

تأثير عمق الحراثة ومعدل السماد الآزوتي في بعض الصفات الفينولوجية والمورفوفيزيولوجية للذرة الصفراء

أ.د. ميشيل زكي نقولا (1) د. فادي عباس (2) حسام الاسيود (3)

- (1). أستاذ، قسم المحاصيل الحقلية، كلية الهندسة الزراعية، جامعة البعث. سورية
- (2). باحث في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، مركز بحوث حمص، سورية. fadiab77@gmail.com
- (3). طالب ماجستير، قسم المحاصيل الحقلية، كلية الهندسة الزراعية، جامعة البعث. سورية.

الملخص

نفذ البحث في مركز البحوث العلمية الزراعية بحمص خلال العام 2020 بهدف دراسة تأثير عمق الحراثة الشاقة (20، 30، 40) سم، ومعدل السماد الآزوتي (80-120-160-200) كغ/هـ في بعض الصفات الفينولوجية والمورفوفيزيولوجية للذرة الصفراء *Zea mays. L*، الصنف غوطة-82.

صممت التجربة وفقاً لتصميم القطاعات العشوائية الكاملة وبثلاثة مكررات.

كان تأثير عمق الحراثة في نسبة الإنبات الحقلية، ومراحل النمو (الإزهار المذكر والمؤنث والنضج)، في حين زاد ارتفاع النبات وارتفاع العرنوس ومساحة المسطح الورقي والوزن الجاف للنبات وإنتاجية التمثيل الضوئي مع زيادة عمق الحراثة من 20 حتى 30 سم في حين كانت الفروق بين العمقين 30 سم و40 سم ظاهرية.

زاد عدد الأيام حتى اكتمال مراحل النمو وارتفاع النبات وارتفاع العرنوس ومساحة المسطح الورقي مع زيادة معدل السماد الآزوتي حتى 200 كغ/هـ، في حين زاد الوزن الجاف للنبات وخصائص إنتاجية التمثيل الضوئي مع زيادة معدل السماد

الآزوتي حتى 160 كغ/هـ، وكانت الفروق بين المعدلين 160 و 200 كغ/هـ ظاهرية بالنسبة لهذين المؤشرين. خلاص هذا البحث إلى أن حراثة التربة بعمق 30 سم مع إضافة السماد الأزوتي (بوريا 46%) بمعدل 160 كغ/ هـ يعطي أفضل الصفات المورفوفيزيولوجية والتي ستعكس على زيادة إنتاجية النبات.

الكلمات المفتاحية : عمق الحراثة، معدل الآزوت، الذرة الصفراء، الصفات الفينولوجية، الصفات المورفوفيزيولوجية.

Effect of Tillage Dand Nitrogen Fertilization Rate in *Zea maize* L. Growth Stages and Morph Physiological Traits

Michel Zaki Nikola⁽¹⁾ Fadi Abbas⁽²⁾ Husam Al-Asyoud⁽³⁾

1. Professor of Field Crops, Faculty of Agriculture, Al Baath Univ. Homs, Syria.

2. Main Researcher, General Commission for Scientific Agricultural Researches (GCSAR), Agriculture Research Center of Homs. Syria. fadiab77@gmail.com.

3. Ms. Student. Department of Field Crops, Faculty of Agriculture, Al Baath Univ. Homs, Syria.

Abstract

The research was carried out during 2020 at the Agricultural Scientific Research Center in Homs-Syria, to study the effect of chisel tillage depth (20, 30, and 40) cm, and nitrogen fertilization rate (80, 120, 160, and 200) kg/ha, on *Zea mays*, variety (Ghouta-82) some growth stages and morph physiological traits. The experiment was laid out according to randomized complete block design , with three replicates.

The results of the statistical analysis showed that tillage depth doesn't affect field germination percentage, growth stages (tasseling, silking and maturity), while plant height, cob height, leaf area, dry weight (DW), and net assimilation rate (NAR) significantly with increasing tillage depth from 20 to 30 cm, while the differences between TD 30 and 40 cm were not significant.

With increasing nitrogen rate to 200 kg/ha, the days to phonological stages, plant height, cob height, and leaf area increased significantly, while the dry weight and NAR increased significantly with increasing nitrogen rate to 160 kg/ha, the difference between 160 and 200 kg/ha were not significant for DW and NAR.

This study concluded that the chisel tillage depth to 30cm and 160 kg/ha nitrogen fertilization lead to the most favorable morph physiological traits which will be reflected to increase the yield.

Key words: Tillage depth, nitrogen rate, *Zea maize* L ,phonological stages, morph physiological traits.

المقدمة والدراسة المرجعية:

تنتمي الذرة الصفراء *Zea mays. L* إلى العائلة النجيلية *Poaceae*، وهي من النباتات العشبية الحولية أحادية المسكن Monoecious أحادية الجنس التي تحمل الأعضاء الذكورية في قمة النبات والأعضاء الأنثوية في إبط أحد الأوراق قريباً من منتصف النبات، ويقسم النوع *mays* إلى تحت أنواع حسب تركيب الحبة، وشكلها، حيث تضم الذرة المنغوزة، الصوانية، السكرية، ذرة البوشار، الذرة النشوية، والشمعية وغيرها (نقولا، شهاب، 2008).

إن النوع *Mays* يقسم لعدد من تحت الأنواع Sub ssp وهي: الذرة السنينة *Z.m. indentata* : حبوبها كبيرة، الأندوسبرم نشوي قرني، القرني يتوضع على جوانب الحبة والنشوي على القمة والوسط، نسبة النشاء في الحبوب/68-76%، ونسبة البروتين من /8-20%، والذرة الصوانية *Z.m. indurate* : معظم الأندوسبرم قرني، أما النشوي فموجود في مركز الحبة، الحبوب كروية، نسبة النشاء من /65-83%، والبروتين /8-18%، والذرة النشوية *Z.m. amylaceae* : معظم الأندوسبرم نشوي أما القرني فغير موجود تقريباً، نسبة النشاء /72-83%، والبروتين /7-12%، كذلك الذرة السكرية *Z.m.sacharata* : حبوبها كبيرة ، يحتوي الأندوسبرم على نسبة كبيرة من المواد السكرية، يستخدم بشكل عرانييس للتغذية (مسلوقة، مشوية)، وذرة البوشار *Z.m. everta* : حبوبها صغيرة، والأندوسبرم قرني بالكامل، عند تسخين الحبوب تتفجر بصورة جافة، والذرة الشمعية *Z.m. certain* : تشابه الذرة الصوانية لكن الحبوب من الداخل ذات قوام ومظهر شمعي، كذلك الذرة الغلافية *Z.m. tunicate* : الحبوب مغلفة بالأجزاء الزهرية، وليس لها أهمية والذرة النشوية السكرية *Z.m amyleo -sacharata* : الأندوسبرم النشوي في الجزء السفلي من الحبوب وفي الجزء العلوي يوجد أندوسبرم زجاجي وهي مجمدة من الخارج (نقولا، 2005).

يُعتقد أنّ الموطن الأصلي للذرة الصفراء حسب Vavilov عالم توزيع النبات الروسي هو المكسيك وأمريكا الوسطى وبالذات المكسيك وغواتيمالا، ويذهب البعض إلى أنّ الموطن الأصلي للذرة الصفراء هو المنطقة الممتدة من مرتفعات البيرو إلى بوليفيا

والإكوادور، وذلك بسبب وجود تباينات كثيرة للأشكال المستوطنة هناك، تمتد مناطق زراعة الذرة الصفراء بين خطي عرض 58° شمالاً و 40° جنوباً (Dowswell et al., 1996). حيث تزرع في المناطق الأدنى ارتفاعاً عن سطح البحر حتى المرتفعات التي تصل إلى 3700 م فوق سطح البحر، وكذلك في المناطق الجافة التي لا يزيد معدل هطولها المطري عن 250 ملم وحتى المناطق الرطبة جداً التي يصل هطولها السنوي إلى 500 ملم، حيث يعزى السبب في الانتشار والتوزيع لمحصول الذرة الصفراء إلى الاختلافات الوراثية الهائلة الموجودة ضمن هذا النوع، وكذلك لإمكانية تطوير تراكيب وراثية جديدة ذات قدرة عالية على التأقلم Adaptation لهذه البيئات المتباينة (كف غزال، 1989).

تعد الذرة الصفراء من المحاصيل الحبية المهمة في سورية، وتأتي ثالثاً من حيث المساحة المزروعة بين محاصيل الحبوب بعد القمح (*Triticum Wheat spp.*) والشعير (*Hordeum vulgare L.*)، ومع ذلك تعد المساحة المزروعة بها ضئيلة نسبياً بسبب منافسة المحاصيل الصيفية المروية الأخرى لها مثل القطن (*Gossypium hirsutum L.*) Cotton والبطاطا (*Solanum tuberosum*) والشوندر السكري (*Bet vulgaris L.*)، مما يجعل الإنتاج الحالي غير كافٍ للاستهلاك المحلي، أخذين بعين الاعتبار التطور الحاصل في قطاع الإنتاج الحيواني وخاصة الدواجن (يعقوب، نمر، 2011).

تشغل الذرة الصفراء عالمياً المركز الثاني بعد القمح من حيث المساحة المزروعة والمركز الأول عالمياً من حيث الإنتاج، واحتلت الذرة الصفراء على مستوى الوطن العربي المركز الثالث بعد القمح والشعير من حيث المساحة المزروعة، والمركز الثاني بعد القمح من حيث الإنتاج، وفي سورية قدرت المساحة المزروعة بالذرة الصفراء عام 2016 حوالي 17670 هكتار، أعطت 79348 طناً من الحبوب، بمردود يقدر بـ 4490 كغ/هـ، كان نصيب محافظة حمص منها 421 هكتار، أعطت 913 طن من الحبوب، بمردود 3015 كغ/هـ (المجموعة الاحصائية الزراعية السنوية، 2018).

الحرث هو أولى عمليات الخدمة التي يبدأ بها في بناء الأرض وتأتي عمليات الخدمة الأخرى بعد الحرث، ويتوقف عليه إلى حد كبير النجاح في إعداد مهد مناسب للحبة، ويعرف الحرث بأنه عملية تفكيك للأرض وإثارتها بواسطة الأنواع المختلفة من المحارث على أعماق مختلفة ونظريات عديدة تستبدل على أساسها كل فترة زمنية تحددها التجارب والمحاصيل المدروسة (Retzer, 2015).

إن هدف عمليات الحراثة هو تحسين الخواص الفيزيائية للتربة، لكن الجفاف السريع للتربة الذي يحصل أحياناً بعد الحراثة يسبب انخفاضاً كبيراً في رطوبة التربة، وهذا يؤدي إلى انضغاط التربة وتباطؤ عملية الإنبات (Lafond et al., 2006).

يختلف عمق الحراثة الأمثل للمحاصيل الحقلية حسب الظروف البيئية للمنطقة فقد نصح (Arvidsson, 2014) بآلا يزيد عمق الحراثة عن 30 سم في الظروف الجافة وشبه الجافة ويمكن زيادتها حتى 50-70 سم في الظروف الرطبة.

تعد الحراثة أحد أهم العوامل المؤثرة في عملية إنتاج المحاصيل وخصائص التربة (Rashidi and Keshavarzpour, 2008)، وبالتالي زيادة غلة النبات، إذ أنّ اختيار طريقة الحراثة المناسبة تحسن من خصائص التربة، في حين تؤدي الحراثة غير المدروسة من حيث موعدها وعمقها إلى سلسلة من النتائج غير المرغوبة (Niari et al., 2012). وجد (Triplett et al., 2017) في دراسة لمعرفة تأثير عمق الحراثة الشاقة على غلة الذرة الصفراء خلال السنة الأولى من الدراسة كانت غلة الذرة الصفراء أقل وتأخر النضج في نظام الحراثة الشاقة على عمق 40 سم مقارنة مع الحراثة الشاقة 30 سم وخلال (3-5) سنوات من الدراسة كانت غلة الذرة الصفراء أعلى معنوياً وبنسبة (18-42) % وكان النضج أبكر بحوالي (6-10) أيام عند الحراثة بعمق 40 سم مقارنة مع الحراثة بعمق 30 سم.

تختلف وجهات نظر ومواقف المزارعين البيئيين والعضويين في العالم حول مسألة الحراثة، لكن بشكل عام، وانسجاماً مع ظروف مناخنا الجاف وشبه الجاف، بإمكاننا القيام بالحراثة مرتين في السنة بهدف تحسين الخواص الفيزيائية للتربة، ومن الضروري تحديد عمق الحراثة الأفضل والمتلائم مع حجم الانتشار للمجموع الجذري الخاص بكل

محصول، ينصح البعض بعدم التعمق في الحراثة أو التخفيف منها للمحافظة على رطوبة التربة، في حين ينصح آخرون في بعض المناطق الجافة بعدم الفلاحة (Tsuji *et al.*, 2006).

يستهلك نبات الذرة الصفراء باعتباره محصولاً معزوقاً كميات كبيرة من العناصر الغذائية، ويحتاج إلى إضافات من العناصر الغذائية للحصول على الغلة (Vaiyapuri *et al.*, 2010).

أوضح (عبدالعزیز، بو عیسی، 2002) أن نبات الذرة الصفراء يحتاج في تغذيته إلى اناصر الأساسية الأزوت والفسفور والبوتاس بكميات كبيرة نسبياً لتأمين النمو الخضري والثمري المطلوب إضافة إلى بعض العناصر الأخرى مثل الكالسيوم والمنغنيزيوم والبورون والزنك بكميات تختلف حسب الصنف وخواص التربة وعمق الحراثة الشاقة ومعدل السماد المستخدم.

بين الداودي وآخرون (2015) عند تقييم استجابة هجن من الذرة الصفراء لمستويات مختلفة من السماد الأزوتي 300، 350، 400 كغ يوريا/هـ، وجود فروق معنوية بين مستويات السماد الأزوتي في عدد الأيام من الزراعة إلى 50% تزهير ذكري وأنثوي وارتفاع النبات والعنوس، وكانت استجابة الهجن للسماد الأزوتي أكثر من استجابتها للكثافة النباتية، وكان الهجين DKC 6842 أكثر استجابة لمستويات السماد الأزوتي.

ولاحظ (Ahmed *et al.*, 2007) لدى استخدامهم لأربعة أسمدة نتروجينية لتسميد محصول الذرة هي: كبريتات الامونيوم ونترات الامونيوم واليوريا وسماد الانسيابين (سماد بطيء الفقد للنتروجين)، أن السماد الأخير أعطى أفضل النتائج من حيث زيادة أطوال النباتات، عدد الأوراق/ نبات، عدد السلاميات، المادة الجافة ومساحة الأوراق، بسبب بطء تحرر النتروجين من هذا السماد.

تعد الأسمدة المغذيات الأساسية للنبات ويعد الأزوت أحد أهم ثلاثة مكونات لهذه الأسمدة ويؤثر في جميع مراحل نمو النبات وهو ذو أهمية خاصة للنبات إذ يؤثر في إنباته ونمو مجموعته الخضري، وكفاءته التمثيلية، وغلته النهائية، وخصائصه النوعية

المختلفة، ويرتبط كل من مؤشري المسطح الورقي ودليل المسطح الورقي بشكل كبير بمحتوى الآزوت (ديب، 2013).

أظهرت عدة دراسات الدور الإيجابي لعنصر الآزوت في النمو والغلة الحبية ومكوناتها في الذرة الصفراء (Gungula et al., 2005؛ Al-Kaisi et al., 2007؛ Berenguer et al., 2009)، ويشير (Vittsenko, 1998) إلى أن التسميد المعدني يؤثر إيجاباً في ارتفاع النبات و تراكم المادة الجافة والغلة الحبية، وإن استجابة السلالات متأخرة النضج أكبر من استجابة السلالات الأخرى.

سجل (Pagaria et al., 1995) زيادة معنوية في غلة القطن المحبوب والوزن الجاف للنبات عند الدمج بين إضافة المعدلات الموصى بها من الآزوت والفسفور مع دفنها بأعماق مختلفة في حالة الحراثة الشاقة مع استخدام الأسمدة الكيميائية والآزوتية بوضعها على سطح التربة دون حراثة.

وجد (خيرو، 2005) ان رش السماد النتروجيني و البوتاسي بعد 30 و 70 و 90 يوم من الزراعة قد حقق زيادات معنوية في الوزن الجاف للحبوب و في كمية NPK الممتصة عند النضج التام، ومن الناحية الفيزيولوجية تسهم التغذية الورقية بالسماد النتروجيني و البوتاسي في تأخير شيخوخة نبات الذرة الصفراء، إذ ان رش هذين السامدين على مجموعه الخضري يسهم بشكلٍ فاعل في إبقاء أوراقه نشطة في عملية التمثيل الضوئي حتى الوصول الى النضج التام، فضلاً عن تنظيم حركة العناصر المتحركة و خاصةً النتروجين والفسفور والبوتاسيوم بين الاوراق القديمة والحديثة بشكل متوازن مع تعزيز قدرة الجذور على امتصاصها من محلول التربة (طه، 2008).

وأوضح (Tripett, Dabney, Siefker, 1996) في دراسة لبيان الحاجة من السماد الآزوتي على إنتاجية القطن وتأثيرها بنظام الحراثة، فقد استخدم نوعين من عمق الحراثة الشاقة وهي الحراثة بعمق 20 سم والحراثة بعمق 30 سم فتبين أن معاملات الحراثة بعمق 30 سم أعطت غلة أعلى من ألياف القطن (2749) كغ/هـ وكانت أكثر فعالية في امتصاص الآزوت بنسبة 35%.

أهمية ومبررات البحث:

تشكل الذرة الصفراء أحد أهم المحاصيل النجيلية المزروعة في سورية، وذلك نتيجة لاهتمام الدولة بهذا المحصول في الخطط الزراعية السنوية، وازدياد اهتمام المزارعين بزراعته لتحمله مختلف الظروف المناخية القاسية، وغالباً ما يدخل في الدورة الزراعية، حيث يعد في منطقة البحث مصدراً اقتصادياً وغذائياً للمزارعين ولحيواناتهم التي تتغذى على بقايا هذا المحصول علماً انه في الآونة الأخيرة توصل كثير من الباحثين إلى دور عمق الحراثة ومعدل التسميد الأزوتي في زيادة إنتاجية هذا المحصول كماً ونوعاً، وفي بحثنا سنقوم بإجراء تجربة لدراسة تأثير أعماق الحراثة الشاقة ومعدلات مختلفة من السماد الأزوتي في مراحل النمو وبعض الصفات المورفولوجية لمحصول الذرة الصفراء (غوطة- 82) في ظروف المنطقة الوسطى من سوريا، علماً أن المحصول السابق هو القمح الشتوي (*Triticum aestivum*).

هدف البحث:

يهدف البحث للتوصل الى افضل عمق للحراثة الشاقة وانسب معدل للتسميد الازوتي من خلال معرفة التأثير الإيجابي على بعض الصفات الفينولوجية والمورفولوجية لمحصول الذرة المزروع في التجربة.

مواد وطرائق البحث:

تم زراعة الصنف غوطة-82: وهو صنف ذو نضج متوسط التبرير (120-130) يوم، نباتاته ذات نمو خضري وطول متوسط، وعرائسه حجمها وسط وتستدق في نهايتها وتحتوي على (14-16) صف من الحبوب، الحبوب صفراء منغوزة قليلاً وتتوضع في النصف الأول من الساق، إنتاجيته (6-7) طن/هـ وقد يصل في بعض الأحيان (7-7).

(9 طن/هـ، ويبلغ معدل البذار للهكتار (35) كغ، ووزن الألف حبة (270) غ (المؤسسة العامة لإكثار البذار، 1998).

نفذ البحث في الموسم الزراعي 2020/2019 في مركز البحوث العلمية الزراعية بحمص، ويبين الجدول (1) الظروف المناخية السائدة في موقع الدراسة فترة تنفيذ البحث.

الجدول (1). الظروف المناخية السائدة في موقع الدراسة،

الشهر	درجة الحرارة الصغرى م°	درجة الحرارة العظمى م°	معدل الهطول المطري	السطوع الشمسي الفعال ساعة/يوم	الرطوبة النسبية الدنيا %	الرطوبة النسبية العظمى %
حزيران	18.07	30.01	0	12.70	33.57	82.67
تموز	22.20	34.40	0	12.28	34.90	85.70
آب	22.08	32.37	0	12.24	36.87	82.68
أيلول	20.31	31.64	0	10.23	35.90	85.80
تشرين الأول	17.37	31.38	0	9.00	25.35	78.32

(المحطة المناخية لمركز البحوث الزراعية بحمص ، 2020/2019)

بدراسة الجدول (1) نجد أن موقع الدراسة كان حاراً وجافاً خلال فترة تنفيذ البحث حيث تراوحت درجة الحرارة العظمى بين 30.1 م° في شهر حزيران و34.40 م° في شهر تموز، والصغرى بين 17.37 م° في شهر تشرين الأول و22.20 م° في شهر تموز، وكان معدل السطوع الشمسي الفعال بالمتوسط 9.00-12.70 ساعة/يوم، والرطوبة النسبية العظمى 78.32-85.80%.

أخذت عينات عشوائية من التربة على عمق (0-40) سم، خلطت هذه العينات بحيث مثلت أرض التجربة وتم تحليلها مخبرياً لمعرفة بعض خصائص التربة الفيزيائية والكيميائية، (الجدول، 2).

الجدول (2) التحليل الفيزيائي والكيميائي لتربة الموقع المدروس.

التحليل الكيميائي لمستخلص عجينة التربة			البوتاس المتاح PPM	الفوسفور المتاح PPM	النتروجين المتاح PPM	قوام التربة	توزيع حجم جزيئات التربة		
كربونات الكالسيوم CaCo3	التوصيل الكهربائي / ميليموس / سم	حموضة التربة PH					طين %	سلت %	رمل %
0.46	0.24	8.01	180.5	10.6	20.5	طينية	59.3	18.2	22.5

ويبين جدول تحليل التربة أن التربة طينية فقيرة بالأزوت ومتوسطة المحتوى بالبوتاس وجيدة بالفوسفور، ذات تفاعل قاعدي خفيفة الملوحة.

عوامل التجربة:

- 1- نوع الحراثة الاساسية وعمقها: تم حراثة التربة حراثة شاقة (غير قلابية) بالمحراث الشاق غير القلاب Chisel Plough وهو محراث ذو اسلحة مدببة من طراز البطة يعمل على تقطيع الطبقة تحت السطحية للتربة دون قلبها للأعلى، وتمت الحراثة على ثلاث اعماق (20، 30، 40) سم.
- 2- التسميد الأزوتي (بوريا 46%): بأربعة معدلات (80، 120، 160، 200) كغ N/ه وحدة أزوت، وتم إضافة السماد الأزوتي على دفعتين، الدفعة الأولى مع الزراعة والثانية بعد التقريد النهائي.

وبالتالي كان لدينا 12 معاملة تجريبية كالتالي:

1. حراثة بعمق 20سم وتسميد أزوتي 80كغ/هكتار.
2. حراثة بعمق 20سم وتسميد أزوتي 120 كغ/هكتار.
3. حراثة بعمق 20سم وتسميد أزوتي 160 كغ/هكتار.

4. حراثة بعمق 20 سم وتسميد آزوتي 200 كغ/هكتار .
5. حراثة بعمق 30 سم وتسميد آزوتي 80 كغ/هكتار .
6. حراثة بعمق 30 سم وتسميد آزوتي 120 كغ/هكتار .
7. حراثة بعمق 30 سم وتسميد آزوتي 160 كغ/هكتار .
8. حراثة بعمق 30 سم وتسميد آزوتي 200 كغ/هكتار .
9. حراثة بعمق 40 سم وتسميد آزوتي 80 كغ/هكتار .
10. حراثة بعمق 40 سم وتسميد آزوتي 120 كغ/هكتار .
11. حراثة بعمق 40 سم وتسميد آزوتي 160 كغ/هكتار .
12. حراثة بعمق 40 سم وتسميد آزوتي 200 كغ/هكتار .

صممت التجربة بواسطة القطاعات العشوائية الكاملة بترتيب القطع المنشقة من الدرجة الأولى وبثلاثة مكررات، حيث توضعت معاملة عمق الحراثة في القطع الأساسية main plots، ومعدل التسميد الأزوتي في القطع الثانوية (المنشقة من الدرجة الأولى) split plot، حسب ما هو موضح في (الشكل، 1).

عدد القطع التجريبية 3 لعمق الحراثة $4 \times$ لمستويات الأزوت $3 \times$ مكررات = 36 قطعة تجريبية، وعدد الخطوط في القطعة التجريبية 4 خطوط. طول الخط 6 م، والمسافة بين الخطوط 60 سم وبين النباتات 30 سم على نفس الخط، ومساحة القطعة التجريبية = $14.4 \text{ م} \times 2$ ، فتكون مساحة التجربة المزروعة فعلاً بدون فواصل وممرات ونطاق = $518.4 \text{ م} \times 2$ ، وتم إحاطة التجربة بنطاق للحماية 2 م من كل الجهات، وترك ممر للخدمة 1 م بين القطع التجريبية والمكررات، وتم إجراء عمليات التحليل الإحصائي لكافة الصفات التي شملتها الدراسة باستخدام برنامج Gen Stat 12، وتقدير قيمة أقل فرق معنوي (L S D عند مستوى معنوية 5%).

TD1	N1	1 م	N4	1 م	N2
	N2		N3		N4
	N3		N2		N1
	N4		N1		N3
TD2	N3	1 م	N2	1 م	N1
	N1		N4		N3
	N4		N1		N2
	N2		N3		N4
TD3	N2	1 م	N3	1 م	N4
	N4		N2		N1
	N1		N4		N3
	N3		N1		N2

الشكل (1) يبين مخطط التجربة وفقاً لتصميم القطاعات العشوائية الكاملة حيث:

T1: عمق الحراثة 20 سم. T2: عمق الحراثة 30 سم. T3: عمق الحراثة 40 سم.

N1: معدل التسميد الأزوتي 80 كغ/هكتار. N2: معدل التسميد الأزوتي 120 كغ/هكتار.

N3: معدل التسميد الأزوتي 160 كغ/هكتار. N4: معدل التسميد الأزوتي 200 كغ/هكتار.

العمليات الزراعية:

تم اختيار أرض التجربة بحيث تكون متجانسة قدر الامكان لضمان نجاح الانبات وتجانسه، وتم تحضير التربة بحراستها (حراثة أساسية) على الأعماق المذكورة (20، 30، 40) سم بواسطة المحراث الشاق غير الفلاب، وقبل الزراعة تمت حراستها حراشتين

متعامدتين سطحيتين على عمق 10 سم لتأمين مهد مناسب للزراعة والقضاء على الأعشاب، كما تمت إضافة الأسمدة البوتاسية مع الحراثة الأخيرة، ومن ثم تنعيم الأرض وتخطيطها وإنشاء القطع التجريبية. خطت الأرض إلى خطوط على مسافة 60 سم بين الخط والآخر، وزرعت حبوب الذرة الصفراء بتاريخ 6/23 يدوياً بمعدل حبتين في الجورة الواحدة، وبمعدل 4 خطوط للمكرر الواحد على عمق 5 سم، وتم تغطية الحبوب بشكل جيد، وأعطيت الأرض رية خفيفة بعد زراعتها مباشرةً، وأخرى بعد الزراعة بعدة أيام لتأمين إنبات كامل، ثم استمر الري بالراحة خلال كامل مرحلة النمو من الإنبات وحتى النضج حسب الحاجة.

أضيفت الأسمدة الأزوتية بالمعدلات المذكورة (80، 120، 160، 200) كغ/ هكتار على صورة يوريا (46%) على دفعتين، الدفعة الأولى مع الزراعة والثانية بعد التفريد النهائي.

أجريت عمليات التفريد والتعشيب والترقيع بشكل متساوي بين القطع التجريبية حسب الحاجة ووقيتها المناسب.

المؤشرات المدروسة:

1- نسبة الإنبات الحقلية (%): النسبة المئوية لعدد الحبوب النابتة من العدد الكلي للحبوب المزروعة، وقدرت نسبة الإنبات الحقلية في مرحلة اكتمال الإنبات، عن طريق تحديد مساحتين وبشكل قطري بواسطة أوتاد خشبية وبمكررين في كل قطعة تجريبية، مساحة الواحدة ربع متر مربع بحيث تكون المساحة الكلية 1 م² وحسبت نسبة الإنبات الحقلية من المعادلة:

$$\text{نسبة الإنبات الحقلية} = \frac{\text{عدد النباتات في 1 م}^2 \text{ عند اكتمال الإنبات}}{\text{عدد الحبوب المزروعة في 1 م}^2} \times 100$$

2- عدد الأيام حتى الإزهار المذكر (يوم): وحسب من تاريخ الزراعة وحتى تفتح متوك المحور الرئيسي لحوالي 50% من النورات المذكرة للإزهار المذكر.

3- عدد الأيام حتى الإزهار المؤنث (يوم): وحسب من تاريخ الزراعة وحتى خروج 50% من حرائر النورات المؤنثة إلى طول 2-3 سم للإزهار المؤنث.

4- عدد الأيام حتى النضج (يوم): وحسب من تاريخ الزراعة وحتى اصفرار أوراق النبات وتحول لون أغلفة العرنوس من الأخضر للبني وظهور الندبة السوداء وهي نقطة اتصال الحبة بالقولحة.

5- ارتفاع النبات (سم): يقاس من قاعدة النبات عند سطح التربة وحتى بداية قاعدة النورة المذكورة، بطور النضج.

6 - ارتفاع العرنوس (سم): يقاس من قاعدة النبات وحتى العقدة التي ظهر عندها العرنوس الأول الناضج فيزيولوجياً.

7- مساحة المسطح الورقي الكلي للنبات (PLA) Plant Leaf Area (سم²): حيث تم حساب مساحة الورقة (سم²) عند طرد النورة المذكورة (LI) وعند جمع العرائيس (L2) من المعادلة التالية:

$$\text{مساحة الورقة (سم}^2\text{)} = \text{طول الورقة (سم)} \times \text{أقصى عرض للورقة (سم)} \times 0.75$$

0.75: ثابت تصحيح مساحة الورقة للذرة الصفراء (El-Sahookie, 1985).

ومن ثم تم حساب مساحة المسطح الورقي الكلي للنبات:

$$\text{PLA (سم}^2\text{/نبات)} = \text{مجموع مساحة جميع أوراق النبات.}$$

9- الوزن الجاف للنبات: تم جمع ثلاثة نباتات من كل قطعة تجريبية في مرحلتي طرد النورة المذكورة والعرائيس الخضراء، جففت هوائياً ثم حسب الوزن الجاف بالграм.

10- معدل التمثيل الضوئي الصافي Net Photosynthesis Rate (ملغ/سم²/يوم): أخذت قياسات المساحة الورقية (LI) والأوزان الجافة (WI) لثلاثة نباتات عند طرد النورة المذكورة (LI و WI) ومثلها عند جمع العرائيس (L2 و W2) وحسب معدل التمثيل الضوئي من المعادلة التالية (Williams, 1946).

$$NPR = \frac{(\text{Log } e^{L2} - \text{Log } e^{L1})(W2 - W1)}{(T2 - T1)(L2 - L1)}$$

NPR: صافي إنتاج التمثيل الضوئي (ملغ/سم²/يوم)، $L1$ و $L2$: مساحة الأوراق (سم²) في بداية ونهاية فترة القياس على الترتيب، $W1$ و $W2$: وزن النبات الجاف (غ) في بداية ونهاية فترة القياس على الترتيب، $T1$ و $T2$: عدد الأيام بين المرحلتين.

النتائج والمناقشة:

1. تأثير عمق الحراثة ومعدل السماد الآزوتي في نسبة الإنبات الحقلية (%) ومراحل النمو الفينولوجية (يوم):

كان تأثير عمق الحراثة في المؤشرات المدروسة (نسبة الإنبات الحقلية، وعدد الأيام حتى الإزهار المذكر والمؤنث والنضج) ظاهرياً، (الجدول، 3). وبالنسبة لتأثير معدل السماد الآزوتي في نسبة الإنبات الحقلية فقد كان ظاهرياً، ومعنوياً في جميع مراحل النمو المدروسة، حيث زاد عدد الأيام حتى الإزهار المذكر مع زيادة معدل السماد الآزوتي 80 ، 120 ، 160 ، 200 كغ N/هـ بالقيم 57.0 ، 53.6 ، 52.0 ، 50.4 يوماً على التوالي، كما زاد عدد الأيام حتى الإزهار المؤنث بالترتيب السابق نفسه معنوياً بالقيم 52.4 ، 54.4 ، 55.8 ، 59.4 يوماً على التوالي، كذلك الأمر زاد عدد الأيام حتى النضج بالقيم 104.6 ، 107.0 ، 111.6 ، 114.8 يوماً على التوالي (الجدول، 3).

عند دراسة تأثير التفاعل المشترك لعامل عمق الحراثة ومعدل السماد الآزوتي، تراوحت نسبة الإنبات الحقلية بين 85.94% في المعاملة T1N3 و 89.76% في المعاملة T2N2، إلا أن الفروق بين المعاملات كانت ظاهرية، (الجدول، 3).

بالنسبة لعدد الأيام حتى الإزهار المذكر كان تأثير المعاملات معنوياً، وحققت المعاملتين T1N1 و T3N1 أقل عدد أيام حتى الإزهار المذكر بلغ 50.3 يوم، تلاهما المعاملة T2N1 50.7 يوم، ثم المعاملات T1N2 و T2N2 و T3N2 حيث بلغ 52.0 يوماً، وجاءت بعدها المعاملة T1N3 53.3 يوم، ثم المعاملتين T2N3 و T3N3 53.7 يوم، وأخيراً حققت المعاملات T1N4 ، T2N4 ، T3N4 أكبر عدد حتى الإزهار المذكر بلغ 57.0 يوم، (الجدول، 3).

بالنسبة لعدد الأيام حتى الإزهار المؤنث كان تأثير المعاملات معنوياً، وحققت المعاملتين T1N1 و T3N1 أقل عدد أيام حتى الإزهار المؤنث بلغ 52.3 يوم، تلاهما المعاملة

T2N1 52.7 يوم، ثم المعاملتين T1N2 و T2N2 حيث بلغ 54.3 يوماً، وجاءت بعدها المعاملة T3N2 54.7 يوماً، ثم المعاملة T1N3 55.0 يوم، ثم المعاملة T2N3 56.0 يوماً، تلتها المعاملة T3N3 56.3 يوماً، وأخيراً حققت المعاملات T1N4، T2N4، T3N4 أكبر عدد حتى الإزهار المؤنث بلغ 59.3، 59.3، 59.7 يوماً على التوالي، (الجدول، 3).

بالنسبة لعدد الأيام حتى النضج كان تأثير المعاملات معنوياً، وحققت المعاملة T3N1 أقل عدد أيام حتى النضج بلغ 104.3 يوماً، تلتها المعاملتان T1N1 و T2N1 104.7 يوماً، ثم المعاملة T1N2 106.7 يوم، والمعاملة T2N2 107.0 يوم، والمعاملة T3N2 107.3 يوم، جاءت بعدها المعاملة T2N3 111.3 يوم، والمعاملتين T1N3 و T3N3 111.7 يوم، وأخيراً حققت المعاملات T1N4، T3N4، T2N4 أكبر عدد أيام حتى النضج بلغ 114.7، 114.7، 115.0 يوماً على التوالي، (الجدول، 3).

نستنتج مما سبق أن عدد الأيام حتى اكتمال مراحل النمو قد زاد مع زيادة معدل السماد الأزوتي وبفروق معنوية، في حين كانت الفروق ظاهرية بين معاملات عمق الحراثة ضمن معدل السماد الأزوتي نفسه، ويعود ذلك إلى دور عنصر الآزوت في تشجيع النمو الخضري وإنتاج أوراق جديدة وزيادة مساحتها وبالتالي يؤخر من وصول النبات لمرحلة الإزهار مما يؤدي لتأخير النضج، حيث لوحظ زيادة عدد الأيام بين مجموعة معاملات معدل التسميد 80 كغ/هـ مع أعماق الزراعة المختلفة (T3N1، T2N1، T1N1) ومجموعة معاملات معدل التسميد 200 كغ/هـ مع أعماق الزراعة المختلفة (T1N4، T3N4، T2N4) بالقيم 10.0، 10.3، 10.4 يوماً وبنسبة زيادة بلغت 8.72، 8.96، 9.07% على التوالي. اتفقت هذه النتائج مع نتائج الداودي وآخرون (2015) حيث لاحظ فروقاً معنوية بين مستويات الآزوت 300، 350، 400 كغ يوريا/هـ في عدد الأيام من الزراعة إلى 50% تزهير ذكري وأنثوي والوصول للنضج التام حيث زادت الفترة اللازمة للإزهار والنضج مع زيادة معدل السماد الأزوتي المضاف.

الجدول (3) تأثير عمق الحراثة ومعدل السماد الآزوتي في نسبة الإنبات الحقلية (%) ومراحل النمو الفينولوجية (يوم)

المعاملة	نسبة الإنبات الحقلية (%)	الإزهار المذكر (يوم)	الإزهار المؤنث (يوم)	النضج (يوم)
عمق لحراثة				
T1: 20	87.60	53.2	55.3	109.4
T2: 30	87.50	53.3	55.6	109.5
T3: 40	89.06	53.3	55.8	109.5
LSD0.05	4.119	0.487	0.506	0.659
معدل السماد الآزوتي				
N1: 80	88.29	50.4	52.4	104.6
N2: 120	88.94	52.0	54.4	107.0

تأثير عمق الحراثة ومعدل السماد الأزوتي في بعض الصفات الفينولوجية والمورفولوجية للذرة الصفراء

111.6	55.8	53.6	87.13	N3: 160
114.8	59.4	57.0	87.80	N4: 200
0.761	0.585	0.562	4.756	LSD0.05
عمق الحراثة × معدل السماد				
104.7	52.3	50.3	87.95	T1N1
106.7	54.3	52.0	88.96	T1N2
111.7	55.0	53.3	85.94	T1N3
114.7	59.3	57.0	87.55	T1N4
104.7	52.7	50.7	87.55	T2N1
107.0	54.3	52.0	89.76	T2N2
111.3	56.0	53.7	86.33	T2N3
115.0	59.3	57.0	86.35	T2N4
104.3	52.3	50.3	89.36	T3N1
107.3	54.7	52.0	88.15	T3N2
111.7	56.3	53.7	89.17	T3N3
114.7	59.7	57.0	89.56	T3N4
1.317	1.013	0.973	8.237	LSD0.05

2. تأثير عمق الحراثة ومعدل السماد الأزوتي في ارتفاع النبات (سم) وارتفاع العرنوس (سم) ومساحة المسطح الورقي (سم²/تبات):
ارتفاع النبات:

زاد ارتفاع النبات مع زيادة عمق الحراثة، حيث بلغت قيمته الأعلى 189.9 سم عند الحراثة على عمق 40 سم، وكانت الفروق ظاهرية مع عمق الحراثة 30 سم حيث بلغ 189.1، وتفاوت ارتفاع النبات معنوياً في المعاملتين السابقتين على عمق الحراثة 20 سم حيث بلغ 184.6 سم، (الجدول، 4). كما زاد ارتفاع النبات مع زيادة معدل السماد الأزوتي معنوياً، حيث بلغت قيمته 162.2، 177.3، 201.1، 210.9 سم عند المعدلات 80، 120، 160، 200 كغ N/هـ على التوالي، (الجدول، 4).

عند دراسة تأثير التفاعل المشترك لعامل عمق الحراثة ومعدل السماد الأزوتي في ارتفاع النبات، كان تأثير المعاملات معنوياً، وحقق المعاملات T1N4، T3N4، T2N4 أعلى ارتفاع للنبات بلغ 213.3، 213.3، 206.3 سم وكانت الفروق بين المعاملات الثلاثة السابقة ظاهرية، تلتها المعاملات T3N3، T2N3، T1N3 بالقيم 204.1،

203.1، 196.1 سم، وكان أقل ارتفاع للنبات عند المعاملات T2N1، T3N1، T1N1 حيث لم تتجاوز قيمته عندها

160.4، 162.0، 164.2 سم على التوالي، (الجدول، 4).

نستنتج مما سبق زيادة ارتفاع النبات مع زيادة معدل التسميد الآزوتي معنوياً في حين كان تأثير عمق الحراثة ظاهرياً، حيث لوحظ زيادة ارتفاع النبات بين مجموعة معاملات معدل التسميد 80 كغ/هـ مع أعماق الزراعة المختلفة (T3N1، T2N1، T1N1) ومجموعة معاملات معدل التسميد 200 كغ/هـ مع أعماق الزراعة المختلفة (T1N4، T3N4، T2N4) بالقيم 45.9، 49.1، 51.3 سم، ونسبة زيادة بلغت 29.90، 30.61، 31.67% على التوالي، (الجدول، 4).

تفسر النتائج السابقة بسبب دور الآزوت في زيادة النمو الخضري للنبات وتشجيعه على الانقسام الخلوي مما يؤدي إلى تطاول الساق في النبات، وتتفق هذه النتائج مع نتائج (الراوي وآخرون، 2005) الذي وجد زيادة ارتفاع نبات الذرة الصفراء (صنف بحوث 106) بزيادة مستوى السماد الآزوتي إلى 400 كغ/هـ مقارنةً بالمستوى 240 كغ/هـ.

ارتفاع العرنوس:

زاد ارتفاع العرنوس مع زيادة عمق الحراثة وكانت الفروق ظاهرية بين عمقي الحراثة 30 و40 سم حيث بلغ 93.3، 96.3 سم ومعنوية مع العمق 20 سم 85.4 سم، (الجدول، 4). كما زاد ارتفاع العرنوس مع زيادة معدل السماد الآزوتي معنوياً، حيث بلغت قيمته 71.9، 87.3، 98.9، 108.6 سم عند المعدلات 80، 120، 160، 200 كغ N/هـ على التوالي، (الجدول، 4).

عند دراسة تأثير التفاعل المشترك لعامل عمق الحراثة ومعدل السماد الآزوتي في ارتفاع العرنوس، كان تأثير المعاملات معنوياً، وحقت المعاملتين T3N4، T2N4 أعلى ارتفاع للعرنوس بلغ 112.1، 114.1 سم وكانت الفروق بينهما ظاهرية، ومعنوية مع المعاملة T1N4 99.6 سم، تلتها المعاملتان T3N3، T2N3، بالقيم 103.6، 102.2 سم، وكانت الفروق بينهما ظاهرية ومعنوية مع المعاملة T1N3 90.9 سم، وكان أقل ارتفاع للعرنوس عند مجموعة معاملات معدل السماد الأدنى وأعماق الحراثة المختلفة T1N1،

T2N1، T3N1 حيث لم تتجاوز قيمته عندها 70.9، 71.7، 73.3 سم على التوالي، (الجدول، 4).

نستنتج مما سبق زيادة ارتفاع العرنوس حتى عمق الحراثة 30 سم وكانت الفروق مع العمق 40 سم ظاهرية ويعود ذلك إلى كون أرض التجربة مروية وتقع ضمن منطقة جافة صيفاً فزيادة العمق عن 30 سم يمكن أن يسبب فقدان رطوبة التربة بسرعة ولن يكون مفيداً.

إن الفروق الكبيرة في ارتفاع العرنوس بين الحراثة العميقة والسطحية قد تفسر بسبب التباين في الكثافة الحجمية للتربة الناتج عن اختلاف عمق الحراثة، ومقاومة التربة لاختراق الجذور ومسامية التربة ومستوى تهوية التربة، وحركة الماء والنترات ضمن مقطع التربة. فالحراثة العميقة تحسن ظروف التربة من خلال التفكيك الأفضل لسطح التربة، وتحسين معدل الامتصاص والتهوية وزيادة عمق الجذر وحجمه، وبالتالي زيادة ارتفاع الجزء الخضري للنبات.

كما زاد ارتفاع العرنوس مع زيادة معدل التسميد الأزوتي وزيادة عمق الحراثة معنوياً، حيث لوحظ زيادة ارتفاع العرنوس بين مجموعة معاملات معدل التسميد 80 كغ/هـ مع أعماق الزراعة المختلفة (T3N1، T2N1، T1N1) ومجموعة معاملات معدل التسميد 200 كغ/هـ مع أعماق الزراعة المختلفة (T3N4، T2N4، T1N4) بالقيم 28.7، 40.4، 40.8 سم، وبنسبة زيادة بلغت 40.48، 56.35، 55.66% على التوالي، (الجدول، 4).

تفسر النتائج السابقة بسبب دور الآزوت في زيادة النمو الخضري للنبات وتشجيعه على الانقسام الخلوي مما يؤدي إلى تطاول الساق في النبات، وتتفق هذه النتائج مع نتائج (الجبوري وأنور، 2009) الذي وجد ازدياد ارتفاع العرنوس معنوياً عند زيادة معدل التسميد الأزوتي مقارنة مع الشاهد (بدون تسميد) بحيث وصلت الزيادة في ارتفاع الكوز إلى (3، 11، 24، 35، 9) سم عند إضافة المعدلات (80، 120، 160) كغ/هـ على التوالي .

مساحة المسطح الورقي:

بالنسبة لمساحة المسطح الورقي فقد كان تأثير عمق الحراثة ظاهرياً في مرحلة الإزهار المذكور، أما في مرحلة العرنوس الأخضر فقد كانت الفروق ظاهرية بين عمقي الحراثة 30 و 40 سم حيث بلغ 6121.9، 6045.3 سم²/نبات ومعنوية مع العمق 20 سم 5562.6 سم²/نبات، (الجدول، 4).

زادت قيمة مساحة المسطح الورقي مع زيادة معدل السماد الآزوتي معنوياً وذلك في مرحلتي الإزهار المذكور والعرنوس الأخضر، حيث بلغت قيمته في مرحلة العرنوس الأخضر 4839.2، 5447.9، 6341.0، 7012.0 سم²/نبات، عند المعدلات 80، 120، 160، 200 كغ N/هـ على التوالي، (الجدول، 4).

عند دراسة تأثير التفاعل المشترك لعاملي عمق الحراثة ومعدل السماد الآزوتي في مساحة المسطح الورقي، كان تأثير المعاملات معنوياً، وحققت المعاملة T2N4، أعلى مساحة ورقية بلغت 7322.3 سم²/نبات، وكانت الفروق ظاهرية مع المعاملة T3N4 7208.3 سم²/نبات، ومعنوية مع المعاملة T1N4 6505.0 سم²/نبات، تلتها المعاملتان T2N3، T3N3، بالقيم 6650.7، 6461.3 سم²/نبات، وكانت الفروق بينهما ظاهرية ومعنوية مع المعاملة T1N3 5910.0 سم²/نبات، وكانت أقل قيمة لمساحة المسطح الورقي عند مجموعة معاملات معدل السماد الأدنى وأعماق الحراثة المختلفة T1N1، T2N1، T3N1 حيث لم تتجاوز قيمته عندها 4646.7، 4928.3، 4942.0 سم²/نبات، على التوالي، (الجدول، 4).

نستنتج مما سبق زيادة مساحة المسطح الورقي مع زيادة معدل التسميد الآزوتي وزيادة عمق الحراثة معنوياً، حيث لوحظ زيادة قيمته بين مجموعة معاملات معدل التسميد 80 كغ/هـ مع أعماق الزراعة المختلفة (T3N1، T2N1، T1N1) ومجموعة معاملات معدل التسميد 200 كغ/هـ مع أعماق الزراعة المختلفة (T3N4، T2N4، T1N4) بالقيم 1263.3، 2394.0، 2266.3 سم²/نبات، وبنسبة زيادة بلغت 27.19، 48.57، 45.86% على التوالي، (الجدول، 4).

تفسر زيادة مساحة المسطح الورقي عند الحراثة الأعمق بأنها تساهم في تفكيك التربة حتى العمق المحروث وبالتالي تسهل ارتشاح الماء وتسريع نمو الجذور وامتصاصها

للمغذيات الموجودة في التربة مما يؤدي إلى زيادة نمو النبات الخضري وبتترجم زيادة في مساحة المسطح الورقي، كما أن زيادة معدل الآزوت المضاف قد شجع على النمو الخضري بشكل أبكر وأقوى بالمقارنة مع معدلات الأسمدة الأخرى مما أدى لزيادة مساحة المسطح الورقي معنوياً. اتفقت هذه النتائج مع (فياض، 2008) في تجربته التي تضمنت أربعة مستويات من الآزوت (200 و 250 و 300 و 350) كغ/هـ، وتبين تفوق المستوى الأعلى معنوياً في كل من صفة ارتفاع النبات والمساحة الورقية ودليل المساحة الورقية للذرة الصفراء.

كما اتفقت مع نتائج (عباس والسيدو، 2011) على محصول الشوندر السكري حيث وجد أن الحراثة العميقة حتى 50 سم زادت من المساحة الورقية وبلغت 4447 سم²/نبات، مقارنة بالحراثة السطحية 15 سم حيث لم تتجاوز المساحة الورقية 3218 سم²/نبات.

الجدول (4) تأثير عمق الحراثة ومعدل السماد الأزوتي في ارتفاع النبات (سم) وارتفاع العرنوس (سم) ومساحة المسطح الورقي (سم²/تبات)

المسطح الورقي (سم ² /تبات)		ارتفاع العرنوس (سم)	ارتفاع النبات (سم)	المعاملة
مرحلة العرنوس الأخضر	مرحلة الإزهار المذكر			
عمق الحراثة (سم)				
5562.6	3528.3	85.4	184.6	T1: 20
6121.9	3610.6	93.3	189.1	T2: 30
6045.3	3572.3	96.3	189.9	T3: 40
180.1	163.8	5.46	6.60	LSD0.05
معدل السماد الأزوتي (كغ/هـ)				
4839.2	2979.2	71.9	162.2	N1: 80
5447.9	3562.0	87.3	177.3	N2: 120
6341.0	3806.2	98.9	201.1	N3: 160
7012.0	3935.6	108.6	210.9	N4: 200
207.9	189.2	6.31	7.62	LSD0.05
عمق الحراثة × معدل السماد الأزوتي				
4646.7	3016.3	70.9	160.4	T1N1
5188.7	3505.3	80.3	175.7	T1N2
5910.0	3709.7	90.9	196.1	T1N3
6505.0	3881.7	99.6	206.3	T1N4

4928.3	3082.0	71.7	164.2	T2N1
5586.3	3586.7	87.4	175.8	T2N2
6650.7	3821.0	102.2	203.1	T2N3
7322.3	3952.7	112.1	213.3	T2N4
4942.0	2837.3	73.3	162.0	T3N1
5569.3	3595.3	94.3	180.4	T3N2
6461.3	3887.0	103.6	204.1	T3N3
7208.3	3969.3	114.1	213.3	T3N4
360.2	327.7	10.93	13.20	LSD0.05

3. تأثير عمق الحراثة ومعدل السماد الآزوتي في الوزن الجاف للنبات (غ) وصافي إنتاجية التمثيل الضوئي (غ. م⁻². يوم⁻¹):
الوزن الجاف للنبات:

أثر عمق الحراثة في الوزن الجاف للنبات معنوياً، حيث بلغت قيمته عند الحراثة السطحية 20 سم 56.8، 105.5 غ في مرحلتي الإزهار المذكر والعرنوس الأخضر على التوالي، وزادت معنوياً عند الحراثة المتوسطة 30 سم إلى القيم 61.5، 122.5 غ في المرحلتين السابقتين على التوالي، في حين كانت الفروق بين الحراثة المتوسطة والعميقة 40 سم ظاهرية (الجدول، 5).

أثر معدل السماد الآزوتي في الوزن الجاف للنبات معنوياً، فبلغت قيمته عند المعدل الأدنى 80 كغ/ N هـ 52.9، 94.8 غ في مرحلتي الإزهار المذكر والعرنوس الأخضر على التوالي، ثم زاد وبشكل معنوي عند المعدلات 120، 160 كغ/هـ فبلغت قيمته 56.1، 108.2 غ عند المعدل 120 كغ/هـ، و65.4، 133.2 غ عند المعدل 160 كغ/هـ في المراحل نفسها على التوالي، في حين كانت الفروق بين المعدلين 160 و200 كغ/هـ ظاهرية، (الجدول، 5).

عند دراسة تأثير التفاعل المشترك لعامل عمق الحراثة ومعدل السماد الآزوتي في متوسط الوزن الجاف للنبات، كان تأثير المعاملات معنوياً، وحققت المعاملة T2N4 في

مرحلة العرنوس الأخضر أعلى القيم بلغت 140.7 غ، وكانت الفروق ظاهرية مع المعاملات T3N3، T2N3، T3N4 فبلغ متوسط الوزن الجاف عندها على الترتيب 139.6، 139.4، 137.3 غ، ومعنوية مع باقي المعاملات، وكانت أقل قيمة للوزن الجاف في مجموعة معاملات معدل الأزوت الأدنى عند أعماق الحراثة المختلفة T1N1، T2N1، T3N1 حيث لم تتجاوز قيمته عندها 88.4، 97.5، 98.4 غ، على التوالي، (الجدول، 5).

نستنتج مما سبق زيادة الوزن الجاف للنبات مع زيادة معدل التسميد الأزوتي وزيادة عمق الحراثة، حيث لوحظ زيادة قيمته بين مجموعة معاملات معدل التسميد 80 كغ/هـ مع أعماق الزراعة المختلفة (T3N1، T2N1، T1N1) ومجموعة معاملات معدل التسميد 200 كغ/هـ مع أعماق الزراعة المختلفة (T3N4، T2N4، T1N4) بالقيم 30.9، 43.2، 41.2 غ، ونسبة زيادة بلغت 34.95، 44.31، 41.87% على التوالي، (الجدول، 5).

تفسر زيادة الوزن الجاف عند الحراثة الأعمق بسبب تحسين ارتشاح الماء ونفوذ في التربة، وزيادة التهوية عن طريق زيادة المسام الهوائية وزيادة نمو المجموع الجذري كما تساعد الحراثة العميقة في توضع الأسمدة في منطقة نمو الجذور مما يسهل امتصاصها من قبل النبات فيزيد نموه مما يؤدي إلى زيادة الوزن الجاف. كما تفسر زيادة الوزن الجاف لنبات الذرة الصفراء الخضري بزيادة تراكم الأزوت المضافة الى الدور البناء لهذه العنصر في النبات، إذ تتأثر هذه الصفة بالعوامل البيئية ومدى توفر الأزوت، فدخوله في بناء معظم الاغشية الخلوية في النسيج النباتي و خاصةً البلاستيدات الخضراء، يمكن النبات من عمل صافي تمثيل ضوئي عالٍ يزيد من معدل انتاج مواد الهيكل الكربوني والذي يعد ركيزة بناء المجموع الخضري الاساسية (Baier *et al.*, 2002)، كما أن زيادة ارتفاع النبات وزيادة مساحة مسطحه الورقي عند معدلات التسميد الأعلى لا بد أن تتوافق مع زيادة الوزن الجاف للنبات. اتفقت هذه النتائج مع (فياض، 2008) في تجربته

التي تضمنت أربع مستويات من الآزوت (200 و 250 و 300 و 350) كغ/هـ، وتبين تفوق المستوى الأعلى معنوياً في والمساحة الورقية والوزن الجاف الكلي للنبات.

صافي إنتاجية التمثيل الضوئي:

أثر عمق الحراثة في صافي إنتاجية التمثيل الضوئي معنوياً، حيث بلغت قيمته عند الحراثة السطحية 20 سم 5.16 غ.م⁻². يوم⁻¹، وزادت معنوياً عند الحراثة المتوسطة 30 سم إلى 6.05 غ.م⁻². يوم⁻¹، في حين كانت الفروق بين الحراثة المتوسطة والعميقة 40 سم ظاهرية (الجدول، 5).

أثر معدل السماد الآزوتي في صافي إنتاجية التمثيل الضوئي معنوياً، فبلغت قيمته عند المعدل الأدنى 80 كغ/هـ 5.19 غ.م⁻². يوم⁻¹، ثم زاد وبشكل معنوي عند المعدلات 120، 160 كغ/هـ فبلغت قيمته 5.59، 6.19 غ.م⁻². يوم⁻¹ على التوالي، في حين كانت الفروق بين المعدلين 160 و 200 كغ/هـ ظاهرية، (الجدول، 5).

عند دراسة تأثير التفاعل المشترك لعامل عمق الحراثة ومعدل السماد الآزوتي في صافي إنتاجية التمثيل الضوئي، كان تأثير المعاملات معنوياً، وحققت المعاملة T2N3 أعلى القيم بلغت 6.68 غ.م⁻². يوم⁻¹، وكانت الفروق ظاهرية مع المعاملة T3N3 6.55 غ.م⁻². يوم⁻¹، ومعنوية مع باقي المعاملات، وكانت أقل قيمة لهذا المؤشر عند معاملات عمق الحراثة الأدنى T1N1، T1N2، T1N3 حيث لم تتجاوز قيمته عندها 4.79، 5.04، 5.34 غ.م⁻². يوم⁻¹، على التوالي، (الجدول، 5).

نستنتج مما سبق زيادة صافي إنتاجية التمثيل الضوئي مع زيادة معدل التسميد الآزوتي حتى 160 كغ/هـ وزيادة عمق الحراثة، حيث لوحظ زيادة قيمته بين مجموعة معاملات معدل التسميد 80 كغ/هـ مع أعماق الزراعة المختلفة (T3N1، T2N1، T1N1) ومجموعة معاملات معدل التسميد 160 كغ/هـ مع أعماق الزراعة المختلفة (T1N3، T2N3، T3N3) بالقيم 0.55، 1.34، 1.10 غ.م⁻². يوم⁻¹، ونسبة زيادة بلغت 11.48، 26.09، 20.18% على التوالي، (الجدول، 5).

تفسر النتائج بأن الحراثة الأعمق وزيادة معدل السماد الأزوتي حتى 160 كغ/هـ قد سببتا زيادة النمو الخضري ومساحة المسطح الورقي والوزن الجاف للنبات مما ساهم في تحسين معدل التمثيل الصافي للنبات.

الجدول (5) تأثير عمق الحراثة ومعدل السماد الأزوتي في الوزن الجاف للنبات (غ) وصافي إنتاجية التمثيل الضوئي (غ. م². يوم⁻¹)

إنتاجية التمثيل الضوئي (غ. م ² . يوم ⁻¹)	الوزن الجاف للنبات (غ/تبات)		المعاملة
	مرحلة العرنوس الأخضر	مرحلة الإزهار المذكر	
عمق الحراثة (سم)			
5.16	105.5	56.8	T1: 20
6.05	122.5	61.5	T2: 30
6.05	121.7	61.4	T3: 40
0.176	4.272	2.469	LSD0.05
معدل السماد الأزوتي كغ/هـ			
5.19	94.8	52.9	N1: 80
5.59	108.2	56.1	N2: 120
6.19	130.1	65.3	N3: 160
6.05	133.2	65.4	N4: 200
0.203	4.933	2.851	LSD0.05
عمق الحراثة × معدل السماد			
4.79	88.4	50.3	T1N1
5.04	100.8	55.4	T1N2
5.34	113.6	60.6	T1N3
5.48	119.3	60.8	T1N4
5.34	97.5	53.4	T2N1
5.83	112.4	57.1	T2N2
6.68	139.4	67.7	T2N3

6.35	140.7	67.8	T2N4
5.45	98.4	55.1	T3N1
5.89	111.4	55.6	T3N2
6.55	137.3	67.5	T3N3
6.32	139.6	67.6	T3N4
0.352	8.545	4.993	LSD0.05

الاستنتاجات والمقترحات:

1. أثر عمق الحراثة معنوياً في الصفات المورفوفيزيولوجية للذرة الصفراء، وحققت الحراثة المتوسطة على عمق 30 سم أفضل القيم بالنسبة لارتفاع النبات وارتفاع العرنوس ومساحة المسطح الورقي والوزن الجاف للنبات وإنتاجية التمثيل الضوئي، وكانت الفروق مع الحراثة العميقة 40 سم ظاهرية، في حين كانت معنوية مع الحراثة السطحية 20 سم.
2. أثر معدل التسميد الآزوتي معنوياً في مراحل نمو النبات حيث لوحظ زيادة عدد الأيام حتى اكتمال مراحل النمو (الإزهار المذكر والمؤنث والنضج) مع زيادة مستوى الآزوت المضاف، في حين حقق المعدل 200 كغ/هـ أعلى القيم بالنسبة لارتفاع النبات وارتفاع العرنوس ومساحة المسطح الورقي، في حين حقق المعدلان 160 و 200 كغ/هـ أفضل القيم بالنسبة للوزن الجاف وإنتاجية التمثيل الضوئي إذ كانت الفروق بين هذين المعدلين ظاهرية بالنسبة لهذين المؤشرين.
3. حققت المعاملة T2N4 (الحراثة على عمق 30 سم والتسميد بمعدل 200 كغ/هـ) أفضل القيم بالنسبة لارتفاع النبات ومساحة المسطح الورقي للنبات والوزن الجاف للنبات، في حين حققت المعاملة T2N3 (الحراثة على عمق 30 سم والتسميد بمعدل 160 كغ/هـ) أفضل وزن جاف للنبات وإنتاجية لمعدل التمثيل الصافي والتي ستعكس مباشرة على زيادة إنتاجية النبات، أي أن الزيادة في مساحة المسطح الورقي للنبات والنتيجة عن زيادة مدل التسميد من 160 حتى 200 كغ/هـ لم تنعكس على زيادة الوزن الجاف للنبات وإنتاجية التمثيل.

وبناءً على ما سبق نقترح استخدام المحراث الشاق غير القلاب لحراثة التربة بعمق 30 سم كحراثة اساسية مع إضافة السماد الأزوتي (بوريا 46%) بمعدل 160 كغ/ هـ عند زراعة محصول الذرة الصفراء الصنف (غوطة-82) في المنطقة الوسطى من سوريا، وذلك للحصول على أفضل صفات فينولوجية و مورفولوجية لنبات الذرة الصفراء المزروع مقارنة مع أعماق الحراثة الشاقة غير القلابة ومعدلات التسميد الأزوتي الأخرى المستخدمة في التربة.

المراجع العلمية (References):

أولاً: المراجع العربية:

- 1 - الجبوري، محمد ابراهيم، صالح، أنور، محسن، آرول 2009- تأثير مستويات ومواعيد إضافات مختلفة من السماد النيتروجيني في نمو صنفين من الذرة الصفراء، المجلة الأردنية في العلوم الزراعية، 65(1).
- 2- الداودي، علي حسين، الجبوري، خالد خليل و محمد إبراهيم العكيدي، 2015- أداء ثلاثة هجن من الذرة الصفراء (*Zea mays L.*) للكثافة النباتية والسماد النيتروجيني، مجلة ديالى للعلوم الزراعية 17(1): 133، 147.
- 3- الراوي، أحمد عبد الهادي، تركي مفتن سعد، رحيم، هادي عبد الله، 2005- تأثير الكثافة النباتية ومستوى السماد النيتروجيني في نمو وحاصل الذرة الصفراء، مجلة الزراعة العراقية، مجلد 10(2): 25-31، 314 ص.
- 4- المجموعة الاحصائية الزراعية السورية، 2018- وزارة الزراعة والاحصاء الزراعي، سورية، 240 ص.
- 5- خيرو، أوس ممدوح، 2003- تأثير الرش التكميلي بالنيتروجين والبوتاسيوم في نمو حاصل الذرة الصفراء *Zea mays L.* رسالة ماجستير - كلية الزراعة /قسم علوم التربة والمياه/ جامعة بغداد، 320.
- 6 - ديب، بديع، 2013- كيمياء الأسمدة، القسم النظري، كلية الزراعة، جامعة دمشق (66 - 87 - 88) ص.
- 7- عبدالعزيز، محمد، بو عيسى، عبدالعزيز حسن، 2002- تأثير توزيع اليوريا أثناء النمو في تطور نبات القطن وإنتاجيته، مجلة باسل الاسد للعلوم الهندسية الزراعية، العدد 16(107 - 130) ص.
- 8 - فياض، نايف، 2008- استجابة الذرة الصفراء للتسميد النيتروجيني. وزارة الزراعة، مديرية زراعة الأنبار، 115 ص.
- 9- نقولا، ميشيل زكي، 2005- محاصيل العلف، منشورات جامعة البعث كلية الزراعة، 204 ص.

- 10 - نقولا، ميشيل زكي، شهاب، حسن، 2008- محاصيل العلف الأخضر والمراعي، كلية الزراعة، منشورات جامعة البعث، 467 ص.
- 11- يعقوب، رلى، نمر، يوسف، 2011- تقانات انتاج محاصيل الحبوب والبقول، الجزء النظري، منشورات جامعة دمشق، كلية الزراعة، 298ص.

ثانياً: المراجع الاجنبية :

- 1- Ahmed , Amal G., Nabila M. Zaki and M.S, Hassanein. 2007 – Response Grain Sorghum to Cifferent Nitrogen Sources, Res. J. Agric. and Biol. Sci. 3(6):1002-1008 P.
- 2- Al-Kaisi, M., and D.Kwaw,Mensah, 2007 – Effect of Tillage and Nitrogen Rate on Corn Yield and Nitrogen And Phosphorus Uptake in a Corn-Soybean Rotation. Agron. J., 99: 1548-1558 P.
- 3- Arvidsson, J., 2014 – Influence of Soil Texture and Organic Matter Content on Bulk Density, Air Content, Compression Index and Crop Yield in Field and Laboratory Compression Experiments . Soil and Tillage Research. vol. 49, 159-170 P.
- 4- Baier, J., Baierova, V. and .Baratova, Z. 2002 – .Possibilities of Using analyses for Plant Nutrition Diagnostics for Nutrient Foliar Application . P www.global-green.com.in 27/3/2006 page: 1-13
- 5- Berenguer, P., Santiveri, J., Boixadera, F., and J. Lioveras, 2009 – Nitrogen Fertilization of Irrigated Maize under Mediterranean conditions. Europ.J. Agron.,30: 163-171 P.
- 6- Dowswell, C. D., R. L. Paliwal and R. P., Cantrell ,1996 – Maize in the Third World. Westview Press, Boulder ,160 P.
- 7- El-Sahookie, M.M, 1985– A short Method for Estimating PLant Leaf Area in Maize. Journal of Agronomy and Crop Science 154: 157–160P.
- 8- Gungula, D. T., A. O. Togun and J. G., Kling, 2005 –The Influence of N rates on Maize Leaf Number and Senescence in Nigeria. World J.Agric., Sci., 1(1): 1-5 ,214 P.
- 9- Lafond G. P., May W. E., Stevenson F. C., and ,Derksen D.A., 2006– Effects of Tillage Systems and Rotations on Crop Production for a thin Black Chernozem in the Canadian Prairies. Soil and Tillage Research. vol. 89,232-245 P.
- 10-Niari S.M., Rashidi,M., Mousavi, S.M and M. Nazari, 2012– Effect of Different Tillage Methods on Yield and Quality of

- Sugar Beet. Middle-East Journal of Scientific Research 12 (6): 859-86 P.
- 11-Pagaria ,T .M., Ravankar ,H .N., Khonde , H .W., Gawande R .P. and Labaria , G.S, 1995– Effect of FYM with and without Fertilizer on, Crops ,odessa ,M ,260 p.
- 12-Rashidi, M., and F., Keshavarzpour, 2008– Effect of Different Tillage Methods on Soil Physical Properties and Crop Yield of Melon (*Cucumis melo*). American-Eurasian, J. Agric. and Environ. Sci., 3: 31-36 P.
- 13-Retzer , J., 2015 – Soil Development in the Rocky Mountains, Soil Sci. Soc. Am .Proc ., 13: 446 – 448 P.
- 14-Tripier. G., Dabney , M., and Siefker, J,1996– Tillage Systems for Zea Mays on Salty Upgand Soil. Journal of Agronomy, 88:507 -512P.
- 15-Tsuji H., Yamamoto H., Matsuo K., Usuki K., 2006 –The Effect of Long- Term Conservation Tillage, Crop Residues and P Fertilizers on Soil Conditions and Responses of Summer and Winter Crops on Andosol in Japan. Soil and Tillage Research. vol. 89, 167-176 P .
- 16-Vaiyapuri, K., Amanullh, M., Rajendran, K., and Sathyamoorthi, K,2010 – Intercropping Unconventional Green Manures in Zea Mays : an Organic Approach For Multiple Benefits. Asian. J. Plant Sci, 9 (4) , 223P.
- 17-Vittsenko, V., 1998 – Yield, P., of Parental Forms of Maize. Kukuza Sorgo N 4,10-11P.
- 18-Williams, R.F.,1946 –The Physiology of Plant Growth with Special Reference to the Concept of net Assimilation rate. Annals of Botany 37: 41–71P D.A.

دراسة القرابة الوراثية بين عزلات محلية من

البكتريا المسببة لمرض سل الزيتون

Pseudomonas savastanoi pv. *savastanoi* (pss)

الباحثين: د. فاتن العلوش¹، د. محمود أبوغرة²، د. عايدة جلول³

(1) الهيئة العامة للتقانة الحيوية، دمشق، سورية

(2) كلية الزراعة، جامعة دمشق (3) كلية الزراعة، جامعة مشق

للمراسلة: م. فاتن العلوش، البريد الإلكتروني en.alouche@gmail.com

المخلص :

يعدّ مرض سل الزيتون الذي تسببه البكتيريا *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (Pss) من الأمراض الهامة التي تصيب شجرة الزيتون في سورية. طبقت تقانات البصمة الوراثية rep-PCR (repetitive-PCR) على 25 عزلة من Pss (تم عزلها وتعريفها بالاختبارات الكيميائية والعدوى الاصطناعية) بهدف تمييز العزلات ورسم شجرة القرابة الوراثية. أظهرت نتائج الرحلان الكهربائي لتقانات rep-PCR وجود حزم مميزة تراوحت أوزانها بين 100 bp و 1400 bp (24 و 12 و 12 حزمة لتقانات ERIC-, REP-, BOX-PCR). حُسبت مصفوفة التشابه لنتائج البصمة الوراثية باستخدام برنامج POPGENE 1.32، حيث تراوحت نسبة التشابه في العزلات البكتيرية المدروسة بين 40% و 100%. كانت العزلة sav21 المأخوذة من منطقة مصيف هي الأقرب للعزلة المرجعية B46 بنسبة تشابه 85% تليها sav5.2 و sav10.a المأخوذتان من منطقة اللاذقية بنسبة تشابه 80%. انقسمت شجرة القرابة الوراثية إلى عنقودين أحدهما ضم العزلات المرجعية B46،A77،B34،S32 والأخر انقسم إلى تحت عنقودين منفصلين حيث ضم تحت العنقود الأول عزلات منطقة مصيف (sav20،sav21،sav23) وضم تحت العنقود الثاني عزلات محافظة اللاذقية. وبالتالي تمكنت تقانات البصمة الوراثية من تصنيف عزلات Pss إلى ثلاثة عناقيد تبعاً لمنطقة العزل.

الكلمات المفتاحية: بكتريا المسببة لسل الزيتون، تقانات rep-PCR، البصمة الوراثية، شجرة القرابة الوراثية.

A Study of the genetic relationship between local isolates of olive Knot bacteria *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*

Abstract

Olive Knot caused by the bacterium *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (Pss) is one of important diseases infecting the olive tree in Syria. Repetitive - PCR (rep-PCR) techniques were applied to 25 isolates of Pss (isolated and defined by chemical tests and artificial infection) to distinguish isolates and to draw the genetic dendrogram. Electrophoresis of rep-PCR products showed distinct bands of weights ranging between 100bp and 1400bp, (24, 12, and 12 bands of ERIC-, REP-, BOX-PCR techniques respectively). The similarity matrix of the isolates genetic fingerprints results of rep-PCR techniques was calculated using POPGENE 1.32 program. The percentage of similarity in the studied bacterial isolates ranged between 40% and 100%. The isolate sav21 from Mesyaf region was the closest to the reference isolate (B46) with a similarity of 85%, followed by sav5.2 and sav10.a from Lattakia region with a similarity with reference isolate (B46) of 80%. The genetic dendrogram was divided in two clusters, one of which included the reference isolates (S32, B34, A77, B46) and the other was divided into two separate sub-clusters, the first sub-cluster included the isolates of Mesyaf region (sav20, sav21, sav23). The second sub-cluster included the isolates of Lattakia region. Thus, DNA fingerprinting techniques were able to classify Pss isolates into three clusters according to the isolation region.

Key words: *Pseudomonas savastanoi*, fingerprint, rep-PCR, genetic dendrogram, Syria.

مقدمة:

يعد مرض سل الزيتون من الأمراض النباتية القديمة، حيث تسبب الإصابة به أضراراً مختلفة فعند إصابة غراس الزيتون الصغيرة تؤدي إلى موت البراعم مما يشوه المنظر العام للأشجار وخفض الإنتاج بنسبة 22%، كما تسبب طعماً غير مستساغ للثمار والزيت (Schroth وزملاؤه، 1968) وتخفض من المحتوى الزيتي والبروتيني للثمار (Osman وزملاؤه، 1980؛ Civantos Lopez-Villalta، 1999)، وعلى كمية الإنتاج (Schroth وزملاؤه، 1973). تمت الإشارة إليه منذ العام 300 قبل الميلاد وقد وصفه العالم النباتي والفيلسوف الاغريقي Thiophrastos (1981، Janse)، وقد أعتقد في البداية أن المرض ناتج عن إصابات حشرية أو جروح التقليل أو ضربة شمس إلى أن قام العالم Luigi Savastano بتحديد الطبيعة البكتيرية لهذا المرض عن طريق إجراء العدوى الاصطناعية عام 1889 وسماها *Bacillus olea* Marchi (1905، 2005)، وفي عام 1908 حدد العالم Smith صفات هذه البكتريا وسماها *Bacterium savastanoi*، وسُميت البكتريا لاحقاً *Pseudomonas savastanoi* من قبل Stevense (1913). تصيب هذه البكتريا عدة نباتات من العائلة الزيتونية *Oleaceae* مثل الدردار *Fraxinus sp* و *Ligustrum sp* و الياسمين *Jasminum sp*. وتصيب أيضاً الدفلة *Nerium oleander L.* و *Phyllyrea sp.* (Bradbury، 1986)، وقد سُميت البكتريا المعزولة من العوائل النباتية المختلفة بأسماء مختلفة (Surico و Iacobellis، 1992)، كما أستخدمت عدة طرائق للتصنيف ودراسة التنوع الوراثي للبكتريا كاختبارات القدرة الأمراضية، اختبار الحساسية، الاختبارات المصلية باستخدام الأجسام المضادة وحيدة النسيلة ومتعددة النسيلة، الاختبارات الكيمائية، اختبارات المسح من خلال المواد التي تستهلكها البكتريا BIOLOG، اختبار الحساسية للمضادات الحيوية، دراسة أنماط الأحماض الدهنية fatty acid methyl esters (FAME). رحلان مستخلصات البروتين على هلامة البولي أكريلاميد sodium dodecyl sulfat polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)، الرحلان ثنائي الاتجاه للبروتينات 2-D PAGE، الكشف عن الأيزوزيمات، تحليل البلاسميد وال DNA الجينومي وتحديد نتاج النكليوتيدي لمورثات (ssu rDNA، 16S، 23S rDNA، rDNA) (De Bruijn وزملاؤه، 1994؛ Adhikari وزملاؤه، 1996؛

وزملاؤه، 2012؛ Ferreira-tonin وزملاؤه، 2012) ولكل طريقة من الطرائق السابقة مشاكلها التي تحد من استخدامها.

درس Sisto وزملاؤه (2002) التنوع الوراثي لعزلات بكتيرية Pss معزولة من الزيتون والدقلة والدردار بطريقة restriction fragment length polymorphism (RFLP) ووجدوا أن عزلات الزيتون تختلف عن عزلات الدقلة والدردار وهذا يدعم النظريات التي تقول أن مجتمع *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* الذي يصيب العوائل المختلفة متنوع، إلا أن هذه الطريقة تتطلب مجهود ووقت كبيرين علاوة على أنها تحتاج كميات كبيرة من الDNA $10 - 2 \mu\text{g}$ (powell وزملاؤه، 1996)، واستخدمت أيضاً تقانة التضخيم العشوائي لل DNA متعدد الأشكال Random Amplification polymorphic of DNA (RAPD) وهي نادرة الاستخدام في دراسة البكتريا ولا تحظى بثقة الباحثين لعدم ثباتية النتائج عند تكرار الاختبار لنفس العزلات (Mueller و Welfenbarger، 1999؛ Garcia وزملاؤه، 2004؛ Ghazi وزملاؤه، 2013)، حيث وجد Krid وزملاؤه (2008) عند دراسة خصائص 58 عزلة من تونس بواسطة RAPD و rep-PCR أن العزلات توزعت في ثلاث مجموعات بشكل متوافق مع المنطقة الجغرافية التي عزلت منها وأستخدمت أيضاً طريقة التعدد الشكلي لأطوال القطع المضخمة Amplified fragment length polymorphism (AFLP) لكنها تحتاج إلى DNA عالي النقاوة و مجهود ووقت كبيرين وكلفتها عالية (Garcia وزملاؤه، 2004)، وذكر De Bruijn وزملاؤه (1996) أن الذي حسن الطرائق المعتمدة على DNA هو استخدام ال PCR بالتعريف والتصنيف والبصمة الوراثية. واقترحت دراسات عديدة بأن تقنيات البصمة الوراثية المعتمدة على السلاسل التكرارية repetitive- PCR (rep-PCR) يمكن استخدامها كتقنيات فحص سريعة ومميزة جداً لتحديد النمط الوراثي والتنوع التصنيفي وتركيب القرابة الوراثية للمجتمعات البكتيرية (Louws وزملاؤه، 1994؛ Rademaker وزملاؤه، 2000؛ Rademaker وزملاؤه، 2005؛ Asgaranil وزملاؤه، 2015) حيث تقوم اختبارات البصمة الوراثية المعتمدة على repetitive- PCR على استخدام بادئات ال DNA المقابلة لتكرارات (motifs) محفوظة في سلاسل تكرارية موجودة طبيعياً في جينوم البكتريا (Louws وزملاؤه، 1994؛ Busse و Wieser، 2000) وهذه السلاسل المكررة موجودة في أغلب البكتريا إن لم يكن جميعها (De Bruijn، 1996).

تسمح طرائق البصمة الوراثية بفحص المناطق العشوائية في جينومات الممرضات النباتية بهدف تحديد سلاسل متخصصة بالنوع عندما تكون المورثات المحفوظة غير كافية لتعريف الأنواع، وتستخدم عادة من أجل دراسة القرابة الوراثية لمجتمعات الممرضات حتى أنها تفيد في تعريف سلاسل متخصصة تسمح بالكشف عن الممرضات على مستويات تصنيفية منخفضة والتميز بين عزلات النوع الواحد (د.عايدة جلول، اتصال شخصي). وذكر Louws وزملاؤه (1994) أن هناك عدة عائلات من سلاسل تكرارية منتشرة على طول جينومات الأنواع البكتيرية لكن ثلاث منها درست بنفاصيل كبيرة وهي:

سلسلة repetitive extragenic palindromic (REP) وزنها من 35 إلى 40 bp.
سلسلة enterobacterial repetitive enterogenic consensus (ERIC) وزنها من 124 إلى 127 bp، وسلسلة (BOX) وزنه 154 bp.

وذكر De Bruijn (1996) أن بادئات الـ PCR صُممت لثُقرأ خارج الاتجاه واعتباراً من التكرارات المعكوسة في REP و ERIC. ومن تحت الوحدة BOX A في BOX وأدى استخدام البادئات الثلاث في PCR لتضخيم انتقائي للمناطق الوراثية المتواضعة بين سلاسل BOX و REP و ERIC، بحيث يُطلق على التقانات المقابلة لها اسم (ERIC-، REP-، BOX-PCR) ولجميعها (rep-PCR) (Versalovic وزملاؤه، 1994)، وبذلك فإن الحزم المضخمة عند ترجيلها على هلامة الآغار ستعطي أنماط بصمة وراثية مشابهة للباركود وظيفتها مثل توقيع خاص ونوعي للعزلات البكتيرية حيث استخدم هذه الطريقة على عزلات Pss كل من Mirik وزملاؤه (2011) و Scortichini وزملاؤه (2004).

هدف البحث إلى

دراسة القرابة الوراثية بين عزلات محلية من البكتريا المسببة لمرض سل الزيتون باستخدام تقنيات

Eric_PCR، Box_PCR، Rep_PCR

مواد وطرائق العمل :

استخلاص DNA و تفاعلات البصمة الوراثية rep-PCR :
أُستخلص DNA من مستعمرات فتية بعمر 24 ساعة باستخدام DNA wizard isolation and purification kit من شركة Promega وفق تعليمات الشركة الصانعة. حُددت سلامة DNA بواسطة الرحلان الكهربائي على هلامة الآغاروز Agarose 1% المُضاف لها ايثيديوم

برومايد باستخدام محلول منظم للرحلان 1X TBE (10x TBE = 108 غ Tris base، 55 غ boric acid، 9.3 غ 1mM EDTA / 1 ل ماء مقطر). فُحصت الهلامة تحت الأشعة فوق البنفسجية (UV) بوساطة جهاز توثيق الهلامات Gel documentation system (ViLBER LourMat). أُعتبرت عينات الحمض النووي DNA ذات جودة جيدة عند عدم وجود تفكك فيها (Smear). ثم أُجريت تقانات (ERIC-PCR، REP-PCR، BOX-PCR) المعتمدة على السلاسل التكرارية الموجودة ضمن الجينوم البكتيري لـ DNA من العزلات البكتيرية المدروسة. يتكون تفاعل الـ PCR من 12.5 µl (promega) hot start go taq Master Mix 2x و 1.25 µl من البادئ المباشر For (10Mµ) و 1.25 µl من البادئ غير المباشر Rev (10Mµ) وذلك في تقانتي الـ Rep و Eric أما في تقانة الـ Box فقد تم استخدام 2.5 µl من البادئ Box1R و 5 µl من محلول DNA و 5 µl ماء مقطر معقم لإكمال حجم التفاعل النهائي إلى 25 µl. وأُجري تفاعل الـ PCR للتقانات الثلاث باستخدام جهاز (eppendorf) (Mastercycler) وفق المراحل التالية : مرحلة تنشيط الأنزيم وفصل سلسلتي الـ DNA ولمدة زمنية 7 دقائق لدورة واحدة تليها مرحلة مكررة لـ 35 (denaturation) لمدة 1 دقيقة، alignment حسب Tm كل زوج بادئات لمدة دقيقة وبلمرة polymerization لمدة 8 دقائق ثم مرحلة استطالة final extention لدورة واحدة ومدة زمنية 16 دقيقة.

جدول (1) تسلسل البادئات المستخدمة في تفاعلات Rep-PCR

Tm	primer	Sequence
60	ERIC1	5'-ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC-3'
62	ERIC2	5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG -3'
53	REP1	5'-IIICGICGICATCIGGC-3'
53	REP2	5'-ICGICTTATCIGGCCTAC-3'
69	BOX	5'-CTAGGCAAGGCGACGCGCGCTGACG-3'

(Penyalver وزملاؤه، 2006).

بعد إتمام الـ PCR لدوراته تم الكشف عن نواتج التفاعل على هلامة أغاروز 1.5% ضمن محلول TBE، بالمقارنة مع مؤشر قياسي kb1 (Fermentas# SM0333) ومؤشر قياسي

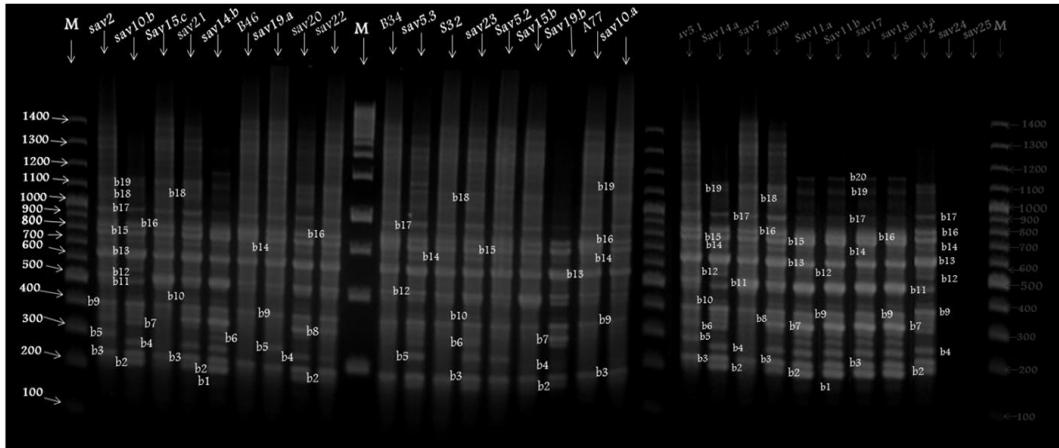
pb100 (Fermentas# SM0333) وتطبيق تيار كهربائي 100 فولط لمدة ساعتين، ثم إظهار الحزم بعد صبغ الهلامية بمحلول إيثنديوم برومايد تركيزه 5 مغ/ل والتصوير تحت الأشعة فوق البنفسجية 256 nm باستخدام جهاز توثيق الهلامات system Gel documentation (VILBERL OURMAT). حُدد وجود أو غياب الحزم الناتجة من التضخيم بتقانة rep-PCR من خلال مقارنتها مع المؤشرات الجزيئية المستخدمة وفق النظام الثنائي 0/1 وحُدثت مصفوفة التشابه والتباعد الوراثي بين العزلات المدروسة بكل تقانات PCR rep- حسب Nei (1979) باستخدام برنامج POPGEN version 1.32 ،population genetic analysis ، ورسمت شجرة القرابة الوراثية باستخدام برنامج Treecon 1.3b بطريقة Neighbor joining بالاعتماد على معادلة Li و Nei (1979) في حساب معامل التباعد وأظهرت الـ Bootstrap على أفرع الشجرة (100 iteration مرة).

النتائج والمناقشة:

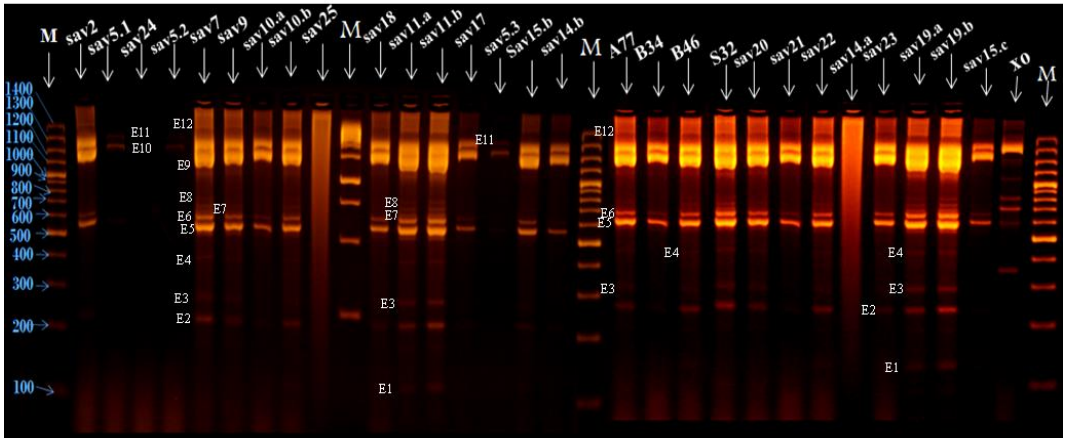
التباين الوراثي لعزلات Pss :

أُجريت اختبارات البصمة الوراثية rep-PCR بأنواعها الثلاث (ERIC-، REP-، BOX-) PCR على 25 عزلة بكتيرية تم تحديد انتمائها على النمط الممرض Pss بوساطة الاختبارات الكيمياء حيوية والجزيئية بهدف تحدد تباينها الوراثي ودرجة قرابتها من بعضها البعض. أظهرت نتائج الرحلان الكهربائي لتقانات rep-PCR وجود 48 حزمة مميزة توزعت لـ (24، 12، 12) لتقانات BOX-PCR (الشكل 1)، ERIC-PCR (الشكل 2)، REP-PCR (الشكل 3) على التوالي. وُجد تنوع وراثي بين العزلات، بتطبيق تقانة الـ BOX-PCR حيث كانت 21 حزمة متعددة شكلياً polymorphic وثلاثة حزم (b16، b13، b9) متماثلة شكلياً monomorphic (موجودة عند جميع العزلات) (الشكل 1) وتراوحت الأوزان الجزيئية التقريبية للحزم حسب المؤشر الجزيئي بين bp200 (الحزمة b1) و 1400 bp (الحزمة b24)، كما ظهرت الحزمة b10 عند العزلات sav2، sav14.a، sav14.b، sav20، sav22، sav5.3، sav19.a، sav11.a، sav11.b، sav7، sav9، sav17، sav18، وغابت الحزمة b4 عند العزلات sav2، sav15.b، sav15.c، sav19.a، sav19.b، sav23، sav5.3، A77، B46، B34، S32، وبالنسبة لتقانة ERIC-PCR كانت الحزم الناتجة الـ 12 polymorphic

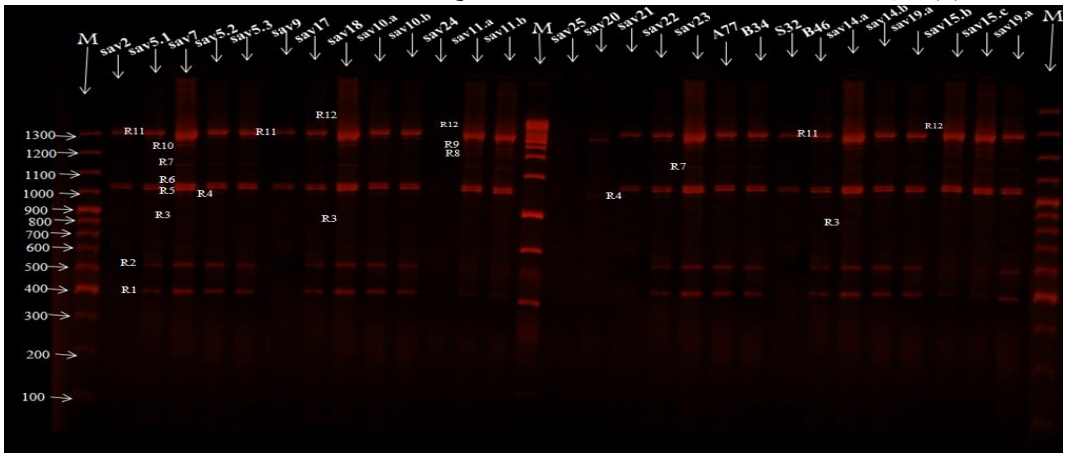
(الشكل 2) وُحِدَّت الأوزان الجزيئية التقريبية لها بين bp 100 و bp 1400. وغابت الحزمة E2 عند العزلات ماعدا العزلة sav7، sav9، sav10.b، sav11.a، sav11.b، sav19.a، sav15.b، sav18، sav19.b، وكذلك غابت الحزمتان E5 و E12 عند العزلات sav5.1، sav5.2، sav5.3. وبالنسبة لتقانة REP-PCR كانت جميع الحزم الـ 12 polymorphic (الشكل 3) وتراوحت الأوزان الجزيئية التقريبية لها بين bp 400 و bp 1300. و ظهرت الحزمتان R1 و R2 عند معظم العزلات ماعدا العزلات sav9، sav20، sav21، وكذلك ظهرت الحزمتان R5 و R6 عند كافة العزلات ماعدا العزلة sav20 (شكل 1 و 2 و 3).



شكل (1) حزم التعددية الشكلية على هلامة الأغاروز 1.5% لنواتج تفاعل تقانة BOX-PCR على عزلات Pss



شكل (2) حزم التعددية الشكلية على هلامة الأغاروز 1.5% لنواتج تفاعل تقانة ERIC-PCR على عزلات Pss



الشكل (3) حزم التعددية الشكلية على هلامة الأغاروز 1.5% لنواتج تفاعل تقانة REP-PCR على عزلات Pss

في الاختبارات المُجرّاة في هذا البحث وُجد أن تقانة BOX-PCR أعطت أعلى تعددية شكلية لعزلات Pss المحلية وهذا يتوافق مع ما وجدته Mirik وزملاؤه (2011) و Alabdalla وزملاؤه (2009) أن تقانة box-pcr كانت الأكثر قدرة على الكشف عن التعدد الشكلي للعزلات البكتيرية لـ Pss.

في حين وجد Scortichini وزملاؤه (2004) عند إتباعه تقانات REP-PCR أن تقانة REP-PCR هي التقانة الأكثر تمييزاً بين عزلات Pss .

تحليل نتائج البصمة الوراثية rep-PCR ورسم شجرة القرابة الوراثية:

تم تحليل نتائج الصور بالنظام الثنائي (1، 0) تعبيراً عن (الحزمة موجودة، أو غير موجودة) حسب التباعد بين العزلات البكتيرية عن طريق برنامج population genetic analysis POPGENE version 1.32 حسب معامل Nei (1979) وذلك لتقانات rep-PCR كاملة.

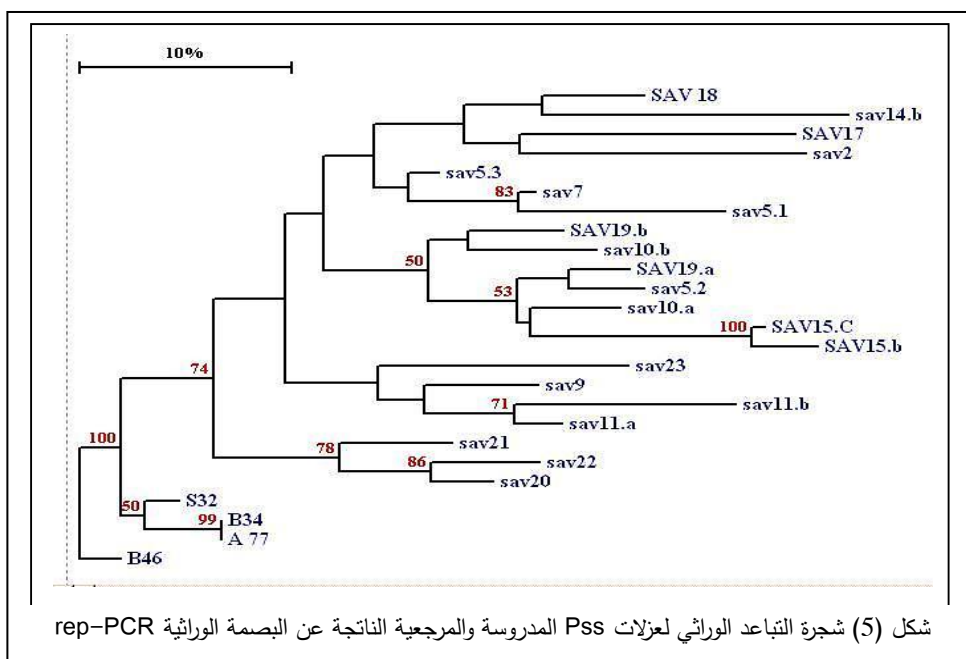
وتراوحت نسبة التشابه في العزلات البكتيرية المرجعية (B46,A77,B34,S32) بين 90% و100% بينما تراوحت نسبة التشابه في عزلات هذا البحث بين 40% و92.5% في حين تراوحت نسبة التشابه بين العزلات البكتيرية المرجعية وعزلات هذا البحث بين 57% و85% حيث كانت العزلة sav21 المأخوذة من منطقة مصيف هي الأقرب للعزلة المرجعية B46 بنسبة تشابه 85% في حين كانت العزلة الأقرب من عزلات منطقة اللاذقية sav5.2 و sav10.a بنسبة تشابه 80% لكلتا العزلتين (شكل 4).

	lab	sav20	sav21	sav22	sav23	A 77	B34	B46	S32
0	0.6500	0.5750	0.6250	0.7000	0.6750	0.6750	0.6750	0.6750	0.7250
0	0.7000	0.6750	0.7250	0.6500	0.6250	0.6250	0.6250	0.6250	0.6750
0	0.6250	0.6000	0.6500	0.6750	0.7500	0.7500	0.7500	0.7500	0.8000
0	0.7250	0.7000	0.7000	0.7750	0.7000	0.7000	0.7000	0.7000	0.7500
0	0.7000	0.6750	0.6750	0.7000	0.6750	0.6750	0.6750	0.6750	0.7250
0	0.7000	0.7250	0.6750	0.8000	0.7750	0.7750	0.7750	0.7250	0.7750
0	0.6250	0.6500	0.6500	0.6250	0.7500	0.7500	0.7500	0.8000	0.8000
0	0.7000	0.7250	0.6750	0.5500	0.5750	0.5750	0.5750	0.6750	0.6250
0	0.6500	0.7250	0.6250	0.7000	0.7750	0.7750	0.7750	0.7250	0.7250
0	0.6500	0.6750	0.5750	0.7500	0.7250	0.7250	0.7250	0.6750	0.6750
0	0.6500	0.6750	0.6250	0.5500	0.5750	0.5750	0.5750	0.6250	0.6250
0	0.4500	0.5250	0.4750	0.5000	0.6250	0.6250	0.6250	0.6250	0.6250
0	0.4500	0.5250	0.4750	0.5500	0.6750	0.6750	0.6750	0.6750	0.6750
0	0.6500	0.5750	0.5750	0.6500	0.6750	0.6750	0.6750	0.6750	0.7250
0	0.8000	0.7250	0.7250	0.7000	0.6750	0.6750	0.6750	0.7250	0.7250
0	0.5500	0.5250	0.5750	0.6500	0.6750	0.6750	0.6750	0.6750	0.7250
0	0.7000	0.7250	0.6750	0.6500	0.6250	0.6250	0.6250	0.6750	0.6750
7	****	0.8750	0.9250	0.7000	0.7250	0.7250	0.7250	0.7750	0.7750
6	0.1335	****	0.8500	0.6750	0.7500	0.7500	0.7500	0.8000	0.8000
0	0.0780	0.1625	****	0.6250	0.7500	0.7500	0.8000	0.8000	0.8000
8	0.3367	0.3930	0.4700	****	0.7750	0.7750	0.8000	0.8000	0.8000
0	0.3216	0.2877	0.2877	0.2549	****	1.0000	0.9000	0.9500	0.9500
0	0.3216	0.2877	0.2877	0.2549	0.0000	****	0.9000	0.9500	0.9500
0	0.2549	0.1625	0.2231	0.3930	0.1054	0.1054	****	0.9500	0.9500
0	0.2549	0.2231	0.2231	0.3216	0.0513	0.0513	0.0513	****	****

توافق ما توصلنا إليه مع نتائج كل من Scortichini وزملاؤه (2004) حيث وصلت نسبة التشابه بين عزلات Pss إلى 81%، في حين كانت نسبة التشابه بين عزلات Pss المعزولة

دراسة القرابة الوراثية بين عزلات محلية من البكتريا المسببة لمرض سل الزيتون

عند Mirik وزملاؤه (2011) إلى 98%، وعند Alabdalla وزملاؤه (2009) وصلت نسبة التشابه إلى 87%. وبالاعتماد على تحليل التباين رُسمت شجرة القرابة الوراثية ذات الجذر لاختبارات ERIC-، REP-، BOX-PCR مجتمعة بتطبيق طريقة Neighbor joining بالاعتماد على معادلة Nei و Li (1979) وأظهرت Bootstrap على أفرع الشجرة (100iteration مرة) باستخدام برنامج Treecon version 1.3b. انقسمت شجرة القرابة الوراثية اعتماداً على نتائج البصمة الوراثية rep-PCR كاملة (شكل، 5) إلى عنقودين أحدهما ضم العزلات المرجعية (S32، B34، A77، B46) والآخر انقسم إلى تحت عنقودين منفصلين حيث ضم تحت العنقود الأول عزلات منطقة مصيف (sav20، sav21، sav22) وتحت العنقود الثاني انقسم إلى مجموعتين حيث ضمت المجموعة الأولى عزلات (sav11.a، sav11.b، sav9، sav23) بينما انقسمت المجموعة الثانية إلى فرعين حيث انقسم الفرع الأول إلى تحت فرعين ضم أحدهما عزلات (sav18، sav17، sav2، sav5.3، sav7، sav5.1) وضم الثاني عزلات (sav14.b، sav2، sav17، sav18) وكذلك انقسم الفرع الثاني إلى تحت فرعين ضم أحدهما عزلات (sav19.b، sav10.b، SAV19.a، sav5.2، sav10.a) وكذا ضم الآخر العزلات (sav15.C، SAV15.b، sav15.a، sav15.b، sav19.a، sav10.a)، وتم استبعاد العزلات sav25، sav24، sav14.a، وذلك لتحلل الـ DNA فيها.



وبالتالي يمكن الإشارة إلى وجود 9 مجموعات وراثية (21 طرز وراثي) مختلفة من *Pss* المعزولة من أشجار الزيتون من منطقتي اللاذقية ومصيف، وهذا يتوافق مع ما ذكره Quesada (2010) حيث وجد مجتمعات *Pss* متباينة وراثياً ومظهرياً وتميل للتماثل المظهري والوراثي في المنطقة الواحدة، وهذا أيضاً ما أكده Alabdalla وزملاؤه (2009) و Kaluzana وزملاؤه (2010) عند دراسة التباين الوراثي بطريقة *rep-PCR* حيث توضعت العزلات البكتيرية للنوع *Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi* المأخوذة من منطقة جغرافية واحدة في مجموعة واحدة على شجرة القرابة الوراثية، كما ذكر Sisto (2007) و Kird (2008) و Matas (2008) أن التباين الوراثي مرتبط بالمنطقة الجغرافية وأن العزلات المعزولة من نفس المنطقة تمتلك قرابة وراثية أكبر من تلك المأخوذة من مناطق مختلفة.

وجد keshteker وزملاؤه (2016) عند اتباع تقانات *rep-PCR* لمعرفة التباين الوراثي بين عزلات تابعة لـ *P.syringae* تشابهاً كبيراً بين العزلات المأخوذة من نفس المنطقة و اختلافاً كبيراً بينها وبين العزلات المعزولة من مناطق أخرى حيث انقسمت شجرة التباين الوراثي إلى أفرع على أساس المنطقة الجغرافية، في حين وجد najafi و Taghavi (2011) عند مقارنة عزلات مختلفة من *P.syringae* بإتباع تقانة *box-PCR* ورسم شجرة القرابة الوراثية أن الشجرة انقسمت إلى أفرع تبعاً للعائل النباتي الذي عُزلت منه، وكذلك وجد little وزملاؤه (1998) عند اتباعه تقانة *ERIC-PCR* أن شجرة القرابة الوراثية انقسمت تبعاً للعائل النباتي.

وبذلك نجد أن تقانات *rep-PCR* طريقة مفيدة لتعريف وتوصيف ممرضات النبات البكتيرية، وتعتبر ناجحة لدراسة مجتمعات أمراض النبات البكتيرية كما ذكر De Bruijn وزملاؤه (1996)، وتعتبر تقانات فحص سريعة ومميزة جداً لتحديد النمط الوراثي والتنوع التصنيفي وتركيب القرابة الوراثية للمجتمعات البكتيرية كما وجد Rademaker وزملاؤه (2000).

Reference

1. المراجع الأجنبية

- 1- Adhikari, T.B., Gurung, S., Hansen, J. M., and Bonman, J. M and Bonman, M. (2012). Pathogenic and genetic diversity of *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* in North Dakota. *Phytopathology* 102 (4):390-402.
- 2- Alabdalla, N., F. Valentini., C. Mortti., S. Essa., R. Buonauro and M. Abu-Ghorra. (2009). First report of *Pseudomonas savastanoi* pv.*savastanoi* causing olive knot in Syria. *Plant Pathology* 58:1170-1170.
- 3- Asgaranil, E., Ghashghaei, T., Soudi, M. R. and N. Alimadadi, (2015). Enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC) PCR based genetic diversity of *Xanthomonas* spp. and its relation to xanthan production. *Iran. J. microbiol.* 7 (1):38-44.
- 4- Baratta, B. and Marco, L. (1981). Control of olive knot attacks on cultivar Nocellara del Belice. *Informatore Fitopatologico.* 31: 115-116.
- 5- Besenyi, E. and Hevesi, M. (2003). Characterization of the *Pseudomonas savastanoi* pv. *forthiae*. Nov.- a novel pathovar of knot disease bacterium. *European Journal of Plant Pathology.* 139 : 123-128.
- 6- Civantos López-Villalta. (1999). Olive Pest and Disease Management. International Olive Oil Council, Madrid.
- 7- Comai, L. and T. Kosuge. (1982). Cloning and characterization of *iaaM*, a virulence determinant of *Pseudomonas savastanoi*. *Journal of Bacteriology* 149: 40-46.
- 8- Connell, J. H. (1994). History and scope for the olive industry. In: Ferguson L, Sibbett GS, Martin GC, eds. Olive Production Manual. Publication No. 3353. Oakland, CA, USA: University of California, Division of Agriculture and National Resources, P.1-9.
- 9- De Bruijn, f.j., Rademaker,J., Schneider, M., Rossbach,U., Louws, F.,J.(1996). Rep-PCR genomic fingerprinting of plant-associated bacteria and computer-assisted phylogenetic analyses in: Biology of plant- microbe interaction; proceeding of the 8th international congress of molecular plant-

microbe interaction (G. Stacey, B. Mullin and P.Gresshoff, Eds.) APS Press 497-502

- 10- Ercolani, G. L. (1971). Occurrence of *Pseudomonas savastanoi* (E. F.Smith) Satevens as an epiphyte of olive trees in Puglia .Phytopathologia Mediterranea. 10: 130-132.
- 11- Ercolani, G.L. (1991). Distribution of epiphytic bacteria on olive leaves and the influence of leaf age and sampling time. Microb Ecol. 21: 35-48.
- 12- Ferreira-Tonin, M., Rodrigues-Neto, J., Harakava, R and Destefano, S.A.L.(2012). Phylogenetic analysis of *Xanthomonas* based on partial rpoB gene sequences and species differentiation by PCR-RFLP. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 62:(2) 1419–1424.
- 13- Garcia, A.A.F., Benchimol, L. L., Barbosa,A.M.M., Geraldi, O.I., Souza Jr, C.L and de Souza, A.p. (2004). Comparison of RAPD, RFLP, AFLP and SSR markers for diversity studies in tropical maize inbred lines. Genetics and Molecular Biology. 27(4): 579-588.
- 14- Gardan, L., David, C.,Morel, M., Glickmann, E., Abo-Ghorrah, M., Pett, A. and Dessaux, Y. (1992). Evidence for a correlation between auxin production and host plant species among strains of *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi*. Applied and Environmental Microbiology. 58: 1780-1783.
- 15- Garrity, G. M.; D. J. Brenner; N. R. Krieg; J. T. Staley, (2005). Bergey's manual of systematic bacteriology, 2nd ed., springer veralge, NY, Volum two, part B, P: 372-373.
- 16- Ghazi, F., Benmechernene, Z., Kihal, M and Gurakan, G.C.(2013). The reproducibility of random amplified polymorphic DNA (RAPD) profiles of *Streptococcus thermophilus* strains with XD9, M13 and OPI-02 MOD primers. African Journal of Biotechnology. Vol. 12(44). 6245-6252.
- 17- Glickmann. E., Gardan. L., J.sylvie., H.shafik., E.miena., P.annik.,D.yves. (1998). Axin production is a common feature of most pathovars of

Pseudomonas syringae. The american Phytopathological Society. Vol. 2, No 11. P: 156-162.

- 18- Graniti, A. (1990). Plant diseases in the Mediterranean region. *Phytoparasitica*. 18: 57-65.
- 19- Hewitt, W. B. (1938). Leaf-scar infection in reaction to the olive disease. *Hilgardia*. 12: 41-65.
- 20- Holt, J. G., N. R. Krieg and P. A. P. Sneath. (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9th Ed, Williams and Wilkins Pub, Baltimore.
- 21- Iacobellis, N. S., Contesini, A. M., and Surico, G. (1995). Bacteriocin production by *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi*. *Phytopathologia Mediterranea*. 34: 15-22.
- 22- Janse, J. D. (1982). *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* (ex Smith) subsp. Nov., nom. Rev., the Bacterium causing excrescences on *Oleaceae* and *Nerium oleander* L. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 32 (2): 166-169.
- 23- Janse, J. D., (1981). The bacterial disease of ash (*Fraxinus excelsior*), caused by *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* pv. *fraxini*, (Histology, occurrence and symptoms). *Sonderdruck aus European Journal of Forest Pathology* 5: 306-315.
- 24- Kaluzana, M., P. Ferannante., P. Sobiczews, and M. Schortichini. (2010). Characterization and Genetic Diversity Of *Pseudomonas syringae* from stone fruits and hazelnut using repetitive- PCR and MLST. *Journal of plant pathology* (3): 781-787.
- 25- Keshtkar A. R., Khodakaramian G. and Rouhrazi K. (2016). Isolation and characterization of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* which induce leaf spot on walnut. *European Journal of Plant Pathology*. 146(4): 837-846
- 26- King, E. O.; M. K. Ward; and D. E. Raney, (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 44: 301-307

- 27- Krid, S., Rhouma, A., Gargouri, A. (2008). Characterization of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* strains by RAPD, BOX-PCR and rep-PCR. IN; Symposium international sur la protection integree de l'olivier, Sousse, Tunisie 25-27 Nov. 2008, p: 24.
- 28- Krueger, W. H., Teviotdale, B. L. and Shcorth, M. N. (1999). Improvements in the control of olive knot disease. Acta Horticulture. 474: 567-571.
- 29- Lelliott, R. A.; E. Billing; and A. C. Hayward, (1966). A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic pseudomonads. J. Appl. Bacteriol 29: 470-489.
- 30- Louws, F. J., Fulbright, D. W., Stephens, C. T., and de Bruijn, F. J. (1994). Specific genomic fingerprints of phytopathogenic *Xanthomonas* and *Pseudomonas* pathovars and strains generated with repetitive sequences and PCR. Applied and Environmental Microbiology.60(7):2286-2295.
- 31- Little E.L., Bostock R.M., Kirkpatrick B.C., 1998. Genetic characterization of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strains from stone fruits in California. Applied and Environmental Microbiology 64: 3818-3823
- 32- Marchi, G., Mori, B., Pollacci, P., Mencuccini, M. and Surico, G. (2009). Systemic spread of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* in olive explants. Plant Pathology. 58: 152-158.
- 33- Marchi, G., Viti, C., Giovannetti, L. and Surico, G. (2005). Spread of levan-positive populations of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* . the causal agent of olive knot, in central Italy. European Journal of Plant Pathology.112: 101-112.
- 34- Matas, I.M., I, P, Martinez., I, M, Quseada., J, J, Redriguez., R. penylver and Cayo Romos.(2008). *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* contains two iaal paralogs, one of which exhibits a variable number of a Trinucleotide (TAC) tandrm repeat. Applied and Environmental Microbiology.p:1030- 1035.

- 35- Mirik, M. Y, Aysan, and F. Sahin.(2011). Characterizations of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* strains isolated from several host plants in turkey and report of fontanesia as a new host. journal of Plant pathology. 93(2), p: 263-270.
- 36- Mourad,., Fadhil, K., Chahinez, M., Meriem, R., Philipe, L. and Abdelkader, B. (2009). Characterization of small and medium bacteriocins produced by *Rhizobium* sp. Strains ORN 83 and ORN 24 against *Pseudomonas savastanoi* strain CFBP 2074, the causative agent of olive knot disease in Algera. In: Proceedings of the 2 ed international e-conference on agricultural bio science, LeCAB. Pp: 15-17.
- 37- Mueller, U.G. and Wolfenbarger, L.L. (1999). AFLP genotyping and fingerprinting. Trends in Ecology & Evolution. 14(10):389-394.
- 38- Mugnai, L., Giovannetti, L., Ventura, S. and Surico, G. (1994). The grouping of strains of *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* by DNA restriction fingerprinting. Journal of Phytopathology. 142: 209-218.
- 39- Najafi Pour G., and Taghavi S. M. (2011). Comparison of *P. syringae* pv. *syringae* from Different Hosts Based on Pathogenicity and BOX-PCR in Iran. J. Agr. Sci. Tech. 13: 431-442
- 40- Nei, M and Li, W-H. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Genetics.76(10):5269-5273.
- 41- Ogawa, J. M. and English, H. (1991). Olive knot. In: Diseases of temperate zone tree fruit and nut crops, Publ. 3345, Division of Agriculture and Natural Resources, University of California, Oakland. Pp: 341-344.
- 42- Osman, W. A., Tarabeih, A. M., Michail, S. H., (1980). Studies on olive knot disease in Iraq with reference to response of different cultivars. Mesopotamia journal of agriculture. 15: 245-261
- 43- Palm, C. J., Gaffney, T. and Kosuge, T. (1989). Cotranscription of genes encoding indoleacetic acid production in *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* . Journal of Bacteriology. 171: 1002-1009.

- 44- Patten, C. L. and B. R. Glick. (2002). Role of *Pseudomonas putida* indole acetic acid in development of the host plant root system. Applied and Environmental Microbiology. 68(8): 3795–3801.
- 45- Penyalver, R., Garcia A., Ferrer A., Bertolini, E, and Lopez, M.M. (2000). Detection of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* in olive plants by enrichment and PCR. Appl Environ Microbiol 66: 2673-2677
- 46- Penyalver, R., Garcia A., Ferrer A., Bertolini, E., Quesadaj, J. M., Salcedo C.I., piquer J., Perez-pandes J., Carbonell E.A., Delrio C., Caballero J.M., and Lopez, M.M., (2006). Factors affecting *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* plant inoculation and their use for evaluation of olive cultivar susceptibility. Phytopathology . 96: 313-319.
- 47- Pérez-Martínez, I., Zhao, Y., Murillo, J., Sundin, G. W. And Ramos, C. (2008). Global genomic analysis of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* plasmids. Journal of Bacteriology. 190: 625-635.
- 48- Powell W, Morgante M, Andre C, Hanafey M, Vogel J, Tingey S, Rafalasky A (1996). The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. Molecular breeding. 2(3):225–238.
- 49- Quesada, J. M., Penyalver, R., Pérez-Panadés, J., Salcedo, C. L., Carbonell, E. A. and López, M. M. (2010). Dissemination of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* populations and subsequent appearance of olive knot disease. Plant Pathology. 59: 262-269.
- 50- Raczowska-Blach, E., H. Rozycki, E. Strzelczyk, A. Pokojska. (1995). Decomposition of indole acetic acid IAA in soil and by bacterial strains isolated from soil and from root zone of Scots pine. Microbiological Research. 150(3): 265-270.
- 51- Rademaker, J. L.W., Louws, F.J., Schultz, M.H., Rossbach, U., Vauterin, L., Swings, J., and de Bruijn, F.J. (2005). A comprehensive species to strain taxonomic framework for *Xanthomonas*. Phytopathology. 95(9):1098-111.

- 52- Rademaker, J.L.W., Hoste, B., Louws, F.J., Kersters, K., Swings, J., Vauterin, L., Vauterin, P and de Bruijn, F.J.(2000). Comparison of AFLP and rep-PCR genomic fingerprinting with DNA–DNA homology studies: *Xanthomonas* as a model system. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 50(2):665–677.
- 53- Reetha, S., G. Bhuvaneshwari, P. Thamizhiniyan and T. RaviMycin. (2014). Isolation of indole acetic acid (IAA) producing rhizobacteria of *Pseudomonas fluorescence* and *Bacillus subtilis* and enhance growth of onion (*Allimcepa.L*). International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 3(2): 568-574.
- 54- Rokni- Zadeh, H., Khavazi, K., Asgharzadeh, A., Hosseini-Mazinani, M. and De-Mot, R. (2008). Bio control of *Pseudomonas savastanoi* causative agent of olive knot disease: antagonistic potential of nonpathogenic rhizosphere isolates of *Pseudomonas fluorensceus*. Comm.Appl. Biol. Sci, Ghent University. 73: 199-203.
- 55- Saad, A. T. And L. Hanna, (2002). Two new hosts of *Pseudomonas savastanoi* and variability in strains isolated from different hosts Phytopathology. 92: s 71.
- 56- Schaad, N. W., Jones, J. B. and Chun, W. (2001). Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria.3rd ed. American Phytopathological Society Press. St. Paul, MN.
- 57- Schroth, M. N., Hilderbrandt, D. C. and Oreilly, H. J. (1968). Off-flavor of olives from trees with olive knot tumeros. Phytopathology. 58: 524-525.
- 58- Schroth, M. N., Osgood, J. W. and Miller, T. D. (1973). Quantitative assessment of the effect of the olive knot disease on olive yield and quality. Phytopathology. 63: 1064-1065.
- 59- Scortchini, M., M, P, Rossi., and M, Salerno. (2004) Relationship of genetic structure of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* populations from Italian olive trees and patterns of host genetic diversity.journal of Plant pathology.553, p: 491- 497.

- 60- Sisto, A. Cipriani, M.G. and Morea, M. (2004). Knot formation caused by *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* on olive plants is hrp-dependent. *Phytopathology*. 94: 484-489.
- 61- Sisto, A., Morea, M., Baruzzi, F. and Palumbo, G. (2002). Differentiation of *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* strains isolated from various host plants by restriction fragment length polymorphism. *Phytopathologia Mediterranea*. 41: 63-71.
- 62- Sisto, A. Cipriani, M. G., Telgli, S., Cerboneschi, M., Stea, G. and Santilli, E. (2007). Genetic characterization by fluorescent AFLP of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* strains isolated from different host species. *Plant Pathology*. 56: 366-372.
- 63- Smith, C. O. (1928). Oleander bacteriosis in California. *Phytopathology*. 18: 503-518.
- 64- Stevens, F. L. (1913). The fungi which cause plant disease. Macmillan Co, New York. 776 pp.
- 65- Surico, G. (1977). Histological observation on tumerus of olive knot. *Phytopathologia Mediterranea*. 16: 109-125.
- 66- Surico, G. and Iacobellis, N. S. (1992). Phytohormone and olive knot disease. In: Verma DPS, ed. *Molecular Signals in Plant Microbe Communications*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 209-229.
- 67- Suslow, T. V., Schrot, H. M. N. and Isaka, M. (1982). Application of rapid method for Gram differentiation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining. *Phytopathology*. 72: 917-918.
- 68- Tamsah, M., Hanna, L. and Saad, A. T. (2007). Anatomical observation of *Pseudomonas savastanoi* on *Rhamnus alaternus*. *For. Path.* 37: 64-72.
- 69- Teviotdale, B. L. and Krueger, W. H. (2004). Effects of timing of copper sprays, defoliation, rainfall, and inoculum concentration on incidence of olive knot disease. *Plant Disease*. 88 (2): 131-135.

- 70- Tien, T. M., M. H. Gaskins and D. H. Hubbell. (1979). Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). Applied and Environmental Microbiology. 37(5): 1016-1024.
- 71- Versalovic, J., Schneider, M., De Bruijn, F.J and Lupski, J.R .(1994). Genomic fingerprinting of bacteria using repetitive sequence-based polymerase chain reaction. Methods in molecular and cellular biology. 5(1):25-40.
- 72- Wells, J. M., Casano, F. J. and Surico, G. (1991). Fatty acid composition of *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi*. Journal of Phytopathology. 133: 152-162.
- 73- Wieser, M and Busse, H-J. (2000). Rapid identification of *Staphylococcus epidermidis*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 50(3):1087-1093.
- 74- Wilson, E. E. (1935). The olive knot disease: Its conception, development, and control. Hilgardia. 4: 233-257.
- 75- Wilson, E. E., Heskett, M. G., Johanson, M. L. and Kosuge, T. (1972). Metabolic behaviour of *Pseudomonas savastanoi* isolates from olive and oleander on certain carbohydrates and amino substrates. Phytopathology. 62: 350-355.
- 76- Yamakawa, T., O. Kurahashi, K. Ishida, S. Kato, T. Kodama and Y. Minoda. (1979). Stability of indole-3 acetic acid to autoclaving, aeration and light illumination. Agricultural and Biological Chemistry. 43(4): 879-880.
- 77- Young, J. M., Dyet, D. W., Bradbury, J. F., Panagopoulos, C. G. and Robrs, C. F. (1978). A proposed nomenclature and classification for plant pathogenic bacteria. New Zealand Journal of Agricultural Research. 21: 153-177.

- 78- Young, J. M., Saddler, G. S., Takikawa, Y., Deboer, S. H., Vauterin, L., Gardan, L., Gvozdyak, R. I. and Stead, D. E. (1996). Names of plant pathogenic bacteria 1864-1995. *Review of Plant Pathology*. 75: 721-63.
- 79- Young, J. M., Wilkie, J. P., Fletcher, M. J., Park, D. C., Pennycook, S., Triggs, C. M. and Watson D. R. W. (2004). Relative tolerance of nine olive cultivars to *Pseudomonas savastanoi* causing bacterial knot disease. *Phytopathology Mediterranea*. 43: 395-402.

تأثير الضوء خلال تفريخ بيض دجاج اللحم (الفروج) في النمو الجنيني والنمو المبكر (بعد الفقس)

الدكتوراة: بشرى العيسى*

ملخص:

هدف البحث إلى تقييم تأثير الضوء في تطور ونمو الأجنة وبعض معايير الفقس، والنمو المبكر للصيصان بعد الفقس، لذا استخدمت 450 بيضة مخصبة من أمات دجاج لحم، وحسب مدة الإضاءة المطبقة وُضع البيض الموزون في أدراج المفرخة في ثلاث معاملات (ضوء مستمر $T1_{24L:0D}$) والمعاملة الثانية (12 ساعة ضوء مقابل 12 ساعة ظلام $T2_{(12L:12D)}$ والثالثة (ظلام مستمر $0L:24D$ تمثل الشاهد) $T3_{(0L:24D)}$ ، وبواقع 105 بيضة للمعاملة الواحدة، والتي قسمت أيضاً إلى ثلاثة مكررات، ثم حُضنت الصيصان الفاقسة في مُنشئة الصيصان لمدة يومين عُرضت خلالها إلى برامج إضاءة مختلفة، فالمجموعة الأولى تم تعريضها إلى $16L: 8D$ (16 ضوء مقابل 8 ظلام) $G1$ ، والمجموعة الثانية $24L: 0D$ (ضوء مستمر) $G2$.

أظهرت النتائج زيادة في متوسط وزن الأجنة بعمر 13 يوم و 18 يوم في معاملي الإضاءة $T2_{(16L:8D)}$ و $T1_{(24L: 0D)}$ بالمقارنة مع مجموعة الظلام $T3_{(24D)}$ ، وكانت أعلاها لدى أجنة $T2_{(16L:8D)}$ ، أيضاً لوحظ فرق معنوي ($P \leq 0.05$) في نسب الفقس وزمن الفقس بين المعاملات المختلفة، فقد أدى تعريض البيض للإضاءة خلال فترة الحضانة إلى ارتفاع في معدل الفقس في المعاملة الثانية الخاضعة للنظام $T2_{(16L:8D)}$ ، فقد بلغت (84.9) %، بينما وصلت نسبة الفقس (80.73) % في المعاملة الأولى الخاضعة لنظام الإضاءة المستمر $T1_{(24L: 0D)}$ ، وأقل نسبة كانت (62.83) % لدى معاملة التحضين في الظلام $T3_{(24D)}$ ، كما أظهرت نتائج المقارنة بين المعاملات الثلاث في زمن الفقس أن المعاملة $T2_{(16L:8D)}$ استغرقت زمن فقس أقل (474.7) ساعة، تلتها المعاملة $T1_{(24L: 0D)}$ ، إذ استغرق زمن الفقس (474.7) ساعة، بينما وصل زمن الفقس في المعاملة $T3_{(24D)}$ إلى (498.0) ساعة.

كما بيّنت النتائج لم يكن هناك اختلاف في متوسط وزن الصيصان عند الفقس بين المعاملة $T3_{(24D)}$ المحضنة في الظلام والمعاملتين $T2_{(16L:8D)}$ ، $T3_{(24D)}$ اللتين تم تعريضهما للإضاءة خلال التفريخ، لكن لوحظ وجود فروق معنوية ($p < 0.05$) بين متوسط وزن الصيصان بعمر 2 يوم لدى المعاملات الثلاث، فقد كان هناك اختلاف في أداء الصيصان، وكان الوزن الأكبر للصيصان المعاملة $T2_{(16L:8D)}$ في المجموعة الثانية $G2_{(24L: 0D)}$ والتي بلغ متوسط وزن الصيصان (79.10) غ.

الكلمات المفتاحية: فروج، فقس، حضانة، أجنة الدجاج، بعد الفقس، إضاءة ليد

* مدرس - قسم الإنتاج الحيواني - كلية الزراعة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

Effect of exposing broiler eggs to light during incubation on embryos growth and Early PostHatch

Bushra ALissa*

ABSTRACT

The present study was conducted to investigate the effect of lighting on pre-and post-hatch growth in broiler chicks. development and treatment of embryos and the criteria for hatching, was also measured. For this purpose, 450 broiler breeder hatching eggs were divided into 3 treatments and exposed to 24h light (T1), 16h light and 8h darkness (T2) and 24h darkness (D) (T3), With 105 eggs per treatment, one treatment divided into three replicates., Darkness during the incubation as control Newly hatched chicks were reared for 2 days either under 16L:8D or 24L:0D lighting.

The results showed that there was a significant increase ($P \leq 0.05$) in the mean embryo's weight of at 13 days of age and 18 days for T2 and (T1 groups compared with T3. Also, a significant difference ($P \leq 0.05$) was observed in the percentage of hatching and the time of hatching between the different treatments. Exposing eggs to lighting during the incubation period led to an increase in the hatching rate in the second treatment subject to (16L: 8D), reaching (84.9)%. While the percentage of hatching reached (80.73)% in the first treatment subjected to the continuous lighting system T1, and the lowest percentage was (62.83)% when the treatment of incubation in the dark T3, The results of the comparison between the three treatments in hatching time also showed that treatment T2 consumed less hatching time (474.7) hours, followed by treatment T1, as the hatching time took (474.7) hours, while the hatching time reached in treatment T3 to (498.0) hours.

The results also showed that there was no difference in the average weight of chicks at hatching between treatment T3 two treatments T3 (24D) and T2 (16L: 8D), which were exposed to light during spawning, but significant differences were observed ($P < 0.05$ between the average weight of chicks at the age of 2 days in the three treatments, there was a difference in the performance of chicks, and the greater weight of the chicks was T2 (16L: 8D) in the second group (G2 (24L: 0D), whose average weight of chicks was (79.10) g.

Keywords: Broiler, Hatchability, Incubation, Chicken embryos, Post Hatch, Light, LED

Doctor, Department of Animal Production, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.

المقدمة

أدى الطلب المتزايد على منتجات الدواجن إلى زيادة الحاجة إلى البيض الأكثر خصوبة والصيصان الفاقسة من هذا البيض، وتعزيز أهمية قابلية الفقس وجودة الصيصان في مجال صناعة الدواجن، وهناك بعض الخيارات لتلبية تلك الاحتياجات كزيادة أعداد السلالات، وإنتاجها، وزيادة الكفاءة في المفرخات، في حين أن جميع الخيارات قابلة للتطبيق، إلا أن زيادة كفاءة المفرخات قد تكون الطريقة الأكثر فاعلية من حيث التكلفة، وعلى مدى سنوات عديدة كان التركيز الأساسي لتحسين قابلية فقس بيض الدجاج المخصب على التغييرات في ظروف التفريخ (الحرارة، والرطوبة، والتقليب، وتراكم ثاني أكسيد الكربون أثناء التفريخ) [1]، إضافة لما سبق ركزت عدة أبحاث على وجود عامل بيئي آخر، وهو الضوء الذي يمكن أن يكون له تأثير على تطور الأجنة وقابلية الفقس، وكذلك في مراحل لاحقة من الحياة [2],[3],[4]، وقد تبيّن أنّ التعرض للضوء خلال فترة الحضانة يمكن أن يؤدي إلى انخفاض مستويات التوتر والخوف في دجاج اللحم بعد الفقس [5], [6]، وفي مؤشرات الإجهاد أيضاً [7],[3], [2].

تزايد الاهتمام باستخدام برامج الإضاءة أثناء تفريخ البيض المخصب للدواجن، لما لها من تأثيرات كبيرة على الصفات الفيزيولوجية والتطور الجنيني، وقابلية الفقس، وجودة الصيصان وأداء ما بعد الفقس [8], [7]، وهناك العديد من الخيارات لأنظمة الإضاءة بما في ذلك ضوء الفلوروسنت و ضوء الـ LED، وقد ازداد استخدام مصابيح LED بسبب تحملها واستدامتها، وانخفاض تكلفتها، وكفاءتها العالية في استخدام الطاقة [9].

يعد الضوء أحد أهم العوامل البيئية التي تؤثر في أداء دجاج اللحم وإنتاجيته [10]، وقد تمّ وضع برامج إضاءة تتضمن فترات ظلام طويلة بعد فترات إضاءة من أجل معرفة مدى تأثيرها في نمو دجاج اللحم، وقد تبيّن أن الصيصان المعرضة لبرامج الإضاءة التي تتضمن دورات ضوء / ظلام إما ثابتة أو في نمط متزايد أدت في كثير من الأحيان إلى أوزان جسمية متماثلة في سن الذبح (40 يوماً) [11]، بينما استخدم [12] برامج إضاءة مختلفة وأشاروا إلى أنّ الإضاءة المقيدة أدت إلى تحسين الأداء والحالة المناعية والصحة بشكل عام، ويتم عادة تحضين بيض دجاج اللحم في الظلام في عمليات التفريخ الصناعي، وبشكل عام يُعد الضوء عامل بيئي مهم خلال الحياة الجنينية للطيور، إذ تتأثر أجنة الطيور بالضوء من خلال الغدة صنوبرية الحساسة للضوء، والتغيرات الإيقاعية اليومية في الإضاءة البيئية الطبيعية (تناوب الليل والنهار) أثناء فترة الحضانة، قد يكون لها قدرة على تحسين نمو الطيور وأدائها الإنتاجي [13].

بيّنت العديد من الدراسات أهمية الإضاءة في تحفيز نمو الجنين، وتسريع وقت الفقس [16],[15],[14],[4]، إذ اتفق الباحثون على أن تحضين البيض تحت الضوء يؤدي إلى زيادة في سرعة تطور الجنين، ولكنهم اختلفوا في تحديد مدى تطور الجنين المحضن تحت الضوء، وقد تبين أنّ إضافة الضوء أثناء التفريخ يزيد إجمالي قابلية الفقس [10],[6] على الرغم من أن درجة الفعالية قد تختلف باختلاف نوع الطيف الضوئي أو سلالة الطيور، فقد أظهرت الدراسات السابقة اختلافات في النمو في مرحلة ما بعد الفقس كنتيجة للتفريخ بوجود الضوء، وقد ذكرت النتائج التي تباينت مع غيرها وجود اختلافات في النمو والوزن [17],[6]، بينما بينت أخرى غياب التغيرات في الأداء الإنتاجي [9]، كما لوحظ أنّ الأطياف المختلفة للضوء يمكن أن تؤثر على التطور الجنيني [18]، علاوة على ذلك، فإنّ صباغ قشرة البيض يمكن أن يؤثر على أطوال الموجات الضوئية التي تعبر القشرة وتصل إلى الجنين، وقد لوحظت الاختلافات في وقت (زمن) الفقس عند استخدام أنواع مختلفة من مصابيح الفلوريسنت، والتي تعزى إلى تصفية قشرة البيض لبعض الأطياف الضوئية، وخلص [19] إلى أنّ القليل فقط من الضوء الذي يتعرض له البيض يصل إلى الجنين، ووجد [16] أنّ قابلية الفقس في البيض ذو الصبغة الخفيفة كانت الأعلى وقاربت 89% عند التعرض لمستويات منخفضة (900-1380 لوكس) من الضوء، مقابل البيض ذو الصبغة المتوسطة أو الغامقة التي بلغت نسبة قابلية الفقس فيها إلى حوالي 81 و 85% على التوالي، عندما تعرضت لنفس شدة الضوء، بينما انخفضت قابلية الفقس عند التعرض لضوء بكثافة عالية (1430-2080 لوكس) في البيض ذو الصبغة الخفيفة والمتوسطة، في حين لم يظهر البيض ذو الصبغة الغامقة أيّ تغيير [16]، وقد يكون للأصناف المختلفة من الضوء الأبيض آثاراً مختلفة على قابلية الفقس، وجودة وتطور الصيصان، كما يمكن أن يحسن من سلوك الصيصان ما بعد الفقس ويخفض من قابلية الإجهاد (الحساسية) [18].

هدف البحث:

نظراً لتباين نتائج العديد من الدراسات حول إمكانية تحسين الناحية الاقتصادية للتفريخ الصناعي بإدخال الضوء كعامل بيئي إضافي في المفرخات، إذ ركزت بعضها على تأثير الضوء خلال التفريخ في تسريع وقت الفقس ونسبته، لكن قليل من الباحثين درسوا تأثير الضوء خلال التفريخ في أداء الصيصان بعد الفقس وسرعة نموها وإنتاجيتها، لذا هدف البحث إلى:

- تقييم تأثير الإضاءة في تطور ونمو الأجنة، وتحديد فيما إذا كان هناك فرقاً في زمن الفقس، والنفوق الجنيني، ونسبة الصيصان الفاقسة من بيض دجاج اللحم المعرض لمصابيح ليد LED البيضاء أثناء التفريخ، وأيضاً تأثيرها في النمو المبكر للصيصان بعد الفقس.

مواد وطرائق البحث

- استخدمت في الدراسة 450 بيضة مخصبة من أمات دجاج اللحم هبرد فلكس Hubbard flex بعمر 33 أسبوعاً، إذ تراوح وزن البيض (61-63.5)غ، وزرع عشوائياً إلى ثلاث معاملات مختلفة حسب مدة الإضاءة المطبقة خلال التفريخ فالمعاملة الأولى (ضوء مستمر T1(24L:0D) والمعاملة الثانية (16 ساعة ضوء مقابل 8 ساعة ظلام T2(16L:8D)، والمعاملة الثالثة (ظلام مستمر 0L:24D ثمث الشاهد) T3، وبواقع 150 بيضة للمعاملة الواحدة، وقسمت المعاملة الواحدة إلى ثلاثة مكررات بعدد 50 بيضة للمكرر الواحد، ووضع في المفرخة وهي جهاز صُنِع محلياً من النوع 1500 GQF، (بسعة 650 بيضة)، بعد إجراء بعض التعديلات عليها من خلال وضع شريط من الإضاءة (الليد LED) فوق كل درج من الأدراج التابع لمعاملتي الضوء، ابتداءً من اليوم الأول من التفريخ حتى الفقس، كما تم تغطية الدرج التابع لمعاملة الشاهد ظلام (24D) بقطعة قماش ناعمة لمنع وصول الضوء إليها مع الحفاظ على التهوية والرطوبة والحرارة ضمن حدودها الطبيعية، وضبط درجة حرارة المفرخة على 37,6 م° والرطوبة النسبية 55-60%، وضبط تقليب البيض مرة كل ساعتين بزاوية 45 درجة خلال الـ 18 يوماً الأولى من التفريخ، و 37,2 م° للحرارة، و 80-85% للرطوبة، وتوقيف التقليب خلال الـ 3 أيام الأخيرة للفقس، تم قياس شدة الضوء المستخدمة بوساطة جهاز متعدد الاستخدام (شدة الضوء - درجة الحرارة - نسبة الرطوبة) Digital lux Meter وكانت تعادل (250-300 لوكس).
- تم خلال فترة التفريخ، قياس أوزان الأجنة في اليوم 13 و 18 من عمر الجنين، كما تم وزن عدد من البيض (10) من كل معاملة بشكل فردي وبعده (5) بيضة من كل عمر، لحساب الفقد في الوزن من خلال الفرق بين أوزان البيض الأولية والأوزان التي وصل إليها البيض في تلك الأيام (13) و(18) من عمر الأجنة.
- تم حساب نسبة الإخصاب% لكل معاملة، وبعد استبعاد البيض غير المخصب في نهاية التفريخ، والبيض المكسور لقياس وزن الأجنة، إذ تم توحيد عدد البيض المخصب (المتبقي) لكل المعاملات للمحافظة على دقة النتائج فمن أصل 150 بيضة محصنة بقي 122 بيضة مخصبة من كل معاملة والتي حسبت على أساسها المؤشرات الآتية:
- زمن الفقس عند فقس 50% من الصيصان لكل صينية.

$$\text{نسبة الفقس \%} = \frac{\text{عدد البيض الفاقس}}{\text{عدد البيض المخصب}} \times 100$$

- تم اختيار 14 صوصاً بعد الفقس بشكل عشوائي من أجل قياس متوسط وزن الصيصان
- كسر البيض المتبقي الذي لم يفقس في نهاية التفريخ لمعرفة نسبة نفوق الأجنة، وعدد البيض غير مخصب
- وزن الصيصان بعد الفقس مباشرة (اليوم 0)، ثم وضعت الصيصان بعد الفقس في مُنشفة الصيصان، بعد تعليم صيصان كل مجموعة بوضع إشارة على رأس الصيصان (لتمييزها فيما إذا كانت عرضت للإضاءة خلال التفريخ، أم حُصّنت في الظلام)، ثم تم تقسيم الصيصان الناتجة إلى مجموعتين ضمت كل منها برنامج إضاءة مختلف عن المجموعة الأخرى، فالمجموعة الأولى تم تعريضها إلى 8D : 16L والمجموعة الثانية 0D : 24L (ضوء مستمر)، وتم حضانة الصيصان مدة 2 يوم قدم خلالها العلف والماء بشكل حر.
- أخذت عينات عشوائية من صيصان المجموعتين المعرضتين للإضاءة (14 صوص) في نهاية اليوم الثاني، وسجلت أوزانها.

التحليل الإحصائي:

تم تحليل بيانات التجربة باستخدام التصميم العشوائي الكامل لدارسة تأثير المعاملات، واختبار الفروقات بين المعاملات عند مستوى معنوية 5% وباستخدام برنامج التحليل الاحصائي Gen stat.

النتائج والمناقشة

تأثير الإضاءة في نمو الأجنة

يوضح الجدول (1) متوسط وزن البيض والفقد في وزن البيض وأوزان الأجنة في اليوم 13 واليوم 18 من عمر الأجنة لمجموعات المعاملة بالإضاءة والمحضنة في الظلام.

الجدول (1): متوسط وزن البيض والفقد في وزن البيض وأوزان الأجنة في اليوم 13 واليوم 18 من عمر الأجنة

عمر الأجنة 18 / يوم			عمر الأجنة 13 / يوم			معاملات التجربة
وزن الجنين / غ	نسبة الفقد من البيض %	متوسط وزن البيض / غ	وزن الجنين / غ	نسبة الفقد من البيض %	متوسط وزن البيض غ	
29.84ab	8.03a	62.33b	10.43ab	7.13c	62.37b	T1 _(24L: 0D)
30.56ab	7.94a	62.34a	10.83ab	7.04a	63.45a	T2 _(16L:8D)
28.02c	8.55a	63.11a	7.79c	6.44b	61.44c	T3 _(24D)

*الحروف المتباينة بجانب المتوسطات في كل عمود تعني وجود فروق معنوية ($p \leq 0.05$).

يلاحظ من النتائج المدرجة في الجدول (1) زيادة في متوسط وزن الأجنة بعمر 13 يوماً و18 يوماً في معاملي الإضاءة T2_(16L:8D) و T1_(24L: 0D) بالمقارنة مع معاملة الظلام T3_(24D)، وكانت أعلاها لدى أجنة T2_(16L:8D)، وقد توافقت هذه النتائج مع دراسة سابقة [7]، إذ لوحظ زيادة في نمو أجنة الدجاج اللحم المحضنة تحت الضوء الأبيض المستمر في اليوم 13 و18 من الحضانة مقارنة بالأجنة المحضنة في الظلام، بينما اختلفت مع نتائج [20]، فقد وجدوا أن أجنة دجاج اللحم التي حُضنت تحت الضوء المستمر (24L:0D) كانت أثقل وبشكل معنوي من تلك التي حضنت في الظلام المتواصل (0L:24D)، بينما الأجنة التي حضنت تحت برنامج إضاءة 12 ساعة ضوء و12 ساعة ظلام (12L:12D) كانت أوزانها متوسطة، ووجد أن تحضين جنين الدجاج ضمن نظام إضاءة معين يزيد النشاط الجيني، وبالتالي تطبيق نظام إضاءة مع فترات مظلمة أطول قد يكون مفيداً [21].

تأثير الإضاءة في بعض معايير الفقس

يوضح الجدول (2) تأثير استخدام إضاءة LED أثناء تحضين البيض في نسبة الفقس، ونسبة النفوق الجنيني، وزمن الفقس لدى كافة معاملات التجربة.

الجدول (2): تأثير استخدام إضاءة LED في نسبة الفقس، وزمن الفقس لدى كافة معاملات التجربة

زمن الفقس/ ساعة	الأجنة النافقة		البيض الفاقس		عدد البيض المخصب المتبقي بعد وزن الأجنة	معاملات التجربة
	نسبة %	عدد	نسبة %	عدد		
476.3ab	15.90b	20.67b	80.73ab	97.33b	122	T1 _(24L: 0D)
474.7ab	13.40a	17.33a	84.93ab	103.67a	122	T2 _(16L:8D)
498.0a	18.80c	23.00b	62.83c	76.67c	122	T3 _(24D)

*الحروف المتباينة بجانب المتوسطات في كل عمود تعني وجود فروق معنوية ($p \leq 0.05$).

يلاحظ من الجدول (2) وجود فروق معنوية ($p \leq 0.05$) في نسب الفقس وزمن الفقس بين المعاملات المختلفة، فقد أدى تعريض البيض للإضاءة خلال فترة الحضانة إلى ارتفاع في معدل الفقس في المعاملة الثانية الخاضعة للنظام T2_(16L:8D)، فقد بلغت (84.9) %، بينما وصلت نسبة الفقس (80.73) % في المعاملة الأولى الخاضعة لنظام الإضاءة المستمر T1_(24L: 0D)، بالمقارنة مع التحضين في الظلام T3_(24D)، فكانت نسبة الفقس (62.83) % وتوافقت هذه النتائج مع [6]، [14] فقد تبين أن هناك زيادة في معدل الفقس في الدواجن عند إضافة عامل الضوء إلى نظام التفريخ [22]، [23]، كما تتفق مع نتائج دراسة [22] حول تحسين الضوء خلال التفريخ للنسب المئوية للفقس، في حين بيّنت دراسة سابقة [12] بأنه لم يكن هناك تأثير كبير للإضاءة على نسبة فقس البيض، كما أظهرت نتائج المقارنة بين المعاملات الثلاث في زمن الفقس أن المعاملة T2_(16L:8D) استغرقت زمن فقس أقل (474.7) ساعة،

تلتها المعاملة (T1(24L: 0D)، إذ استغرق زمن الفقس (476.7) ساعة، بينما وصل زمن الفقس في المعاملة (T3(24D) إلى (498.0) ساعة، وبالتوافق مع نتائج [24],[25] لوحظ انخفاض في المدة اللازمة لفقس البيض عند إدخال الإضاءة إلى عملية التفريخ، مما حسن من إنتاجية هذه العملية، كما أثبت العديد من الباحثين، أن استخدام برامج إضاءة مختلفة مثل دورة الإضاءة المستمرة أو اليومية أدى إلى تسريع نمو أجنة الدجاج والفري وفقس مبكر قبل الموعد العادي بمدة تتراوح بين 10 ساعات ويومين وذلك من خلال زيادة طول مدة التعرض للضوء خلال فترة الحضانة [26],[27]، وهذه الزيادة في نسبة الفقس ليست ذات دلالة إحصائية فقط، ولكنها مهمة من الناحية المالية لمربي الدواجن، حتى أن زيادة معدل الفقس بمعدل أقل من 1% يمكن أن يساهم في زيادة الإيرادات بشكل كبير [28] كما أشار [29] إلى التباين في الفقس حوالي يوم واحد في البيض المحضن تحت تأثير فترات ضوئية أطول مقارنة مع البيض المحضن مع فترات ضوئية أقل، أيضاً يلاحظ من الجدول (2) عدم وجود اختلاف في نسب النفوق بين جميع المعاملات، توافقت هذه النتائج مع دراسة سابقة [28] بأن يمكن الإشارة إلى غياب تأثير الإضاءة أثناء التفريخ على معدلات النفوق الجنيني المبكر والمتوسط والمتأخر مقارنة مع التفريخ في الظلام، بينما اختلفت مع ما ذكره [14] سابقاً أن تعريض البيض للضوء خفض بشكل كبير من نسبة النفوق الجنيني المبكر والمتأخر، ويبدو أن الضوء يجعل بداية النمو أسرع خلال الجزء الأول من فترة تفريخ البيض، لذا فهو يقلل نسبة النفوق خلال الساعات الحرجة من النمو [29].

تأثير الإضاءة في النمو المبكر للصيصان

يعد وزن الجسم الحي للطيور من أهم معايير الأداء الإنتاجي للدواجن، لذا فإن تحديد مدى تأثير أنظمة الإضاءة في وزن الجسم يأخذ بعداً استثنائياً، فقد اختلفت نتائج الأبحاث في تأثير الضوء في وزن الفراخ الفاقسة، ويوضح الجدول (3): متوسط وزن الصيصان عند الفقس وفي اليوم الثاني من العمر لدى كل مجموعة حسب نظام الإضاءة، فقد أدى استخدام الضوء أثناء تفريخ البيض إلى تأثير إيجابي في وزن الصيصان .

الجدول (3): متوسط وزن الصيصان عند الفقس وفي اليوم 2 من العمر لدى كل مجموعة حسب نظام الإضاءة

متوسط وزن الصوص / غ بعمر 2 يوم لكل مجموعة حسب نظام الإضاءة		متوسط وزن الصوص عند الفقس غ	مجموعات التجربة
المجموعة الثانية (G2 _(24L: 0D))	المجموعة الأولى (G1 _(L:8D16))		
78.23ab	75.03a	45.77	T1 (L: 0D24)
79.10ab	73.45a	46.12	T2 _(16L:8D)
75.42 b	71.02b	46.08	T3 _(24D)

*الحروف المتباينة بجانب المتوسطات في كل عمود تعني وجود فروق معنوية ($P \leq 0.05$).

أيضاً يتبين من الجدول (3) لم يكن هناك اختلاف في وزن الصيصان عند الفقس بين المعاملة T3_(24D) المحضنة في الظلام والمعاملتين T2_(16L:8D)، T3_(24D) اللتين تم تعريضهما للإضاءة خلال التفريخ، لكن لوحظ وجود فروق معنوية ($P \leq 0.05$) بين متوسط وزن الصيصان بعمر 2 يوم لدى المعاملات الثلاث، فقد كان هناك اختلاف في أداء الصيصان، وكان الوزن الأكبر للصيصان المعاملة T2_(16L:8D) في المجموعة الثانية (G2_(24L: 0D))، وتتفق هذه النتائج مع [4]، إذ وجدوا أن الضوء أحادي اللون يعزز نمو الجنين بعد الفقس في صيصان دجاج اللحم بالمقارنة مع حالة التحضين التي تتضمن ساعات إظلام، هذا وقد لوحظ أن الطيور التي تعرضت لبرامج إضاءة خلال التفريخ تكيفت بسهولة أكبر مع البيئات المختلفة، وكان معدل نموها وتطورها أفضل بعد الفقس بالمقارنة مع نظرائهم المحضنة في الظلام [26]، بالرغم مما ذكر في دراسة سابقة أن الصيصان المحضنة تحت الضوء الأبيض كانت ذات أوزان متشابهة عند الذبح بعمر 42 يوم [2]، كما أظهرت عدة أبحاث أن إيقاعات الساعة البيولوجية (الإيقاعات اليومية) يمكن تطبيقها قبل الفقس من خلال تعريض الأجنة لبرامج إضاءة 12 ساعة إضاءة / 12 ساعة ظلام [21]، [30]

الاستنتاجات والتوصيات

- اضافة ضوء الليد LED خلال تفريخ بيض الفروج حسن قليلاً في نسبة الفقس، بالإضافة إلى ذلك، فإن الإضاءة قد قصرت مدة التفريخ بشكل كبير، وساهمت في سرعة نمو الأجنة، وأيضاً سرعت من نمو الصيصان بعد الفقس بعمر مبكر 2، وبالتالي يمكن الحصول على مزيد من الفوائد من هذا التطبيق.
- إجراء المزيد من الدراسات المشابهة لتوضيح هذه النتيجة، فيما يتعلق بظروف الإضاءة أثناء فترة التفريخ، فمن الممكن أن يكون لها دور معزز في نمو الطيور لاحقاً وزيادة أدائها الإنتاجي.

المراجع References

1. Archer, G. S. 2016. Spectrum of White Light During Incubation: Warm vs Cool White LED Lighting International Journal of Poultry Science DOI: 10.3923/ijps. 343.348
2. Archer, G.S., H.L. Shivaprasad and J.A. Mench, 2009. Effect of providing light during incubation on the health, productivity and behavior of broiler chickens. Poult. Sci., 88: 29-37.
3. Huth, J.C. and G.S. Archer, 2015. Effects of LED lighting during incubation on layer and broiler hatchability, chick quality, stress susceptibility and post-hatch growth. Poult. Sci., 94: 3052-3058
4. Rozenboim I, Piestun Y, Mobarkey N, Barak M, Hoyzman A, Halevy O. 2004. *Monochromatic light stimuli during embryogenesis enhance embryo development and posthatch growth*. Poult Sci; 83:1413– 1419. <https://doi.org/10.1093/ps/83.8.1413> PMID: 15339018
5. Archer, G.S. and J.A. Mench, 2013. The effects of light stimulation during incubation on indicators of stress susceptibility in broilers. Poult. Sci., 92: 3103-3108.
6. Archer, G.S. and J.A. Mench, 2014. Natural incubation patterns and the effects of exposing eggs to light at various times during incubation on post-hatch fear and stress responses in broiler (meat) chickens. Applied Anim. Behav. Sci., 152: 44-51.
7. Ozkan, S., S. Yalcin, E. Babacanoglu, S. Uysal, F. Karadas and H. Kozanoglu, 2012. Photoperiodic lighting (16 hours of light:8 hours of dark) programs during incubation: 2. Effects on early posthatching growth, blood physiology and production performance in broiler chickens in relation to posthatching lighting programs. Poult. Sci., 91: 2922-2930
8. Dishon, L., N. Avital-Coehen, D. Malamud, R. Heiblum, S. Druyan, T. E. Porter, M. Gumulka, and I. Rozenboim. 2017. In-ovo monochromatic light photostimulation enhances embryonic somatotropic axis activity. Poult. Sci. 96:1884-1890
9. Tabler, G. T., and J. B. Wells. 2015. Accessed on Dec. 2018. <http://extension.msstate.edu/publications/publications/led-bulbs-much-offer-the-poultryindustry>
10. Prescott, N.B., C.M. Wathes and J.R. Jarvis, 2003. Light, vision and the welfare of poultry. Animal Welfare, 12:269-288. [
11. Özkan , S., Yalçın , S., Akbaş , Y., Kırkpınar , F., Gevrekçi , Y. and Türkmüt , L. (2006) Effects of short day (16L:8D) length on broilers: some

- physiological and welfare indices. Proceedings CD of the 12th European Poultry Conference, Verona, Italy.
12. -Olanrewaju , H.A., Thaxton , J.P., Dozier III, W.A., Purswell, J., Roush, W.B.and Branton , S.L. (2006) A review of lighting programs for broiler production. *Int. J. Poultry Science* 4: 301-308.
 13. Zeman, M., P. Pavlik, D. Lamosova, I. Herichova, and E. Gwinner. 2004. Development of circadian rhythmicity: Entrainment of rhythmic melatonin production by light and temperature in the chick embryo. *Avian Poult. Biol. Rev.* 15:197–204.
 14. Shafey, T.M. and T.H. Al-Mohsen, 2002. Embryonic growth, hatching time and hatchability performance of meat breeder eggs incubated under continuous green light. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.*, 15: 1702-1707
 15. . Shafey, T.M., 2004. Effect of lighted incubation on embryonic growth and hatchability performance of two strains of layer breeder eggs. *Br. Poult. Sci.*, 45: 223-229.
 16. Shafey, T.M., H.A. Al-Batshan, M.M. Ghannam and M.S. Al-Ayed, 2005. Effect of intensity of eggshell pigment and illuminated incubation on hatchability of brown eggs. *Br. Poult. Sci.*, 46: 190-198
 17. Zhang, L., H.J. Zhang, X. Qiao, H.Y. Yue, S.G. Wu, J.H. Yao and G.H. Qi, 2012. Effect of monochromatic light stimuli during embryogenesis on muscular growth, chemical composition and meat quality of breast muscle in male broilers. *Poult. Sci.*, 91: 1026-1031
 18. Hluchy, S., R. Toman, M. Cabaj and M. Adamkovicova, 2012. The effect of white and monochromatic lights on chicken hatching. *Anim. Sci. Biotechnol.*, 45: 408-410.
 19. Ghatpande, A., S. Ghatpande and M.Z. Khan, 1994. Effect of different intensities of fluorescent light on the early development of chick embryos in ovo. *Cell. Mol. Biol. Res.*, 41: 613-621.
 20. Henk Schipper, Bas Kemp, Henry van den Brand Archer GS, Shivaprasad HL, Mench JA. 2009. Effect of providing light during incubation on the health, productivity, and behavior of broiler chickens. *Poult Sci*, 88, 29-37. DOI: 10.3382/ps.2008-00221
 21. van. der Poll Carla W, Inge A. M. van Roover-Reijrink1, Conny M. Maatjens,Sander W. S. Gussekloo., Sander Kranenbarg3, Jan Wijnen, Remco P. M. Pieters, 2019. Light-dark rhythms during incubation of broiler chicken embryos and their effects on embryonic and post hatch leg bone Development PLOS ONE | <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210886> January 25

22. . Farghly MF, Mahrose KhM. 2012: Effect of light during storage and incubation periods on pre and post hatch performance of Japanese quail. Egypt J Poult Sci, 32, 947-958.
23. Farghly MF, Mahrose KhM, Abou-kassem DE. 2015. Pre and post hatch performance of different Japanese quail egg colors incubated under photostimulation. Asian J Poult Sci, 9, 19-30, DOI: 10.3923/ajpsaj.2015.19.30 [
24. El Sabry M.I. Essa H.G.M. (2017) Effect Of Cyclic Led Lighting In Incubator On Hatching Performance, Chick Quality And Sex Ratio Of Broiler Chicks .Egyptian J. Anim. Prod. The Egyptian Society of Animal Production أو 54(2):137-141
25. Sindhurakar A, Bradley N.S.,(2012). Light accelerates morphogenesis and acquisition of interlimb stepping in chick embryos. PLoS ONE 7(12):e51348.doi:10.371/journal.pone.0051348.
26. Özkan , S., Yalçın , S., Akbaş , Y., Kırkpınar , F., Gevrekçi , Y. and Türkmüt , L. (2006) Effects of short day (16L:8D) length on broilers: some physiological and welfare indices. Proceedings CD of the 12th European Poultry Conference, Verona, Italy.
27. Blatchford, R. A., Archer, G. S. and Mench, J. A. 2012. Contrast in light intensity, rather than day length, influences the behavior and health of broiler chickens. Poult. Sci. 91: 17681774.
28. Archer, G. S., D. Jeffrey, and Z. Tucker. 2017. Effect of the combination of white and red LED lighting during incubation on the layer, broiler, and Pekin duck hatchability. Poult. Sci. 96:2670-2675.
29. Cooper, C.B., M.A. Voss, D.R. Ardia, S.H. Austin and W.D. Robinson, 2011. Light increases the rate of embryonic development: Implications for latitudinal trends in incubation period. *Funct. Ecol.*, 25: 769-776.
30. Hill, W.L., K.L. Bassi, L. Bonaventura and J.E. Sacus, 2004. Prehatch entrainment of circadian rhythms in the domestic chick using different light regimes. *Dev. Psychobiol.*, 45: 174-186.

تأثير بعض المعاملات في كسر طور السكون لبذور نخيل البلح *Phoenix dactylifera L.* صنف الخضري

د. زياد جلال الحسين⁽¹⁾ د. محمد مرشد الظاهر⁽²⁾ م. الحسن علي الحميدي⁽³⁾

1. أستاذ في قسم علوم البستنة - كلية الزراعة - جامعة الفرات.
2. باحث في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية - بحوث الحسكة.
3. طالب ماجستير في قسم علوم البستنة - كلية الزراعة - جامعة الفرات.

الملخص:

نُفذ البحث في مشتل ضمن مدينة الحسكة خلال عامي 2018 و 2019 بغية دراسة تأثير نقع بذور نخيل البلح (*Phoenix dactylifera L.*) صنف الخضري بمواد عديدة لكسر طور سكونها وتسريع انباتها، وقد قُسمت البذور إلى 4 معاملات: نقع البذور بحمض الكبريت المُركَّز لمدة 30 دقيقة، والنقع بالماء المغلي لمدة دقيقة واحدة، والنقع في محلول حمض الجبرلين بتركيز 1000 جزء بالمليون لمدة 24 ساعة، في حين اقتصرَت معاملة الشاهد على النقع بالماء العادي لمدة 24 ساعة. أتبع في التجربة التصميم كامل العشوائية (CRD)، بثلاثة مكررات بواقع 100 بذرة لكل مُكرر. أظهرت النتائج أن أعلى نسبة انبات (80.33%) سُجِّلت في البذور المُعاملة بحمض الكبريت المُركَّز، تلتها معاملة الغمر السريع بالماء المغلي (78.00%)، ثم الشاهد (74.67%) وبفروق معنوية بين المُعاملات الثلاث ($P>0.05$). كما تبين بأن أسرع البذور إنباتاً المعاملة بحمض الكبريت المُركَّز وأبطأها انباتاً المعاملة بالجبرلين على الترتيب (11.12 - 12.42 أسبوع/بذرة)، تحقق أفضل تجانس للإنبات عند نقع البذور بحمض الكبريت وأقلها عند الشاهد على الترتيب (2.51 - 2.26 بذرة/يوم). كما تحققت

أفضل مؤشرات النمو الخصري والجزري عند نقع البذور بحمض الجبرلين (49.00 سم ارتفاع البادرة، 46.67 سم طول الجذر)، وتحقق أعلى متوسط للوزن الحي لكل من المجموع الخصري والجزري للبادرة عند نقع البذور بمحلول حمض الجبرلين بتركيز 1000 جزء بالمليون أو حمض الكبريت المركز.

الكلمات المفتاحية: نخيل البلح، سكون البذرة، النقع، الانبات، الجبرلين، الماء المغلي، حمض الكبريت المركز.

Effect of Some Treatments on Break Seed Dormancy of Date Palm *Phoenix dactylifera* L. Cultivar Al-khudary

- (1) Professor in Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Al-Furat University.
- (2) Researcher in General commission for Scientific Agricultural Research, Al-Hasakeh Center.
- (3) Master Student in Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Al-Furat University.

Abstract:

The research was carried out in a nursery in the city of Al-Hasakah during 2018 and 2019 in order to study the effect of soaking the seeds of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivar with several substances to break their dormancy phase and accelerate their germination. The seeds were divided into 4 treatments: soaking the seeds with concentrated sulfuric acid for 30 minutes, Soaking in boiling water for one minute, and soaking in a solution of gibberellic acid at a concentration of 1000 ppm for 24 hours, while the treatment of the control was limited to soaking in plain water for 24 hours. The experiment was followed by a completely randomized design (CRD), with three replicates of 100 seeds for each replicate. The results showed that the highest germination percentage (80.33%) was recorded in seeds treated with concentrated sulfur acid, followed by rapid immersion in boiling water (78.00%), then the control (74.67%) with significant differences between the three treatments ($P>0.05$). It was also found that the fastest growing seeds treated with concentrated sulfur acid and the slowest ones treated with gibberellin, respectively (11.12 - 12.42 weeks/seed), achieved the best homogeneity for germination when soaking the seeds with sulfuric acid and the lowest in the control, respectively (2.51 - 2.26 seeds/day). The best indicators of vegetative and root growth were also achieved when the seeds were soaked with gibberellic acid

(49.00 cm seedling height, 46.67 cm root length), and the highest mean live weight of both shoots and root totals of seedlings was achieved when the seeds were soaked with a solution of gibberellic acid at a concentration of 1000 ppm or concentrated sulfuric acid.

Keywords: date palm, seed dormancy, soaking, germination, gibberellin, boiling water, concentrated sulfuric acid.

مقدمة:

ينتمي نخيل البلح *Phoenix dactylifera* L. إلى العائلة النخيلية *Arecaceae* وهو نبات منفصل الجنس ثنائي المسكن. ويُعتقد أن الموطن الأصلي للنخيل هو شبه الجزيرة العربية ومنها انتشر إلى بلاد الرافدين وباقي أنحاء العالم. وقد بلغت المساحة المزروعة عالمياً نحو 1381434 هكتار، وصل إنتاجها من الثمار 9075446 طن؛ أنتج الوطن العربي منها حوالي 75 %، واحتلت مصر المرتبة الأولى في الإنتاج تلتها السعودية ثم إيران [11].

بلغت المساحة المزروعة بالنخيل في سوريا عام 2017 نحو 365 هكتار، وبلغ عدد الأشجار المزروعة في القطر 225400 شجرة منها 60500 شجرة مثمرة، أنتجت 4016 طن [20].

يتكاثر النخيل جنسياً باستخدام البذور (النوى) ولا جنسياً (خضرياً) باستخدام الفسائل والرواكيب وزراعة الأنسجة النباتية. ويُعد التكاثر الجنسي طريقة مهمة وجيدة للحصول على أصناف جديدة. ومن أهم مزايا الإكثار الجنسي أنه يُوفّر الحاجة المتزايدة للمشاتل من الغراس الفتية بهدف التوسع بزراعة النخيل على مساحات واسعة، كما يُستخدم في برامج التحسين الوراثي وإنتاج أصناف وسلالات جديدة، وتمتاز النباتات الناتجة بأنها قوية النمو وذات مجموع جذري مُنتشر ومُتممق [17].

إن ما يُحد من اعتماد المزارعين على البذور في إكثار النخيل هو ظاهرة السكون سواءً كان سكوناً أولياً بفعل ارتفاع تراكيز مثبطات الانبات الموجودة في أنسجة الثمرة أو أغلفة البذرة وكذلك طبيعة أغلفة البذرة القاسية جداً والتي تُعيق التبادل المائي والغازي بين الجنين والوسط الخارجي، أو سكوناً ثانوياً ناتج عن تأثر الجنين بواحد أو أكثر من العوامل البيئية عقب جمع الثمار وفصل البذور منها، علماً أن البذور في هذه الحالة بعد جمعها لا تكون ساكنة ولكن نتيجة تعرّضها لظرفٍ بيئيّ تدخل في طور سكون ثانوي يتم التخلص منه بتعرضها للبرودة أو الضوء أو الهرمونات المُنشّطة للإنبات خاصة حمض الجبرلين [7].

بشكل عام؛ يستغرق إنبات بذور نخيل البلح السليمة وقتاً طويلاً نوعاً ما (قد يصل لأكثر من 3 أشهر)، وتتباين الأصناف في ذلك تبعاً لحيوية البذور والظروف المحيطة ونوع بيئة الإنبات [18] ، أضاف إلى ذلك وجود مشاكل في الإنبات ترجع إلى طور السكون Dormancy period [9]. وبحسب الدراسات توجد مجموعة من المعاملات والإجراءات لكسر سكون بذور النخيل وتحسين نسبة الإنبات، ومنها الخدش الميكانيكي للبذور ذات الأغلفة الصلبة، والغمر بالماء الساخن لفترة قصيرة جداً، والمعاملة بالأحماض المركزة كحمض الكبريت، والتتضيد الدافئ أو البارد، ونقع البذور بالماء الجاري [7]. وتُعزى الزيادة في نسبة إنبات بذور النخيل المُعاملة بحمض الجبرلين إلى أن حمض الجبرلين يُقلل الدور المُنبط لحمض الأوبسيسيك، كما أن حمض الجبرلين يُزيد تكوين الحمض الريبي النووي RNA وبذلك يعمل على تنشيط التفاعلات الحيوية، بالإضافة لدور الحمض في تشجيع استطالة خلايا الجنين في بذرة نخيل البلح [12] ويحسن حمض الجبرلين الإنبات من خلال تصنيع انزيمات التحلل المائي أو من خلال زيادة فعاليتها كإنزيم Amylase الذي يُحلل النشاء لسكريات تُمد الجنين بالطاقة وتضعف الأنسجة الصلبة المحيطة بالجنين كالغلاف البذري [21].

وفي دراسة مشابهة أجريت على نبات الأكيدينا (*Eriobotrya japonica L.*) حيث عوملت البذور بتركيزات مختلفة من حمض الجبرلين -250ppm - 300ppm، وفي ثلاث أوقات مختلفة من النقع (20,25,30) ساعة مقارنة بالشاهد، لوحظ انخفاض نسبة الإنبات عند التركيز 300ppm على الترتيب (60.61، 76.57، 94.00) %، وذلك عائد إلى زيادة التركيز المستعمل بالإضافة إلى وجود نسبة كافية من الجبرلينات ضمن خلايا البذرة أدى ذلك لأثر عكسي في إنبات البذور [2].

أجريت تجربة على النوع Christmas Palm (*Veitchia merillii Beec.*) لمعرفة تأثير تركيز حمض الجبرلين وطول مدة النقع في إنبات بذوره ونموه وتطوره؛ تمت مُعاملة البذور بتركيزات عديدة من حمض الجبرلين من 0 حتى 200 جزء بالمليون ولفترات غمر تأرجحت بين 12 و 72 ساعة، فتبين أن أفضل مُعاملة هي نقع البذور لمدة 48 ساعة بتركيز 200 ppm من حمض الجبرلين، والتي أعطت نسبة إنبات

60.33 %، وارتفاع النبات 37.02 سم، وطول الجذور 25.82 سم، والوزن الطازج والجاف على الترتيب (3.64، 1.29 غ) في حين كانت نسبة إنبات بذور الشاهد 28.28 %، وارتفاع نباتاته 30.97 سم، وطول جذره 24.28 سم، والوزن الطازج والجاف على الترتيب (3.52، 1.2 غ)، [19].

بينت دراسة أُجريت على معاملة البذور الساكنة لبعض أجناس النخيل بحمض الجبرلين بتركيز 1000 مغ/ل لمدة 48 ساعة قد ساعدت على زيادة مُعدّل الإنبات في كلا الجنسين Royal و Pygmy. كذلك كان لغمر بذور نوع النخيل *Sabal palmetto* بحمض الجبرلين بتركيز 500 مغ/ل مدة 24 ساعة دور إيجابي في زيادة نسبة إنبات البذور لتبلغ 95 % بعد 14 يوم من الزراعة، كما كان عدد الأيام اللازمة لإنبات 50 % من البذور المُعاملة (GT50) 6.8 يوم مقارنةً بالشاهد الذي لم تتجاوز نسبة إنبات بذوره 75 % بعد 16 يوم من الزراعة وعدد الأيام اللازمة لإنبات 50 % من البذور المُعاملة (GT50) 7.39 يوم [10].

ومن الطرائق المُستخدمة أيضاً في كسر طور سكون بذور النخيل المُعاملات الفيزيائية والكيميائية لغلاف البذرة مما يجعله أقل سماكةً وأكثر نفاذيةً للماء والغازات ويسمح بوصولها إلى جنين البذرة مُساعداً بذلك على نشاط الاستقلابات الحيوية، ومن ثم نمو واستطالة الجنين، ويمكن تحقيق ذلك باستخدام الخدش أو معاملة البذور بالمواد الكيميائية والأحماض. فقد أدى خدش بذور صنف نخيل البلح رزيذ Ruzeiz أو نقعها بحمض الكبريت المُركّز لمدة 20 أو 30 دقيقة على الترتيب إلى تحسين مُعدّل الإنبات (93.33 أو 90 %) بدون أي فروق معنوية بين الفترتين الزمنيّتين بالمقارنة مع النقع بالحمض لمدة 50 دقيقة، والتي أعطت أقل نسبة إنبات (16.7 %)، [22]. وعند مُعاملة بذور نخيل البلح بحمض الكبريت المُركّز لمدة 3 دقائق أو مُعاملتها بالماء المغلي لمدة 5 دقائق أو نقعها بالماء البارد لمدة 24 ساعة لوحظ وجود فروق معنوية بين المعاملات الثلاث في معدل الإنبات عند مستوى معنوية 5 %؛ فقد أعطت المُعاملة بحمض الكبريت المُركّز أعلى نسبة إنبات (50 %)، تلتها مُعاملة الماء البارد (30 %) ثم مُعاملة الماء المغلي (10 %)، في حين لم تتجاوز نسبة إنبات بذور الشاهد (بدون

نقع (5 %)، أما الوزن الجاف لم تُظهر النتائج فروقاً معنويةً بين المعاملات، وقد كانت البذور المُعاملة بحمض الكبريت المُركَّز أقل وزناً (8.45 غ) مقارنةً بمُعاملة الشاهد والماء المغلي والبارد على الترتيب (9.37، 9.42، 9.96 غ) [16]. أعطى نقع بذور نوع النخيل *Thrinax morrisii* بحمض الكبريت المُركَّز لمدة 30 دقيقة أعلى نسبة إنبات (90 %) بعد 14 يوم من الزراعة وكان عدد الأيام اللازمة لإنبات 50 % من البذور (GT50) هو 5.19 يوم مقارنةً بالشاهد الذي أعطى نسبة إنبات 70 % بعد 16 يوم من الزراعة، وبلغ عدد الأيام اللازمة لإنبات 50 % من البذور 8.07 يوم [10].

أظهرت دراسة لتأثير نقع بذور نخيل البلح قبل زراعتها بالماء بثلاث طرائق (النقع بالماء العادي عند درجة حرارة الغرفة 22 م لمدة 12 ساعة، أو بماء دافئ درجة حرارته 35 م لمدة 12 ساعة، أو بماء ساخن درجة حرارته 50 م لمدة 10 ساعات)؛ أن نسبة الإنبات الأعلى (84 %) نتجت عند نقع بذور نخيل البلح بالماء العادي مقارنةً بالنقع بالماء الدافئ أو الساخن على الترتيب (68، 69) %، وقد اكتمل الإنبات بعد 40 يوم من الزراعة.

أظهرت نتائج نقع بذور نخيل البلح بالماء المغلي لمدة 5 دقائق أو نقعها بالماء البارد لمدة 24 ساعة أو الخدش الميكانيكي أو النقع بحمض الكبريت المركز لمدة 5 دقائق أن الطرائق المختلفة المُستخدمة في كسر طور السكون قد زادت نسبة الإنبات ونمو البادرات، إذ نتجت أفضل النتائج عند النقع بالماء المغلي لمدة 5 دقائق أو بالماء البارد لمدة 24 ساعة (100 %) وبفارق معنوي عند مستوى معنوية 5 % مقارنةً بباقي المعاملات وذلك بعد مضي 42 يوم من الزراعة؛ كما أعطت معاملة نقع بذور نخيل البلح بالماء المغلي أعلى ارتفاع للبادرة (25 سم) بعد 77 يوم من الزراعة مقارنة بـ 6.72 سم في الشاهد [12].

هدف البحث:

يهدف البحث على بذور صنف نخيل البلح الخصري إلى تحديد الطريقة الأمثل في كسر طور سكونها وزيادة نسبة انباتها وتحسين صفات نمو البادرات من خلال تطبيق بعض المعاملات الكيميائية والفيزيائية

3: مواد البحث وطرائقه:

1 -المادة النباتية:

استخدم في البحث بذور صنف النخيل الخصري (سعودي المصدر)، حيث استخرجت البذور من الثمار خلال خريف عام 2017 من ثمار حديثة. ثم غُسلت البذور عدة مرات لإزالة أي آثار من لحم الثمرة، وجُففت هوائياً عدة أيام في الظل لتقليل رطوبة البذور بعد غسلها. ومن ثم حفظت في مكان بارد وجاف لعدة أيام، ثم استبعدت البذور الشاذة وخفيفة الوزن وتُركت فقط البذور السليمة والمثالية لبدء التجربة.

2 -مكان تنفيذ التجربة:

نُفذت التجربة في مشتل موجود في مدينة الحسكة خلال عامي 2018 و2019، وقد جُهِّز المشتل بغطاء تظليل منخفض النفاذية للضوء قابل للطي مفتوح الجوانب تم استخدامه في فترات السطوع الشمسي العالي.

3 - طريقة العمل:

أ- تحضير بيئة الزراعة:

تم تحضير خلطة مُكوّنة من:

1. تربة زراعية مصدرها أرض على سرير نهر الخابور في مدينة الحسكة حيث أُجري لها تحليل فيزيائي وكيميائي (الجدول 1).

الجدول(1): التحليل الفيزيائي والكيميائي لتربة المستخدمة في خلطة الزراعة

التحليل الميكانيكي للتربة (%)			التركيز (جزء بالمليون ppm)			غ / 100 غ تربة		عجينة مشبعة		العمق (سم)
سنت	طين	رمل	بوتاسيوم	فوسفور	آزوت	OM	CaCO ₃	EC	pH	
32	44	24	267	4.9	6.86	0.947	1	0.28	7.63	15-0

2. رمل نهري جاف.

3. سماد بلدي متخمر (زبل أغنام).

وقد خلطت هذه المواد بنسب متساوية 1:1:1. وعُبئت في أكياس زراعة بلاستيكية سوداء من البولي ايثيلين قياس 22 × 12 سم.

ب- معاملات البذور:

نُفعت بذور نخيل البلح صنف الخضري النظيفة (300 بذرة) في حمض الكبريت المركز لمدة 30 دقيقة في كأس بيشر ثم غسلت مباشرة عدة مرات بالماء المقطر لإزالة آثار الحمض. كما نُقع نفس العدد من البذور في محلول حمض الجبرلين 1000 مغ/ل مدة 24 ساعة في كأس بيشر آخر، وسكب الماء المغلي على 300 بذرة في كأس بيشر لمدة دقيقة واحدة لتطرية القصرة، أما الشاهد فقد نُفعت البذور بالماء المقطر لمدة 24 ساعة قبل الزراعة عند درجة حرارة الغرفة العادية.

ت- زراعة البذور:

زرعت بذور التجربة في أكياس البولي إيثيلين المعبأة بالخلطة بمعدل 100 كيس للمعاملة الواحدة، وثلاث بذور في الكيس الواحد (100 كيس للمعاملة الواحدة $\times 3$ بذور في كل كيس)، وبذلك يكون العدد الكلي للبذور 300 بذرة لكل مُعاملة $\times 4$ معاملات نُقع = 1200 بذرة. وكُررت كل مُعاملة ثلاثة مُكررات، وفي كل مُكرر 100 بذرة.

تمت زراعة البذور بتاريخ 2018/3/18 حيث وضعت البذور في كل أكياس الزراعة على عمق 2 سم، وتمت السقاية بشكل دوري مرة كل 4 أيام بمعدل 250 مل ماء للكيس الواحد في كل سقاية) في الشهر الأول والثاني من الزراعة حيث كان الجو رطباً نوعاً ما، ثم تمت زيادة عدد مرات السقاية بعد 6/1 بحيث كانت يوم بعد يوم، كذلك أُعطيت جُرعات سمادية من سماد معدني متوازن NPK (20-20-20 %) بمعدل 2 غ/ل بشكل أسبوعي، كما أُضيف للبادرات سقياً حمض الهيوميك (Humic acid) بمعدل 1 غ/ل أسبوعياً.

4 - المؤشرات المدروسة:

في ربيع عام 2018 عند إنبات أول بادرة تم تدوين المؤشرات التالية:

1. نسبة الإنبات (%): تم حسابها من العلاقة نسبة الإنبات = (عدد البذور المُنبتة /

عدد البذور الكلي) $\times 100$

2. سرعة الإنبات (أسبوع/بذرة): حسبت بمعدل أسبوعي من العلاقة

متوسط سرعة الإنبات = $(1ع ت_1 + 2ع ت_2 + \dots + ع ت_n) /$ العدد الكلي للبادرات النابتة

حيث أن: ع = عدد البذور النابتة في المدة الزمنية المحددة، ت = ترتيب الأسبوع
3. تجانس الإنبات (بذرة/يوم) تم حسابه من العلاقة:

تجانس الانبات = نسبة البذور المنبتة / عدد أيام الانبات الفعلي [13].

في تاريخ 2019/1/18 وعند دخول النبات في مرحلة السكون تم أخذ القراءات الخضرية

4. ارتفاع البادرات (سم)

5. طول المجموع الجذري (سم)

تم أخذ متوسط أطوال المجموع الخضري والجذور الرئيسة بواسطة مسطرة مُدرجة

6. الوزن الحي للمجموع الخضري (غ)

7. الوزن الحي للمجموع الجذري (غ)

حيث تم أخذ الأوزان الحية لكا المجموعين بواسطة ميزان حساس

8. نسبة الوزن الحي للمجموع الجذري إلى الوزن الحي للمجموع الخضري (%)

5 - تصميم التجربة والتحليل الإحصائي للبيانات:

استخدم في التجربة التصميم كامل العشوائية (Completely Randomized Design) بأربع معاملات وثلاثة مكررات لكل معاملة وتم تحليل البيانات باستخدام تحليل التباين ANOVA مع تحديد قيم أقل فرق معنوي (5%) بواسطة برنامج GENSTAT.

النتائج والمناقشة:

1. مؤشرات الانبات:

يبين الجدول (2) أن نسبة إنبات البذور لصنف نخيل البلح الخضري قد أظهرت تفاوتاً بين المعاملات المدروسة؛ فقد تفوقت مُعاملة نقع البذور بحمض الكبريت المُركَّز لمدة 30 دقيقة على باقي المعاملات دون وجود فرق معنوي بينها وبين معاملة الماء المغلي ويفارق معنوي مع معاملة الشاهد وحمض الجبرلين، فقد بلغت نسبة الإنبات

(80.33%)، كما توجد فروق معنوية بين معاملات النقع الأخرى، وقد لوحظ أن أدنى نسبة إنبات (69.33%) عند مُعاملة بذور صنف نخيل البلح الخصري بحمض الجبرلين (تركيز 1000 جزء بالمليون لمدة 24 ساعة).

كما تُشير النتائج إلى وجود فروق معنوية بين المُعاملات المُختلفة المُستخدمة في تأثيرها على سُرعة إنبات البذور بعد ؛ فقد تَفوّقت مُعاملة نقع بذور نخيل البلح بحمض الكبريت المُركّز بشكلٍ معنوي على باقي المُعاملات (11.12 أسبوع / بذرة)، وهي أقل فترة مُسجّلة بين مُعاملات التجربة، تلتها مُعاملة النقع السريع بالماء المغلي لمدة دقيقة واحدة ثم الغمر بالماء العادي (الشاهد) على الترتيب (12.19 و 12.07 أسبوع / بذرة) وبدون فروق معنوية بين كلتا المُعاملتين، أمّا أطول فترة من حيث سُرعة الإنبات (12.42 أسبوع / بذرة) فكانت عند مُعاملة البذور بحمض الجبرلين (تركيز 1000 جزء بالمليون لمدة 24 ساعة) (الجدول 2).

وفي سياق آخر؛ يظهر الجدول رقم (2) اختلاف مُعدّل تجانس الإنبات (بذرة / يوم) بين المُعاملات الأربع المدروسة، إذ دلّت النتائج إلى وجود فروق معنوية؛ وقد تَفوّقت مُعاملة نقع البذور بحمض الكبريت المُركّز لمدة 30 دقيقة وبشكلٍ معنوي على المُعاملات الأخرى (2.510 بذرة / يوم)، وهو بالمتوسط أعلى مُعدّل إنبات يومي بين مُعاملات التجربة، وجاءت مُعاملة بذور صنف نخيل البلح الخصري بحمض الجبرلين (تركيز 1000 جزء بالمليون لمدة 24 ساعة) بالمرتبة الثانية بمُعدّل تجانس إنبات بلغ (2.391 بذرة / يوم) مُتقدمة ويفارق معنوي على معاملتي النقع السريع بالماء المغلي لمدة دقيقة واحدة أو الغمر بالماء العادي (الشاهد) على الترتيب (2.364، 2.363 بذرة / يوم) .

قد تعود زيادة نسبة وسُرعة إنبات بذور صنف نخيل البلح الخصري عند المُعاملة بحمض الكبريت لدور الحمض في خدش وتطرية الأغلفة البذرية ضعيفة النفاذية للماء والغازات والتي تُعيق تمدد الأجنة، مما يُسهّل عملية التبادل المائي والغازي بين الجنين والوسط الخارجي، الأمر الذي يُؤدي إلى زيادة نسبة الإنبات وتسريعه قبل تعفن البذور نظراً للرطوبة العالية في وسط الزراعة، ويتفق ذلك مع ما خلُصت إليه بعض الدراسات السابقة

التي بيّنت أن أفضل مُعاملة لكسر طور سكون البذور ذات الأغلفة الخشبية هي مُعاملتها بحمض الكبريت المُركّز كبذور الصنوبر الثمري [5] وبذور نخيل البلح [16] و[22].

الجدول (2): تأثير مُعاملات النقع المُختلفة على مُؤشرات انبات بذور صنف نخيل البلح الخضري

CV %	L.S.D _{0.05}	مُعاملات نقع بذور صنف نخيل البلح الخضري				المؤشرات المدروسة
		الشاهد	حمض الجبرلين	الماء المغلي	حمض الكبريت المُركّز	
2.8	3.994	74.67 ^b	69.33 ^c	78.00 ^{ab}	80.33 ^a	النسبة المئوية للإنبات (%)
0.9	0.2040	12.07 ^b	12.42 ^a	12.19 ^b	11.12 ^c	سرعة الإنبات (اسبوع / بذرة)
2.8	0.1237	2.263 ^c	2.391 ^{ab}	2.364 ^{bc}	2.510 ^a	تجانس الإنبات (بذرة / يوم)

المتوسطات الموجودة في نفس الصف تكون ذات فروق معنوية احصائياً عند مستوى معنوية 5 % عندما تظهر عليها أحرف مختلفة.

قد تعود زيادة نسبة وسُرعة إنبات بذور صنف نخيل البلح الخضري عند المُعاملة بحمض الكبريت لدور الحمض في خدش وتطرية الأغلفة البذرية ضعيفة النفاذية للماء والغازات والتي تُعيق تمدد الأجنة، مما يُسهّل عملية التبادل المائي والغازي بين الجنين والوسط الخارجي، الأمر الذي يُؤدي إلى زيادة نسبة الانبات وتسريعه قبل تعفُّن البذور نظراً للرطوبة العالية في وسط الزراعة، ويتفق ذلك مع ما خلُصت إليه بعض الدراسات السابقة التي بيّنت أن أفضل مُعاملة لكسر طور سكون البذور ذات الأغلفة الخشبية هي مُعاملتها بحمض الكبريت المُركّز كبذور الصنوبر الثمري [5] وبذور نخيل البلح [16] و[22].

كما لوحظ تدني نسبة انبات بذور صنف نخيل البلح الخصري عند نقعها بحمض الجبرلين بتركيز 1000 جزء بالمليون لمدة 24 ساعة، وقد يكون ذلك عائداً إلى ضعف تأثير التركيز المستخدم في تحسين انبات البذور، وذلك يتوافق مع ما توصل إليه بعض الباحثين الذين عزو سبب تأخر انبات بذور بعض الأنواع النباتية ذات الأغلفة الجلدية أو الخشبية أو انخفاض نسبته إلى ضعف تأثير حمض الجبرلين المستعمل أثناء مُعاملة النقع في تخفيف تأثير الغلاف القاسي، وهذا ما لوحظ عند دراسة انبات بذور الأكي دنيا [2] وبُطم الكونجوك [1] والسيكاس [21]، في حين عزاه باحثون آخرون إلى اختلاف درجات عمق السكون بين البذور المدروسة [8].

2. مؤشرات النمو الخصري والجذري للبادرات:

يظهر في الجدول (3) تفاوتاً ملحوظاً بين المُعاملات المدروسة؛ فقد تفوّقت مُعاملة نقع البذور بحمض الجبرلين على باقي المُعاملات وبوجود فروق معنوية، ومتوسط وزن حي للمجموع الخصري (5.053 غ)، في حين لوحظ أدنى وزن للمجموع الخصري (2.44 غ) في نباتات مُعاملة الشاهد.

يظهر الجدول (3) أيضاً إلى وجود فروق معنوية بين المُعاملات المُختلفة المُستخدمة في كسر طور سكون بذور صنف نخيل البلح الخصري من ناحية الوزن الحي للمجموع الجذري؛ فقد تفوّقت مُعاملة نقع البذور بحمض الجبرلين وبشكلٍ معنوي على باقي المُعاملات (3.773 غ)، تلتها مُعاملة نقع البذور بحمض الكبريت المُركّز (3.21 غ) وبفارق معنوي عن باقي المُعاملات المدروسة، وقد لوحظ أقل متوسط عند المعاملة بالماء العادي (الشاهد) (0.83 غ).

ومن ناحية ثانية؛ فقد اختلفت نسبة الوزن الحي للمجموع الجذري مُقارنةً بالمجموع الخصري بين المُعاملات الأربعة المدروسة في التجربة، إذ يشير الجدول (3) إلى تفوق مُعاملتي نقع البذور بحمض الجبرلين وحمض الكبريت وبشكلٍ معنوي على المُعاملات الأخرى، إذ بلغت النسبة على الترتيب (74.69 ، 71.66 %)، ويدل ذلك على قوة نمو المجموع الجذري وانتشاره وتعمقه في المُعاملتين المُشار إليهما وهذا ما ساعد على الوصول إلى حالة مثالية من التوازن بين المجموعين الخصري والجذري، في حين أثرت

مُعاملة النقع بالماء المغلي بشكلٍ سلبي على نمو المجموع الجذري، إذ لم تتعدَّ نسبة وزن المجموع الجذري إلى المجموع الخُضري مقدار 27.65 %، وهذا يُشير بشكلٍ واضح إلى تضرُّر جنين البذرة - وخصوصاً الجُدِير - .

يتضح مما سبق أن مُعاملة نقع البذور بحمض الجبرلين أو بحمض الكبريت المُركَّز قد أعطت أفضل مؤشرات النمو الخُضري والجذري، ويُعتقد أن زيادة ارتفاع البادرات وطول جذورها بعد مُعاملة نقع بذورها الخشبية بحمض الكبريت المُركَّز عائد إلى أن تلك البذور قد أنبتت مُبكراً مما منحها وقتاً كافياً للنمو والتطوُّر السريع وتخزين المواد الغذائية مُقارنةً بالمُعاملات الأخرى التي تأخرت عنها بالإنبات [4]. ومن جهة أخرى؛ فإن حمض الجبرلين له دور في تنشيط الانقسام الخلوي وتشجيع استطالة الخلايا النباتية وبذلك يعمل على تسريع العمليات الحيوية مما يُحسِّن مُعدَّل النمو الكلي ويزيد حجم الكتلة الحية للجذر، وهو ما يتفق مع بعض الدراسات التي أكدت حدوث زيادة في النمو الخُضري وارتفاع النبات عند نقع البذور قبل الزراعة بحمض الجبرلين [3] و [19].

الجدول (3): تأثير مُعاملات النقع المُختلفة على الوزن الحي للمجموع الخُضري والجذري (غ) لـصنف

النخيل الخُضري

CV %	L.S.D _{0.05}	مُعاملات نقع بذور صنف نخيل البلح الخُضري				المؤشرات المدروسة
		الشاهد	حمض الجبرلين	الماء المغلي	حمض الكبريت المُركَّز	
3.5	0.2585	2.440 ^d	5.053 ^a	3.613 ^c	4.487 ^b	الوزن الحي للمجموع الخُضري (غ)
3.7	0.1519	0.830 ^d	3.773 ^a	1.000 ^c	3.210 ^b	الوزن الحي للمجموع الجذري (غ)
5.3	5.146	34.04 ^b	74.69 ^a	27.65 ^c	71.66 ^a	الوزن الحي للمجموع الجذري / الوزن الحي للمجموع الخُضري (%)

المتوسطات الموجودة في نفس الصف تكون ذات فروق معنوية احصائياً عند مستوى معنوية 5 % عندما تظهر عليها أحرف مختلفة.

يتضح مما سبق أن مُعاملة نقع البذور بحمض الجبرلين أو بحمض الكبريت المُركَّز قد أعطت أفضل مُؤشرات النمو الخصري والجذري، ويُعتقد أن زيادة ارتفاع البادرات وطول جذورها بعد مُعاملة نقع بذورها الخشبية بحمض الكبريت المُركَّز عائد إلى أن تلك البذور قد أُنبِتت مُبكراً مما منحها وقتاً كافياً للنمو والتطوُّر السريع وتخزين المواد الغذائية مُقارنةً بالمُعاملات الأخرى التي تأخرت عنها بالإنبات [4]. ومن جهة أخرى؛ فإن حمض الجبرلين له دور في تنشيط الانقسام الخلوي وتشجيع استطالة الخلايا النباتية وبذلك يعمل على تسريع العمليات الحيوية مما يُحسِّن مُعدَّل النمو الكلي ويُزيد حجم الكتلة الحية للجذر، وهو ما يتفق مع بعض الدراسات التي أكدت حدوث زيادة في النمو الخصري وارتفاع النبات عند نقع البذور قبل الزراعة بحمض الجبرلين [3] و [19].

أما فيما يتعلق بنمو المجموع الخصري لصنف نخيل البلح الخصري فقد تبين أن المُعاملات المُختلفة لنقع البذور قد أثَّرت بشكلٍ كبير على النمو الجدول (4)، وظهر ذلك واضحاً من خلال تفاوت ارتفاع البادرات تبعاً للمُعاملات المدروسة؛ إذ تفوَّقت مُعاملة نقع البذور بحمض الجبرلين (تركيز 1000 جزء بالمليون لمدة 24 ساعة) على باقي المُعاملات وبوجود فروق معنوية، فقد وصل ارتفاع البادرة إلى 49.00 سم، تلتها مُعاملات النقع بحمض الكبريت ومن ثم الماء المغلي مع وجود فروق معنوية فيما بينها، في حين أظهرت مُعاملة الشاهد (نقع البذور بالماء العادي لمدة 24 ساعة) أقل متوسط لارتفاع البادرة (26.33 سم).

أما في نمو المجموع الجذري للصنف المدروس فقد بينت النتائج أن المُعاملات المُختلفة للبذور شجَّعت نمو الجذور لكن بشكلٍ متفاوت، وظهر ذلك واضحاً من خلال تباين أطوال الجذور وفقاً للمُعاملات المدروسة؛ إذ تفوَّقت مُعاملة نقع البذور بحمض الجبرلين على باقي المُعاملات وبوجود فارق معنوي، فقد وصل طول جذر البادرة لمعاملة حمض الجبرلين (46.67 سم) تلتها مُعاملة حمض الكبريت (44.67 سم)، أما مُعاملة النقع بالماء المغلي فقد كانت جذورها الأقصر (36.33 سم).

الجدول (4): تأثير مُعاملات النقع المُختلفة على ارتفاع البادرات (سم) وطول الجذور (سم) لـصنف النخيل الخضري

CV %	L.S.D _{0.05}	مُعاملات نقع بذور صنف نخيل البلح الخضري				المؤشرات المدروسة
		الشاهد	حمض الجبرلين	الماء المغلي	حمض الكبريت المُركّز	
4.3	2.977	26.33 ^d	49.00 ^a	29.67 ^c	41.33 ^b	ارتفاع البادرات (سم)
3.7	2.876	38.33 ^c	46.67 ^a	36.33 ^c	43.67 ^b	طول الجذور (سم)

المتوسطات الموجودة في نفس الصف تكون ذات فروق معنوية احصائياً عند مستوى معنوية 5 % عندما تظهر عليها أحرف مختلفة.

يتضح من الجدول (4) أن مُعاملة نقع البذور بـحمض الجبرلين قد تفوقت في كل من طول الجذور وارتفاع النبات على الرغم من أنها لم تُثبت مُبكراً، ومن المُعتقد أن زيادة ارتفاع سوق نباتات النخيل وطول جذورها بعد نقع بذورها بـحمض الجبرلين عائد إلى دور الجبرلين في تنشيط الانقسام الخلوي في المرستيمات القمية وتشجيع استطالة الخلايا النباتية من خلال تحفيز إنتاج الأوكسينات وتسريع النمو وزيادة الضغط الأسموزي في جدار الخلية وتكوين الحمض الريبي النووي RNA وبذلك يعمل على تنشيط الفعاليات الحيوية، وهو ما يتفق مع بعض الدراسات التي أكدت حدوث زيادة في النمو الخضري وارتفاع النبات عند نقع البذور قبل الزراعة بـحمض الجبرلين [3] و [19] في حين ترجع النتائج السلبية للمعاملة بالماء المغلي لتضرر جنين البذرة المُحتمل حتى وإن كان لفترة محدودة [15].

الاستنتاجات:

1. تفوّقت مُعاملة نقع بذور صنف نخيل البلح الخضري بـحمض الكبريت المُركّز لمدة 30 دقيقة على باقي المعاملات المدروسة (النقع بمحلول حمض الجبرلين بتركيز 1000 جزء بالمليون لمدة 24 ساعة، الغمر السريع بالماء المغلي لمدة دقيقة

- واحدة والشاهد) في جميع مؤشرات الانبات (النسبة المئوية للإنبات، سرعة الانبات وتجانس الانبات) وبوجود فروق معنوية عند مستوى معنوية 5%.
2. تفوقت مُعاملة نقع البذور بحمض الجبرلين على باقي المُعاملات معنوياً بالنسبة لمؤشرات النمو الخُضري والجزري للبادرات.
3. تفوقت مُعاملتي نقع البذور بحمض الكبريت ونقع البذور بحمض الجبرلين على باقي المُعاملات في الوزن الحي الخضري والجزري.

المقترحات:

1. اعتماد مُعاملة نقع بذور صنف نخيل البلح الخضري بحمض الكبريت المُركّز لمدة 30 دقيقة لكسر طور سكون البذور وتحسين مؤشرات انباتها.

المراجع:

1. ACAR, I.; YASAR H.; ERCISLI S., 2017- Effects of dormancy-breaking treatments on seed germination and seedling growth of *Pistacia khinjuk* stocks using as rootstock for pistachio trees. Journal of Applied Botany and Food Quality. Vol (90): 191 – 196.
2. Al-Hawezy, S. M. N., 2013- The role of the different concentrations of GA₃ on seed germination and seedling growth of loquat (*Eriobotrya japonica* L.). Journal of Agriculture and Veterinary Science, 4, (5): 3-6.
3. ALHUSIEN Z.; ALSHAWA M, 2014- The Effect of Different Treatments On Seed Germination and Seedling Growth of Tow Pistacia (*Pistacia Vera*) Cultivars. Research Journal of ALfurat Univ. 9, (34): 243-262. IN ARABIC
4. ALREFAI A. ALGHAMDI A. 2009- Study of Some Treatments to Break Seed Dormancy in *Acacia Gerardii* Bentham Journal Damascus Universty For Agriculture Science 25,(1): 47-62. IN ARABIC
5. ALREFAI A; Ahmad A. A. 2001- Determination of Suitable Treatments for Braking the Coat Dormancy Stage of *Pinus Pinea* L. Seeds, Collected from Different Ecological Sites in Syria. Journal OF DAMASCUS UNIVERSITY FOR Agriculture Science 17, (2): 67-76. IN ARABIC
6. AZAD, M. S.; RAHMAN M. T.; ABDUL-MATIN M., 2011- Seed germination techniques of *Phoenix dactylifera*: A new experience from Bangladesh. Front. Agric. Chin., 5,(2): 241– 246.
7. BASKIN, J. M.; BASKIN C. C., 2014- What kind of seed dormancy might palms have?. Seed Science Research, 24: 17–22.
8. BICALHO, E. M.; PINTO-MARIJUAN M.; MORALES M.; MULLER M.; MUNNE-BOSCH S.; GARCIA Q. S., 2015- Control of Macaw palm seed germination by the gibberellin/abscisic acid balance. Plant Biology, 17,(5): 990– 996.

9. BLACK M. H.; HALMER P., 2006- The encyclopedia of seeds. Science technology and uses. Wallingford, UK, CABI, pp. 828.
10. DEWIR Y. H; EL-MAHROUK M. E; NAIDOO Y, 2011- Effects of some mechanical and chemical treatments on seed germination of *Sabal palmetto* and *Thrinax morrisii* palms. Australian Journal of Crop Science, 5,(3): 248-253.
11. FAO, 2019- The statistical database (FAOSTAT), Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available in the site: <http://www.fao.org/faostat/ar/#data/QI>.
12. HABILA, S.; ALI A. D.; SALIHU F. H., 2016- Breaking of dormancy and its effects on seedling establishment of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). Journal of Natural Sciences Research, 6,(12): 1-5.
13. ISTA (International Seed Testing Association), 2010- International Roles for Seed Science and Technology, pp 43-49.
14. KHER M. M.; NATARAJ M., 2015- Effect of sulfuric acid treatment on breaking of seed dormancy and germination of Indian doum palm, *Hyphaene dichotoma*, a threatened and endemic palm. Environmental and Experimental Biology, 13: 99-101.
15. MUHAMMAD M. T., 2018- The effect of priming and artificial dormancy breaking techniques on germination and seedling establishment of date palm. Research and Reviews: Research Journal of Biology, 6(3): 13-17.
16. MUHAMMAD M.; RINGIM A. S.; DANGORA I. I., 2017- Effects of different methods of breaking dormancy and seed germination rate in date palm (*Phoenix dactylifera* L.). Journal of Research in Forestry, Wildlife & Environment, 9,(4): 28–35.
17. OTHMANI, A.; BAYOUDH, C; DRIRA, N. (2009). Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration in Date Palm (*Phoenix Dactylifera* L.) Fine Chopping And Partial Desiccation Of Embryogenic Callus Significantly Improve Cv. Boufeggous. Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 97: 71–79

18. RODRIGUEZ A., 2010- How long will it take for a date palm tree seed to germinate? Demand Media <http://homeguides.sfgate.com/long-date-palm-tree-seed-germinate-44206.html>.
19. SURADINATA Y. R; RUMINTA A. N., 2015- Effect of concentration and length time of soaking seed in gibberellic acid (GA₃) on germination and growth of Christmas palm (*Veitchia merilli* (Beec.) H. F. Moors). International Journal of Science and Research (IJSR), 6,(11): 492-495.
20. THE ANNUAL AGRICULTURAL STATISTICAL ABSTRACTS, 2017- Syrian Arab Republic, Ministry of Agriculture and Agrarian Reform, Directorate of Planning and International Cooperation, Department of Statistics.
21. ULLAH, Z.; HASSAN I.; HAFIZ I. A.; ABBASI N. A., 2020- Effect of different priming treatments on seed germination of Sago palm (*Cycas revoluta* L.). Journal of Biology and Biotechnology. 5,(1): 221-227.
22. WARRAG, M. O. A.; WARRAG E. I., 2007- Effect of some mechanical and chemical treatments on seed germination of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). University of Khartoum Journal of Agriculture and Science, 15,(3): 407-417.

تأثير استخدام تراكيز مختلفة من الأوكسين والسيتوكينين في استحداث الكالوس والكالوس الجنيني في الزعفران الحلبي (*Crocus aleppicus* B.)

- سلاف بريدي⁽¹⁾، خليل المعري⁽¹⁾، فهد البيسكي⁽²⁾
(1) قسم علوم البستنة_ كلية الزراعة_ جامعة دمشق.
(2) الهيئة العامة للتقانة الحيوية_ وزارة التعليم العالي.

الملخص:

قمنا في هذا البحث ولأول مرة في سوريا بتطبيق تقانة زراعة الأنسجة على النوع البري للزعفران الحلبي (*Crocus aleppicus* B.) بهدف استحداث الكالوس والكالوس الجنيني بدءاً من البراعم القمية والجانبية. أظهرت نتائج التطهير السطحي لكورمات النوع المدروس أن أفضل تركيز مستخدم من محلول هيبوكلوريت الصوديوم (NaOCl) هو 5% لمدة 30 دقيقة. كما تبين أن زراعة البراعم القمية أعطت أعلى نسبة لاستحداث الكالوس (54.40%)، وكذلك لتشكيل الكالوس الجنيني (40.06%)، على عكس البراعم الجانبية التي أعطت نسباً منخفضة (18.91 و 13.97%) على التوالي. لم تعطِ العينات النباتية المزروعة (البراعم القمية والجانبية) كالوساً أو كالوساً جنينياً عند الزراعة في وسط الشاهد (وسط خالٍ من الأوكسين 2,4-D والسيتوكينين 6-BAP)، في حين أعطت عند استخدام مزائج هرمونية مختلفة من هذين الهرمونين كالوساً و كالوساً جنينياً بنسب اختلفت باختلاف التراكيز المستخدمة من كل منهما وبحيث أعطى المزيج الهرموني 0.25 مغ.ل⁻¹ + 2,4-D 1 مغ.ل⁻¹ 6-BAP أعلى نسبة لاستحداث الكالوس (95.00 و 37.5%)، وكذلك أعلى نسبة لتشكيل الكالوس الجنيني (90.00 و 29.17%) على التوالي، وذلك بالمقارنة مع الشاهد.

الكلمات المفتاحية: الزعفران الحلبي، الكالوس، الكالوس الجنيني، منظمات النمو، التطهير السطحي.

Effect of different concentrations of auxin and cytokinin on callus Induction and embryogenic callus formation in (*Crocus aleppicus* B.)

Solaf Bredy⁽¹⁾, Khalil Almaarri⁽¹⁾, Fahed Albiski⁽²⁾

⁽¹⁾ Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, University of Damascus

⁽²⁾ National Commission for Biotechnology, Ministry of Higher Education.

Abstract:

For the first time in Syria, we have studied the effect of different concentration of auxin and cytokinin on callus induction and embryogenic callus formation in *Crocus aleppicus* B. from apical and lateral buds.

The results of the surface sterilizing experiment revealed that the best used concentration of sodium hypochlorite solution (NaOCl) was 5% for 30 minutes.

The results revealed that the apical buds were better in callus induction (54.40%) and embryogenic callus formation (40.06%) than lateral buds with (18.91 and 13.97%) respectively.

The explants (apical and lateral buds) failed to form callus and embryogenic callus in the control experiment (0.00 2,4-D+0.00 6-BAP), but these explants produced different percentages of callus and embryogenic callus when we used a combination of 2,4-D and 6-BAP, whereas the mixture (0.25 mg.l⁻¹ 2,4-D + 1 mg.l⁻¹ 6-BAP) achieved the highest percentage for callus (95.00 and 37.5%) and embryogenic callus (90.00 and 29.17%) respectively.

Key words: *Crocus aleppicus*, Callus, Embryogenic callus, Growth regulators, surface sterilizing.

المقدمة Introduction:

تعتبر الفصيلة السوسنية Iridaceae واحدة من أغنى الفصائل النباتية بالأنواع والأكثر انتشاراً في العالم، ويتمثل ذلك بـ 65-76 جنساً وأكثر من 2030 نوعاً يتبع لها [10]، وينتشر الجنس *Crocus* الذي ينتمي لهذه الفصيلة في كل من آسيا، أوروبا وشمال أفريقيا [10]، ويضم نحو 80 نوعاً برياً [33]، ومنها الزعفران المزروع *Crocus sativus* L.، كما تزرع العديد من أنواعه كنباتات زينة، ولبعضها الآخر استخدامات وفوائد طبية [14]، وقد سجّلت الفلورا السورية 14 نوعاً من الزعفران [22].

إنّ الزعفران الحلبي *Crocus aleppicus* B. أحد الأنواع البرية التي تنتمي لهذا الجنس، وينتشر برياً في بلاد الشام، ويتميز بكورمة بيضاوية قطرها 1.5 سم، ذات أغلفة بنية مخططة بعروق متوازية، الخارجية منها شريطية نوعاً ما، ويتأرجح عدد أوراقه بين 4-7 أوراق، عرضها 1-1.5 مم، أما الأعمدة فعددها 2-3، مبيضة أو مشوية بالبنّي قليلاً. كما يتميز بأنبوبة زهرية بأطوال مختلفة وبتلات ذات قمة متضيقية، وعرضها 5-7 مم، بيضاء معرقة كثيراً أو قليلاً بأزرق قائم أحياناً برتقالية قليلاً عند قاعدة البتلة، أما الأسدية فهي عبارة عن خيوط طويلة نوعاً ما، تحمل مآبر مصفرة، المياسم برتقالية متفرعة في شرائط خيطية أقصر من المآبر والثمرة كبسولة بيضوية الشكل (1).

يزهر الزعفران الحلبي أواخر شهر تشرين الأول وحتى شهر كانون الثاني، وينتشر في سورية (السلسلة الجبلية الشرقية، وادي القرن، جبل معلولا، قارة، سهل الديماس، قطنا، حوران، السويداء، حلب)، بالإضافة لانتشاره في كل من لبنان وفلسطين [22].

تأثير استخدام تراكيز مختلفة من الأوكسين والسيبتوكينين في استحداث الكالوس والكالوس الجنيني
(*Crocus aleppicus* B. في الزعفران الحلبي)



الشكل (1): نبات الزعفران الحلبي *Crocus aleppicus* B.

يعود استخدام الزعفران إلى العصور القديمة، حيث يستخدم غالباً في الطب الشعبي، وفي الصبغات الطبيعية، وكتابل في الصناعات الغذائية [25].

كما يستخدم على شكل مشروب لمعالجة العديد من الأمراض كالسعال، واضطرابات المعدة، الجديري، الزكام، الربو واضطرابات الجهاز الدوراني [2].

كما ذكر سابقاً، فإن هذا النوع ينتمي للجنس *Crocus*، وتشير الدراسات إلى كون مياسم أزهار هذا الجنس تحتوي بشكل رئيسي على ثلاث مركبات فعالة هي الكروسين *Crocin*، البيكروكروسين *Picrocrocin*، والسافرنال *Safranal*، المسؤولة عن اللون والطعم والرائحة بالترتيب [34].

للبيكروكروسين تأثير مهدئ ضد التشنجات [9]، ومستخلصات الكروسين لها استخدامات في معالجة أمراض الجهاز الدوراني وجهاز التنفس [3]. ويعتبر الكروسين أيضاً مضاد أكسدة يعمل ضد إجهادات الأكسدة في الخلايا العصبية [16].

بالإضافة للتأثير الإيجابي للمستخلص المائي للزعفران عند المرضى الذين يعانون من الربو التحسسي [11]، كما نشر [12] أن مستخلصات الزعفران استخدمت ضد أنواع مختلفة من الأورام والسرطانات منذ العصور القديمة، وأظهرت بعض الأبحاث أن الزعفران يمكن أن يكون ذو تأثير إيجابي محتمل ضد السرطان [2].

كما أن لمستخلص الزعفران أو مركباته الفعالة (الكروسين، البيكروكروسين) تأثيراً إيجابياً في علاج اضطرابات الجهاز العصبي المصاحبة لتلف الذاكرة [35].
تستخدم تقانة زراعة الأنسجة النباتية كطريقة بديلة عن الطرائق التقليدية في إكثار النباتات صعبة الاكثار، إلى جانب دورها في التحسين الوراثي للنباتات، وبالتالي زيادة الإنتاج كماً ونوعاً.

ويعد تطبيق هذه التقانة في النباتات أحاديات الفلقة أكثر صعوبة مقارنة بالنباتات ثنائيات الفلقة، كما أنها أكثر صعوبة في الفصيلة السوسنية والتي يتبع لها الزعفران [24].
تعد مرحلة الزراعة الأولية (التأسيسية) أولى مراحل الزراعة النسيجية وتهدف إلى الحصول على عينات خالية من التلوث وقادرة على النمو، وفي هذه المرحلة تحديداً فإن عملية التطهير السطحي للأجزاء النباتية المستخدمة في الزراعة الأولية هي أولى وأهم الخطوات التي يتوقف عليها نجاح أو فشل الزراعة النسيجية [1]. يتوقف نجاح التطهير السطحي على عدة عوامل منها الجزء النباتي المراد تطهيره، فالتلوث مشكلة حقيقية خطيرة تواجه الإكثار الخضري الدقيق لأحاديات الفلقة وخصوصاً في حال استخدمت أجزاء أرضية كالأبصال مصدراً للخرعات النباتية المستخدمة في مرحلة الزراعة الأولية [24].
كما يعتمد نجاح التطهير على نوع وتركيز المادة المستخدمة في التطهير، والزمن اللازم للتطهير [1]، وتستخدم عادة مادة هيبوكلوريت الصوديوم NaOCl نظراً لفاعليتها في عمليات التطهير السطحي في العديد من النباتات المزروعة مخبرياً [28].

تختلف قدرة النباتات على تكوين الكالوس والكالوس الجنيني باختلاف النوع النباتي والطرز والتركيب الوراثي واختلاف عمر ومصدر الخزعة النباتية [6]، وتتأثر هذه العملية باختلاف تركيب الوسط الغذائي ودرجة الحرارة والإضاءة، إذ تعتبر هذه العوامل من الشروط الأساسية لنجاح تشكل مزارع الكالوس [7].

لقد تم استحداث الكالوس والكالوس الجنيني عند الزعفران باستخدام خزع نباتية متنوعة مثل أنسجة الكورمة على وسط LS المضاف له 2×10^{-5} من البنزويل أدنين BA و 2×10^{-5} من نفتالين أسيتك أسيد NAA [4]، البراعم القمية والبراعم الجانبية على وسط LS المضاف له 4 مغ. ل⁻¹ NAA و 4 مغ. ل⁻¹ BA [15]، المبيض ومختلف

تأثير استخدام تراكيز مختلفة من الأوكسين والسيبتوكينين في استحداث الكالوس والكالوس الجنيني
(*Crocus aleppicus* B. في الزعفران الحلبي)

الأعضاء الزهرية على وسط MS المضاف له ($5.4-0.5 \mu\text{M}$ نفتالين أستيك أسيد +NAA $22.2-8.9 \mu\text{M}$ +BAP $23.2-9.3 \mu\text{M}$ كينيتين KN) [27]، بالإضافة إلى قواعد الأوراق على وسط MS (سكروز 5%) المضاف له 4 مغ. ل^{-1} NAA + 4 مغ. ل⁻¹ TDZ [29].

بينت الأبحاث التي تمت على بعض النباتات أحادية الفلقة (الذرة البيضاء *Sorghum bicolor* L.) أن للأوكسين داي كلوروفينوكسي حمض الخل 2,4-D الدور الأهم في استحداث الكالوس، وتكوين الكالوس الجنيني [13]، وتبين أن زيادة تركيز 2,4-D يعزز تشكيل الكالوس ولكنه يثبط ويعيق تشكيل النموات عند الزعفران *Crocus sativus* L. [24]. في حين تؤدي التراكيز العالية جداً من 2,4-D عند زراعة جنين القمح إلى إعطاء كالوس غير مرغوب فيه وطري، وتؤثر سلباً في معدل تجديد النبات [20].

يؤثر الأوكسين وبالمشاركة مع السيبتوكينينات المستخدمة في الوسط المغذي بشكل كبير في استحداث الكالوس وأيضاً في نضج الأجنة الجسمية [5]، وقد بين بعض الباحثين [26] أن انخفاض نسبة الأوكسين إلى السيبتوكينين تعتبر ضرورية لاستحداث الكالوس الجنيني في ورد الشاي الهجين.

بيّنت دراسة أجريت لاستحداث الكالوس من البراعم القمية لنبات الزعفران المغربي أن الوسط المغذي MS المضاف إليه 1 مغ. ل^{-1} من 2,4-D و 1 مغ. ل^{-1} من 6-BAP كان الأمثل لاستحداث الكالوس بقيمة بلغت 85.42%، متفوقاً على باقي المعاملات الهرمونية (معاملة الشاهد بدون هرمونات نباتية، 0.25 مغ. ل^{-1} من 2,4-D + 1 مغ. ل^{-1} من 6-BAP، 0.1 مغ. ل^{-1} من 2,4-D + 1 مغ. ل^{-1} من 6-BAP، 0.25 مغ. ل^{-1} من 2,4-D + 0 مغ. ل^{-1} من 6-BAP) [18].

تطرفت بعض الدراسات إلى استجابة الخرز النباتية من الخلايا الميرستيمية القمية والجانبية لكورمة الزعفران لتحريض استحداث الكالوس من النسيج الميرستيمي وتشكيل الأجنة الجسمية، ووجدت أن الخلايا الميرستيمية القمية أنتجت الكالوس الأعلى جودة مقارنةً مع الخلايا الميرستيمية الجانبية [32].

يؤثر التركيب الوراثي للخرز النباتية المختلفة والطراز الوراثي في كفاءة تكون الكالوس الجنيني من الكالوس، الأمر الذي يعزى الى تفاوت مستوى الهرمونات النباتية الداخلية وخصوصاً السيتوكينينات حيث يمكن أن يؤثر ذلك في استجابتها لاستحداث الكالوس وتكوين الأجنة الخضرية [17].

مبررات البحث: Research Justifications:

يُعد الزعفران الحلبي *C. aleppicus* أحد أهم الأنواع البرية والطبية المنتشرة في سوريا ونظراً لقلّة الأبحاث حول هذا النوع، إضافة إلى النقص الحاد في كورمات هذا النوع البري وتدهوره مما يجعله من الأنواع المهددة بالانقراض إضافة إلى معدلات الإكثار المنخفضة جداً، كما أن استحداث الكالوس والكالوس الجنيني ضروري لفهم العمليات الفيزيولوجية والبيوكيميائية والوراثية التي تحدث في النبات.

لذا هدف البحث إلى:

1. تحديد التركيز الأمثل والفترة الزمنية المناسبة من محلول هيبوكلووريت الصوديوم في التطهير السطحي للخرزات النباتية لنبات الزعفران الحلبي *C. aleppicus*.
2. تحديد التراكيز المثلى من المزيج الهرموني لبعض منظمات النمو النباتية (D-2.4+ BAP-6) لاستحداث الكالوس والكالوس الجنيني عند النوع *C. aleppicus*.

مواد البحث وطرائقه Materials and Methods:

نُفذ البحث في مخبر التقانات الحيوية النباتية التابع للهيئة العامة للتقانة الحيوية في دمشق وفي مخابر كلية الزراعة بجامعة دمشق خلال الأعوام 2018 - 2019، حيث استعمل في تنفيذ هذا البحث النوع البري للزعفران الحلبي *C. aleppicus*. تم تطهير الكورمات بالكحول الإيثيلي (70%) مدة دقيقة واحدة مع التحريك، ثم عوملت بمحلول هيبوكلووريت الصوديوم (NaOCl) بتراكيز مختلفة (0، 1، 2، 3، 4، 5%) لمدة 15 أو 30 دقيقة، ثم غُسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات متتالية بمعدل 5، 10، 15 دقائق.

زُرعت العينات النباتية في وسط MS [23] المضاف له 30 غ.ل⁻¹ سكروز و 7 غ.ل⁻¹ آجار وضبطت درجة الحموضة (pH) 5.8.

تمّ في مرحلة استحداث الكالوس وتشكل الكالوس الجنيني زراعة البراعم الجانبية والقمية من الكورمات على الوسط المغذي MS المضاف إليه تراكيز مختلفة من منظمي النمو الأوكسين 2،4 دي كلوروفينوكسي أسيتيك أسيد (2,4-D) (0، 0.25، 0.5، 1، 1.5، 2 مغ.ل⁻¹)، والسيبتوكينين Benzyl amino purine (BAP-6) (0، 0.25، 0.5، 1، 1.5، 2 مغ.ل⁻¹). وحضّنت في الظلام بشكل كامل على درجة حرارة 24±1م°، ورطوبة نسبية 70%، وتم نقل الكالوس إلى أنابيب أخرى تحوي نفس الوسط السابق بمعدل مرة كل ثلاثة أسابيع، و بعد 50-60 يوم تمّ تحديد التركيز الأمثل من المزيج الهرموني 2,4-D و BAP-6 مع الخزعة الأفضل من خلال دراسة نسبة استحداث الكالوس وبعد 90-120 يوم للكالوس الجنيني.

التصميم التجريبي والتحليل الإحصائي:

صُممت التجربة وفق التصميم العشوائي التام (CRD)، وحُللت النتائج باستخدام برنامج XLSTAT. 2018 وأجري تحليل التباين (Two way ANOVA) باستخدام اختبار Fisher، حيث تم مقارنة المتوسطات وحساب قيمة أقل فرق معنوي LSD عند مستوى ثقة 99%.

النتائج والمناقشة Results and Discussion:

1. المرحلة التأسيسية (التطهير السطحي) (Surface disinfection):

يلاحظ من الجدول (1) أن تركيز 5% من هيبوكلوريت الصوديوم لمدة 30 دقيقة هو الأفضل معنوياً (96.19%) مقارنة مع التراكيز الأخرى المستخدمة، في حين لوحظ إصابة جميع العينات المزروعة بالمسببات المرضية عند غياب هيبوكلوريت الصوديوم نهائياً. وفيما يخص التفاعل بين تركيز هيبوكلوريت الصوديوم المستخدم وزمن التطهير، فقد تفوّق التركيز (5%) لمدة 30 دقيقة معنوياً على باقي المعاملات.

الجدول (1): تأثير التراكيز المختلفة من هيبوكلوريت الصوديوم وزمن التطهير في نسبة العينات السليمة

نسبة العينات السليمة (%)	الزمن (دقيقة)	تركيز NaOCl
<i>Crocus aleppicus</i>		
0.00 ^h	15	0
0.00 ^h	30	0
5.39 ^g	15	1
26.06 ^f	30	1
24.92 ^f	15	2
48.25 ^e	30	2
56.59 ^d	15	3
71.29 ^c	30	3
67.26 ^c	15	4
83.33 ^b	30	4
84.96 ^b	15	5
96.19 ^a	30	5
39.54 ^B	15	فترة التطهير
54.16 ^A	30	
0.00 ^F	0	التركيز
15.73 ^E	%1	
36.58 ^D	%2	
62.89 ^C	%3	
75.30 ^B	%4	
90.58 ^A	%5	
LSD _(0.01) نسبة العينات السليمة (%)	المتغير	
7.24	تركيز هيبوكلوريت الصوديوم	
14.40	زمن التطهير	
5.23	تفاعل زمن التطهير وتركيز هيبوكلوريت الصوديوم	

* يشير اختلاف الأحرف الصغيرة إلى وجود فروق معنوية بين معاملات التفاعل، واختلاف الأحرف الكبيرة إلى وجود فروق معنوية بين المتوسطات عند مستوى ثقة 99%.

2. مرحلة استحداث الكالوس:

بدأ الكالوس بالظهور بعد 50 إلى 65 يوم من زراعة الخزعات النباتية على وسط الاستحداث، وتكون الكالوس الجنيني بعد 90-120 يوم من الزراعة، حيث سجلت كل من قراءات نسبة تشكل الكالوس والكالوس الجنيني.

2.1. تأثير التراكيز المختلفة من المزائج الهرمونية من الأوكسين 2,4-D والسيبتوكينين 6-BAP النباتية في نسبة استحداث الكالوس في الزعفران الحلبي *Crocus aleppicus* B.:

يلاحظ من الجدول (2) وجود فروق معنوية في نسبة استحداث الكالوس بين نوعي الخزعة النباتية (البرعم القمي والبرعم الجانبي) وكذلك وجود فروق معنوية بين المعاملات (المزائج الهرمونية).

فبالنسبة لاستحداث الكالوس من البراعم القمية في حالة الشاهد (عدم استخدام أي مزيج هرموني) لم ينتج كالوس (0.00%)، أما في حالة المزائج الهرمونية المختلفة فقد نتج الكالوس بنسبٍ اختلفت باختلاف المزيج الهرموني وبفروقٍ معنوية مع الشاهد كان أعلاها في المعاملة (11) (95.00%)، في حين كان أقلها في المعاملة (8) (21.67%).

أما بالنسبة لاستحداث الكالوس من البراعم الجانبية، فقد فشلت البراعم الجانبية في إعطاء كالوس عندما لم يحتوِ وسط الزراعة على أي هرمون (الشاهد) (0.00%).

أما في حالة استخدام المزائج الهرمونية، فلوحظ إعطاء كالوس بنسبٍ اختلفت باختلاف المزيج الهرموني وبفروقٍ لم تكن معنوية في بعضها (1، 5، 8، 9، 10، 16، 19، 20) بالمقارنة مع الشاهد، في حين كانت الفروق معنوية مع بقية المعاملات وبحيث كان أعلاها في المعاملة (11) (37.50%).

الجدول (2) تأثير نوع الخزعة النباتية وتركيز المزائج الهرمونية من الأوكسين 2,4-D والسيتوكينين 6-BAP في نسبة استحداث الكالوس في نبات الزعفران الحلبي (*Crocus aleppicus* B.)

نسبة استحداث الكالوس %			المعاملات		رقم المعاملة
الخبزعة النباتية			6-BAP مغ. ل ⁻¹	2,4-D مغ. ل ⁻¹	
متوسط المعاملات	البرعم الجانبي	البرعم القمي			
0.00 ^F	0.00 ^h	0.00 ^j	0	0	0
20.00 ^{EF}	13.33 ^{cdefgh}	26.67 ^{hi}	0.25	0.25	1
38.96 ^{BCDE}	17.50 ^{cdefg}	60.41 ^{def}	0.25	0.5	2
45.00 ^{ABCD}	21.2 ^{abcde}	68.75 ^{de}	0.25	1	3
35.42 ^{CDE}	20.83 ^{bcd}	44.99 ^{efg}	0.25	1.5	4
27.08 ^{CDE}	12.50 ^{defgh}	41.66 ^{fghi}	0.25	2	5
59.58 ^{AB}	29.17 ^{abc}	90.00 ^{abc}	0.5	0.25	6
48.33 ^{ABC}	23.75 ^{abcde}	72.92 ^{bcd}	0.5	0.5	7
18.12 ^{EF}	14.58 ^{cdefgh}	21.67 ⁱ	0.5	1	8
33.75 ^{CDE}	11.25 ^{efgh}	56.25 ^{defg}	0.5	1.5	9
25.41 ^{CDE}	8.33 ^{fgh}	42.50 ^{fghi}	0.5	2	10
66.25 ^A	37.50 ^a	95.00 ^a	1	0.25	11
40.00 ^{BCDE}	25.83 ^{abcde}	54.16 ^{defg}	1	0.5	12
63.96 ^A	34.17 ^{ab}	93.75 ^{ab}	1	1	13
45.62 ^{ABCD}	24.58 ^{abcde}	66.67 ^{de}	1	1.5	14
31.67 ^{CDE}	19.58 ^{bcd}	43.75 ^{fgh}	1	2	15
23.75 ^{DEF}	10.00 ^{efgh}	37.50 ^{ghi}	2	0.25	16
36.24 ^{BCDE}	22.50 ^{abcde}	50.00 ^{efg}	2	0.5	17
48.54 ^{ABC}	27.92 ^{abcd}	69.17 ^{cde}	2	1	18
37.29 ^{BCDE}	16.25 ^{cdefgh}	58.33 ^{defg}	2	1.5	19
24.79 ^{CDE}	6.25 ^{gh}	43.33 ^{fgh}	2	2	20
-	18.91 ^B	54.40 ^A	المتوسط		
LSD 0.01 (%) نسبة استحداث الكالوس			المتغير		
23.86			المعاملة 6-BAP+ 2,4-D		
6.42			الخبزعة		
20.91			تفاعل 6-BAP+ 2,4-D البرعم القمي		
16.40			تفاعل 6-BAP-2,4-D البرعم الجانبي		

* يشير اختلاف الأحرف الكبيرة في السطر الواحد بالنسبة لنوعي الخزعة وفي العمود الواحد بالنسبة لتراكيز المزائج الهرمونية (6-BAP+2,4-D) واختلاف الأحرف الصغيرة في الأعمدة بالنسبة للتفاعل بين نوعي الخزعة وتركيز المزائج الهرمونية (6-BAP+2,4-D) إلى وجود فروق معنوية عند مستوى ثقة 99%.

تأثير استخدام تراكيز مختلفة من الأوكسين والسيبتوكينين في استحداث الكالوس والكالوس الجيني
(*Crocus aleppicus* B. في الزعفران الحلبي)

بينت العديد من الأبحاث أن للأوكسين 2,4-D دوراً أساسياً في استحداث وتطور الكالوس، وخاصة عند الأنواع النباتية أحادية الفلقة [13] حيث أن زيادة استحداث الكالوس بوجود الأوكسين 2,4-D ناجم عن دوره في تشجيع الانقسام الخلوي الميتوزي، إذ يعمل الأوكسين على زيادة معدل اصطناع الأحماض النووية، ويساهم في تنشيط اصطناع البروتينات، كما يساهم الأوكسين في تنشيط عمل الأنزيمات التي تعمل على تنشيط التفاعلات الكيميائية اللازمة لتأمين المواد الضرورية للانقسام الخلوي مثل تنشيط عمل أنزيم RNA polymerase [21] والاستطالة الخلوية وزيادة النمو، فالأوكسين يسرع الدورة الخلوية وتشكيل بنى الكالوس [31].

كما تلعب السيبتوكينينات دوراً هاماً في النمو النباتي فهي تؤثر كعامل محفز في العديد من المظاهر الفيزيولوجية في النبات مثل الانقسام الخلوي حيث ينشط السيبتوكينين اصطناع البروتينات اللازمة للانقسام الخلوي ويشجع تكوين الأحماض النووية الدنا DNA والرنا RNA، وينشط عمل بعض الأنزيمات، كما تحفز السيبتوكينينات التبادل الشاردي عبر الأغشية الخلوية، وتؤثر في النفاذية الخلوية [1].

بينت الأبحاث وجود علاقة تآزرية بين الأوكسين 2,4-D والسيبتوكينين 6-BAP بتأثيرهما في الانقسام الخلوي واستحداث الكالوس حيث أن لوجود السيبتوكينين لوحده تأثير ضعيف في الانقسام الخلوي بينما يزداد الانقسام الخلوي بشكل كبير بوجود العلاقة التآزرية المتوازنة بين الأوكسين والسيبتوكينين في الوسط المغذي وبعد التفاعل بين السيبتوكينين والأوكسين الأكثر فعالية لاستحداث الكالوس [19].

يعود التباين في استحداث الكالوس عند النوع *C. aleppicus* لنوع الخزعة النباتية (البرعم القمي، البرعم الجانبي) حيث لا تستجيب جميع الأعضاء أو الخزعات النباتية المزروعة للنمو بنفس الدرجة ضمن النوع النباتي الواحد كذلك ضمن الأنواع النباتية المختلفة.

تعود أسباب اختلاف الاستجابة للنمو باختلاف الخزعات النباتية للتغيرات الحاصلة في الحالة الفيزيولوجية [30] ويؤثر التركيب الوراثي للخزعة النباتية في كفاءة استحداث

الكالوس والذي يعود إلى تفاوت مستوى الهرمونات النباتية الداخلية خصوصاً السيتوكينينات في الطرز الوراثية المختلفة [17].

ومن حيث صفة درجة الكالوس المتشكل (المظهر، والحجم، واللون، والقوام)، أظهرت البراعم القمية أعلى استجابة لوسط الاستحداث بالمقارنة مع البراعم الجانبية، حيث أن الخلايا الميرستيمية للقمّة النامية كانت الأسرع استجابة وأنتجت الكالوس الأعلى جودة بالمقارنة مع الخلايا الميرستيمية للبرعم الجانبي.

2.2. تأثير التراكيز المختلفة من المزائج الهرمونية من الأوكسين 2,4-D والسيتوكينين 6-BAP في نسبة تشكل الكالوس الجنيني في نبات الزعفران الحلبي (*Crocus aleppicus B.*):

يلاحظ من الجدول (3) وجود فروق معنوية بين نوعي الخزعة النباتية (برعم قمّي، برعم جانبي)، وكذلك بين المعاملات في نسبة تشكل الكالوس الجنيني.

فعند نقل زراعة البرعم القمي في وسط الشاهد الذي لا يحوي أي مزيج هرموني لم يتشكل الكالوس الجنيني إلا أن استخدام المزائج الهرمونية أدى لتشكيل الكالوس الجنيني بنسب تختلف باختلاف التراكيز المستخدمة من 2,4-D و 6-BAP، وبفروق معنوية في جميع المزائج الهرمونية بالمقارنة مع الشاهد باستثناء المزيج (8) الذي بلغت نسبة تشكل الكالوس الجنيني عنده 14.58% فقط، وبفروق غير معنوية بالمقارنة مع الشاهد (0.000%)، في حين أعطى المزيج الهرموني (11) أعلى نسبة لتشكيل الكالوس الجنيني من البرعم القمي (90.00%).

أما بالنسبة لتشكيل الكالوس الجنيني من البرعم الجانبي فقد فشل البرعم الجانبي في إعطاء كالوس جنيني في وسط الشاهد (عند غياب المزائج الهرمونية)، وكذلك لم يتمكن المزيج الهرموني (20) من دفع البرعم الجانبي لتشكيل كالوس جنيني، في حين أدت بقية المزائج الهرمونية لتشكيل كالوس جنيني ولكن بنسب اختلفت باختلاف المزيج الهرموني المستخدم في وسط الزراعة، وقد كانت الفروق معنوية فقط في المعاملات (6)، (11)، (12)، (13)، (18) حيث بلغت أعلى نسبة 29.17% في المعاملة (11)، ولم تكن معنوية في بقية المعاملات مقارنةً مع الشاهد.

تأثير استخدام تراكيز مختلفة من الأوكسين والسيبتوكينين في استحداث الكالوس والكالوس الجنيني
(*Crocus aleppicus* B. في الزعفران الحلبي)

الجدول (3) تأثير نوع الخزعة النباتية وتركيز المزانج الهرمونية من الأوكسين 2,4-D والسيبتوكينين 6-BAP في نسبة تشكل الكالوس الجنيني في الزعفران الحلبي (*Crocus aleppicus* B.

نسبة استحداث الكالوس الجنيني			المعاملات		رقم المعاملة
الخبزعة النباتية			6-BAP مغ. ل ⁻¹	2,4-D مغ. ل ⁻¹	
متوسط المعاملات	البرعم الجانبي	البرعم القمي			
0.00 ^F	0.00 ^d	0.00 ^h	0	0	0
16.46 ^{DEF}	10.00 ^{bcd}	22.92 ^{fg}	0.25	0.25	1
27.29 ^{CDE}	11.25 ^{abcd}	43.33 ^{cdef}	0.25	0.5	2
30.00 ^{CDE}	18.33 ^{abcd}	41.66 ^{cdef}	0.25	1	3
26.04 ^{CDE}	14.58 ^{abcd}	37.50 ^{def}	0.25	1.5	4
19.79 ^{DEF}	8.33 ^{bcd}	31.25 ^{efg}	0.25	2	5
43.12 ^{ABC}	22.92 ^{abc}	63.33 ^{bc}	0.5	0.25	6
31.67 ^{BCDE}	17.50 ^{abcd}	45.83 ^{cde}	0.5	0.5	7
13.95 ^{EF}	13.33 ^{abcd}	14.58 ^{gh}	0.5	1	8
25.40 ^{CDE}	12.50 ^{abcd}	38.32 ^{def}	0.5	1.5	9
20.20 ^{DEF}	6.25 ^{bcd}	34.17 ^{defg}	0.5	2	10
59.58 ^A	29.17 ^a	90.00 ^a	1	0.25	11
30.21 ^{CDE}	20.83 ^{abc}	39.58 ^{def}	1	0.5	12
51.87 ^{AB}	24.58 ^{ab}	79.16 ^{ab}	1	1	13
32.08 ^{BCDE}	16.25 ^{abcd}	47.92 ^{cde}	1	1.5	14
22.08 ^{DE}	15.00 ^{abcd}	29.16 ^{efg}	1	2	15
17.92 ^{DEF}	9.17 ^{bcd}	26.67 ^{efg}	2	0.25	16
27.08 ^{CDE}	18.75 ^{abcd}	35.42 ^{defg}	2	0.5	17
36.67 ^{BCD}	19.58 ^{abc}	53.75 ^{cd}	2	1	18
20.83 ^{DE}	5.00 ^{cd}	36.66 ^{defg}	2	1.5	19
15.00 ^{EF}	0.00 ^d	30.00 ^{efg}	2	2	20
-	13.97 ^B	40.06 ^A	المتوسط		
LSD _{0.01} نسبة استحداث الكالوس الجنيني (%)			المتغير		
20.63			المعاملة 6-BAP+ 2,4-D		
5.96			الخبزعة		
22.11			تفاعل 6-BAP+ 2,4-D والبرعم القمي		
19.10			تفاعل 6-BAP+ 2,4-D والبرعم الجانبي		

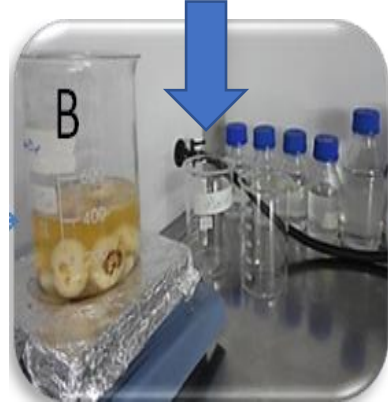
*يشير اختلاف الأحرف الكبيرة في السطر الواحد بالنسبة لنوعي الخزعة وفي العمود الواحد بالنسبة لتراكيز المزانج الهرمونية (6-BAP+2,4-D) واختلاف الأحرف الصغيرة في الأعمدة والأسطر بالنسبة للتفاعل بين نوعي الخزعة وتركيز المزانج الهرمونية (6-BAP+2,4-D) إلى وجود فروق معنوية عند مستوى ثقة 99%.

يلعب نوع الجزء أو النسيج النباتي المزروع والحالة الفسيولوجية والطرز الوراثي دوراً أساسياً ومحددًا لمدى الاستجابة للزراعة النسيجية لاستحداث الكالوس وإمكانية الحصول على الأجنة الخضرية [24]، وهذا يتوافق مع ما توصلنا إليه فقد لوحظ أن البراعم القمية أكثر استجابة لاستحداث الكالوس الجنيني بالمقارنة مع البراعم الجانبية، ويعود اختلاف الخزعات في استجابتها في كفاءة استحداث الكالوس الجنيني إلى التباين الوراثي فيما بينها، وهذا يتوافق مع [17] الذي أكد على أن التركيب الوراثي للخزعة النباتية المختلفة والطرز الوراثية المختلفة تؤثر في كفاءة استحداث الكالوس وتكون الأجنة الخضرية، والذي يرجع إلى تفاوت مستوى الهرمونات النباتية الداخلية وخصوصاً السيتوكينينات.

تشير نتائجنا إلى أهمية وجود الأوكسين 2,4-D في وسط استحداث الكالوس لتشجيع تشكل الكالوس الجنيني، لكن حتى مستوى معين، وهذا يتفق مع ما توصلت إليه بعض الأبحاث مثل [20] حيث أكد أن زيادة تركيز 2,4-D عن 0.25 مغ. ل⁻¹ تؤثر سلباً في نسبة تشكل الكالوس الجنيني وتعطي كالوس غير مرغوب فيه وطري وتؤدي إلى تشكل الكالوس غير الجنيني، كما تؤثر سلباً في معدل تجديد النبات. وكذلك أكد بالمقابل أن وجود تركيز منخفض جداً من 2,4-D يؤثر سلباً في نسبة الكالوس الجنيني. يدل ذلك على أهمية ضبط تركيز الأوكسين 2,4-D في وسط الاستحداث.

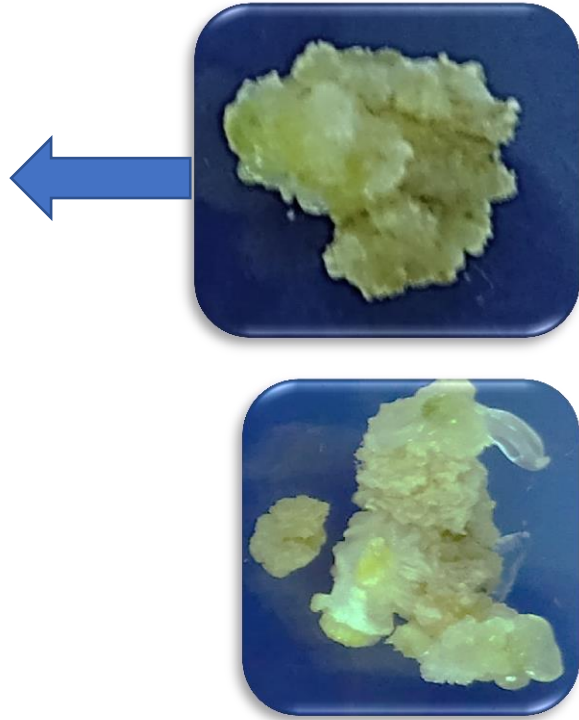
كما تشير نتائجنا إلى ضرورة استخدام المزيج الهرموني 2,4-D + 6-BAP ولكن ضمن تراكيز محددة لكل منهما لتشجيع تشكل الكالوس الجنيني، وهذا يتوافق مع [5]، ويظهر الشكل (2) تشكل الكالوس والكالوس الجنيني مخبرياً عند الزعفران الحلبي:

تأثير استخدام تراكيز مختلفة من الأوكسين والسيتوكينين في استحداث الكالوس والكالوس الجنيني
(*Crocus aleppicus* B. في الزعفران الحلبي)



1

2



4

3

1: مرحلة تعقيم الكورمات، 2: الكورمات بعد التعقيم، 3: الكالوس، 4: الكالوس الجنيني

الشكل (2): تطهير الكورمات وتكوين الكالوس والكالوس الجنيني عند الزعفران الحلي

الاستنتاجات:

خلص البحث إلى النتائج التالية:

- 1- تُعد عملية تطهير الخزعات النباتية بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم (NaOCl) 5% مدّة 30 دقيقة فعّالة في الحد من نمو المسببات المرضية التي يمكن أن تؤثر سلباً في نمو الخزعات النباتية عند الزراعة في الزجاج.
- 2- تتحدد نسبة استحداث الكالوس والكالوس الجنيني بشكلٍ رئيسٍ بوجود المركب 2,4-D وتآزره مع السيتوكينين 6-BAP وتتأثر بنوع الخزعة (البرعم القمي،

تأثير استخدام تراكيز مختلفة من الأوكسين والسيبتوكينين في استحداث الكالوس والكالوس الجنيني
(*Crocus aleppicus* B. في الزعفران الحلبي)

البرعم الجانبي)، حيث كانت البراعم القمية أكثر استجابة لاستحداث الكالوس والكالوس الجنيني من الطرفية.

المقترحات:

للحصول على أعلى نسبة لاستحداث الكالوس والكالوس الجنيني عند زراعة الزعفران الحلبي *Crocus aleppicus* B. باستخدام تقانة زراعة الأنسجة النباتية، تزرع البراعم القمية في وسط يحوي الزيج الهرموني 0.25 مغ.ل⁻¹ + 1 مغ.ل⁻¹ -6 .BAP

المراجع:

1. AL-MAARI, K. 1995. Palm propagation by plant tissue culture. King Faisal University, Saudi Arabia, pages 77-96 (In Arabic).
2. ABDULLAEV, F.I. and ESPINOSA-AGUIRRE, J.J. 2003. Biomedical properties of saffron and its potential use in cancer therapy and chemoprevention trials, Cancer detect pre. v. 28:246-432.
3. ABE, K. and SAITO, H. 2000. Effects of saffron extract and its constituent crocin on learning behaviour and long-term potentiation. Phytother Res., v. 14 (3):49-52.
4. AHUJA, A., KOUJ, S., RAM, G., and KaUL, B.L. 1994. Somatic embryogenesis and regeneration of plantlets in saffron, Crocus sativus L., Indian J. Exp. Biol, Vol. 32. 135-140.
5. DEVI, K., SHARMA, M., SINGH, M. and AHUJA, P.S. 2011. In vitro cormlet production and growth evaluation under greenhouse conditions in saffron (Crocus sativus L.) – A commercially important crop: Engin. Life Sci., Vol. 11(1).1-6.
6. EBRAHIMZADEH, H., KARAMIAN, R., NOORI-DALOOI, MR. 2000. Somatic embryogenesis and regeneration of plantlet in saffron, Crocus sativus L. Journal of Science Islamic Republic of Iran, Vol.11(3), 169-173.
7. EVAN, D.E., COLEMAN, J.O.D and KEARNS, A. 2003. Role of callus embryogenesis, and cell culture. Oxford Brookes University Oxford, UK Bios scientific Publishers, PP. 64-65.
8. EVANS, D.A., SHARP, W.R., AMMIRATO, P.V. and YAMADA, Y. 1983- Handbook of Plant Cell Culture: Techniques for Propagation and Breeding, Vol.1. New York: MacMillan Publishing Company.
9. GIACCIO, M., 1990. Components and features of saffron. Proceedings of the International Conference on Saffron, L'Aquila, 135-148.

10. GOLDBLATT, P., RODRIGUEZ, A., POWELL, MP., DAVIES, TJ., MANNING, JC., VAN DER BANK, M. and SAVOLAINEN, V. 2008. 'Iridaceae out of Australasia'? Phylogeny, biogeography, and divergence time based on plastid DNA sequences. Systematic Botany, Vol. 33. 495-508.
11. HAGGAG, E.G., ABOU-MOUSTAFA, M.A., Boucher, W. and Theoharides, T.C., 2003. The effect of a herbal water extract on histamine release from mast cells and on allergic asthma. J. Herb. Pharmacother. 3, 41-54.
12. HARTWELL, J.L., 1982. Plants used against cancer. A survey, Quaterman Publications, Lawrence, 284 p.
13. JOGESWAR, G., RANADHEER, D., ANJIAH, V. and KISHOR, P.B.K. 2007. High frequency somatic embryogenesis and regeneration in different genotypes of *Sorghum bicolor* (L.) Moench from immature inflorescence explants. In vitro Cell Dev. Biol. Plant, Vol.43. 159-166.
14. Kandemir, N., Celik, A. and Yayla, F. 2012. Comparative anatomic and ecologic investigation on some endemic *Crocus* Taxa (*Iridaceae*) in Turkey. Pak. J. Bot., Vol.44(3). 1065-1074.
15. KARAMIAN, R., 2014. Plantlet Regeneration Via Somatic Emryogenesis In Four Species of *Crocus* International Symposium on Saffron Biology and Biotechnology. ISHS Acta Horticulturae 650.
16. KARIMI, G., HOSSEINZADEH, H. and KHALEGHPANAH, P. 2001. Study of antidepressant effect of aqueous and ethanolic of *Crocus sativus* in mice. Iranian J. Basic. Med. Sci., v. 4: 11-15.
17. KIM, Y.J., PARK, T., KIM, H.S., PARK, H.K., CHON, S.U. and YUN, S.J. 2004. Factors affecting somatic embryogenesis from immature cotyledon of soybean. Journal of Plant Biotechnology, Vol. 6. 45-50.
18. LAGRAM, Kh., BEN El CAID, M., El AAOUAM, S., LACHHEB, M., El MOUSADIK, A. and SERGHINI, M.A. 2016. *In vitro* shoot regeneration and Development of

- Microcorms of Moroccan Saffron (*Crocus sativus* L.). Atlas journal of plant Biology. ISSN 1949-1379.
19. MASTUTI, R. MUNAWARTI, A. and FIRDIANA, E.R. 2017. The combination effect of auxin and cytokinin on *in vitro* callus formation of *Physalis angulata* L. – A medicinal plant. AIP Conference Proceedings 1908, 040007 (2017); <https://doi.org/10.1063/1.5012721>.
 20. MENDOZA, M. G. and KAEPLER, H. F. 2002. Auxin and sugar effects on callus induction and plant regeneration frequencies from mature embryos of wheat (*Triticum aestivum* L.). In Vitro Cell Dev. Biol. Plant, Vol. 38. 39-45.
 21. MOREL, G., MATIN, C. and MULLER, C. 1968. Laguerison des pommes De terre atteintes irus. de a virus. Ann. Physiol., Veg., Vol.10(2). 113-139.
 22. MOUTERDE, P. 1966- Nouvelle flore du Liban et de la Syrie. 3 Tome + Atlas: DAR El Mashreq, Beyrouth, Liban. 563 p. (in French).
 23. MURASHIGE, T. and SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum, Vol.15. 473-495.
 24. MUSHTAQ, A., Gul, Z., MEHFUZA, H., AMEEQUE, A., DAR, N. A. and DAR, Z. A. 2014. Saffron (*Crocus sativus* L.) in the light of biotechnological approaches. Academic journals. Vol.9(2): 2348-2353.
 25. NEGBI, M., DAGAN, B., DROR, A. and BASKER, D. 1989. Growth, flowering, vegetative reproduction and dormancy in the saffron crocus (*Crocus sativus* L.), Israel J. Bot., 38: 95-113.
 26. NORIEGA, C. and SÖNDAHL, MR .1992. Somatic embryogenesis in hybrid tea roses. Biotechnology, Vol.9: 991–993.
 27. OTSUKA, M., SAIMOTO, H.S., MURATA, Y. and KAWASHIMA, M. 1992. Method for producing saffron stigma-like tissue. United States Patent.
 28. PEVALEK, k.B. and JELASKA, S. 1987. Microclonal propagation of *prunus avium*. Acta Hort., Vol 212. 599-601.

29. SANDEEP, K. V., ASHOK, K. D., GUNCE, S. C., EMEL, U. and EkREM, G. 2016. Influence of nutrient media on callus induction, somatic embryogenesis and plant regeneration in selected Turkish crocus specie. Biotechnology Reports, Vol. 10. 66–74.
30. SHARAFZADEH, Sh. 2012. *In vitro* callus induction in saffron leaves. International Journal of Pharma and Bio Sciences. Vol 3/Issue 1.
31. STALE, H. and LNZE, D. 2001. When plant cells decide to divide. Trends in Plant Science. Vole16.
32. VAHEDI, M., KALANTARI, S. and SALAMI, S. A. 2014. Factors Affecting Callus Induction and Organogenesis in Saffron (*Crocus sativus* L.). Plant Tissue Cult. & Biotech. Vol. 24(1). 1-9.
33. VURDU, H. and GÜNEY, K. 2004. Safran Kırmızı Altın. Gazi Üniversitesi Kastamonu Orman Fakültesi Yayınları, 36 p (in Turkish).
34. YILDIRIM, E. 2007. Development of *in vitro* micro propagation techniques for saffron (*Crocus Sativus* L.). Plant Cell Tiss. Org. Cult., v. 11: 159-166.
35. ZHANG, Y., SHOYAMA, Y., SUGIURA, M. and SAITO, H., 1994. Effects of *Crocus sativus* L. on the ethanol-induced impairment of passive avoidance performances in mice. Biol. Pharm. Bull.17: 217-221.