريت زراعة الاجزاء النباتية المستأصلة من بادرات نبات الماش وهي القمة النامية Shoot tip(Sh.) والاوراق الفلقية Cotyledon leaves(Cot.) والسويقة الجنينية العليا Epicotyle(Ep.) والسويقة الجنينية السفلى Hypocotyl(Hyp.) والموضحة في الشكل(16) في وسط MS الحاوي على توليفات هرمونية مختلفة(الجدول6) وبواقع عشرة تكررات لكل معاملة وداخل منضدة السريان الهواء الطبقي، ثم نُقلت الزروعات الى غرفة التحضين تحت ظروف التي

ذكرت في الفقرة (3-1-2-4) من اجل استحثاث الكالس، وبعد 30 يوما من تاريخ الزراعة تم حساب النسبة المئوية لاستحثاث الكالس(%) الموضحة في المعادلة الاتية(Atabaki *et al.*,2018):
 استحثاث الكالس(%)=عدد الاجزاء النباتية الناتج منها الكالس/ العدد الكلي للاجزاء النباتية $\times 100$



شكل(16): الاجزاء النباتية المستأصلة من بادرات نبات الماش.

جدول (6) التوليفات الهرمونية في استحثاث الكالس.

الجزء النباتي	المصدر	التوليفة الهرمونية(ملغم.لتر ⁻¹)	ت
جميع الاجزاء		السيطرة	1
الاوراق الفلقية	Himabindu <i>et al.</i> (2014)	BA(0.5)	2
الاوراق الفلقية	Prasad <i>et al.</i> (2014)		
الاوراق الفلقية	Patra <i>et al.</i> (2018)		
الاوراق الفلقية	Sagare and Mohanty(2015)		
الاوراق	Wahyuni <i>et al.</i> (2017)		
الاوراق الفلقية	Sagare and Mohanty(2015)	NAA(0.1)	3
الاوراق الفلقية	-----	BA(0.1)+NAA(0.2)	4
الاوراق الفلقية	Sagare and Mohanty(2015)	BA(0.5)+NAA(2)	5
الاوراق الفلقية	Patra <i>et al.</i> (2018)	BA(1)+NAA(1)	6
الاوراق الفلقية	Patra <i>et al.</i> (2018)	BA(2)+NAA(0.5)	7
الاوراق الفلقية	El-kaaby <i>et al.</i> (2015)	KINT(0.5)+IAA(0.5)	8
القمة النامية، الاوراق الفلقية، السويقة الجينية السفلى	الكعبي(2016)	KINT(1)+IAA(1)	9
		KINT(2)+IAA(2)	10
جميع الاجزاء	-----	KINT(4)+IAA(4)	11
جميع الاجزاء	-----	KINT(6)+IAA(6)	12

3-1-4 إدامة الكالس :

حدد الجزء النباتي المناسب والتوليفة الهرمونية الجيدة التي أعطت افضل النتائج(كالس مكلنن ومتماسك القوام) تمت زراعة الكالس الناتج من مرحلة الاستحثاث مرة ثانية subculture بعد مرور 21يوما في وسط MS جديد مجهز بالتوليفة(NAA و BA)(0.5 و 2)ملغم.لتر⁻¹ بالتتابع من اجل زيادة كمية الكالس.

3-1-5 معاملات تجربة الزراعة النسيجية:

بعد إكثار الكالس المستحث بالكمية المطلوبة أعتد وزن ثابت(100ملغم) من الكالس وزرع في وسط MS وبالتوليفة الهرمونية المذكورة اعلاه مع اضافة تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم(99.9% NaCl Analar) (6، 9، 12، 15)ديسيسمنز.م⁻¹(قيست الإيصالية الكهربائية لوسط MS بأستعمال جهاز ECmeter) وتركيزين من فيتامينC (Vit.C) (20، 40)ملغم.لتر⁻¹ فضلا عن معاملة السيطرة صفر وتركيزين من هرمون البراسينولايد(BR) (0.02، 0.04) ملغم. لتر⁻¹ فضلا عن معاملة السيطرة صفر والتداخل بين عوامل الدراسة الثلاثة. حضرت تراكيز الفيتامين والهرمون اعلاه من خلال إذابة 1غم من كلا المركبين بالماء المقطر وأكمل الحجم إلى 1000مل من الماء المقطر(محلول الاصل Stock)، ثم حضرت التراكيز المطلوبة وحسب قانون التخفيف الاتي :

$$C_2 \times V_2 = C_1 \times V_1$$

إذ ان : C_1 : تركيز المحلول الاصل ، V_1 : حجم المحلول الاصل

C_2 : التركيز المطلوب ، V_2 : الحجم المطلوب

نفذت التجربة بثلاثة تكرارات لكل معاملة وبموجب التصميم العشوائي الكامل وحضنت في الظروف السابقة المذكورة في الفقرة(3-1-2-4) وبعد مرور 30يوما تم حساب مؤشرات الكالس.

3-1-6 المؤشرات المدروسة في الكالس:

1. **الوزن الطري(ملغم):** حسب باستعمال ميزان حساس بعد وضع كالس على ورق ترشيح

لازالة بقايا الاثر المتبقي للاكار باستعمال شفره جراحية.

2. **الوزن الجاف(ملغم):** حسب بعد تجفيف كالس في فرن كهربائي لمدة 48ساعة وبدرجة

حرارة تراوحت 65-70 م° ولحين ثبوت الوزن.

3. **دليل تحمل الاجهاد الملحي(%):** حسب دليل تحمل الاجهاد الملحي بموجب المعادلة الاتية

:(Bagci et al.,2007)

دليل تحمل الاجهاد الملحي(%)=الوزن الجاف للمعاملة /الوزن الجاف لمعاملة السيطرة $\times 100$

4. **معدل النمو المطلق (ملغم.يوم⁻¹):** حسب معدل النمو المطلق للكالس وفقا للمعادلة المقترحة من قبل (El-Yacoubi *et al.*, 2010): معدل النمو المطلق (ملغم.يوم⁻¹) = $(W_2 - W_1) / \Delta t$ اذ يمثل: W_1 ، W_2 = الوزن الطري (ملغم) للكالس في بداية ونهاية التجربة بالتتابع. Δt = مدة تحضين الكالس في غرفة الزراعة (30 يوم).

5. **معدل النمو النسبي (%):** حسب معدل النمو النسبي للكالس وفقا للمعادلة المقترحة من قبل (El-Yacoubi *et al.*, 2010)

معدل النمو النسبي (%) = معدل نمو الكالس للمعاملة / معدل نمو الكالس لمعاملة السيطرة $\times 100$

6. **استدامة الكتلة الحيوية (ملغم.يوم):** حسب استدامة الكتلة الحيوية وفقا للمعادلة المقترحة من قبل (Kvent *et al.*, 1969): استدامة الكتلة الحيوية (ملغم.يوم) = $2 / \Delta t \times (W_1 + W_2)$

7. **النضح الالكتروليتي النسبي (%):**

قدر النضح الالكتروليتي النسبي (REL) *Relative Electrolyte Leakage* من خلال وزن 100 ملغم من الكالس الطري ووضعه في انبوبة اختبار مضافا اليه 10 مل من الماء المقطر ثم وضعت الانابيب في حمام مائي على درجة حرارة 25م° ولمدة 24 ساعة ، ثم قرئت التوصيلية الكهربائية ورمز لها EC_1 ، بعد ذلك وضع الانابيب نفسها في جهاز المعقار على درجة حرارة 121م° لمدة 15 دقيقة وبعد أخراجها بردت على درجة حرارة المختبر، ثم مرة اخرى قرئت التوصيلية الكهربائية ورمز لها EC_2 وبعتماد المعادلة الآتية (Sullivan, 1972):

$$REL = EC_1 / EC_2 \times 100$$

8. **محتوى العناصر (مايكروغرام.غم⁻¹):**

اخذ وزن معين من الكالس المجفف وتم طحنه بشكل جيد، ووضع في انابيب الاختبار واضيف اليه 5مل من حامض الكبريتيك H_2SO_4 (98%) و 2مل من بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 (36%) ورجت المحتويات ثم وضعت على مصدر حراري (هيتز كهربائي) لحين الحصول على اللون الرائق للمستخلص الحامضي واكمل الحجم الى 50مل بالماء المقطر (Agiza *et al.*, 1960)، ليصبح جاهزا لتقدير محتوى العناصر المدروسة (النتروجين، الفسفور، البوتاسيوم، الكالسيوم، المغنسيوم، الصوديوم والكلور) (مايكروغرام.غم⁻¹) بموجب الطرائق الآتية:

❖ محتوى عنصر النتروجين: تم تقديره حسب طريقة كلدال باستعمال جهاز مايكروكلدال

(Chapman and Pratt, 1961) (Micro- Kjeldahl).

❖ محتوى عنصر الفوسفور: تم تقديره باستعمال جهاز المطياف الضوئي Spectro-photometer وحامض الاسكوربيك ومولبيدات الامونيوم عند الطول الموجي 880nm (John,1970).

❖ محتوى العناصر البوتاسيوم والصوديوم والمغنسيوم: تم تقديرهم بوساطة جهاز الامتصاص الذري Atomic absorption spectrophotometer.

❖ محتوى عنصر الكالسيوم: تم تقديره باستعمال طريقة معايرة الاثيلين ثنائي امين رباعي حامض الخليك ثنائي الصوديوم (EDTANa₂، Versinate)(N0.01) بمساعدة دليل الميروكسيد(بربرات الامونيوم) مع اضافة 2مل من سيانيد الصوديوم لترسيب العناصر الثقيلة في العينة(Wimberely,1968).

❖ محتوى عنصر الكلور: تم تقديره بموجب طريقة مور Mohr باستعمال نترات الفضة (AgNO₃) (N0.05) مع بضع قطرات من دليل كرومات البوتاسيوم(1%) باعتماد المعادلة الاتية(Erwin and Houba,2004):

تركيز Cl⁻(%)=حجم AgNO₃(مل) × عياريتها × حجم النموذج × عامل التخفيف

محتوى العنصر(مايكروغرام.غم⁻¹)=تركيز العنصر(%) × الوزن الجاف(ملغم) × 10

9. نسبة البروتين(%):

قدرت نسبة البروتين وفقا للمعادلة الاتية(Vopyan,1984): Protein(%)=N(%) × 6.25

10. تركيز البرولين(مايكروغرام .غم⁻¹):

قدر تركيز حامض البرولين في الكالس بموجب طريقة(Bates et al.(1973)، اذ أخذ وزن 100ملغم من الكالس الجاف ووضع في جفنة خزفية وطحنه بعد إضافة 10مل حامض سلفوساليسليك Sulfosalicylic acid تركيزه 3% (تم تحضيره بأذابة 3غم من الحامض في 100مل من الماء المقطر) وترك مدة من الزمن، ثم وضع المزيج بجهاز الطرد المركزي على سرعة 2000 دورة دقيقة⁻¹ لمدة عشر دقائق ورشح باستعمال ورق الترشيح، ثم سحب 2مل من الراشح ووضع في انابيب الاختبار وأضيف إليه 2مل كل من حامض الخليك الثلجي ومحلل الننهايدرين الحامضي Acidic ninhydrin (تم تحضيره باذابة 1.25غم من ننهايدرين في 30مل من حامض الخليك الثلجي و20مل من حامض الفسفوريك(M6) وحفظه في الثلاجة وعند درجة حرارة 4م° واستعمل لمدة 24ساعة)، ثم ترك المزيج على نار هادئة حتى ظهور اللون الأصفر، بعد ذلك تم وضع الأنابيب في حمام مائي بدرجة حرارة 100م° لمدة ساعة واحدة وإضيف إليه 4مل من مادة تولوين Toluene مع الرج المستمر لمدة 30ثانية ثم ننتظر ليظهر اللون الاحمر،

ثم قيست شدة اللون (الكثافة الضوئية) بوساطة جهاز المطياف الضوئي عند الطول الموجي 520nm، وتمت مقارنة هذه القراءات مع المنحنى القياسي للبرولين النقي.

3-1-7 المواد الفعالة في الكالس (مايكروغرام. مل⁻¹):

اختيرت ثمانية معاملات لتقدير المواد الفعالة في كالس نبات الماش وهي كالاتي:

- 1- 6ديسيسمنز.م⁻¹ NaCl.
- 2- 6ديسيسمنز.م⁻¹ NaCl + 40ملغم.لتر⁻¹ Vit.C.
- 3- 6ديسيسمنز.م⁻¹ NaCl + 0.04ملغم.لتر⁻¹ BR.
- 4- 6ديسيسمنز.م⁻¹ NaCl + 40ملغم.لتر⁻¹ Vit.C + 0.04ملغم.لتر⁻¹ BR.
- 5- 15ديسيسمنز.م⁻¹ NaCl.
- 6- 15ديسيسمنز.م⁻¹ NaCl + 40ملغم.لتر⁻¹ Vit.C.
- 7- 15ديسيسمنز.م⁻¹ NaCl + 0.04ملغم.لتر⁻¹ BR.
- 8- 15ديسيسمنز.م⁻¹ NaCl + 40ملغم.لتر⁻¹ Vit.C + 0.04ملغم.لتر⁻¹ BR.

شخصت المواد الفعالة للمعاملات اعلاه في شركة الحقول البيضاء للاستشارات البيئية

والهندسية/الحارثية/بغداد باستعمال جهاز الكروماتوغرافي السائل عالي الاداء High Performance Liquid Chromatography (HPLC) نوع Shimadzu 2010 FLC لتحديد زمن الاحتجاز Retention time ومساحة حزمة العينة Arae اعتمادا على النماذج القياسية (11 مادة فعالة الموضح صيغها التركيبية في الملحق 1) التي تم الحصول عليها من شركة سكما للتجارة العامة، من تثبيت الظروف المثلى لفصل المركبات القياسية بتركيز 25مايكرو غرام.مل⁻¹ والموضحة في الجدول (7).

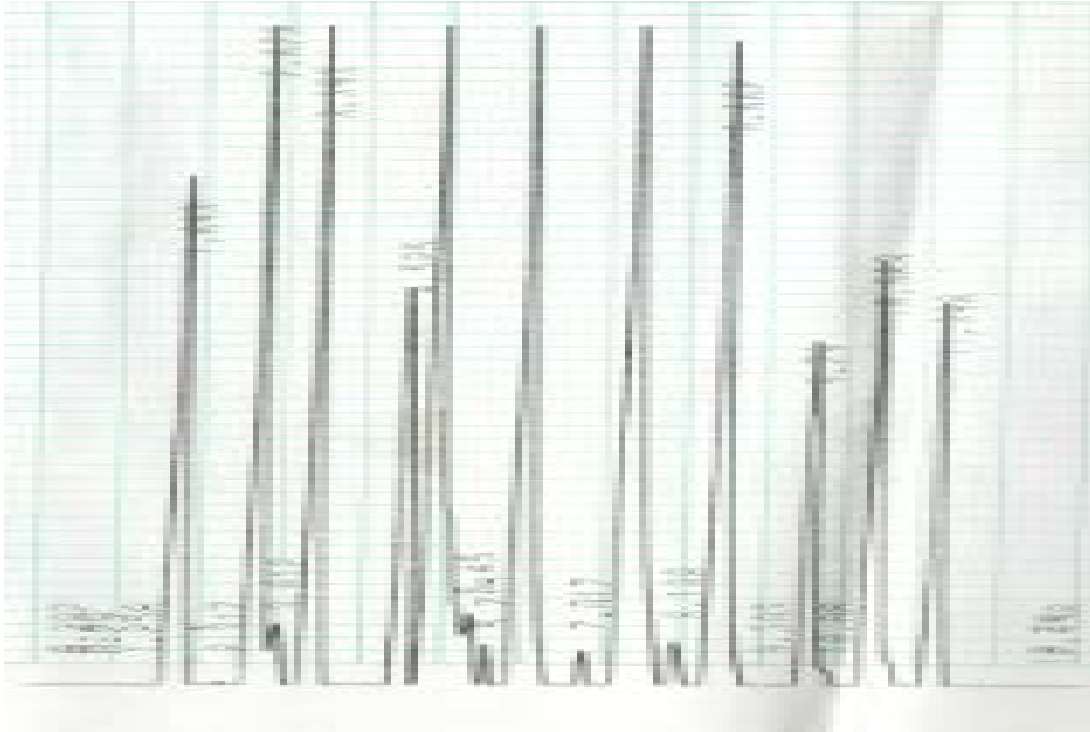
جدول (7) ظروف الفصل في جهاز HPLC.

HPLC	نوع العمود
50×2.0mm I.D	طول العمود
acetonitrile:methanol:0.1 phosphoric acid(6:3:1 v/v)	الطور المتحرك
UV 280 nm	نوع الكاشف
1.2 ml.min ⁻¹	سرعة الجريان
25c°	درجة الحرارة الفصل
20mL	حجم العينة

تم قياس زمن الاحتجاز ومساحات الحزم للنماذج القياسية مقدره بالميكرو فولت و الموضحة في الجدول (8) والشكل (17)، ثم حددت تراكيز المواد الفعالة للمعاملات كميأ باستعمال المقارنة بين النموذج القياسي والنماذج المراد قياسها تحت الظروف نفسها.

جدول (8) المركبات القياسية 11 وبعض مواصفاتها بتركيز 25 مايكرو غرام.مل¹.

Seq.	Compound	Retention time	Area
1	Hydroxy benzoic acid	1.69	126907
2	Tannic acid	2.67	126107
3	Gallic acid	3.39	145941
4	Quercetin	4.52	119001
5	Syringic acid	4.90	169188
6	Ferulic acid	6.11	209820
7	Chlorogenic acid	7.49	321777
8	Gentisic acid	8.66	221127
9	Shikimic acid	9.80	117700
10	Coumaric acid	10.50	179703
11	Protocatechuric acid	11.39	179419



شكل (17): منحنى النموذج القياسي للمواد الفعالة في كالس نبات الماش باستعمال جهاز

.HPLC

3-1-7-1 طريقة استخلاص المواد الفعالة :

حضرت النماذج المراد قياسها من خلال اخذ وزن معين من مسحوق الكالس واضيف اليه 5مل من 80% كحول الميثانول (v/v) وتم معاملة المستخلص بجهاز الموجات فوق الصوتية ب60 دورة وعند درجة فعالية 60% وفي درجة الحرارة 25م° ولمدة 25 دقيقة، وبعد ذلك استخدم جهاز الطرد المركزي بسرعة 7500 دورة ولمدة 15 دقيقة. مرر الراشح الرائق لكل العينة على عمود الفحم لازالة الالوان قبل عملية تبخيرها بجهاز المبخر الدوار لغرض تجفيف المستخلص عند درجة 45م°، تم إضافة الميثانول بحجم 1مل للبقايا المستخلصة من المبخر الدوار ورشح الخليط بوساطة فلتر وخنز في الثلجة تحت درجة حرارة 4م°، بعد ذلك تم حقن الجهاز بمحاليل النماذج بحجم 20 مايكروليتر وتحت ظروف الفصل المذكورة في الجدول (7) (Rodríguez Delgado *et al.*, 2001)، ومن ثم تم القياس الكمي للمركبات الموجودة في النماذج عن طريق مقارنة الحزم المجهولة للنماذج مع مساحات الحزم المعروفة للمواد القياسية المطلوبة (جدول 8) وتم حساب تراكيز المركبات المشخصة (مايكروغرام.مل⁻¹) في كل نموذج بموجب المعادلة الآتية:

تركيز المركب (مايكروغرام.مل⁻¹) = (مساحة حزمة المركب \ مساحة حزمة النموذج القياسي) × تركيز النموذج القياسي × عدد مرات التخفيف
 علما إن تركيز المحلول القياسي = 25 مايكروغرام.مل⁻¹ ، عدد مرات التخفيف = 10

3-1-8 اخلاف النباتات :

بعد تعريض الكالس للاجهاد الملحي (NaCl) بتراكيزه (6، 9، 12، 15) ديسيسمنز.م⁻¹ كما ذكر في الفقرة (3-1-5) سابقا وبعد مرور 30 يوما من تعريضه للاجهاد، نقل الكالس الى مرحلة الاخلاف regeneration، اذ تم اخذ خمس قطع (100 ملغم.قطعة⁻¹) منه وزراعته في وسط MS الحاوي على معاملات هرمونية مختلفة وكانت كالاتي:

1- Benzylamino purine (BAP) (5ملغم.لتر⁻¹) + Adinosin sulfate (Ads) (20

ملغم.لتر⁻¹) (Gatica Arias *et al.*, 2010).

2- Thidiazuron (TDZ) (0.2ملغم.لتر⁻¹) (Nafie *et al.*, 2013).

3- Zeatin (ZE) (1.01ملغم.لتر⁻¹) (Aftabi *et al.*, 2018).

وبواقع عشرة تكررات لكل معاملة وداخل منضدة السريان الهواء الطبقي، ثم نُقلت الزروعات الى غرفة التحضين تحت الظروف التي ذكرت في الفقرة (3-1-4) لغرض تمايز او اخلاف

النباتات، وبعد مرور 28 يوماً من تاريخ الزراعة تم حساب النسبة المئوية للاخلاف (%) المبينة في المعادلة الآتية وعدد الأفرع العرضية (Arefin *et al.*, 2018):

نسبة الاخلاف (%) = عدد قطع الكالس التي ظهر بها التمايز / العدد الكلي لقطع الكالس $\times 100$
9-1-3 تجذير الأفرع العرضية المتميزة :

زرعت الأفرع العرضية المتميزة من المعاملة الهرمونية 5 ملغم لتر⁻¹ من BAP + 20 ملغم لتر⁻¹ من Ads والنتيجة من الكالس المعامل بالتراكيز الملحية (6، 9، 12) ديسيسمنز.م⁻¹ بعد إزالة بقايا الكالس على وسط التجذير المتكون من وسط MS كامل القوة والمجهز بالمنظم النمو IBA وبتركيز 1 ملغم لتر⁻¹ (Prasad *et al.*, 2014)، وبواقع عشرة تكررات وداخل منضدة سريان الهواء الطبقي، ثم نُقلت الزروع إلى غرفة التحضين تحت الظروف التي ذكرت في الفقرة (3-1-2-4) لغرض تشجيع على نمو الجذور ولمدة 28 يوماً من تاريخ الزراعة.

10-1-3 الإقلمة :

استخرجت النبيتات Plantles الناتجة من كالس المعامل بالتراكيز الملحية (6، 9، 12) ديسيسمنز.م⁻¹، فضلاً عن النبيتات الناتجة من زراعة البذور نسيجياً في وسط MS ورمز لها (0) وغسلت بالماء الجاري لإزالة بقايا الوسط الغذائي الملتصق بجذورها كونه وسطاً يحتوي على السكرز المساعد على نمو الأحياء المجهرية. نقلت النبيتات إلى قناني زجاجية حاوية على ماء حنفية فقط وغطيت بأغطية شفافة لمدة سبعة أيام كما في الشكل (18).



شكل (18) أقلمة النبيتات الناتجة من الكالس المعامل بالتراكيز الملحية (6، 9، 12) ديسيسمنز.م⁻¹ من اليمين إلى اليسار.

رفعت الاغطية تدريجيا لمدة ساعتين لثلاثة ايام الاولى، ورفعت الاغطية في الاسبوع الثاني ونقلت من ظروف المختبر الى ظروف البيت البلاستيكي poly-house التابع لدائرة البحوث الزراعية / وزارة العلوم والتكنولوجيا لاجل زراعتها في التربة وتحويل تغذيتها من رمية المعيشة Heterotrophic الى ذاتية المعيشة Autotrophic. غطيت فوهات الاصص بأغطية بلاستيكية شفافة للحفاظ على رطوبة نسبية عالية حول النباتات (ترفع بشكل تدريجي ساعتين الى ثلاث ساعات يوميا في الاسبوع الاول ورفعت بشكل نهائي في الاسبوع الثاني) كما في الشكل (19)، سقيت بمحلول MS نصف القوة ولمدة شهر من تاريخ نقل الزروعات ثم بعدها بماء الحنفية لحين نهاية التجربة وبموجب تجربة عاملية ذات تصميم عشوائي كامل وبواقع ثلاثة تكررات لغرض دراسة بعض مؤشرات النمو ومكونات الحاصل.



شكل (19) النباتات الناتجة من البذور (نسيجيا) والكالس في ظروف البيت البلاستيكي.

11-1-3 ظروف الزراعة في البيت البلاستيكي:

ملئت الاصص البلاستيكية ب 2000غم من خليط متكون من تربة زميجية والبتاموس بنسبة 1:1 (عقم مسبقا بجهاز المعقم على درجة حرارة 121م° وضغط 1.04كغم.سم⁻² ولمدة 20 دقيقة)، والجدول (9) يوضح بعض الصفات الكيميائية والفيزيائية للتربة التي تم تحليلها في

مختبرات مركز التربة ومعالجة المياه / دائرة البحوث الزراعية / وزارة العلوم والتكنولوجيا
وحسب الطرائق الموصوفة من قبل Page et al.(1982).
جدول (9) بعض الصفات الكيميائية والفيزيائية لتربة تجربة البيت البلاستيكي.

القيمة	الصفة	القيمة	الصفة
0.08 mmol.L ⁻¹	N الجاهز	925	الرمل
0.05 mmol.L ⁻¹	P الجاهز	24	الغرين
0.52 mmol.L ⁻¹	K الجاهز	51	الطين
8.51 mmol.L ⁻¹	Ca	رملية	نسجة التربة
3.25 mmol.L ⁻¹	Mg	1.56 dS.m ⁻¹	الايصلالية الكهربائية (EC)
2.01 mmol.L ⁻¹	Na	6.67	درجة التفاعل (pH)
10.19 mmol.L ⁻¹	Cl	% 3.01	المادة العضوية (OM)

3-1-12 مؤشرات النمو المدروسة:

1. ارتفاع النبات (سم): قيس بوساطة مسطرة مدرجة من فوق سطح التربة إلى أعلى قمة نامية في النبات.
2. المساحة الورقية (دسم²): حسب ذلك بتطبيق المعادلة الآتية (Baskaran et al., 2009):
المساحة الورقية (دسم²) = 0.66 × طول الورقة (دسم) × عرض الورقة (دسم)
3. عدد الأفرع (فرع.نبات⁻¹): تم حساب الأفرع الجانبية.
4. الوزن الجاف (غم): قدر بميزان حساس بعد تجفيف نباتات في فرن كهربائي لمدة 48 ساعة وبدرجة حرارة ترواحت 65 إلى 70م° ولحين ثبوت الوزن.
5. محتوى الكلوروفيل الكلي في الأوراق (وحدة SPAD): قدر بوساطة جهاز تقدير الكلوروفيل Chlorophyllmeter نوع SPAD-50 المجهز من قبل شركة Minolta اليابانية وذلك بأخذ متوسط ثلاثة أوراق ولثلاثة نباتات من كل وحدة تجريبية.

3-1-13 مكونات الحاصل:

1. عدد القرينات (قرنة.نبات⁻¹): حسبت لثلاثة نباتات ثم استخراج متوسطها.
2. عدد البذور في القرنة الواحدة (بذرة.قرنة⁻¹): حسبت البذور الناتجة من حاصل ثلاثة نباتات ثم قسم على عدد القرينات الكلي.
3. وزن 100 بذرة (غم): حسب من خلال أخذ عينة عشوائية من 100 بذرة بعد خلط البذور لكل وحدة تجريبية وتم وزنها بميزان حساس.

2-3 الدراسة الجزيئية :

1-2-3 استخلاص الحامض النووي DNA:

استخلص الحامض النووي DNA من اوراق النباتات النسيجية(زراعة البذور في وسط MS) والنباتات الناتجة من الكالس المعامل بالتراكيز الملحية (6، 9، 12) ديسيسمنز م⁻¹ بموجب عدة الاستخلاص Kit (ABIOpure™ Total DNA) من شركة ABIOPure الامريكية.

• طريقة الاستخلاص:

1- اخذ 100ملغم من الاوراق ووضعت في انبوبة الاستخلاص سعة 1.5مل ومن ثم اضيف اليها 20 مايكروليتر من انزيم Proteinase K (20ملغم مل⁻¹) و 200 مايكروليتر من Buffer BR ومزجها بجهاز الرج Vortex بعد ذلك حضنت العينات بوساطة حمام مائي (56م°) ولمدة ليلة كاملة.

2- اضيف الى العينات 200 مايكروليتر من كحول ايثلي وتم مزجها بجهاز الرج Vortex.

3- نقل جميع المزيج بعناية الى انبوبة جامعة Collection tube، كما وضعت في انبوبة الترشيح Mini column، ثم نبذ المزيج باستعمال جهاز الطرد المركزي لمدة دقيقة واحدة وبسرعة 8000 دورة دقيقة⁻¹، بعد ذلك اخذ الرائق واهمل الراسب، ثم نقل الرائق الى انبوبة جامعة اخرى واضيف اليه 600 مايكروليتر من Buffer BW ونبذت مرة اخرى ولمدة دقيقة واحدة وبسرعة 8000 دورة دقيقة⁻¹، واجمع الرائق في انبوبة جديدة واضيف اليه 700 مايكروليتر من Buffer TW، ثم نبذ مرة اخرى ولمدة دقيقة واحدة وبسرعة 8000 دورة دقيقة⁻¹ ايضا.

4- اهمل السائل في الانبوبة الجامعة ونقل الراشح في انبوبة جامعة جديدة ووضعت بجهاز الطرد المركزي لمدة دقيقة واحدة وبسرعة 13000 دورة دقيقة⁻¹ لازالة بقايا محلول بفر، ومن ثم نقل الرائق في انبوبة جديدة اخرسعة 1.5مل.

5- نقل الرائق في الخطوة السابقة واضيف اليه 100 مايكروليتر من Buffer AE، وحضن لمدة دقيقة واحدة وبدرجة حرارة الغرفة، ثم نبذ مرة اخرى ولمدة دقيقة واحدة وبسرعة 13000 دورة دقيقة⁻¹.

6- حفظت العينة بالتجميد لحين بدء تقنية التضاعف PCR.

2-2-3 قياس تركيز الحامض النووي DNA:

تم قياس تركيز الحامض النووي DNA (نانوغرام مايكروليتر⁻¹) وذلك من خلال اخذ 1 مايكروليتر ومزجه مع 199 مايكروليتر من صبغة Quantyflour المخففة وترك لمدة خمس

دقائق في درجة حرارة الغرفة، ومن ثم قيس بواسطة جهاز Quantus Fluorometer الأمريكي المنشأ الموضح في الشكل (20).



شكل (20) جهاز Quantus Fluorometer لقياس تركيز DNA.

3-2-3 تحضير تفاعلات التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال:

اتبعت طريقة (Lavanya et al. (2008) في تحضير التفاعل العشوائي وقد تم اختبار سبعة بوادئ عشوائية موضحة تفاصيلها في جدول (10) والمجهزة من شركة Bioneer لمعرفة أي منها تعكس تعدداً شكلياً Polymorphism في دنا عينات التجربة.

جدول (10) التسلسل النيوكليوتيدي للبوادئ المستعملة في تقنية PCR- RAPD.

Primer code (RAPD)	Sequence (5'-3')
OP-F06	GGAATTCGG
OP-F07	CCGATATCCC
OP-F10	GGAAGCTTGG
OP-G01	CTACGGAGGA
OP-G02	GCACTGAGG
OP-G03	GAGCCCTCCA
OP-G05	CTGAGACGGA

3-2-4 طريقة عمل تفاعلات التضاعف العشوائي المتسلسل :

جرى العمل بعد ارتداء القفازات وبالخطوات الآتية:-

1- Master Mix: المجهز من قبل شركة Promega والموضح مكوناته في الجدول (11) :

جدول (11) مكونات محلول Master Mix.

المادة المستعملة
MgCl ₂
DNTPs (deoxynucleotide triphosphates) (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)
Taq DNA polymerase
Tris-HCl pH 9.0

2- اشتمل مزيج تفاعل التضاعف العشوائي لسلسلة الدنا لمكونات الموجودة في الجدول (12):

جدول (12) مكونات مزيج تفاعل PCR- RAPD.

الحجم لعينة واحدة (μL)	المادة المستعملة
10	Master mix(Promega)
1	RAPD Primers
3	DNA
6	Nuclease Free Water
الحجم النهائي لخليط التفاعل 20 μL	

3- بعد تحضير مزيج تفاعل PCR وضعت الانابيب في جهاز البلمره الحراري Thermo-

cycler وفقا للبرنامج الموضح في الجدول (13).

جدول (13) برنامج تفاعل PCR- RAPD.

دورة واحدة مكونة من		
التفاعل	الوقت	درجة الحرارة
Initial Denaturation	4 دقائق	94 م °
45 دورة مكونة من		
Denaturation	1 دقيقة	94 م °
Annealing	1 دقيقة	36 م °
Extension	2 دقيقة	72 م °
دورة واحدة مكونة من		
Final Extension	10 دقائق	72 م °
Final Hold	حسب الرغبة	4 م °

بعد انتهاء التفاعل تم ترحيل الخليط مع مؤشر الدليل الحجمي على هلام الاكاروز بتركيز 1% بجهاز الترحيل الافقي علما ان ظروف الترحيل هي 100 فولت ولمدة 70 دقيقة. تم تصوير الهلام باستعمال جهاز Gel Imaging System وعلى طول موجي 254 نانوميتر.

3-2-5 تحضير هلام الاكاروز :

1- استعمل لوح زجاجي شفاف ذو ابعاد مناسبة لحوض الترحيل الكهربائي، تم غلق جانبي اللوح باحكام بوساطة اشرطة لاصقة لحين تصلب الهلام بعد صبه كما تم تثبيت المشط الخاص لتكوين الحفر (wells) عند أحد أطراف الهلام.

2- حضر هلام الأكاروز بتركيز (1%) للكشف عن عينات الدنا المعزول، وذلك بإذابة 1 غرام من الأكاروز في 100 مل من محلول الـ (Tris-Boric acid-EDTA (TBE بقوة $1 \times$.

3- سخن المزيج في الفرن الدقيق Microwave لمدة 2.5 دقيقة (لحين اكتمال الإذابة) ثم برد المزيج الى درجة حرارة 50-60م° وأضيف له (11μ) من صبغة بروميد الأثيديوم Ethidium Bromide، ومن ثم صب المزيج في الحوض الزجاجي بهدوء وحذر لتجنب تكوين الفقاعات الهوائية وترك لمدة 30 ثانية وفي درجة حرارة الغرفة لحين تصلبه.

3-2-6 عملية الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز :

1- رفع المشط بهدوء من هلام الاكاروز كما ازيلت الاشرطة اللاصقة من جوانب اللوح الزجاجي الشفاف.

2- وضع الهلام في حوض الترحيل وغمر بمحلول TBE (1x) بحيث يعلو المحلول الجل 3 الى 5 mm.

3- مزج 5مايكروليتر من عينات الدنا مع 31μ من محلول التحميل Loading dye.

4- وزعت العينات على الحفر مع DNA Ladder باستعمال الماصة الدقيقة Micropipette مع مراعاة عدم خروج العينة من سطح الحفرة.

5- أغلق جهاز الترحيل ووصلت أقطاب التيار الكهربائي بمجهز قدرة Power supply والذي تم ضبطه بفولتية مقدارها 100 فولت (5 فولت بسم⁻¹)، رحلت باتجاه القطب الموجب، بعد 75 دقيقة أوقف الترحيل.

6- تم تصوير الهلام باستعمال جهاز Gel Imaging System وعلى طول موجي 254nm لتتم دراسة الحزم المفصولة للعينات ومقارنتها مع حزم الدليل الحجمي DNA Ladder.

3-2-7 تحليل نتائج مؤشرات الـ RAPD :-

استعمل البرنامج الحاسوبي Photo capt للحصول على الازان الجزيئية لحزم الـ DNA للنباتات الناتجة من النباتات النسيجية (زراعة البذور في وسط MS) والنباتات الناتجة من الكالس المعامل بالتركيز الملحية (6، 9، 12) ديسيمنز م⁻¹ ومقارنتها بحجم حزم الدليل الجيمي DNA Ladder والتي كانت اوزانه الجزيئية بين 10000-250 زوج قاعدي، وتم تحويل الحزم التي ظهرت في الهلام الى جداول التوصيف من خلال وضع رقم 0 عند غياب الحزمة Absences ورقم 1 عند وجودها Presence. حسبت النسبة المئوية للتعددية الشكلية Polymorphsim والنسبة المئوية للمقدرة التمييزية Discriminatory power والنسبة المئوية لكفاءة البادئ Primer efficiency بموجب المعادلات ادناه (AL-Judy and Majeed,2013) :

- النسبة المئوية لكفاءة البادئ = (عدد الحزم الكلية في البادئ / عدد الحزم الكلية في جميع البوادئ)

$$100 \times$$

- النسبة المئوية للمقدرة التمييزية = (عدد الحزم المتباينة في البادئ / عدد الحزم المتباينة في جميع البوادئ)

$$100 \times$$

- النسبة المئوية للتعددية الشكلية = (عدد الحزم المتباينة في البادئ / عدد الحزم الكلية في البادئ)

$$100 \times$$

3-3 التجربة الحقلية :

اجريت التجربة الحقلية في الحديقة النباتية التابعة لقسم علوم الحياة/كلية التربية للعلوم الصرفة (ابن الهيثم) لموسم النمو 2018 ضمن خط العرض 33.37° وخط الطول 44.36° وارتفاع 23م عن مستوى سطح الارض، فضلا عن العوامل المناخية الموضحة في الملحق (4)، بهدف معرفه تاثير تراكيز من فيتامين C وهرمون البراسينولايد وتداخلهما في تحمل الاجهاد الملحي لنبات الماش وحاصله مع تقدير المادة الفعالة في البذور.

3-3-1 تحضير التربة وتهيئتها وتصميم التجربة:

أخذت عينات من تربة الحقل قبل الزراعة على عمق 30سم ولاكثر من موقع وخطت لتكوين نموذج جيد، بعد ذلك تم تجفيفها هوائيا وطحنت ونخلت بمنخل قطر فتحاته 2ملم لغرض تقدير بعض الصفات الكيميائية والفيزيائية (Page et al.,1982) في مختبرات التربة والماء في دائرة البحوث الزراعية/وزارة العلوم والتكنولوجيا والموضحة في جدول (14).

جدول (14) بعض الصفات الكيميائية والفيزيائية لتربة الحقل قبل الزراعة.

القيمة	الصفة	القيمة	الصفة
88.00 mg.kg ⁻¹	N الجاهز	250	الرمل
12.00 mg.kg ⁻¹	P الجاهز	300	الغرين
76.00 mg.kg ⁻¹	K الجاهز	450	الطين
7.18 mg.kg ⁻¹	Ca	مزيجية طينية	نسجة التربة
5.12 mg.kg ⁻¹	Mg	3.50 dS.m ⁻¹	الايصالية الكهربائية (EC)
12.22 mg.kg ⁻¹	Na	7.50	درجة التفاعل (pH)
11.90 mg.kg ⁻¹	SO ₄	%3.72	المادة العضوية (OM)
9.70 mg.kg ⁻¹	Cl	%25.60	السعة الحقلية (FC)
%3.48	SAR	%13.20	نقطة الذبول الدائم (PWP)

أجريت عمليات الحراثة والتنعيم والتسوية للحقل بعدها قسم إلى ألواح بمساحة 1م² للوحدة التجريبية الواحدة التي تحتوي على 15 جورة، تركت مسافة فاصلة بعرض 0.25م بين الوحدات. نفذت التجربة ضمن تصميم القطاعات العشوائية الكاملة Randonized Complete Block Design (RCBD) وبثلاثة مكررات، وعليه تضمنت التجربة 108 وحدة تجريبية (4×3×3×3) كما في الشكل (21). أضيف سماد السوبر فوسفات الثلاثي (46% P₂O₅) بمستوى 75 كغم.ه⁻¹ دفعة واحدة قبل الزراعة، أما السماد النتروجيني بهيأة سماد اليوريا (46% N) بمستوى 40 كغم.ه⁻¹ وأضيف على دفعتين الأولى قبل الزراعة والثانية في مرحلة التزهير (علي، 2012).



شكل (21) تصميم التجربة في الحقل قبل الزراعة.

2-3-3 المعاملات المستعملة في التجربة:

تضمنت التجربة المعاملات الآتية:

- أربعة تراكيز من كلوريد الصوديوم (NaCl) (0.9، 5.5، 10.0 و 15.0) ديسيبيمنزم¹.
- تركيزين من فيتامين C (Vit.C) (60 و 120) ملغم.لتر¹ فضلا عن معاملة السيطرة.
- تركيزين من هرمون البراسينولايد (BR) (2 و 4) ملغم.لتر¹ فضلا عن معاملة السيطرة.

3-3-3 تحضير عوامل الدراسة:

التركيز الاول من NaCl (السيطرة): 0.9 ديسيمنز م⁻¹ (ماء حنفيه)، وجدول (15) يوضح نتائج بعض الصفات الكيميائية لماء الحنفية المستعمل في التجربة الحقلية التي اجريت حسب الطرائق الموصوفة في Page *et al.* (1982) في مختبرات التربة والماء في دائرة البحوث الزراعية / وزارة العلوم والتكنولوجيا، اما التراكيز الاخرى (5.5، 10.0، 15.0) ديسيمنز م⁻¹ فحضرت بأضافه (2.9، 5.8، 8.7) غم.لتر⁻¹ بالتتابع من ملح NaCl الى ماء الحنفية.

جدول (15) بعض الصفات الكيميائية لماء الحنفية المستعمل في التجربة الحقلية.

الصفة	EC	pH	SO ₄ ⁻²	Ca ⁺²	Mg ⁺²	Na ⁺	Cl ⁻	SAR
القيمة	0.90	7.39	3.72	1.39	1.12	3.15	0.03	1.32
الوحدة	ديسيمنز م ⁻¹	-	ملي مول.لتر ⁻¹					%

اما تراكيز فيتامين C (60، 120) ملغم.لتر⁻¹ وهرمون البراسينولايد (2، 4) ملغم.لتر⁻¹ فقد تم تحضيرها بعد تحضير محلول الاصل Stock من إذابة غرام واحد من كلا المركبين اعلاه بالماء المقطر وأكمل الحجم إلى 1000 مل من الماء المقطر، ثم حضرت التراكيز المطلوبة منه وحسب قانون التخفيف المذكور في التجربة النسيجية (الفقرة 3-1-6).

4-3-3 الزراعة وخدمة المحصول :

زرعت بذور الماش للموسم الربيعي بتاريخ 2018/4/1 وبوضع 3 الى 5 بذرة في الجورة الواحدة ورويت التربة بالماء رية أولية على اساس 100% من الماء الجاهز للتربة بوساطة جهاز Haygromoiature meter (المنتجى، 2016)، وبعد الانبات تم خف البادرات إلى بادرة واحدة في كل جورة ليصبح عدد النباتات في الوحدة التجريبية 15 نبات (شكل 22)، فضلا عن اجراء العمليات الزراعية كافة ومتابعة نمو النبات حتى موعد الحصاد (الجيشي، 2019).



شكل (22) نمو بادرات نبات الماش بعمر سبعة ايام في الوحدة التجريبية الواحدة.

تغيرت عملية الارواء بتراكيز NaCl المحضرة سابقا بعد مرور 25 يوما من تاريخ الزراعة (شكل 23)، واجريت عملية الرش مرتين بعد مرور 35 و40 يوما من تاريخ الزراعة بتراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد المحضرة سابقا وذلك باستعمال مرشاة ضاغطة حجم 2 لتر مع إضافة 2 قطرة من محلول الصابون السائل كمادة ناشرة إثناء عملية الرش من خلال خلطها جيدا مع المحلول المحضر لأجل تقليل الشد السطحي لمحلول الرش ولضمان البلل التام للأوراق، وتمت العملية عند الصباح الباكر مع رش نباتات السيطرة بالماء المقطر فقط. أخذت عينات خضرية للنباتات (ساق وأوراق) بعد مرور 50 يوما من تاريخ الزراعة (شكل 24) وبمعدل اربعة نباتات من كل وحدة تجريبية لحساب موشرات النمو المظهري وثلاثه نباتات اخرى لتقدير الموشرات الفسلجية وتركت الاخرى (ثمانية نباتات) لدراسة النمو الزهري ومكونات الحاصل.



شكل (23) نمو نبات الماش بعمر 25 يوما قبل اضافة معاملات التجربة.



شكل (24) نمو نبات الماش بعمر 50 يوما بعد اضافة معاملات التجربة ووقت اخذ العينات.

3-3-5 المؤشرات المظهرية والفلسجية المدروسة:

1. ارتفاع النبات (سم).
2. المساحة الورقية (دسم²).
3. عدد الأفرع (فرع. نبات¹).
4. الوزن الجاف (غم).
5. محتوى الكلوروفيل الكلي في الأوراق (وحدة SPAD):
6. نسبة الكربوهيدرات (%):

1-6 تحضير المنحنى القياسي:

حضر محلول الاصل (stoke) بإذابة 50 ملغم من الكلوكوز و 50 ملغم من الفركتوز في لتر واحد من الماء المقطر، ثم حضرت التراكيز الاتية (0.0 و 0.2 و 0.4 و 0.6 و 0.8 و 1.0) ملغم. لتر¹ وبعدها تم اخذ 1 مل من هذه التراكيز وأضيف له 1 مل من كاشف الفينول (5%) ومزج جيداً ثم أضيف له 5 مل من حامض الكبريتيك المركز وقيست الكثافة الضوئية بوساطة جهاز المطياف الضوئي عند الطول الموجي 488 nm، ورسم المنحنى القياسي من العلاقة بين التركيز وقراءة الكثافة الضوئية.

2-6 تقدير نسبة الكربوهيدرات (%):

قدر نسبة الكربوهيدرات في المجموع الخضري بموجب طريقة (Herbert *et al.* (1971)، إذ تم أخذ 5 غم من العينة النباتية الجافة واضيف اليها 50 مل من الماء المقطر المغلي وبعدها جففت في حمام مائي بدرجة حراره 80م° ولمدة 30 دقيقة، بعد ذلك تم ترشيح العينة وأكمل الراشح الى 50 مل من ماء مقطر، ثم أخذ 1 مل من الراشح وأضيف له 1 مل من كاشف الفينول (5%) ومزج جيداً وأضيف له 5 مل من حامض الكبريتيك و 10 مل من الماء المقطر لغرض التخفيف ثم ترك ليبرد، وقيست الكثافة الضوئية بوساطة جهاز المطياف الضوئي عند الطول الموجي 488nm.

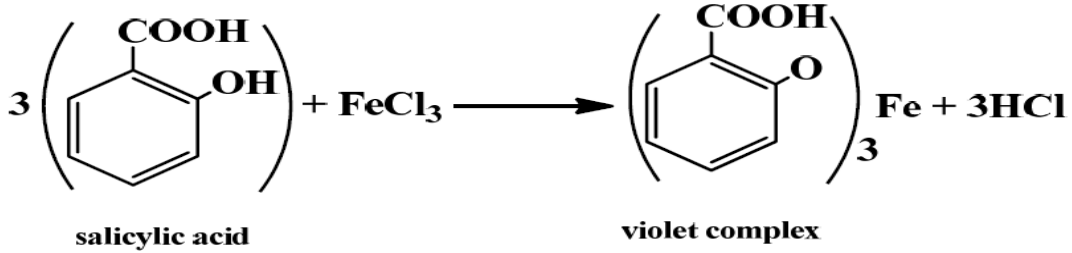
7. تركيز حامض البرولين (مايكروغرام.غم¹ وزن طري) :

قدر تركيز حامض البرولين في المجموع الخضري بموجب طريقة (Bates *et al.* (1973).

8. تركيز حامض السالسيك (مايكروغرام.مل¹):

قدر تركيز حامض السالسيك بموجب طريقة (Warrier *et al.* (2013)، اخذ وزن معين من العينات الورقية ووضعها في المجمده لمدة 24 ساعة وهرسه واخذ منه 100 ملغم منه وضعه في انابيب الاختبار ثم فصل الراشح عن الراسب بوساطة جهاز الطرد المركزي بسرعة 1000 دورة.

دقيقة¹ ولمدة عشرة دقائق، وسحب من الراشح 100 مايكروليتر وأضيف إليه 3مل من ثلاثي كلوريد الحديد (0.1%) (حضر اثناء التجربة) وظهور اللون البنفسجي نتيجة للتفاعل الآتي :



ثم قيست الكثافة الضوئية للراشح بواسطة جهاز قياس المطياف الضوئي عند طول موجي 540 nm، وعمل المنحني القياسي من حامض الساليسيلك المذاب بالماء المقطر وبتراكيز متعددة وصولاً إلى تركيز 100 مايكروغرام.مل⁻¹.

9. تركيز فيتامين C (ملغم.100غم⁻¹) : قدر تركيز فيتامين C بموجب طريقة Bajaj and Kaur(1981).

• تحضير المحاليل لتقدير فيتامين C :

(1) محلول مولبيدات الامونيوم (5%) : حضر بإذابة 5غم منها في الماء المقطر واكمل الحجم إلى 100مل.

(2) محلول حامض الاوكزاليك (0.05M) : حضر بوزن 30غم من الحامض مع EDTA (0.02M) وأكمل الحجم إلى 100مل من الماء المقطر (حضر المحلول أنياً).

(3) محلول حامض الكبريتيك (5%).

(4) محلول حامض الخليك + حامض ميتا الفوسفوريك : حضر بإذابة 3غم من حامض ميتا الفوسفوريك مع 15مل من حامض الخليك وأكمل الحجم إلى 100مل من الماء المقطر.

• تحضير المنحني القياسي لفيتامين C :

تم وزن 0.1غم من فيتامين C وأذيب في 100مل من محلول حامض الاوكزاليك (0.05M)، ثم اخذ (0.5، 1، 2، 3، 4، 4.5) مل من المنحني القياسي لفيتامين C وأضيف إليها (4.5، 4، 3، 2، 1، 0.5)، وتمت إضافة 0.5مل من محلول (4) و 1مل من محلول (3) و 2مل من محلول (1)، وأكمل الحجم إلى 25مل بواسطة الماء المقطر ثم قرأت الكثافة الضوئية باستعمال جهاز المطياف الضوئي عند الطول الموجي 760nm.

• طريقة العمل:

تم سحق 1 غم من المجموع الخضري الطري واضيف اليها 10 مل من محلول حامض الاوكزاليك (0.05M) وتركت في التلاجة عند درجة حراره 4م° لمدة 24 ساعة في الظلام ورشحت العينات بوساطة ورق الترشيح (0.45µm) واخذ حجم معين من الراشح وضع في دورق حجم 25 مل وأضيف اليه 2.5 مل من محلول (2) و 0.5 مل من محلول (4) و 1 مل من محلول (3) و 2 مل من محلول (1)، ثم أكمل الحجم إلى 25 مل بالماء المقطر، ثم قرئت العينات في جهاز المطياف الضوئي عند الطول الموجي 760 nm.

10. تركيز الفاتوكوفيرول (مايكروغرام.غرام⁻¹):

قدر تركيز الفاتوكوفيرول بموجب طريقة (Rosenberg (1992)، اذ سحق وزن معين من العينات الورقية الطرية مع اضافته 50 مل من حامض الكبريتيك (1N) وترك لمدة 12 ساعة ثم رج ورشح وضعه في انابيب الاختبار ثم فصل الراشح عن الراسب بوساطة جهاز الطرد المركزي بسرعة 1000 دورة دقيقة⁻¹ ولمدة 10 دقيقة، واضيف اليه 0.2 مل من محلول 2,2-Dipyridyl (حضر خلال التجربة باذابة 0.2 غم من المادة في 200 مل كحول اثيلي) و 0.6 مل من كلوريد الحديد (حضر خلال التجربة باذابة 0.2 غم من المادة في 200 مل كحول اثيلي)، ثم قيست الكثافة الضوئية للراشح بوساطة جهاز قياس المطياف الضوئي عند طول موجي 460 nm، وترك في الظلام لمدة 5 دقائق ليبدأ ظهور اللون البرتقالي ثم قيست الكثافة الضوئية للراشح نفسه عند طول موجي 520 nm وبتطبيق المعادلة الآتية:

$$\alpha\text{-Tocophyrol}(\mu\text{g.g}^{-1}) = \text{Sample}(D520-D460) \times 0.29 \times 0.15 / \text{Standard D520}$$

11. تقدير فعالية الإنزيمات المضادة للأكسدة (وحدة.مل⁻¹):

قدرت فعالية الإنزيمي الكاتليز (Catalase (CAT) والبيروكسيداز (Peroxidase (POD) وذلك بعد هرس 1 غم من الجزء الخضري (الأوراق) من النبات بعد تقطيعه بوساطة سكين نظيف إلى قطع صغيرة مع 10 مل من فوسفات البوتاسيوم الدارئ (0.1M) (pH 7.8) البارد وبعد ترشيحه من خلال قطعة شاش طبي اخضع الراشح لعملية الطرد المركزي باستعمال جهاز طرد مركزي مبرد على درجة 4م° بسرعة 1000 دورة دقيقة⁻¹ لمدة 30 دقيقة (Pitotti et al., 1995).

11-1: تقدير فعالية إنزيم الكاتليز:

قدرت فعالية إنزيم CAT بوساطة جهاز المطياف الضوئي بموجب طريقة (Aebi (1974) من خلال مقدار التغير في الامتصاصية عند 240nm لمحلول (30mM) من بيروكسيد الهيدروجين و 50mM من المحلول الدارئ وعند pH = 7.

• المحاليل المستعملة:

محلول فوسفيت الدارئ (50mM عند pH=7): يحتوي على حجم معين من محلول B يضاف إلى 50 مل من محلول A حتى وصول قيمة pH إلى 7.
 محلول A: حضر بإذابة 1.7420 غم من K_2HPO_4 في كمية قليلة من الماء المقطر ثم يكمل الحجم إلى 200 مللتر بالماء المقطر.
 محلول B: حضر بإذابة 1.3608 غم من KH_2PO_4 في كمية قليلة من الماء المقطر ثم أكمل الحجم إلى 200 مللتر بالماء المقطر.
 محلول H_2O_2 بتركيز (30mM) حضر بأخذ حجم 0.34 مللتر من 30% H_2O_2 وأكمل إلى 100 مللتر باستعمال المحلول الدارئ.

• طريقة العمل:

تم خلط 0.1 مللتر من العينة إلى 1.9 مللتر من المحلول المنظم ثم إضافة 1.0 مللتر من محلول بيروكسيد الهيدروجين وفي هذا الوقت يبدأ التفاعل، تخلص المواد جيداً وترج الأنبوبة الزجاجية بواسطة ضربات خفيفة على جدرانها ثم تقرأ عند طول موجي (240nm) بجهاز UV- spectrophotometer تمت متابعة التغيير كل 30 ثانية لمدة 3 دقائق، يتم تحضير ال control بالطريقة نفسها لكن من دون إضافة العينة.

• الحسابات :

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

إذ أن: 0.1: مل حجم العينة

0.01: الوحدة الواحدة من الإنزيم (كمية الإنزيم التي تسبب زيادة في إمتصاص الضوء مقدارها 0.01 وحدة في الدقيقة الواحدة عند طول موجي مقداره 420nm).

2-11: تقدير فعالية إنزيم البيروكسيدين:

تم تقدير الفعالية لأنزيم POD بموجب طريقة (Nezih, 1985).

• المحاليل المستعملة:

محلول Guaicol: حضر بخلط 1.36 مل من الكوايكول في ورق حجمي ثم أكمل الحجم إلى 250 مل باستعمال الماء المقطر.

محلول بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 بتركيز 0.1%، حضر بأخذ حجم 0.4 مل من 30% H_2O_2 وأكمل إلى 120 مل من الماء المقطر.

طريقة العمل:

(1) مزج 1 مل من H_2O_2 مع 1 مل من Guaicaol وتمت قراءة الامتصاصية بجهاز Spectrophotometer عند طول موجي 420nm.

(2) قدرت الفعالية الإنزيمية بإضافة 2 مل من مزيج التفاعل في خلية المطياف الضوئي ثم أضيف 0.1 مل من العينة وتمت متابعة التغير في إمتصاص الضوء كل 30 ثانية ولمدة 3 دقائق.

قراءة الجهاز

$$\frac{\Delta \text{الزمن}}{0.1 \times 0.01} = \text{فعالية POD (وحدة.مل}^{-1}\text{)}$$

6-3-3 مؤشرات النمو الزهري:

1. عدد النورات الزهرية (نورة.نبات⁻¹): حسب لمتوسط ثمانية النباتات المتبقية.

2. عدد الأزهار (زهرة.نبات⁻¹): حسب لمتوسط ثمانية النباتات المتبقية.

7-3-3 مكونات الحاصل (الكمية والنوعية):

1. عدد القرنات (قرنة.نبات⁻¹): حسب لثمانية النباتات المتبقية ثم استخراج متوسطها.

2. عدد البذور في القرنة الواحدة (بذرة.قرنة⁻¹): حسب البذور الناتجة من حاصل النباتات الثمانية المتبقية ثم قسم على عدد القرنات الكلي.

3. وزن 100 بذرة (غم): حسب من خلال أخذ عينة عشوائية من 100 بذرة بعد خلط البذور لكل وحدة تجريبية وتم وزنها بميزان حساس.

4. حاصل البذور (غم.م⁻¹): حسب من خلال حاصل البذور لكل 1م² من كل وحدة تجريبية.

5. نسبة البروتين (%) في البذور: قدر تركيز النتروجين (%) بموجب طريقة Chapman

and Pratt (1961) من خلال اخذ وزن 0.2 غم من البذور الجافة وهضمت بموجب

طريقة Agiza et al. (1960)، ومن ثم تم حساب تركيز البروتين كما في المعادلة الآتية

$$\text{Protein (\%)} = N\% \times 5.7 \quad \text{: (Sosulski and Holt, 1980)}$$

8-3-3 المواد الفعالة في البذور (مايكروغرام.مل⁻¹):

اختيرت معاملات الثمانية لتقدير المواد الفعالة في بذور نبات الماش وهي كالآتي:

1- 0.9 ديسيسمنز.م⁻¹ NaCl (ماء حنفيه).

- 2- 0.9 ديسيمنز.م⁻¹ NaCl¹+ 120ملغم.لتر⁻¹ Vit.C¹.
- 3- 0.9 ديسيمنز.م⁻¹ NaCl¹+ 4ملغم.لتر⁻¹ BR¹.
- 4- 0.9 ديسيمنز.م⁻¹ NaCl¹+ 120ملغم.لتر⁻¹ Vit.C¹+ 4ملغم.لتر⁻¹ BR¹.
- 5- 15 ديسيمنز.م⁻¹ NaCl¹.
- 6- 15 ديسيمنز.م⁻¹ NaCl¹+ 120ملغم.لتر⁻¹ Vit.C¹.
- 7- 15 ديسيمنز.م⁻¹ NaCl¹+ 4ملغم.لتر⁻¹ BR¹.
- 8- 15 ديسيمنز.م⁻¹ NaCl¹+ 120ملغم.لتر⁻¹ Vit.C¹+ 4ملغم.لتر⁻¹ BR¹.

شخصت المواد الفعالة للمعاملات اعلاه كما في ذكر في الفقرة 3-1-8 وبظروف الفصل نفسها المبينة في الجدول (7) وتم قياس زمن الاحتجاز ومساحات الحزم للنماذج القياسية مقدرة بالميكروفولت والموضحة في الجدول (16) والشكل (25)، ثم حددت تراكيز المواد الفعالة للمعاملات كميأ باستعمال المقارنة بين القياسي والنموذج تحت الظروف نفسها، ومن ثم تم حساب تراكيز المركبات المشخصة (مايكروغرام.مل⁻¹) في كل نموذج وفق المعادلة الآتية:

تركيز المركب (مايكروغرام.مل⁻¹) = (مساحة حزمة المركب / مساحة حزمة النموذج القياسي) × تركيز النموذج القياسي × عدد مرات التخفيف

علما إن تركيز المحلول القياسي = 25 مايكروغرام.مل⁻¹ ، عدد مرات التخفيف = 4

جدول (16) المركبات القياسية 11 وبعض مواصفاتها بتركيز 25 مايكروغرام.مل⁻¹.

Seq.	Compound	Retention time	Area
1	Hydroxy benzoic acid	1.98	102985
2	Tannic acid	2.96	65605
3	Gallic acid	3.90	121525
4	Quercetin	4.78	19166
5	Syringic acid	5.32	91505
6	Ferulic acid	6.57	84338
7	Chlorogenic acid	7.67	92408
8	Gentisic acid	8.81	95666
9	Shikimic acid	9.97	57828
10	Coumaric acid	10.81	114801
11	Protocatechuric acid	11.61	94401



شكل(25) منحنى النموذج القياسي للمواد الفعالة في بذور نبات الماش باستعمال جهاز HPLC.

4-3 التحليل الإحصائي :

حللت البيانات إحصائياً بطريقة تحليل التباين للتصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design(CRD) للتجربة النسيجية والتصميم القطاعات العشوائية الكاملة Rondonized Complete Brock Design(RCBD) للتجربة الحقلية(الحقل المكشوف) و استعمل اختبار اقل فرق معنوي Least Significant Difference(LSD) للمقارنة بين المتوسطات الحسابية عند مستوى احتمال 5%. استعمل البرنامج الاحصائي GenState الإصدار (12) لعام 2012(Glaser and Biggs,2010) في تحليل البيانات.

الفصل الرابع النتائج والمناقشة

1-4 تجربة الزراعة النسيجية :

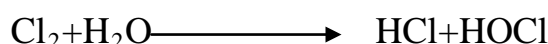
1-1-4 تأثير تراكيز مختلفة من هايوكلورات الصوديوم ومدة التعقيم في النسبة المئوية (%) لتلوث وانبات بذور نبات الماش.

اشارت النتائج في الجدول (17) الى فعالية هايوكلورات الصوديوم NaOCl (مادة التعقيم) في الحد من تلوث بذور الماش، اذ وجدت فروق معنوية في تأثير تركيز مادة التعقيم ومدته في النسبة المئوية لتلوث البذور، اذ كلما زادت تركيز مادة التعقيم ومدتها انخفضت نسبه التلوث بشكل تدريجي، اذ بلغت اعلى نسبة للتلوث 100% في معاملة السيطرة (اثيلي 70%)، في حين بلغت ادنى نسبة للتلوث 0.00% عند المعاملة (2% هايوكلورات الصوديوم +15 دقيقة) ولم يظهر أي تأثير سلبي للمادة المعقمة لذا اعتمد هذا التركيز والمدة في تعقيم البذور في التجارب اللاحقة، كذلك لوحظ ان نسبة الإنبات في التراكيز والاقوات الزمنية المدروسة كافة فضلاً عن معاملة السيطرة كانت 100% على الرغم من تلوث جميع البذور ونموها الضعيف.

جدول (17) تأثير تراكيز هايوكلورات الصوديوم ومدة التعقيم في النسبة المئوية (%) لتلوث وانبات بذور نبات الماش.

المعاملة	النسبة المئوية للتلوث (%)	النسبة المئوية للانبات (%)
السيطرة (اثيلي 70%)	100.00	100
1% NaOCl + 10 دقيقة	80.00	100
1% NaOCl + 15 دقيقة	50.00	100
2% NaOCl + 10 دقيقة	16.31	100
2% NaOCl + 15 دقيقة	0.00	100
LSD 0.05	1.42	

إن آليه عمل NaOCl كمادة معقمة للبذور والأنسجة النباتية يعود الى وجود حامض الهيپوكلورين hypochlorous (HOCl) الذي يعد مادة مؤكسدة قوية، ويتكون نتيجة لذوبان الكلور في الماء كما في المعادلة الآتية:



فضلا عن ذلك فهي تمتاز بسهولة ازالة اثارها من الجزء النباتي المعقم وتوفرها ورخص ثمنها

(Ramawat, 2004 ; Rodeva et al., 2004). تتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه Park et al. (2002) و Sagare and Mohanty (2015) و عبود وجمعه (2018) من حيث صلاحية استعمال NaOCl في تعقيم البذور ولكن اختلفت معهم بالنسبة الى التركيز المناسب والمدة المحددة، كذلك

اختلفت هذه النتائج ايضا مع نتائج عبدالرزاق (2012) و (Patra et al. (2018) من حيث استعمال المادة المعقمة وهي كلوريد الزئبق.

4-1-2 تأثير التوليفات الهرمونية (BA وNAA) في نسبة (%) استحثاث الكالس من الاجزاء النباتية المختلفة لبادرات نبات الماش.

اشارت النتائج في جدول (18) الى وجود فروق معنوية في التوليفات الهرمونية المختلفة لاستحثاث الكالس، اذ اعطت التوليفة (2BA+0.5NAA) ملغم.لتر⁻¹ افضل متوسط لنسبة استحثاث الكالس 85.00% قياسا بمعاملة السيطرة (الخالية من الهرمونات) 22.00%، فيما لم تختلف معنويا عن التوليفة (0.5BA+ 2NAA) ملغم.لتر⁻¹ التي اعطت 83.00%. كذلك لوحظ من نتائج الجدول نفسه تفوق السويقة الجنينية العليا معنويا عن الاجزاء النباتية الاخرى باعطائها اعلى متوسط لنسبة استحثاث الكالس بلغ 68.57%، فيما جاءت الاجزاء النباتية (السويقة الجنينية السفلى والاوراق الفلقية والقمة النامية) بالمراتب الثانية والثالثة والرابعة واعطت (62.29، 52.00، 49.71)% بالتتابع. اما التداخل الثنائي بين عاملي الدراسة (جدول 18) فقد كان معنويا هو الاخر، واعطت التوليفة الهرمونية (2BA+ 0.5NAA) ملغم.لتر⁻¹ اعلى نسبة استحثاث الكالس للسويقتين الجنينيتين العليا والسفلى 100% واختلفت معنويا عن التداخلات الاخرى، اما اقل نسبة استحثاث للكالس فكانت في معاملة السيطرة وللاجزاء النباتية كافة.

جدول (18) تأثير التوليفات الهرمونية المختلفة من (BA وNAA) والجزء النباتي في نسبة (%) استحثاث الكالس لبادرات نبات الماش.

المتوسط	القمة النامية	السويقة الجنينية السفلى	السويقة الجنينية العليا	الاوراق الفلقية	الجزء النباتي التوليفات الهرمونية (ملغم.لتر ⁻¹)
22.00	20.00	20.00	28.00	20.00	السيطرة
56.00	32.00	68.00	76.00	48.00	BA(0.5)
47.00	36.00	60.00	52.00	40.00	NAA(0.1)
54.00	44.00	40.00	68.00	64.00	BA(0.1)+NAA(0.2)
83.00	80.00	88.00	92.00	72.00	BA(0.5)+NAA(2)
60.00	68.00	60.00	64.00	48.00	BA(1)+NAA(1)
85.00	68.00	100.00	100.00	72.00	BA(2)+NAA(0.5)
	49.71	62.29	68.57	52.00	المتوسط
	المعاملات = 5.99 الجزء النباتي = 4.53 التداخل = 11.98				LSD 0.05

3-1-4 تأثير التوليفات الهرمونية (IAA و KINT) في نسبة (%) استحداث الكالس من الاجزاء النباتية المختلفة لبادرات نبات الماش.

اشارت النتائج في جدول (19) الى وجود فروق معنوية في التوليفات الهرمونية المختلفة لنسبة استحداث الكالس، وتفوقت التوليفات الهرمونية (2 KINT+2 IAA و 4 KINT+4 IAA و 6 KINT + 6 IAA) ملغم.لتر⁻¹ في اعطاء اعلى متوسط لنسبة استحداث الكالس 100% قياسا بمعاملة السيطرة 22.00%. اما تأثير الاجزاء النباتية فقد سجلت السوقية الجنينية السفلى اعلى متوسط لنسبة استحداث كالس بلغ 81.33% ومختلفة معنويا عن الاجزاء الاخرى (السوقية الجنينية العليا والاوراق الفلجية والقمة النامية) التي جاءت بالمراتب الثانية والثالثة والرابعة بالتتابع. اوضحت النتائج الجدول (19) ايضا وجود فروق معنوية بين التوليفات الهرمونية والاجزاء النباتية وسجلت المعاملات (2KINT+2IAA و 4KINT+4IAA و 6KINT+6IAA) ملغم. لتر⁻¹ اعلى نسبة استحداث للكالس وللاجزاء النباتية كافة، فضلا عن اعطاء المعاملة (1KINT + 1IAA) ملغم.لتر⁻¹ نسبة استجابة 100% للكالس المستحث من السوقية الجنينية السفلى والتي لم تختلف بدورها معنويا عن مثيلاتها من المعاملات المذكورة سابقا، اما اقل نسبة استحداث للكالس فكانت في معاملة السيطرة ولجميع الاجزاء النباتية كافة.

جدول (19) تأثير التوليفات الهرمونية المختلفة من (IAA و KINT) والجزء النباتي في نسبة استحداث الكالس (%) لبادرات نبات الماش.

المتوسط	القمة النامية	السوقية الجنينية السفلى	السوقية الجنينية العليا	الاوراق الفلجية	الجزء النباتي التوليفة الهرمونية (ملغم.لتر ⁻¹)
22.00	20.00	20.00	28.00	20.00	السيطرة
52.00	28.00	68.00	52.00	60.00	KINT(0.5)+IAA(0.5)
86.50	90.00	100.00	92.00	64.00	KINT(1)+IAA(1)
100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	KINT(2)+IAA(2)
100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	KINT(4)+IAA(4)
100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	KINT(6)+IAA(6)
	73.00	81.33	78.67	74.00	المتوسط
	التداخل=7.07	الجزء النباتي=2.88	المعاملات=3.53		LSD 0.05

نستنتج من نتائج الجدولين (18 و 19) ان نسبة استحداث الكالس تزداد عند ازدياد تركيز الاوكسين وصولا إلى التركيز المناسب ولجميع الاجزاء النباتية والذي يعطي اعلى معدل للانقسام

الخلوي وكسر روابط الجدار الخلوي تحت تأثير الضغط الانتفاخي مايسبب اتساع حجم الخلايا (Trigiano and Gray,2011)، كذلك تزداد نسبة الاستحثاث بزيادة تركيز الساييتوكاينين وصولاً الى التركيز المناسب ولجميع الاجزاء النباتية الذي يعطي اعلى زيادة في انقسام الخلايا واتساعها مع احداث تحورات في الجدران الخلوية وزيادة مرونته وتنشيط بعض الانزيمات وتراكم المواد الايضية مما زاد من وتيرة انقسام الخلايا وزيادة اعدادها (Ikeuchi *et al.*,2013).

ان التفاوت الحاصل بين الاجزاء النباتية المختلفة في نسبة استجابة استحثاث الكالس باختلاف التوليفات الهرمونية قد يعود الى التوافق بين المحتوى الداخلي للخلايا من الهرمونات النباتية بين اجزائه المختلفة وتراكيز ونوع منظمات النمو المضافة الى الوسط الغذائي مما يؤثر في زيادة سرعة انقسام الخلايا ومن ثم زيادة اعدادها، فضلا عن ان عملية الاستحثاث متأثرة بعوامل عديدة منها: محتويات الوسط الغذائي، نوع منظم النمو وتركيزه، مصدر الجزء النباتي، الحالة الفسلجية للنبات الأم، التركيب الوراثي للنبات والظروف البيئية (عبد الرزاق،2012).

ان الموازنة بين تراكيز الاوكسين والساييتوكاينين مهم جدا في استحثاث الكالس، اذ بزيادة تركيز الساييتوكاينين على حساب الاوكسين تتحفز الأفرع الخضرية، بينما العكس يحدث الى تحفيز الجذور العرضية (Huan *et al.*,2004)، كذلك لوحظ ان زيادة تركيز الاوكسين في الوسط الغذائي تسبب زيادة نفاذية الاغشية الخلوية ويقلل الضغط على جدران الخلايا مما يزيد من دخول الماء الى الخلايا فيزداد حجم الكالس فيظهر بلون الابيض المملوء بحبيبات النشا، ولكن عند زيادة الساييتوكاينين في الوسط الغذائي يتغير لون الكالس الى لون اخضر نتيجة لحث الساييتوكاينين على تمايز البلاستيدات في الخلايا البرنكيمياية للكالس الجنيني Embryonic callus من الشاحبة Proplastid الى الخضراء Chloroplastid (Saputro *et al.*,2017)، لذلك انتخبت التوليفة الهرمونية (2BA + 0.5NAA) ملغم.لتر⁻¹ لجزء النباتي السويقة الجنينية العليا عن التوليفات الهرمونية والاجزاء النباتية الاخرى لاعطائها كالس ذو صفات مرغوبة تميز بلون الابيض المائل الى الاخضرار وذات قوام صلب وبحجم كبير (+++) (تفقد القطع شكلها الكامل وتتحول الى كالس بنسبه 100%)، بينما تميزت التوليفات الاخرى بكالس لونه مسمر او اصفر او كريمي وقوام مائي هش جدا او متفكك ويحتوي على الجذور او الاوراق وذات الاحجام متفاوتة من صغير (+) (نشوء الكالس في اطراف القطع) الى متوسط (++) (تتحول القطع الى كالس بنسبه 50%) الموضحة في الجدول (20) والشكل (26). اتفقت نتائج هذه الدراسة مع العديد من الدراسات التي اكدت على دور الاوكسينات والساييتوكاينيات في استحثاث الكالس نبات الماش ومنها (Mojumder *et al.* (2014) و (Rafiq *et al.* (2012) وعبد الرزاق (2012) و (Patra *et al.* (2018).

جدول (20) حجم ولون وشكل الكالس لنبات الماش بتوليفات هرمونية مختلفة.

لون وشكل الكالس	حجم الكالس	التوليفة الهرمونية (ملغم. لتر ⁻¹)	ت
ابيض مع نمو خضري	+	السيطرة	1
مخضر هش جدا	++	BA(0.5)	2
ابيض مائي هش جدا	++	NAA(0.1)	3
ابيض صلب	++	BA(0.1)+NAA(0.2)	4
ابيض - مخضر وذات قوام هش	+++	BA(0.5)+NAA(2)	5
ابيض - مخضر وذات قوام صلب	+++	<u>BA(2)+NAA(0.5)</u>	6
مسمر - اسود وهش جدا	++	BA(1)+NAA(1)	7
ابيض وتكون جذور	++	KINT(0.5)+IAA(0.5)	8
مسمر وهش جدا	++	KINT(1)+IAA(1)	9
ابيض - اصفر مائي	+++	KINT(2)+IAA(2)	10
اصفر شاحب مائي وتكوين جذور	+++	KINT(4)+IAA(4)	11
ابيض - كريمي مائي	+++	KINT(6)+IAA(6)	12



السويقة الجنينية العليا (السيطرة)



الاوراق الفلقية (السيطرة)



BA(0.5)+NAA(2) السويقة الجنينية السفلى



BA(0.5)+NAA(2) السويقة الجنينية العليا



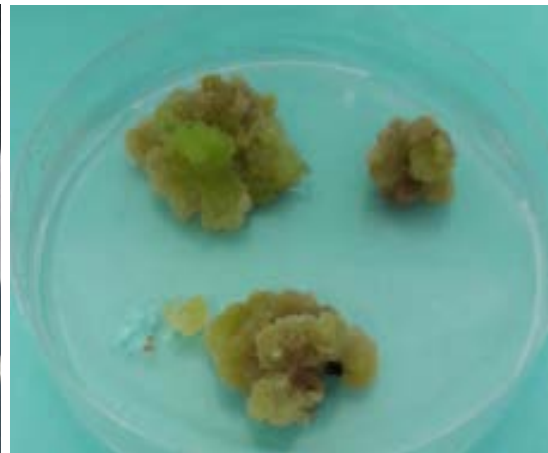
KINT(4)+IAA(4) السويقة الجنينية السفلى



KINT(4)+IAA(4) القمة النامية



KINT(1)+IAA(1) السويقة الجنينية العليا



BA(2)+NAA(0.5) السويقة الجنينية العليا

شكل (26) اشكال متنوعة للكالس لأجزاء نبات الماش وضمن التوليفات الهرمونية المختلفة.

4-1-4 دور فيتامين C وهرمون البراسينولايد في بعض المؤشرات المدروسة لكالس نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

4-1-4-1 الوزن الطري (ملغم) :

اوضحت نتائج الجدول (21) وجود انخفاض في الوزن الطري للكالس بزيادة تراكيز ملح كلوريد الصوديوم المضافة الى وسط MS، وأعطى التركيز الملحي 15ديسيسمنز.م¹⁻ اقل قيمة لمتوسط الوزن الطري وبنسب انخفاض معنوية (52.41، 68.24، 35.72) % قياسا بالتراكيز الملحية (6، 9، 12)ديسيسمنز.م¹⁻ بالتتابع.

ادت اضافته فيتامين C الى وسط MS الى وجود زيادة معنوية في متوسط الوزن الطري للكالس وعند جميع تراكيزه المستعملة، وتفق التركيز 40ملغم.لتر¹⁻ وذلك لاعطائه اعلى متوسط للوزن الطري بلغ 305.89ملغم وبنسبة زيادة 37.50% قياسا بمعاملة السيطرة. ادت اضافته هرمون البراسينولايد الى وسط MS الى وجود زيادة معنوية اخرى في متوسط الوزن الطري للكالس ولجميع تراكيزه المستعملة ايضا، وتفق التركيز 0.02ملغم.لتر¹⁻ لاعطائه اعلى متوسط للوزن الطري بلغ 283.08ملغم وبنسبة زيادة 20.13% قياسا بمعاملة السيطرة.

اشارت نتائج التداخل الثنائي بين تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد معنويا في متوسط الوزن الطري، واعطت المعاملة المؤلفة من 40ملغم.لتر¹⁻ من الفيتامين مع 0.02ملغم.لتر¹⁻ من الهرمون اعلى وزن طري بلغ 362.85ملغم واختلفت معنويا عن المعاملات الاخرى، في حين كانت اقل متوسط للوزن الطري في المعاملة الخالية من الفيتامين والهرمون وبلغ 200.90ملغم.

كان للتداخل الثنائي بين تراكيز NaCl وفيتامين C معنويا، وتفوقت المعاملة المؤلفة من 9ديسيسمنز.م¹⁻ مع 40ملغم.لتر¹⁻ معنويا على جميع المعاملات لأعطائها اعلى متوسط للوزن الطري 569.89ملغم، بينما كان اقل متوسط للوزن الطري في المعاملة 15ديسيسمنز.م¹⁻ الخالية من تراكيز فيتامين C وبلغ 110.24ملغم. اما التداخل الثنائي بين تراكيز NaCl وهرمون البراسينولايد فقد كان معنويا هو الاخر واعطت المعاملة المؤلفة من 9ديسيسمنز.م¹⁻ مع 0.02ملغم.لتر¹⁻ اعلى متوسط للوزن الطري 470.90ملغم، في حين كانت اقل متوسط للوزن الطري في المعاملة 15ديسيسمنز.م¹⁻ الخالية من تراكيز الهرمون وبلغ 121.84ملغم.

اثر التداخل الثلاثي بين العوامل الثلاثة المدروسة معنويا في هذه الصفة، اذ تفوقت المعاملة المؤلفة من 9ديسيسمنز.م¹⁻ مع 40ملغم.لتر¹⁻ فيتامين C مع 0.02ملغم.لتر¹⁻ هرمون البراسينولايد معنويا على بقية المعاملات بأعطائها اعلى وزن طري للكالس بلغ 709.48ملغم، في حين كان اقل وزن طري في المعاملة المؤلفة من 15ديسيسمنز.م¹⁻ وغير المضاف اليها الفيتامين والهرمون

93.74 ملغم، وهذا يؤكد على التأثير السلبي للاجهاد الملحي في اختزال الوزن الطري للكالس وانخفاض محتواه المائي، فيما ساهمت عملية اضافة الفيتامين والهرمون الى وسط MS في التغلب على الاثر السلبي للاجهاد عبر الزيادة في الوزن الطري للكالس واعطت المعاملة 40 ملغم لتر⁻¹ من الفيتامين مع 0.02 ملغم لتر⁻¹ وبالتركيز الملحي السابق (15 ديسيمنز.م⁻¹) وزنا طريا 190.03 ملغم وبنسبة زيادة 102.72% قياسا بالمعاملة الاخير.

جدول (21) دور تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في الوزن الطري (ملغم) للكالس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15	12	9	6		
200.90	93.74	138.73	307.55	263.60	0	0
223.88	112.92	155.62	342.34	284.63	0.02	
242.60	124.07	168.53	372.43	305.38	0.04	
249.13	140.92	239.14	321.06	295.57	0	20
262.52	142.89	247.88	360.28	299.01	0.02	
302.22	157.24	292.19	457.02	302.43	0.04	
256.93	131.05	195.47	436.67	264.53	0	40
362.85	190.03	271.77	709.48	280.12	0.02	
297.89	136.71	203.18	563.52	288.14	0.04	
	136.60	212.50	430.04	287.05	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR=0.30	NaCl x Vit.C x BR=0.61			NaCl=0.20	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
222.46	110.24	154.29	340.97	284.54	0	
271.29	146.95	259.74	379.45	299.01	20	
305.89	152.60	223.47	569.89	277.60	40	
Vit.C=0.17	NaCl x Vit.C=0.35				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
235.65	121.84	191.11	355.09	274.57	0	
283.08	148.61	225.09	470.90	287.92	0.02	
280.90	139.34	221.30	464.32	298.65	0.04	
BR=0.17	NaCl x BR=0.35				L.S.D 0.05	

4-1-4-2 الوزن الجاف (ملغم) :

أظهرت نتائج التحليل الاحصائي في الجدول (22) ان اضافة NaCl الى وسط MS أدى الى انخفاض تدريجي ومعنوي في متوسط الوزن الجاف للكالس، اذ سجل التركيز 15ديسيمنز.م⁻¹ اقل متوسط للوزن الجاف 22.39ملغم وبنسب انخفاض (55.91، 63.58، 33.93)% قياسا بالتركيز (6، 9، 12)ديسيمنز.م⁻¹ بالتتابع.

أظهرت النتائج جدول (22) ايضا حصول زيادة معنوية في متوسط الوزن الجاف للكالس عند اضافة التركيزين (20، 40)ملغم.لتر⁻¹ من فيتامين C الى وسط MS، اذ بلغ متوسط الوزن الجاف (42.07، 44.16)ملغم بالتتابع قياسا بمعاملة السيطرة التي اعطت 40.18ملغم. اما تأثير هرمون البراسينولايد المضاف الى وسط MS فقد كان معنويا وايجابا في متوسط الوزن الجاف للكالس، واعطى التركيزين (0.02، 0.04)ملغم.لتر⁻¹ نسب زيادة (20.46، 21.28)% قياسا بالمعاملة السيطرة.

أشارت النتائج الموضحة في الجدول (22) ان التداخل الثنائي بين تراكيز فيتامين C و هرمون البراسينولايد معنويا في متوسط الوزن الجاف واعطت المعاملة المؤلفة من 40ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C مع 0.02ملغم.لتر⁻¹ هرمون البراسينولايد اعلى متوسط للوزن الجاف بلغ 48.18ملغم واختلفت معنويا عن المعاملات الاخرى، بينما كان اقل متوسط للوزن الجاف في المعاملة السيطرة 34.25ملغم. اما التداخل الثنائي بين تراكيز NaCl وفيتامين C فقد كان معنويا في صفة متوسط الوزن الجاف للكالس، وتفوقت المعاملة المؤلفة من 9ديسيمنز.م⁻¹ مع 40ملغم.لتر⁻¹ معنويا على جميع المعاملات لأعطائها اعلى متوسط للوزن الجاف 66.31ملغم، بينما كان اقل متوسط للوزن الجاف في المعاملة 15ديسيمنز.م⁻¹ الخالية من الفيتامين 20.90ملغم. اما التداخل الثنائي بين تراكيز NaCl وبراسينولايد فقد كان معنويا هو الاخر، واعطت المعاملة المؤلفة من 9ديسيمنز.م⁻¹ مع 0.02ملغم.لتر⁻¹ اعلى متوسط للوزن الجاف 65.60ملغم، في حين كان اقل متوسط للوزن الجاف في المعاملة 15ديسيمنز.م⁻¹ الخالية من الهرمون وبلغ 21.13ملغم.

كذلك لوحظ وجود فروق معنوية في قيمة الوزن الجاف الناتجة من تداخل العوامل المدروسة الثلاث، اذ اعطت المعاملة ذات التركيز الملحي 9ديسيمنز.م⁻¹ والمضاف اليها تراكيز الفيتامين و الهرمون (40 و 0.02)ملغم.لتر⁻¹ بالتتابع افضل القيم 72.90ملغم قياسا بالمعاملات الاخرى، في حين كان اقل قيمة لهذه الصفة في المعاملة 15ديسيمنز.م⁻¹ من NaCl والخالية من الفيتامين و الهرمون 19.52ملغم، وهذا يؤكد ايضا على التأثير السلبي للاجهاد الملحي في انخفاض الوزن الجاف اسوة بالوزن الطري، فيما ساهمت عملية اضافة الفيتامين C وبراسينولايد الى وسط MS

للتركيز الملحي السابق الى التغلب على الاثر السلبي للاجهاد عبر الزيادة الحاصلة في الوزن الجاف، واعطت المعاملة المؤلفة من 15ديسيمنز.م⁻¹NaCl¹⁻ وتركيز (40، 0.02)ملغم.لتر⁻¹ من الفيتامين والهرمون بالتتابع وزنا جافا 27.12ملغم وبنسبة زيادة 38.93% قياسا بالمعاملة الاخيرة. جدول(22)دور تراكيز فيتامينC وهرمون البراسينولايد في الوزن الجاف(ملغم) للكاس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15	12	9	6		
34.25	19.52	27.74	50.66	39.10	0	0
41.63	21.24	29.64	61.25	54.36	0.02	
44.65	21.95	31.87	63.21	61.59	0.04	
36.79	21.67	30.97	52.42	42.31	0	20
43.87	22.07	33.69	62.64	57.06	0.02	
45.55	22.11	33.74	64.20	62.15	0.04	
39.93	22.21	34.57	59.99	42.96	0	40
48.18	27.12	44.07	72.90	48.62	0.02	
44.38	23.65	38.91	66.05	48.89	0.04	
	22.39	33.89	61.48	50.98	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR=0.15	NaCl x Vit.C x BR=0.29			NaCl=0.10	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
40.18	20.90	29.75	58.37	51.68	0	
42.07	21.95	32.73	59.75	53.84	20	
44.16	24.33	39.18	66.31	46.82	40	
Vit.C=0.08	NaCl x Vit.C=0.17				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
36.99	21.13	31.03	54.35	41.46	0	
44.56	23.48	35.80	65.60	53.35	0.02	
44.86	22.57	34.84	64.49	57.54	0.04	
BR=0.08	NaCl x BR=0.17				L.S.D 0.05	

4-1-4 دليل تحمل الاجهاد الملحي(%) :

أشارت النتائج في الجدول(23) إلى أن التراكيز الملحية من NaCl المضافة الى وسط MS حققت اغلبها انخفاضا تدريجيا ومعنويا في متوسط دليل تحمل الاجهاد الملحي لخلايا الكالس إذ بلغ (86.67، 57.27)% عند المستويين (12، 15)ديسيسمنز.م⁻¹ بالتتابع، بينما أعطت معاملة السيطرة متوسط للصفة اعلاه 129.88%، فيما اعطى التركيز 9ديسيسمنز.م⁻¹ اعلى متوسط للصفة اعلاه 157.24%.

وجد ان جميع تراكيز فيتامينC(جدول23) المضافة الى وسط MS قد سببت زيادة معنوية في متوسط صفة دليل تحمل الاجهاد الملحي واعطى التركيز 40ملغم.لتر⁻¹ اعلى قيمة لمتوسط هذه الصفة 112.95% واعطى التركيز 20ملغم.لتر⁻¹ 107.59% قياسا بمعاملة السيطرة 102.75%.

كذلك الحال مع تراكيز هرمون البراسينولايد(جدول23)، اذ سببت جميعها زيادة معنوية ايضا في متوسط هذه الصفة واعطى التركيز 0.04ملغم.لتر⁻¹ اعلى قيمة بلغت 114.73%، فيما اعطى التركيز 0.02ملغم.لتر⁻¹ 113.95% قياسا بمعاملة السيطرة التي اعطت 94.61%.

كانت جميع التداخلات الثنائية بين تراكيز فيتامين C وتراكيز هرمون البراسينولايد و تراكيز NaCl وتراكيز فيتامينC وتراكيز NaCl وتراكيز هرمون البراسينولايد مؤثرة بصورة معنوية في متوسط دليل تحمل الاجهاد الملحي، واعطت المعاملة المولفة من 40ملغم. لتر⁻¹ فيتامين C مع 0.02 ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد والمعاملة المولفة من 9ديسيسمنز.م⁻¹ و 40ملغم.لتر⁻¹ فيتامينC والمعاملة المولفة من 9ديسيسمنز.م⁻¹ مع 0.02ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد اعلى متوسط دليل تحمل الاجهاد الملحي (123.22، 169.60، 167.77)% بالتتابع فيما كان اقل متوسط لدليل تحمل الاجهاد الملحي في المعاملة الخالية من الفيتامين والهرمون والمعاملتين ذات 15ديسيسمنز.م⁻¹ والخاليتين من تراكيز الفيتامين والهرمون اقل متوسط وهذا يدل على اهمية الفيتامين والهرمون في زيادة تحمل خلايا الكالس للملوحة.

اظهر التداخل بين العوامل المدروسة الثلاثة اختلافات معنوية بين المعاملات في قيم هذه الصفة، إذ أعطت المعاملة المولفة من 9ديسيسمنز.م⁻¹ وتركيزين (40 و 0.02)ملغم.لتر⁻¹ من الفيتامين والهرمون بالتتابع افضل القيم 186.44% قياسا بالمعاملات الاخرى، في حين كانت اقل قيمة لهذه الصفة في المعاملة المولفة من 15ديسيسمنز.م⁻¹ من NaCl وبدون اضافة الفيتامين و الهرمون وبلغت 49.91%، وهذا يؤكد ايضا على التأثير السلبي للاجهاد الملحي في انخفاض دليل تحمل الاجهاد الملحي للكالس، فيما ساهمت عملية الاضافة فيتامينC وهرمون البراسينولايد في التغلب على الاثر السلبي للاجهاد عبر الزيادة في قيمة دليل تحمل الاجهاد الملحي لخلايا الكالس، اذ

اعطت المعاملة ذات التركيز الملحي السابق (15ديسيسمنز.م⁻¹) والمضافة اليها تركيزين (40، 0.02) ملغم.لتر⁻¹ من الفيتامين والهرمون بالتتابع قيمة دليل تحمل الاجهاد الملحي 69.35% وبنسبة زيادة 38.95%، وهذا الكلام يسري في كل التراكيز الملحية، اذ تزداد قيم دليل تحمل الاجهاد الملحي بزيادة الاضافة الخارجية للفيتامين والهرمون.

جدول(23) دور تراكيز فيتامينC وهرمون البراسينولايد في دليل تحمل الاجهاد الملحي(%) للكاس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيسمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15	12	9	6		
87.59	49.91	70.94	129.53	100.00	0	0
106.45	54.32	75.78	156.67	139.04	0.02	
114.21	56.16	81.51	161.66	157.51	0.04	
94.10	55.42	78.71	134.07	108.21	0	20
112.18	56.44	86.16	160.21	145.92	0.02	
116.48	56.52	86.30	164.19	158.92	0.04	
102.14	56.83	88.42	153.45	109.86	0	40
123.22	69.35	112.73	186.44	124.35	0.02	
113.48	60.48	99.50	168.93	125.03	0.04	
	57.27	86.67	157.24	129.88	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR=0.06	NaCl x Vit.CxBR=0.12			NaCl=0.04	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
102.75	53.46	76.08	149.29	132.18	0	
107.59	56.13	83.72	152.82	137.69	20	
112.95	62.22	100.23	169.60	119.74	40	
Vit.C=0.03	NaCl x Vit.C=0.07				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
94.61	54.05	79.36	139.02	106.02	0	
113.95	60.04	91.56	167.77	136.44	0.02	
114.73	57.72	89.10	164.93	147.15	0.04	
BR=0.03	NaCl x BR=0.07				L.S.D 0.05	

4-4-1-4 معدل النمو المطلق (ملغم.يوم⁻¹):

لوحظ في نتائج الجدول (24) وجود فروق معنوية واضحة بين تراكيز NaCl المضافة الى وسط MS في متوسط معدل نمو الكالس المطلق واعطى التركيز الاخير (15ديسيسمنز.م⁻¹) اقل متوسط لهذه الصفة 1.26ملغم.يوم⁻¹ قياسا بالتراكيز الملحية (6، 9، 12)ديسيسمنز.م⁻¹ التي اعطت (6.25، 11.00، 3.75)ملغم.يوم⁻¹ وبنسبة انخفاض (66.40، 88.55، 79.84)% بالتتابع. وجد ان جميع تراكيز فيتامينC (جدول24) المضافة الى وسط MS قد سببت زيادة معنوية في متوسط صفة معدل نمو الكالس المطلق، واعطى التركيز 40ملغم.لتر⁻¹ اعلى قيمة لمتوسط هذه الصفة 6.87ملغم.يوم⁻¹ قياسا بمعاملة السيطرة التي اعطت 4.11ملغم.يوم⁻¹. كذلك الحال مع تراكيز هرمون البراسينولايد (جدول24)، اذ سببت جميعها زيادة معنوية ايضا في متوسط هذه الصفة، واعطى التركيز 0.02ملغم.لتر⁻¹ اعلى قيمة 6.11ملغم.يوم⁻¹ قياسا بمعاملة السيطرة التي اعطت 4.56ملغم.يوم⁻¹.

كانت جميع التداخلات الثنائية بين تراكيز فيتامينC وتراكيز البراسينولايد وتراكيز NaCl وتراكيز فيتامينC وتراكيز NaCl وتراكيز البراسينولايد مؤثرة بصورة معنوية في متوسط معدل نمو الكالس المطلق، واعطت المعاملة المولفة من 40ملغم.لتر⁻¹ فيتامينC مع 0.02ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد والمعاملة المولفة من 9ديسيسمنز.م⁻¹ و 40ملغم.لتر⁻¹ فيتامينC والمعاملة المولفة من 9ديسيسمنز.م⁻¹ مع 0.02ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد اعلى متوسط لمعدل نمو الكالس (8.80، 15.65، 12.36)ملغم.يوم⁻¹ بالتتابع، فيما كانت اقل متوسط لمعدل النمو المطبق للكالس في المعاملة غير المضاف اليها الفيتامين والهرمون والمعاملتين ذات 15ديسيسمنز.م⁻¹ والخاليتين من تراكيز الفيتامين والهرمون، ومن الجدير بالذكر ان اضافة الفيتامين والهرمون الى الوسط الغذائي سببت تقليل الاثار السلبية للاجهاد الملحي ولجميع تراكيزه.

اظهر التداخل بين العوامل المدروسة الثلاثة اختلافات معنوية بين المعاملات في هذه الصفة، إذ اعطت المعاملة المؤلفة من 9ديسيسمنز.م⁻¹ وتراكيز الفيتامين والهرمون (40 و 0.02)ملغم.لتر⁻¹ بالتتابع افضل القيم 20.31ملغم.يوم⁻¹ قياسا بالمعاملات الاخرى، في حين كانت اقل قيمة لهذه الصفة في المعاملة المؤلفة من 15ديسيسمنز.م⁻¹ من NaCl وبدون اضافة الفيتامين والهرمون وبلغت 0.21ملغم.يوم⁻¹، وهذا يؤكد ايضا على التأثير السلبي للاجهاد الملحي في انخفاض معدل النمو المطلق للكالس، فيما ساهمت عملية الاضافة بالفيتامين والهرمون في التغلب على الاثر السلبي للاجهاد من خلال الزيادة في قيمة معدل النمو المطلق للكالس ولجميع المعاملات ضمن التركيز الملحي 15ديسيسمنز.م⁻¹ لاسيما المعاملة المولفة من التركيز الملحي السابق (15ديسيسمنز

م¹) والمضافة اليها تركيزين من الفيتامين والهرمون (40، 0.02) ملغم. لتر¹ بالتتابع التي اعطت معدل نمو مطلق لكالس مقداره 3.00 ملغم. يوم¹.

جدول (24) دور تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في معدل النمو المطلق (ملغم. يوم¹) للكالس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنزم. م ¹)				BR (ملغم. لتر ¹)	Vit.C (ملغم. لتر ¹)
	15	12	9	6		
3.46	0.21	1.28	6.90	5.44	0	0
4.13	0.44	1.85	8.07	6.16	0.02	
4.75	0.82	2.27	9.08	6.84	0.04	
4.98	1.33	4.64	7.36	6.57	0	20
5.41	1.35	4.93	8.68	6.66	0.02	
6.73	1.92	6.38	11.90	6.74	0.04	
5.23	1.03	3.17	11.23	5.47	0	40
8.80	3.00	5.74	20.31	6.12	0.02	
6.60	1.27	3.45	15.42	6.26	0.04	
	1.26	3.75	11.00	6.25	متوسط تأثير NaCl	
Vit.C x BR=0.09	NaCl x Vit.C x BR=0.15		NaCl=0.05		L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
4.11	0.49	1.80	8.02	6.15	0	
5.71	1.53	5.32	9.32	6.65	20	
6.87	1.77	4.12	15.65	5.95	40	
Vit.C=0.04	NaCl x Vit.C=0.09				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
4.56	0.86	3.03	8.50	5.83	0	
6.11	1.60	4.18	12.36	6.31	0.02	
6.03	1.33	4.03	12.13	6.61	0.04	
BR=0.04	NaCl x BR=0.09				L.S.D 0.05	

4-1-4-5 معدل النمو النسبي (%) :

بينت نتائج الجدول (25) ان متوسط معدل نمو الكالس النسبي بدأ يتناقص وبشكل تدريجي ومعنوي بزيادة تراكيز NaCl المضافة الى وسط MS، وسجل التركيز الملحي 15ديسيسمنز.م¹⁻ اقل متوسط لصفة اعلاه بلغ 23.23% وبنسبة انخفاض 79.78% قياسا بمعاملة السيطرة.

وجد ان جميع تراكيز فيتامينC (جدول25) المضافة الى وسط MS قد سببت زيادة معنوية في متوسط صفة معدل نمو الكالس النسبي واعطى التركيز 40ملغم.لتر¹⁻ اعلى قيمة لمتوسط هذه الصفة 126.32% قياسا بمعاملة السيطرة التي اعطت 75.61%. كذلك الحال مع تراكيز هرمون البراسينولايد، اذ سببت جميعها زيادة معنوية ايضا في متوسط هذه الصفة واعطى التركيز 0.02 ملغم.لتر¹⁻ اعلى قيمة بلغت 112.30% قياسا بمعاملة السيطرة التي اعطت 83.67%.

كانت جميع التداخلات الثنائية بين تراكيز فيتامينC وتراكيز هرمون البراسينولايد وتراكيز NaCl وتراكيز كل من فيتامينC وهرمون البراسينولايد مؤثرة بصورة معنوية في متوسط معدل نمو الكالس النسبي، واعطت المعاملات المولفة من 40ملغم.لتر¹⁻ فيتامين C مع 0.02ملغم.لتر¹⁻ براسينولايد و9ديسيسمنز.م¹⁻ و 40ملغم.لتر¹⁻ فيتامينC و9ديسيسمنز.م¹⁻ مع 0.02ملغم.لتر¹⁻ براسينولايد اعلى متوسط لمعدل نمو الكالس النسبي (161.62، 287.75، 227.07)% بالتتابع فيما كانت اقل متوسط لمعدل نمو الكالس في المعاملة غير المضاف اليها الفيتامين والهرمون والمعاملتين ذات 15ديسيسمنز.م¹⁻ والخاليتين من تراكيز الفيتامين والهرمون.

اظهر التداخل بين العوامل المدروسة الثلاثة اختلافات معنوية بين المعاملات في هذه الصفة، إذ أعطت المعاملة المولفة من 9ديسيسمنز.م¹⁻ وتراكيز الفيتامين والهرمون (40 و0.02) ملغم.لتر¹⁻ بالتتابع افضل القيم 373.31% قياسا بالمعاملات الاخرى، في حين كانت اقل قيمة لهذه الصفة في المعاملة المولفة من 15ديسيسمنز.م¹⁻ من NaCl وبدون اضافة للفيتامين والهرمون وبلغت 3.87%، وهذا يؤكد ايضا على التأثير السلبي للاجهاد الملحي في انخفاض معدل نمو الكالس النسبي، فيما ساهمت عملية اضافة الفيتامين والهرمون في التغلب على الاثر السلبي للاجهاد من خلال الزيادة في قيمة معدل نمو الكالس واعطت المعاملة ذات التركيز الملحي السابق و المضافة اليها تركيزين من الفيتامين والهرمون (40، 0.02) ملغم.لتر¹⁻ بالتتابع معدل نمو كالس نسبي مقداره 55.15%.

جدول (25) دور تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في معدل النمو النسبي (%) للكالس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15	12	9	6		
63.56	3.87	23.52	126.82	100.00	0	0
75.92	8.10	34.00	148.33	113.25	0.02	
87.36	15.06	41.74	166.90	125.72	0.04	
91.46	24.45	85.32	135.32	120.76	0	20
99.36	24.82	90.63	159.58	122.43	0.02	
123.82	35.31	117.28	218.80	123.91	0.04	
95.99	18.92	58.27	206.44	100.35	0	40
161.62	55.15	105.53	373.31	112.50	0.02	
121.34	23.35	63.46	283.49	115.06	0.04	
	23.23	68.86	202.11	114.89	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR=0.07	NaCl x Vit.CxBR=0.15			NaCl=0.05	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
75.61	9.01	33.09	147.35	112.99	0	
104.88	28.19	97.74	171.23	122.37	20	
126.32	32.47	75.75	287.75	109.30	40	
Vit.C=0.04	NaCl x Vit.C=0.08				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
83.67	15.75	55.70	156.19	107.04	0	
112.30	29.35	76.72	227.07	116.06	0.02	
110.84	24.57	74.16	223.06	121.56	0.04	
BR=0.04	NaCl x BR=0.08				L.S.D 0.05	

4-1-4-6 استدامة الكتلة الحيوية (ملغم.يوم) :

لوحظ من الجدول (26) وجود فروق معنوية واضحة بين تراكيز NaCl المستعملة في التجربة النسيجية لمتوسط صفة استدامة الكتلة الحيوية واعطى التركيز الملحي 15 ديسيمنز.م⁻¹ اقل متوسط لهذه الصفة 3.56 ملغم.يوم قياسا بالتراكيز الملحية (6، 9، 12) ديسيمنز.م⁻¹ التي اعطت (5.79، 7.95، 4.69) ملغم.يوم وبنسب انخفاض (24.09، 55.22، 38.51)% بالتتابع.

وجد ان جميع تراكيز فيتامينC (جدول26) قد سببت جميعها زيادة معنوية في متوسط صفة استدامة الكتلة الحيوية واعطى التركيز 40ملغم.لتر⁻¹ اعلى قيمة لمتوسط هذه الصفة 6.09ملغم.يوم قياسا بمعاملة السيطرة التي اعطت 4.84ملغم.يوم. كذلك الحال مع تراكيز البراسينولايد (جدول26)، اذ سببت جميعها زيادة معنوية ايضا في متوسط هذه الصفة واعطى التركيز 0.02ملغم.لتر⁻¹ اعلى قيمة بلغت 5.75ملغم.يوم قياسا بمعاملة السيطرة التي اعطت 5.04ملغم.يوم.

جدول(26) دور تراكيز فيتامينC وهرمون البراسينولايد في استدامة الكتلة الحيوية(ملغم.يوم) للكاس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

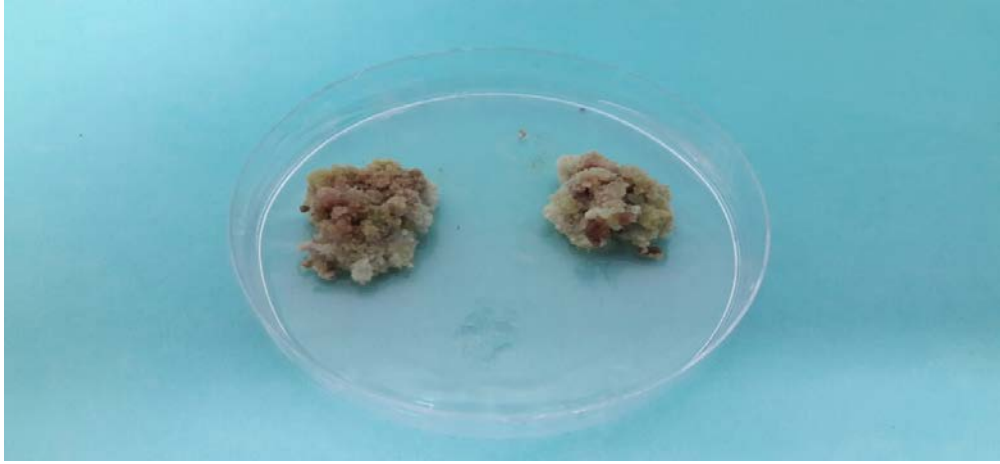
متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15	12	9	6		
4.52	2.90	3.58	6.13	5.47	0	0
4.85	3.21	3.84	6.62	5.72	0.02	
5.14	3.38	4.05	7.08	6.06	0.04	
5.25	3.65	5.09	6.33	5.92	0	20
5.44	3.64	5.22	6.91	5.97	0.02	
6.03	3.86	5.88	8.37	6.00	0.04	
5.36	3.48	4.43	8.05	5.47	0	40
6.95	4.35	5.61	12.14	5.70	0.02	
5.95	3.55	4.53	9.93	5.79	0.04	
	3.56	4.69	7.95	5.79	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR=0.09	NaCl x Vit.CxBR=0.15		NaCl=0.05		L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
4.84	3.16	3.82	6.61	5.75	0	
5.58	3.72	5.40	7.20	5.96	20	
6.09	3.80	4.86	10.04	5.65	40	
Vit.C=0.04	NaCl x Vit.C=0.08				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
5.04	3.34	4.37	6.84	5.62	0	
5.75	3.73	4.89	8.56	5.80	0.02	
5.71	3.60	4.82	8.46	5.95	0.04	
BR=0.04	NaCl x BR=0.08				L.S.D 0.05	

كانت جميع التداخلات الثنائية بين تراكيز فيتامين C وتراكيز هرمون البراسينولايد وتراكيز NaCl وكل من تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد مؤثرة بصورة معنوية في متوسط استدامة الكتلة الحيوية، واعطت المعاملات المولفة من 9ديسيسمنز.م⁻¹ و 40ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C و 9ديسيسمنز.م⁻¹ مع 0.02ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد و 40ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C مع 0.02ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد اعلى متوسط استدامة الكتلة الحيوية (10.04، 8.56، 6.95) ملغم.يوم بالتتابع، فيما كانت اقل متوسط لاستدامة الكتلة الحيوية في المعاملة غير المضاف اليها الفيتامين والهرمون والمعاملتين ذات 15ديسيسمنز.م⁻¹ والخاليتين من تراكيز الفيتامين والهرمون.

اظهر التداخل بين العوامل المدروسة الثلاثة اختلافات معنوية بين المعاملات في هذه الصفة، إذ أعطت المعاملة المؤلفة من 9ديسيسمنز.م⁻¹ وتراكيز الفيتامين والهرمون (40 و 0.02) ملغم.لتر⁻¹ بالتتابع افضل القيم 12.14 ملغم.يوم قياسا بالمعاملات الاخرى في حين كانت اقل القيم لهذه الصفة في المعاملة المؤلفة من 15ديسيسمنز.م⁻¹ من كلوريد الصوديوم وبدون اضافة الفيتامين والهرمون وبلغت 2.90 ملغم.يوم، وهذا يؤكد ايضا على التأثير السلبي للاجهاد الملحي في انخفاض استدامة الكتلة الحيوية للكالس، فيما ساهمت عملية الاضافة فيتامين C وهرمون البراسينولايد في التغلب على الاثر السلبي للاجهاد من خلال الزيادة في قيمة استدامة الكتلة الحيوية، واعطت المعاملة ذات التركيز الملحي السابق والمضافة اليها تركيزين من الفيتامين والهرمون (40، 0.02) ملغم.لتر⁻¹ بالتتابع استدامة الكتلة الحيوية مقدارها 4.35 ملغم.يوم وبنسبة زيادة 50.00%، وهذه النتيجة مشابهة في صفات المدروسة الاخرى (الوزنين الطري والجاف ودليل تحمل الاجهاد ومعدلي النمو المطلق والنسبي للكالس).

ان الانخفاض الحاصل في مؤشرات الكالس المذكورة انفا بزيادة تراكيز كلوريد الصوديوم المضافة الى وسط MS يعود الى دور الاجهاد الملحي في زيادة سالبية الجهد الازموزي وانخفاض سالبية الجهد المائي المسبب الى انخفاض قابلية خلايا الكالس على امتصاص الماء و المغذيات من الوسط الغذائي يرافقه اختلال في التوازن الهرموني والفعالية الانزيمية واضطراب المسارات الايضية وانخفاض بناء المواد الايضية والمحتوى المائي وتزايد الجذور الحرة (الكعبي واخرون، 2016)، فضلا عن استنزاف الكربوهيدرات وتزايد تحللها لانتاج الطاقة ومن ثم زيادة سرعة التنفس في خلايا الكالس المقاومة للاجهاد الواقع عليها (التميمي، 2016)، كذلك زيادة تراكم ايوني Na⁺ و Cl⁻ في خلايا الكالس يسبب فقدان الاتزان الايوني وظهور اعراض السمية (Sami et al., 2016)، ليتناقص سرعة الانقسام الخلوي وانخفاض اعدادها ومن ثم بطء نمو الكالس وتغير لونه من الابيض المخضر ذات قوام متراص او هش greenish, creamy and compact or

friaBre الى لون بني مسود وذات قوام مائي ومتفتت brownish, watery and friaBre (Atabaki *et al.*,2018) والموضح في الشكل(27).



شكل(27) شكل وحجم ولون الكالس لنبات الماش تحت تركيز 15ديسيسمنز.م¹.

ان تغير شكل وحجم الكالس نتيجة التأثير الايوني لكلوريد الصوديوم في زيادة الضرر النسبي للاغشية يرافقها خروج الايونات ومن ثم تمزق Necrosis في انسجة الكالس وضعف نموه، كذلك تغير لونه نحو الاسمرار Browing ربما يعود لزيادة المواد الفينولية استجابة للاجهاد الملحي الذي يعمل على اكسدة الفينولات بوساطة انزيم Poliphenoloxidase peroxidase او بسبب تحلل صبغة الكلوروفيل وانتزاع سلسله الفيتول phytol بوساطة انزيم Chlorophyllase وتحوله الى مركب Klorofilid الذي يتجزء الى مركب Pheophorbides ذات اللون البني المسمر ومركب Chlorine عديم اللون (Saputro *et al.*,2017). جاءت هذه النتائج متفقة مع نتائج (Rao and Patil,2012) والكعبى(2016) اثناء دراستهم للاجهاد الملحي المسلط على كالس نباتي الماش والفلفل بالتتابع.

اوضحت النتائج ايضا ان هناك زيادة في مؤشرات الكالس المدروسة في التركيز الملحي 9ديسيسمنز.م¹ وهذا ناتج من ان التراكيز الواطنة من الاملاح تؤدي الى تحفيز الفعاليات الايضية وحث الكالس على زيادة انقسام الخلايا وامتصاص الماء والمغذيات لغرض خفض سالبية الجهد الازموزي كوسيلة للتأقلم لظروف الجهد الملحي (Zuoine and El-Hadrami,2004) والموضح في الشكل(28)، وجاءت هذه النتيجة مطابقة مع ماوجده الكعبى واخرون(2016) و Hamad (2017) اثناء دراستهم على كالس نباتي الحنطة والفاصوليا بالتتابع.

اظهرت النتائج ايضا تحسناً في مؤشرات الكالس المذكورة انفا باضافة فيتامينC الى الوسط الغذائي وهذا يعزى الى دور الفيتامين في زيادة تركيز اندول حامض الخليك المحفز للانقسام

واتساع الخلايا (Khan *et al.*, 2011)، وكعامل مساعد cofactor لانزيمات dioxygenases المهمة في بناء الهرمونات النباتية الأخرى (Hossain *et al.*, 2017)، واشترك الفيتامين في تحفيز عملية الانقسام الخلوي من خلال تنشيط انزيم peptidyl-prolylhydroxylase وبناء hydroxyproline الذي يدخل في بناء البروتينات المهمة في مرحلتَي G1 و G2 في الطور البيني interphase في دورة انقسام الخلية (Hussein, 2018)، كذلك دوره في تحفيز انزيم deoxyribo nucleotide reductase المسؤول عن استنساخ DNA بمساعدة ايونات Fe^{+2} (Smirnoff, 2018).

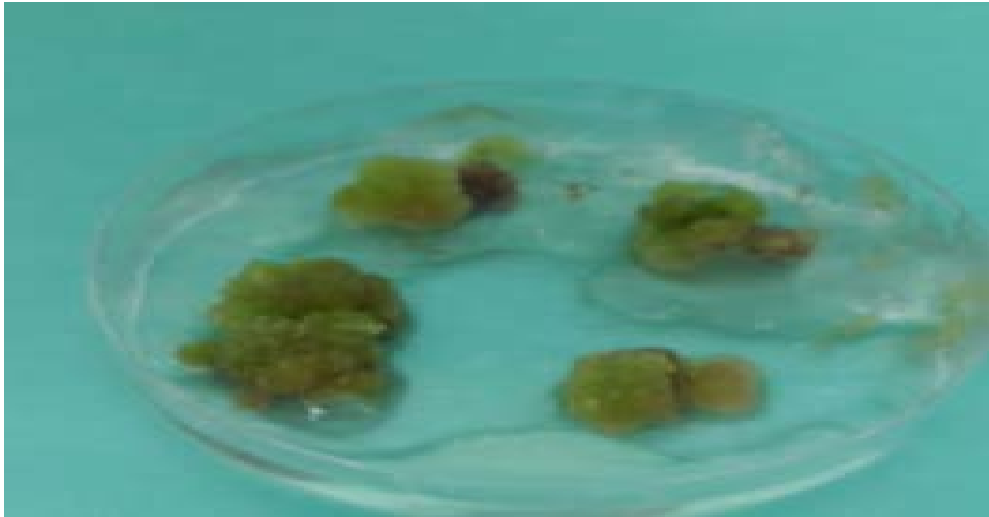


شكل (28) شكل وحجم ولون الكالس لنبات الماش تحت تركيز 9ديسيسمنز م⁻¹.

اما هرمون البراسينولايد المضاف الى الوسط الغذائي، فقد اظهرت النتائج دوره الايجابي اذ سبب زيادة معنوية في مؤشرات الكالس المذكورة انفا، وهذا يعزى الى دور الهرمون في حث الهرمونات الداخلية فقد لوحظ ان هرمون البراسينولايد يحافظ على تركيز الساييتوكاينين في الخلايا المسبب في زيادة الانقسام الخلوي عبر تثبيط عمل انزيم Cytokinin oxidase (Yuldashev *et al.*, 2012)، فضلا عن حثه لعدد كبير من الانزيمات المسؤولة عن بناء الاحماض النووية و البروتينات، وان الية عمل هذا الهرمون تشابه عمل الساييتوكاينين من خلال حث بروتين (CycD) المحفز لمرحلة G1 في الطور البيني في دورة انقسام الخلية، ولكن التراكيز العالية لهذا الهرمون تسبب تثبيط معدل انقسام الخلايا من خلال حث الجينات 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthesis (ACS1,2,3) المسؤولة عن تصنيع انزيم 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase الذي يحول مركب clopropane-1-carboxylic acid الى الاثيلين (Anwar *et al.*, 2018 ; Zhu *et al.*, 2016).

ومن الجدير بالذكر ان الاضافة المشتركة للفيتامين والهرمون الى الوسط الغذائي سببت اختزال الاثار السلبية لملاح كلوريد الصوديوم من خلال زيادة الصفات المدروسة سابقا، وذلك لكون فيتامين C من مستضدات الاكسدة غير الانزيمية، اذ يتأكسد (جزئيتين من فيتامين C) بواسطة انزيم Ascorbate peroxidase (APX) الى مركب Monodehydro ascorbat (MDHA) ويحول جزئية واحدة من H_2O_2 الى جزئيتين من H_2O ، ومن ثم بمساعدة NADPH وبوساطة انزيم MDHA reductase يتأكسد MDHA الى مركب اخر Dehydro ascorbate (DHA) و فيتامين C ومن ثم بوساطة انزيم DHA reductase (DHAR) يتحول DHAR الى فيتامين C مرة اخرى وتحول كلوتاثانيون المؤكسد (GSH) كلوتاثانيون المختزل (GSSG) مانحاً الاكترونين لكسح الجذور الحرة المتولدة من الجهد الملحي وتسمى هذه الدورة بدورة الاسكوريبت-كلوتاثيون (Hossain *et al.*, 2017).

كذلك يعمل هرمون البراسينولايد على حث الجينات المسؤولة عن تحفيز الانظمة الانزيمية (GR، APX، SOD، CAT، POD) وغير الانزيمية (Reduced glutathione (GSH) ، Oxided glutathione (GSSG) ، Ascorbate (ASA) ، وزيادة تركيز الهرمونات الداخلية والاحماض الامينية (البرولين والكلاسين بيتائين والارجنين) وزيادة المحتوى المائي النسبي في الخلايا (Ahmad *et al.*, 2018 ; Khalid and Aftab, 2016) كما موضح في الشكل (29). هذه النتائج مطابقة لنتائج Munir *et al.* (2013) و Alhasnawi *et al.* (2016) اثناء دراستهم على كالس نباتي قصب السكر والرز بالتتابع.



شكل (29) شكل وحجم ولون الكالس لنبات الماش تحت تركيز 15 ديسيسمزم⁻¹ وتركيزين (40+ 0.02) ملغم لتر⁻¹ من الفيتامين والهرمون بالتتابع.

4-1-4-7 النضح الالكتروليتي النسبي(%):

اشارت النتائج المعطاة في جدول(27) الى زيادة معنوية في متوسط النضح الالكتروليتي النسبي بزيادة تراكيز NaCl المضافة الى الوسط الغذائي، فعند رفع التركيز NaCl من 6 الى 15 ديسيمنز.م⁻¹ ازداد متوسط الصفة اعلاه بنسبة 43.21%.

اوضحت النتائج للجدول نفسه وجود انخفاض معنوي في متوسط هذه الصفة بزيادة تراكيز فيتامين C في الوسط الغذائي من 0 الى 20 ملغم.لتر⁻¹ والى 40 ملغم.لتر⁻¹ وبنسبة (7.01، 10.84) % بالتتابع. اما تراكيز هرمون البراسينولايد(جدول27) المضافة الى الوسط الغذائي فقد سببت جميعها انخفاضا معنويا في متوسط هذه الصفة واعطى التركيز 0.04 ملغم.لتر⁻¹ اقل قيمة بلغت 38.76% قياسا بمعاملة السيطرة التي اعطت اعلى قيمة 41.27% .

كانت جميع التداخلات الثنائية بين تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد وتراكيز NaCl وتراكيز كل من فيتامين C وهرمون البراسينولايد مؤثرة بصورة معنوية في متوسط النضح الالكتروليتي النسبي، وكان اعلى متوسط للنضح الالكتروليتي النسبي في المعاملات الخالية من فيتامين C وبراسينولايد وضمن التركيز الملحي 15 ديسيمنز.م⁻¹، فيما اعطت المعاملات المولفة من 40 ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C مع 0.04 ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد و 6 ديسيمنز.م⁻¹ مع 40 ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C و 6 ديسيمنز.م⁻¹ مع 0.04 ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد اقل متوسط النضح الالكتروليتي النسبي (33.30، 31.00، 35.90)% بالتتابع.

اما فيما يخص التداخل بين عوامل الدراسة الثلاثة فقد كان معنويا، وسجل اعلى نضح الالكتروليتي نسبي في الكالس عند التراكيز العالية من كلوريد الصوديوم لاسيما في معاملة التداخل 15 ديسيمنز.م⁻¹ و 0 ملغم.لتر⁻¹ كل من فيتامين C وهرمون البراسينولايد التي اعطت 53.12%، في حين اقل نضح الالكتروليتي النسبي 30.04% عند التركيز 6 ديسيمنز.م⁻¹ و المضاف اليه تراكيز من الفيتامين والهرمون (40، 0.04) ملغم.لتر⁻¹ بالتتابع، وهذا يؤكد على الدور التآزري بين الفيتامين والهرمون في تقليل نضح الايونات من نسيج الكالس، وعند مقارنة اضافة الفيتامين و الهرمون ضمن التركيز الملحي العالي، يتضح الانخفاض المعنوي للمعاملة 15 ديسيمنز.م⁻¹ و 40 ملغم.لتر⁻¹ من فيتامين C و 0.04 ملغم.لتر⁻¹ من براسينولايد عن المعاملة 15 ديسيمنز.م⁻¹ والخالية من الفيتامين والهرمون بنسبة 20.22%. ان انخفاض كمية نضح الايونات من الاغشية يؤدي الى رفع قدرة خلايا الكالس ضد الاجهاد الملحي من خلال زيادة تماسك اغشية الخلايا وتقليل تخريبها.

جدول (27) دور تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في النضح الالكتروني لبيتي النسبي (%) للكاس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15	12	9	6		
43.11	53.12	46.27	35.70	37.35	0	0
42.23	51.80	45.10	35.19	36.82	0.02	
41.46	50.41	43.25	35.16	37.02	0.04	
41.77	50.66	43.81	37.10	35.51	0	20
40.28	50.08	42.96	34.91	33.18	0.02	
38.92	48.02	40.96	33.88	32.84	0.04	
38.93	44.66	42.13	36.27	32.67	0	40
38.24	46.73	40.70	35.25	30.30	0.02	
35.90	42.38	38.50	32.70	30.04	0.04	
	48.65	42.63	35.13	33.97	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR=0.10	NaCl x Vit.C x BR=0.20		NaCl=0.07		L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
42.27	51.77	44.87	35.35	37.06	0	
40.33	49.58	42.58	35.30	33.84	20	
37.69	44.59	40.44	34.74	31.00	40	
Vit.C=0.06	NaCl x Vit.C=0.12				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
41.27	49.48	44.07	36.36	35.18	0	
40.25	49.53	42.92	35.12	33.43	0.02	
38.76	46.94	40.90	33.91	33.30	0.04	
BR=2.88	NaCl x BR=0.12				L.S.D 0.05	

8-4-1-4 محتوى عنصر النتروجين (مايكروغرام.غم⁻¹):

أدى الإجهاد الملحي (وجود التراكيز الملحية المضافة الى وسط MS) الى انخفاض معنوي في محتوى عنصر النتروجين (جدول 28)، فقد إنخفض متوسط محتوى هذا العنصر 292.34 ميكروغرام.غم⁻¹ لتركيز الملحي الاخير (15ديسيمنز.م⁻¹) وبنسبة 68.95% قياسا بالتركيز

الملحي الأول (السيطرة) الذي بلغ 941.43 مايكروغرام.غم⁻¹، بينما ازداد معنويا متوسط محتوى هذا العنصر في التركيز 9ديسيسمنز.م⁻¹ واعطى 1124.76 مايكروغرام.غم⁻¹ وبنسبة زيادة 19.47% قياسا بالتركيز الملحي الأول.

اوضحت النتائج للجدول نفسه وجود زيادة معنوية في متوسط محتوى عنصر النتروجين بزيادة تراكيز فيتامين C المضافة الى وسط MS من 0 الى 20 ملغم.لتر⁻¹ والى 40 ملغم.لتر⁻¹ وبنسبتي زيادة (18.64، 28.79)% بالتتابع. كما أن اضافة تراكيز هرمون البراسينولايد الى الوسط الغذائي (جدول 28) أدى إلى زيادة معنوية في متوسط محتوى هذا العنصر فقد أعطى التركيز 0.04 ملغم.لتر⁻¹ اعلى متوسط لمحتوى هذا العنصر بلغ 818.61 مايكروغرام.غم⁻¹ وبفارق معنوي قياسا بمعاملة السيطرة التي أعطت اقل متوسط لمحتوى هذا العنصر بلغ 559.53 مايكروغرام.غم⁻¹ وبنسبة زيادة 46.30%، فيما اعطى التركيز 0.02 ملغم.لتر⁻¹ 785.98 مايكروغرام.غم⁻¹ وبنسبة زيادة 40.47% قياسا بمعاملة السيطرة.

كانت جميع التداخلات الثنائية بين تراكيز الفيتامين C والهرمون والتراكيز الملحية وتراكيز كل من الفيتامين والهرمون مؤثرة بصورة معنوية في متوسط محتوى هذا العنصر، واعطت المعاملات المؤلفة من 40 ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C مع 0.02 ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد و 9ديسيسمنز.م⁻¹ مع 40 ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C و 9ديسيسمنز.م⁻¹ مع 0.02 ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد اعلى متوسط بلغ (959.73، 1330.52، 1261.82) مايكروغرام.غم⁻¹ بالتتابع، بينما اعطت المعاملة الخالية من الفيتامين والهرمون والمعاملتين ذات 15ديسيسمنز.م⁻¹ الخاليتين من تراكيز الفيتامين والهرمون اقل متوسط بلغ (491.85، 245.47، 229.35) مايكروغرام.غم⁻¹ بالتتابع.

أما التداخل الثلاثي بين عوامل الدراسة الثلاثة فقد كان معنويا هو الآخر، وقد تفوقت المعاملة 9ديسيسمنز.م⁻¹ والمضاف اليها 40 ملغم.لتر⁻¹ من فيتامين C و 0.02 ملغم.لتر⁻¹ من البراسينولايد اعلى محتوى لعنصر النتروجين 1672.97 مايكروغرام.غم⁻¹ واختلفت معنويا عن المعاملات الاخرى، في حين كان اقل محتوى لعنصر النتروجين في المعاملة 15ديسيسمنز.م⁻¹ والخالية من الفيتامين والهرمون 191.29 مايكروغرام.غم⁻¹ وهذا يظهر بوضوح التأثير السلبي للاجهاد الملحي في محتوى عنصر النتروجين، فيما ظهر التأثير الايجابي للمعاملة المضاف اليها فيتامين C بتركيز 40 ملغم.لتر⁻¹ وهرمون البراسينولايد 0.02 ملغم.لتر⁻¹ وضمن التركيز الملحي السابق (15ديسيسمنز.م⁻¹) واعطت 429.81 مايكروغرام.غم⁻¹ وبنسبة زيادة 157.62%.

جدول (28) دور تراكيذ فيتامين C وهرمون البراسينولايد في محتوى عنصر النتروجين (مايكرو غرام.غم⁻¹) للكاس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيسمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15	12	9	6		
491.85	191.29	348.67	778.62	648.83	0	0
640.27	252.42	394.70	977.48	936.46	0.02	
736.58	292.69	486.22	1052.71	1114.70	0.04	
537.68	230.14	394.99	812.32	713.27	0	20
757.96	296.00	516.67	1135.00	1084.17	0.02	
921.32	335.40	636.39	1375.15	1338.33	0.04	
649.04	267.15	529.51	1028.90	770.61	0	40
959.73	429.81	772.27	1672.97	963.84	0.02	
797.92	336.16	663.16	1289.68	902.68	0.04	
	292.34	526.95	1124.76	941.43	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR=4.98	NaCl x Vit.C x BR=9.96			NaCl=3.32	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
622.90	245.47	409.86	936.27	900.00	0	
738.98	287.18	516.02	1107.49	1045.25	20	
802.23	344.38	654.98	1330.52	879.04	40	
Vit.C=2.88	NaCl x Vit.C=5.75				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
559.53	229.53	424.39	873.28	710.90	0	
785.98	326.08	561.21	1261.82	994.82	0.02	
818.61	321.42	595.26	1239.18	1118.57	0.04	
BR=2.88	NaCl x BR=5.75				L.S.D 0.05	

4-1-4-9 محتوى عنصر الفسفور (مايكرو غرام.غم⁻¹):

لوحظ من نتائج الجدول (29) ان تراكيذ كلوريد الصوديوم المضافة الى الوسط الغذائي MS ادت الى حدوث تراجع معنوي في متوسط محتوى عنصر الفسفور، وان اقل متوسط لمحتوى هذا العنصر ظهر في التركيز 15 ديسيسمنز.م⁻¹ وبلغ 61.56 مايكرو غرام.غم⁻¹، في حين كان اعلى

متوسط لمحتوى هذا العنصر في التركيز 9 ديسيمنز.م⁻¹ بلغ 156.49 مايكرو غرام.غم⁻¹ تلاه التركيز 6 ديسيمنز.م⁻¹ وبلغ 134.44 مايكرو غرام.غم⁻¹ ثم التركيز 12 ديسيمنز.م⁻¹ وبلغ 90.09 مايكرو غرام.غم⁻¹.

جدول (29) دور تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في محتوى عنصر الفسفور (مايكرو غرام.غم⁻¹) لكالس نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15	12	9	6		
83.35	49.45	74.96	126.71	82.28	0	0
102.10	53.65	73.03	134.96	146.76	0.02	
124.31	61.87	98.71	157.88	178.78	0.04	
94.55	62.77	81.07	141.22	93.15	0	20
121.72	64.62	81.37	181.25	159.62	0.02	
131.63	67.25	96.94	192.41	169.92	0.04	
101.12	64.78	89.72	129.06	120.93	0	40
129.36	65.75	119.04	206.20	126.46	0.02	
107.61	63.90	95.76	138.75	132.03	0.04	
Vit.CxBR=0.19	61.56	90.09	156.49	134.44	متوسط تأثير NaCl	
	NaCl x Vit.CxBR=0.38			NaCl=0.13	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
103.25	54.99	82.23	139.85	135.94	0	
115.97	64.88	86.46	171.63	140.90	20	
112.70	64.81	101.51	158.00	126.47	40	
Vit.C=0.11	NaCl x Vit.C=0.22				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
93.01	59.00	81.92	132.33	98.79	0	
117.73	61.34	91.15	174.14	144.28	0.02	
121.18	64.34	97.14	163.01	160.24	0.04	
BR=0.11	NaCl x BR=0.22				L.S.D 0.05	

كذلك لوحظ في نتائج الجدول (29) وجود زيادة معنوية في محتوى متوسط عنصر

الفسفور بزيادة تراكيز فيتامين C المضافة، اذ عند رفع التركيز من 0 الى 20 والى 40 ملغم.لتر⁻¹

ازداد تركيز متوسط محتوى عنصر الفسفور بنسبتي (12.32، 9.15) % بالتتابع. كذلك وجدت زيادة معنوية اخرى في متوسط محتوى هذا العنصر بزيادة تراكيز هرمون البراسينولايد (0.02 و 0.04) ملغم لتر⁻¹ وبنسبتي (26.58، 30.29) % بالتتابع قياسا الى معاملة السيطرة.

كانت جميع التداخلات الثنائية بين تراكيز الفيتامين والهرمون والتراكيز الملحية وتراكيز كل من فيتامين C وهرمون البراسينولايد مؤثرة بصورة معنوية في متوسط محتوى عنصر الفسفور، واعطت المعاملات المؤلفة من 20 ملغم لتر⁻¹ فيتامين C مع 0.04 ملغم لتر⁻¹ براسينولايد و 9 ديسيسمنز م⁻¹ مع 20 ملغم لتر⁻¹ فيتامين C و 9 ديسيسمنز م⁻¹ مع 0.02 ملغم لتر⁻¹ براسينولايد اعلى متوسط بلغ (131.63، 171.63، 174.14) مايكرو غرام غم⁻¹ بالتتابع، بينما اعطت المعاملة الخالية من الفيتامين والهرمون والمعاملتين ذات 15 ديسيسمنز م⁻¹ الخاليتين من تراكيز الفيتامين والهرمون اقل متوسط بلغ (54.99، 83.35، 59.00) بالتتابع.

أما التداخل الثلاثي فقد كان معنويا هو الآخر، وقد تفوقت معاملة التداخل 9 ديسيسمنز م⁻¹ والمضاف اليها 40 ملغم لتر⁻¹ من فيتامين C و 0.02 ملغم لتر⁻¹ من البراسينولايد اعلى محتوى لعنصر الفسفور 206.20 مايكرو غرام غم⁻¹ واختلفت معنويا عن معاملات التداخل الاخرى، في حين كان اقل محتوى لعنصر الفسفور في المعاملة 15 ديسيسمنز م⁻¹ والخالية من فيتامين C و هرمون البراسينولايد 49.45 مايكرو غرام غم⁻¹ وهذا يظهر بوضوح التأثير السلبي للاجهاد الملحي في محتوى عنصر الفسفور، فيما ظهر التأثير الايجابي للفيتامين والهرمون في المعاملة المضاف اليها تراكيز 20 و 0.04 ملغم لتر⁻¹ من الفيتامين والهرمون بالتتابع وبالتركيز الملحي السابق (15 ديسيسمنز م⁻¹) واعطت 67.25 مايكرو غرام غم⁻¹ ونسبة زيادة 36.00 %.

4-1-4-10 محتوى عنصر البوتاسيوم (مايكرو غرام غم⁻¹):

اظهرت نتائج الجدول (30) وجود فروق معنوية بين التراكيز الملحية المضافة الى وسط MS لمتوسط محتوى عنصر البوتاسيوم، واعطى التركيز الملحي 15 ديسيسمنز م⁻¹ اقل قيمة لمتوسط محتوى هذا العنصر بلغ 224.40 مايكرو غرام غم⁻¹ ونسبة انخفاض 65.63 % قياسا للتركيز الملحي 6 ديسيسمنز م⁻¹، بينما ازداد معنويا متوسط محتوى العنصر اعلاه في التركيز الملحي 9 ديسيسمنز م⁻¹ واعطى 798.70 مايكرو غرام غم⁻¹ ونسبة زيادة 22.33 % قياسا بالتركيز الملحي 6 ديسيسمنز م⁻¹.

كذلك لوحظ في نتائج الجدول (30) وجود زيادة معنوية في متوسط محتوى عنصر البوتاسيوم بزيادة تراكيز فيتامين C، اذ عند رفع التركيز من 0 الى 20 والى 40 ملغم لتر⁻¹ ازداد تركيز متوسط محتوى عنصر البوتاسيوم بنسبتي (15.13، 18.17) % بالتتابع. كذلك وجدت زيادة

معنوية اخرى في متوسط محتوى هذا العنصر بزيادة تراكيز هرمون البراسينولايد (0.02 و 0.04) ملغم.لتر⁻¹ وبنسبة (17.70، 25.01) % بالتتابع قياسا الى معاملة السيطرة. جدول (30) دور تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في محتوى عنصر البوتاسيوم (مايكرو غرام.غم⁻¹) للكاس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15	12	9	6		
406.94	123.50	333.16	653.90	517.18	0	0
434.53	199.49	367.16	644.28	527.20	0.02	
563.71	241.36	385.26	839.90	788.340	0.04	
459.71	199.94	372.81	690.41	575.69	0	20
553.12	238.16	377.52	850.00	746.82	0.02	
604.99	242.86	451.43	917.19	808.47	0.04	
499.94	232.79	386.65	804.40	575.92	0	40
620.81	292.69	524.46	955.78	710.31	0.02	
539.73	248.77	451.72	832.47	625.93	0.04	
	224.40	405.58	798.70	652.88	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR=0.11	NaCl x Vit.CxBR=0.21			NaCl=0.09	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
468.39	188.12	361.86	712.69	610.91	0	
539.28	226.99	400.59	819.20	710.33	20	
553.49	258.08	454.28	864.22	637.39	40	
Vit.C=0.06	NaCl x Vit.C=0.12				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
455.53	185.41	364.20	716.24	556.26	0	
536.16	243.45	423.05	816.68	661.45	0.02	
569.48	244.33	429.47	863.19	740.92	0.04	
BR=0.06	NaCl x BR=0.12				L.S.D 0.05	

كانت جميع التداخلات الثنائية بين تراكيز الفيتامين والهرمون والتراكيز الملحية وتراكيز كل من فيتامين C وهرمون البراسينولايد مؤثرة بصورة معنوية في متوسط محتوى عنصر البوتاسيوم، واعطت المعاملات المؤلفة من 40 ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C مع 0.02 ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد و

9ديسيسمنز.م⁻¹ مع 40ملغم.لتر⁻¹ فيتامينC و 9 ديسيسمنز.م⁻¹ مع 0.04ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد اعلى متوسط بلغ (620.81، 864.22، 863.19) مايكروغرام.غم⁻¹ بالتتابع، بينما اعطت المعاملة الخالية من الفيتامين والهرمون والمعاملتين ذات 15ديسيسمنز.م⁻¹ الخاليتين من تراكيز الفيتامين والهرمون اقل متوسط (406.94، 188.12، 185.41) مايكرو غرام.غم⁻¹ بالتتابع.

أما فيما يخص التداخل الثلاثي بين عوامل الدراسة الثلاثة فقد كان معنويا هو الآخر، وتفوقت معاملة التداخل 9ديسيسمنز.م⁻¹ والمضاف اليها 40ملغم.لتر⁻¹ من فيتامينC و0.02 ملغم.لتر⁻¹ من البراسينولايد اعلى محتوى للعنصر البوتاسيوم 955.78 مايكروغرام.غم⁻¹ واختلفت معنويا عن معاملات التداخل الاخرى، في حين كان اقل محتوى لعنصر البوتاسيوم في المعاملة 15 ديسيسمنز.م⁻¹ وغير المضاف اليها الفيتامين والهرمون 123.50 مايكروغرام.غم⁻¹ وهذا يظهر بوضوح التأثير السلبي للاجهاد الملحي في محتوى عنصر البوتاسيوم، فيما ظهر التأثير الايجابي للفيتامين والهرمون في المعاملة التي اضيف اليها فيتامينC بتركيز 40ملغم.لتر⁻¹ وبراسينولايد بتركيز 0.02ملغم.لتر⁻¹ وضمن التركيز الملحي السابق (15ديسيسمنز.م⁻¹) واعطت 292.69 مايكروغرام.غم⁻¹ وبنسبة زيادة 137.00%.

11-4-1-4 محتوى عنصر الكالسيوم(مايكروغرام.غم⁻¹):

لوحظ من نتائج الجدول(31) ان تراكيز كلوريد الصوديوم المضافة في الوسط الغذائي MS ادت الى حدوث تراجع معنوي في متوسط محتوى عنصر الكالسيوم، وان اقل متوسط لمحتوى هذا العنصر ظهر في التركيز 15ديسيسمنز.م⁻¹ وبلغ 199.07 مايكروغرام.غم⁻¹ في حين كان اعلى متوسط لمحتوى هذا العنصر في التركيز 9ديسيسمنز.م⁻¹ بلغ 584.87 مايكروغرام.غم⁻¹ تلاه التركيز 6ديسيسمنز.م⁻¹ وبلغ 465.20 مايكروغرام.غم⁻¹ وثم التركيز 12ديسيسمنز.م⁻¹ وبلغ 305.23 مايكروغرام.غم⁻¹.

اثر تراكيز فيتامينC المضافة الى وسط MS معنويا في متوسط محتوى عنصر الكالسيوم (جدول31) فحقق التركيز 40ملغم.لتر⁻¹ اعلى قيمة 418.49 مايكروغرام.غم⁻¹ تلاه التركيز 20 ملغم.لتر⁻¹ وبلغ 396.42 مايكروغرام.غم⁻¹ بنسبتي زيادة (12.98، 19.27)% بالتتابع قياسا لمعاملة السيطرة. لوحظت فروق معنوية بين تراكيز هرمون البراسينولايد(جدول31) في متوسط محتوى عنصر الكالسيوم واعطى التركيز 0.04ملغم.لتر⁻¹ اعلى قيمة بلغت 424.67 مايكرو غرام.غم⁻¹ وبنسبة زيادة 26.50% قياسا بمعاملة السيطرة، فيما اعطى التركيز 0.02ملغم.لتر⁻¹ قيمة بلغت 405.39 مايكروغرام.غم⁻¹ وبنسبة زيادة 14.80% قياسا بمعاملة السيطرة.

جدول (31) دور تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في محتوى عنصر الكالسيوم (مايكرو غرام.غم⁻¹) للكالس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15	12	9	6		
272.75	159.90	208.20	405.52	317.36	0	0
361.94	182.49	269.45	533.83	461.98	0.02	
417.92	206.24	305.66	574.67	585.11	0.04	
351.69	191.43	280.37	507.41	427.53	0	20
394.71	194.85	277.68	587.50	518.79	0.02	
442.86	194.30	299.84	692.71	584.59	0.04	
382.72	199.53	321.04	606.30	404.01	0	40
459.52	252.03	418.76	715.01	452.26	0.02	
413.24	210.84	366.04	640.88	435.21	0.04	
	199.07	305.23	584.87	465.20	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR=0.12	NaCl x Vit.C x BR=0.23			NaCl=0.08	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
350.87	182.88	261.10	504.67	454.82	0	
396.42	193.53	285.96	595.87	510.30	20	
418.49	220.80	368.61	654.06	430.49	40	
Vit.C=0.09	NaCl x Vit.C=0.14				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
335.72	183.62	269.87	506.41	382.97	0	
405.39	209.79	321.96	612.11	477.68	0.02	
424.67	203.79	323.85	636.09	534.97	0.04	
BR=0.09	NaCl x BR=0.14				L.S.D 0.05	

كانت جميع التداخلات الثنائية بين تراكيز الفيتامين C والهرمون والتراكيز الملحية وتراكيز كل من فيتامين C وهرمون البراسينولايد مؤثرة بصورة معنوية في متوسط محتوى عنصر الكالسيوم، واعطت المعاملات المؤلفة من 40 ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C مع 0.02 ملغم.لتر⁻¹ الكالسيوم، و اعطت المعاملات المؤلفة من 40 ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C و9 ديسيمنز.م⁻¹ مع 0.04 ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد و9 ديسيمنز.م⁻¹ مع 40 ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C و9 ديسيمنز.م⁻¹ مع 0.04 ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد اعلى متوسط بلغ (459.52، 654.06، 636.09) مايكرو غرام.غم⁻¹ بالتتابع، بينما

اعطت المعاملة الخالية من الفيتامين والهرمون والمعاملتين ذات 15ديسيسمنز.م¹⁻ الخاليتين من تراكيز الفيتامين والهرمون اقل متوسط بلغ (272.75، 182.88، 183.62) مايكروغرام.غم¹⁻ بالتتابع.

أما التداخل الثلاثي بين عوامل الدراسة الثلاثة فقد كان معنويا هو الآخر، وتفوقت معاملة التداخل 9ديسيسمنز.م¹⁻ والمضاف اليها 40ملغم.لتر¹⁻ من فيتامينC و0.02ملغم.لتر¹⁻ من البراسينولايد اعلى محتوى لعنصر الكالسيوم 715.01 مايكروغرام.غم¹⁻ واختلفت معنويا عن معاملات التداخل الاخرى، في حين كان اقل محتوى لهذا العنصر في المعاملة 15ديسيسمنز.م¹⁻ وغير المضاف اليها الفيتامين والهرمون 159.90 مايكروغرام.غم¹⁻ وهذا يظهر بوضوح التأثير السلبي للاجهاد الملحي في محتوى عنصر الكالسيوم، فيما ظهر التأثير الايجابي للفيتامين والهرمون في المعاملة المضاف اليها تراكيز 40 و0.02ملغم.لتر¹⁻ من الفيتامين والهرمون بالتتابع وبالتركيز الملحي نفسه (15 ديسيسمنز.م¹⁻) واعطت 252.03 مايكروغرام.غم¹⁻ وبنسبة زيادة 57.62%.

12-4-1-4 محتوى عنصر المغنسيوم(مايكروغرام.غم¹⁻):

اظهرت نتائج الجدول(32) وجود فروق معنوية بين التراكيز الملحية المضافة في الوسط الغذائي MS لمتوسط محتوى عنصر المغنسيوم، واعطى التركيز الملحي 15ديسيسمنز.م¹⁻ اقل قيمة لمتوسط لمحتوى هذا العنصر بلغ 99.01 مايكروغرام.غم¹⁻ وبنسبة انخفاض 71.90% قياسا للتركيز 6ديسيسمنز.م¹⁻، بينما ازداد معنويا متوسط محتوى عنصر المغنسيوم في التركيز 9 ديسيسمنز.م¹⁻ واعطى 403.65 مايكروغرام.غم¹⁻ وبنسبة زيادة 14.54% قياسا بالتركيز 6 ديسيسمنز.م¹⁻.

لوحظ في نتائج جدول(32) وجود زيادة معنوية في محتوى عنصر المغنسيوم بزيادة تراكيز فيتامينC، المضافة في وسطMS، اذ عند رفع التركيز من 0 الى 20 والى 40ملغم.لتر¹⁻ ازداد تركيز متوسط محتوى عنصر المغنسيوم بنسبة(17.00، 25.16)% بالتتابع. كذلك وجدت زيادة معنوية اخرى في متوسط محتوى هذا العنصر بزيادة تراكيز هرمون البراسينولايد (0.02 و 0.04)ملغم.لتر¹⁻ وبنسبة(25.19، 33.68)% بالتتابع قياسا بمعاملة السيطرة.

كانت جميع التداخلات الثنائية بين تراكيز الفيتامينC والهرمون والتراكيز الملحية وتراكيز كل من فيتامينC وهرمون البراسينولايد مؤثرة بصورة معنوية في متوسط محتوى عنصر المغنسيوم، واعطت المعاملات المؤلفة من 20ملغم.لتر¹⁻ فيتامينC مع 0.04 ملغم.لتر¹⁻ براسينولايد و 9ديسيسمنز.م¹⁻ مع 40ملغم.لتر¹⁻ فيتامينC و 9ديسيسمنز.م¹⁻ مع 0.04ملغم.لتر¹⁻ براسينولايد اعلى متوسط لمحتوى عنصر المغنسيوم (322.16، 452.29، 444.16)مايكروغرام

غم⁻¹ بالتتابع، بينما اعطت المعاملة الخالية من الفيتامين والهرمون والمعاملتين ذات 15ديسيمنز م⁻¹ الخاليتين من تراكيز الفيتامين والهرمون اقل متوسط بلغ (85.94، 82.19، 173.00) مايكروغرام غم⁻¹ بالتتابع.

جدول(32) دور تراكيز فيتامينC وهرمون البراسينولايد في محتوى عنصر المغنسيوم(مايكرو غرام غم⁻¹) للكاس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنز م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15	12	9	6		
173.00	65.48	129.92	258.00	238.59	0	0
235.17	84.49	145.65	363.24	347.28	0.02	
285.30	96.59	177.34	428.14	439.13	0.04	
207.79	87.46	160.55	307.57	275.56	0	20
281.41	90.90	199.36	444.35	391.01	0.02	
322.16	102.03	236.83	474.65	475.10	0.04	
280.39	104.87	231.94	440.02	344.74	0	40
311.14	133.04	278.61	487.17	345.76	0.02	
276.43	126.27	235.21	429.69	314.56	0.04	
Vit.CxBR=2.13	99.01	199.49	403.65	352.41	متوسط تأثير NaCl	
	NaCl x Vit.C x BR=4.25			NaCl=1.42	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
231.15	82.19	150.97	349.79	341.67	0	
270.45	93.46	198.92	408.86	380.56	20	
289.32	121.39	248.58	452.29	335.02	40	
Vit.C=1.23	NaCl x Vit.C=2.46				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
220.39	85.94	174.14	335.20	286.30	0	
275.91	102.81	207.87	431.59	361.35	0.02	
294.63	108.30	216.46	444.16	409.60	0.04	
BR=1.23	NaCl x BR=2.46				L.S.D 0.05	

أما التداخل الثلاثي بين العوامل المدروسة فقد كان معنويا هو الآخر وقد تفوقت معاملة

التداخل 9ديسيمنز م⁻¹ والمضاف إليها 40ملغم.لتر⁻¹ من فيتامينC و0.02ملغم.لتر⁻¹ من

البراسينولايد اعلى محتوى لعنصر المغنسيوم 487.17 مايكرو غرام.غم⁻¹ و اختلفت معنويا عن معاملات التداخل الاخرى، في حين كان اقل محتوى لعنصر المغنسيوم في المعاملة 15ديسيسمنز م⁻¹ والخالية من الفيتامين والهرمون 65.48 مايكرو غرام.غم⁻¹ وهذا يظهر بوضوح التأثير السلبي للاجهاد الملحي في محتوى عنصر المغنسيوم، فيما ظهر التأثير الايجابي للفيتامين والهرمون في معاملة التداخل 15ديسيسمنز م⁻¹ والمضاف اليها 40ملغم لتر⁻¹ من فيتامين C و 0.02ملغم لتر⁻¹ من براسينولايد واعطت 133.04 مايكرو غرام.غم⁻¹ وبنسبة زيادة 103.18%.

تؤثر الملوحة في معدلات امتصاص العناصر ومن ثم انخفاض محتواها في الخلية وذلك من خلال التنافس الحاصل بين الايونات المسببة للملوحة(الصوديوم، الكلور) والايونات الاخرى (البوتاسيوم ، النترات، الامونيوم) على مواقع الامتصاص ومن ثم اختلال في التوازن العنصري وتثبيط عمل مضخة H-ATPase(الحمزاوي،2013)، كذلك تسبب التركيز العالي من الصوديوم الى الاضرار في الاغشية الخلوية عن طريق استبدال الصوديوم بمحل الكالسيوم ومن ثم زيادة تسرب Leakage المواد من داخل الخلايا الى المحيط الخارجي، كذلك رافقها انخفاض الماء المسبب انكماش جدران الخلايا وحدوث ظاهرة البلزمة(زيدان،2017)، ومن الجدير بالذكر ان الاجهاد الملحي يزيد من عملية الاكسدة طبقتي الدهون في الاغشية الخلوية ومن ثم زيادة تدفق البوتاسيوم الى خارج الاغشية وتولد Malondialdehyde كنتاج نهائي المحفز الى موت الخلية المبرمج(Programmed Cell Death(PCD) مرهج وشهيد،2016). هذه النتائج جاءت منسجمة مع ماتوصل اليه زيدان(2017) و(Alhasnawi et al.,2017) اثناء دراستهم على كالس نباتي الحنطة والرز بالتتابع.

ان الاضافة الخارجية للفيتامين والهرمون في الوسط الغذائي سببت زيادة في محتوى العناصر المدروسة في نسيج الكالس، فعمل فيتامين C على حث انزيمات بناء الاحماض النووية و البروتين والانقسام الخلوي وتمايز الخلايا مما يتطلب زيادة امتصاص العناصر من المحيط الخارجي(Kaviani,2014)، كذلك الدور الذي يلعبه هرمون البراسينولايد في حث انزيمات البناء الضوئي(Rubisco، Carbonic anhydrase) وزيادة محتوى الصبغات (Mir et al.,2015) ، وحث انزيمات Nitrite reductase، Nitrate reductase، Glutamine synthetase ، Glutamate dehydrogenase وزيادة تمثيل النتروجين في الخلايا مما زاد من الوتيرة في زيادة معدل امتصاص العناصر وزيادة محتواها(Shu et al.,2016).

اما التداخلات بين عوامل الدراسة الثلاثة فقد تظافر او تأزر Synergistic عمل الفيتامين مع الهرمون في اختزال التأثيرات السلبية للاجهاد الملحي من خلال زيادة محتوى العناصر في

الكالس، فعمل الفيتامين C على اعادة تكوين الفاتوكوفيرول α -tocopherol من الفاتوكوفيروكسيل- α -Tocoperoxyl في اغشية الخلايا الذي يمنع اكسدة الليبيدات ومن ثم المحافظة على نفاذية الاغشية (Hossain *et al.*,2017)، وحث دورة الماء- الماء Water-Water cycle في البلاستيدات ودورة الاسكوربيت - كلوتاثيون Ascorbate-Glutathione cycle في البلاستيدات والمائتوكوندرريا والبيروكسيوم وزيادة تركيز مضادات الاكسدة (الانزيمية وغير الانزيمية) في كسح Scavenger الجذور الحرة (Hussein,2018).

اما دور هرمون البراسينولايد فيعمل على تنظيم نفاذية الاغشية وتقليل تسرب العناصر منها عن طريق تخفيف اضرار اكسدة الدهون في الغشاء من خلال حث الانزيمات المضادة للاكسدة وكسح الجذور الحرة وزيادة نسبي البوتاسيوم على الصوديوم (K/Na) والكالسيوم على الصوديوم (Ca/Na) اللتان تعدان دالتين جيدتين في تحمل خلايا الكالس للملوحة (Wu *et al.*,2017;Vardhini and Anjum,2015)، فضلا عن تحفيزه فعالية مضخة H- ATPase (Azhar *et al.*,2017).

4-1-4-13 محتوى عنصر الصوديوم (مايكروغرام.غم⁻¹):

اشارت النتائج في الجدول (33) إلى وجود زيادة معنوية في متوسط محتوى عنصر الصوديوم بزيادة تراكيز NaCl وتوق التركيز 15ديسيسمنز.م⁻¹ عن التراكيز الاخرى معطيا متوسط محتوى لهذا العنصر 587.38مايكروغرام.غم⁻¹ وبنسبة زيادة 41.48% قياسا الى معاملة السيطرة.

وجد ايضا (جدول33) انخفاض معنوي في متوسط محتوى هذا العنصر بتزايد تراكيز فيتامين C المضافة واعطى التركيز 40ملغم.لتر⁻¹ ادنى انخفاض مقداره 364.45مايكروغرام.غم⁻¹ وبنسبة 36.29% قياسا بمعاملة السيطرة واعطت 572.05مايكروغرام.غم⁻¹، بينما اعطى التركيز 20ملغم.لتر⁻¹ متوسط محتوى عنصر الصوديوم 504.83مايكروغرام.غم⁻¹. اشارت النتائج في الجدول نفسه الى وجود فروق معنوية بين تراكيز هرمون البراسينولايد المضافة في متوسط محتوى هذا العنصر، واعطى التركيز 0.04ملغم.لتر⁻¹ اقل متوسط لمحتوى هذا العنصر 463.22مايكروغرام.غم⁻¹، قياسا بمعاملة السيطرة التي اعطت 489.63مايكروغرام.غم⁻¹.

كانت جميع التداخلات الثنائية بين العوامل الدراسة معنوية في متوسط محتوى عنصر اعلاه، واعطت التداخلات الثنائية صفر الفيتامين مع 0.02ملغم.لتر⁻¹ من الهرمون و 15ديسيسمنز م⁻¹ مع صفر من الفيتامين و 15ديسيسمنز.م⁻¹ مع صفر من الهرمون اعلى القيم لمتوسط محتوى الصوديوم (583.46، 646.54، 648.18)مايكروغرام.غم⁻¹ بالتتابع، بينما اعطت التداخلات

التثائية 40 ملغم لتر⁻¹ من الفيتامين مع 0.04 ملغم لتر⁻¹ من الهرمون و9 ديسيمنز م⁻¹ مع 40 ملغم لتر⁻¹ من الفيتامين و 9 ديسيمنز م⁻¹ مع صفر من الهرمون اقل القيم لمتوسط محتوى الصوديوم (326.83، 224.81، 345.11) مايكروغرام غم⁻¹ بالتتابع.

جدول (33) دور تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في محتوى عنصر الصوديوم (مايكرو غرام غم⁻¹) للكاس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنز م ⁻¹)				BR (ملغم لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم لتر ⁻¹)
	15	12	9	6		
550.03	684.45	602.39	415.66	497.59	0	0
583.46	640.84	598.12	497.02	597.85	0.02	
582.67	614.32	633.62	448.37	634.37	0.04	
508.29	661.50	610.04	397.56	364.04	0	20
526.07	599.71	599.04	443.75	461.78	0.02	
480.14	499.01	576.10	397.68	447.78	0.04	
410.58	598.59	580.94	222.11	240.69	0	40
355.93	509.48	401.12	240.98	272.33	0.02	
326.83	478.54	397.19	211.55	220.05	0.04	
	587.38	555.40	363.83	415.16	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR=0.10	NaCl x Vit.C x BR=0.21			NaCl=0.09	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
572.05	646.54	611.38	453.68	576.60	0	
504.83	586.74	595.06	413.00	424.53	20	
364.45	528.87	459.75	224.81	244.36	40	
Vit.C=0.06	NaCl x Vit.C=0.12				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
489.63	648.18	597.79	345.11	367.44	0	
488.49	583.34	532.76	393.85	443.99	0.02	
463.22	530.62	535.64	352.53	434.07	0.04	
BR=0.06	NaCl x BR=0.12				L.S.D 0.05	

اما التداخل الثلاثي فقد كان معنويا ايضا وتفوقت معاملة التداخل 15 ديسيمنز م⁻¹ والخالية من فيتامين C وهرمون البراسينولايد على معاملات التداخل الاخرى واعطت اعلى محتوى لعنصر

الصوديوم 684.45 مايكروغرام.غم⁻¹ وهذا يؤكد زيادة على امتصاص الصوديوم بزيادة مستواه في الوسط الغذائي، في حين كان اقل محتوى لعنصر اعلاه في المعاملة 9ديسيسمنز.م⁻¹ و 40ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C و 0.04ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد واعطت 211.55 مايكروغرام.غم⁻¹، كذلك لوحظ ان الاضافة للفيتامين والهرمون في وسط MS سببت انخفاض في محتوى هذا العنصر لاسيما في التركيز الملحي العالي (15ديسيسمنز.م⁻¹) اذ اعطت معاملة التداخل المولفة من 15ديسيسمنز.م⁻¹ و 40ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C و 0.04ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد 478.54 مايكروغرام.غم⁻¹ وبنسبة انخفاض 30.08% قياسا الى معاملة التداخل 15ديسيسمنز.م⁻¹ الخالية من اضافة الفيتامين والهرمون.

14-4-1-4 محتوى عنصر الكلور (مايكروغرام.غم⁻¹):

اشارت النتائج في الجدول (34) إلى وجود زيادة معنوية في متوسط محتوى عنصر الكلور بزيادة تراكيز NaCl وتكون التركيز 15ديسيسمنز.م⁻¹ عن التراكيز الاخرى معطيا متوسط محتوى لهذا العنصر 655.00 مايكروغرام.غم⁻¹ وبنسبة زيادة 37.09% قياسا الى معاملة السيطرة.

وجد انخفاض معنوي في متوسط محتوى عنصر الكلور بتزايد تراكيز فيتامين C (جدول 34)، واعطى التركيز 40ملغم.لتر⁻¹ ادنى انخفاض مقداره 442.93 مايكروغرام.غم⁻¹ وبنسبة 28.64% قياسا لمعاملة السيطرة التي اعطت 620.68 مايكروغرام.غم⁻¹، بينما اعطى التركيز 20ملغم.لتر⁻¹ متوسط لمحتوى عنصر الكلور 564.81 مايكروغرام.غم⁻¹.

اشارت النتائج في الجدول نفسه الى وجود فروق معنوية بين تراكيز هرمون البراسينولايد في محتوى عنصر الكلور، واعطى التركيز 0.02ملغم.لتر⁻¹ اعلى متوسط لمحتوى هذا العنصر 560.27 مايكروغرام.غم⁻¹، بينما سجل التركيز 0.04ملغم.لتر⁻¹ اقل محتوى لهذا العنصر بلغ 522.67 مايكروغرام.غم⁻¹ وسجلت معاملة السيطرة 545.47 مايكروغرام.غم⁻¹.

كانت جميع التداخلات الثنائية بين عوامل الدراسة معنوية في متوسط محتوى العنصر اعلاه، واعطت التداخلات الثنائية 0ملغم.لتر⁻¹ من الفيتامين مع 0.02ملغم.لتر⁻¹ من الهرمون و 15ديسيسمنز.م⁻¹ مع 0ملغم.لتر⁻¹ من الفيتامين، و 15ديسيسمنز.م⁻¹ مع 0ملغم.لتر⁻¹ من الهرمون، اعلى القيم (646.26، 697.89، 706.95) مايكروغرام.غم⁻¹ بالتتابع، بينما اعطت التداخلات الثنائية 40ملغم.لتر⁻¹ من الفيتامين مع 0.04ملغم.لتر⁻¹ من الهرمون و 9ديسيسمنز.م⁻¹ مع 40ملغم.لتر⁻¹ من الفيتامين، و 9ديسيسمنز.م⁻¹ مع 0.04ملغم.لتر⁻¹ من الهرمون اقل القيم (288.11، 394.05، 408.12) مايكروغرام.غم⁻¹ بالتتابع.

جدول (34) دور تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في محتوى عنصر الكلور (مايكرو غرام.غم⁻¹) للكاس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15	12	9	6		
598.07	737.14	638.48	491.64	525.01	0	0
646.26	708.79	642.52	570.67	663.06	0.02	
617.70	647.75	652.84	498.89	671.32	0.04	
560.57	727.49	650.09	449.88	414.82	0	20
577.59	658.17	633.38	500.03	518.77	0.02	
556.27	593.95	640.12	481.03	509.97	0.04	
477.78	656.23	604.87	306.16	343.84	0	40
456.96	599.30	559.82	313.72	354.99	0.02	
394.05	566.18	467.29	244.43	298.28	0.04	
	655.00	609.94	428.50	477.78	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR=0.09	NaCl x Vit.C x BR=0.19			NaCl=0.06	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
620.68	697.89	644.61	520.40	619.79	0	
564.81	659.87	641.20	476.98	481.19	20	
442.93	607.23	543.99	288.11	332.37	40	
Vit.C=0.05	NaCl x Vit.C=0.11				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
545.47	706.95	631.15	415.90	427.89	0	
560.27	655.42	611.91	461.47	512.27	0.02	
522.67	602.63	586.75	408.12	493.19	0.04	
BR=0.05	NaCl x BR=0.11				L.S.D 0.05	

اما التداخل الثلاثي فقد كان معنويا ايضا وتفاوتت معاملة التداخل 15 ديسيمنز.م⁻¹ والخالية من الفيتامين والهرمون على معاملات التداخل الاخرى واعطت محتوى عنصر الكلور 737.14 مايكرو غرام.غم⁻¹ وهذا يؤكد على زيادة امتصاص عنصر الكلور بزيادة مستواه في الوسط الغذائي، في حين كان اقل محتوى عنصر الكلور في المعاملة 9 ديسيمنز.م⁻¹ و 40 ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C و 0.04 ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد والتي اعطت 244.43 مايكرو غرام.غم⁻¹، كذلك لوحظ ان

اضافة الفيتامين والهرمون في الوسط الغذائي سببت انخفاضاً في محتوى عنصر الكلور لاسيما في التركيز الملحي العالي (15ديسيمنز.م⁻¹)، اذ اعطت معاملة التداخل 15ديسيمنز.م⁻¹ و 40ملغم. لتر⁻¹ فيتامين C و 0.04 ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد 566.18 مايكروغرام.غم⁻¹ وبنسبة انخفاض 23.19% قياساً الى المعاملة 15ديسيمنز.م⁻¹ الخالية من اضافة الفيتامين والهرمون.

ان الزيادة الحاصلة في محتوى عنصري الصوديوم والكلور في نسيج الكالس نتيجة لزيادة الملوحة في الوسط الغذائي، فيعمل الصوديوم بسحب الكالسيوم من الاغشية لتحل محلها فيزداد الضرر النسبي فيها وتتحول من الانتقائية الى تامة النفاذية فتسمح بدخول الصوديوم والكلور وتراكمها في الساييتوبلازم وفجوات خلايا الكالس (Alhasnawi,2017)، فضلاً عن التنافس الحاصل بين الصوديوم والبوتاسيوم على مواقع الامتصاص، ومن ثم يتولد الاجهاد الايوني العالي Hyperionic والاجهاد الازموزي العالي Hyperosmotic (Al- Hattab,2018). هذه النتائج جاءت منسجمة مع ماتوصل اليه زيدان (2017) و Abdul-Qadir (2017) اثناء دراستهم على كالس نباتي الحنطة والطماطة بالتتابع.

اما دور الفيتامين والهرمون فقد كان تأثيرهما تآزرياً ويجابياً في تلافي الآثار الضارة لعنصري الصوديوم والكلور وخفض محتواهما في نسيج الكالس، فعمل فيتامين C على اعادة تكوين الفاتكوفيرول ومن ثم زيادة ثباتية الاغشية الخلوية وتقليل الضرر النسبي لها وحث الانزيمات المضادة للاكسدة، فضلاً عن كونه مستضداً يكسح الجذور الحرة (Siddiqui et al.,2018)، كما يساهم فيتامين C بتعزيز مضخة الصوديوم-البوتاسيوم (Na-Kpump) وتحفيز انزيم ATPase ومن ثم طرح الصوديوم خارج الخلايا ودخول عناصر البوتاسيوم الى تداخل الخلايا (Akram et al.,2017)، في حين يقوم هرمون البراسينولايد ايضاً ببحث المضخة السابقة وزيادة نسبة البوتاسيوم الى الصوديوم في خلايا الكالس وخفض اكسدة الدهون واختزال تركيز Malondialdehyde والمحافظة على صفة انتقائية الاغشية وحث الانزيمات المضادة للاكسدة (Hu et al.,2016)، كذلك يقوم الهرمون بزيادة امتصاص عناصر الكالسيوم التي لها دور بثنائية الاغشية الخلوية وتقليل تسرب العناصر الضرورية لاسيما البوتاسيوم (Ahmad et al., 2018). هذه النتائج تتماشى مع ما ذكره Arab and Ehsanpour (2006) من ان اضافة تراكيز من فيتامين C الى الوسط الغذائي سبب اختزال محتوى الصوديوم في كالس نبات الجت.

4-1-4-15 نسبة البروتين (%) :

اظهرت النتائج في الجدول (35) وجود فروق معنوية بين التراكيز الملحية المضافة الى الوسط الغذائي لمتوسط صفة نسبة البروتين في الكالس واعطى التركيز الملحي 15ديسيمنز.م⁻¹

اقل قيمة لمتوسط هذه الصفة اعلاه بلغ 8.12% وبنسبة انخفاض 29.51% قياسا بمعاملة السيطرة. ان احد اهم اسباب انخفاض تركيز البروتين في خلايا الكالس هو انخفاض العناصر الداخلة في بناء البروتين كالنتروجين (جدول 28) والفسفور (جدول 29) وانخفاض تركيز البوتاسيوم (جدول 30) المهم في تحفيز انزيمات صنع البروتين، وبالمقابل زيادة تركيز ROS التي تعمل على تحطم السلاسل الببتيدية وزيادة تعرض جزيئة البروتين للتحلل (Ibrahim et al., 2018)، كذلك تؤثر التراكيز العالية من ايوني Na^+ و Cl^- على اخلال التوازن الايوني وعلى تثبيط انزيمات الفسفرة الضوئية Photophosphorylation والفسفرة التأكسدية Oxidative phosphorylation في السلسلة التنفسية، ومن ثم تنخفض كمية الطاقة وبذلك يقل تمثيل النتروجين ويقل تركيز البروتين في خلايا الكالس لتزداد مركبات متعدد الامين Polyamine السامة في الخلية (Mosavi et al., 2018).

كذلك لوحظ في نتائج الجدول (35) وجود زيادة معنوية في نسبة البروتين بزيادة تراكيز فيتامين C، اذ عند رفع التركيز من 0 الى 20 ملغم.لتر⁻¹ والى 40 ملغم.لتر⁻¹ ازداد تركيز متوسط نسبة البروتين بنسبه (13.37، 17.50)% بالتتابع. ادت اضافة فيتامين C الى زيادة البروتين ربما الى دور الفيتامين في حث الانزيمات المسؤولة عن بناء البروتين منها Peptidylprolyl hydroxylase المحفز لبناء البروتينات السكرية Glycoproteins في الاغشية الخلوية وخفض فعالية انزيم Protease (Hussein, 2018). كذلك حصلت زيادة معنوية اخرى في متوسط هذه الصفة بزيادة تراكيز هرمون البراسينولايد من 0 الى 0.02 ملغم.لتر⁻¹ والى 0.04 ملغم.لتر⁻¹ بنسبة (17.02، 21.96)% بالتتابع. ان الزيادة الحاصلة في نسبة البروتين تعود الى دور الهرمون في حث انزيم nitrate reductase (Fariduddin et al., 2006) او من خلال تحفيز امتصاص النتروجين والفسفور الاساسية في بناء البروتين (Tanveer et al., 2018) (جدول 28 و 29).

كانت جميع التداخلات الثنائية بين تراكيز الفيتامين وتراكيز الهرمون وتراكيز NaCl وتراكيز كل من الفيتامين والهرمون مؤثرة بصورة معنوية في نسبة البروتين، واعطت المعاملات المولفة من 20 ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C مع 0.04 ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد و 9 ديسيمنز.م⁻¹ مع 40 ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C و 6 ديسيمنز.م⁻¹ مع 0.04 ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد اعلى متوسط لنسبة البروتين (12.02، 12.43، 12.21)% بالتتابع، في حين كان اقل متوسط لنسبة البروتين في المعاملة الخالية من الفيتامين والهرمون والمعاملتين ذات 15 ديسيمنز.م⁻¹ الخاليتين من تراكيز الفيتامين والهرمون (8.50، 7.34، 6.82)% بالتتابع.

اشارت نتائج التداخل الثلاثي في الجدول نفسه الى وجود فروق معنوية بين المعاملات واعطت معاملة التداخل المولفة من 9 ديسيمنز.م⁻¹ و 40 ملغم.لتر⁻¹ من فيتامين C و 0.02 ملغم.لتر⁻¹

براسينولايد اعلى نسبة للبروتين 14.36%، في حين اعطت معاملة التداخل 15ديسيسمنز.م⁻¹ و الخالية من الفيتامين والهرمون اقل تركيز للبروتين 6.17% واختلفت معنوياعن المعاملات الاخرى، وهذا يؤكد على التأثير السلبي للاجهاد الملحي في نسبة البروتين في نسيج الكالس. جدول(35)دور تراكيز فيتامينC وهرمون البراسينولايد في نسبة البروتين(%) للكالس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيسمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15	12	9	6		
8.50	6.17	7.85	9.65	10.32	0	0
9.13	7.54	8.35	9.86	10.96	0.02	
9.99	8.32	9.54	10.43	11.65	0.04	
8.75	6.76	8.01	9.71	10.54	0	20
10.53	8.54	10.35	11.31	11.92	0.02	
12.02	9.48	11.77	13.38	13.45	0.04	
9.73	7.52	9.58	10.91	11.11	0	40
11.90	9.91	10.94	14.36	12.38	0.02	
10.81	8.86	10.64	12.21	11.53	0.04	
Vit.CxBR=0.08	8.12	9.67	11.29	11.52	متوسط تأثير NaCl	
	NaCl x Vit.CxBR=0.15			NaCl=0.05	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
9.20	7.34	8.58	9.98	10.91	0	
10.43	8.26	10.04	11.47	11.97	20	
10.81	8.76	10.39	12.43	11.67	40	
Vit.C=0.04	NaCl x Vit.C=0.09				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
8.99	6.82	8.48	10.02	10.66	0	
10.52	8.66	9.88	11.84	11.69	0.02	
10.94	8.89	10.65	12.01	12.21	0.04	
BR=0.04	NaCl x BR=0.09				L.S.D 0.05	

ساهمت عملية الاضافة بالفيتامين C وهرمون البراسينولايد من تخفيف الاثر السلبي للاجهاد الملحي عبر الزيادة في نسبة البروتين فقد اعطت معاملة ذات التركيز NaCl السابق والمضاف

اليها تركيز 40 ملغم لتر⁻¹ من فيتامين C وتركيز 0.02 ملغم لتر⁻¹ من هرمون البراسينولايد نسبة بروتين مقداره 9.91% وبنسبة زيادة 60.62% قياسا الى معاملة التداخل 15 ديسيسمنز م⁻¹ والخالية من الفيتامين والهرمون. يؤدي فيتامين C دورا مهما في ازالة الاثار السلبية للاجهاد الملحي من حيث كونه مستضدا غير انزيمي يقوم بكسح الجذور الحرة free radicals وتحفيز المضادات الانزيمية (SOD ، CAT ، POD) وغير الانزيمية (البرولين، الفاتكيوفيرول، حامض الساليليك) وتصحيح الاخلال الغذائي من خلال رفع نسبة البوتاسيوم على الصوديوم (Alhasnawi et al., 2016)، فيما يقوم البراسينولايد بزيادة حث الجينات على زيادة تركيز الانزيمات المضادة للاكسدة (DHAR، GPX ، APX ، CAT ، SOD ، POD) وتراكم فيتامين E والمواد الفينولية والمواد الخافضة للجهد الازموزي Osmolytes (Spermidine ، Spermine ، Proline) ، وزيادة ثباتية الاغشية ومن ثم انخفاض تسرب المواد منها (جدول 26) (El-Abd Allah et al., 2018 ; Wani et al., 2017 ; Mashad and Mohamed, 2012). جاءت هذه النتائج متفقة مع نتائج Munir et al. (2013) و Samsampour et al. (2018) خلال دراستهم على كالس نباتي قصب السكر والبنج الاسود بالتتابع.

4-1-4-16 تركيز البرولين (مايكروغرام.غم⁻¹):

اوضحت النتائج في الجدول (36) ان زيادة التراكيز الملحية المضافة الى الوسط الغذائي لها زيادة في متوسط تركيز البرولين في نسيج الكالس، وتفوق التركيز الرابع لكلوريد الصوديوم (15 ديسيسمنز م⁻¹) معنويا على التراكيز الملحية الاولى والثاني والثالث وبنسب زيادة (333.67، 125.09، 49.37%) بالتتابع. ان زيادة تركيز هذا الحامض الاميني جاء بمثابة رد فعل طبيعي لتعرض خلايا الكالس الى اجهاد NaCl والاجهادات الاخرى، اذ ترتفع تراكيز البرولين في سايتوبلازم الخلايا ليخفض قيمة الجهد المائي ويزداد المحتوى المائي في الخلايا ومن ثم المحافظة على الفعالية الانزيمية Enzymes activity و ثباتية الاغشية Membranes integrity وهذه احد الوسائل لتحمل النبات للملوحة، اذ يسهم البرولين بضبط الازموزية بنسبه 39% عن الذائبات المتوافقة الاخرى (وهيب، 2015)، وهذه النتيجة تتماشى مع نتائج Alhasnawi et al. (2017) و Abdul-Qadir (2017) اثناء دراستهم على كالس نباتي الرز و الطماطة بالتتابع.

كما بينت النتائج في الجدول (36) الى تفوق معنوي متوسط تركيز البرولين بزيادة تراكيز فيتامين C المضافة الى وسط MS، اذ تفوقت معاملة الاضافة الثانية والثالثة بفيتامين C (20، 40) ملغم لتر⁻¹ معنويا على معاملة الاولى وبنسبة زيادة (12.06، 12.34)% بالتتابع، فيما لم يكن فارق معنوي بين الاضافة الثانية والثالثة، وتعود هذه الزيادة لربما الى دور فيتامين C في حث انزيمات

بناء البرولين في الخلية (Akram *et al.*, 2017). كما ازداد متوسط تركيز البرولين بزيادة تراكيز براسينولايد المضافة الى الوسط الغذائي (MS)، اذ تفوق التركيز 0.04 ملغم لتر⁻¹ معنويا على التركيزين (0، 0.02) ملغم لتر⁻¹ وبنسبتي زيادة (14.08، 10.22)% بالتتابع، ربما يكون التأثير الايجابي لبراسينولايد بأنه يعمل على حث الجينات المسؤولة عن بناء انزيم $\Delta 1$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase (P5CS) المهم في بناء البرولين (Wani *et al.*, 2019).

جدول (36) دور تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في تركيز البرولين (مايكروغرام.غم⁻¹) للكاس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15	12	9	6		
6.45	11.48	7.89	4.11	2.33	0	0
7.12	12.21	8.36	5.20	2.69	0.02	
7.59	12.95	8.47	5.89	3.06	0.04	
7.39	13.20	8.60	5.10	2.67	0	20
7.88	13.64	8.93	5.91	3.04	0.02	
8.43	14.18	9.42	6.76	3.34	0.04	
7.25	12.03	8.21	5.75	2.99	0	40
8.47	14.28	9.25	7.13	3.22	0.02	
8.05	13.11	9.21	6.23	3.66	0.04	
	13.01	8.71	5.78	3.00	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR=0.11	NaCl x Vit.CxBR=0.23			NaCl=0.08	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
7.05	12.21	8.24	5.07	2.69	0	
7.90	13.67	8.98	5.92	3.02	20	
7.92	13.14	8.89	6.37	3.29	40	
Vit.C=0.09	NaCl x Vit.C=0.13				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
7.03	12.24	8.23	4.98	2.66	0	
7.83	13.38	8.88	6.08	2.98	0.02	
8.02	13.41	9.03	6.29	3.35	0.04	
BR=0.09	NaCl x BR=0.13				L.S.D 0.05	

اوضحت النتائج للجدول نفسه بحصول تداخل معنوي بين تراكيز الفيتامين والهرمون، وكانت اعلى قيمة لمتوسط تركيز البرولين عند المعاملة 40ملغم لتر⁻¹ فيتامين C و 0.02ملغم لتر⁻¹ براسينولايد التي بلغت 8.47مايكروغرام.غم⁻¹، التي لم تختلف معنويا عن المعاملة 20ملغم لتر⁻¹ فيتامين C و 0.04ملغم لتر⁻¹ التي بلغت 8.43مايكروغرام.غم⁻¹، اما اقل قيمة لمتوسط تركيز البرولين عند المعاملة الخالية من الفيتامين والهرمون والتي بلغت 6.45 مايكرو غرام.غم⁻¹، تشير معنوية التداخل الى وجود تآزر بين العاملين اعلاه في تحسين تركيز هذا الحامض الاميني وقد بينت الاسباب سابقا. تشير نتائج الجدول نفسه الى وجود تداخل معنوي بين تراكيز NaCl و تراكيز فيتامين C في متوسط الصفة اعلاه، وكان اعلى متوسط لهذه الصفة 13.67مايكروغرام.غم⁻¹ في معاملة التداخل 15 ديسيمنز.م⁻¹ و 20ملغم لتر⁻¹ و اختلفت معنويا عن المعاملات الثنائية الاخرى و اقل متوسط لهذه الصفة 2.69مايكروغرام.غم⁻¹ عند التركيز 6ديسيمنز.م⁻¹ الخالي من الفيتامين، وهذا دليل على دور الفيتامين في زيادة تركيز البرولين في ظل زيادة تراكيز كلوريد الصوديوم. اما عن تاثير التداخل بين تراكيز NaCl و تراكيز الهرمون فقد كان معنويا ايضا، واعطت معاملة التداخل 15ديسيمنز.م⁻¹ و 0.04 ملغم لتر⁻¹ و 15ديسيمنز.م⁻¹ و 0.02ملغم لتر⁻¹ اعلى تفوق معنوي قياسا مع المعاملات الاخرى اذ بلغ متوسطهما (13.41، 13.38)مايكروغرام.غم⁻¹ بالتتابع، في حين اعطت المعاملة غير المضاف اليها الهرمون مع 6ديسيمنز.م⁻¹ ملوحة اقل متوسط لتركيز البرولين بلغ 2.66 مايكروغرام.غم⁻¹، وهذا دليل اخر نلتمس منه دور الهرمون في زيادة تركيز البرولين في ظل زيادة تراكيز كلوريد الصوديوم.

اما التداخل بين عوامل الدراسة الثلاثة فقد كان معنويا وسجل اعلى تركيز للبرولين في الكالس عند التراكيز العالية من كلوريد الصوديوم والتراكيز العالية من الفيتامين والهرمون لاسيما في معاملة التداخل 15ديسيمنز.م⁻¹ و 40ملغم لتر⁻¹ فيتامين C و 0.02ملغم لتر⁻¹ هرمون البراسينولايد التي اعطت 14.28مايكروغرام.غم⁻¹ و اختلفت معنويا عن بقية معاملات التداخل الاخرى باستثناء معاملة التداخل 15ديسيمنز.م⁻¹ و 20ملغم لتر⁻¹ فيتامين C و 0.04 ملغم لتر⁻¹ هرمون البراسينولايد واعطت 14.18مايكروغرام.غم⁻¹، في حين كان اقل تركيز للبرولين 2.33 مايكروغرام.غم⁻¹ عند التركيز 6ديسيمنز.م⁻¹ الخالي من الفيتامين والهرمون، وهذا يؤكد على الدور التآزري بين عوامل الدراسة في زيادة تركيز البرولين في نسيج الكالس، وعند مقارنة اضافة عاملي الدراسة الفيتامين والهرمون ضمن التركيز الملحي العالي يتضح التفوق المعنوي للمعاملة 15ديسيمنز.م⁻¹ و 40ملغم لتر⁻¹ فيتامين C و 0.02ملغم لتر⁻¹ براسينولايد عن المعاملة 15 ديسيمنز.م⁻¹ الخالية من الفيتامين والهرمون بنسبة زيادة 24.39%. ان زيادة تركيز البرولين

يؤدي الى رفع قدرة خلايا الكالس ضد الاجهاد الملحي فهو يعمل على زيادة التحمل والمثبت للبروتينات في الاغشية الخلوية ومن ثم تعزيز صفة اختيارية Selectivity للاغشية الخلوية في انتقاء الايونات ودخولها الى الخلايا.

4-1-5 دور تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في تركيز المواد الفعالة (مايكروغرام.مل⁻¹) للكالس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

اظهرت النتائج المتحصل عليها من تحليل مستخلص كالس نبات الماش باستعمال تقنية الكروموتوغرافي السائل ذي الأداء العالي (شكل 17)، إذ تم تشخيص احدى عشرة مادة فعالة اعتمادا على توفر النماذج القياسية وظروف الفصل الكروموتوغرافي (جدول 7 و 8) وهي Hydroxy-benzonic acid ، Tannic acid ، Gallic acid ، Quercetin ، Syringic acid ، Ferulic acid ، Chlorogenic acid ، Gentisic acid ، Sikimick acid ، Coumaric acid و Protocatechuric acid.

اظهرت نتائج الجدول (37) ان المواد الفعالة المشخصة اعلاه تفاوتت تركيزها بتاثير تراكيز ملح NaCl وتراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد فقد أعطى التركيز 15 ديسيسمنز.م⁻¹ اعلى تركيز للمواد الفعالة Quercetin ، Syringic acid ، Gentisic acid ، Sikimick acid ، Coumaric acid و Protocatechuric acid وبنسب زيادة معنوية (33.87، 33.27، 8.60، 50.31، 37.00، 11.72)% بالتتابع قياسا بالتركيز 6 ديسيسمنز.م⁻¹، بينما انخفض معنويا Hydroxybenzonic acid ، Tannic acid ، Ferulic acid بزيادة تركيز NaCl من 6 الى 15 ديسيسمنز.م⁻¹ وبنسب انخفاض (67.11، 19.93، 24.29)% بالتتابع، بينما لم ينخفض معنويا Gallic acid بزيادة تركيز NaCl من 6 الى 15 ديسيسمنز.م⁻¹، بينما ازداد Chlorogenic acid من 7.64 الى 115.69 مايكروغرام.مل⁻¹

ان تقنية الزراعة النسيجية وفرت كميات عالية من مركبات الايض الثانوي ومنها الاحماض الفينولية والفينولات متخطية العقبات المناخية وموسم الزراعة قياسا مع انتاجها في تداخل جسم النبات الذي يحتاج الى مساحات واسعة فضلا عن تاثرها بالعوامل المناخية (Szopa and Ekiert, 2014). تزداد المواد الفينولية في كالس النباتات المتعرضه للاجهاد الملحي بسبب زيادة النشاط الانزيمي (PAL) Phenylalanine ammonia-lyase و 4-Cinamic acid hydroxylase (C4H) اللذين يعملان على تنشيط بناء الاحماض الفينولية (Hadi, 2014)، كذلك تعد من مضادات الاكسدة غير الانزيمية التي تعمل على معادلة الجهد الازموزي في خلايا الكالس و كسح الجذور الحرة وخفض الجهد التأكسدي (Ibrahim et al., 2018)، فيما لوحظ ان زيادة

الملوحة في وسط النمو تعمل على زيادة تركيز انزيم Shikimate Kinase(SK) المسؤول عن تحويل Shikimate الى 3-phosphoshikimate الذي يعد البادىء الاول في بناء الاحماض الامينية الحلقية aromatic amino acids والتي تدخل في البروتين او تتحول الى الاحماض الفينولية ومادة اللكتين في النبات (Mansour et al.,2018). يلاحظ في الجدول ايضا ان التركيز الملحي 6ديسيسمنز.م¹⁻ لم يحدث استحداث للحامض Chlorogenic acid بشكل عالٍ (7.64 مايكروغرام.مل⁻¹) معناه اثريا Trace بينما التركيز الملحي 15ديسيسمنز.م¹⁻ عمل على حث الحامض وذلك لان الاجهاد الملحي يولد الجذور الحرة التي تعد بمثابة اشارة Signling على تغير تراكيز الاحماض الفينولية لاجل السيطرة على زيادة الجذور الحرة المتولدة (الوهيبي،2009).
جدول(37) دور تراكيز فيتامينC وهرمون البراسينولايد في تركيز المادة الفعالة(مايكروغرام.مل⁻¹) للكالس في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

L S D	المعاملات								المادة الفعالة	ت
	(15) NaCl				(6) NaCl					
	Vit.C (40) BR (0.04)	BR (0.04)	Vit.C (40)	Vit.C (0) BR (0)	Vit.C (40) BR (0.04)	BR (0.04)	Vit.C (40)	Vit.C (0) BR (0)		
0.83	<u>280.44</u>	208.61	99.22	71.89	226.46	234.17	82.74	218.60	Hydroxybenzonic acid	1
0.91	<u>258.10</u>	218.65	115.78	88.46	228.54	237.78	94.39	110.48	Tannic acid	2
1.09	<u>135.16</u>	120.17	84.94	59.95	111.44	125.95	65.96	60.56	Gallic acid	3
0.86	<u>286.49</u>	236.51	180.80	125.21	184.72	276.77	193.05	93.53	Quercetin	4
0.90	<u>778.93</u>	733.88	560.22	456.26	575.95	769.57	727.07	342.37	Syringic acid	5
1.41	741.23	683.93	705.63	413.73	718.84	<u>933.83</u>	656.70	546.48	Ferulic acid	6
0.90	191.32	173.55	123.39	115.69	<u>230.27</u>	203.95	155.27	7.64	Chlorogenic acid	7
0.58	162.56	202.13	140.38	85.88	<u>208.21</u>	135.21	95.77	79.08	Gentisic acid	8
1.07	699.39	807.55	560.59	528.43	<u>846.52</u>	817.99	632.25	351.56	Shikimic acid	9
0.91	394.94	499.57	327.56	263.72	522.62	<u>544.95</u>	302.06	192.49	Coumaric acid	10
0.91	350.37	<u>407.48</u>	182.06	214.94	355.23	390.38	191.80	192.39	Protocatechuric acid	11

كذلك اظهرت نتائج الجدول(37) ايضا ان اضافة فيتامينC وهرمون البراسينولايد الى الوسط الغذائي ادى الى زيادة تركيز جميع المواد الفعالة اعلاه في الكالس ولكلا المستويين (6) ، (15)ديسيسمنز.م¹⁻، وسجلت معاملة التداخل المولفة من 15ديسيسمنز.م¹⁻ و40ملغم.لتر⁻¹ فيتامينC و

0.04 ملغم لتر⁻¹ براسينولايد اعلى القيم للمواد الفعالة Tannic ، Hydroxybenzonic acid ، Syringic acid ، Quercetin ، Gallic acid ، acid (286.49 ، 135.16 ، 258.10 ، 280.44) ، 778.93) مايكروغرام مل⁻¹ بالتتابع قياسا بالتداخلات الاخرى. سجلت معاملة التداخل 6 دسيسمنز م⁻¹ و 40 ملغم لتر⁻¹ فيتامين C و 0.04 ملغم لتر⁻¹ براسينولايد اعلى القيم لمركبات (846.52 ، 208.21 ، 230.27) Sikimick acid ، Gentisic acid ، Chlorogenic acid مايكروغرام مل⁻¹ بالتتابع قياسا بمعاملات التداخل الاخرى، في حين كان اعلى تركيز لمركبين Ferulic acid و Coumaric acid (544.95 ، 933.83) مايكروغرام مل⁻¹ بالتتابع في معاملة التداخل المولفة من 6 دسيسمنز م⁻¹ و 0.04 ملغم لتر⁻¹ براسينولايد، واعلى تركيز Protocatechric acid 407.48 مايكروغرام مل⁻¹ في معاملة التداخل المولفة من 15 دسيسمنز م⁻¹ و 0.04 ملغم لتر⁻¹ براسينولايد. تتوافق هذه النتائج مع نتائج (Hassan and Hussein and Aqlan(2011) و Jassim(2018) خلال دراستهم على نبات كالس الحلبة ومع نتائج (Al-Amin(2018) خلال دراستها على كالس نبات السجاد.

4-1-6 تأثير تراكيز كلوريد الصوديوم في نسبة الاخلاف (%) للنباتات الناتجة من كالس نبات الماش المزروع على معاملات هرمونية مختلفة.

اظهرت النتائج في الجدول (38) وجود انخفاض معنوي في نسبة الاخلاف بتزايد التراكيز الملحية المضافة الى الوسط الغذائي مع التفوق المعنوي الواضح لتركيز الملحي 6 دسيسمنز⁻¹ عن التراكيز الملحيين (9 ، 12) دسيسمنز م⁻¹ وذلك لاعطائه اعلى متوسط لنسبة اخلاف مقراها 73.00% وبنسبتي زيادة (25.86 ، 421.43)% بالتتابع قياسا الى التراكيزين الاخيرين. كما اثرت المعاملات الهرمونية معنويا في متوسط نسبة الاخلاف (جدول 38)، واعطت المعاملة (5BAP+ 20Ads) ملغم لتر⁻¹ اعلى متوسط لنسبة الاخلاف 68.00% و اختلفت معنويا عن المعاملات الهرمونية المدروسة الاخرى باستثناء المعاملة (1.01ZE) ملغم لتر⁻¹ التي اعطت 64.00%، فيما اعطت المعاملة (0.2TDZ) ملغم لتر⁻¹ متوسط نسبة اخلاف 61.30%، بينما لم تعطِ معاملة السيطرة اي متوسط لنسبة الاخلاف.

اما عن تأثير التداخل بين المعاملات الهرمونية والتراكيز الملحية فقد كان معنويا، وتفوق الكالس النامي في التركيز 6 دسيسمنز م⁻¹ وجميع المعاملات الهرمونية المختلفة على التراكيز الاخرى، اذ اعطى نسبة اخلاف (96.00 ، 96.00 ، 100.00)% للمعاملات الهرمونية (0.2TDZ ، 1.01ZE ، 5BAP+ 20Ads) ملغم لتر⁻¹ بالتتابع، فيما اعطت المعاملة الهرمونية (5BAP+ 20Ads) ملغم لتر⁻¹ في التركيز الملحي العالي (12 دسيسمنز م⁻¹) اعلى نسبة اخلاف بمقدار

32.00% قياسا بالمعاملات الهرمونية الاخرى التابعة للتركيز الملحي نفسه. يعود هذا التفوق لهذه المعاملة عن المعاملات الاخرى ربما الطبيعة الكيميائية للBAP اذ يحتوي على حلقة بنزول ذات ثلاث اواصر مزدوجة التي تزيد من فعالية السايوتوكاينين دون غيره (Krishnamurthy *et al.*, 1984) او الى الدور التآزري Synergist لكل من BAP و AS في تمايز الانسجة، او من المحتمل يعد الادنين السلف الاول لبناء السايوتوكاينيات الطبيعية في النبات، كذلك لوحظ ان السايوتوكاينين في الجزء النباتي او الكالس قد يتحطم وان اضافة الادنين الى الوسط قد يوخر من تحطيمه او يحد الانزيمات المسؤولة عن بنائه (Van Staden *et al.*, 2008)، بينما لم تعطِ معاملة السيطرة أية نسبة اخلاف (تمايز) ولجميع التراكيز الملحية المدروسة، ومن الجدير بالذكر ايضا تم استبعاد التركيز الملحي 15ديسيسمنز.م⁻¹ من التجربة وذلك لعدم اعطاء اي تمايز للكالس. جدول(38) تأثير تراكيز كلوريد الصوديوم في نسبة الاخلاف(%) للنباتات الناتجة من كالس نبات الماش المزروع على معاملات هرمونية مختلفة.

المتوسط	NaCl (ديسيسمنز.م ⁻¹)			المعاملات الهرمونية (ملغم.لتر ⁻¹)
	12	9	6	
0.00	0.00	0.00	0.00	السيطرة
61.30	16.00	68.00	100.00	(0.2) TDZ
64.00	8.00	88.00	96.00	(1.01) ZE
68.00	32.00	76.00	96.00	(5) BAP + (20) Ads
	14.00	58.00	73.00	المتوسط
	المعاملات=5.99 التركيز الملحي=5.19 التداخل=10.38			LSD 0.05

4-1-7 تأثير تراكيز كلوريد الصوديوم في عدد الافرع العرضية(فرع) للنباتات الناتجة من كالس نبات الماش المزروع على معاملات هرمونية مختلفة.

اوضحت النتائج في الجدول(39) وجود تأثير معنوي بين التراكيز الملحية (NaCl) المضافة الى الوسط الغذائي في متوسط عدد الافرع العرضية، واعطى التركيز 6ديسيسمنز.م⁻¹ اعلى متوسط عدد للافرع العرضية 2.65 فرع ولم يختلف معنويا عن التركيز 9ديسيسمنز.م⁻¹ وبلغ 2.35 فرع، بينما اختلفا معنويا عن التركيز 12ديسيسمنز.م⁻¹ وبلغ 1.15 فرع.

كذلك لوحظ من نتائج الجدول(39) وجود فروق معنوية بين المعاملات الهرمونية في متوسط عدد الافرع العرضية وتفوقت المعاملة الهرمونية (0.2TDZ) ملغم.لتر⁻¹ بأعلى متوسط عدد الافرع 3.07 فرع واختلفت معنويا عن بقية المعاملات الاخرى باستثناء المعاملة الهرمونية (5BAP+20Ads) ملغم.لتر⁻¹ التي اعطت 2.93 فرع لكل منهما، بينما لم تعطِ معاملة السيطرة اي متوسط افرع عرضية متمايزه.

جدول (39) تأثير تراكيز كلوريد الصوديوم في عدد الافرع العرضية (فرع) للنباتات الناتجة من كاس نبات الماش المزروع على معاملات هرمونية مختلفة.

المتوسط	NaCl (ديسيمنز.م ⁻¹)			المعاملات الهرمونية (ملغم.لتر ⁻¹)
	12	9	6	
0.00	0.00	0.00	0.00	السيطرة
3.07	2.00	3.40	3.80	(0.2) TDZ
2.20	0.60	3.80	2.20	(1.01) ZE
2.93	2.00	2.20	4.60	(5) BAP + (20) Ads
	1.15	2.35	2.65	المتوسط
	المعاملات=0.57 التركيز الملحي=0.49 التداخل=0.99			LSD 0.05

اما التداخل الحاصل بين عاملي الدراسة فقد كان معنويا في صفة عدد الافرع، واعطت معاملة التداخل (5BAP+20Ads) ملغم.لتر⁻¹ ضمن التركيز 6ديسيمنز.م⁻¹ اعلى عدد لافرع 4.60 فرع (الشكل30)، واختلفت معنويا عن المعاملات الاخرى باستثناء معاملة التداخل (0.2TDZ) ملغم.لتر⁻¹ ضمن التركيز 6ديسيمنز.م⁻¹ ومعاملة التداخل (1.01)ZE ملغم.لتر⁻¹ ضمن التركيز 9ديسيمنز.م⁻¹ اللتان اعطيا 3.80 فرع.



شكل (30) الافرع العرضية في معاملة التداخل (5BAP+20Ads) ملغم.لتر⁻¹ وضمن التركيز 6ديسيمنز.م⁻¹.

اما في التراكيز الملحية العالية (12ديسيمنز.م⁻¹) فاطهرت النتائج ايضا ان المعاملة الهرمونية (0.2TDZ) ملغم.لتر⁻¹ والمعاملة الهرمونية (5BAP+ 20Ads) ملغم.لتر⁻¹ تفوقا معنويا بعدد الافرع العرضية على المعاملة الهرمونية (1.01)ZE ملغم.لتر⁻¹ ونسبة زيادة 233.33%،

كما موضح في الشكل(31)، بينما لم تظهر معاملة السيطرة اي افرع عرضية متميزة ولجميع التراكيز الملحية المدروسة.



شكل(31)الافرع العرضية في المعاملات الهرمونية(5BAP+20Ads ، 1.01ZE ، 0.2TDZ) ملغم.لتر⁻¹ من اليمين الى اليسار وضمن التركيز 12ديسيسمنز.م⁻¹.

يفسر الانخفاض في نسبة الاخلاف وعدد الافرع العرضية بزيادة تراكيز ملح كلوريد الصوديوم نتيجة الى اختلال في التوازن الهرموني مع زيادة تركيز الجذور الحرة (Gupta and Huang,2014)، وانخفاض الجهد المائي في خلايا الكالس ومن ثم عدم مقدرتها على امتصاص الماء و العناصر من الوسط الغذائي وببطء بناء البروتين واضطراب عمل الانزيمات واختزال الانقسام الخلوي و التمايز (Al-Hattab *et al.*,2016). هذه النتائج تتماشى مع ماوجده Arefin *et al.* (2018) في انخفاض نسبة الاخلاف وعدد الافرع في كالس الرز عند زراعته خارج الجسم الحي بزيادة تركيز كلوريد الصوديوم.

تودي السايبتوكينات في التراكيز الملائمة دورا مهما في تمايز الانسجة ومشاركتها في كسر سكون البراعم الجانبية وزيادة سرعة انتقال المغذيات اليها ومن ثم نموها وزيادة اعدادها (Gatica Arias *et al.*,2010)، كذلك تحفز على بناء RNA والبروتين ومشاركتها في السيطرة على انقسام الخلية، فضلا عن تعزيز نضوج البلاستيدات (Hadi,2014). هذه النتائج تتفق مع ماوجده عبد الرزاق(2012) عند زراعتها لكالس سيقان نبات الماش في وسط MS المجهز بتراكيز مختلفة من BA (0.5، 1.0، 2.0، 3.0، 4.0، 5.0) ملغم.لتر⁻¹، وفي ضوء هذه التراكيز فقد توصلت ان الوسط MS المجهز ب5.0 ملغم.لتر⁻¹ من BA اعطى اعلى افرع خضرية، وكذلك تتفق مع نتائج

Patra *et al.* (2018) الذين وجدوا ان التوليفة المركبة من (2.0 و 1.5 و 25) ملغم/لتر¹ من BAP و NAA و بالتتابع اعطت اعلى افرع خضرية 7.8 افرع لنبات الماش.

8-1-4 عملية التجذير.

لقد شجع التركيز 1 ملغم/لتر¹ من منظم النمو IBA على تحفيز عملية التجذير للافرع الخضرية المتميزة بعد مرور 28 يوما من الزراعة في وسط MS واعطاء مجموع جذري جيد. تتم عملية التجذير عن طريق مراحل متسلسلة تبدأ بحث الاوكسين IBA على فقدان التمايز للمناطق المرستيمية في الساق الحاوية على عدد من الخلايا البرنكيميية (انسجة اللحاء او الكامبيوم او اللب) بعد ذلك تتضاعف هذه الخلايا مكونة بشكل مجاميع كروية، ومع استمرار عملية التضاعف تحدث انقسامات مبرمجة لتكوين بادآت الجذور Roots primordium التي تستطيل الخلايا الموجودة في الجزء القاعدي للمرستيمات المتطورة لتكوين الجذور العرضية الجديدة New adventitious roots (Hartmann *et al.*, 2002 ; Brakesley *et al.*, 1991). هذه النتائج اتفقت مع نتائج Rao and Pital (2012) اللذين وجدوا ان التركيز 1 ملغم/لتر¹ من IBA اعطى افضل نسبة لتجذير الافرع العرضية، وتعارضت مع نتائج Sagare and Mohanty (2015) اللذان استعملوا منظم النمو NAA في دراستهما على نبات الماش.

9-1-4 عملية الاقلمة.

اثبتت عملية الاقلمة الموضحة في مواد وطرائق العمل نجاحها، اذ يعمل الزميح على سهولة انتشار الجذور ووسط جيد للتهوية، فضلا عن دور البتموس في امداد النبيتات بالعناصر الغذائية ومساعد على الاحتفاظ بالرطوبة اللازمة لنموها. تتماشى هذه النتائج مع نتائج التميمي (2016) والكعبي (2016) اثناء دراستهم على اقلمة نباتي الجب والفلل بالتتابع.

10-1-4 صفات النمو ومكونات الحاصل بين النباتات الناتجة من البذور والكالس المعرض بالتراكيز الملحية في ظروف البيت البلاستيكي.

اظهرت النتائج المشار اليها في الجدول (40) الى تفوق النباتات الناتجة من الكالس المعرض للتركيز الملحي 9 ديسيمنز.م¹ في صفتي ارتفاع النبات والوزن الجاف معنويا واعطت 48.22 سم و 11.79 غم بالتتابع عن النباتات الاخرى وبنسبتي زيادة (10.27، 7.77)% قياسا بالنباتات الناتجة من البذور نسيجيا، فيما تفوقت النباتات الناتجة من الكالس المعرض للتركيز الملحي 6 ديسيمنز.م¹ في الصفات الاخرى المتمثلة بالمساحة الورقية 37.45 دسم² ومحتوى الكلوروفيل 46.24 وحدة SPAD وعدد القرينات 10.67 قرنة/نبات¹ وعدد البذور في القرنة الواحدة 7.67 بذرة/قرنة¹ ووزن 100 بذرة 3.64 غم بالتتابع عن النباتات الاخرى وبنسب زيادة

(4.26، 9.78، 14.36، 14.99، 15.92) % قياسا بالنباتات الناتجة من البذور نسيجيا، فيما لم تختلف النباتات الناتجة من الكالس المعرض لتراكيز الملح والنباتات الناتجة من البذور نسيجيا معنويا باستثناء النباتات الناتجة من الكالس المعرض لتراكيز الملح 12ديسيسمنز.م⁻¹ في صفة عدد الافرع والتي اعطت 1.33 فرع. كذلك لوحظ من نتائج الجدول (40) ايضا ان النباتات الناتجة من الكالس المعرض للتركيز الملحي 12ديسيسمنز.م⁻¹ اعطت نمواً ضعيفاً من خلال اعطائها اقل القيم لمؤشرات النمو ومكونات الحاصل قياسا بالنباتات الاخرى.

جدول(40): تأثير مصدر الزراعة النسيجية(بذور وكالس) في بعض مؤشرات النمو ومكونات الحاصل في نبات الماش.

LSD	مصدر الزراعة النسيجية				الصفة
	كالس (12ديسيسمنز.م ⁻¹)	كالس (9ديسيسمنز.م ⁻¹)	كالس (6ديسيسمنز.م ⁻¹)	بذور في وسط MS	
0.43	37.10	48.22	46.21	43.73	ارتفاع النبات (سم)
0.20	27.18	34.18	37.45	35.92	المساحة الورقية (دسم ²)
0.77	1.33	3.00	3.00	2.33	عدد الافرع (فرع.نبات ⁻¹)
0.17	7.23	11.79	11.61	10.94	الوزن الجاف (غم)
0.31	32.19	44.37	46.24	42.12	محتوى الكلورفيل (وحدة SPAD)
1.09	4.33	8.33	10.67	9.33	عدد القرينات (قرنة.نبات ⁻¹)
0.94	4.00	5.67	7.67	6.67	عدد البذور (بذرة.قرنة ⁻¹)
0.27	1.98	2.89	3.64	3.14	وزن 100 بذرة (غم)

لقد تفوقت النباتات الناتجة من الكالس المعرض للتراكيز الملحية الواطئة(6، 9 ديسيسمنز.م⁻¹) على النباتات الناتجة من البذور نسيجيا ربما يعود السبب الى تغاير وراثي ناتج من عوامل متعددة منها: نوعية منظمات النمو المضافة الى الوسط الغذائي، مدة بقاء الزروعات في بيئة الوسط الغذائي وكم مرة تمت اعادة زراعتها او حدوث مايسمى بالتغيرات الجسمية، او تغاير كيميائي كزيادة مضادات الاكسدة وزيادة محتوى المركبات المعدلة للازموزية والمواد الفينولية التي تساهم

في كسح الجذور الحرة مما جعل هذه النباتات تمتلك الية التأقلم لظروف الاجهاد الملحي (زيدان، 2017; Abbas,2018)، بالمقابل الانخفاض الحاصل في نمو وحاصل النباتات الناتجة من الكالس المعرض للتركيز العالي (12ديسيسمنز.م¹⁻) نتيجة لربما لتاثير السلبي للاجهاد NaCl في نمو خلايا الكالس واختزال عددها وحدوث اضطراب هرموني - غذائي في خلاياه، وزيادة سالبية الجهد الازموزي يرافقه زيادة التسرب الايوني من الاغشية الخلوية وزيادة تولد الجذور الحرة التي تعمل على مهاجمة المركبات الحيوية كالبروتينات والدهون وفقدان عملها الفسيولوجي والتي تظهر اعراضه في تكون النبات وتمايزه ونقصان في مساحة الاوراق وخفض وزن المادة الجافة، فضلا عن انخفاض مكونات الحاصل (اختزال الانتاجية) (Munns and Tester,2008).

2-4 الدراسة الجزيئية:

1-2-4 تفاعلات التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال.

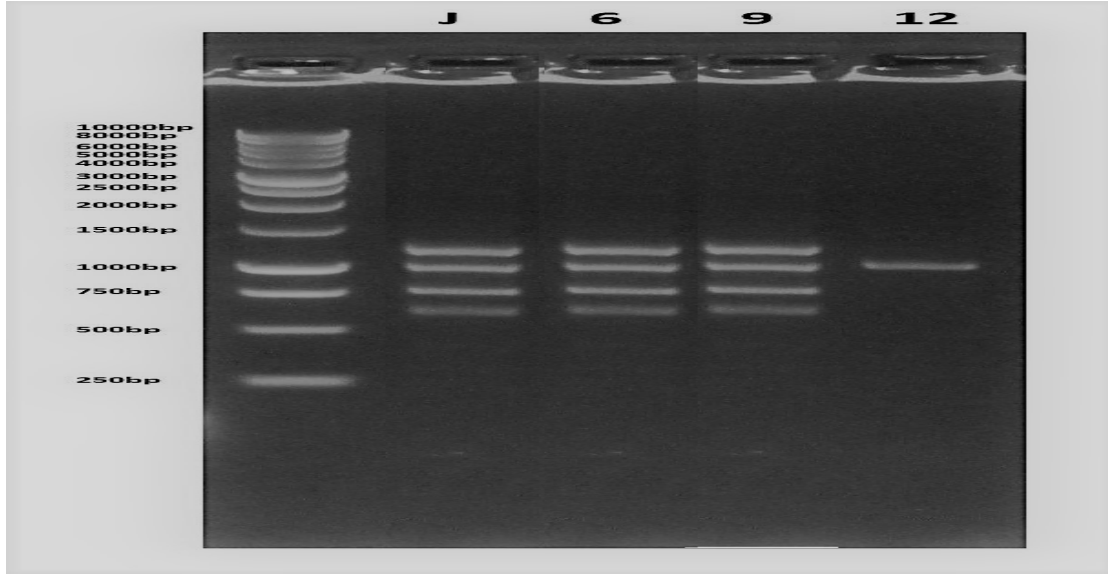
لقد اظهرت النتائج ان تركيز DNA للعينات المدروسة ترواح ما بين 20- 45 نانوغرام. مايكروليتير¹⁻، كما اظهرت النتائج ايضا ان من مجموع البودائ السبعة التي تم استعمالها لتنفيذ تفاعلات RAPD لدراسة التغيرات الوراثي للنباتات المنتجة النسيجية(زراعة البذور في وسط MS) والنباتات الناتجة من الكالس المعرض للاجهاد الملحي بالتركيز (6، 9، 12)ديسيسمنز.م¹⁻ ثلاثة فقط اعطت تضاعفا وهي OP-F07، OP-G02، OP-G03.

• البادئ OP-F07

اظهرت نتائج الجدول(41) والشكل(32) الى اختلاف سلوك هذا البادئ في عدد الحزم بأختلاف النباتات الناتجة من الكالس، فقد حقق هذا البادئ مع المعاملات اربعة مواقع فيزيائية ترواحت اوزانها الجزيئية بين 1247 الى 630 زوج قاعدي، وحققت النباتات الناتجة من بذور نامية في وسط MS والنباتات الناتجة من الكالس المعرض للاجهاد الملحي بتركيز (6، 9)ديسيسمنز.م¹⁻ اعلى عدد للحزم بلغت اربع حزم، في حين سجلت النباتات الناتجة من كالس معرض للاجهاد الملحي بتركيز 12ديسيسمنز.م¹⁻ اقل عدد للحزم بلغت حزمة واحدة.

جدول (41) عدد الحزم الناتجة وإحجامها الجزيئية (bp) لعينات الدنا باستخدام البادئ OP-F07.

الحجم الجزيئي (bp)		عدد الحزم	المعاملة
1097	1247	4	نباتات ناتجة من بذور نامية في وسط MS
630	802		
1097	1247	4	نباتات ناتجة من كالس معرض للاجهاد الملحي بتركيز 6ديسيسمنز.م ¹⁻
630	802		
1130	1247	4	نباتات ناتجة من كالس معرض للاجهاد الملحي بتركيز 9ديسيسمنز.م ¹⁻
657	807		
	1130	1	نباتات ناتجة من كالس معرض للاجهاد الملحي بتركيز 12ديسيسمنز.م ¹⁻



شكل (32) البادئ OP-F07

J = النباتات الناتجة من بذور نامية في وسط MS

6 = النباتات الناتجة من كالس متعرض للاجهاد ملحي بتركيز 6ديسيسمنز.م¹⁻

9 = النباتات الناتجة من كالس متعرض للاجهاد ملحي بتركيز 9ديسيسمنز.م¹⁻

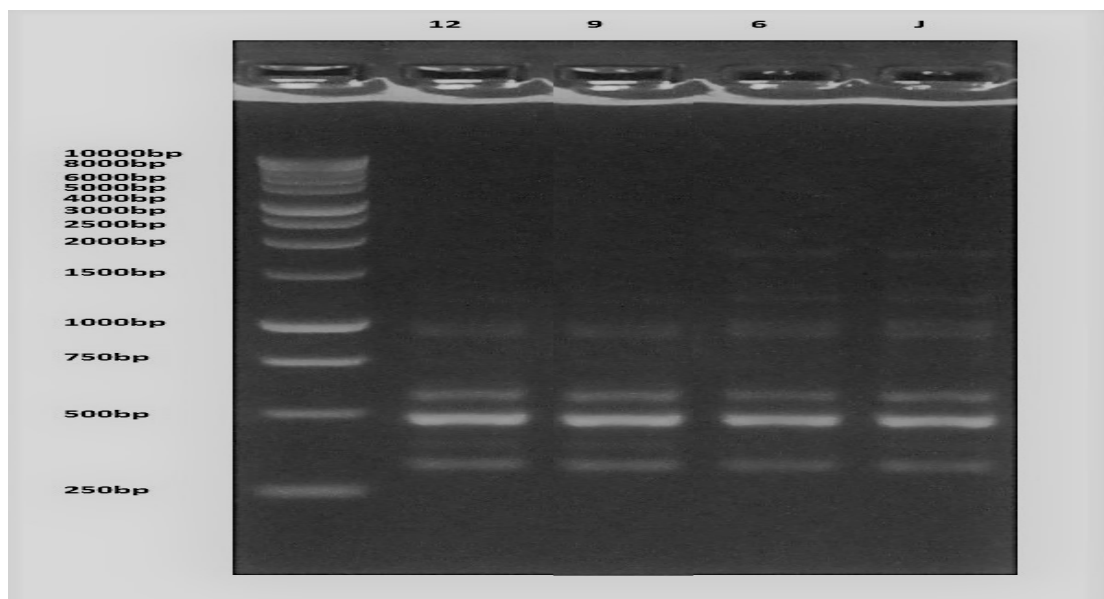
12 = النباتات الناتجة من كالس متعرض للاجهاد ملحي بتركيز 12ديسيسمنز.م¹⁻

• البادئ OP-G02

اظهرت نتائج الجدول (42) والشكل (33) الى عدم اختلاف سلوك هذا البادئ في عدد الحزم باختلاف النباتات الناتجة من الكالس والنباتات الناتجة من بذور نامية في وسط MS، فقد حقق هذا البادئ مع المعاملات اربع مواقع فيزيائية ترواحت اوزانها الجزيئية بين 958 الى 307 زوج قاعدي، وحققت النباتات الناتجة من الكالس المعرض للاجهاد الملحي بتركيز (6، 9، 12) ديسيسمنز.م¹⁻ مع النباتات الناتجة من بذور نامية في وسط MS اربعة حزم .

جدول (42) عدد الحزم الناتجة وإحجامها الجزيئية (bp) لعينات الدنا باستخدام البادئ OP-G02.

الحجم الجزيئي (bp)		عدد الحزم	المعاملة
602	958	4	نباتات ناتجة من بذور في وسط MS
307	439		
602	958	4	نباتات ناتجة من كالس معرض للاجهاد الملحي بتركيز 6ديسيسمنز.م ¹⁻
307	439		
602	958	4	نباتات ناتجة من كالس معرض للاجهاد الملحي بتركيز 9ديسيسمنز.م ¹⁻
307	439		
602	958	4	نباتات ناتجة من كالس معرض للاجهاد الملحي بتركيز 12ديسيسمنز.م ¹⁻
307	439		



شكل (33) البادئ OP-G02

J = النباتات الناتجة من بذور نامية في وسط MS

6 = النباتات الناتجة من كاس متعرض للاجهاد ملحي بتركيز 6ديسيمنز.م⁻¹

9 = النباتات الناتجة من كاس متعرض للاجهاد ملحي بتركيز 9ديسيمنز.م⁻¹

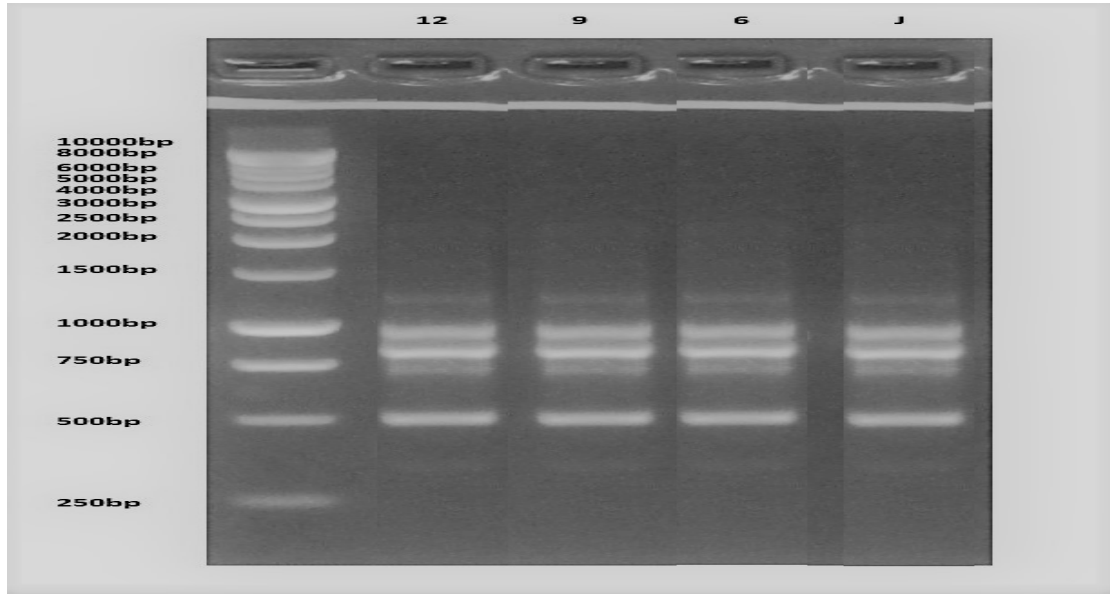
12 = النباتات الناتجة من كاس متعرض للاجهاد ملحي بتركيز 12ديسيمنز.م⁻¹

• البادئ OP-G03

اظهرت نتائج الجدول (43) والشكل (34) الى عدم اختلاف سلوك هذا البادئ في عدد الحزم باختلاف النباتات الناتجة من الكاس والنباتات الناتجة من بذور نامية في وسط MS، فقد حقق هذا البادئ مع المعاملات خمسة مواقع فيزيائية ترواحت اوزانها الجزيئية بين 1249 الى 500 زوج قاعدي، وحققت النباتات الناتجة من الكاس المعرض للاجهاد الملحي بتركيز (6، 9، 12) ديسيمنز.م⁻¹ مع النباتات الناتجة من بذور نامية في وسط MS خمسة حزم .

جدول (43) عدد الحزم الناتجة وإحجامها الجزيئية (bp) لعينات الدنا باستخدام البادئ OP-G03.

الحجم الجزيئي (bp)			عدد الحزم	المعاملة
827	941	1246	5	نباتات نامية من بذور في وسط MS
500	746			
858	941	1249	5	نباتات ناتجة من كاس معرض للاجهاد الملحي بتركيز 6ديسيمنز.م ⁻¹
500	746			
858	941	1249	5	نباتات ناتجة من كاس معرض للاجهاد الملحي بتركيز 9ديسيمنز.م ⁻¹
500	746			
858	941	1249	5	نباتات ناتجة من كاس معرض للاجهاد الملحي بتركيز 12ديسيمنز.م ⁻¹
500	746			



شكل (34) البادئ OP-G03

J = النباتات الناتجة من بذور نامية في وسط MS

6 = النباتات الناتجة من كاس متعرض للاجهاد ملحي بتركيز 6ديسيسمنز.م¹⁻

9 = النباتات الناتجة من كاس متعرض للاجهاد ملحي بتركيز 9ديسيسمنز.م¹⁻

12 = النباتات الناتجة من كاس متعرض للاجهاد ملحي بتركيز 12ديسيسمنز.م¹⁻

4-2-2 عدد الحزم في المعاملات الدراسة باختلاف نوع البادئ.

بينت نتائج الجدول (44) ان اعلى متوسط للعدد الحزم في النباتات الناتجة من بذور نامية

في وسط MS والنباتات الناتجة من كاس معرض للاجهاد الملحي بتركيز (6، 9)ديسيسمنز.م¹⁻

بمقدار 4.33حزمة و اقل متوسط لعدد الحزم في النباتات الناتجة من كاس المعرضة للاجهاد

الملحي بتركيز 12ديسيسمنز.م¹⁻ بمقدار 3.33 حزم. كذلك اشارت نتائج الجدول نفسه الى اعلى

متوسط للعدد الحزم في البادئ OP-G03 بمقدار 5 حزم، تلاه البادئ OP-G02 الذي اعطى

متوسطا لعدد الحزم 4 حزم، فيما كان اقل متوسط للعدد الحزم في البادئ OP-F07 بمقدار 3.25

حزمة.

جدول (44) عدد الحزم في معاملات الدراسة باختلاف نوع البادئ.

المتوسط	المعاملات				البادئ
	12	9	6	0	
3.25	1	4	4	4	OP-F07
4	4	4	4	4	OP-G02
5	5	5	5	5	OP-G03
	3.33	4.33	4.33	4.33	المتوسط

اما بخصوص التداخل فقد سجلت النباتات الناتجة من كالس المعرضة للاجهاد الملحي بالتراكيز الملحية جميعها والنباتات الناتجة من بذور نامية في وسط MS في البادئ OP-G03 اعلى عدد للحزم بلغ 5 حزم ، اما اقل عدد للحزم فكانت حزمة واحدة ظهرت في النباتات الناتجة من كالس معرض للاجهاد الملحي بتركيز 12ديسيسمنز.م⁻¹ وفي البادئ OP-F07، بينما في التراكيز الاخرى للبادئ نفسه كانت 4 حزم. ان اختلاف عدد الحزم باختلاف البادئ المستعمل للمعاملة نفسها وهذا يعزى الى عدم وجود مواقع مكملة للبادئ، وهذا متفق مع المبدأ العام لتفاعلات RAPD، إذ إن عدم وجود نواتج تضاعف يدل على عدم وجود مواقع مكملة لذلك البادئ مع مجين (Williams *et al.*,1990).

4-2-3 البوادئ المستعملة والحزم الناتجة ونسبة التعددية والقدرة التمييزية وكفائتها.

اشارت النتائج في الجدول(45) الى اختلاف البوادئ في عدد الحزم وكفائتها، وتفوق البادئ OP-G03 عن بقية البوادئ المستخدمه باعطائه اعلى عدد للحزم بلغت خمس حزم وكفاءة بلغت 38.46%، فيما كانت عدد الحزم في البادئان OP-G2 و P-F07 اربع حزم وكفاءة 30.77%، كذلك اختلفت البوادئ في قيم المقدره التمييزية فقد سجل البادئ OP-F07 اعلى مقدره تمييزية بلغت 100% وبنسبة تعددية شكلية بلغت 25.00%، بينما لم يسجل البادئان OP-G02 و OP-G3 اية مقدره تمييزية ولا تعددية شكلية.

جدول(45) البوادئ المستعملة والحزم الناتجة ونسبة التعددية والقدرة التمييزية وكفائتها .

البادئ			الصفة
OP-G03	OP-G02	OP-F07	
5	4	3	عدد الحزم الاحادية
0	0	1	عدد الحزم المتباينة
5	4	4	عدد الحزم الرئيسية
38.46	30.77	30.77	كفاءة البادئ (%)
0	0	100	المقدره التمييزية (%)
0	0	25.00	التعددية الشكلية (%)

استعملت تقانة التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال لسلسلة الـ DNA (RAPD) لكونها سهلة وسريعة وغير مكلفة وعدم احتياجها لكميات كبيرة من الدنا فضلا عن عدم معرفة مسبقه حول تسلسلاته، ومن الممكن الكشف عن الطفرات النقطية ومن ثم معرفة الاضرار Damages التي تحدث في شريط الدنا. لوحظ في نتائج الدراسة الحالية عدم تلوث الدنا نتيجة لاختلافات الاحتياطات اللازمة في مراحل الإستخلاص، مع اخذ العينات للنباتات المكثرة خارج الجسم الحي وهي فتيه وخالية من المسببات المرضية. لقد اظهرت نتائج الترحيل الكهربائي لعينات اوراق نبات الماش بان

هناك اختلافات جينية من خلال وجود الحزم وفقدانها ونسبة التعدد الشكلي Polymorphism، ان ظهور حزمة جديدة او فقدان حزمة معينة تفسر بالعديد من الاحتمالات منها اختلاف في ترتيب القواعد للنوكليوتيدات في مناطق البوادي نتيجة لكسر الشريط المفرد او المزدوج لدنا او بسبب عمليات متعددة كالحذف Deletion او الاضافة Insertion و اعادة الترتيب Rearrangement او حدوث مايسمى مثيلة DNA Methylation، فيما اكدت العديد من الدراسات ان هناك عوامل تؤدي الى حدوث التغيرات في النباتات النسيجية منها التركيز ونوعية الهورمونات المضافة الى الوسط الزراعي ومدة بقاء النبات في الوسط الغذائي والجزء النباتي المختار وعمره فضلا عن عدد مرات اعادة الزراعة (Leva et al.,2012 ; Abbas,2018).

3-4 التجربة الحقلية:

1-3-4 دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في بعض المؤشرات المظهرية في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

1-1-3-4 ارتفاع النبات(سم) :

اشارت النتائج الموضحة في الجدول(46) الى انخفاض معنوي في متوسط ارتفاع النبات بزيادة تراكيز كلوريد الصوديوم، اذ اعطى التركيز 15ديسيمنز.م⁻¹ اقل قيمة بلغت 35.55سم وبنسبة 31.09% قياسا بالمعاملة المروية بماء الحنفية(0.9ديسيمنز.م⁻¹). ان الانخفاض الواضح في ارتفاع النبات بزيادة تراكيز NaCl يعود ربما الى عدة تفسيرات منها: التنافس أيوني Na⁺ و Cl⁻ مع الايونات الاخرى على مواقع الامتصاص Uptake sites ومن ثم ضعف النمو واختزال ارتفاع النبات(السعدي،2006)، وزيادة عملية التنفس الضوئي يرافقه استهلاك للطاقة وتراكم الجذور الحرة في العضيات وتقليل فعاليتها(Gupta and Huang,2014)، كما وان تراكم Na⁺ و Cl⁻ في النبات يؤثر في الفعالية الانزيمية والعمليات الايضية كالببناء الضوئي والتنفس وبناء الاحماض النووية والبروتين والكاربوهيدرات وغيرها من المواد وزيادة سالبية الجهد الازموزي للتربة وقلة كفاءة الجذور في امتصاص الماء ومن ثم انخفاض المحتوى المائي في النبات يرافقه تراجع الانقسام الخيطي للخلايا وقلة النشاط المرستيمي واختزال في حجوم الخلايا ومن ثم تقزم النبات(Acosta-Motos et al.,2017).

اما رش فيتامين C فكان له تأثير ايجابي ومعنوي في متوسط الصفة اعلاه، واعطى التركيز 120ملغم.لتر⁻¹ اعلى قيمة بلغت 47.28سم وبنسبة زيادة 11.51% قياسا بالتركيز صفر. ان الزيادة الحاصلة في ارتفاع نبات الماش ناتجة لربما الى دور تراكيز فيتامين C المرشوشة على المجموع الخضري في حث العمليات الايضية ليزداد تراكم النواتج الايضية(Ivanov,2014)، فضلا عن

دوره في تنظيم الانقسام الخلوي وزيادة دليل الانقسام الخيطي mitotic index ومن ثم زيادة اعداد الخلايا وتوسعها وهذا يشابه عمل منظمات النمو النباتية (Osman et al., 2018).

اثر رش هرمون البراسينولاييد ايجابيا ومعنويا في متوسط الصفة اعلاه (جدول 46)، واعطى التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ اعلى قيمة 46.86 سم وبنسبة زيادة 7.70% قياسا بالتركيز صفر. ان الزيادة الحاصلة في ارتفاع نبات الماش ناتجة لربما الى دور الهرمون في تحفيز النبات على زيادة امتصاص المغذيات من التربة وزيادة تدفقها عبر انسجة الساق (Marimuthu and Surendran, 2015)، ودوره في حث جينات (IAA5، IAA19، IAA17) المسؤولة عن بناء هرمون الاوكسين والتغلب على حالة التقزم في النبات (Ahmad et al., 2018).

اشارت النتائج الموضحة في الجدول (46) ايضا الى ان جميع التداخلات الثنائية معنوية في صفة ارتفاع النبات، فالتداخل الثنائي بين تراكيز NaCl وتراكيز فيتامين C نلاحظ تفوق المعاملة المؤلفة من 0.9 ديسيسمنز م⁻¹ مع 120 ملغم لتر⁻¹ معنويا على جميع المعاملات لأعطائها اعلى متوسط للارتفاع النبات 53.69 سم، بينما اقل متوسط لهذه الصفة في المعاملة 15 ديسيسمنز م⁻¹ الخالية من فيتامين C وبلغ 33.44 سم. اما التداخل الثنائي بين تراكيز NaCl والبراسينولاييد، فقد اعطت المعاملة المؤلفة من 0.9 ديسيسمنز م⁻¹ مع تركيز 4 ملغم لتر⁻¹ اعلى متوسط للارتفاع 52.51 سم واختلفت معنويا عن المعاملات الاخرى باستثناء المعاملة المؤلفة من 0.9 ديسيسمنز م⁻¹ مع 2 ملغم لتر⁻¹ التي اعطت ارتفاعا مقداره 52.05 سم، في حين كانت اقل متوسط للارتفاع النبات في المعاملة 15 ديسيسمنز م⁻¹ الخالية من الهرمون 33.09 سم، وهنا يظهر التأثير الايجابي للفيتامين والهرمون في تخفيف الاثار السلبية لملوحة مياه الري.

اظهرت نتائج التداخل الثنائي بين تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولاييد معنويا في زيادة متوسط ارتفاع النبات، واعطت المعاملة المؤلفة من 120 ملغم لتر⁻¹ فيتامين C مع 4 ملغم لتر⁻¹ براسينولاييد اعلى متوسط للارتفاع النبات 48.35 سم واختلفت معنويا عن المعاملات الاخرى باستثناء المعاملة المؤلفة من (60 و 4) ملغم لتر⁻¹ من فيتامين C و براسينولاييد بالتتابع والتي اعطت 48.20 سم، في حين كانت اقل متوسط لارتفاع النبات في المعاملة غير المرشوشة بالفيتامين و الهرمون 40.57 سم، وهذا يؤكد على التضايف بين الفيتامين والهرمون في زيادة ارتفاع النبات.

اشارت نتائج التداخل الثلاثي في الجدول نفسه الى وجود فروق معنوية بين النباتات في صفة ارتفاع النبات، وتفوقت النباتات المروية بماء الحنفية والمرشوشة بتركيزين (120 و 2) ملغم لتر⁻¹ من فيتامين C وهرمون براسينولاييد بالتتابع بأعلى ارتفاع للنبات 55.58 سم واختلفت معنويا عن النباتات الاخرى، في حين كان اقل ارتفاع النبات في النباتات المروية بالتركيز الملحي

15ديسيسمنز م⁻¹ وغير المرشوشة بالفيتامين والهرمون 29.75سم ، وهذا يؤكد على التأثير السلبي للاجهاد الملحي في ارتفاع النبات، فيما ساهمت عملية الرش بالفيتامين والهرمون في التغلب على الأثر السلبي للاجهاد من خلال الزيادة الواضحة في ارتفاع النبات، إذ اعطت النباتات المروية التركيز الملحي السابق نفسه والمرشوشة بتركيزين (60 و4) ملغم.لتر⁻¹ من فيتامين C هرمون البراسينولايد بالتتابع ارتفاع نبات 39.55سم وبنسبة زيادة 32.94%.

جدول(46) دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في الارتفاع(سم) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيسمنز م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15.0	10.0	5.5	0.9		
40.57	29.75	37.94	46.55	48.03	0	0
42.60	33.70	38.55	48.38	49.75	2	
44.06	36.88	39.74	48.47	51.12	4	
44.05	34.80	43.96	47.21	50.23	0	60
46.12	37.31	48.16	48.18	50.82	2	
48.20	39.55	49.21	50.96	53.26	4	
45.90	34.71	46.10	50.43	52.36	0	120
47.60	35.22	45.93	53.68	55.58	2	
48.35	38.07	49.22	52.94	53.14	4	
Vit.CxBR=0.56	35.55	44.31	49.62	51.59	متوسط تأثير NaCl	
	NaCl x Vit.CxBR=1.13			NaCl=0.37	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
42.40	33.44	38.75	47.80	49.63	0	
46.12	37.22	47.11	48.72	51.43	60	
47.28	36.00	47.08	52.35	53.69	120	
Vit.C= 0.32	NaCl x Vit.C=0.65				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
43.51	33.09	42.67	48.07	50.21	0	
45.44	35.42	44.22	50.08	52.05	2	
46.86	38.17	46.06	50.93	52.51	4	
BR= 0.32	NaCl x BR=0.65				L.S.D 0.05	

ان هذه الزيادة تفسر على دور فيتامين C في كسح وازالة الجذور الحرة في خلايا الجذر ليحسن من كفاءتها الامتصاصية ومن ثم تحسن النمو الخضري ومنه ارتفاع النبات (Selote and Khanna-Chopra,2010)، وقابلية هرمون البراسينولايد في حث الانقسام الخلوي وزيادة ارتخاء وليونة الجدار الخلوي ومن ثم توسع الخلايا، وقابليته ايضا في ازالة الجذور الحرة وتثبيط عمل انزيم NADH oxidase، ودوره ايضا في حث تشفير السايكلينات (Cyc B و Cyc D3) التي بدورها تحث الانقسام الخلوي للتغلب على التقزم الناتج من الاجهاد الملحي (Hayat and Ahmad,2011). تتوافق هذه النتائج مع نتائج (Sehrawat et al.(2015) و Mir et al.(2015) و Nagda et al.(2017) خلال دراستهم على نبات الماش.

4-3-1-2 المساحة الورقية (دسم²):

بينت نتائج الجدول (47) ان متوسط صفة المساحة الورقية قد انخفض معنويا عند سقي النباتات بالمياه المالحة (NaCl)، واعطى التركيز 15 ديسيسمنز.م⁻¹ اقل متوسط للصفة اعلاه 33.41 دسم² قياسا بالتركيز 0.9 ديسيسمنز.م⁻¹ 43.89 دسم² ونسبة انخفاض 23.88%. إن الإختزال الواضح في المساحة الورقية وقلة توسع الاوراق بزيادة التراكيز الملحية قد يعزى ربما إلى حدوث اختزال في حجوم الخلايا وخفض معدل انقسامها الخيطي، فضلا عن زيادة تركيز أيوني Na⁺ Cl⁻ في وسط النمو ومنافستها مع الايونات الاخرى مما ينعكس سلبا على المساحة الاوراق فتظهر بشكل ذابل Withered وملتف Rolled وتعاني من شحوب كلورفيلي Chlorosis (السعدي،2006)، كذلك يسبب الاجهاد الملحي في ارتفاع تركيز أنواع الأوكسجين الفعال وإنخفاض محتوى الأوراق من صبغات البناء الضوئي مما أدى إلى انخفاض بناء الكاربوهيدرات وإختلال إنتاج هرمونات النمو مما يؤدي الى اختزال أستطالة الخلايا واختزال اعدادها لتصبح أوراق ذات مساحة سطحية مختزلة (Belmecheri-Cherif et al.,2019).

ادى الرش بالفيتامين C الى زيادة معنوية في متوسط المساحة الورقية عند جميع التراكيز المستعملة، وتفوقت معاملة الرش بتركيز 120 ملغم.لتر⁻¹ من الفيتامين C باعطائها اعلى متوسط للمساحة الورقية 41.43 دسم² ونسبة 14.48% قياسا بمعاملة السيطرة، ويعود السبب في زيادة مساحة اوراق نبات الماش الى دور فيتامين C في تنشيط عملية اتساع الخلايا وتسريع الانقسام الخلوي وزيادة النمو الخضري ومنه المساحة الورقية وعدد الاوراق (Farooq et al.,2013).

بينت نتائج الجدول نفسه ايضا ان رش النباتات بتركيز هرمون البراسينولايد قد حققت جميعها زيادة معنوية في متوسط المساحة الورقية، واعطى التركيز 4 ملغم.لتر⁻¹ اعلى متوسط

للمساحة الورقية 41.62 دسم² ونسبة زيادة 17.34% قياسا بمعاملة السيطرة. يعمل هذا الهرمون بتغيرات في الصفات التشريحية للأوراق، فيزداد سمك النصل وسويق الورقة وحث خلايا البشره و الخلايا العمادية والاسفنجية على الانقسام والاستطالة (Ono et al., 2000)، كذلك الدور التآزري Synergistically لهذا الهرمون مع عمل الاوكسين في استطالة الخلايا وزيادة انقسامها في جميع اجزاء النبات ومنها الاوراق (المشهداني، 2018).

جدول (47) دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في المساحة الورقية (دسم²) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنتر.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15.0	10.0	5.5	0.9		
33.06	26.61	31.78	35.44	38.41	0	0
36.65	31.75	35.58	38.71	40.57	2	
38.87	34.12	37.58	40.06	43.72	4	
35.32	28.31	33.52	38.74	40.92	0	60
38.75	33.93	37.47	40.62	42.99	2	
43.43	39.61	42.72	44.91	46.50	4	
38.03	31.33	36.15	40.44	44.19	0	120
43.69	37.26	41.63	45.65	50.20	2	
42.56	37.74	40.52	44.34	47.66	4	
	33.41	37.44	40.99	43.89	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR=0.27	NaCl x Vit.Cx BR=0.55		NaCl=0.18		L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
36.19	30.82	34.98	38.07	40.90	0	
39.17	33.95	37.90	41.42	43.41	60	
41.43	35.45	39.44	43.48	47.35	120	
Vit.C= 0.16	NaCl x Vit.C=0.31				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
35.47	28.75	33.82	38.21	41.11	0	
39.70	34.31	38.23	41.66	44.59	2	
41.62	37.16	40.27	43.10	45.96	4	
BR=0.16	NaCl x BR=0.31				L.S.D 0.05	

كان للتداخل الثنائي بين تراكيز NaCl وفيتامين C اثر معنوي في متوسط صفة المساحة الورقية، واعطت المعاملة المؤلفة من 0.9 ديسيمنز م¹⁻ مع 120 ملغم لتر¹⁻ اعلى متوسط لهذه الصفة 47.35 دسم² واختلفت معنويا عن المعاملات الاخرى، في حين كانت اقل متوسط للمساحة الورقية في المعاملة المؤلفة من 15 ديسيمنز م¹⁻ والخالية من فيتامين C 30.82 دسم². اما التداخل الثنائي بين تراكيز NaCl وهرمون البراسينولايد تاتير معنوي في متوسط المساحة الورقية، واعطت المعاملة المؤلفة من 0.9 ديسيمنز م¹⁻ مع 4 ملغم لتر¹⁻ اعلى متوسط لهذه الصفة 45.96 دسم² واختلفت معنويا عن المعاملات الاخرى، في حين كان اقل متوسط للمساحة الورقية في المعاملة المؤلفة من 15 ديسيمنز م¹⁻ والخالية من الهرمون 28.75 دسم². اما التداخل الثنائي الناتج من تراكيز الفيتامين والهرمون فكان معنويا في زيادة متوسط المساحة الورقية، واعطت المعاملة المؤلفة من (120 و 2) ملغم لتر¹⁻ فيتامين C وبراسينولايد بالتتابع اعلى القيمة لمتوسط هذه الصفة 43.69 دسم² واختلفت معنويا عن المعاملات الاخرى باستثناء المعاملة المؤلفة من (60 و 4) ملغم لتر¹⁻ فيتامين C وبراسينولايد بالتتابع والتي اعطت 43.43 دسم²، في حين كانت اقل متوسط للمساحة الورقية في المعاملة غير المرشوشة بالفيتامين والهرمون 33.06 دسم²، وهذا يؤكد التأثير الايجابي للفيتامين والهرمون في اتساع مساحة اوراق نبات الماش.

اشارت نتائج التداخل الثلاثي في الجدول نفسه الى وجود فروق معنوية بين النباتات في الصفة اعلاه، واعطت النباتات المروية بماء الحنفيه والمرشوشة بتركيزين 120 ملغم لتر¹⁻ من الفيتامين و 2 ملغم لتر¹⁻ من الهرمون اعلى مساحة ورقية 50.20 دسم² واختلفت معنويا عن النباتات الاخرى، في حين اعطت النباتات المروية بمياه ملوحتها 15 ديسيمنز م¹⁻ وغير المرشوشة بالفيتامين والهرمون اقل مساحة ورقية 26.61 دسم²، وهذا يؤكد التأثير السلبي للاجهاد الملحي في قلة توسع الاوراق واختزال مساحتها، فيما ساهمت عملية الرش بالفيتامين والهرمون من تخفيف الاثر السلبي للاجهاد الملحي من خلال الزيادة مساحة الاوراق، واعطت النباتات المروية بنفس التركيز الملحي السابق والمرشوشة بتركيزين 60 ملغم لتر¹⁻ من فيتامين C و 4 ملغم لتر¹⁻ من براسينولايد مساحة ورقية 39.61 دسم² وبنسبة زيادة 48.85%. تفسر هذه الزيادة الى الدور المهم للفيتامين C في تنشيط نمو الأجزاء الخضرية كونه مضاداً للأكسدة واختزاله لتأثيرات السلبية للجذور الحرة (Akram et al., 2017)، كذلك دوره المهم للهرمون في زيادة المحتوى المائي ومحتوى صبغات البناء الضوئي وزيادة فعالية انزيم Rubisco ومن ثم زيادة محتوى الكربوهيدرات وفعالية انزيمات المضاد للأكسدة (Ali et al., 2008). تتفق هذه النتائج مع نتائج

AL-Amery and Mohammed و Machado *et al.*(2016) و Sehrawat *et al.*(2015) (2017) خلال دراستهم على نباتات الماش والفاصوليا واللوبياء بالتتابع.

3-1-3-4 عدد الافرع(فرع.نبات¹⁻):

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي في الجدول(48) ان سقي نباتات الماش بمياه مالحة أدى الى انخفاض معنوي في متوسط عدد الافرع ولتركيز الملحية المستعملة جميعا، وسجلت معاملة السقي بالتركيز 15ديسيسمنز.م¹⁻ اقل متوسط عدد الافرع 2.92 فرع.نبات¹⁻ وبنسبة انخفاض 49.74% مقارنة بمعاملة السقي بماء الحنفية 0.9ديسيسمنز.م¹⁻. يعود الانخفاض في عدد الافرع نتيجة تزايد تحرر الجذور الحرة الناتجة من فعل الاجهاد الملحي والمسببة في تحطم بروتينات العضيات الخلوية واكسدة الدهون في الاغشية الخلوية وتراجع الانقسام الخلوي واختزال معدلات البناء الضوئي وخفض تركيز المواد المتمثلة وحصول الاضطرابات الغذائية Nutritional disorders (Hu and Schmidhalter,2005)، كذلك التأثير السلبي لكلوريد الصوديوم في بناء الهرمونات عبر زيادة امتصاص أيون Na⁺ وتنافسها مع أيون K⁺ الضرورية لتحفيز الانزيمات المساعدة في بناء الهرمونات النباتية كافة ومنها السايبتوكينات ذات الاثر الفعال في زيادة عدد الافرع (Yang and Guo,2018).

اظهرت النتائج ايضا حصول زيادة معنوية في متوسط عدد الافرع عند رش النباتات بالتركيزين 60 و120ملغم.لتر¹⁻ من فيتامين C اذ بلغ متوسطهما (3.83 و 6.92) فرع.نبات¹⁻ بالتتابع قياسا بمعاملة السيطرة 2.81 فرع.نبات¹⁻. ان لفيتامين C قدره على زيادة تركيز منظمات النمو النباتية ومنها الكاينيتين المحفز لنمو البراعم الجانبية (Al-Kaisy and Mahadi,2017)، فيعمل الكاينيتين عكس عمل الاوكسين الذي يحفز نمو البراعم القمية مما يؤثر سلباً في السيادة القمية وإيجاباً في نمو البراعم الجانبية (السعدي واخرون،2014). حصلت زيادة معنوية اخرى في متوسط عدد الافرع عند رش النباتات بالتركيزين من هرمون البراسينولايد 2 و 4ملغم.لتر¹⁻ اذ بلغ متوسطهما (4.83 و 5.13) فرع.نبات¹⁻ بالتتابع قياسا بمعاملة السيطرة 3.61 فرع.نبات¹⁻، وتعود هذه الزيادة الى دور الهرمون في زيادة النمو الخضري وزيادة كفاءة الجذور في امتصاص المغذيات (Liu *et al.*,2014).

ان جميع التداخلات الثنائية بين تراكيز NaCl وتراكيز كل من فيتامين C وبراسينولايد وتراكيز فيتامين C وبراسينولايد مؤثرة بصورة معنوية في الصفة اعلاه، واعطت المعاملات المؤلفه من 0.9 ديسيسمنز.م¹⁻ و 120ملغم.لتر¹⁻ فيتامين C و 0.9 ديسيسمنز.م¹⁻ و 4ملغم.لتر¹⁻ براسينولايد و 120ملغم.لتر¹⁻ فيتامين C مع 2ملغم.لتر¹⁻ براسينولايد اعلى متوسط عدد الافرع

بالفيتامين C وهرمون البراسينولايد في عدد الافرع (فرع نبات¹) في جدول (48) دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في عدد الافرع (فرع نبات¹) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15.0	10.0	5.5	0.9		
2.25	1.67	2.00	2.67	2.66	0	0
2.91	2.00	3.00	3.00	3.60	2	
3.25	2.33	2.67	3.67	4.33	4	
3.25	2.00	3.67	4.00	3.33	0	60
3.83	2.00	3.33	4.67	5.33	2	
4.42	3.00	3.67	5.33	5.67	4	
5.33	3.33	5.00	5.66	7.33	0	120
7.75	4.00	7.00	9.66	10.33	2	
7.67	6.00	6.33	8.67	9.66	4	
Vit.CxBR= 0.42	2.92	4.07	5.26	5.81	متوسط تأثير NaCl	
	NaCl x Vit.CxBR= 0.85			NaCl=0.28	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
2.81	2.00	2.56	3.1	3.55	0	
3.83	2.33	3.56	4.67	4.78	60	
6.92	4.44	6.11	8.00	9.11	120	
Vit.C= 0.24	NaCl x Vit.C=0.49				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
3.61	2.33	3.56	4.11	4.44	0	
4.83	2.67	4.44	5.78	6.44	2	
5.13	3.87	4.22	5.89	6.55	4	
BR= 0.24	NaCl x BR= 0.49				L.S.D 0.05	

كان للتداخل الثلاثي بين العوامل الثلاثة المدروسة تأثير معنوي في هذه الصفة، وتوقفت النباتات المروية بماء الحنفية والمرشوشة بتركيزين 120 ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C و 2 ملغم.لتر⁻¹

براسينولايد على النباتات الاخرى واعطت 10.33 فرع نبات⁻¹، في حين كانت اقل قيمة في النباتات المروية بالتركيز 15 ديسيسمنز.م⁻¹ وغير المرشوشة بالفيتامين والهرمون 1.67 فرع. نبات⁻¹، وهذا يؤكد ايضا التأثير السلبي للاجهاد الملحي في تقليل عدد الافرع. ساهمت عملية الرش بالفيتامين C والبراسينولايد في التغلب على الاثر السلبي للاجهاد عبر الزيادة في عدد الافرع، فقد اعطت النباتات المروية التركيز الملحي السابق نفسه والمرشوشة بتركيز 120 ملغم لتر⁻¹ من فيتامين C و تركيز 4 ملغم لتر⁻¹ من البراسينولايد عدد افرع 6.00 فرع. نبات⁻¹. هذه النتائج تتطابق مع نتائج Sehwat et al.(2015) و Rahman et al.(2017) خلال دراستهم على نبات الماش.

4-1-3-4 الوزن الجاف(غم) :

بينت نتائج الجدول(49) ان متوسط الوزن الجاف بدأ يتناقص وبشكل تدريجي ومعنوي بزيادة ملححة NaCl في مياه السقي قياسا بمعاملة السيطرة، وسجلت معاملة السقي بالتركيز 15 ديسيسمنز.م⁻¹ اقل متوسط للوزن الجاف 14.85 غم، في حين كان اعلى متوسط للوزن الجاف 22.37 غم عند معاملة السيطرة. ان الانخفاض الحاصل في الوزن الجاف ناتج عن الاجهاد الملحي في رفع سالبية الجهد الأزموزي وزيادة سمية أيوني Na⁺ و Cl⁻ في انسجة النبات واختلال الاتزان الغذائي لينعكس سلبا في العمليات الايضية ونتيجة لذلك تضطرب عمليتا البناء الضوئي والتنفس و ينخفض محتوى المواد العضوية ومن ثم ضعف نمو النبات(Gharbi et al.,2018).

ادى الرش بالفيتامين C الى زيادة معنوية في متوسط الوزن الجاف، وسجلت معاملة الرش بتركيز 120 ملغم لتر⁻¹ اعلى متوسط لهذه الصفة 25.19 غم قياسا بمعاملة السيطرة. يقوم فيتامين C في زيادة انقسام ونمو الخلايا النباتية وزيادة فعالية الانزيمات ومنها انزيمات البناء الضوئي وبذلك فهو يحسن من كفاءة العملية السابقة وزيادة نواتجها الايضية ومن ثم زيادة المادة الجافة، فضلا عن عمله كمساعد انزيمي ومؤثر في نشاط البلاستيدات الخضراء(Trubitsin et al.,2014).

لوحظ من نتائج الجدول(49) ايضا ان الوزن الجاف ازداد معنويا برش البراسينولايد وبجميع تراكيزه، وسجلت معاملة الرش بتركيز 4 ملغم لتر⁻¹ اعلى متوسط لهذه الصفة 20.21 غم قياسا بمعاملة السيطرة. ادى الرش بالهرمون البراسينولايد الى زيادة الوزن الجاف من خلال الزيادة في كفاءة عملية البناء الضوئي وتنشيط انزيم Rubisco التي تؤدي إلى زيادة تثبيت CO₂ الموجود في الورقة والذي يمثل الوحدة الاساسية لبناء الكاربوهيدرات(Yang et al.,2018).

وعند النظر الى التداخلات الثنائية بين تراكيز NaCl وتراكيز كل من فيتامين C و البراسينولايد وتراكيز فيتامين C والبراسينولايد فهي مؤثرة بصورة معنوية في متوسط الصفة اعلاه، واعطت المعاملات المولفة من 0.9 ديسيسمنز.م⁻¹ مع 120 ملغم لتر⁻¹ فيتامين C و 0.9

ديسيمنز.م⁻¹ مع 4ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد و120ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C مع 2ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد اعلى متوسط للوزن الجاف (28.62، 23.97 و 25.80)غم بالتتابع، فيما كان اقل القيم (9.19، 13.49، 11.17)غم عند المعاملتين المروية بمياه ملوحتها 15ديسيمنز.م⁻¹ وغير المرشوشة بالفيتامين والهرمون والمعاملة المرشوشة بالماء المقطر (الخالية من الفيتامين والهرمون) بالتتابع. جدول(49)دوررش تراكيز فيتامينC وهرمون البراسينولايد في الوزن الجاف(غم)في نبات الماش.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15.0	10.0	5.5	0.9		
11.17	8.47	10.10	11.20	14.91	0	0
12.34	9.01	11.74	12.54	16.08	2	
13.84	10.08	12.32	14.56	18.42	4	
15.21	12.25	14.04	16.25	18.32	0	60
18.54	14.80	17.29	19.32	22.73	2	
21.15	15.95	19.65	23.00	25.01	4	
24.13	19.73	22.99	25.94	27.85	0	120
25.80	20.83	24.83	28.01	29.54	2	
25.64	22.50	25.01	26.58	28.48	4	
	14.85	17.55	19.82	22.37	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR= 0.14	NaCl x Vit.CxBR=0.29			NaCl=0.10	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
12.45	9.19	11.37	12.77	16.47	0	
18.30	14.34	16.99	19.86	22.02	60	
25.19	21.02	24.28	26.85	28.62	120	
Vit.C= 0.08	NaCl x Vit.C=0.17				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
16.84	13.49	15.71	17.80	20.36	0	
18.89	14.88	17.95	19.96	22.78	2	
20.21	16.18	18.99	21.71	23.97	4	
BR= 0.08	NaCl x BR= 0.17				L.S.D 0.05	

كان للتداخل الثلاثي بين العوامل الثلاثة المدروسة تأثير معنوي في هذه الصفة، وتفوقت النباتات المروية بمياه الحنفية والمرشوشة بتركيزين (120 و 2) ملغم لتر⁻¹ من فيتامين C و براسينولايد بالتتابع معنويا عن النباتات الاخرى واعطت وزنا جافا 29.54غم، في حين كان اقل وزن جاف في النباتات المروية بالتركيز 15ديسيسمنز م⁻¹ وغير المرشوشة بالفيتامين والهرمون 8.47غم، وهذا يؤكد ايضا التأثير السلبي للاجهاد الملحي في انخفاض الوزن الجاف، فيما ساهمت عملية الرش بالفيتامين C والبراسينولايد باختزال الآثار السلبية للاجهاد الملحي عبر الزيادة في وزن الجاف، واعطت النباتات المروية بالتركيز الملحي السابق والمرشوشة بتركيزين (120 و 4) ملغم لتر⁻¹ فيتامين C وبراسينولايد بالتتابع وزنا جافا 22.50غم. يقوم فيتامين C بازالة انواع الاوكسجين الفعالة ومن خلال عمله كواهب للالكترونات في النظام الصبغي الأول ومن ثم الحفاظ على الغشاء البلازمي من تأثير الأوكسدة الضوئية (Ivanov,2014)، فيما يعمل البراسينولايد على حث الانظمة الدفاعية وخفض تركيز الجذور الحرة وزيادة معدل البناء الضوئي في انتاج المواد المتمثلة (Lv et al.,2018). تتماشى هذه النتائج مع نتائج Machado و Ghosh et al.(2015) و et al.(2016) و Nagda et al.(2017) خلال دراستهم على نباتات الماش واللوبياء والفاصوليا بالتتابع.

4-3-2 دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في بعض المؤشرات الفسلجية في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

4-3-2-1 محتوى الكلوروفيل الكلي (وحدة SPAD):

لوحظ من نتائج الجدول (50) وجود فروق معنوية واضحة بين تراكيز NaCl المستعملة في متوسط محتوى الكلوروفيل الكلي، واعطى التركيز 15ديسيسمنز م⁻¹ اقل متوسط لهذه الصفة 36.65 وحدة SPAD وبنسبة انخفاض 25.49% قياسا بالتركيز 0.9ديسيسمنز م⁻¹ 49.19 وحدة SPAD، وقد يبرر هذا الانخفاض الى مجموعة من التأثيرات السلبية لملاح NaCl منها : منافسة Na⁺ و Cl⁻ مع العناصر الداخلة في بناء جزيئة الكلوروفيل على مواقع الامتصاص، وتشوه أغشية الكرانا التي تتمركز عليها الصبغة او حدوث تثبيط في الفعاليات الانزيمية المسؤولة عن بناء هذه الصبغة، بالمقابل زيادة فعالية انزيمي Chlorophyllase و Peroxidase المسؤولين عن تحليل الصبغة و زيادة تركيز الجذور الحرة المؤدية الى تثبيط بناء صبغات البناء الضوئي (Taïbi et al.,2016) ; (Hamidi-Moghaddam et al.,2019). إن الاجهاد الملحي يسبب زيادة في تركيز البرولين ومن ثم سحب النتروجين الضروري في بناء الكلوروفيل لصالح إنتاج البرولين (Cha-um and Kirdmanee,2009)، فيما لوحظ ان سبب انخفاض الكلوروفيل ناتج عن تأثير الاجهاد الملحي

في اختزال المساحة السطحية للاوراق (جدول 47) والاسراع في شيخوختها، فضلا عن انخفاض المحتوى المائي في خلايا الورقة ومن ثم نقص الجهد المائي وغلغلق الثغور والتوقف التدريجي في تفاعلات الضوء لينعكس سلبا في تركيز الصبغة ووزن المادة الجافة (Zhani *et al.*, 2012).

وجد ان تراكيز فيتامين C قد سببت زيادة معنوية في متوسط محتوى الكلوروفيل قياسا بمعاملة السيطرة، واعطت معاملة الرش بتركيز 120 ملغم لتر⁻¹ اعلى قيمة لهذه الصبغة 47.87 وحدة SPAD. تعزى هذه الزيادة في محتوى الكلوروفيل الى عدة اسباب منها: مساهمة الفيتامين في زيادة نشاط الانزيمات المسؤولة عن بناء هذه الصبغة (Ejaz *et al.*, 2012)، ودوره في زيادة نمو المجموع الجذري وزيادة المساحة السطحية لامتصاص العناصر الداخلة في بناء هذه الصبغة (Lisko *et al.*, 2014). كذلك الحال مع تراكيز الهرمون اذ سببت جميعها زيادة معنوية ايضا لمحتوى هذه الصبغة، واعطى تركيز 4 ملغم لتر⁻¹ اعلى قيمة لمتوسط محتوى هذه الصبغة 44.94 وحدة SPAD، وترجع هذه الزيادة الى تاثير الهرمون في تثبيط إنزيم chlorophyllase المسؤول عن تحلل هذه الصبغة (Fariduddin *et al.*, 2003)، او لتحفيزه لأنزيم NADHprotochloro-phyllid reductase المسؤول عن بناء هذه الصبغة (Sharma, 2011).

اوضحت نتائج التداخلات الثنائية بين تراكيز NaCl وتراكيز كل من فيتامين C وبراسينولايد وتراكيز فيتامين C وبراسينولايد مؤثرة بصورة معنوية، واعطت المعاملات المولفة من ماء حنفية مع 120 ملغم لتر⁻¹ فيتامين C وماء الحنفية مع 2 ملغم لتر⁻¹ براسينولايد و 120 ملغم لتر⁻¹ فيتامين C مع 2 ملغم لتر⁻¹ براسينولايد اعلى متوسط لمحتوى الكلوروفيل (50.15، 50.91، 53.27) وحدة SPAD بالتتابع، فيما كانت اقل القيم (36.90، 34.17، 31.91) وحدة SPAD عند المعاملتين المروية بمياه ملوحتها 15 ديسيسمنز م⁻¹ وغير المرشوشة بالفيتامين والهرمون والمعاملة المرشوشة بالماء المقطر (الخالية من الفيتامين والهرمون) بالتتابع .

كان للتداخل الثلاثي بين العوامل الثلاثة المدروسة تاثير معنوي في محتوى هذه الصبغة، وتفوقت النباتات المروية بماء الحنفية والمرشوشة بتركيزين 120 ملغم لتر⁻¹ من فيتامين C و 2 ملغم لتر⁻¹ من براسينولايد 57.01 وحدة SPAD معنويا عن بقية النباتات الاخرى، في حين كان اقل محتوى لهذه الصبغة في النباتات المروية بمياه ملوحتها 15 ديسيسمنز م⁻¹ وغير المرشوشة بالفيتامين والهرمون 29.77 وحدة SPAD، وهذا يؤكد ايضا التاثير السلبي للاجهاد الملحي في اختزال محتوى هذه الصبغة. ساهمت عملية الرش بالفيتامين والهرمون في اختزال الاثر السلبي للاجهاد من خلال الزيادة الواضحة في محتوى هذه الصبغة فقد اعطت معاملة التداخل 120 ملغم لتر⁻¹ فيتامين C و 4 ملغم لتر⁻¹ براسينولايد وبالتركيز 15 ديسيسمنز م⁻¹ 42.70 وحدة

SPAD. تعزى هذه الزيادة الى دور فيتامين C في كسح الجذور الحرة كونه احد مضادات الاكسدة غير الانزيمية ومن ثم انخفاض تركيز الانزيمات المحللة لهذه الصبغة (Smirnoff,2000)، والى دور الهرمون في تحفيز مضادات الاكسدة الانزيمية العاملة على قنص ROS ومن ثم المحافظة على سلامة البلاستيدات وزيادة عمر الاوراق (Bhardwaj *et al.*,2014). تتسجم هذه النتائج مع ما توصل إليه (Lalotra *et al.*(2017) و Tayde *et al.*(2018) خلال دراستهم على نبات الماش. جدول(50) دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في محتوى الكلوروفيل الكلي (وحدة SPAD) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15.0	10.0	5.5	0.9		
36.90	29.77	35.44	38.14	44.23	0	0
39.02	32.24	37.31	40.26	46.27	2	
40.62	33.72	38.62	42.22	47.91	4	
41.45	34.60	40.93	43.91	46.55	0	60
44.04	37.34	43.22	46.75	48.87	2	
45.73	41.19	45.05	47.58	49.11	4	
44.99	38.15	44.17	47.46	50.17	0	120
50.15	40.17	48.25	55.18	57.01	2	
48.46	42.70	46.94	51.58	52.63	4	
	36.65	42.19	45.90	49.19	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR= 0.09	NaCl xVit.CxBR=0.18		NaCl=0.06		L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
38.84	31.91	37.12	40.20	46.14	0	
43.74	37.71	43.00	46.08	48.17	60	
47.87	40.34	46.45	51.41	53.27	120	
Vit.C= 0.05	NaCl x Vit.C= 0.11				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
41.11	34.17	40.11	43.17	46.98	0	
44.40	36.58	42.93	47.39	50.91	2	
44.94	39.20	43.53	47.13	49.88	4	
BR= 0.05	NaCl x BR= 0.11				L.S.D 0.05	

4-3-2-2 نسبة الكربوهيدرات (%) في المجموع الخضري:

أوضحت نتائج الجدول (51) أن الكربوهيدرات بدت نسبتها تتناقص معنوياً بزيادة تراكيز NaCl، وقد أعطى التركيز 15 ديسيمنز م⁻¹ أقل قيمة لمتوسط الكربوهيدرات وبنسبة انخفاض 38.82% قياساً بمعاملة السيطرة. أن الانخفاض الواضح في نسبة الكربوهيدرات يعود إلى أن التركيز العالي من ملح NaCl يسبب انخفاض الجهد المائي وتراكم أيوني Na⁺ و Cl⁻ بتراكيز عالية في البلاستيدات وانخفاض معدل الفسفرة الضوئية والانتقال الإلكتروني (Oukarroum *et al.*, 2015)، يصاحبه تثبيط فعالية انزيم Rubisco الضروري في البناء الضوئي وانزيم ATPase المسؤول عن تحفيز بناء ATP لتحميل هذه النواتج (Tayde *et al.*, 2018)، وأن تراكم أيوني اعلاه في خلايا الأوراق يسبب إغلاق الثغور يرافقه اختزال انظمة حصاد الضوء وحفظ الطاقة و تغيير شكل البلاستيدات وقلة امتصاص CO₂ وتمثيله لينعكس سلبياً في كفاءة البناء الضوئي واختزال نواتجه الايضية (Wungrampha *et al.*, 2018)، أو لربما تحفيز بعض العوامل التي تقلل من معدلات البناء الضوئي كشيخوخة الأوراق وقلة مساحتها السطحية وانخفاض محتوى الكلوروفيل والتغير في نشاط الانزيمات وتركيب الفيزيائي-الكيميائي للساييتوبلازم (Safdar *et al.*, 2019).

أما تأثير رش فيتامين C على النباتات فقد كان معنوياً وإيجابياً، وأعطى التركيز 120 ملغم لتر⁻¹ أفضل متوسط لنسبة الكربوهيدرات وبنسبة زيادة 56.59% قياساً بمعاملة السيطرة. أن الزيادة الحاصلة في نسبة الكربوهيدرات نتيجة لرش فيتامين C، إذ عمل على زيادة المساحة الورقية ومحتوى الكلوروفيل مما زاد من كفاءة عملية البناء الضوئي ومن ثم زيادة نسبتها، فضلاً عن ذلك فإن فيتامين C يعد دارئاً لحالات الاكسدة والاختزال فهو بذلك ينظم كثير من العمليات المعقدة مثل شيخوخة الأوراق والاكسدة الضوئية وزيادة عدد البلاستيدات (Pastori *et al.*, 2003).

أشارت النتائج في الجدول (51) أيضاً إلى وجود تأثير معنوي وإيجابي في متوسط نسبة الكربوهيدرات بزيادة تراكيز هرمون البراسينولايد، فعند رفع التركيز من 0 إلى 4 ملغم لتر⁻¹ كانت نسبة الزيادة 32.57%. أن ازدياد نسبة الكربوهيدرات نتيجة للدور الذي يؤديه الهرمون في زيادة تجمعها في النبات (Swamy and Rao, 2009)، وتلافي التأثيرات الضارة للملوحة عن طريق زيادة المحتوى الكلوروفيلي وتقليل النضوح العنصري من الاغشية (Zakaria *et al.*, 2018).

كانت جميع التداخلات الثنائية بين تراكيز NaCl وتراكيز كل كم فيتامين C وهرمون البراسينولايد وتراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد بصورة معنوية في متوسط نسبة الكربوهيدرات، واعطت المعاملات المولفة من 0.9 ديسيمنز م⁻¹ مع 120 ملغم لتر⁻¹ فيتامين C و 0.9 ديسيمنز م⁻¹ مع 2 ملغم لتر⁻¹ براسينولايد و 120 ملغم لتر⁻¹ فيتامين C مع 2 ملغم لتر⁻¹

براسينولايد اعلى متوسط لنسبة الكاربوهيدرات (3.97 ، 3.52 ، 3.54) % بالتتابع، فيما كانت اقل القيم لمتوسط نسبة الكاربوهيدرات (1.59، 1.61، 1.62) % عند المعاملتين المروية بمياه ملوحتها 15ديسيسمنز.م⁻¹ وغير المرشوشة بالفيتامين والهرمون والمعاملة المرشوشة بالماء المقطر (الخالية من الفيتامين والهرمون) بالتتابع.

جدول(51)دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في نسبة الكاربوهيدرات (%) في المجموع الخضري في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيسمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15.0	10.0	5.5	0.9		
1.62	1.26	1.43	1.61	2.18	0	0
2.12	1.60	1.78	2.31	2.79	2	
2.42	1.91	2.22	2.65	2.92	4	
2.26	1.75	2.13	2.43	2.73	0	60
2.43	1.74	2.20	2.69	3.08	2	
2.84	2.12	2.80	3.02	3.40	4	
2.68	1.82	2.79	2.96	3.13	0	120
3.54	2.66	2.86	3.97	4.68	2	
3.40	2.83	2.91	3.77	4.09	4	
	1.97	2.35	2.82	3.22	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR=0.08	NaCl xVit.CxBR=0.16			NaCl=0.05	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
2.05	1.59	1.81	2.19	2.63	0	
2.51	1.87	2.38	2.71	3.07	60	
3.21	2.44	2.85	3.56	3.97	120	
Vit.C=0.04	NaCl x Vit.C=0.09				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
2.18	1.61	2.12	2.33	2.68	0	
2.70	2.00	2.28	2.99	3.52	2	
2.89	2.29	2.64	3.15	3.47	4	
BR=0.04	NaCl x BR=0.09				L.S.D 0.05	

كان للتداخل الثلاثي بين العوامل الثلاثة المدروسة تأثير معنوي في هذه الصفة، وتفوقت النباتات المروية بماء الحنفية والمرشوشة بتركيزين الفيتامين والهرمون (120، 2) ملغم.لتر⁻¹ بالتتابع معنويا عن بقية النباتات الاخرى، واعطت نسبة الكاربوهيدرات 4.68%، في حين كان ادنى نسبة للكاربوهيدرات في النباتات المروية بمياه ملوحتها 15ديسيسمنز.م⁻¹ وغير المرشوشة بالفيتامين والهرمون واعطت 1.26%، وهذا يؤكد ايضا على التأثير السلبي للاجهاد الملحي في انخفاض نسبة الكاربوهيدرات في النباتات، فيما ساهمت عملية الرش بالفيتامين C والبراسينولايد في تغلب الاثر السلبي للاجهاد الملحي عبر الزيادة في نسبة الكاربوهيدرات، فقد اعطت النباتات المرشوشة بالفيتامين والهرمون تركيزهما (4 و120) ملغم.لتر⁻¹ بالتتابع والمروية بالتركيز الملحي السابق 2.83%. ان الزيادة في نسبة الكاربوهيدرات نتيجة لمساهمة فيتامين C في التآزر مع مضادات الاكسدة الاخرى عن طريق فقد الكترولون واحد وكسح الجذور الحرة المتولدة من اثر الاجهادات وزيادة نشاط مضادات الاكسدة الانزيمية (Foyer and Noctor, 2005)، والدور الذي يؤديه الهرمون في تحفيز نشاطات مضادات الاكسدة في مواجهة الاجهاد التأكسدي والحفاظ على شكل البلاستيدات ورفع كفاءة البناء الضوئي في انتاج الكاربوهيدرات (Samira et al., 2012). تتماشى هذه النتائج مع نتائج Raiz et al. (2014) و Tayde et al. (2018) خلال دراستهم على نبات الماش.

4-3-2-3 تركيز حامض البرولين (مايكروغرام.غم⁻¹):

اشارت النتائج المعطاة في جدول (52) الى زيادة معنوية في تركيز البرولين بتصاعد تراكيز NaCl، فعند رفع التركيز من 0.9 الى 15ديسيسمنز.م⁻¹ ازداد متوسط الصفة اعلاه بنسبة 83.01%. يعد حامض البرولين من اكثر الاحماض الامينية مؤشرا ومقياسا لحدة الاجهادات، وان زيادة تراكمه في النبات المدروس جاء كرد فعل لضبط الجهد الازموزي وحماية الاغشية من التركيز العالي Na⁺ الناتجة من الاجهاد الملحي، فضلا عن ضبط pH السائتوبلازم والحفاظ على المحتوى المائي في الخلايا من خلال إستحثاث جين P₅CS المسؤول عن انزيمات بناء البرولين (Alharby et al., 2018; Syeed and Fatma, 2011)، وهذا مماثل لما يحدث في النباتات الاخرى العائدة للعائلة المتعرضة للاجهاد الملحي كالبازلاء (Ghezal et al., 2016) والحلبة (Kapoor and Pande, 2018) والحمص (Ebtihal et al., 2018).

كما اشارت نتائج الجدول (52) أيضا وجود تأثير معنوي لرش فيتامين C في متوسط تركيز البرولين وبجميع تراكيزه، اذ سجل أقصى متوسط لهذه الصفة عند التركيز 120 ملغم.لتر⁻¹ من فيتامين C 35.61 مايكروغرام.غم⁻¹ وأدناه في معاملة السيطرة 23.89 مايكروغرام.غم⁻¹ وبنسبة

زيادة 49.06%، وقد تبرر هذه الزيادة الى قدرة فيتامين C في تنشيط عملية البناء الضوئي مما زاد من وتيرة انتاج نواتج الكربوهيدرات، وان انتاجها يؤدي الى زيادة تركيز البرولين من خلال تثبيط اكسدته (Sadak and Hisham, 2015).

بينت النتائج في الجدول ايضا ان رش هرمون البراسينولايد على المجموع الخضري لنبات الماش وبجميع تراكيزه حقق زيادة معنوية في متوسط تركيز حامض البرولين، اذ سجل أقصى متوسط لهذا الحامض 32.31 مايكروغرام.غم⁻¹ عند التركيز 4 ملغم.لتر⁻¹ من الهرمون وأدناه في معاملة السيطرة 25.69 مايكروغرام.غم⁻¹ وبنسبة زيادة 25.77%، ان الزيادة في تركيز حامض البرولين ناتجة عن دور الهرمون في حثه لجين P₅CS المؤثر في تنشيط الانزيمات المسؤولة عن بناء هذا الحامض (Buchanan et al., 2015).

أما التداخل الثنائي بين تراكيز NaCl والفيتامين فقد كان معنويا، وأعطت المعاملة المؤلفة من 15 ديسيسمنز.م⁻¹ و 120 ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C أفضل متوسط لتركيز البرولين 43.08 مايكروغرام.غم⁻¹ واختلفت معنويا عن المعاملات الاخرى، كذلك وجد تاثير معنوي آخر لتداخل تراكيز NaCl والهرمون، وأعطت المعاملة المؤلفة من 15 ديسيسمنز.م⁻¹ و 4 ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد أفضل متوسط لتركيز البرولين مقداره 41.77 مايكروغرام.غم⁻¹ واختلفت معنويا عن المعاملات الاخرى، كذلك كان لتداخل الفيتامين مع الهرمون معنويا، وأعطت المعاملة المؤلفة من 120 ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C و 4 ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد أفضل متوسط لتركيز البرولين 38.96 مايكروغرام.غم⁻¹ واختلفت معنويا عن المعاملات الاخرى، فيما كان اقل تركيز لمتوسط هذا الحامض (13.18، 17.25، 20.06) مايكروغرام.غم⁻¹ عند المعاملتين المروية بمياه الحنفية فقط والمعاملة غير المرشوشة بالفيتامين و الهرمون بالتتابع.

أما التداخل الثلاثي فقد كان معنويا هو الآخر، وتفوقت النباتات المروية بالتركيبة الملحية العالية والمرشوشة بالتركيبة العالية ايضا من الفيتامين والهرمون عن النباتات الاخرى، وكان اعلى تركيز للبرولين 45.96 مايكروغرام.غم⁻¹ عند المعاملة 15 ديسيسمنز.م⁻¹ و (4، 120) ملغم.لتر⁻¹ من الفيتامين والهرمون بالتتابع، في حين كان اقل تركيز للبرولين في معاملة السيطرة 9.80 مايكروغرام.غم⁻¹، وعند مقارنة اضافة عاملي الدراسة (الفيتامين والهرمون) ضمن التركيز الملحي العالي يتضح التفوق المعنوي للمعاملة 15 ديسيسمنز.م⁻¹ و 120 ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C و 4 ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد عن المعاملة 15 ديسيسمنز.م⁻¹ وغير المرشوشة بالفيتامين والهرمون بنسبة 47.78%. وهذا يؤكد الدور التآزري بين عوامل الدراسة في زيادة تركيز البرولين في النبات. هذه النتائج

جاءت متوافقة مع نتائج Lalotra *et al.*(2017) و Singh and Dwivedi (2018) و Micky *et al.*(2018) خلال دراستهم على نباتات الماش والبازلاء والحلبة بالتتابع. جدول(52) دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في تركيز البرولين(مايكروغرام غم⁻¹) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيسمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15.0	10.0	5.5	0.9		
20.06	31.10	23.45	15.91	9.80	0	0
24.37	35.13	28.69	20.24	13.42	2	
27.25	37.99	30.09	24.60	16.31	4	
25.10	33.24	28.15	21.14	17.87	0	60
28.78	36.17	31.79	26.71	20.45	2	
30.91	41.35	32.54	25.09	23.83	4	
31.92	40.15	35.06	28.39	24.08	0	120
35.96	43.13	38.29	33.22	29.18	2	
38.96	45.96	39.40	37.32	33.14	4	
	38.25	31.94	25.85	20.90	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR=0.21	NaCl x Vit.Cx BR=0.42			NaCl=0.14	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
23.89	34.74	27.41	20.25	13.18	0	
28.20	36.92	30.83	24.31	20.92	60	
35.61	43.08	37.58	32.98	28.80	120	
Vit.C= 0.12	NaCl x Vit.C=0.24				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
25.69	34.83	28.87	21.81	17.25	0	
29.70	38.14	32.92	26.72	21.02	2	
32.31	41.77	34.01	29.01	24.43	4	
BR=0.12	NaCl x BR=0.24				L.S.D 0.05	

4-2-3-4 تركيز حامض الساليسليك(مايكروغرام.مل⁻¹):

اظهرت نتائج التحليل الإحصائي للتجربة الحقلية وجود فروق معنوية في تركيز حامض الساليسليك بزيادة تراكيز NaCl(جدول53)، فعند رفع التركيز من 0.9 الى 15ديسيسمنز.م⁻¹ ازداد

متوسط حامض الساليسليك معنويا من 2.16 الى 8.27 مايكروغرام.مل⁻¹. تعد زيادة تركيز حامض الساليسليك في النباتات المعرضة للاجهاد الملحي بمثابة استحثاث للنظام الدفاعي والاستشعار عن السمية العنصرية لعنصري الصوديوم والكلور يلجأ اليها النبات من اجل زيادة انتاج المركبات الثانوية لمعادلة الجهد الازموزي وتحسين منظومة التمثيل الضوئي (Bubulya,2012)، كذلك يمثل حامض الساليسليك دوراً مهماً في مواجهة الجهد التأكسدي ومقتنصا للجذور الحرة إسوة بأنواع أخرى من مضادات الأكسدة غير الانزيمية، أو يعد عاملا في إستحثاث مضادات الأكسدة الانزيمية وغير الانزيمية(الحزواوي،2016).

كذلك لوحظ من نتائج جدول(53) وجود زيادة معنوية في تركيز حامض الساليسليك بزيادة تراكيز فيتامينC، فعند رفع التركيز من 0 الى 120ملغم.لتر⁻¹ ازداد تركيز متوسط تركيز هذا الحامض وبنسبة 45.23%. تعود هذه الزيادة في هذا الحامض ربما نتيجة عن دور فيتامينC في ارسال الايعازات الجينية للهرمونات النباتية ومنها حامض الساليسليك من خلال تحفيز انزيم Salicylic acid 3-hydroxylase المهم في بناء هذا الحامض تحت ظروف الاجهاد(Khan et al.,2011). لوحظ ايضا في نتائج الجدول(53) وجود زيادة معنوية في متوسط تركيز حامض الساليسليك بزيادة تراكيز براسينولايد اذ أعطى التركيز 4ملغم.لتر⁻¹ نسبة زيادة 24.95% قياسا بالتركيز صفر. ادى الرش بهرمون البراسينولايد الى زيادة تركيز حامض الساليسليك نتيجة للحث الجيني (BZR1، BZR2) في انتاج الحامض(Rout and Das,2013).

يلاحظ في الجدول(53) ايضا ان هناك فروق معنوية في التداخلات الثنائية بين تراكيز NaCl وتراكيز كل من فيتامينC والبراسينولايد وتراكيز فيتامين C والبراسينولايد في متوسط تركيز هذا الحامض، واعطت المعاملات 15ديسيسمنز.م⁻¹ مع 120ملغم.لتر⁻¹ من فيتامينC و 15ديسيسمنز.م⁻¹ مع 4ملغم.لتر⁻¹ من براسينولايد و 120ملغم.لتر⁻¹ من فيتامين C مع 4ملغم.لتر⁻¹ من براسينولايد اعلى تركيز لمتوسط هذا الحامض (9.03، 8.89، 7.11) مايكروغرام.مل⁻¹ بالتتابع، فيما كان اقل تركيز لمتوسط هذا الحامض (1.54، 1.71، 4.10) مايكروغرام.مل⁻¹ عند المعاملات المروية بمياه الحنفية وغير المرشوشة بالفيتامين والهرمون وكذلك معاملة السيطرة لكل من الفيتامين والهرمون بالتتابع.

أما التداخل الثلاثي لعوامل الدراسة فقد وجدت فروق معنوية بين النباتات في تركيز حامض الساليسليك، وتفوقت النباتات المروية بالماء ملوحته 10ديسيسمنز.م⁻¹ والمرشوشة بتركيزين (120 و4)ملغم.لتر⁻¹ من الفيتامين والهرمون بالتتابع باعطائها اعلى تركيز لحامض الساليسليك 10.40 مايكروغرام.مل⁻¹، تتبعتها النباتات المروية بماء ملوحته 15ديسيسمنز.م⁻¹ والمرشوشة

بتراكيز النباتات السابقة نفسها واعطت 9.40 مايكروغرام.مل⁻¹، في حين كان اقل تركيز لحمض السالسليك في النباتات السيطرة 1.28 مايكروغرام.مل⁻¹، ومن هنا يتضح ان زيادة تراكيز رش الفيتامين والهرمون على النباتات سببت زيادة تركيز حامض السالسليك ومن ثم زيادة تحملها للاجهاد الملحي. تتفق هذه النتائج مع أشار اليه (El-Mashad and Mohamed(2011) و Neelam and Kumar(2018) خلال دراستهم على نباتي اللوبياء والحمص بالتتابع.

جدول(53) دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في تركيز حامض السالسليك (مايكروغرام.مل⁻¹) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15.0	10.0	5.5	0.9		
4.10	7.15	4.88	3.10	1.28	0	0
4.37	7.56	4.83	3.67	1.41	2	
4.73	8.05	5.13	3.83	1.93	4	
4.38	7.44	5.09	3.42	1.59	0	60
4.88	7.88	5.98	3.89	1.78	2	
5.89	9.23	7.22	4.53	2.57	4	
5.72	8.50	7.94	4.18	2.26	0	120
6.35	9.18	8.36	4.82	3.04	2	
7.11	9.40	10.40	5.08	3.56	4	
	8.27	6.65	4.06	2.16	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR= 0.09	NaCl x Vit.CxBR=0.18		NaCl=0.06		L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
4.40	7.57	4.95	3.53	1.54	0	
5.05	8.18	6.10	3.95	1.98	60	
6.39	9.03	8.90	4.69	2.95	120	
Vit.C= 0.05	NaCl x Vit.C=0.11				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
4.73	7.70	5.97	3.56	1.71	0	
5.20	8.21	6.39	4.13	2.07	2	
5.91	8.89	7.58	4.48	2.69	4	
BR= 0.05	NaCl x BR=0.11				L.S.D 0.05	

4-3-2-5 تركيز فيتامين C (ملغم.100غم⁻¹):

اشارت النتائج المعطاة في جدول(54) الى زيادة معنوية في تركيز فيتامين C بزيادة تراكيز NaCl في مياه السقي، فعند رفع التركيز من 0.9 الى 15ديسيمنز م⁻¹ ازداد متوسط الصفة اعلاه بنسبة 29.04%. تعزى هذه الزيادة الى دور الاجهاد الملحي في توليد انواع الاوكسجين الحرة، ومن ثم يقوم النبات بزيادة تركيز مضادات الاكسدة ومنها فيتامين C كرد فعل طبيعي لازالة ROS من خلال تنشيط انزيم Ascorbate peroxidase (APX) وانزيم Guanosine diphos- phatemannose pyrophosphate synthetase (GMPase) الذي يقوم بتحويل كلكور ثنائي الفوسفات الى حامض الاسكوربيك (Wang et al.,2018).

كما لوحظ من نتائج الجدول(54) أيضا فروق معنوية بين تراكيز فيتامين C في متوسط تركيز فيتامين C، إذ أظهرت المعاملة المرشوشة بتركيز 120ملغم.لتر⁻¹ من الفيتامين اختلافا معنويا عن المعاملة التي رشت بالماء المقطر وبنسبة زيادة 65.18%، وهذا يوضح الدور الفعال لفيتامين C كقوة مثبطة للأكسدة الخلوية كونه احد الخطوط الدفاعية للعضيات الخلوية كالماتوكونديريا و الكلوروبلاست والبيروكسيسوم من تأثيرات الأكسدة الضوئية، إذ يقوم فيتامين C بالتخلص من تأثيرات H₂O₂ من خلال تحويله إلى H₂O و O وبمساعدة انزيم APX اذ يعد مصدراً واهباً للالكترولونات (Van Doorn and Ketsa,2014).

ان رش هرمون البراسينولايد على نبات الماش له الاثر الايجابي في ارتفاع تركيز فيتامين C، وهذا ما اشارت إليه نتائج الجدول(54) الى وجود فروق معنوية بين تراكيز الهرمون في متوسط تركيز فيتامين C، وأحرز التركيز 4ملغم.لتر⁻¹ اعلى متوسط لتركيز هذا الفيتامين وبنسبة زيادة معنوية 9.31% قياسا بمعاملة السيطرة. ان الية عمل هذا الهرمون في ازاله سمية NaCl تأتي من خلال زيادة نشاط انزيم Rubisco، ومن ثم زيادة محتوى الكربوهيدرات التي تعد المادة الاولية في بناء فيتامين C وزيادة فعالية الانزيمات المضاده للاكسدة ومن ثم كسح الجذور الحرة (Ali et al.,2008)، ومن جهة اخرى تؤدي الاضافة الورقية للهرمون الى زيادة نشاط مضادات الاكسدة ومنها فيتامين C من اجل خفض ROS وحماية العضيات الخلوية (Samira et al.,2012).

كانت جميع التداخلات الثنائية بين تراكيز NaCl وتراكيز كل من فيتامين C وبراسينولايد وتراكيز فيتامين C وبراسينولايد مؤثرة بصورة معنوية في متوسط تركيز فيتامين C، واعطت المعاملات المؤلفة من 15ديسيمنز م⁻¹ مع 120ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C و 15ديسيمنز م⁻¹ مع 4ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد و 120ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C مع 4ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد اعلى تركيز للفيتامين C (124.17، 113.74، 131.92) ملغم.100غم⁻¹ بالتتابع، فيما كان اقل تركيز لمتوسط

هذا الفيتامين (58.46، 78.11، 67.15) ملغم. 100 غرام¹ عند المعاملات المروية بمياه الحنفية وغير المرشوشة بالفيتامين والهرمون بالتتابع.

جدول (54) دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في تركيز فيتامين C (ملغم. 100 غم¹) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيسمنز.م ¹)				BR (ملغم.لتر ¹)	Vit.C (ملغم.لتر ¹)
	15.0	10.0	5.5	0.9		
67.15	80.18	74.96	65.61	47.86	0	0
73.46	86.25	79.89	68.37	59.33	2	
77.72	88.85	81.44	72.40	68.18	4	
100.92	115.08	108.25	97.15	82.40	0	60
107.20	122.24	114.20	99.07	93.27	2	
109.64	118.23	116.49	102.22	101.60	4	
117.14	130.16	123.09	111.22	104.07	0	120
119.28	131.47	127.15	112.14	106.37	2	
124.17	134.14	127.44	118.21	116.91	4	
	111.84	105.88	94.04	86.67	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR=0.25	NaCl x Vit.CxBR=0.51			NaCl=0.17	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
72.77	85.09	78.76	68.79	58.46	0	
105.85	118.52	112.98	99.48	92.42	60	
120.20	131.92	125.90	113.85	109.12	120	
Vit.C= 0.15	NaCl x Vit.C=0.29				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
95.00	108.47	102.10	91.32	78.11	0	
99.98	113.32	107.08	93.19	86.32	2	
103.84	113.74	108.46	97.61	95.57	4	
BR=0.15	NaCl x BR=0.29				L.S.D 0.05	

أما التداخل الثلاثي فقد كان معنوياً هو الآخر، وكان أعلى تركيز للفيتامين C 134.14 ملغم. 100 غم¹ عند النباتات المروية بمياه ملوحتها 15 ديسيسمنز.م¹ والمرشوشة بتركيزين 120 ملغم.لتر¹ من الفيتامين و 4 ملغم.لتر¹ من الهرمون واختلفت معنوياً عن النباتات الأخرى، في

حين كان اقل تركيز للفيتامين C هو 47.86 ملغم. 100 غم⁻¹ في النباتات السيطرة، وهذا يؤكد الدور التآزري بين عوامل الدراسة في زيادة تركيز فيتامين C في النبات. اما عند مقارنة اضافة عاملي الدراسة الفيتامين والهرمون ضمن التركيز الملحي العالي يتضح تفوق معنوي للنباتات المروية بمياه ملوحتها 15 ديسيسمنز.م⁻¹ والمرشوشة بتركيزين 120 ملغم. لتر⁻¹ من الفيتامين و 4 ملغم. لتر⁻¹ من الهرمون عن النباتات المروية بمياه نفسها (15 ديسيسمنز.م⁻¹) وغير المرشوشة بعاملتي الدراسة وبنسبة زيادة 67.30%. تتوافق هذه النتائج مع نتائج (Ramzan et al., 2018) و Mittal et al. (2018) خلال دراستهم على نباتي الماش والسلجم بالتتابع.

4-3-2-6 تركيز الفاتكوفيرول (مايكروغرام. غم⁻¹):

اظهرت نتائج الجدول (55) حصول زيادة معنوية في متوسط تركيز الفاتكوفيرول عند سقي النباتات بتركيز NaCl 15 ديسيسمنز.م⁻¹ اذ بلغ 64.82 مايكروغرام. غم⁻¹ وبنسبة 13.10% قياسا بمعاملة السيطرة، وهذا ينسجم مع ما توصل به (Tung and Ng, 2015) الى الزيادة في تركيز الفاتكوفيرول في نبات الرز بزيادة تركيز ملح NaCl. يعد الفاتكوفيرول احد المستضدات غير الانزيمية التي تزداد تركيزها في خلايا النباتات عند تعرضها للاجهادات المختلفة ويساهم في اختزال تركيز ROS في الاغشية الخلوية وتقلل من اكسدة الدهون من خلال تقليل جذر Lipid peroxyl (LOO) وتحويله الى Hydroperoxides المناظر (Maeda et al., 2015). ادى الرش بالفيتامين C الى زيادة معنوية في متوسط تركيز الفاتكوفيرول وسجلت معاملة الرش بالتركيز 120 ملغم. لتر⁻¹ اعلى متوسط لهذه الصفة 84.60 مايكروغرام. غم⁻¹ وبنسبة 60.11% قياسا بمعاملة السيطرة. ان زيادة تركيز الفاتكوفيرول نتيجة لعمل فيتامين C الى اعادة توليد الفاتكوفيرول من جذر الفاتكوفيروكسيل وتحويل الكلوتاثيون الموكسد الى المختزل ومن ثم الحفاظ على سلامه الاغشية (Noctor and Foyer, 1998).

ادى الرش بهرمون البراسينولايد الى زيادة معنوية في متوسط تركيز الفاتكوفيرول وسجلت معاملة الرش بالتركيز 4 ملغم. لتر⁻¹ اعلى متوسط لهذه الصفة 77.66 مايكروغرام. غم⁻¹ وبنسبة 30.50% قياسا بمعاملة المقارنة. يقوم هرمون البراسينولايد بتحفيز مضادات الاكسدة غير الانزيمية ومنها الفاتكوفيرول الذي يعمل على كسح الجذور الحرة والحفاظ على سلامة الاغشية من الاكسدة ومنع اكسدة الاحماض الدهنية غير المشبعة (Bhardwaj et al., 2014).

ان التداخلات الثنائية بين تراكيز NaCl وتراكيز كل من فيتامين C والبراسينولايد وتراكيز فيتامين C والبراسينولايد مؤثرة بصورة معنوية في متوسط تركيز الفاتكوفيرول، واعطت المعاملات المؤلفة من 10 ديسيسمنز.م⁻¹ مع 120 ملغم. لتر⁻¹ فيتامين C و 10 ديسيسمنز.م⁻¹ مع 4

ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد و 120ملغم.لتر⁻¹ فيتامينC مع 4ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد اعلى متوسط لتركيز الفاتكوفيرول (90.44، 88.99 ، 96.34) مايكرو غرام.غم⁻¹ بالتتابع واختلفت معنويا عن المعاملات الاخرى، فيما كان اقل تركيز لمتوسط هذا الفيتامين (41.60، 49.40، 46.78) مايكرو غرام.غم⁻¹ عند المعاملات مياه الحنفية فقط وعدم الرش بالفيتامين والهرمون بالتتابع. جدول(55) دور رش تراكيز فيتامينC وهرمون البراسينولايد في تركيز الفاتكوفيرول(مايكرو غرام.غم⁻¹) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنزم.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15.0	10.0	5.5	0.9		
41.60	39.22	46.47	44.40	36.32	0	0
47.67	48.19	51.57	50.51	40.40	2	
69.25	55.36	80.66	77.35	63.64	4	
58.99	57.14	68.32	60.97	49.54	0	60
66.01	63.43	75.84	69.35	55.42	2	
73.28	71.45	80.66	77.35	63.64	4	
77.95	78.48	88.13	82.82	62.35	0	120
85.41	84.47	95.26	91.74	70.16	2	
90.44	85.65	105.65	96.12	74.34	4	
	64.82	76.95	72.29	57.31	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR= 0.25	NaCl x Vit.CxBR=0.50			NaCl=0.17	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
52.84	47.59	59.57	57.42	46.78	0	
66.09	64.01	74.94	69.22	56.20	60	
84.60	82.87	96.34	90.23	68.95	120	
Vit.C=0.14	NaCl x Vit.C=0.29				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
59.51	58.28	67.64	62.73	49.40	0	
66.36	65.37	74.22	70.53	55.32	2	
77.66	70.82	88.99	83.61	67.20	4	
BR= 0.14	NaCl x BR= 0.29				L.S.D 0.05	

بينت النتائج ايضا ان التداخل الثلاثي بين تراكيز NaCl وتراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد معنوي، ووجد اعلى تركيز للافاتكوفيرول في النباتات المرشوشة بتركيزين 120 ملغم لتر⁻¹ من الفيتامين و4 ملغم لتر⁻¹ من الهرمون والمروية بمياه ملوحتها 10 ديسيسمنز م⁻¹ 105.65 مايكروغرام غم⁻¹، بينما اقل تركيز للافاتكوفيرول في النباتات المروية بمياه الحنفية و غير المرشوشة بالفيتامين والهرمون 36.32 مايكروغرام غم⁻¹. كذلك لوحظ من نتائج التداخل الثنائي والثلاثي ان زيادة تراكيز الفيتامين والهرمون وتحت جميع التراكيز الملحية سببت زيادة في تركيز الفاتكوفيرول وهذا يدل على تظافر عمل الفيتامين والهرمون في زيادة هذا الفيتامين. هذه النتائج مشابهة لما توصل إليه (Zaki and Mohamed, 2018) و Hamed and Abd Elgawad (2018) خلال دراستهم على نباتي الباقلاء والفاصوليا بالنتابع.

4-3-2-7 فعالية إنزيم الكاتليز (وحدة.مل⁻¹):

اشارت النتائج في الجدول (56) إلى وجود زيادة معنوية في متوسط فعالية انزيم الكاتليز بزيادة تراكيز NaCl، اذ تفوق التركيز 15 ديسيسمنز م⁻¹ عن التراكيز الاخرى معطيا متوسط فعالية هذا الانزيم 44.26 وحدة مل⁻¹ وبنسبة زيادة 124.22% قياسا الى معاملة السيطرة، وقد يعزى السبب في زيادة فعالية هذا الانزيم بمثابة رد فعل طبيعي للجذور الحرة المتولدة عن طريق التنفس الضوئي المتزايد بفعل الاجهاد الملحي او احدى الوسائل المهمة التي يقوم بها النبات لمقاومة الظروف الملحية، اذ يعد انزيم الكاتليز دليلا واضحا على وجود جذري بيروكسيد الهيدروجين و الاوكسجين المفرد الناتجة من البلاستيديات والمائتوكونديريا النباتات المتعرضة للاجهادات المختلفة (Sofa et al., 2015)، فقد لوحظ ان لهذا الانزيم القدرة الجيدة على تحويل بيروكسيد الهيدروجين الى الماء والأكسجين (Al-Hattab, 2018).

أما تأثير تراكيز فيتامين C فقد كان معنويا وقد أعطى التركيز 120 ملغم لتر⁻¹ أفضل متوسط لفعالية انزيم الكاتليز 37.91 وحدة مل⁻¹ وبنسبة زيادة 63.05% قياسا الى المعاملة السيطرة. تعود هذه الزيادة الى دور فيتامين C في حث انزيم الكاتليز لتخلص من سمية H₂O₂ اذ يقوم بتحويل 40 مليون جزيئة من H₂O₂ الى H₂O و O خلال الثانية الواحدة (Seidlitz et al., 2004) ، كذلك يعمل على كبح الجذور الحرة تحت ظروف الاجهاد (Gang and Manchanda, 2009). اشارت النتائج في الجدول (56) أيضا إلى وجود تأثير معنوي لتراكيز براسينولايد في متوسط فعالية هذا الانزيم فعند رفع التركيز من 0 إلى 4 ملغم لتر⁻¹ كانت نسبة الزيادة 22.85%. تبرر هذه الزيادة الحاصلة في فعالية انزيم الكاتليز بسبب تحفيز براسينولايد في تشفير جينات هذا الانزيم والمضادات الانزيمية الاخرى لكسح الجذور الحرة الناتجة من فعل الاجهادات وتقليل

مخاطر الاكسدة (السعدي واخرون، 2013)، اذ امكن(Boldt and John(1995) تشخيص ثلاثة انواع من الجينات المسؤولة عن تولد انزيم الكتاليز وهي CAT1 و CAT2 و CAT3. جدول(56) دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في فعالية انزيم الكاتاليز(وحدة. مل⁻¹) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيسمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15.0	10.0	5.5	0.9		
20.12	30.18	23.26	16.82	10.24	0	0
23.42	35.25	27.72	17.46	13.23	2	
26.19	40.35	29.92	18.86	15.65	4	
28.36	41.18	31.36	22.21	18.70	0	60
31.73	44.82	35.07	25.81	21.19	2	
33.10	47.63	34.32	28.10	22.33	4	
34.10	48.59	36.98	27.73	23.07	0	120
37.45	51.30	42.35	31.04	25.12	2	
42.17	59.02	47.22	34.35	28.09	4	
	44.26	34.24	24.71	19.74	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR= 0.09	NaCl x Vit.C x BR=0.14			NaCl=0.05	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
23.25	35.26	26.97	17.71	13.04	0	
31.06	44.54	33.58	25.37	20.94	60	
37.91	52.97	42.18	31.04	25.42	120	
Vit.C=0.04	NaCl x Vit.C=0.08				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
27.53	39.98	30.53	22.26	17.34	0	
30.86	43.79	35.05	24.77	19.85	2	
33.82	49.00	37.15	27.10	22.02	4	
BR=0.04	NaCl x BR= 0.08				L.S.D 0.05	

وجد تأثير معنوي للتداخل الثنائي بين تراكيز NaCl وتراكيز كل من فيتامين C و براسينولايد وقد أعطى تركيز 15ديسيسمنز.م⁻¹ تفوقا واضحا عن بقية التراكيز NaCl وجميع تراكيز فيتامين C والبراسينولايد المدروسة لاسيما في التركيزين 120ملغم.لتر⁻¹ من الفيتامين و

4ملغم.لتر⁻¹ من الهرمون اذ بلغ متوسط فعالية انزيم الكاتليز (52.97، 49.00) وحدة.مل⁻¹ بالتتابع. كذلك كان للتداخل الثنائي بين تراكيز الفيتامين C وبراسينولايد معنويا، وقد أعطت معاملة التداخل الموافقة من 120ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C و4ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد أفضل متوسط فعالية انزيم الكاتليز مقدارها 42.17 وحدة.مل⁻¹ واختلفت معنويا عن بقية المعاملات الاخرى، فيما كان اقل تركيز لمتوسط هذا الانزيم (13.04، 17.34، 20.12) وحدة.مل⁻¹ عند معاملات مياه الحنفية وغير المرشوشة بالفيتامين والهرمون بالتتابع.

اظهر التداخل الثلاثي بين عوامل الدراسة وجود فروق معنوية في فعالية انزيم الكاتليز، وقد أعطت النباتات المروية بماء ملوحته 15ديسيسمنز.م⁻¹ من NaCl والمرشوشة بتركيزين 120 ملغم.لتر⁻¹ من الفيتامين و 4ملغم.لتر⁻¹ من الهرمون اعلى فعالية لهذا الانزيم 59.02 وحدة.مل⁻¹ واختلفت معنويا عن النباتات الاخرى، بينما النباتات التي رويت بالتركيز الملحي السابق وغير المرشوشة بالفيتامين والهرمون فعالية لانزيم 30.18 وحدة.مل⁻¹ وبنسبة انخفاض 48.86% قياسا بالنباتات السابقة اعلاه، فيما أعطت النباتات المروية بماء الحنفية والمرشوشة بالماء المقطر فقط (السيطرة) ادنى فعالية لهذا الانزيم 10.24 وحدة.مل⁻¹.

4-3-2-8 تركيز إنزيم البيروكسيديز (وحدة.مل⁻¹):

اشارت نتائج التحليل الاحصائي في الجدول (57) الى وجود فروق معنوية في متوسط فعالية انزيم البيروكسيديز بزيادة تراكيز NaCl وتكون التركيز 15ديسيسمنز.م⁻¹ عن التراكيز الاخرى معطيا فعالية مقدارها 51.23 وحدة.مل⁻¹ وبنسبة زيادة 123.03% قياسا الى معاملة السيطرة. ان زيادة فعالية انزيم البيروكسيديز بزيادة تراكيز NaCl بسبب تجمع انواع الاوكسجين الفعال مما يتسبب في تاكسد البروتينات والدهون في الاغشية الخلوية يتبعه اضرار جزيئية في هيكل الاحماض النووية ولأجل ذلك يقوم النبات بحث المضادات الانزيمية ومنها انزيم البيروكسيديز (Faize et al.,2010).

اثر تراكيز فيتامين C المرشوشة (جدول 57) معنويا في متوسط فعالية انزيم البيروكسيديز فعند زيادة تركيز من 0 الى 120ملغم.لتر⁻¹ كانت نسبة الزيادة 65.06%، وتعود هذه الزيادة إلى دور الفيتامين في حماية الخلايا بشكلها النشط ويمنعها من التحطم نتيجة للعديد من الاجهادات ومن ثم زيادة فعالية البيروكسيديز لمقاومة الاثار السلبية الناتجة عنها من خلال قدرة هذا الانزيم على ازالة الجذور الحرة، اذ يعجل من اكسدة البروتون معطيا مركبات ترتبط مع H₂O₂ ومن ثم ازالة التأثير السمي وتحفيز تحويل H₂O₂ الى H₂O (Kawano,2003)، ومن المعروف ان النباتات الحاوية على تراكيز عالية من مضادات الاكسدة بأنها تمتلك تحملا اكبر للضرر

التاكسدي (Foyer and Shigeoka, 2011). كذلك اثرت تراكيز هرمون البراسينولايد (جدول 57) معنويا في متوسط فعالية انزيم البيروكسيديز فعند زيادة تركيز الهرمون من 0 إلى 4 ملغم/لتر¹ كانت نسبة الزيادة 23.93%، وتعود هذه الزيادة الحاصلة في فعالية انزيم البيروكسيديز بسبب تحفيز البراسينولايد في تشفير جينات هذا الانزيم (ATP2، ATP24a) لكسح الجذور الحرة الناتجة من فعل الاجهادات وتقليل مخاطر الاكسدة (السعدي واخرون، 2013).

جدول (57) دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في فعالية انزيم البيروكسيديز (وحدة.مل¹) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنز.م ¹)				BR (ملغم/لتر ¹)	Vit.C (ملغم/لتر ¹)
	15.0	10.0	5.5	0.9		
23.22	35.34	25.15	19.22	13.16	0	0
26.40	38.79	29.22	21.34	16.25	2	
30.04	45.93	31.19	24.17	18.86	4	
30.95	45.16	32.23	25.41	20.22	0	60
35.48	51.27	36.58	29.85	24.19	2	
37.69	54.30	38.12	31.10	27.22	4	
39.57	56.07	43.20	32.10	26.89	0	120
43.77	62.17	48.16	34.97	29.75	2	
48.21	72.04	52.15	38.48	30.15	4	
	51.23	37.33	28.52	22.97	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR= 0.06	NaCl x Vit.CxBR=0.13			NaCl=0.05	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
26.56	40.02	28.52	21.58	16.09	0	
34.64	50.24	35.64	28.79	23.88	60	
43.84	63.42	47.84	35.19	28.93	120	
Vit.C=0.04	NaCl x Vit.C=0.09				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
31.18	45.52	33.52	25.58	20.09	0	
35.21	50.94	37.99	28.72	23.40	2	
38.64	57.42	40.49	31.25	25.41	4	
BR=0.04	NaCl x BR= 0.09				L.S.D 0.05	

أوضحت نتائج الجدول (57) أيضاً وجود فروق معنوية في جميع معاملات التداخل الثنائية بين التراكيز الملحية وتراكيز كل من الفيتامين والهرمون وتراكيز الفيتامين والهرمون وسجلت معاملات التداخل المؤلفة من 15 ديسيسمنز م⁻¹ مع كل من 120 ملغم لتر⁻¹ فيتامين C و 4 ملغم لتر⁻¹ هرمون براسينولايد وتركيز 120 ملغم لتر⁻¹ من فيتامين C مع تركيز 4 ملغم لتر⁻¹ من براسينولايد أعلى متوسط لفعالية هذا الانزيم بلغ (63.42، 57.42، 48.21) وحدة مل⁻¹ بالتتابع، فيما كان أقل تركيز لمتوسط هذا الانزيم (16.09، 20.09، 23.22) وحدة مل⁻¹ عند المعاملتين المرويتين بمياه الحنفية فقط والمعاملة غير المرشوشة بالفيتامين والهرمون بالتتابع.

إما التداخل الثلاثي فقد كان معنوياً هو الآخر، وأعطت النباتات المروية بماء ملوحته 15 ديسيسمنز م⁻¹ والمرشوشة بتركيزين (120 و 4) ملغم لتر⁻¹ من فيتامين C وبراسينولايد بالتتابع أعلى فعالية لهذا الانزيم 72.04 وحدة مل⁻¹ واختلفت معنوياً عن النباتات الأخرى، بينما أعطت النباتات المروية التركيز السابق نفسه وغير المرشوشة بالفيتامين والهرمون فعالية 35.34 وحدة مل⁻¹ وبنسبة انخفاض 50.94% قياساً بالنباتات السابقة أعلاه، كذلك أعطت النباتات السيطرة أدنى فعالية لهذا الانزيم 13.16 وحدة مل⁻¹. تتفق هذه النتائج مع نتائج (Singh و Riaz et al. (2014) and Dwivedi (2018) خلال دراستهم على نباتي الماش والبزلاء بالتتابع، وفي هذا الصدد ذكر Hemmati et al. (2018) ان فيتامين C وهرمون البراسينولايد قد زادا من فعالية انزيمي الكاتيليز والبيروكسيديز في نبات الأذريون الطبي *Calendula officinalis* L.

3-3-4 دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في بعض مؤشرات النمو الزهري في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

3-3-4-1 عدد النورات (نورة نبات⁻¹):

أدى الاجهاد الملحي الى إنخفاض معنوي في عدد النورات (جدول 58)، فقد إنخفض متوسط عدد النورات الى 5.41 نورة نبات⁻¹ للتركيز الملحي الأخير وبنسبة انخفاض 36.50% قياساً بالمعاملة السيطرة 8.52 نورة نبات⁻¹. يعود هذا الانخفاض نتيجة لدور الاجهاد الملحي في خفض المادة الجافة وسوء توزيعها في اجزاء النبات واختزال عدد البراعم الزهرية والنورات، مع تولد اعداد كبيرة من الجذور الحرة التي تعمل على خلل في النظام الانزيمي والتوازن الهرموني واستهلاك الطاقة لينخفض النمو الزهري ومن بينه عدد النورات (الحمزاوي، 2016).

سبب الرش باستعمال فيتامين C بتركيزين (60 و 120) ملغم لتر⁻¹ زيادة معنوية في متوسط عدد النورات مسجلاً (7.14 و 8.83) نورة نبات⁻¹ وتوقفاً على تركيز صفر بزيادة وصلت نسبتها الى (41.95 و 75.55)% بالتتابع، ويعود السبب الى دور فيتامين C في ازدياد عدد وطول الجذور

وتغلغلها في التربة وبذلك تزداد كفاءتها الامتصاصية للماء والمغذيات ومن ثم زيادة نمو المجموع الخضري وزيادة المادة الجافة وتوزيعها بشكل منتظم وتنشيط مضادات الاكسدة لكسح الاثار السلبية للجذور الحرة التي تعمل على اكسدة هرمونات التزهير (Athar et al.,2008).

لوحظ من نتائج الجدول(58) ان متوسط عدد النورات ازداد معنويا باستعمال هرمون البراسينولايد ولجميع تراكيزه، وسجل التركيز 4ملغم/لتر⁻¹ اعلى متوسط عدد النورات 7.51نورة. نبات⁻¹، في حين كان متوسط عددها 6.20نورة.نبات⁻¹ في التركيز صفر. أن الزيادة الحاصلة في عدد النورات الزهرية نتيجة لرش هرمون البراسينولايد على الاوراق الذي يعمل على زيادة الوزن الجاف للنبات(جدول49)، ومساهمته في تحفيز الهرمونات النباتية وزيادة تركيزها لاسيما حامض الجبرليك الذي له الدور المهم جداً في زيادة النمو الزهري، ومساهمته ايضا في زيادة نشاط مضادات الاكسدة الانزيمية وغير الانزيمية لازاله ROS الناتجة من فعل الاجهاد الملحي (Heldt and Piechulla,2011) ، فضلا عن ان زيادة تركيز الكاربوهيدرات في المجموع الخضري (جدول51) والإفادة منها في تكوين البراعم الزهرية، وهذا يتفق مع ما ذكره Maity and Bera (2009) من ان زيادة عدد النورات الزهرية في نبات الماش نتيجة لرش هرمون البراسينولايد قد تعود إلى تحسين معدل المواد الممتلئة وزيادة انتاج محتوى السكر والنشا والبروتين في الأوراق Sours يتبعها تراكم هذه المواد الكيميائية في أماكن الإفادة Sinks.

كانت جميع التداخلات الثنائية بين التراكيز الملحية وتراكيز كل من فيتامينC وهرمون البراسينولايد وتراكيز فيتامينC وهرمون البراسينولايد مؤثرة بصورة معنوية في متوسط هذه الصفة، واعطت المعاملات المؤلفة من 0.9 ديسيمنز.م⁻¹ مع 120ملغم.لتر⁻¹ فيتامينC و0.9 ديسيمنز.م⁻¹ مع 4ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد و120ملغم.لتر⁻¹ فيتامينC مع 2ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد اعلى متوسط للعدد النورات بلغ (10.55، 9.00 و9.44) نورة.نبات⁻¹ بالتتابع، فيما كانت اقل القيم لمتوسط هذه الصفة (3.44، 4.56، 4.58)نورة.نبات⁻¹ عند المعاملتين المروية بمياه المالحة 15ديسيمنز.م⁻¹ فقط والمعاملة غير المرشوشة بالفيتامين والهرمون بالتتابع.

اما التداخل الثلاثي لعوامل الدراسة فقد كان معنويا في عدد النورات، وتفوقت النباتات المروية بماء الحنفية والمرشوشة بتركيزين (120و2)ملغم.لتر⁻¹ من الفيتامين والهرمون بالتتابع عن النباتات الاخرى معطية 12.33نورة.نبات⁻¹، في حين كان اقل عدد نورات في النباتات المروية بمياه المالحة 15ديسيمنز.م⁻¹ والمرشوشة بالماء المقطر فقط 3.00نورة.نبات⁻¹، وهذا يؤكد ايضا على التأثير السلبي للاجهاد الملحي في انخفاض عدد النورات، فيما ساهمت عملية الرش بالفيتامين C والبراسينولايد في التغلب على الاثر السلبي للاجهاد من خلال الزيادة في عدد النورات، فقد

اعطت النباتات المروية بالتركيز الملحي السابق (15ديسيمنز.م⁻¹) والمرشوشة بتركيزين (120 و 4)ملغم.لتر⁻¹ من الفيتامين والهرمون بالتتابع عددا لنورات 8.33 نورة.نبات⁻¹. تتماشى هذه النتائج مع نتائج Rahman *et al.*(2017) و Hasan *et al.*(2017) خلال دراستهم على نبات الماش و AL-Amery and Mohamme(2017) خلال دراستهم على نبات الفاصولياء. جدول(58)دور رش تراكيز فيتامينC وهرمون البراسينولايد في عدد النورات(نورة.نبات⁻¹) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15.0	10.0	5.5	0.9		
4.58	3.00	3.33	5.67	6.33	0	0
5.17	3.33	4.67	6.00	6.67	2	
5.33	4.00	4.67	5.33	7.33	4	
6.34	4.67	6.33	6.67	7.67	0	60
7.25	6.00	7.33	8.00	7.67	2	
7.83	6.33	8.00	7.67	9.33	4	
7.67	6.00	7.67	8.00	9.00	0	120
9.44	7.00	8.47	9.97	12.33	2	
9.37	8.33	9.33	9.47	10.33	4	
	5.41	6.64	7.42	8.52	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR= 0.51	NaCl x Vit.CxBR=1.03			NaCl=0.34	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
5.03	3.44	4.22	5.67	6.78	0	
7.14	5.67	7.22	7.44	8.22	60	
8.83	7.11	8.49	9.15	10.55	120	
Vit.C=0.30	NaCl x Vit.C=0.59				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
6.20	4.56	5.78	6.78	7.67	0	
7.29	5.44	6.82	7.99	8.89	2	
7.51	6.22	7.33	7.49	9.00	4	
BR=0.30	NaCl x BR= 0.59				L.S.D 0.05	

4-3-3-2 عدد الازهار (زهرة نبات¹⁻):

اوضحت نتائج الجدول (59) حدوث انخفاض معنوي في متوسط عدد الازهار نتيجة لزيادة التراكيز الملحية من 0.9 الى 15ديسيمنزم¹⁻ وبنسبة انخفاض 35.20%، ويعود هذا الانخفاض للدور السلبي للاجهاد الملحي في خفض معدلات البناء الضوئي وشيخوخة الاوراق وقلة تجهيز تركيز الكاربوهيدرات من الاوراق الى العناقيد الزهرية، فضلا عن انخفاض تركيز الهرمونات الداخلية المسؤولة عن التزهير ومن ثم قلة حيوية حبوب اللقاح (Tayde et al.,2018 ; Abdullah et al.,2001).

اوضحت نتائج الجدول نفسه وجود زيادة معنوية في متوسط هذه الصفة بزيادة تركيز فيتامين C من 0 الى 120ملغم لتر¹⁻ وبنسبة زيادة 72.91%. يشترك فيتامين C كمرافق انزيمي Enzyme co-factor في تصنيع الهرمونات الداخلية ومنها حامض الجبرليك (Khan et al., 2011)، وبذلك يؤدي الى تنشيط عملية البناء الضوئي وزيادة تركيز المواد الايضية في المجموع الخضري ليزداد عدد البراعم الزهرية وعدد الازهار، وأن لفيتامين C دوراً في عملية الحث الزهري المنظم (Barth et al.,2006).

وجدت زيادة معنوية اخرى في متوسط هذه الصفة بزيادة تركيز هرمون البراسينولايد من 0 الى 4 ملغم لتر¹⁻ وبنسبة 24.71%، وتعزى هذه الزيادة الى دور الهرمون في تصنيع الهرمونات ومنها حامض الجبرليك الذي يرتبط مع مركب الانثسين Anthesin وتكوين هرمون التزهير Florigen المسؤول عن التزهير وتقليل مستوى قوة معيق الازهار Potent floral repression وزيادة الافرع الزهرية (Divi and Krishna,2009)، كذلك يعمل البراسينولايد على زيادة الاوكسين في مبايض الازهار من خلال تثبيط انزيم IAA-Oxidase او تحفيز حساسية الانسجة للأوكسين الذي يمثل دورا مهما في منع تساقط الازهار (رحيم وعباس، 2015).

اوضحت نتائج الجدول (59) ايضا وجود فروق معنوية في جميع معاملات التداخل الثنائية بين التراكيز الملحية وتراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد وتراكيز الفيتامين و الهرمون، وسجلت معاملات التداخل المؤلفة من 0.9ديسيمنزم¹⁻ و120ملغم لتر¹⁻ فيتامين C و 0.9 ديسيمنزم¹⁻ و4ملغم لتر¹⁻ براسينولايد و120ملغم لتر¹⁻ فيتامين C مع 4ملغم لتر¹⁻ براسينولايد اعلى متوسط للعدد الازهار (26.33 و 26.44، 28.89) زهرة نبات¹⁻ بالتتابع، فيما كان اقل القيم لمتوسط هذه الصفة (10.22، 13.22، 12.08) زهرة نبات¹⁻ عند المعاملتين المرويتين بمياه مالحة 15ديسيمنزم¹⁻ مع صفر لكل من فيتامين C وبراسينولايد والمعاملة غير المرشوشة بالفيتامين والهرمون بالتتابع.

جدول (59) دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في عدد الازهار (زهرة نبات¹⁻) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيسمنز.م ¹⁻)				BR (ملغم.لتر ¹⁻)	Vit.C (ملغم.لتر ¹⁻)
	15.0	10.0	5.5	0.9		
12.08	8.00	10.33	13.67	16.33	0	0
14.25	10.33	13.67	15.33	17.67	2	
16.42	12.33	14.67	17.33	21.33	4	
18.67	14.33	17.33	20.67	22.33	0	60
20.33	16.33	19.00	21.67	24.33	2	
22.00	17.67	20.67	23.33	26.33	4	
21.58	17.33	20.67	22.67	25.67	0	120
26.00	20.67	24.33	27.67	31.33	2	
26.33	22.33	25.00	28.33	29.67	4	
	15.48	16.11	21.19	23.89	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR= 0.57	NaCl x Vit.CxBR= 1.14		NaCl=0.38		L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
14.25	10.22	12.89	15.44	18.44	0	
20.33	16.11	19.00	21.89	24.33	60	
24.64	20.11	23.33	26.22	28.89	120	
Vit.C=0.33	NaCl x Vit.C=0.66				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
17.44	13.22	16.11	19.00	21.44	0	
20.03	15.78	19.00	21.56	23.78	2	
21.75	17.44	20.11	23.00	26.44	4	
BR=0.33	NaCl x BR= 0.66				L.S.D 0.05	

كذلك لوحظ وجود فروق معنوية في قيمة عدد الازهار والنتيجة من التداخل بين العوامل الثلاثة المدروسة، اذ اعطت النباتات المروية بماء الحنفية والمرشوشة بتركيزين (120 و 2) ملغم.لتر¹⁻ من الفيتامين والهرمون بالتتابع افضل القيم 31.33 زهرة نبات¹⁻ مقارنة بالنباتات الاخرى، في حين كانت اقل القيم لهذه الصفة في النباتات المروية بالمياه المالحة 15 ديسيسمنز.م¹⁻ وغير المرشوشة بالفيتامين والهرمون 8.00 زهرة نبات¹⁻ وهذا يؤكد ايضا على التأثير السلبي

للاجهاد الملحي في انخفاض عدد الازهار. ساهمت عملية الرش بالفيتامين C والهرمون في التغلب على الأثر السلبي للاجهاد عبر الزيادة في عدد الازهار، واعطت النباتات المروية بالتركيز الملحي نفسه والمرشوشة بتركيزين (120 و4) ملغم لتر⁻¹ من فيتامين C وبراسينولايد بالتتابع عددا لازهار 22.33 زهرة. نبات¹. تتفق هذه النتائج مع نتائج (Rahman et al., 2017) و Hasan et al. (2017) خلال دراستهم على نبات الماش (AL-Amery and Mohammed, 2017) خلال دراستهم على نبات الفاصولياء.

4-3-4 دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في بعض مكونات الحاصل (الكمية و النوعية) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.
4-3-4-1 عدد القرنات (قرنة نبات¹):

اشارت النتائج المعطاة في جدول (60) الى انخفاض معنوي في عدد القرنات بتصاعد التراكيز الملحية، فعند رفع التركيز من 0.9 الى 15 ديسيسمنز م⁻¹ انخفض متوسط الصفة اعلاه بنسبة 37.09%. يؤدي الاجهاد الملحي الى خفض مكونات الحاصل من خلال خفض معدلات البناء الضوئي واختزال نمو الاوراق وتأخير عملية التزهير وتساقط الازهار وقلة عددها (جدول 59) الامر الذي سيؤدي الى انخفاض عدد القرنات في النبات وهذه النتائج تتماشى مع نتائج Nahar and Hasanuzzaman (2009) اثناء دراستهما على ثلاثة اصناف من الماش اذ تسببت الملوحة العالية بانخفاض عدد القرنات وعدد البذور في القرنة الواحدة ووزن البذور.

لوحظ في نتائج جدول (60) وجود زيادة معنوية في عدد القرنات بزيادة تراكيز فيتامين C، اذ عند رفع التركيز من 0 الى 120 ملغم لتر⁻¹ ازداد متوسط عدد القرنات بنسبة 69.46%. ان ازدياد عدد القرنات بفعل الاضافات الورقية لفيتامين C باعتباره منظم لعملية الانقسام الخلوي ومنظم لعملية البناء الضوئي وزيادة انتاج الكربوهيدرات (Brokhina et al., 2003).

وجدت زيادة معنوية اخرى في متوسط هذه الصفة بزيادة تركيز براسينولايد من 0 الى 4 ملغم لتر⁻¹ وبنسبة 22.57%، ترجع هذه الزيادة بعدد القرنات بسبب دور الهرمون في زيادة المحتوى المائي وخفض عجز الماء يتبعه زيادة في النمو الزهري، وبالمقابل خفض تركيز الجذور الحرة التي تعمل على اكسدة هرمونات التزهير ومن ثم ازدياد عدد الازهار وقلة تساقطها وزيادة تركيز حامض الجبرليك وربطه مع الانثسين لتكوين هرمون الفلورجين (Heldt and Piechulla, 2011) ; المنتفجي، (2016)، اذ تعمل Brassionsteroid على تحفيز بناء الاحماض النووية والبروتينات وزيادة تثبيت النتروجين وتوزيع المواد المتمثلة في النبات (Hayat and Ahmad, 2011).

جدول (60) دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في عدد القرينات (قرنة نبات¹⁻) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15.0	10.0	5.5	0.9		
10.48	6.03	9.33	12.17	14.40	0	0
11.83	7.33	10.60	13.60	15.77	2	
14.53	9.93	13.93	15.33	18.93	4	
16.15	12.83	15.30	17.33	19.13	0	60
17.53	14.37	16.10	17.83	21.83	2	
19.38	15.30	18.07	21.27	22.90	4	
18.98	14.77	18.37	20.57	22.20	0	120
21.49	16.97	20.93	23.23	25.03	2	
21.98	18.67	21.70	23.10	24.43	4	
	12.91	16.01	18.27	20.52	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR=0.38	NaCl xVit.CxBR=0.96			NaCl= 0.25	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
12.28	7.77	11.29	13.70	16.37	0	
17.69	14.17	16.49	18.81	21.29	60	
20.81	16.80	20.27	22.30	23.89	120	
Vit.C=0.22	NaCl xVit.C= 0.44				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
15.20	11.21	14.33	16.69	18.58	0	
16.95	12.89	15.81	18.22	20.88	2	
18.63	14.63	17.90	19.90	22.09	4	
BR=0.22	NaCl x BR=0.44				L.S.D 0.05	

كانت جميع التداخلات الثنائية بين التراكيز الملحية وتراكيز كل من الفيتامين والهرمون وتراكيز الفيتامين والهرمون مؤثرة بصورة معنوية في متوسط عدد القرينات، واعطت المعاملات التداخل المؤلفة من 0.9ديسيمنز.م⁻¹ مع 120ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C و 0.9ديسيمنز.م⁻¹ مع 4 ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد و120ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C مع 4ملغم.لتر⁻¹ براسينولايد اعلى عدد القرينات (23.89، 22.09 و21.98)قرنة نبات¹⁻ بالتتابع، فيما كان اقل القيم لمتوسط هذه الصفة(7.77)،

11.21، 10.48) قرنة نبات⁻¹ عند المعاملتين المرويتين بالمياه المالحة (15 ديسيسمنز.م⁻¹) فقط والمعاملة غير المرشوشة بالفيتامين والهرمون بالتتابع.

أما التداخل الثلاثي فقد كان معنويا هو الأخر وتفوقت النباتات المروية بماء الحنفية والمرشوشة بتركيزين 120 ملغم لتر⁻¹ من فيتامين C و 2 ملغم لتر⁻¹ من براسينولايد اعلى عدد القرينات 25.03 قرنة نبات⁻¹ واختلفت معنويا عن بقية النباتات الاخرى باستثناء النباتات المروية بماء الحنفية والمرشوشة بتركيزين (4 و 120) ملغم لتر⁻¹ من الفيتامين والهرمون بالتتابع واعطت 24.43 قرنة نبات⁻¹، في حين كان اقل عدد للقرينات في النباتات المروية بماء ملوحته 15 ديسيسمنز.م⁻¹ وغير المرشوشة بالفيتامين والهرمون 6.03 قرنة نبات⁻¹، وهذا يظهر بوضوح التأثير السلبي للاجهاد الملحي في عدد القرينات، فيما ظهر التأثير الايجابي للفيتامين والهرمون في النباتات المرشوشة بتركيزين (4 و 120) ملغم لتر⁻¹ من الفيتامين والهرمون بالتتابع والمروية بالمياه المالحة نفسها واعطت 18.67 قرنة نبات⁻¹. يعزى هذا التأثير الايجابي للفيتامين C كونه مستضدا غير انزيمي لازالة التأثير السلبي للأكسدة الناتجة من فعل الاجهاد (Qu *et al.*, 2010)، ودور المهم للهرمون في تقليل الاضرار السلبية للأكسدة وخفض تركيز ROS المتولد من الاجهادات (Kaur *et al.*, 2018). تتفق هذه النتائج مع نتائج Rahman *et al.* (2017) و Hasan *et al.* (2017) خلال دراستهم على نبات الماش و AL-Amery and Mohammed (2017) خلال دراستهم على نبات الفاصولياء.

4-3-4 عدد البذور في القرنة (بذرة.قرنة⁻¹):

اظهرت نتائج الجدول (61) وجود فروق معنوية بين التراكيز الملحية لمتوسط صفة عدد البذور في القرنة واعطى التركيز الملحي 15 ديسيسمنز.م⁻¹ اقل قيمة لمتوسط الصفة اعلاه 6.69 بذرة. قرنة⁻¹ وبنسبة انخفاض 23.28% قياسا لتركيز 0.9 ديسيسمنز.م⁻¹. ان الانخفاض الحاصل في عدد البذور في القرنة الواحدة ناتج عن التأثير السلبي لملاح NaCl في التفاعلات الايضية والفعالية الانزيمية وهرمونات التزهير، فضلا عن تراكم Na^+ و Cl^- في انسجة النبات وانخفاض جاهزية الماء والمغذيات في التربة وقلة امتصاصهما من قبل النبات مما اثر سلبا في نمو النبات ونتاجه (Kamaraj and Padmavathi, 2018)، كما ان الاجهاد الملحي يسبب ضعف النمو الجذري وقلة توسع الاوراق وانخفاض المحتوى الكلوروفيلي في الاوراق مما يؤدي الى خفض معدلات البناء الضوئي وزيادة معدلات التنفس الضوئي يتبعه انخفاض المادة الجافة وزيادة تركيز الجذور الحرة التي تؤثر سلبا في صفات الحاصل (Wungrampha *et al.*, 2018).

كذلك لوحظ في نتائج الجدول (61) وجود زيادة معنوية في عدد البذور في القرنة بزيادة تراكيز فيتامين C، إذ عند رفع من 0 إلى 120 ملغم لتر⁻¹ ازداد متوسط عدد القرنت بنسبة 42.27%. إن دور فيتامين C في تنشيط العمليات الأيضية المتمثلة بالبناء الضوئي والتنفس والانقسام الخلوي وامتصاص ونقل المغذيات وزيادة المساحة الورقية وتراكم المادة الجافة مما حسن النمو الخضري والزهري مؤدياً بذلك إلى زيادة عدد البذور في القرنة الواحدة (Conklin, 2001)، فضلاً عن دوره في تأثيره المشابه لمنظمات النمو النباتية المحفزة للنمو الزهري (Akram et al., 2017).

وجدت زيادة معنوية أخرى في متوسط هذه الصفة بزيادة تركيز البراسينولايد من 0 إلى 4 ملغم لتر⁻¹ وبنسبة 22.75%. ترجع الزيادة في متوسط هذه الصفة إلى تأثير البراسينولايد في زيادة النمو المظهري (المساحة الورقية والوزن الجاف) وزيادة محتوى المواد الكيميائية (الكوروفيل و الكربوهيدرات)، فضلاً عن دوره في زيادة الانقسام الخلوي عن طريق تحفيز بناء السايكلينات وهي بروتينات حلقيّة مفسفرة تعمل على زيادة انقسام الخلايا وتوسعها وتشفيره أيضاً إلى نوع خاص من البروتينات Alpha-expansh protein التي تحفز على الانقسام الساييتوبلازمي (Serrano and Assmann, 2016).

كانت جميع التداخلات الثنائية بين التراكيز الملحية وتراكيز كل من فيتامين C وهرمون البراسينولايد وتراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد مؤثرة بصورة معنوية في متوسط عدد البذور في القرنة، وأعطت المعاملات المؤلفة من 0.9 ديسيسمنز م⁻¹ و 120 ملغم لتر⁻¹ فيتامين C و 0.9 ديسيسمنز م⁻¹ و 4 ملغم لتر⁻¹ براسينولايد و 120 ملغم لتر⁻¹ فيتامين C مع 4 ملغم لتر⁻¹ براسينولايد أعلى عدد البذور في القرنة بلغ (10.58، 9.37، 10.06) بذرة قرنة⁻¹ بالتتابع، فيما كانت أقل القيم لمتوسط هذه الصفة (5.54، 6.01، 5.94) بذرة قرنة⁻¹ عند المعاملتين المرويتين بالمياه المالحة 15 ديسيسمنز م⁻¹ فقط والمعاملة غير المرشوشة بالفيتامين والهرمون بالتتابع.

أما التداخل الثلاثي فقد كان معنوياً هو الأخر، وتفوقت النباتات المروية بماء الحنفية و المرشوشة بتركيزين (120 و 2) ملغم لتر⁻¹ من الفيتامين والهرمون بأعلى عدد البذور في القرنة 11.73 بذرة قرنة⁻¹ واختلفت معنوياً عن النباتات الأخرى، في حين كان أقل عدد للبذور في القرنة في النباتات المروية بماء ملوحته 15 ديسيسمنز م⁻¹ وغير المرشوشة بالفيتامين والهرمون وأعطت 4.96 بذرة قرنة⁻¹، وهذا يظهر بوضوح التأثير السلبي للاجهاد الملحي في عدد البذور في القرنة. إن التأثير الإيجابي للفيتامين والهرمون في التغلب على تأثير هذا الاجهاد في النباتات المرشوشة بتركيزين (120 و 4) ملغم لتر⁻¹ من الفيتامين والهرمون بالتتابع والمروية بالمياه المالحة نفسها وأعطت 9.29 بذرة قرنة⁻¹ تتفق هذه النتائج مع نتائج كل من (Rahman et al., 2017) و Hasan

AL-Amery and Mohammed (2017) و *et al.*(2017) خلال دراستهم على نبات الماش و خلال دراستهم على نبات الفاصولياء. جدول(61) دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في عدد البذور في القرنة(بذرة. قرنة¹) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15.0	10.0	5.5	0.9		
5.94	4.96	5.78	6.21	6.83	0	0
6.71	5.50	6.14	7.91	7.30	2	
6.94	6.15	6.64	7.49	7.48	4	
6.94	6.29	6.93	7.05	7.48	0	60
7.17	6.25	6.79	7.78	7.85	2	
8.74	7.18	8.80	9.23	9.76	4	
8.08	6.78	7.88	8.51	9.13	0	120
9.74	7.83	8.50	10.91	11.73	2	
10.06	9.29	10.26	9.81	10.87	4	
	6.69	7.53	8.32	8.72	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR=0.25	NaCl x Vit.C x BR=0.50			NaCl=0.17	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
6.53	5.54	6.19	7.20	7.20	0	
7.62	6.57	7.51	8.02	8.37	60	
9.29	7.97	8.88	9.75	10.58	120	
Vit.C=0.14	NaCl x Vit.C=0.29				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
6.99	6.01	6.86	7.25	7.82	0	
7.87	6.52	7.14	8.87	8.96	2	
8.58	7.54	8.57	8.84	9.37	4	
BR=0.14	NaCl x BR=0.29				L.S.D 0.05	

3-4-3-4 وزن 100 بذرة (غم) :

بينت نتائج الجدول(62) ان متوسط وزن 100 بذرة بدأ يتناقص وبشكل تدريجي ومعنوي بزيادة ملوحة NaCl في مياه السقي، وسجلت معاملة السقي بالتركيز الملحي 15ديسيمنز.م⁻¹ اقل

وزن 2.86 غم وبنسبة انخفاض 32.86% قياسا عند معاملة السيطرة. ان ملوحة ماء الري تسبب انخفاض المحتوى المائي واضطراب التوازن بين العناصر في النباتات ومن ثم يسبب فشل امتلاء الحبة بالمواد الغذائية (Khataar *et al.*, 2018)، فضلا عن قلة جاهزية العناصر الغذائية في التربة وامتصاصها من قبل النبات، واختزال عدد البلاستيدات وانكماشها يرافق ذلك استبدال أيون K^+ في اغشية البلاستيدات بأيون Na^+ مما أدى الى انخفاض معدلات البناء الضوئي واختزال انتاج الكربوهيدرات والبروتينات مما يؤدي الى عدم امتلاء البذرة بالمواد الغذائية ومن ثم انخفاض وزن البذور (الدوري، 2005).

ادى الرش بالفيتامين C الى زيادة معنوية في متوسط وزن 100 بذرة وسجلت معاملة الرش بتركيز 120 ملغم لتر⁻¹ اعلى متوسط لهذه الصفة بلغ 4.01 غم وبنسبة 30.62% قياسا بمعاملة السيطرة. أن رش فيتامين C على المجموع الخضري سبب في تحفيز بناء البروتين واختزال فعالية انزيم المحلل للبروتين والمحافظة على الجهد الازموزي والتوازن العنصري (El-Hariri *et al.*, 2010)، وتحفيز عملية البناء الضوئي وزيادة تراكم الكربوهيدرات في البذور نتيجة لدوره المشابه لمنظمات النمو النباتية (Hamed and Abd Elgawad, 2018).

لوحظ من نتائج الجدول (62) ايضا ان وزن 100 بذرة ازداد معنويا باستعمال الهرمون ولجميع التراكيز وسجلت معاملة الرش بتركيز 4 ملغم لتر⁻¹ اعلى متوسط لهذه الصفة بلغ 4.02 غم وبنسبة 30.10% قياسا بمعاملة السيطرة. تفسر هذه الزيادة في وزن 100 بذرة نتيجة لعمل البراسينولايد في حث الجينات المسؤولة عن بناء الكربوهيدرات والبروتينات (Tanveer *et al.*, 2018)، ومشاركته في توزيع وتراكم المواد اعلاه في البذور (Kumar, 2012).

كانت جميع التداخلات الثنائية بين التراكيز الملحية وتراكيز كل من فيتامين C وهرمون البراسينولايد وتراكيز الفيتامين والهرمون مؤثرة بصورة معنوية في متوسط وزن 100 بذرة، واعطت المعاملات المؤلفة من 0.9 ديسيسمنز م⁻¹ مع 120 ملغم لتر⁻¹ فيتامين C و 0.9 ديسيسمنز م⁻¹ مع 4 ملغم لتر⁻¹ براسينولايد اعلى وزن 100 بذرة بلغ (4.64، 4.56 و 4.32) غم بالتتابع، فيما كان اقل تركيز لمتوسط هذه الصفة (2.30، 2.33، 2.70) غم عند المعاملتين المرويتين بالمياه المالحة 15 ديسيسمنز م⁻¹ فقط والمعاملة غير المرشوشة بالفيتامين والهرمون بالتتابع.

كان للتداخل الثلاثي بين العوامل الثلاثة المدروسة تأثير معنوي في وزن 100 بذرة، وتفوقت النباتات المروية بماء الحنفية والمرشوشة بتركيزين (120 و 2) ملغم لتر⁻¹ من الفيتامين والهرمون اعلى وزن 100 بذرة واعطت 5.03 غم واختلفت عن النباتات الاخرى، في حين كان اقل وزن

100 بذرة في النباتات المروية بمياه ملوحتها 15 ديسيمنز.م⁻¹ وغير المرشوشة بالفيتامين و الهرمون واعطت 1.89 غم، وهذا يؤكد على التأثير السلبي للاجهاد الملحي في انخفاض وزن 100 بذرة.

جدول (62) دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في وزن 100 بذرة (غم) في نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15.0	10.0	5.5	0.9		
2.70	1.89	2.46	3.07	3.37	0	0
2.92	2.21	2.74	3.12	3.63	2	
3.61	2.81	3.43	4.02	4.17	4	
3.11	2.26	2.70	3.57	3.90	0	60
3.92	3.10	3.85	4.19	4.52	2	
4.15	3.51	3.93	4.35	4.79	4	
3.47	2.84	3.17	3.68	4.19	0	120
4.26	3.31	3.87	4.81	5.03	2	
4.32	3.83	4.30	4.42	4.72	4	
	2.86	3.39	3.91	4.26	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR=0.08	NaCl x Vit.CxBR= 0.15			NaCl= 0.05	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
3.07	2.30	2.87	3.40	3.72	0	
3.72	2.96	3.50	4.03	4.40	60	
4.01	3.32	3.78	4.30	4.64	120	
Vit.C=0.04	NaCl x Vit.C=0.09				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
3.09	2.33	2.78	3.44	3.82	0	
3.70	2.87	3.49	4.04	4.39	2	
4.02	3.38	3.89	4.26	4.56	4	
BR=0.04	NaCl x BR=0.09				L.S.D 0.05	

ساهمت عملية الرش بالفيتامين C والبراسينولايد في التغلب على الاثر السلبي للاجهاد عبر الزيادة في وزن 100 بذرة فاعطت النباتات المروية بالتركيز الملحي السابق و المرشوشة بتركيزين

(120 و 4) ملغم لتر⁻¹ من فيتامين C والبراسينولايد بالتتابع وزن 100 بذرة 3.83 غم قياسا بالمعاملة السابقة. تتفق هذه النتائج مع نتائج Nagda *et al.* (2017) و Hasan *et al.* (2017) خلال دراستهم على نبات الماش و AL-Amery and Mohammed (2017) خلال دراستهم على نبات الفاصولياء.

4-4-3-4 حاصل البذور (غم):

أشارت النتائج في الجدول (63) إلى أن التراكيز الملحية من NaCl حققت جميعها انخفاضاً معنوياً في متوسط حاصل البذور لنبات الماش وبلغ حاصل البذور (27.41، 24.06، 20.97) غم عند التراكيز (5.5، 10، 15) ديسيسمنز م⁻¹ بالتتابع، بينما أعطت معاملة السيطرة أكثر متوسط لوزن الحاصل البذور 29.42 غم. يعود هذا الانخفاض ربما الى ملوحة NaCl التي تؤثر بصورة مباشرة او غير مباشرة في حاصل النبات من خلال تكوينه اجهاد الجفاف الذي يؤدي الى فشل عقد الازهار وعدم امتلاء البذور بالمواد الغذائية (Tayde *et al.*, 2018)، او ربما يعود ذلك الى التأثيرات السلبية للاجهاد الملحي في جميع الصفات التي تنعكس على حاصل البذور (عدد القرينات، عدد البذور في القرنة الواحدة ووزن 100 بذرة) والنمو الزهري (عدد النورات وعدد الازهار)، او قلة المساحة الورقية واختزال محتوى الكلوروفيل مما يعكس سلبا على عملية البناء الضوئي يتبعه انخفاض وزن المادة الجافة (الدوري، 2005)

أتضح النتائج في الجدول نفسه الى وجود زيادة معنوية في متوسط حاصل بذور نبات الماش عند رشه بفيتامين C إذ وصل إلى 29.81 غم عند التركيز 120 ملغم لتر⁻¹ بالمقابل 21.28 غم عند معاملة السيطرة وبنسبة زيادة 40.08%. ان زيادة حاصل البذور تعود ربما الى الاسباب الاتية: تأثير فيتامين C في تحسن مكونات الحاصل (عدد القرينات، عدد البذور في القرنة، وزن 100 بذرة) وزيادة امتلاء البذور بالمواد الكربوهيدراتية والبروتينية المخزونة في البذور (Osman *et al.*, 2014)، كما وان لفيتامين C دور في زيادة تركيز الصبغات ومنها الكلوروفيل (جدول 50) وحث عملية البناء الضوئي وزيادة تراكم نواتجها (الكربوهيدرات) المصنعة في الأوراق (جدول 51) إلى مواقع الخزن ومنها البذور وتحسن النمو الخضري والزهري (Naz *et al.*, 2016).

كما أن الرش بالهرمون براسينولايد (جدول 63) أدى إلى زيادة متوسط حاصل البذور وقد أعطى التركيز 4 ملغم لتر⁻¹ اعلى متوسط لهذه الصفة 28.06 غم وبفارق معنوي قياسا بمعاملة السيطرة التي أعطت اقل الحاصل بلغ 22.67 غم وبنسبة زيادة 23.78%. ترجع زيادة حاصل البذور الى دور البراسينولايد في زيادة محتوى البروتين والكربوهيدرات في الاوراق (source) ونقلها وتراكمها في البذور (sink) ومن ثم زيادة الحاصل (Maity and Bera, 2009)، كذلك يعد

هذا الهرمون الستيرويدي مهما في تحسن النمو الخضري والزهري عبر تشفير الجينات على انتاج الهرمونات الداخلية (IAA، GA₃، Zeatin) المسؤولة عن حث خلايا النبات في المناطق المرستيمية على الانقسام وزيادة حجمها (Serrano and Assmann, 2016).

اظهر التداخل الثنائي بين التراكيز الملحية وتراكيز فيتامين C اختلافات معنوية بين اوزان حاصل البذور، اذ تبين أن المعاملة المؤلفة من 0.9 ديسيسمنز.م⁻¹ مع التركيز 120 ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C أعطى أعلى متوسط لحاصل البذور 34.04 غم، فيما أعطت المعاملة المؤلفة من 15 ديسيسمنز.م⁻¹ مع عدم الرش بالفيتامين C اقل متوسط لهذه الصفة 16.60 غم، وكان لتداخل الثنائي بين التراكيز الملحية وتراكيز هرمون البراسينولايد تأثيرا معنويا ايضا في هذه الصفة، فقد تفوقت المعاملة المؤلفة من 0.9 ديسيسمنز.م⁻¹ مع التركيز 4 ملغم.لتر⁻¹ البراسينولايد معنويا على معاملات التداخل الاخرى بإعطائها أعلى متوسط لحاصل البذور 31.85 غم، بينما أعطت معاملة 15 ديسيسمنز.م⁻¹ وغير المرشوشة بالهرمون اقل متوسط لهذه الصفة 18.30 غم.

كما أشارت نتائج الجدول نفسه إلى التأثير المعنوي للتداخل الثنائي بين تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في هذه الصفة وقد أعطت معاملة الرش 120 ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C مع الرش بـ 4 ملغم.لتر⁻¹ هرمون البراسينولايد أعلى متوسط حاصل بذور بلغ 31.35 غم، فيما أعطت معاملة السيطرة أدنى متوسط لهذه الصفة بلغ 18.43 غم.

اظهر التداخل بين العوامل الثلاثة المدروسة اختلافات معنوية بين النباتات في هذه الصفة، إذ أعطت النباتات المروية بماء الحنفية والمرشوشة بتركيز 120 ملغم.لتر⁻¹ فيتامين C مع 2 ملغم.لتر⁻¹ البراسينولايد أعلى حاصل بذور بلغ 35.87 غم، بينما أعطت النباتات المروية بمياه ملوحتها 15 ديسيسمنز.م⁻¹ وغير المرشوشة بتراكيز الفيتامين والهرمون اقل حاصل بذور بلغ 13.37 غم، وهذا يؤكد ايضا التأثير السلبي للاجهاد الملحي في انخفاض حاصل البذور، فيما ساهمت عملية الرش بالفيتامين C وبراسينولايد في التغلب على الاثر السلبي للاجهاد عبر الزيادة في حاصل البذور، فقد اعطت النباتات المروية بنفس التركيز الملحي السابق والمرشوشة بتركيزي فيتامين C وهرمون البراسينولايد (120 و 4) ملغم.لتر⁻¹ بالتتابع حاصلًا لبذور 27.15 غم. يحمي فيتامين C الخلايا النباتية من ضرر الاكسدة بوصفه مضادا غير انزيمي وله دور في إنتاج مركبات الطاقة المهمة ومنها مركب ATP وتكوين الاحماض الامينية (Rebecca et al., 2018)، فيما يودي هرمون البراسينولايد دورا في زيادة فعالية المضادات غير الانزيمية (البرولين، حامض السالسيلك، فيتامين C، الفاتكوفيرول) التي تعمل على خفض تركيز الجذور الحرة وزيادة تركيز البروتين في البذور (Lee et al., 2008). تتفق هذه النتائج مع نتائج Rahman et al. (2017) و

AL-Amery and Mohammed و Hasan *et al.*(2017) خلال دراستهم على نبات الماش و

(2017) خلال دراستهم على نبات الفاصولياء.

جدول(63) دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في حاصل البذور(غم) في نبات

الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15.0	10.0	5.5	0.9		
18.43	13.37	16.77	20.08	23.52	0	0
21.08	16.17	19.33	23.77	25.06	2	
24.32	20.27	23.17	26.05	27.80	4	
22.32	18.76	21.66	23.37	25.52	0	60
25.09	21.10	24.36	26.76	28.14	2	
28.51	23.90	26.93	30.52	32.66	4	
27.24	22.76	25.91	29.11	31.16	0	120
30.84	25.23	29.06	33.20	35.87	2	
31.35	27.15	29.35	33.83	35.08	4	
	20.97	24.06	27.41	29.42	متوسط تأثير NaCl	
Vit.CxBR=0.05	NaCl x Vit.CxBR= 0.10		NaCl=0.03		L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
21.28	16.60	19.76	23.30	25.46	0	
25.31	21.26	24.32	26.88	28.77	60	
29.81	25.05	28.11	32.04	34.04	120	
Vit.C= 0.03	NaCl x Vit.C=0.06				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
22.67	18.30	21.45	24.19	26.73	0	
25.67	20.83	24.25	27.91	29.69	2	
28.06	23.77	26.48	30.13	31.85	4	
BR=0.03	NaCl x BR=0.06				L.S.D 0.05	

4-3-4-5 نسبة البروتين(%) في البذور :

اوضحت نتائج الجدول(64) ان نسبة البروتين في البذور بدت تتناقص نسبتها بزيادة تركيز

NaCl في مياه الري، وقد أعطى التركيز الملحي 15ديسيمنز.م⁻¹ اقل قيمة لمتوسط نسبة البروتين

وبنسبة انخفاض معنوية 26.18% قياسا بمعاملة السيطرة. يعزى سبب تأثير الملوحة NaCl في خفض نسبة البروتين في البذور ربما نتيجة لتثبيط عمليات امتصاص بعض المغذيات (S, P, N) المهمة في بناء الاحماض الامينية مؤدية بذلك الى تناقص محتواها في البذور او يعود السبب الى تثبيط فعالية الانزيمات الضرورية لعملية بناء البروتين كأنزيم Nitrate reductase (Shahi and Srivastava, 2018)، كذلك يسبب الاجهاد الملحي على خفض كفاءة البناء الضوئي وزيادة تولد ROS التي تعمل على تحطم البروتينات والاحماض النووية (Zhou et al., 2018).

أما تأثير فيتامين C فقد كان معنويا وقد أعطى التركيز 120 ملغم لتر⁻¹ أفضل متوسط لنسبة البروتين ونسبة زيادة 34.08% قياسا بمعاملة السيطرة. يساهم فيتامين C في زيادة نسبة البروتين ربما يعود الى اسباب عديده منها: مساهمته في تحفيز بناء البروتين واختزال فعالية انزيم المحلل للبروتين والمحافظة على الجهد الازموزي والاتزان الايوني (El-Hariri et al., 2010)، ودوره كمرافق انزيمي في التفاعلات الانزيمية لايض البروتين (Mittal et al., 2018)، وتأثيره في حث خلايا الجذور على الانقسام وتكوين مجموع جذري كثيف يتغلغل في التربة لتزداد عملية امتصاص العناصر الداخلة في بناء البروتين (Neelambari et al., 2018).

اشارت النتائج في الجدول (64) أيضا إلى وجود تأثير معنوي ايجابي في متوسط نسبة البروتين بزيادة تراكيز هرمون البراسينولايد، فعند رفع التركيز من 0 إلى 4 ملغم لتر⁻¹ كانت نسبة الزيادة 17.30%. لهرمون البراسينولايد دوراً مهماً في زيادة نسبة البروتين نتيجة لدوره في حث امتصاص العناصر الداخلة في بناء البروتين لاسيما النتروجين عن طريق تنشيط النمو الجذري و تحفيز الانزيمات التي تشارك في التصنيع الحيوي للأحماض الأمينية (Lv et al., 2018; Bajguz and Piotrowska-Niczyporuk, 2018)، اذ وجد ان الاضافة الورقية للبراسينولايد زادت من معدل امتصاص العناصر (Fe, K, P, N) ونسبة البروتين في حبوب نبات الحنطة (Eleiwa and Ibrahim, 2011).

كانت جميع التداخلات الثنائية بين التراكيز الملحية وتراكيز كل من فيتامين C وبراسينولايد وتراكيز فيتامين C وبراسينولايد مؤثرة بصورة معنوية في متوسط نسبة البروتين، واعطت المعاملات المولفة من 0.9 ديسيسمنز.م⁻¹ و 120 ملغم لتر⁻¹ فيتامين C و 0.9 ديسيسمنز.م⁻¹ مع 4 ملغم لتر⁻¹ براسينولايد و 120 ملغم لتر⁻¹ فيتامين C مع 4 ملغم لتر⁻¹ براسينولايد اعلى تركيز للبروتين (25.37، 22.70 و 23.22)% بالتتابع، فيما كان اقل تركيز لمتوسط نسبة البروتين (13.21، 14.22، 14.99)% عند المعاملتين المروييتين بالمياه المالحة 15 ديسيسمنز.م⁻¹ فقط و المعاملة غير المرشوشة بالفيتامين والهرمون بالتتابع.

جدول (64) دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في نسبة البروتين (%) في بذور نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

متوسط تأثير تداخل Vit.C x BR	NaCl (ديسيمنز.م ⁻¹)				BR (ملغم.لتر ⁻¹)	Vit.C (ملغم.لتر ⁻¹)
	15.0	10.0	5.5	0.9		
14.99	11.62	14.94	16.25	17.16	0	0
16.06	13.17	15.96	17.15	17.98	2	
17.44	14.84	16.92	18.07	19.94	4	
16.86	15.08	16.43	17.50	18.44	0	60
17.97	15.95	17.20	18.24	20.51	2	
18.96	16.98	17.78	19.07	21.99	4	
18.96	15.97	17.82	19.51	22.53	0	120
22.88	18.27	21.07	24.74	27.42	2	
23.22	20.00	22.23	24.49	26.16	4	
Vit.CxBR=0.10	15.76	17.82	19.45	21.35	متوسط تأثير NaCl	
	NaCl x Vit.C=0.21			NaCl=0.09	L.S.D 0.05	
متوسط تأثير Vit.C					متوسط تأثير تداخل NaCl x Vit.C	
16.17	13.21	15.94	17.16	18.36	0	
17.93	16.00	17.13	18.27	20.31	60	
21.68	18.08	20.37	22.91	25.37	120	
Vit.C= 0.06	NaCl x Vit.C=0.12				L.S.D 0.05	
متوسط تأثير BR					متوسط تأثير تداخل NaCl x BR	
16.94	14.22	16.40	17.75	19.38	0	
18.98	15.80	18.08	20.04	22.00	2	
19.87	17.24	18.98	20.54	22.70	4	
BR=0.06	NaCl x BR=0.12				L.S.D 0.05	

كان للتداخل الثلاثي بين العوامل الثلاثة المدروسة تأثير معنوي في هذه الصفة، وتفاوتت واختلفت معنويا النباتات المروية بماء الحنفية والمرشوشة بتركيزين (2 و 120) ملغم.لتر⁻¹ من الفيتامين والهرمون بالتتابع عن النباتات الاخرى واعطت 27.42%، في حين كان ادنى نسبة للبروتين في بذور النباتات المروية بمياه ملوحتها 15ديسيمنز.م⁻¹ وغير المرشوشة بالفيتامين و الهرمون 11.62%، وهذا يؤكد ايضا على التأثير السلبي للاجهاد الملحي في انخفاض تركيز

البروتين. ساهمت عملية الرش بالفيتامين C والبراسينولايد في معالجة التأثيرات السلبية للاجهاد الملحي عبر الزيادة في نسبة البروتين، فقد اعطت النباتات المروية بالتركيز الملحي نفسه و المرشوشة بالفيتامين C تركيزه 120 ملغم لتر⁻¹ والبراسينولايد تركيزه 4 ملغم لتر⁻¹ 20.00% قياسا بالنباتات السابقة. تعود الزيادة الحاصلة في نسبة البروتين في البذور الى الدور الايجابي لفيتامين C في قنص الجذور الحرة الناتجة من الاجهادات المختلفة وسلامة المسارات الايضية وزيادة الفعالية الانزيمية في بناء البروتين (Akram et al., 2017)، كذلك دور البراسينولايد في تقليل الاضرار السلبية للاكسدة وخفض تركيز الجذور الحرة (Kaur et al., 2018). تناغمت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج (Riaz et al., 2014) و Tayde et al. (2018) خلال دراستهم على نبات الماش.

4-3-5 دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في تركيز بعض المواد الفعالة (مايكرو غرام مل⁻¹) في بذور نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

اوضحت نتائج الجدول (65) ان المواد الفعالة Tannic ، Hydroxy-benzonic acid ، Chlorogenic acid ، Ferulic acid ، Syringic acid ، Quercetin ، Gallic acid ، Protocatechuric acid و Coumaric acid ،Sikimick acid ،Gentisic acid ،acid ازداد تركيزها بزيادة تراكيز NaCl وبغض النظر عن تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد فقد أعطى التركيز 15 ديسيسمنز م⁻¹ اعلى تركيز للمواد الفعالة اعلاه باستثناء Ferulic acid وبنسبة زيادة معنوية (197.24، 43.36، 22.18، 195.11، 11.82، 21.99، 24.26، 33.12، 20.97، 64.64) % بالتتابع قياسا بالتركيز 0.9 ديسيسمنز م⁻¹. تزداد المركبات الفينولية بزيادة شدة الاجهادات المختلفة التي يتعرض لها النبات ومنها الاجهاد الملحي فهي تعمل ككاسحات لجذور الحرة منها Superoxide و 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) و 3-Ethylbenz و thiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) وعن طريق معادلة الجذور الضارة قبل ان تحطم الخلايا وتثبيط انزيمات التي تعمل على توليد الجذور الحرة (Xanthine oxidase ، Lipoxigenase ، Cyclooxygenase ، Protein kinase ، NADH Oxidase) (Minh et al., 2016; Shweta et al., 2017; Scagel et al., 2019). اكدت العديد من الدراسات على اهمية الاحماض الفينولية في تحمل النبات للملوحة، فقد لوحظ ان p-Coumaric acid له دور في اختزال الاجهاد التاكسدي لاحتوائه على مجموعة الهيدروكسيلية وزيادة المركبات المعدلة للجهد الازموزي (Jamalian et al., 2013)، بينما يساهم Ferulic acid بتقوية جدار الخلية و تعديل الضغط الازموزي وتنشيط بعض مضادات الاكسدة الانزيمية (Superoxide ، Catalase) و Quaiacol peroxidase ،dismutase) وزيادة تركيز البرولين والسكريات والمحتوى المائي

في الاوراق (Li *et al.*,2013)، في حين يساهم Protocatechuric acid في زيادة تركيز صبغة الكلوروفيل وتركيز مضادات الاكسدة الانزيمية (Ascorbate peroxidase، SOD، CAT، POD) (Xuan and Khang,2018).

جدول (65) دور رش تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد في تركيز المادة الفعالة (مايكرو غرام.مل⁻¹) في بذور نبات الماش المعرض للاجهاد الملحي.

L S D	المعاملات								المادة الفعالة	ت
	(15) NaCl				(0.9) NaCl					
	Vit.C (120) BR (4)	BR (4)	Vit.C (120)	Vit.C (0) BR (0)	Vit.C (120) BR (4)	BR (4)	Vit.C (120)	Vit.C (0) BR (0)		
0.19	<u>147.85</u>	102.77	119.15	69.97	132.86	76.91	48.15	23.54	Hydroxybenzonic acid	1
0.22	<u>70.80</u>	68.13	70.95	36.30	89.39	49.86	62.73	25.32	Tannic acid	2
0.15	138.61	101.41	<u>148.78</u>	61.19	125.00	70.27	129.83	50.08	Gallic acid	3
2.76	<u>401.59</u>	366.14	342.63	337.13	237.51	164.19	130.13	114.24	Quercetin	4
0.20	<u>308.55</u>	238.04	278.63	131.49	304.86	157.15	294.77	117.59	Syringic acid	5
2.31	<u>530.59</u>	306.50	415.49	201.98	519.34	275.21	408.49	213.10	Ferulic acid	6
0.19	<u>144.05</u>	88.01	88.74	49.99	92.34	63.13	105.01	40.98	Chlorogenic acid	7
0.13	<u>348.83</u>	179.14	195.61	112.21	203.64	140.49	169.24	90.30	Gentisic acid	8
0.27	<u>382.31</u>	351.07	351.07	206.43	349.07	212.45	283.14	155.07	Shikimic acid	9
0.25	<u>193.74</u>	160.58	160.58	84.83	100.51	131.25	108.85	70.24	Coumaric acid	10
0.28	<u>188.32</u>	126.03	126.03	92.79	148.31	122.01	112.01	56.36	Protocatechuric acid	11

اعطت معاملة التداخل (120 ملغم.لتر⁻¹ الفيتامين و4 ملغم.لتر⁻¹ الهرمون مع التركيز 15 ديسيسمنز.م⁻¹) افضل القيم وذلك لاعطائها اعلى تراكيز للمواد الفعالة باستثناء Tannic acid وبنسبة زيادة (11.28، 10.89، 69.08، 1.21، 2.17، 56.00، 71.30، 9.52، 92.76، 26.98) % قياسا بمعاملة التداخل (120 ملغم.لتر⁻¹ الفيتامين و4 ملغم.لتر⁻¹ الهرمون مع التركيز 0.9 ديسيسمنز.م⁻¹). يعمل الفيتامين والهرمون على تحفيز تجمع المواد الفينولية في النباتات النامية بأوساط الملحية لتخفيف الاضرار السلبية للملوحة واكسدة ROS وابطال فعاليتها السمية لما تكتسبه الفينولات على وهب الالكترونات (Xi *et al.*,2013; Eman and Helal,2008). جاءت هذه النتائج مطابقة مع نتائج (Rebey *et al.*(2017) و (Ebtihal *et al.*(2018) و Hamed and Abd Elgawad(2018) خلال دراستهم على نباتات الكمون والحمص والفاصوليا بالتتابع.

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات:

في ضوء النتائج التي تم التوصل إليها من خلال التجربة النسيجية يمكن استنتاج الآتي:

- 1- ان انسب تركيز لتعقيم بذور نبات الماش هو 2% من NaOCl ولمدة 15 دقيقة.
 - 2- تفوقت التوليفة الهرمونية المتكونة من NAA بتركيز 0.5 ملغم لتر⁻¹ و BA بتركيز 2 ملغم لتر⁻¹ عن التوليفات الاخرى والسويقة الجينية العليا والسفلى عن الاجزاء النباتية الاخرى بأعطائها افضل كالس مستحث.
 - 3- ساهمت التراكيز الملحية المضافة الى الوسط الغذائي لاسيما في التركيز 15 ديسيسمنز م⁻¹ بانخفاض تدريجي ومعنوي في معظم مؤشرات الكالس المدروسة .
 - 4- وجود تحسن في معظم مؤشرات الكالس المدروسة بزيادة تراكيز فيتامين C وهرمون البراسينولايد المضافة الى الوسط الغذائي لاسيما في التركيزين 40 ملغم لتر⁻¹ من الفيتامين و 0.04 ملغم لتر⁻¹ من الهرمون.
 - 5- ساهمت التوليفة الناتجة من 40 ملغم لتر⁻¹ من الفيتامين و 0.02 ملغم لتر⁻¹ من الهرمون باختزال الاجهاد الملحي لاسيما في التراكيز الملحية العالية.
 - 6- ازداد تراكيم معظم المواد الفعالة (الفينولية) في الكالس بزيادة التركيز الملحي وتراكيز الفيتامين والهرمون المضافة الى الوسط الغذائي.
 - 7- اختلفت عملية الاخلاف لنباتات ناتجة من كالس نامي بالتراكيز الملحية المختلفة بأختلاف نوعية الساييتوكاينين المستعمل وتركيزه المضاف الى الوسط الغذائي.
 - 8- نجاح اقلية النباتات ناتجة من كالس نامي بمستويات ملحية مختلفة ونقلها لظروف الحقل وصولا الى مرحلة انتاج الحاصل.
 - 9- اختلف عدد الحزم المتضاعفة واحجامها الجزيئية بين النباتات الناتجة من كالس معرض لتراكيز ملحية مختلفة والنباتات الناتجة من البذور نسيجيا باعتماد تقانه RAPD.
- اما من نتائج التجربة الحقلية فنستنتج مايلي:
- 1- انخفضت معظم المؤشرات المظهرية والفسولوجية لنبات الماش ونموه الزهري و مكونات حاصله وازدادت فعالية الانظمة الاكسدة (الانزيمية وغير الانزيمية) بزيادة التراكيز الملحية في مياه الري.

- 2- زيادة نمو النبات المدروس (مظهريا وفسيوولوجيا) وحاصله بزيادة تراكيز الفيتامين و الهرمون المرشوشه.
- 3- المحصلة النهائية للنتائج التجربة الحقلية ان عملية الرش بالفيتامين والهرمون ساهمت باختزال الاجهاد الملحي لاسيما التوليفة الناتجة من (120 و4) ملغم لتر⁻¹ من الفيتامين و الهرمون بالتتابع.
- 4- زيادة المواد الفعالة (الفينولية) بزيادة تراكيز الاجهاد الملحي مع التفوق الواضح لمعاملة التداخل (120 ملغم لتر⁻¹ الفيتامين و 4 ملغم لتر⁻¹ الهرمون مع التركيز الملحي 15 ديسيمنز م⁻¹) قياسا بمعاملات التداخل الاخرى.

التوصيات:

في ضوء نتائج الدراسة الحالية نوصي ما يأتي:

- 1- اجراء دراسات على كالس محاصيل بقولية اخرى نامية ضمن ظروف ملحية واقلمتها ومتابعة نموها.
- 2- استثمار تقنية زراعة الخلايا المعلقة Cell Suspension Culture في انتخاب وعزل الخلايا المتحملة للملوحة.
- 3- اجراء تجارب وراثية للكشف عن الجينات المسؤولة عن تحمل الاجهاد الملحي والاجهادات الاخرى.
- 4- استعمال مركبات كيميائية اخرى (رشا او نقعا) للحد من الاثار السلبية للملوحة.
- 5- اجراء دراسات مكثفة على المواد الفعالة (نوعية وكمية) لنبات الماش وادراجه ضمن النباتات الطبية في الكتب والبحوث.

المصادر العربية:

- أبو زيد، الشحات نصر. (2000). الهرمونات النباتية والتطبيقات الزراعية. الطبعة الثانية. الدار العربية للنشر والتوزيع.
- الاركوازي، اسو لطيف عزيز. (2016). تأثير الرش الورقي ببيروكسيد الهيدروجين وفيتامين C في نمو وحاصل صنفين من نبات الشعير المزروعة في المنطقة الديمة. اطروحة دكتوراه، كلية التربية / ابن الهيثم، جامعة بغداد.
- الاسدي، ماهر حميد سلمان. (2018). اساسيات النباتات الطبية ومركباتها الفعالة. كلية الزراعة، جامعة القاسم الخضراء، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.
- التميمي، رنين جواد علي. (2016). تأثير تراكيز مستخلص ثمار الحنظل ومنظمات النمو و NaCl في استحثاث الكالس من أجنة بذور الجت خارج الجسم الحي. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد.
- الجبوري، وائل شاكر حميد. (2017). تأثير حامض الجبرلين والبراسينولايد في بعض صفات النمو والحاصل لصنفين من نبات الشبنت (*Anethum graveolens* L.). رسالة ماجستير، كلية التربية للعلوم الصرفة/ابن الهيثم، جامعة بغداد.
- الجديشي، وليد خالد شحادة. (2019). تأثير التسميد الفوسفاتي والرش بالبورون في بعض صفات نمو وحاصل الماش المحلي في تربة مزيجية غرينية. مجلة جامعة كركوك للعلوم الزراعية، 10(1):110-104.
- الحمزاوي، مجيد كاظم عباس. (2013). فسيولوجيا والبيولوجيا الجزيئية لتحمل الاجهاد في النباتات. مطبعة الميزان، الطبعة الاولى، النجف الاشرف، العراق.
- الحمزاوي، مجيد كاظم عباس. (2016). الاجهاد اللاحيوي في النباتات. المكتبة الوطنية، الطبعة الاولى، كلية الزراعة، جامعة القادسية.
- الدوري، وليد محمد. (2005). تحمل الملوحة لحنطة الخبز المروية بالماء المالح خلال مراحل نمو مختلفة. اطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة بغداد.
- رحيم، عمر حارز وعباس، اديب جاسم. (2015). تأثير الرش بالسماد العضوي (حامض الهيومك) ومنظم النمو البراسينولايد في العقد والتساقط وبعض صفات النمو الخضري والزهري والثمري للبرتقال المحلي. مجلة ديالى للعلوم الزراعية، 7(2): 78-89.
- الرفاعي، عبد الرحيم توفيق والشوبكي، سمير عبد الرزاق. (2007). زراعة الأنسجة والإكثار الدقيق للنبات. المكتبة المصرية للطباعة والنشر، الطبعة الأولى، كلية الزراعة، جامعة المنيا، جمهورية مصر العربية.
- زيدان، محمد محمود. (2017). أستحداث التغيرات الوراثية باستخدام مستخلص الحنظل وأشعة كما في كالس أصناف من الحنطة لتحمل الجفاف والملوحة خارج الجسم الحي. اطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة بغداد.
- الساھوكي، مدحت مجيد والخفاجي، مصطفى جمال. (2014). آلية تحمل النبات لشد الملوحة. مجلة العلوم الزراعية العراقية، 45(5):438-430.

- السعدي، حسن عبد الرزاق علي؛ الساعدي، عباس جاسم حسين؛ القزاز، امل غانم محمود. (2016). تأثير الجفاف والرش الورقي لحامض السالسليك في بعض صفات النمو الخضري و الحاصل لنبات الحلبة (*Trigonella foenum-graecum* L.). وقائع مؤتمر الوراثة والبيئة العلمي الدولي الرابع في القاهرة / جمهورية مصر العربية، 4(1):308-318.
- السعدي، حسن عبد الرزاق علي؛ الساعدي، عباس جاسم حسين؛ القزاز، امل غانم محمود؛ يحيى، سهاد سعد وناصر، رغد حامد. (2014). التأثير التآزري للرش بالبوتاسيوم والكاينتين في نمو ومحتوى بعض العناصر الغذائية لنبات العدس (*Lens culinaris* Medic.). مجلة جامعة كربلاء العلمية، 12(4):263-272.
- السعدي، حسن عبد الرزاق علي. (2006). تأثير التراكيز المتزايدة من كلوريد الصوديوم في نمو اصناف مستنبطة حديثا من الحنطة النامية في محلول مغذٍ، رسالة ماجستير، كلية التربية / ابن الهيثم، جامعة بغداد.
- السعدي، علي حمود؛ الشريف، عباس نوري والطريحي، منى نجاح. (2013). مبادئ الاكسدة ومضاداتها. دار الرضوان للنشر والتوزيع، عمان، المملكة الاردنية الهاشمية، 270ص.
- شكري، وفاء محمد والمعيقل، ريم محمد. (2013). زراعة الخلايا والأنسجة النباتية، مكتبة المتنبى للتوزيع والنشر. المملكة العربية السعودية.
- الصميدعي، كاظم محمد ابراهيم. (2017). تطبيقات في التقانات الاحيائية النباتية. الطبعة الاولى، الجزء الاول، الدار الجامعية للطباعة والنشر والترجمة، جامعة النهريين، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.
- عبد الحافظ، احمد أبو اليزيد. (2006). استخدام الأحماض الامينية والفيتامينات في تحسين أداء ونمو وجودة الحاصلات البستانية تحت الظروف المصرية. المكتب العلمي لشركة المتحدون للتنمية الزراعية. كلية الزراعة، جامعة عين الشمس.
- عبد الرزاق، رشا فوزي (2012). انتاج نباتات من كالس سيفان نبات الماش. مجلة التربية والعلم، 25(1):77-85.
- عبد العظيم، منى سمير و احمد، شذى عبد المحسن. (2017). تأثير حامض الاسكوربيك في بعض صفات النمو لصنفين من الذرة الصفراء تحت الشد المائي. مجلة مركز بحوث التقنيات الاحيائية، 11(1):28-36.
- عبود، ساجدة عزيز و جمعه، نهال عزت. (2018). تأثيرات معاملة بذور الماش *Vigna radiata* بالامينوبرتين والترايميثوبريم في فعالية انزيم الداى هيدروفوليت رديكتيز ونمو بادراته وكالسه. مجلة علوم الرافدين، 27(2):64-71.
- العلوي، حسن هادي مصطفى. (2015). تأثير الاضافة الخارجية لحامض السالسليك والاسكوربيك في نشاط النظام غير الانزيمي في نباتات C3 و C4 تحت اجهاد ملح NaCl. اطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة بغداد.
- علي، نور الدين شوقي. (2012). الاسمدة وتطبيقاتها. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جامعة بغداد، كلية الزراعة.

الكعبي، اخلاص عبد الكريم جاسم.(2016). تأثير الشد الملحي وإضافة بعض البادئات في تحسين إنتاج قلويد الكابيسين في نبات الفلفل *Capsicum annuum* L. خارج الجسم الحي وتحديد الثبات الوراثي باستعمال مؤشرات الدنا الجزيئية. اطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة الكوفة.

الكعبي، حسين خلف ؛ عبد القادر، لمى حسين و قاسم، حسن عبد الكريم.(2016). الاضافتان التدريجية والمباشرة لملاح كلوريد الصوديوم ودور حامض البرولين في التقليل من اثارهما في صنفين من الحنطة المستزرع نسيجيا. مجلة جامعة ذي قار للبحوث الزراعية، 5(1):111-130.

محمد، عبدالمطلب سيد وعمر، مبشر صالح.(1990). المفاهيم الرئيسية في زراعة الخلايا والانسجة والاعضاء للنبات. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جامعة الموصل، العراق.

مديرية الاحصاء الزراعي في الجهاز المركزي للإحصاء وتكنولوجيا المعلومات.(2016). تقرير انتاج المحاصيل والخضراوات. وزارة الزراعة - العراق.

مرهج، ايفان ابراهيم و شهيد، عبدالله ابراهيم.(2016). تأثير سمية الصوديوم في سلامة الاغشية الخلوية وبعض المعايير الفسلجية في عقل الخيار. *Cucumis sativus* L. مجلة الفرات للعلوم الزراعية، 8(3):23-32.

المشهداني، احمد جميل محمود.(2018). استجابة معايير النمو وحاصل الذرة الصفراء لمنظم النمو البراسينولايد. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

المنتفجي، حيدر ناصر حسين.(2016). دور السيلينيوم والبراسينولايد في النمو والمركبات الفعالة لنبات الكزبرة (*Coriandrum sativum* L.) المعرض للاجهاد المائي. اطروحة دكتوراه، كلية التربية للعلوم الصرفة/ابن الهيثم، جامعة بغداد.

وهيب، كريمه محمد.(2015). تقنيات تحديد آليات تحمل شد الملح في محاصيل الحبوب. مجلة العلوم الزراعية العراقية، 46(2):103-119.

الوهيبي، محمد بن حمد.(2009). الملوحة ومضادات الاكسدة. قسم النبات والاحياء الدقيقة. كلية العلوم، جامعة الملك سعود.

المصادر الأجنبية:

- Abbas, H.K.** (2018). Salt Stress Tolerance of Strawberry (*Fragaria X ananassa* Duch) *In vitro* and *In vivo* and Induced Genetic Variation. Ph. D.Thesis, Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, University of Baghdad.
- Abd Allah, E.F.**; Alqarawi, A.A.; Hashem, A.; Wirth, S. and Egamberdieva, D. (2018). Regulatory roles of 24-epibrassinolide in tolerance of *Acacia gerrardii* Benth to salt stress. *Bioengineered*, 9(1):61-71.
- Abdullah, Z.**; Khan, M.A. and Flowers, T.J. (2001). Causes of sterility in seed set of rice under salinity stress. *J. Agron. Crop Sci.*,167(1):25-32.
- Abdul-Qadir, L.H.** (2017).Effect of seawater salinity on growth, sodium and potassium concentrations, proline and antioxidant enzymes in tomato callus. *J. Basrah Resea.*, 43(1):1-9.
- Abouzari, A.** and **Fakheri, B.A.**(2015). ROS: generation, oxidative damage, and signal transduction. *Int. J. Life Sci.*, 9(5):3-17.
- Acosta-Motos, J.R.**; Ortuño, M.F.; Bernal-Vicente, A.; Diaz-Vivancos, P.; Sanchez-Blanco, M.J. and Hernandez, J.A. (2017). Plant Responses to Salt Stress: Adaptive Mechanisms. *Agronomy*, 7(18):1-38.
- Aebi, H.**(1974). Catalase. In: *Methods of Enzymatic Analysis*, Bergmeyer, H.U. (Ed.), 2nd Ed., Academic Press, New York, USA. 2: 673-684.
- Aftabi, M.**; Negawo, A.T. and Hassan, F. (2018). Improved protocol for agrobacterium-mediated transformation of pea. *Mol. Biol.*,7(1):1-6.
- Agiza, A.H.**; El-Hineidy, M.T. and Ibrahim, M.E. (1960). The determination of the different fractions of phosphors in plant and soil. *Bull. FAO. Agric. Cairo Univ.*, 121.
- Ahmad, F.**; Singh, A. and Kamal, A. (2018). Crosstalk of brassinosteroids with other phytohormones under various a biotic stresses. *J. App. Biol. Biotech.*, 6(1):56-62.
- Ahmad, P.**; Abd-Allah, E.F.; Alyemeni, M.N.; Wijaya, L.; Alam, P. Bhardwaj, R. and Siddique, K.H.M. (2018). Exogenous application of calcium to 24-epibrassinosteroid pretreated tomato seedlings mitigates NaCl toxicity by modifying ascorbate–glutathione cycle and secondary

metabolites. Scientific Reports| (2018) 8:13515 | DOI: 10.1038/s41598-018-31917-1.

Ahmad, R.A.H. (2017). The effect of growth medium and nodes number on the acclimatization success of tissue propagated potatoes seedlings (*Solanum tuberosum* L.). Inter. J. Sci. and Res., 6(4):1478-1482.

Akram, N.A.; Shafid, F. and Ashraf, M. (2017). Ascorbic acid a potential oxidant scavenger and its role in plant development and a biotic stress tolerance. Front. Plant Sci., 8(613):1-17.

AL-Amery, N.J. and **Mohammed**, M.M. (2017). Influence of adding ascorbic acid and yeast on growth and yield and Rhizobium of snap bean under irrigation with saline water. J. Agri. Vet. Sci., 10(10):23-28.

Al-Amin, H.M.M. (2018). The Potential of Increasing Phenols in *Coleus blumei* *In Vivo* and *In Vitro* and the Antimicrobial Activity of Intact Extract. Ph.D.Thesis, Coll. of Sci., Univ. of Baghdad.

Alharby, H.F.; Al-Zahrani, H.S.; Hakeem, K.R. and Iqbal, M. (2018). Identification of physiological and biochemical markers for salt (NaCl) stress in the seedlings of mungbean genotypes. Saudi J. Biol. Sci., 26(5): 1053-1060.

Alhasnawi, A.N. (2017). Tissue culture technician and *in vitro* screening of rice callus for salt tolerance J. Global Pharm. Technol., 11(9):67-74.

Alhasnawi, A.N.; Zain, C.C.; Kadhimi, A. A.; Isahak, A.; Mohamad, A. and Yusoff, W.W. (2017). Accumulation of antioxidants in rice callus induced by β -glucan and salt stress. AJCS., 11(1):118-125.

Alhasnawi, A.N.; Zain, C.C.; Kadhimi, A.A.; Isahak, A.; Mohamad, A. Z.; Ashraf, M.F.; Doni, F. and Yusoff, W.W. (2016). Impact of exogenous ascorbic acid on biochemical activities of rice callus treated with salt stress. AIP Conference Proceedings 1784, 020005 (2016); doi: 10.1063/1.4966715.

Al-Hatab, Z.M.S. (2018). Interactive Effect of Potassium and Salt Stress on Some Physiological and Biochemical Characteristics in Two Cultivars of Sunflower(*Helianthus annuus* L.) Plant. Ph.D. Thesis, Depart. Bot. and Microbial. Faculty of Sci., Alexandria Univ.

- Al-Hattab**, Z.N.; Al-Ajeel, S.A. and El Kaaby, E.A. (2016). Effect of salinity stress on *Capsicum annuum* callus growth, regeneration and callus content of capsaicin, phenylalanine, proline and ascorbic acid. *J. Life Sci.*, 9:304-310.
- Ali**, B.; Hayat, S.; Fariduddin, Q. and Ahmad, A. (2008). 24-Epibrassinolide protects against the stress generated by salinity and nickel in *Brassica juncea*. *Chemosphere*, 72(9):1387-1392.
- AL-Judy**, N.J. and **Majeed**, R.E. (2013). Morphological, biochemical and molecular characterization of ten rhizobial bacteria isolates. *Iraqi J. Sci.*, 54(2):280-287.
- Al-Kaisy**, W.A. and **Mahadi**, S.F. (2017). Influence of foliar application with abscisic acid (ABA) and vitamin c on some plant hormones for pea plant. *Ibn Al-Haitham J. Pure and Appli. Sci.*, Special Issue, 64-74.
- Alla**, M.N.; Badran, E. and Mohammed, F. (2019). Exogenous trehalose alleviates the adverse effects of salinity stress in wheat. *Turk. J. Bot.*, 43: 48-57.
- Anjum**, M.S.; Ahmad, Z.I. and Rauf, C.A. (2006). Effect of rhizobium inoculation and nitrogen fertilizer on yield components of mungbean. *Int. J. Agri. Biol.*, 8(2):238-240.
- Ann**, G.W.; Kang, T.W.; Jeong, J.H. and Jo, B.K. (2004). Clinical studies on the anti-irritation effects of mungbean (*Phaseolus aureus*) extract in cosmetics. *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, 30(1):23-28.
- Anwar**, A.; Liu, Y.; Dong, R.; Bai, L.; Yi, X. and Li, Y. (2018). The physiological and molecular mechanism of brassinosteroid in response to stress: a review *Biol. Res.*, 51(46):1-25.
- Anwar**, F.; Latif, S.; Przybylski, R.; Sultana, B. and Ashraf, M. (2007). Chemical composition and antioxidant activity of seeds of different cultivars of mungbean, *J. Food Sci.*, 72(7):503-510.
- Arab**, L. and **Ehsanpour**, A.A.(2006).The effect of ascorbic acid on salt induced alfalfa *in vitro* culture. *Inter. J.*, 18(2):63-69.
- Arefin**, Md. R.; Saikat, M.M.H.; Sarker, Mr. U.; Abdul Karim, M. and Rahman, Md. S. (2018). Effect of chloride and sulfate salinity on *in vitro* regeneration of rice. *Int. J. Biosci.*, 13(1):36-41.

- Atabaki**, N.; Nulit, R.; Kalhori, N.; Lasumin, N.; Sahebi, M. and Abiri, R. (2018). *In vitro* selection and development of malaysian salt-tolerant rice under salinity. *Act. Sci. Agri.*, 2(8):8-17.
- Athar**, H.R.; Khan, A. and Ashraf, M. (2008). Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt - induced oxidative stress in wheat. *Environ. Exp. Bot.*, 63:224-231.
- Athar**, H.R.; Khan, A. and Ashraf, M. (2009). Inducing salt tolerance in wheat by exogenously applied ascorbic acid through different modes. *J. Plant Nutr.*, 32:1799-1817.
- Azhar**, N.; Su, N.; Shabala, L. and Shabala, S. (2017). Exogenously applied 24-epibrassinolide (EBL) ameliorates detrimental effects of salinity by reducing K^+ efflux via depolarization - activated K^+ channels. *Plant Cell Physiol.*, 58(4):802–810.
- Azzedine**, F.; Hocine, G. and Mebarek, B. (2011). Improvement of salt tolerance in durum wheat by ascorbic acid. *J. Stress. Physiol. and Biochem.*, 7(1): 27-37.
- Bagci**, S.A.; Ekiz, H. and Yillmaz, A. (2007). Salt tolerance of sixteen wheat genotypes during seedling growth. *Turk. J. Agric.*, 31:363-372.
- Bahmani**, K.; Sadat Noori, S.A.; Darbandi, A.I. and Akbari, A. (2015). Molecular mechanisms of plant salinity tolerance: a review. *AJCS.*, 9(4): 321-336.
- Bajaj**, K.L. and **Kaur**, G. (1981). Spectrophotometric determination of L- ascorbic acid in vegetables and fruits. *Analyst.*, 106(1258): 117-120.
- Bajguz**, A. and **Piotrowska-Niczyporuk**, A. (2018). Interactive effect of brassinosteroids and cytokinins on growth, chlorophyll, monosaccharide and protein content in the green alga *Chlorella vulgaris*. *Plant Physiol. Biochem.*, 80:176-183.
- Barth**, C.; De Tullio, M. and Coklin, P.L. (2006). The role of ascorbic acid in the control of the flowering time and the onset of senescence. *J. Exp. Bot.*, 57(8):1657-1665.
- Baskaran**, L.; Sundaramoorthy, P.; Chidambaram, A.L.A. and Ganesh, K.S. (2009). Growth and physiological activity of green gram (*Vigna radiata* L.) under effluent stress. *Bot. Res. Int.*, 2(2):107-114.
- Bates**, L.S.; Waldron, R.P. and Tears, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-207.

- Baum, B.R.;** Mechands, S.; Penner, G.A. and Edin, A.B. (1998). Establishment of a scheme for the identification of Canadian barley (*H. vulgare* L.) six row cultivars using RAPD diagnostic bands. *Seed Sci. and Technol.*, 26:499-462.
- Belmecheri-Cherif, H.;** Albacete, A.; Martínez-Andújar, C.; Pérez-Alfo cea, F. and Abrous-Belbachir, O.(2019). The growth impairment of salinized fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) plants is associated to changes in the hormonal balance. *J. Plant Physiol.*, 232:311-319.
- Belt, K.;** Huang, S.; Thatcher, L.F.; Casarotto, H.; Singh; K.; Van Aken, O. and Millar, A.H. (2017). Salicylic acid-dependent plant stress signaling via mitochondrial succinate dehydrogenase. *Plant Physiol.*, 173(4): 2029-2040.
- Bhardwaj, R.;** Sharma, I.; Kapoor, D.; Vandana Gautam, P.; Kaur, R.; Bali, S. and Sharma, A. (2014). *Brassinosteroids: Improving Crop Productivity and A biotic Stress Tolerance*: P. Ahmad and M.R. Wani (eds.), *Physiological Mechanisms and Adaptation Strategies in Plants under Changing Environment: Vol. 2*. Springer Science Business Media New York, 161-187.
- Blakesley, D.;** Weston, G.D., and Hall, J.F. (1991). The role of endogenous auxin in root initiation. I. Evidence from studies on auxin application, and analysis of endogenous level. *Plant Growth Reg.*, 10(4):341-353.
- Blokhina, O.;** Virolainen, E. and Fagerstedt, K.V. (2003). Antioxidant, oxidative damage and oxygen deprivation stress. A review *Ann. Bot.*, 91 (2):179-190.
- Boldt, R. and John, G.S.** (1995). Circadian regulation of the Cat3 catalase gene in maize (*Zea mays* L.): entrainment of the circadian rhythm of Cat3 by different light treatments. *The Plant J.*, 7(6):989-999.
- Bubulya, P.** (2012). *Cell Metabolism - Cell Homeostasis and Stress Response*. In Tech. Pub. Croatia. 208p.
- Buchanan, B.B.;** Gruissem, W. and Jones, L.R. (2015). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Black Well. Oxford. 1280P.
- Chapman, H.D. and Pratt, F.P.** (1961). *Methods of Analysis for Soils, Plants and Water*. Univ., Calif., Div., Agric., Sci., 161-170.

- Cha-um, S.** and **Kirdmanee, C.** (2009). Effect of salt stress on proline accumulation, photosynthetic ability and growth characters in two maize cultivars. *Pak. J. Bot.*, 41(1):87-98.
- Conklin, P.L.** (2001). Recent advances in the role and biosynthesis of ascorbic acid in plants. *Plant cell and environ.*, 24(4):383-394.
- Corpas, F.J.; Barroso, J.B.** and **del Rio, L.A.** (2001). Peroxisomes as a source of reactive oxygen species and nitric oxide signal molecules in plant cells. *Trends Plant Sci.*, 6(4):145-150.
- Dar, M.I.; Naikoo, M.I.; Rehman, F.; Naushin, F.** and **Khan, F.A.**(2016). *Proline Accumulation in Plants: Roles in Stress Tolerance and Plant Development.* Springer, India, pp:155-166.
- Davies, P.J.** (1995). *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology.* Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands; Norwell, MA, USA.
- De Gara, L.** (2004). Ascorbate metabolism and plant growth: from germination to cell death. In **Asard, H. May, JM. Smirnoff, N.** Eds. *Vitamin C. Function and biochemistry in animals and plants.* Oxford, UK: BIOS Scientific Publishers, 83-95.
- del Rio, L.A.; Corpas, F.J.; Sandalio, L.M.; Palma, J.M.; Gomez, M.** and **Barroso, J.B.** (2002). Reactive oxygen species, antioxidant systems and nitric oxide in peroxisomes. *J. Exp. Bot.*, 53(372):1255-1272.
- Divi, U.K.** and **Krishna, P.** (2009). Brassinosteroids: a biotechnological target for enhancing crop yield and stress tolerance. *New Biotechnol.*, 26:131-136.
- Ebtihal, M.E.; Mervat, S.S.** and **Tawfik, M.M.** (2018). Glutathione treatment alleviates salinity adverse effects on growth, some biochemical aspects, yield quantity and nutritional value of chickpea plant. *SF J. Global Warming*, 2:2.
- Efferth, T.** (2019). Biotechnology applications of plant callus cultures. *Engineering*, 5(1):50-59.
- Ejaz, B.; Sajid, Z.A.** and **Aftab, F.** (2012). Effect of exogenous application of ascorbic acid on antioxidant enzyme activities, proline contents and growth parameters of *Saccharum* spp. Hybrid cv.HSF-240 under stress. *Turk. J. Biol.*, 36:630-640.

- Eleiwa**, M.E. and **Ibrahim**, S.A. (2011). Influence of brassinosteroids on wheat plant (*Triticum aestivum* L.) production under salinity stress. *Aus. J. Basic App. Sci.*, 5(5):49-57.
- El-Hariri**, D.M.; Sadak, M.S. and El-Bassiouny, H.M.S. (2010). Response of flax cultivars to ascorbic acid A-Tocopherol under salinity stress conditions. *Int. J. Acad. Res.*, 2(6):101-109.
- El-Kaaby**, E.A.J.; Al-Ajeel, S.A. and Al Hattab, Z.N. (2015). Effect of plant hormones on callus induction from fruit and seedling explants of Chilli pepper (*Capsicum annuum* L.). *J. Life Sci.*, 9:18-26.
- El-Mashad**, A.A. and **Mohamed**, H.I.(2011). Brassinolide alleviates salt stress and increases antioxidants activity of cowpea plants (*Vigna sinensis*). *Protoplasm.*, 249(3):625-635.
- Elsahookie**, M.M. (2007). Genetic control of flowering mechanism. *TIJ AS*, 38(1):1-11.
- El-Yacoubi**, H.; Ayolie, K. and Rochdi, A. (2010). *In vitro* cellular salt tolerance of *Troyer citrange*: changes in growth solutes accumulation in callus tissue. *Int. J. Agric. Biol.*, 12(2):187-193.
- Emam**, M.M. and **Helal**, N.M. (2008). Vitamins minimize the salt induced oxidative stress hazards. *Aust. J. Basic Appl. Sci.*, 2(4):1110-1119.
- Engwa**, G.A. (2018). Free Radicals and the Role of Plant Photochemical as Antioxidants against Oxidative Stress-Related Diseases. [http://dx. doi.org/ 10.5772/intechopen.76719](http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.76719)
- Epstein**, E. and **Bloom**, A.J. (2005) Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives. 2nd Ed., Sinauer Associates, Sunderland.
- Erwin**, E. and **Houba**, V. (2004). Plant Analysis Procedures. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands. pp.179.
- Faize**, M.; Burgos, L.; Faiz, L.; Piqueras, A.; Nicolas, E.; Barba-Espin, G.; Clemente-Moreno, M.J.; Alcobendas, R.; Artlip, T. and Hernandez, J.A. (2010). Involvement of cytosolic ascorbate peroxidase and Cu/Zn-superoxide dismutase for improved tolerance against drought stress. *J. EXP. Bot.*, 62(8):2599-2613.
- FAO**. (2009). Food and Agriculture Organization of United Nations. [http:// faostat. Fao. Org. /site/567/. Asp X # ancor.](http://faostat.fao.org/site/567/.asp?X#ancor)

- Fariduddin, Q.;** Ahmad, A. and Hayat, S. (2003). Photosynthetic response of *Vigna radiata* to pre-sowing seed treatment with 28-homobrassinolide. *Photosynthetica*, 41(2):307-310.
- Fariduddin, Q.;** Hayat, S.; Ali, B. and Ahamd, A. (2006). Effect of 28-homobrassinolide on the nitrate reductase, carbonic anhydrase activities and net photosynthetic rate in *Vigna radiata*. *Acta. Bot. Croat.*, 65(1):19 -23.
- Farooq, M.;** Ali, A.B. and Sardar, A.C. (2013). Application of allelopathy in crop production. *Int. J. Agric. Biol.*, 15(6): 1367-1378.
- Farooq, M.;** Bakhtiar, M.; Khan, M.N.; Khan, I.; Kakar, K.; Ilyas, N. Khan, S.; Abdul Qayum, Siddique, M. and Ullah, N. (2018). Auxin biosynthesis, its role in plant growth, development and physiological process. *Intern. J. Fauna Biol. Studi.*, 5(4):23-27.
- Fenech, M.;** Amaya, I.; Valpuesta, V. and Botella, M.A. (2019). Vitamin C Content in Fruits: Biosynthesis and Regulation. *Front. Plant Sci.*, 9: 2006. doi: 10.3389/fpls.2018.02006
- Foyer, C.H. and Noctor, G.** (2005). Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell*, 17: 1866-1875
- Foyer, C.H. and Shigeoka, S.** (2011). Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis plant. *Plant Physiol.*, 155(1):93-100.
- Ganesan, K. and Xu, B.** (2018). A critical review on phytochemical profile and health promoting effects of mungbean (*Vigna radiata*). *Food Sci. and Human Well.*, 7(1):11-33.
- Gang, N. and Manchanda, G.** (2009). ROS generation in plants: boon or bane. *Plant Bio. Sys.* 143:8-96.
- Gatica Arias, A.M.;** Valverde, J.M.; Fonseca, P.R. and Melara, M.V. (2010). *In vitro* plant regeneration system for common bean (*Phaseolus vulgaris*): effect of N6-benzylaminopurine and adenine sulphate. *Electron. J. Biotechnol.*, 13(1):1-8.
- George, E.F.;** Hall, M.A. and De Klerk, G.J. (2008). *Plant Propagation by Tissue Culture. Vol.1. the Background*, 3rd Ed., published by Springer, Dordrecht, the Netherlands.

- Gharbi, F.; Zribi, L.; Daly, A.B.; Rejeb, S. and Hanchi, B. (2018).** Photosynthetic responses of tomato leaves to salt and cadmium stresses: growth and chlorophyll a fluorescence kinetic analyses. *Pol. J. Environ. Stud.*, 27(6):2499-2508.
- Ghezal, N.; Rinez, I.; Sbai, H.; Saad, I.; Farooq, M.; Rinez, A.; Zribi, I. and Haouala, R. (2016).** Improvement of *Pisum sativum* salt stress tolerance by bio-priming their seeds using *Typha angustifolia* leaves aqueous extract. *South Africa. J. Bot.*, 105:240-250.
- Ghosh, S.; Mitra, S. and Paul, A. (2015).** Physiochemical studies of sodium chloride on mungbean (*Vigna radiata* L.) and its possible recovery with spermine and gibberellic acid. *The Sci. World J.*, 1-8.
- Glaser, A. and Biggs, C. (2010).** An Introduction to Statistical Methods in GenStat. VSN International, Hemel Hempstead, UK.
- Gupta, B. and Huang, B. (2014).** Mechanism of Salinity Tolerance in Plants. *Physiological, Biochemical and Molecular Characterization. J. Genomics*, p:1-18.
- Hadi, S.M. (2014).** Effect of A Biotic Stress on the Accumulation of Some Metabolites in *Ruta graveolens* (*In Vitro*). Ph.D. Biotech., Coll. of Sci., Al-Nahrain Univ.
- Hamad, R.I. (2017).** Production of Salt Tolerance Cells of *Phaseolus vulgaris* L. *In Vitro*. Ms. Sci., Coll. of Sci., Al-Mustansiriyah Univ.
- Hamed, B.A. and Abd Elgawad, H. (2018).** Differential effects of some ascorbates on *Phaseolus vulgaris* L. in response to salinity stress. *Egypt. J. Bot.*, 58(1):23-36.
- Hamidi-Moghaddam, A.; Arouiee, H.; Moshtaghi, N.; Azizi, M.; Shoor, M. and Sefidkon, F. (2019).** Visual quality and morphological responses of rosemary plants to UV-B radiation and salinity stress. *J. Ecol. Eng.*, 20(2):34-43.
- Hartmann, H.T.; Kester, D.E.; Davies, S.T. and Genué, R.L. (2002).** *Plant Propagation Principles and Practices*. 7th Ed. Prentice Hall. New Jersey, pp:367-374.
- Hasan, M.K.; Sabagh, A.E.; Sabagh, M.S.I.; Alam, M.J.; Ratnasekera, D.; Barutcular, C.; Abdelaal, K.A.A. and Islam, M.S. (2017).** Comparative adaptable agronomic traits of black gram and mungbean for saline lands. *Plant Archives*, 17(1):589-593.

- Hasan, M.R.; Ghosh, A.; Kaur, C.; Pareek, A. and Singla-Pareek, S.L.** (2016). Glyoxalase pathway and drought stress tolerance in plants. In: Drought Stress Tolerance in Plants, Vol. 1. Springer International Publishing, pp:379-399.
- Hassan, S.A. and Jassim, E.H.** (2018). Effect of NaCl and sorbitol on the production of some alkaloids of fenugreek cotyledons derived callus. J. Al-Nahrain University, 21(1):90-97.
- Haubrick, L.L. and Assmann, S.M.** (2006). Brassinosteroids and plant function: some clues, more puzzles. Plant Cell Environ., 29(3):446-457.
- Hayat, S. and Ahmad, A.** (2011). Brassinosteroids: A Class of Plant Hormone. Springer Dordrecht Heidelberg London New York.
- Heldt, H.W. and Piechulla, B.** (2011). Plant Biochemistry. Academic Press. USA. 656P.
- Hemmati, K.; Ebadi, A.; Khomari, S. and Sedghi, M.** (2018). Influence of ascorbic acid and 24-epibrassinolide on physiological characteristics of pot marigold under water-stress condition. J. Plant Inter., 13(1):364-372.
- Herbert, D.; Philips, P.J. and Strange, R.E.** (1971). Methods in Microbiology. Acad. Press, London, New York.
- Himabindu, Y.; Reddy, M. and Chandrasekhar, T.** (2014). *In vitro* regeneration of Green gram [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] cultivar vamban-2 using cotyledonary nodules. J. Biotechnol., 3(4):11-15.
- Hossain, M.A.; Munné-Bosch, S.; Burritt, D.J.; Diaz-Vivancos, P.; Fujita, M. and Lorence, A.** (2017). Ascorbic Acid in Plant Growth, Development and Stress Tolerance. Springer International Publishing, Switzerland.
- Hsu, G.S.W.; Lu, Y.F.; Chang, S.H. and Hsu, S.Y.** (2011). Anti-hypertensive effect of mungbean sprout extracts in spontaneously hypertensive rats. J. Food Biochem., 35(1):278-288.
- Hu, Y. and Schmidhalter, U.** (2005). Drought and salinity: a comparison of their effects on mineral nutrition of plants. J. Plant Nutr. Soil Sci., 168:541-549.
- Hu, Y.; Xia, S.; Su, Y.; Wang, H.; Luo, W.; Su, S. and Xiao, L.** (2016). Brassinolide increases potato root growth *in vitro* in a dose-dependent

- way and alleviates salinity stress. *Bio Med Research Inter.*, Article ID 8231873, 11 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2016/8231873>.
- Huan**, L.V.T.; Takamura, T. and Tanaka, M. (2004). Callus formation and plant regeneration from callus through somatic embryo structures in *Cymbidium orchid*. *Plant Sci.*, 166(6):1443-1449.
- Huo**, D.; Yousaf, L.; Xue, Y.; Hu, J.; Wu, J.; Hu, W.; Feng, N. and Shen, Q. (2019). Mungbean (*Vigna radiata* L.): Bioactive Polyphenols, Polysaccharides, Peptides, and Health Benefits. *Nutrients*, 11(1238):1-28
- Hussein**, E.A. and **Aqlan**, E.M. (2011). Effect of mannitol and sodium chloride on some total secondary metabolites of fenugreek calli cultured *In vitro*. *Plant Tissue Cult. and Biotech.*, 21(1): 35-43.
- Hussein**, K.A. (2018). The roles of glutathione and ascorbic acid in Na-detoxification in terms of rooting response of mungbean cuttings. *J. University of Karbala*, 16(1):136-142.
- Ibrahim**, M.A.; Jerry, A.N. and Khalil, A.I. (2018). Effect of salt stress on some chemical characteristics of callus for three cultivars of potato plant (*Solanum tuberosum* L.). *AAB Bioflux*, 10(2):87-96.
- Ibrahim**, M.M.; Arafa, N.M. and Aly, U.I. (2018). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of plant and callus cultures of *Plectranthus barbatus andrews*. *Egyptian Pharm. J.*, 17(1): 32-39.
- Ikeuchi**, M.; Sugimoto, K. and Iwase, A. (2013). Plant Callus: Mechanisms of Induction and Repression. *The Plant Cell*, 25(9): 3159-3173.
- Ivanov**, B.N. (2014). Role of ascorbic acid in photosynthesis. *Biochemistry (Moscow)*, 79(3):282-289.
- Jamalian**, S.; Gholami, M. and Esna-Ashari, M. (2013). Abscisic acid-mediated leaf phenolic compounds, plant growth and yield of strawberry under different salt stress regimes, *Plant Physiol.*, 25(4):291-299.
- Jangid**, K.; Kanwar, K.; Panwar, P.; Asiwal, R.C.; Bajya, M. and Bagdi, D.L. (2017). Effect of Brassinolide in amelioration of salinity adverse effects on growth and yield of wheat. *J. of Pharm. Phyto.*, 6(3):194-197.
- John**, M.K. (1970). Colorimetric determination of phosphorus in soil and plant materials with ascorbic acid. *Soil Sci.*, 109(4):214-220.

- Kahraman**, A.; Adali, M.; Onder, M. and Koc, N. (2014). Mungbean as human food. *Int. J. Agric. and Eco. Develop.*, 2(2):9-17.
- Kamaraj**, A. and **Padmavathi**, S.(2018). Alleviation of saline salt stress through pre-sowing bio fertilizer seed treatment on crop growth and seed yield in green gram CV ADT3. *J. Pharm. and Phyto.*, 7(1):2205-2209.
- Kandil**, M.; Magda, M.; Shalaby, A.; and Mona, H.M. (2007). Effect of some growth regulators on levels endogenous hormones and chemicals constituents of rose plant. *American-Eurasian J. Agric. and Environ. Sci.*, 2(6):720-730.
- Karak**, P. (2019). Biological activities of flavonoids: an overview. *Inter. J. Pharma. Sci. and Resea.*, 10(4):1567-1574.
- Kapoor**, N. and **Pande**, V. (2018). Effect of salt stress on growth parameters, moisture content, relative water content and photosynthetic pigments of fenugreek variety RMT-1. *J. Plant Sci.*, 10(6):210-221.
- Kavi Kishor**, P.B.; Hima Kumari, P.; Sunita, M.S.L. and Sreenivasulu, N. (2015). Role of proline in cell wall synthesis and plant development and its implications in plant ontogeny. *Front. Plant Sci.*, 6(544):1-17.
- Kaviani**, B. (2014). Effect of ascorbic acid concentration on structural characteristics of apical meristem on *in vitro Aloe barbadensis* Mill. *Act. Sci. Pol., Hortorum Cultus*, 13(3):49-56.
- Kawano**, T. (2003). Roles of the reactive oxygen species generating per-oxidase reactions in plant defense and growth induction. *Plant cell Rep.*, 21(9): 829-937.
- Khalid**, A. and **Aftab**, F. (2016). Effect of exogenous application of 24-epibrassinolide on growth, protein contents, and antioxidant enzyme activities of *in vitro*-grown tomato under salt stress. *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant.*, 52(1):81-91.
- Kham**, N.A.; Syeed, S.; Massodi, A.; Nazar, R. and Iqbal, N. (2010) Application of salicylic acid increases contents of nutrients and anti oxidative metabolism in mungbean and alleviates adverse effect of salinity stress. *Int. J. Plant Physiol.*, 1(1):1-8.
- Khan**, M.I.; Shoukat, M.A.; Cheema, S.A.; Ali, S.; Azam, M.; Rizwan, M.; Qadri, R. and Al-Wabel, M.I. (2019). Foliar and soil applied

salicylic acid and bagasse compost addition to soil reduced deleterious effects of salinity on wheat. Arab J. Geosci., 12(78):1-9.

Khan, T.A.; Mazid, M. and Mohammed, F. (2011). Ascorbic acid: an enigmatic molecule to developmental and environmental stress in plant. Int. J. Appl. Biol. Pharm. Tech., 2(3):468-483.

Khataar, M.; Mohhamadi, M.H. and Shabani, F. (2018). Soil salinity and matric potential interaction on water use, water use efficiency and yield response factor of bean and wheat. Scientific Report, 8:2679 | DOI: 10. 1038/s41598-018-20968.

Khatun, M.K.; Haque, M.S.; Islam, S. and Nasiruddin, K.M. (2008). *In vitro* regeneration of mungbean (*Vigna radiata* L.) from different explants. Progress. Agric., 19(2):13-19.

Kim, J.H.; Lee, B.C., Kim, J.H.; Sim, G.S.; Lee, D.H.; Lee, K.E.; Yun, Y.P. and Pyo, H.B. (2005). The isolation and antioxidative effects of vitexin from *Acer palmatum*. Arch. Pharm. Res., 28(2):195-202.

Kole, C. (2011). Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources. Vol.: Legume Crops and Forages. Springer Berlin, Heidelberg, Germany, pp:1-19.

Kordrostami, M. and **Rahimi**, M. (2015). Molecular Markers in Plants: Concepts and Applications. Review Article, G3M., 3(5):4024-4031.

Kordrostami, M. and **Rabiei**, B. (2019). Salinity Stress Tolerance in Plants-Physiological, Molecular and Biotechnological Approaches. Springer Nature Switzerland.

Krishnamurthy, K.V.; Godbole, D.A. and Mascarenhas, A.F. (1984). Studies on a drought resistant legume: the moth bean *Vigna acouitifolia* (Jacq.) Marechal. I. Protoplast culture and organogenesis. Plant Cell Rep., 3(1):30-32.

Kumar, H. (2012). Isolation and Characterization of Brassinosteroid from *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze and Evaluation of their Antioxidative Potential. Ph.D. Thesis, Faculty of Life Sciences, Guru Nanak Dev University. Amritsar.

Kumar, N. and **Gurusubramanian**, G. (2011). Random amplified poly-morphic DNA markers and its applications. Sci. Vis., 11(3):116-124.

- Kvent, J.;** Svoboda, J. and Fiala, K. (1969). Canopy development in stands of *Typha latifolia* L. and *Phragmites communis* Trin. in south Moravia. *Hidrobiologia*, 10:63-75.
- Lalotra, S.;** Hemantaranjan, A.; Kumar, S. and Kant, R. (2017). Effect of brassinosteroids (brassinolide) on seedling traits, morphology and metabolism in mungbean under salinity stress. *Ann. Resea. and Revi. Biolo.*, 12(4):1-8.
- Lambrides C. J., Godwin I.** (2007). "Mungbean," in *Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants Pulses, Sugar and Tuber Crops Vol. 3ed.* Kole C., editor. (Berlin: Springer;) 69-90.
- Laniewski, N.G. and Grayson, J.M.** (2004). Antioxidant treatment reduces expansion and contraction of antigen specific CD8⁺T cells during primary but not secondary viral infection. *J. Virol.*, 78(20):11246-11257.
- Lavanya, G.R.;** Srivastava, J. and Ranade, A.S. (2008). Molecular assessment of genetic diversity in mungbean germplasm. *J. Genet.*, 87(1): 65-74.
- Lee, S.J.;** Lee, J.H.; Lee, H.H.; Lee, S.; Kim, S.H.; Chun, T. and Imm, J.Y. (2011). Effect of mungbean ethanol extract on pro inflammatory cytokines in LPS stimulated macrophages. *Food Sci. Biotechnol.*, 20 (2): 519-524.
- Lee, Y.;** Lee, H.S.; Lee, J.S.; Kim, S.K., and Kim, S.H. (2008). Hormone and light-regulated nucleocytoplasmic transport in plants: current status. *J. Exp. Bot.*, 59(12):3229-3245.
- Leva, A.R.;** Petruccelli, R. and Rinaldi, M.R. (2012). Somaclonal Variation in Tissue Culture: A case study with olive. *Recent advances in plant In Vitro culture.* Chapter, 7:123-150.
- Leysner, O.** (2018). Auxin Signaling, *Plant Physiol.*, 176:465-479
- Li, D.M.;** Nie, Y.X.; Zhang, J.; Yin, J.S.; Li, Q.; Wang X.J. and Bai, J.G. (2013). Ferulic acid pretreatment enhances dehydration-stress tolerance of cucumber seedlings, *Biol. Plant.*, 57(4):711-717.
- Lisko, K.A.;** Aboobucker, S.I.; Torres, R. and Lorence, A. (2014). Engineering elevated vitamin C in plants to improve their nutritional content, growth, and tolerance to a biotic stress. *Arkansas State Univ., USA.* p:109-128.

- Liu, J.;** Gao, H.; Wang, X.; Zheng, Q.; Wang, C.; Wang, X. and Wang, Q. (2014). Effects of 24-epibrassinolide on plant growth, osmotic regulation and ion homeostasis of salt-stressed canola. *Plant Biol.*; 16(2):440-450.
- Lv, B.;** Tian, H.; Zhang, F.; Liu, J.; Lu, S.; Bai, M.; Li, C. and Ding, Z. (2018). Brassinosteroids regulate root growth by controlling reactive oxygen species homeostasis and dual effect on ethylene synthesis in *Arabidopsis*. *PLOS Genet.*, 14(1):1-12.
- Machado, L.C.;** da Silva Martins, J.T. and Conceição, S.S. (2016). 24-epibrassinolid in the biometry of acclimatization to salinity in two cultivars of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *Afri. J. Agri. Res.*, 11(49): 4939-4946.
- Maeda, H.;** Sakuragi, Y.; Bryant, D.A. and Della Penna, D. (2015). Tocopherols protect *Synechocystis* sp. Strain PCC 6803 from lipids peroxidation. *Plant Physiol.*, 138(3):1422-1435.
- Maheswaran, M.;** Subudhi, P.K.; Nadi, S.; Xu, J.C.; Parco, A.; Yong, D.C. and Huang, N. (1997). Polymorphism distribution and segregation of AFLP markers in a doubled haploid rice population. *Theor. Appl. Genet.*, 94(1):39-45.
- Maity, U. and Bera, A.K.** (2009). Effect of exogenous application of brassinolide and salicylic acid on certain physiological and biochemical aspects of green gram. *Indian J. Agric. Res.*, 43(3):194-199.
- Mallaya, N.P. and Ravishankar, G.A.** (2013). *In vitro* propagation and genetic fidelity study of plant regenerated from inverted hypocotyl explants of eggplant (*Solanum melongena* L.) cv. Arka Shirish. *J. Biotech.*, 3(1):45-52
- Mansour, R.B.;** Dakhlaouia, S.; Msahli, W.; Ksouri, R. and Megdiche-Ksouri, W. (2018). Differential responses of *Cakile maritima* at two development stages to salinity: changes on phenolic metabolites and related enzymes and antioxidant activity. *Med. Chem.*, 8(4):100-108.
- Marimuthu, S. and Surendran, U.** (2015). Effect of nutrients and plant growth regulators on growth and yield of black gram in sandy loam soils of Cauvery new delta zone, India. *Cogent Food and Agri.*, 1:1-9.

- Meenu**, M.; Kamboj, U.; Sharma, A.; Guha, P. and Mishra, S. (2016). Green method for determination of phenolic compounds in mungbean (*Vigna radiata* L.) based on near-infrared spectroscopy and chemometrics. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 51(12):2520-2527.
- Mène-Saffrané**, L. (2018). Vitamin E Biosynthesis and Its Regulation in Plants. *Antioxidants*, 7(2):1-17.
- Mickky**, B.M.; Abbas, M.A. and Sameh, N.M. (2019). Morpho-physiological status of fenugreek seedlings under NaCl stress. *Journal of King Saud University - Science*, (in press).
- Minh**, L.T.; Khang, D.T.; Ha, P.T.; Tuyen, P.T.; Minh, T.N.; Quan, N. V. and Xuan, T.D. (2016). Effects of salinity stress on growth and phenolic of rice. *Inter. Letters of Natural Sci.*, 57:1-7.
- Mir**, B.A.; Khan, T.A. and Fariduddin, Q. (2015). 24-epibrassinolide and spermidine modulate photosynthesis and antioxidant systems in *Vigna radiata* under salt and zinc stress. *Intern. J. Advan. Res.*, 3(5):592-608.
- Mittal**, N.; Thakur, S.; Verma, H. and Kaur, A. (2018). Interactive effect of salinity and ascorbic acid on *Brassica rapa* L. plants. *G.J.B.B.*, 7(1): 27-29.
- Mogotsi**, K.K. (2006). *Vigna radiata* L. R. Wilczek In: Brink, M. and G. Belay. *Prota1: Cereals and pulses*. Prota, Wageningen, Netherlands.
- Mojumder**, S.; Hossain, M.D.; Haque, M.S. and Nasiruddin, K.M. (2014) . *In vitro* regeneration of bina mungbean varieties. *J. Environ. Sci. and Natural Resources*, 7(2): 47-52.
- Mosavi**, N.; Mostafa Ebadi, M.; Khorshidi, M.; Masoudian, N. and Hokmabadi, H. (2018). Study of some physiological characteristics of potato tissue under salinity stress. *Intl. J. Farm. and Alli. Sci.*, 7(1):1-5.
- Mousumi**, B.; Prasad, G. and Bisen, P.S. (2010). *Molecular Diagnostics: Promises and Possibilities* Dordrech Heidelberg London, Springer, pp: 129-152.
- Muhaimeed**, A.S.; Saloom, A.J.; Saliem, K.A. and Alani, K.A. (2018). Classification and distribution of Iraqi soils. *Inter. J. Agric. Innova. and Res.*, 2(6):997-1002.
- Munir**, N.; Naz, S.; Aslam, F.; Shahzadi, K. and Javad, S. (2013). Effect of various levels of ascorbic acid pretreatment on alleviation of

- salt stress in salt sensitive sugarcane genotype SPF-213. *J. Agri. Res.*, 51(3):267-276.
- Munns, R. and Tester, M.** (2008). Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59:651-681.
- Munns, R.** (2002). Salinity, Growth and Phytohormones. In: Lauchli, A. Luttge, U. (eds) *Salinity: Environment-Plants-Molecules*. Kluwer, the Netherland, pp:271-290.
- Murashige, T. and Skoog, F.** (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant*, 15:473-497.
- Nafie, E.M.; Taha, H.S. and Mansur, R.M.** (2013). Impact of 24-epibrassinolide on callogenesis and regeneration via somatic embryogenesis in *Phaseolus vulgaris* L. cv. Brunca. *World Appl. Sci. J.*, 24(2): 188-200.
- Nagda, J.K.; Bhanu, N.A.; Katiyar, D.; Hemantaranjan, A. and Yadav, D.K.** (2017). Mitigating effect of foliar applied ascorbic acid on morpho-physiological, biochemical changes and yield attributes induced by salt stress in *Vigna radiata*. *Agric. Sci. Digest.*, 37(2):112-116.
- Nahar, K. and Hasanuzzaman, M.**(2009). Germination, growth, nodulation and yield performance of three mungbean varieties under different levels of salinity stress. *Green Farming*, 2:825-829.
- Nair, R.M.; Yang, R.Y.; Easdown, W.J.; Thavarajah, D.; Thavarajah, P.; Hughes, J.D. and Keatinge, J.D.** (2013). Bio fortification of mungbean (*Vigna radiata*) as a whole food to enhance human health, *J. Sci. Food Agric.*, 93(8):1805-1813.
- Naz, H.; Akram, N.A. and Ashraf, M.** (2016). Impact of ascorbic acid on growth and some physiological attributes of cucumber (*Cucumis sativus*) plants under water-deficit conditions. *Pak. J. Bot.*, 48(3): 877-883.
- Neelam, and Kumar, N.** (2018). Physiological responses of chickpea genotypes under varying salinity levels. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, 7(1):2086-2090.

- Neelambari**, Kumari, P. and Mandavia, C. (2018). 3 Effective role of growth stimulators in mitigating the adverse effect of salinity stress on wheat at seedling stage. *J. Pharm. Phytochem.*, 723-729.
- Nigula**, R.L. and **Wairkar**, S. (2019). Recent advances in topical delivery of flavonoids: A review. *J. Controlled Release*, 296:190-201.
- Neelambari**, Chetanaben, M. and Sree Ganesh, S. (2018). Curative effect of ascorbic acid and gibberellic acid on wheat metabolism under salinity stress. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, 7(1):522-533.
- Nezih**, M. (1985). The peroxidase enzyme activity of some vegetables and its resistance to heat. *Food Agric.*, 36(9):877- 880.
- Noctor**, G. and **Foyer**, C.H. (1998). Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annu. Rev. of plant physiol. and Mol. Biol.*, 49:249-279.
- Nunez-Palenius**, H.G.; Cantliffe, D.J.; Klee, H.H.; Ochoa-Alejo, N.; Ramirez-Malag ´on. R., and Perez-Molphe, E. (2006). Methods in Plant Tissue Culture. In: *Food Biotechnology*. 2nd Ed.: 553-570. S.G.A and L.E. ds., CRC Press, New York.
- Ono**, E.O.; Nakamura, T.; Machado, S.R. and Rodrigues, J.D. (2000). Application of brassinosteroid to *Tabebuia alba* (Bignoniaceae) plants. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.*, 12(3):187-194.
- Osman**, A. Sh.; Abdel Wahed, M.H. and Rady, M.M. (2018). Ascorbic acid improves productivity, physio-biochemical attributes and antioxidant activity of deficit-irrigated broccoli plants. *J. Sci. Tech. Res.*, 11(1):1-10.
- Osman**, E.A.M.; El-Galad, M.A.; Khatab, K.A. and El-Sherif, M.A.B. (2014). Effect of compost rates and foliar application of ascorbic acid on yield and nutritional status of sunflower plants irrigates with saline water. *Glob. J. Sci. Res.*, 2(6):193-200.
- Osugi**, A. and **Sakakibara**, H. (2015). Q and A: How do plants respond to cytokinins and what is their importance? *BMC Biology*, 13(102):1-10.
- Oukarroum**, A. (2016). Change in photosystem II photochemistry during algal growth phases of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus*. *Curr. Microbiol.*, 72(6):692-699.

- Oukarroum, A.;** Bussotti, F.; Goltsev, V. and Kalaji, H.M. (2015). Correlation between reactive oxygen species production and photochemistry of photo systems I and II in *Lemna gibba* L. plants under salt stress. *Environ. Exp. Bot.*, 109: 80-88.
- Paduchuri, P.Y.;** Deogirkar, G.V.; Kamdi, S.R.; Kale, M.C. and Rajurkar, M.D. (2010). *In vitro* callus induction and root regeneration studies in *Gerbara jamesonii* .*Inter. J. Advanced. Biotic. Res.*, 1(2):87-90.
- Page, A.L.;** Miller, R.H. and Kenney, D.R. (1982). *Method of Soil Analysis*, 2nd Ed. Agro. 9, Publisher, Mad., Wisconsin.
- Pandey, V.P.;** Awasthi, M.; Singh, S.; Tiwari, S. and Dwivedi, U.N. (2017). A comprehensive review on function and application of plant peroxidases. *Biochem. Anal. Biochem.*, 6(1):1-16.
- Park, J.;** Lee, K. and Lee, S. (2002). Histological study of callus formation and root regeneration from mungbean. *J. Plant Biol.*, 45(3):170-176.
- Pastori, G.M.;** Kiddle, G.; Antoniw, J.; Bernard, S.; Veljovic-Jovanovic, S.; Verrier, P.J.; Noctor, G. and Foyer, C.H. (2003). Leaf vitamin C content modulates plant defense transcripts and regulates genes that control development through hormone signaling. *Plant Cell*, 15:939-951.
- Pataczek, L.;** Zahir, Z.A.; Ahmad, M.; Rani, S.; Nair, R.; Schafleitner, R.; Cadisch, G. and Hilger, T. (2018). Beans with benefits-the role of mungbean in a changing environment. *Amer. J. Plant Sci.*, 9:1577-1600.
- Patra, A.P.;** Samal, K.C.; Rout, G.R.; Sahu, S. and Jagadev, P.N.(2018). *In vitro* regeneration of recalcitrant green from immature cotyledons for genetic improvement. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, 7(1):3072-3080.
- Patra, N.;** Kar, D.; PaL, A. and Ehera, A. (2018). Antibacterial, anti-cancer, antidiabetic and catalytic activity of bio-conjugated metal nanoparticles. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 9:1-6.
- Peres, A.G.L.;** Soares, J.S.; Tavares, R.G.; Righetto, G.; Zullo, M.A.T.; Mandava, N.B. and Menossi, M. (2019). Brassinosteroids, the sixth class of phytohormones: a molecular view from the discovery to

- hormonal interactions in plant development and stress adaptation. *Int. J. Mol. Sci.*, 20(331):1-33.
- Perry, J.J.; Shin, D.S.; Getzoff, E.D. and Tainer, J.A.** (2010). The structural biochemistry of the superoxide dismutase. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1802(2):245-262.
- Pitman, M.G. and Lauchli, A.** (2002). Global Impact of salinity and Agriculture Ecosystem. In: Lauchli, A. Lüttge, U. (Ed.) *Salinity: Environment-Plants-Molecules*. Kluwer, Dordrecht, pp:3-20.
- Pitotti, A.; Elizalde, B.E. and Anese, M.** (1995). Effect of caramelization and mail lard reaction products on peroxidase activity. *J. Food Biochem.*, 18:445-457.
- Prasad, M.G.; Sridevi, V. and Kumar, S.M.** (2014). Efficient plant regeneration of green gram (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) via cotyledonary explants. *Inter. J. Adv. Research.*, 2(2):55-59.
- Protasiuk, E. and Olejnik, M.** (2018). Determination of salicylic acid in feed using LC-MS/MS. *J. Vet. Res.*, 62(3):303-307.
- Qu, C.P.; Xu, Z.R.; Guan-Jun Liu, G.J.; Liu, C.; Li, Y.; Wei, Z.G. and Liu, G.F.** (2010). Differential expression of copper-zinc superoxide dismutase gene of *Polygonum sibiricum* leaves, stems and underground stems, subjected to high-salt stress. *Int. J. Mol. Sci.*, 11(12): 5234-5245.
- Rafiq, M.; Mali, M.; Ahmad Naqvi, S.H.; Umar Dahot, M.; Faiza, H. and Khatari, A.** (2012). Regeneration of plants in EMS treated local mungbean under salt stress. *Pak. J. Biotechnol.*, 9(2): 83- 89.
- Rahman, M.; Zahan, F.; Sikdar, S. I.; El-Sabagh, A.; Ratnasekera, D.; Barutcular, C. and Islam, M.S.** (2017). Evaluation of salt tolerance mung- bean genotypes and mitigation of salt stress through potassium nitrate fertilization. *Fresenius Environmental Bulletin*, 26(12):7218-7226.
- Rahman, M.T.; Uddin, M.S.; Sultana, R.; Moue, A. and Setu, M.**(2013). Polymerase Chain Reaction: A Short Review. *AKMMC J.*, 4(1):30-36.
- Ramawat, K.G.** (2004). *Plant Biotechnology*. S. Chand and Company LTD, Ram Nagar, New Delhi, India.
- Ramawat, K.G.** (2008). *Plant Biotechnology*. S. Chand and Company LTD, Ram Nagar, New Delhi. India: 24-40.

- Ramzan**, M.; Nawaz, M.S.; Saba, R. and Ahmad, Z. (2018). The role of salicylic acid alleviating salt stress in mungbean (*Vigna radiata* L.) plants. *J. Klagenfurt, Austria*, 25(3):161-179.
- Rao**, B.H.; Nair, R.M. and Nayyar, H. (2016). Salinity and high temperature tolerance in mungbean [*Vigna radiata* (L.)Wilczek] from a physiological perspective. *Front. Plant Sci.*, 7:1-20.
- Rao**, S. and **Patil**, P. (2012). *In vitro* selection of salt tolerant calli lines and regeneration of salt tolerant plantlets in mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). *Biotechnology-Molecular Studies and Novel Applications for Improved Quality of Human Life*, 197-212.
- Rao**, S.S.R.; Vardhini B.; Vidya, S.E. and Anuradha, S. (2002). Brassin-osteroids A new class of Phytohormones. *Curr. Sci.*, 82(10):1239-1245.
- Rebecca**, A.; Dewhirst and Stephen, C.(2018).The oxidation of dehydro- ascorbic acid and 2,3-diketogulonate by distinct reactive oxygen species. *Biochem. J.*, 475(21):3451–3470
- Rebey**, I.B.; Bourgou, S.; Rahali, F.Z.; Msaada, K.; Ksouri, R. and Mar-zouk, B. (2017). Relation between salt tolerance and biochemical changes in cumin seeds. *J. Food Drug Anal.*, 25(2):391-402.
- Rezaie**, N.; Razzaghi, F. and Sepaskhah, A.R. (2019). Different levels of irrigation water salinity and biochar influence on Faba Bean yield, water productivity, and ions uptake. *J. Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 50(5):611-626.
- Riaz**, S.; Hamid, N. and Rahman, A. (2014). Comparative changes in metabolism of *Vigna radiata* by foliar and root application of brassinolide at different concentrations. *Int. J. Plant Physiol. Biochem.*, 6(5):56-65.
- Rodeva**, V.N.; Irikova, T.P. and Todorova, V.J. (2004). Anther culture of pepper (*Capsicum annuum* L.): comparative study on effect of the genotype. *Biotechnol. and Biotechnol. Eq.*, 18(3):34-38.
- RodríguezDelgado**, M.A.; Malovanáb, S.; Péreza, J.P.; Borgesa, T. and Montelongoa, F.J.G. (2001). Separation of phenolic compounds by high-performance liquid chromatography with absorbance and fluorimetric detection. *J. Chromatogr. A*, 912(2):429-257.

- Rosenberg, H.R.** (1992). Chemistry and Physiology of Vitamins. Inter science Publishers, Inc., New York.
- Rout, G. and Das, A.B.** (2013). Molecular Stress Physiology of Plants. Springer Netherland, 440P.
- Sadak, M.Sh. and Hisham, A.M.M.** (2015). Physiological role of pre-sowing seed with proline on some growth, biochemical aspects, yield quantity and quality of two sunflower cultivars grown under sea water salinity stress. *Sci. Agri.*, 9(1):60-69.
- Safdar, H.; Amin, A.; Shafiq, Y.; Ali, A.; Yasin, R.; Shoukat, A.; Ul Hussan, M. and Sarwar, M.I.** (2019). A review: Impact of salinity on plant growth. *Nature and Sci.*, 17(1):34-40.
- Sagare, D.B. and Mohanty, I.C.** (2015). *In vitro* regeneration system in green gram: A recalcitrant legume crop. *J. Agri. Sci.*, 6(1):64-67.
- Saisanthosh, K.; Sumalatha, G.M.; Shuba, A.C.; Komala, N.T. and Biradar Patil, N.K.**(2018). Role of enzymatic antioxidants defense system in seeds. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, Special Issue,7:584-594.
- Sami, F.; Yusuf, M.; Faizan, M.; Faraz, A. and Hayat, S.** (2016). Role of sugars under a biotic stress. *Plant Physiol. and Biochem.*, 109:54-61.
- Samira, I.M.; Dridi, M.; Mansour-Guedden, B.S. and Denden, M.** (2012). 24-Epibrassinolide ameliorates the adverse effect of salt stress (NaCl) on pepper (*Capsicum annuum* L.). *J. Stress Physiol. Biochem.*, 8: 232-240.
- Samsampour, D.; Sadeghi, F.; Asadi, M. and Ebrahimzadeh, A.** (2018). Effect of nitric oxide (NO) on the induction of callus and antioxidant capacity of *Hyoscyamus niger* under *in vitro* salt stress. *J. Appl. Bota. and Food Quality*, 91:24-32.
- Saputro, T.B.; Dianawati, S.; Sholihah, N.F. and Sholihah, D.** (2017). Genetic diversity of improved salt tolerant calli of maize (*Zea mays* L.) using RAPD. *AIP Conference Proceedings* 1854, 020033 (2017); doi: 10.1063/1.4985424,1-8.
- Sasse, J.M.** (1990). Brassinolide-induced elongation and auxin. *Physiol. Plant*, 80(3):401-408.

- Scagel**, C.F.; Lee, J. and Mitchell, J.N. (2019). Salinity from NaCl changes the nutrient and polyphenolic composition of basil leaves. *Ind. Crop. Prod.*, 127:119-128
- Sehrawat**, N.; Yadav, M.; Kangila, V.; Bhat, R.; Sairam, K. and Jaiwal, P.K. (2015). Effect of salinity stress on *Vigna radiata* (L.) during consecutive summer and spring season *J. Agri. Sci.*, 60(1):23-32.
- Seidlitz**, M.; Zabeau, M.; Vanmontagu, D.; Inze, D. and Vanbreusegem, F. (2004). Catalase deficiency drastically affects gene expression included by high light in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.*, 39(1):45-58.
- Selote**, D.S. and **Khanna-Chopra**, R. (2010). Antioxidant response of wheat roots to drought acclimation. *Protoplasma*, 245:153-163.
- Serrano**, A.F. and **Assmann**, S.M. (2016). The α -subunit of the rice heterotrimeric G protein, RGA1, regulates drought tolerance during the vegetative phase in the dwarf rice mutant dl. *J. Exp. Bot.*, 67(11):3433-3434.
- Shahi**, S. and **Srivastava**, M. (2018). Influence of foliar application of manganese on growth, pigment content, and nitrate reductase activity of *Vigna radiata* (L.) under salinity. *J. Plant Nutr.*, 41(11):1397-1404.
- Sharma**, A.; Kumar, V.; Kumar, R.; Shahzad, B.; Kumar Thukra, A. and Bhardwaj, R. (2018). Brassinosteroids mediated pesticide detoxification in plants: A mini-review. *Cogent Food and Agricul.*, 4(1):1-15.
- Sharma**, I. (2011). Effect of Brassinosteroids on Antioxidant Defense System of *Raphanus sativus* L. under Heavy Metal Stress Employing Biochemical and Molecular Approaches. Ph.D. Thesis, Faculty of Life Sciences, Guru Nanak Dev University.
- Shu**, S.; Tang, Y.; Yuan, Y.; Sun, J.; Zhong, M. and Guo, S. (2016). The role of 24-epibrassinolide in the regulation of photosynthetic characteristics and nitrogen metabolism of tomato seedlings under a combined low temperature and weak light stress. *Plant Physiol. Bio.*, 107:344-353.
- Shukla**, S. and **Tyagi**, B. (2017). Comparative phytochemical screening and analysis of different *Vigna* species in organic solvents. *Austin. J. Biotech. Bioeng.*, 4(3):1-4.

- Shweta**, D.; Laxman, N. and Vimala, Y. (2017). Effect of biotic elicitors on biochemical status of two cultivars of *Vigna radiata* (L.) Wilczek. *Int. J. Res. Ayurveda Pharm.*, 8(4):97-100.
- Siddiqui**, M.H.; Alamri, S.A.; Al-Khaishany, M.Y.Y.; Al-Qutami, M.A. and Ali, H.A. (2018). Ascorbic acid application improves salinity stress tolerance in wheat. *Chiang Mai. J. Sci.*; 45(X):1-11.
- Silva**, L.R.; Pereira, M.J.; Azevedo, J.; Goncalves, R.F.; Valentão, P.; Pinho, P.G and Andrade, P.B. (2013). *Glycine max* (L.) Merr., *Vigna radiata* L. and *Medicago sativa* L. sprouts: a natural source of bioactive compounds, *Food Res. Int.*, 50(1):167-175.
- Singh**, A.K. and **Dwivedi**, P. (2018). Modulation of salt stress induced responses in pea through salicylic acid and *Trichoderma* application. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, 7(4):3173-3185.
- Singh**, D.P. and **Singh**, B.B. (2011). Breeding for tolerance to a biotic stresses in mungbean. *J. of Food Legumes*, 24(2):83-90.
- Singh**, R. (2013). Development of iron and zinc enriched mungbean (*Vigna radiata* L.) cultivars with agronomic traits in consideration. Ph.D. Thesis, Wageningen University.
- Singh**, R.; Singh, S.; Parihar, P.; Mishra, R.K.; Tripathi, D.K.; Singh, V.P.; Chauhan, D.K. and Prasad, S.M. (2016). Reactive oxygen species: beneficial companions of plants' developmental processes. *Front Plant Sci.*, 7:1-19.
- Singh**, R.B.; Srivastava, S.; Rastogi, J.; Gupta, G.N.; Tiwari, N.N.; Singh, B. and Singh, R.K. (2014). Molecular markers exploited in crop improvement practices. *Res. Environ. Life Sci.*, 7(4):223-232.
- Smirnoff**, N. (2000). Ascorbic Acid: metabolism and functions of multi- faceted molecule. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 3:229-235.
- Smirnoff**, N. (2018). Ascorbic acid metabolism and functions: A comparison of plants and mammals. *Free Radical Biology and Medicine*, 122:116-129.
- Sofa**, A.; Scopa, A.; Nuzzaci, M. and Vitti, A. (2015). Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in Plants subjected to drought and salinity stresses. *Int. J. Mol. Sci.*, 16(6):13561-13578.

- Sosulski, F.W. and Dabrowski, K.J.** (1984). Composition of free and hydrolyzable phenolic acids in the flours and hulls of ten legume species. *J. Agric. Food Chem.*, 32(1):131-133.
- Sosulski, F.W. and Holt, N.W.** (1980). Amino acid composition and nitrogen to protein factors for grain legumes. *Can. J. Plant Sci.*, 60:1327-1331.
- Staba, E.J.** (2000). *Plant Tissue Culture as a Source of Biochemical*. CRC Press, Inc. Boca raton, Florida: 1-271.
- Sullivan, C.Y.** (1972). Mechanism of heat and drought resistance in grain sorghum and methods of measurement, in: N.G.P. Rao, L.R. House (Eds.), *Sorghum in the Seventies*, Oxford and New Delhi, pp: 247-264.
- Swamy, K.N. and Rao, S.S.R.** (2009). Effect of 24-epibrassinolide on growth, photosynthesis, and essential oil content of *Pelargonium graveolens* L. Herit. *Russ. J. Plant Physiol.*, 56(5):616-620.
- Syed, S. and Fatma, M.** (2011). Salt tolerance in mungbean *Vigna radiata* [L.] genotypes: role of proline and glycine betaine. *J. Fun. and Environ. Bot.*, 1(2):139-147.
- Szopa, A. and Ekiert, H.** (2014). Production of biologically active phenolic acids in *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott *in vitro* cultures cultivated on different variants of the Murashige and Skoog medium. *Plant Growth Regul.*, 72(1):51-58.
- Taher, M.; Beyaz, R.; Javani, M.; Gürsoy, M. and Yildiz, M.** (2018). Morphological and biochemical changes in response to salinity in sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars. *Italian J. Agro.*, 13(2):141-147.
- Taïbi, K.; Taïbi, F.; Abderrahim, L.A.; Ennajah, A.; Belkhodja, M. and Mulet, J.M.** (2016). Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defense systems in *Phaseolus vulgaris* L. *South Afri. J. Bot.*, 105:306-312.
- Tang, D.; Dong, Y.; Ren, H.; Li, L. and He, C.** (2014). A review of phytochemistry, metabolite changes, and medicinal uses of the common food mungbean and its sprouts. *Chem. Cent. J.*, 8(1):4-22.
- Tanveer, M.; Shahzad, B.; Sharma, A.; Biju, S. and Bhardwaj, R.** (2018). 24-Epibrassinolide; an active brassinolide and its role in salt

- stress tolerance in plants: A review. *Plant Physiol. Biochem.*, 130:69-79.
- Tava**, A.; Pecio, L.; Lo Scalzo, R.; Stochmal, A. and Pecetti, L. (2019). Phenolic content and antioxidant activity in *Trifolium* germplasm from different environments. *Molecules*, 24(298):1-21.
- Tayde**, P.; Andhare, S.; Taware, P.; Raut, S. and Yadav, S. (2018). To study effect of salinity on mungbean. *Inter. J. Curr. Res. Life Sci.*, 7(5): 1998-2000.
- Trigiano**, R.N. and **Gray**, D.J. (2011). *Plant Tissue Culture, Development, and Biotechnology*. CRC Press, Taylor and Francis Group.
- Tripathi**, L. and **Tripathi**, J.N. (2003). Role of Biotechnology in Medicinal Plants. *Trop. J. Pharm. Res.*, 2(2):243-253.
- Trubitsin**, B.V.; Mamedov, M.D.; Semenov, A.Y. and Tikhonov, A.N. (2014). Interaction of ascorbate with photosystem I. *Photosynth Res.*, 122(2):215-231.
- Tung**, Y. and **Ng**, L. (2015). Effects of soil salinity on tocopherols, toco- trienols, and γ -oryzanol accumulation and their relation to oxidative stress in rice plants. *Amer. Soc. Agro.*, 56(6):3143-3151.
- Turan**, M.A.; Awad Elkarim, A.H.; Taban, N. and Taban, S. (2009). Effect of salt stress on growth, stomatal resistance, proline and chlorophyll concentrations on maize plant. *Afr. J. Agric. Res.*, 4(9):893-897.
- Ullah**, M.A.; Baber, R.; Hyder, S.I.; Mahmood, I.A. and Tauqir, M. (2016). Effect of salinity on growth of different mungbean varieties. *Inter. J. Res. Stud. Biosci.*, 4(1):7-9.
- Van Doorn**, W. and **Kesta**, S. (2014). Cross reactivity between ascorbate peroxidase and phenol (guaiacol) peroxidase. *Postharvest Biol. and Technol.*, 95:64-69.
- Van Staden**, J.; Zazimalova, E. and George, E.F. (2008). Plant growth regulators II: Cytokinins, their analogues and antagonist. In: George, E.F.; Hall, M. and De Kleck, G.J. eds. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Vol. 1. The Background. Springer, the Netherlands, p: 205-226.
- Vardhini**, B.V. and **Anjum**, N.A. (2015). Brassinosteroids make plant life easier under a biotic stresses mainly by modulating major components of antioxidant defense system. *Front. Environ. Sci.*, 2(67):1-16.

- Vopyan, V.G.** (1984). Agricultural Chemistry. English Translation, Mir publishers. 1st ed.
- Wang, M.; Zheng, Q.; Shen, Q. and Guo, S.** (2013). The critical role of potassium in plant stress response. *Int. J. Mol. Sci.*, 14(4):7370-7390.
- Wang, S.; Ng, T.B.; Chen, T.; Lin, D.; Wu, J.; Rao, P. and Ye, X.** (2005). First report of a novel plant lysozyme with both antifungal and antibacterial activities. *Biochem. Biophys. Commun.*, 327(3):820-827.
- Wang, W.R.; Sacco, M.; Lawrence, V.G. and Krishna, P.** (1995). Effects of 24-epibrassinolide on freezing and thermo tolerance of brome grass (*Bromus inermis*) cell cultures. *Physiol. Plant*, 95(2):195-202.
- Wang, Y.; Zhao, H.; Qin, H.; Li, Z.; Liu, H.; Wang, J.; Zhang, H.; Quan, R.; Huang, R. and Zhang, Z.** (2018). The synthesis of ascorbic acid in rice roots plays an important role in the salt tolerance of rice by scavenging ROS. *Int. J. Mol. Sci.*, 19(11):1-12.
- Wani, A.S.; Tahir, I.; Ahmad, S.S.; Dar, R.A. and Nisar, S.** (2017). Efficacy of 24-epibrassinolide in improving the nitrogen metabolism and antioxidant system in chickpea cultivars under cadmium and or NaCl stress. *Sci. Hort.*, 225(18):48-55.
- Wani, A.S.; Ahmad, A.; Hayat, S. and Tahir, I.** (2019). Epibrassinolide and proline alleviate the photosynthetic and yield inhibition under salt stress by acting on antioxidant system in mustard. *Plant Physiol. Biochem.*, 135(1):385-394.
- Warrier, R.R.; Paul, M. and Vineetha, M.V.** (2013). Estimation of salicylic acid in Eucalyptus leaves using spectrophotometric methods. *Genetics Plant Physiol.*, 3(1-2):90-97.
- Weigand, F.; Baum, M. and Udupa, S.** (1993). DNA molecular marker techniques. Technical manual .No.20: Inter. Center for Aric. Res. in Dry Areas Aleppo. Syria.
- Williams, J.G.; Kubelik, A.R.; Livak, K.J.; Rafalski, J.A. and Tingey, S.V.** (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids Res.*, 18(22):6531-6535.
- Wimberley, N.W.** (1968). The Analysis of Agriculture Material. MAFF. Tech. Bull. London, 95-103.

- Wu, W.;** Zhang, Q.; Ervin, E.H.; Yang, Z. and Zhang, X. (2017). Physiological mechanism of enhancing salt stress tolerance of perennial ryegrass by 24-epibrassinolide. *Front. Plant Sci.*, 8:1-11.
- Wungrampha, S.;** Joshi, R.; Singla-Pareek, S.L. and Pareek, A. (2018). Photosynthesis and salinity: are these mutually exclusive? *Photosynthetica*, 56(1):366-381.
- Xi, Z.;** Zhang, Z.; Huo, S.; Luan, L.; Gao, X.; Ma, L. and Fang, Y. (2013). Regulating the secondary metabolism in grape berry using exogenous 24-epibrassinolide for enhanced phenolics content and antioxidant capacity. *Food Chem.*, 141(3):3056-3065.
- Xuan, T.D. and Khang, D.T.** (2018). Effects of exogenous application of protocatechuic acid and vanillic acid to chlorophylls, phenolics and antioxidant enzymes of rice in submergence. *Molecules*, 23(3):1-14.
- Yadav, A.;** Kothari, S.L.; Kachhwaha, S. and Joshi, A. (2019). *In vitro* propagation of chia (*Salvia hispanica* L.) and assessment of genetic fidelity using random amplified polymorphic DNA and inter simple sequence repeat molecular markers. *J. Appl. Biol. Biotech.*, 7(1):42-47.
- Yang, A.J.;** Anjum, S.A.; Wang, L.; Song, J.X.; Zong, X.F.; Zohaib, J.; LV, A.; Ali, I.; Yan, R.; Zhang, Y.; Dong, Y.F. and Wan, S.G. (2018). Effect of foliar application of brassinolide on photosynthesis and chlorophyll fluorescence traits of *Leymus chinensis* under varying levels of shade. *Photosynthetica.*, 56(3):873-883.
- Yang, Y. and Guo, Y.** (2018). Elucidating the molecular mechanisms mediating plant salt-stress responses. *New Phytol.*, 217(2):523-539.
- Yao, Y.;** Chen, F.; Wang, M.; Wang, J. and Ren, G. (2008). Anti diabetic activity of mungbean extracts in diabetic KK-Ay mice. *J. Agric. Food Chem.*, 56(19):8869-8873.
- Yi-Shen, Z.;** Shuai, S. and FitzGerald, R. (2018). Mungbean proteins and peptides: nutritional, functional and bioactive properties. *Food Nutr. Res.*, 62:1-11.
- Yong, J.;** Gong, Z.C. and Tan, X. (2008). Induction of callus and extraction of alkaloid from Yi Mu Cao (*Leonurus heterophyllus* Sw.). *Afr. J. Biotechnol.*, 7(8):1157-1162.
- Yuldashev, R.;** Avalbaev, A.; Bezrukova, M.; Vysotskaya, L.; Khripach, V. and Shakirova, F. (2012). Cytokinin oxidase is involved

in the regulation of cytokinin content by 24-epibrassinolide in wheat seedlings. *Plant Physiol. Biochem.*, 55:1-6.

Yusuf, M.; Hayat, S.; Alyemeni, M.N.; Fariduddin, Q. and Ahmad, A. (2013). Salicylic acid: physiological roles in plants. In: Hayat S, Ahmad A, Alyemeni M (eds.) Salicylic acid. Springer, Dordrecht.

Zakaria, Md. A.T.; Sakimin, S.Z.; Ramlan, M.F.; Jaafar, H. ZE.; Baghdadi, A. and Mohd Din, S.N. (2018). Morphological and physiological changes of banana (*Musa acuminata* cv. berangan) to brassinolide at nursery stage. *J. Trop. Plant Physiol.*, 10(1):36-45

Zaki, S.S. and **Mohamed, G.F.** (2018). Alleviating effects of ascorbic acid and glutathione for Faba bean plants irrigated with saline water. *J. Plant Sci.*, 2(2):1-15.

Zamocky, M. and **Obinger, C.** (2010). Molecular phylogeny of heme peroxidases. In: Bio catalysis based on heme peroxidases. Torresl, E. Ayala, M. (Ed.) Springer, Heidelberg Dordrecht, London, New York.

Zhani, K.; Elouer, M.A.; Alouih, H. and Hannachi, C.(2012). Selection of a salt tolerant Tunisian cultivar of chili pepper (*Capsicum frutescens*). *Eurasia J. Biosci.*, 6:47-59.

Zhao, J. and **Verpoorte, R.** (2007). Manipulating indole alkaloid production by *Catharanthus roseus* cell cultures in bioreactors from biochemical processing to metabolic engineering. *Phytochem. Rev.*, 6(2):435-457.

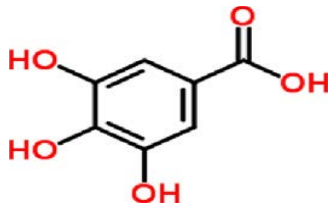
Zhu, J.K. (2007). Plant Salt Stress. Advanced Article. John Wiley and Sons, Ltd.1-3.

Zhu, T.; Deng, X.; Zhou, X.; Zhu, L.; Zou, L.; Li, P.; Zhang, D. and Lin, H. (2016). Ethylene and hydrogen peroxide are involved in brassinosteroid induced salt tolerance in tomato. *Sci. Rep.*, 6:35392.

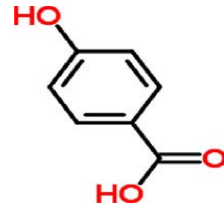
Zullo, M.A.T. (2018). Brassinosteroids and Related Compounds, 1st ed.; Lambert Academic Publishing: Beau Bassin, Mauritius, ISBN 978-3-330-34627-7

Zuoine, J. and **EL-Hadrami, I.** (2004). Somatic embryogenesis in (*Phoenix dactylifera* L.): Effect of exogenous supply of sucrose on proteins, sugar, phenolics and peroxidase activities during embryogenesis cell suspension culture. *Biotechnol.*, 3(2):114-118.

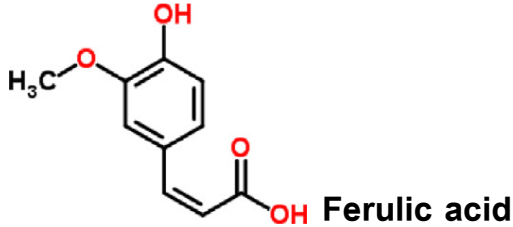
ملحق (1) الصيغ التركيبية لبعض المواد الفعالة في نبات الماش.



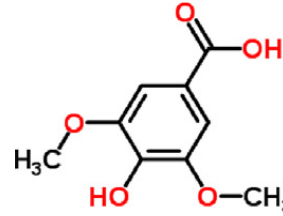
Gallic acid



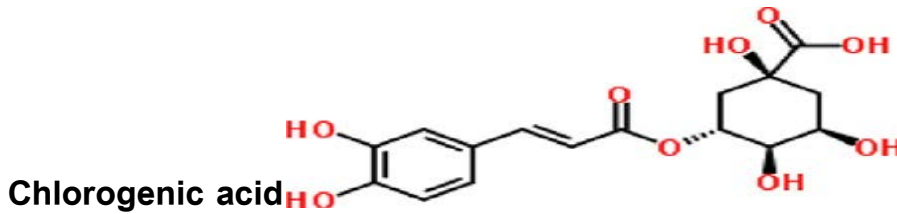
Hydroxybenzoic acid



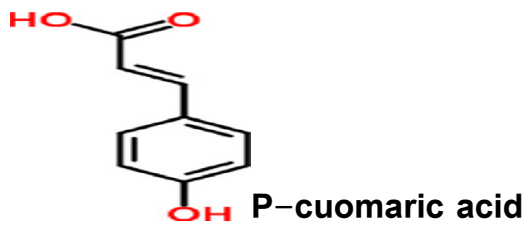
Ferulic acid



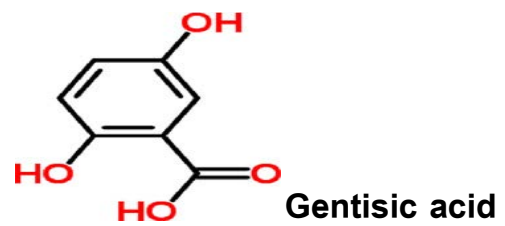
Syringic acid



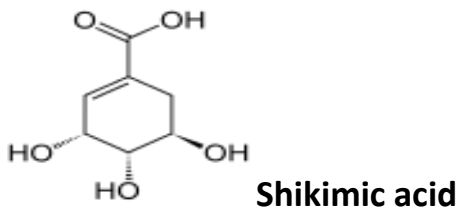
Chlorogenic acid



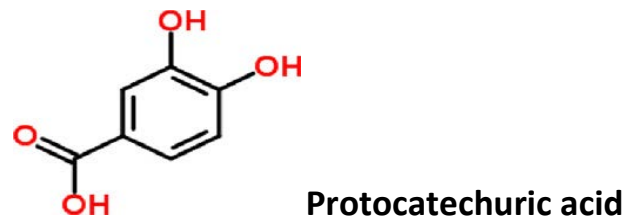
P-coumaric acid



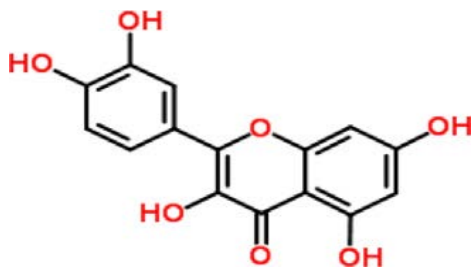
Gentisic acid



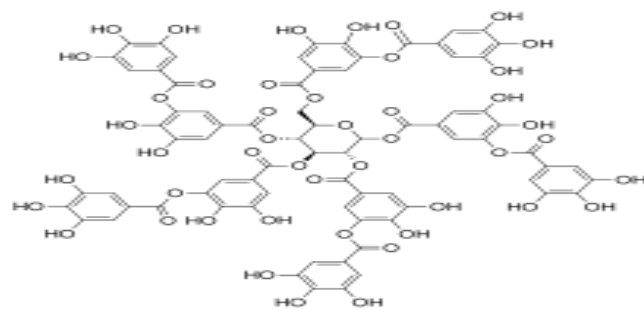
Shikimic acid



Protocatechuric acid



Quercetin



Tannic acid

الملحق (2) العوامل المناخية لمدينة بغداد خلال الأشهر الأربعة للموسم 2018 في التجربة الحقلية (شبكة الأرصاد الجوية الزراعية العراقية/ وزارة الزراعة).

الشهر	نيسان	آيار	حزيران	تموز	العامل المناخي
درجة الحرارة الصغرى (°م)	13.83	19.08	23.29	25.39	
درجة الحرارة العظمى (°م)	29.49	34.43	39.16	44.28	
الأمطار (مم)	79.80	4.00	0.00	0.00	
الرطوبة النسبية الصغرى (%)	23.16	14.52	9.95	9.63	
الرطوبة النسبية العظمى (%)	79.07	61.26	44.67	45.62	
سرعة الرياح (م/ثا)	1.44	1.75	2.11	2.27	
الأشعاع الشمسي (مج/م ²)	19.51	25.04	26.51	23.94	
معدل التبخر (مم)	137.20	204.15	249.10	276.45	
الضغط الجوي (ملي بار)	1005.92	1003.56	998.60	995.13	

Abstract

In vitro experiment was conducted at the Genetic Engineering Department, Directorate of Agricultural Research / Ministry of Science and Technology according to completely randomized design and *In vivo* experiment was carried out in the College of Education for pure sciences (Ibn al-Haitham) / University of Baghdad during the growing season 2018 according to randomized completely block design to study the effect the concentrations of sodium chloride(NaCl), vitamin C and brassinolide hormone on the mungbean plant (*Vigna radiata* L.).

The tissue culture experiment included: seed sterilizing, selecting the appropriate plant part to induce the callus with different hormonal combinations, study some of the callus parameters and estimate the active compounds as well as regeneration, rooting and acclimatization.

- 1- The results showed that surface sterilization of seeds was achieved using 70% ethanol for 30second followed by 15min with 2% NaOCl.
- 2- The best callus induction in epicotyle and hypocotyle within the hormonal combination 0.5mg.l^{-1} of NAA and 2.0mg.l^{-1} of BA.
- 3- The results also showed that the callus cultured in MS media with NaCl concentrations (6, 9, 12 and 15) dS.m^{-1} was significantly reduced and gradated in studied parameters (fresh and dry weight, salt stress index, absolute and relative rates, biomass duration, elements content (N, P, K, Ca and Mg) and protein percentage especially at the level of 15dS.m^{-1} with (52.41, 55.91, 55.91, 79.84, 79.78, 38.51, 68.95, 54.21, 65.63, 57.21, 71.90 and 29.51)% respectively and a significant increase in relative electrolyte leakage, content of sodium and chloride and proline concentration with (43.21, 41.48, 37.09, 333.67)% respectively compared to the concentration of 6dS.m^{-1} .
- 4- The vitamin C concentrations(0, 20, and 40) mg.l^{-1} and brassinolide hormone concentrations(0, 0.02, and 0.04) mg.l^{-1} caused an increase in the above callus parameters especially 40mg.l^{-1} and 0.04mg.l^{-1} concentrations of vitamin and hormone respectively.
- 5- The two and triple interactions were significant and the treatment (40mg.l^{-1} vitamin C and 0.02mg.l^{-1} hormone) was best to treat the stress (15dS.m^{-1}).
- 6- The regenerated shoots result from callus exhibition to salt concentrations (6, 9, and 12) dS.m^{-1} and cultured on MS medium containing three different types of

hormonal combinations (0.2 TDZ, 1.01ZE, 5BAP +20Ads)mg.l⁻¹ and then were sub cultured on MS medium supplemented with IBA 1mg.l⁻¹ for rooting. Regenerated plantlets and were acclimatized and grown in poly-house condition to compare with plants resulting from seed which were grown in the MS media. Morphology parameters (plant height, leaf area, branches No., dry weight and chlorophyll content) and yield contents (pods No., seed No. in pod and 100seed weight) were studied.

- 7- Concerning to field performance evaluation of stressed callus derivative plants, the results revealed that plants produced from 6dS.m⁻¹ were superior in most of parameters under studied.

Moreover, using the Random Amplified Polymorphic-DNA(RAPD) molecular marker to detect the genetic variations of the plants resulting from callus induced after salt stress. The RAPD marker results showed, a genetic variation in regenerated plants which conformed by the number and size of bands.

The field experiment included studying the use of salted water at the concentrations (5.5, 10 and 15)dS.m⁻¹ as well as control treatment 0.9dS.m⁻¹ (tap water) in addition to foliar application at three concentrations of vitamin C (0, 60, and 120)mg.l⁻¹ and brassinolide (0, 2 and 4)mg.l⁻¹ and their interaction on morphology and physiology parameters, flower growth, yield contents and active compound in seed.

- 1- Results indicated that a gradual decrease and significant effect on studied parameters(plant height, leaf area, branches No., dry weight, chlorophyll content, carbohydrates percentage, inflorescences No., flower No., pod No., seed No. in pod, 100seed weight, seed yield and protein percentage) with increase of salt concentrations especially at 15dS.m⁻¹ compare to the control treatment with (31.09, 23.88, 49.74, 33.61, 25.49, 38.82, 36.50, 35.20, 37.09, 23.28, 32.86, 29.40 and 28.16)% respectively, While a significant increase in enzymatic(catalase and peroxidase) and non enzymatic antioxidants(proline, salicylic acid, vitamin C and α -tocopherol) reached (124.22, 123.03, 83.01, 282.87, 29.04 and 13.10)% respectively.
- 2- The foliar application with vitamin C and brassinolide especially the concentrations (120 and 4)mg.l⁻¹ respectively affected significantly on the increase of all characteristic, enzymatic and non-enzymatic antioxidants which mentioned above.

-
- 3- The two and triple interactions showed a significant effect on the studied parameters and antioxidants, with the superiority of plants irrigated with tap water and sprayed with 120mg.l^{-1} of vitamin C and 2mg.l^{-1} of brassinolide to other plants, while the lowest values in the plants irrigated with salt water (15dS.m^{-1}) only. The foliar application of vitamin and hormone reduction of the negative effects of salt stress, especially in the upper concentrations of the above factors, with a synergy between vitamin and the hormone in most of the studied characteristic and antioxidants.
- 4- High Performance Liquid Chromatography (H.P.L.C) was used to detect the presence of active compounds in callus and seeds of mungbean, the results revealed ($15\text{dS.m}^{-1} + 40\text{mg.l}^{-1}$ vitamin + 0.04 mg.l^{-1} hormone) and ($15\text{dS.m}^{-1} + 120\text{mg.l}^{-1}$ vitamin + 4mg.l^{-1} hormone) treatments were superior in most of active compounds for callus and seed respectively.

Ministry of Higher Education and Scientific Research
University of Baghdad
College of Education for Pure Science
(Ibn Al-Haitham)
Department of Biology



**Role of Vitamin C and Brassinolide Hormone in
Tolerance of Mung bean plant (*Vigna radiata* L.) for
Salt Stress and Grown in Tissue Culture and Field**

A Dissertation

*Submitted to the Council College of Education for Pure Sciences / Ibn Al-Haitham of
the University of Baghdad in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree
of Doctor of Philosophy of Science*

In

Biology/ Botany/ Tissue culture

BY

Hassan Abudl-Razaq Ali Al-Saady
(B. Sc. Biology/Baghdad University 2002)
(M.Sc. Biology/Botany/Baghdad University 2006)

Supervisor

Prof. Dr. Wifak A.M. Al-Kaisy
P.R. Dr. Ekhlas A.J. El Kaaby

1441A.H.

2019A.C.