وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعـــة ديالى
كليــة التربيـــة للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

انتاج الثايمول ومشتقاته في نبات الحبة السوداء *Nigella sativa* L0 خارج وداخل الجسم الحي.

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير

في علوم الحياة ، علم النبات

من قبل

تحسين علي ابراهيم العبطان

بإشراف

أ0د وسام مالك داود
أ0م0د إياد عاصي عبيد

1434 هـ
2013 م

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿فَلْيَنْظُرِ الْإِنْسَانُ إِلَى طَعَامِهِ (24) أَنَّا صَبَبْنَا الْمَاءَ صَبًّا (25) ثُمَّ شَقَقْنَا الْأَرْضَ شَقًّا (26) فَأَنْبَتْنَا فِيهَا حَبًّا (27) وَعِنَبًا وَقَضْبًا (28) وَزَيْتُونًا وَنَخْلًا (29) وَحَدَائِقَ غُلْبًا (30) وَفَاكِهَةً وَأَبًّا (31) مَتَاعًا لَكُمْ وَلِأَنْعَامِكُمْ (32) ﴾

صدق الله العظيم

سورة عبس

الآيات (24-32)

المحتويات

ت	الموضوع	رقم الصفحة
	الآية القرآنية 0	-
	الخلاصة 0	أ - ب
	قائمة المحتويات 0	ت - ج
	قائمة الجداول 0	ح - د
	قائمة الاشكال0	ذ - ر
	قائمة الملاحق 0	ز
1 -	المقدمة 0	1
2-	استعراض المراجع0	3
2-1	الحبة السوداء ***Nigella sativa*** L.	3
2-2	المحتوى الكيميائي لبذور نبات الحبة السوداء 0	3
2-3	القيمة الطبية والعلاجية لنبات الحبة السوداء 0	4
2-4	المركبات الثانوية ذات الاستخدامات الطبية في نبات الحبة السوداء	6
2-5	زراعة الانسجة النباتية Plant tissue culture 0	8
2-6	تاثير الاوكسين والسايتوكاينين في نشوء الكالس ونموه 0	10
2-7	انتاج مركبات الايض الثانوي ذات الاستخدامات الطبية بالزراعة النسيجية 0	11
2-8	اثر حامضي الاسكوربك والسترك في انبات البذور ونمو بادرات الحبة السوداء 0	14
2-9	اثر الحديد المخلبي في نمو النبيتات النسيجية 0	16
2-10	اثر المجال المغناطيسي في نمو النبات 0	18
2-11	اثر المجال المغناطيسي في نمو الكالس وانتاج المركبات الفعالة 0	20
2-12	اثر حامضي الاسكوربك والسترك في تحسين نمو وحاصل نبات الحبة السوداء النامي في الحقل 0	22
2-12-1	حامض الاسكوربك 0	22
2-12-2	حامض السترك 0	23
3 -	المواد وطرائق العمل 0	25
3-1	تحضيرات التجارب المختبرية (الزراعة خارج الجسم الحي ***IN vitro***)	25
3-1-1	تعقيم البذور 0	25
3-1-2	تحضير الوسط الغذائي 0	26
3-1-3	تعقيم الادوات المستعملة 0	26

4-1-3	حساب النسبة المؤية وسرعة الانبات 0	28
2-3	التجارب والمعاملات 0	28
1-2-3	التجارب النسيجية 0	28
1-1-2-3	اثر نقع البذور بحامضي الاسكوربك والسترك في انبات البذور ونمو البادرات 0	28
2-1-2-3	اثر نوع الحديد المخلبي المستخدم في وسط MS في الانبات ونمو البادرات 0	29
3-1-2-3	اثر.Kin و2,4-D في نشوء الكالس ونموه 0	29
4-1-2-3	اثر نوع الحديد المخلبي في نشوء الكالس ونموه 0	30
5-1-2-3	تحديد منحنى نمو الرويشة والجذير لنبات الحبة السوداء 0	32
6-1-2-3	اثر المجال المغناطيسي في نمو كالس الحبة السوداء 0	32
2-2-3	التجارب الحقلية 0	33
1-2-2-3	اثر نقع البذور بحامضي الاسكوربك والسترك في الانبات ونمو بادرات الحبة السوداء 0	33
2-2-2-3	اثر الرش بحامضي الاسكوربك والسترك في نمو وحاصل نبات الحبة السوداء 0	33
3-3	التقدير الكمي والنوعي لمركبات الزيوت الفعالةمن النبات النامي في الحقل والكالس المعرض للمجال المغناطيسي 0	34
4-3	التصاميم التجريبية والتحاليل الاحصائية 0	35
4	النتائج والمناقشة 0	37
1-4	التجارب النسيجية 0	37
1-1-4	أثر النقع بحامضي الاسكوربك والسترك في انبات البذور ونمو بادرات الحبة السوداء 0	42-37
2-1-4	اثر مصدر الحديد المخلبي في انبات البذور ونمو بادرات الحبة السوداء	45-42
3-1-4	اثر اضافة .Kin و 2,4-D في نشوء الكالس من المجموع الخضري لبادرات الحبة السوداء 0	49-45
4-1-4	اثر اضافة .Kin و2,4-D في نشوء ونمو الكالس الناشئ من جذور بادرات الحبة السوداء 0	55-49
5-1-4	اثر نوع الحديد المخلبي المستعمل في نشوء الكالس ونموه لنبات الحبة السوداء 0	56-55
2-4	التجارب الحقلية 0	56
1-2-4	اثر النقع بحامضي الاسكوربك والسترك في انبات البذور و نمو البادرات	61-56

4-2-2	اثر الرش بحامضي الاسكوربك والسترك في نمو نبات الحبة السوداء المزروع في الحقل وحاصله0	61
4-2-2-1	اثر الرش بحامضي الاسكوربك والسترك في الصفات الخضرية والجذرية0	63-61
4-2-2-2	اثر الرش بحامضي الاسكوربك والسترك في الوزن الطري و الجاف للمجموع الخضري والجذري .	64-63
4-2-2-3	اثر الرش بحامضي الاسكوربك والسترك في حاصل نبات الحبة السوداء0	69-64
4-3	التقدير الكمي و النوعي لمركبات الزيوت الفعالة في الحبة السوداء0	69
4-3-1	منحنى نمو الكالس النامي من الرويشة و الجذير على وسط MS بعد مرور 36 يوما من الزراعة 0	72-69
4-3-2	أثر قطبية المجال المغناطيسي في نمو كالس الحبة السوداء 0	75-72
4-3-3	التقدير الكمي والنوعي لمركبات زيت الحبة السوداء في عينات النباتات النامية في الحقل و الكالس المعرض للمجال الغناطيسي 0	89-75
	الاستنتاجات 0	90
	التوصيات 0	91
	المصادر العربية 0	95-92
	المصادر الاجنبية 0	106-96
	الملاحق 0	108-107
	الخلاصة باللغة الانكليزية 0	
	العنوان باللغة الانكليزية 0	

قائمة الاشكال

رقم الشكل	عنوان الشكل	رقم الصفحة
1	بادرة نبات الحبة السوداء والاجزاء المستعملة منها للتجارب النسيجية	
2	مراحل التجارب النسيجية ابتداء من انبات البذور وانتهاء باستخلاص مركبات الزيوت الفعالة من كالس نبات الحبة السوداء 0	31
3	مراحل مختلفة من حياة نبات الحبة السوداء النامي في الحقل ابتداءا من بداية الانبات حتى اعطاء الحاصل 0	36
4	أثر نقع بذور الحبة السوداء بحامضي الأسكوربك والسترك في الصفات الخضرية للبادرات بعد مرور4 اسابيع من زراعة البذور على وسط MS الخالي مـــن منظمات النمو 0	42
5	اثر .kin و2,4-D في الوزن الطري للكالس الناشئ من المجموع الخضري لنبات الحبة السوداء بعد مرور45 يوما من الزراعة على وسط MS (A اكبركالس, B اصغر كالس) 0	48
6	اثر .kin و 2,4-D في الوزن الطري للكالس الناشئ من المجموع الجذري لنبات الحبة السوداء بعد مرور45 يوما من الزراعة على وسط MS 0	52
7	أثر نقع بذور الحبة السوداء بحامضي الأسكوربك والسترك في نمو البادرات بعد مرور 4 اسابيع من الزراعة في الحقل0	60
8	منحنى نمو الكالس (الوزن الطري) والناشئ من الرويشة والجذير والجذير بعد مرور 36 يوما من زراعة الكالس على وسط MS(1.5 ,Kin+2 2,4-D للرويشة,0.5 .Kin+2 2,4-D للجذير)0	71
9	منحنى نمو الكالس (الوزن الجاف) والناشئ من الرويشة والجذير والجذير بعد مرور 36 يوما من زراعة الكالس على وسط MS(1.5 ,Kin+2 2,4-D للرويشة,0.5 .Kin+2 2,4-Dللجذير)	71
10	تاثير قطبية المجال المغناطيسي في نمو كالس نبات الحبة السوداء بعد مرور 28 يوما من الزراعة على وسط MS مضاف له(1.5 .Kin + 2 2,4-D) ملغم/لتر0	73
11	تركيزمركب Thymoquinone مايكروغرام/مل للعينات المختلفة للحبة السوداء مقاس بجهاز HPLC 0	76

12	تركيزمركب Thymohydroquinone مايكروغرام/مل للعيناتالمختلفة للحبة السوداء مقاس بجهازHPLC 0	77
13	تركيزمركب Trans-anethole مايكروغرام/مل للعينات المختلفة للحبة السوداء مقاس بجهازHPLC 0	78
14	تركيز مركب Thymol مايكروغرام/مل للعينات المختلفة للحبة السوداء مقاس بجهازHPLC 0	79
15	كالس نبات الحبة السوداء معرض للمجال المغناطيسي بشدة 200 ملي تسلا لغرض انتاج مركبات الزيوت الفعالة	79
16	مركبات الزيوت الفعالة المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من عينة القياس لنبات الحبة السوداء.	81
17	مركبات الزيوت الفعالة المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من عينة الكالس غيرالمعرض للمجال المغناطيسي النامي على وسط MS المزود بمنظمي النموD-2,4+Kin لنبات الحبة السوداء.	82
18	مركبات الزيوت الفعالة المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من عينة الكالس المعرض للقطب الشمالي للمجال المغناطيسي النامي على وسط MS المزود بمنظمي النموD-2,4+Kin لنبات الحبة السوداء.	83
19	مركبات الزيوت الفعالة المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من عينة الكالس المعرض للقطب الجنوبي للمجال المغناطيسي النامي على وسط MSالمزود بمنظمي النموD-2,4+Kin لنبات الحبة السوداء.	84
20	مركبات الزيوت الفعالة المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من عينة الكالس المعرض للقطب الشمالي+القطب الجنوبي للمجال المغناطيسي النامي على وسط MSالمزود بمنظمي النموD-2,4+Kin لنبات الحبة السوداء.	85
21	مركبات الزيوت الفعالة المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من عينة الجذور لنبات الحبة السوداء النامية في الحقل0	86
22	مركبات الزيوت الفعالة المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من عينة الساق لنبات الحبة السوداء النامية في الحقل.	87
23	مركبات الزيوت الفعالة المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من عينة الازهار لنبات الحبة السوداء النامية في الحقل.	88
24	مركبات الزيوت الفعالة المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من عينة البذور لنبات الحبة السوداء النامية في الحقل.	89

قائمــة الملاحـق

رقم الملحق	عنوان الملحق	رقم الصفحة
1	اثر عمر الكالس (يوم) النامي من الرويشة والجذير بعد مرور 36 يوما من الزراعة على وسط MS	103
2	التقدير الكمي والنوعي لمركبات الزيوت الفعالة للاجزاء النباتـــــــية المختلفة المزروعة في الحقل والكالس المعـرض للمجـــــال المغناطيســـــــــــــــي (مايكروغرام/مل) .	104

قائمة الجداول

رقم الجدول	عنوان الجـدول	رقم الصفحة
1	مكونات الوسط الغذائي MS 0	27
2	أثر نقع بذور الحبة السوداء بحامضي الأسكوربك والسترك فى انبات البذور والصفات الخضرية للبادرات بعد مرور4 اسابيع من زراعة البذور على وسط 0MS	38
3	أثر مصدر الحديد المخلبي المستعمل في وسط MS في انبات البذور ونمو بادرات نبات الحبة السوداء بعد مرور 4 اسابيع من الزراعة 0	43
4	اثر .Kin و2,4-D في نسب الاستجابة لنشوء الكالس بعد مرور45 يوم من زراعة المجموع الخضري لنبات الحبة السوداء على وسط MS	47
5	اثر .kin و2,4-D في الوزن الطري للكالس الناشئ من المجموع الخضري لنبات الحبة السوداء بعد مرور45 يوما من الزراعة على وسط MS.	48
6	اثر .kin و 2,4-Dفي الوزن الجاف للكالس الناشئ من المجموع الخضري لنبات الحبة السوداء بعد مرور45 يوما من الزراعة على وسط 0MS	49
7	اثر .kin و 2,4-D في نسب الاستجابة لنشوءالكالس بعد مرور45 يوما من زراعة المجموع الجذري لنبات الحبة السوداءعلى وسط MS.	50
8	اثر .kin و 2,4-D في الوزن الطري للكالس الناشئ من المجموع الجذري لنبات الحبة السوداء بعد مرور45 يوما من الزراعة على وسط 0MS	51
9	اثر .kin و 2,4-D في الوزن الجاف للكالس الناشئ من المجموع الجذري لنبات الحبة السوداء بعد مرور45 يوما من الزراعة على وسط 0MS	53

رقم الجدول	عنوان الجـدول	رقم الصفحة
10	اثر نوع الحديد المستعمل في وسط MS في نسب الاستجابة والوزن الطري والجاف لكالس نبات الحبة السوداء بعد مرور 4 اسابيع من الزراعة0	56
11	أثر نقع بذور الحبة السوداء بحامضي الأسكوربك والسترك فى انبات البذور والصفات الخضرية للبادرات بعد مرور 4 اسابيع من الزراعة في الحقل.	58
12	اثر الرش بتراكيز مختلفة من حامضي الأسكوربك والسترك في الصفات الخضرية لنبات الحبة السوداء المزروعة في الحقل0	62
13	اثر الرش بتراكيز مختلفة من حامضي الأسكوربك والسترك على الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري والجذري لنبات الحبة السوداء المزروعة في الحقل 0	64
14	اثر الرش بتراكيز مختلفة من حامضي الأسكوربك والسترك في حاصل نبات الحبة السوداء المزروعة في الحقل0	66
15	تاثير قطبية المجال المغناطيسي في نمو كالس نبات الحبة السوداء بعد مرور 28 يوم من الزراعة على وسط MS مضاف له(Kin. 1.5 + 2 2,4-D) ملغم/لتر	73

أجريت الدراسة في مختبرات قسم البستنة وهندسة الحدائق / كلية الزراعة /جامعة ديالى خلال عامي 2012-2013 م , تم تنفـيذ التجارب علـــى نبات الحبة السوداء *Nigella sativa* L. , اجريت الدراسة النسيجية بهدف تحسين انبات البذور عن طريق نقعها بحامضي الاسكوربك والسترك وبيان اثر تداخل Kinetin مع 2,4-D المضاف الى وسط MS الصلب في نشوء الكالس ونموه 0 وقدرت مركبات الزيوت الفعالة في الكالس المعرض للمجال المغناطيسي بشدة 200 ملي تسلا ومن اجزاء النبات المختلفة والنامية في الحقل , اجريت التجربة الحقلية لبيان اثر رش النباتات بحامضي الاسكوربك والسترك في نمو نبات الحبة السوداء وحاصله 0

بينت نتائج التجارب النسيـــجية ان اعلـــى نسبة انبـــات للبـــذور بلغت 80% واعلى وزن طري للبادرات بلغ 147.00 ملغم حصلت فـــي معاملة النقع بحامض السترك بتركيز 300 ملغم / لتر, في حين كانت في معاملة نقع البذور بالماء المقطر(المقارنة) 65% و 56.00 ملغم , اما افضل طول للجذير فكان في معاملة النقع بحامض الاسكوربك بتركيز 300 ملغم / لتر اذ بلغ 3.28 سم قياسا بمعاملة المقارنة التي اعطت متوسط طول بلغ 1.61 سم , وحصل افضل عدد للاوراق في معاملة النقع بحامض السترك بتركيز 100ملغم / لتر اذ بلغت 3.67 ورقة / بادرة في حين بلغت في معاملة المقارنة 2.30 ورقة / بادرة 0

اما نتائج نشوء الكالس ونموه فقد بينت الدراسة ان اضافة 2,4-D 1+ Kin.1 ملغم/ لتر اعطى افضل وزن طري لكالس الرويشة بلغ 1221.80 ملغم , وحصل افضل وزن جاف عند اضافة 2,4-D 2 + Kin.1.5 ملغم/ لتر اذ بلغ 67.16 ملغم , وان اضافة Kin. 0.5 + 2,4-D 2 ملغم / لتر اعطى افضل وزن طري لكالس الجذير بلغ 936.70 ملغم وافضل وزن جاف اذ بلغ 79.82ملغم0

بينت نتائج تجربة انبات البذور في ظروف الحقل ان افضل طول للرويشة بلغ 4.29 سم وافضل وزن طري بلغ 65.00 ملغم عند نقع البذور بحامـــــض الاسكوربك بتركيـــــز 100 و 300 ملغم / لتر على التوالي , وحصل افضل عدد للجذور بلغ 9.60 جذر/ بادرة عند معاملة النقع بحامض السترك بتركيز300 ملغم/ لتر قياسا بمعاملة المقارنة التي اعطت عدد للجذور بلغ 3.78 جذر/ بادرة0

واما نتائج تجربة رش النباتات النامية في الحقل بحامضي الاسكوربك والسترك , بينت النتائج ان افضل ارتفاع للنبات بلغ 41.50 سم ومتوسط عدد الافرع للساق بلغ 33.75 فرع / نبات عند رش النباتات بحامض السترك بتركيز 100ملغم / لتر قياسا بمعاملة الرش بالماء المقطر (المقارنة) التي اعطت 28.50 سم و 20.50 فرع / نبات على التوالي , وحصل افضل متوسط لعدد وطول الجذور في معاملة الرش بحامض الاسكوربك بتركيز100ملغم / لتر وبلغ 27.50جذر/ نبات و36.00 سم وعلى التوالي قياسا بمعاملة المقارنة التي اعطت 11.38جذر/نبات و24.88 سم , اما افضل وزن طري و جاف للساق وللجذر فكان في معاملة الرش بحامض السترك تركيز100ملغم/لتر اذ بلغ 7.19 و 3.67 و 6.37 و 2.94 غم/ نبات على التوالي , في حين بلغ في معاملة المقارنة 2.16 و1.13 و 75. 1 و0.69 غم/ نبات على التوالي, وحصل افضل متوسط لعدد الاجراس ومتوسط عدد البذور في معاملة الرش بحامض الاسكوربك بتركيزي 100 و 50 ملغم / لتر والذي بلغ 27.00 جرس / نبات و774.40 بذرة / نبات قياسا بمعاملة المقارنة التي اعطت 16.50جرس / نبات و 351.00بذرة / نبات على التوالي , وحصل افضل وزن للبذور الكلي عند رش النباتات بحامض السترك بتركيز 50 ملغم / لتر اذ بلغ 1509.50 ملغم / نبات في حين اعطت معاملة المقارنة متوسط وزن للبذور بلغ 641.90 ملغم / نبات 0

اما تقدير مركبات الزيوت الفعالة المفصولة بجهاز HPLC فبينت النتائج ان اعلى كمية لمركب Thymoquinone ومركب Trans-anethole كان في الكالس المعرض للقطب الجنوبي , اذ بلغت 104.14 مايكروغرام/مل و 66.22 مايكروغرام / مل على التوالي , وبلغت اعلى كمية لمركب Thymohydroquinone 49.22 مايكروغرام /مل في الزيوت المستخلصة من المجموع الخضري للنباتات النامية في الحقل , اما مركب Thymol فبلغت اعلى كمية له في الزيوت المستخلصة من البذور اذ بلغت 43.32 مايكروغرام/لتر0

الفصل الاول

المقدمة

الحبة السوداء Black Cumin(*Nigella sativa* L.)او حبة البركة نبات حولي عشبي يعود للعائلة الشقيقية Ranunculaceae, يزرع للافادة من بذوره , ويعد حوض البحر المتوسط الموطن الاصلي لزراعته (Alansari واخرون ,1988) 0 ينمو هذا النوع بريا في المنطقة الجبلية والصحراوية في العراق لاسيما في الرطبة والموصل وبغداد(الكاتب, 2000)

وقد ذكر الحبة السوداء خير البرية وطبيب البشرية سيدنا الرسول الاعظم محمد (صلى الله عليه وسلم)اذ قال " عليكم بهذه الحبة السوداء فان فيها شفاء من كل داء الا السام" , والسام يعني الموت (البخاري) (البغا ,1987) 0 كما اشارت الدراسات العلمية المتعددة الى اهمية النبات طبيا فقد استخدم في علاج امراض عديدة منها الامراض الالتهابية وامراض الروماتزم وداء السكر فضلا عن تحسين وظائف الكبد والكلى في حالات الشيخوخة وزيادة نشاط الخلايا المناعية داخل جسم الانسان (Hoghton واخرون , 1995 ; Bashandy , 1996) 0 يمكن استخلاص المركبات الفعالة من المجموع الخضري والازهار والبذور للنبات , كذلك يمكن فصل المركبات الطبية من الكالس وزيادة كمية المركبات الفعالة المنتجة منه , من خلال التحكم بمكونات الوسط الغذائي او تاثير عوامل خارجية والتي قد تزيد من انتاج هذه المركبات ومنها استخدام المجال المغناطيسي (التميمي, 2012 ; ناصر 2012) 0

ولتحسين نمو النبات وزيادة انتاجيته من البذور يمكن رش النباتات ببعض المواد التي تقلل من ظروف الشد البيئي كحامضي الاسكوربك والسترك اذ وجد انهما يحسنان بشكل ملحوظ من صفات النمو والحاصل للنباتات المرشوشة بهما , اذ انها تضاف للنباتات لحمايتها من الاجهادات الحرارية والضوئية والاجهادات الاخرى (Youssef , 2003 ;Kamel و Sakr , 2009 ;Amin واخرون , 2009 ; صقر, 2012) 0

اجريت هذه الدراسة لتحقيق الاهداف الاتية :

1- دراسة تأثير النقع بحامضي الاسكوربك والسترك في زيادة انبات البذور ونمو بادرات الحبة السوداء مختبريا وحقليا 0

2- دراسة تأثير نوع الحديد المخلبي المضاف الى وسط MS الصلب في انبات البذور ونمو البادرات ونشوء ونمو الكالس لنبات الحبة السوداء 0

3- دراسة تأثير منظمات النمو من الاوكسينات والسايتوكاينينات في نشوء الكالس ونموه من المجموع الخضري والجذور 0

4- دراسة تأثير المجال المغناطيسي وقطبيته في نمو الكالس وانتاج مركبات الزيوت الفعالة0

5- دراسة امكانية انتاج بعض مركبات الزيوت الفعالة من المجموع الخضري والجذور والازهار0

6- دراسة تأثير الرش بحامضي الاسكوربك والسترك في نمو نبات الحبة السوداء وحاصله0

الفصل الثاني

استعراض المراجع

2-1: الحبة السوداء *Nigella sativa* L.

يعود نبات الحبة السوداء Black Cumin الى العائلة Hellbeoraceae التي كانت تعامل سابقا كعويلة sub family ضمن العائلة الشقيقية Rananculaceae والى الجنس *Nigella* (1980,Townsion) 0وهي من النباتات العشبية الحولية متوسطة النمو ، للنبات اوراق مركبة ومجـزأة الى اجزاء دقيقة ، أزهارها بيضاء اللون مزرقة قليلاً و نجمية الشكل (Chakraverty ، 1976) . تتوافر انواع عديدة للحبة السوداء منها المحلية ، والحقلية ، والدمشقية ، والشرقية واوكسبتيلا *Oxypetala* والحبة السوداء اسيرياكا *Nigella assyriaca* boiss والحبة السوداء الصحراوي boiss *Nigella deserti* (قطب ، 1981) . وذكر النعيمي (2004) ان جنس الحبة السوداء *Nigella* يضم حوالي (25) نوعا مختلفا بالشكل الخارجي 0

2-2: المحتوى الكيميائي لبذور نبات الحبة السوداء

ان من اهم مكـونات بذور الحبة السوداء هما الزيت الطيار والزيت الثابت ويكون الزيت الطيار Volatile Oil بنسبة 0.5-1.5 % وهو مـادة عطرية تتبخر عند تعرضها الى الهواء مـن دون ان تتحلل ، قوامها سائل ذو لون اصـــفر باهت , اما الزيت الثـــابت Fixed Oil فيمـثل نســـــبة تتراوح بين 30 - 35 % (الشحات،2000)0 وهو مادة سائلة غير متطايرة لاتذوب في الماء لكنها تذوب في المذيبات العضوية المختلفـــة (سعد وآخرون , 1988) . ويتكون الزيت الثابت من احماض دهنية مشبعة وغير مشـــبعة (El-Sayed واخرون,1997). وقد اشـار العاني (1998) الى إن بذور الحبة السوداء

تحتوي على عناصـــر معدنية هي الكالسيوم ، والحديد ، والنحاس ، والزنك ، والبوتاسـيوم ، والمنغنيز و المغنيسـيوم وان البذور خالية من العناصر السامة كـالكادمـــيوم , والرصاص و الزرنيخ . ان البروتين في بذور الحبة السوداء يحتوي على (17) حامضا امينيا بضمنها الاحماض الاســاسية Essential Amino – Acids (EL – Fahem و Sawsan , 1994) .

2-3: القيمة الطبية والعلاجية لنبات الحبة السوداء

تعود اهمية نبات الحبة السوداء .*Nigella sativa* L الطبـــية الى احتواء بذوره على الكثير من المركبات الفعالة علاجيا (دوائيا) مثل الفينولات الموجودة في الزيت الطيار ومنها Thymol و Thymoquinone و Thymohydroquinone و Trans-anethole والقلويدات مثل Nigellone و Nigellidine و Nigellicine و Nigellimine كذلك احتوائها على كلايكوسيدات وتاينينات واحماض امينية وفيتامينات ومعادن ومضادات الاكسدة فضلا عن احتواء البذور على البروتين بنسبة 20 %والدهون اذ تبلغ نسبة الاحماض الدهنية المشبعة 16.9% وغير المشبعة 83.1% (Jassir – AL , 1992)0 وجد EL-Kaddi و Kandil (1986) ان تناول بذور الحبة السوداء *Nigella sativa* مرتين في اليوم بجرعة1 غم لمدة خمسة ايام يعد حافزا قويا لجهاز المناعة للانسان عـن طريق زيادة عـدد الخلايا اللمفاوية 0 ان لمـــادة النيجـلـون (Nigellone) تأثيرا في حساســية الصدر مـن خلال تأثـــيرها فـــي الخلايا البدينة (Masst cell) المتخـــمة بالهستامين والوسيطات الاخـــرى (التي تسبب حساسية الصدر والمجاري التنفسية) وبتركيـــبها الكيميـــائـــي متعـــدد الثايـموكـــوينـــون (Polythymoquinone) تمنع مادة النيجـلـون انطلاق

الهستامين من الخلايا البدينة (Chakravarty , 1993)0

ان الجزء المستخدم طبيا للحبة السوداء هو البذور وان المواد الفعالة فيها تشتمل على القلويدات من النوع Nigellone و Nigelline و Nigellicine ومركبات كيميائية مثل Thymohydroquinoneوتستخدم في علاج السعال وامراض الصدر والربو وفي حالات الحمى الصفراء والطفح الجلدي والحمى القرمزية والالتهابات الجلدية (مجيد ومحمود, 1988) وهناك دراسات مختبرية اثبتت اهميتها الدوائية وخصائصها الطبية فقد وجد ان لمستخلص الحبة السوداء الكحولي فعلا تآزريا مع المضادات الحيوية Gentamycinو Streptomycinوفعلا مضافا مع المضادات الحيوية Erythromycinو Ampicillin (خميس ومثنى,2008) 0

اشارت العديد من الدراسات العلمية الى اهمية نبات الحبة السوداء في شفاء العديد من الامراض ومنها موسع للقصبات الهوائية (Hailat واخرون , 1995) 0 وخفض السكر في الدم (الكاكي , 1999)0 كما اشارت دراسات علمية اخرى الى اهمية نبات الحبة السوداء في الشفاء من امراض مختلفة مثل علاج التقرحات المعدية (EL – Dakhakhny واخرون , 2000)0وخفض ضغط الدم (Zaoui واخرون, 2000) فضلا عن الدور التثبيطي ضد الخلايا السرطانية (Naghma وآخرون , 2003) .

وجدت النعيمي (2004) في دراسة قامت بها لبيان التأثير البايولوجي لمركب الثايمول (Thymol) المفصول من بذور وكالس الحبة السوداء على المستوى الجزيئي للخلية الحيوانية ان حقن ذكور الفئران بمركب الثايمول ادى الى ارتفاع معنوي بمستوى البروتين والهيموكلوبين لدى الفئران المحقونة بتركيز(25 و 50) ملغم / كغم من

وزن الجسم . وبينت شنشل (2004) ان للحبة السوداء دورا وقائيا تجاه التأثيرات الضارة في الفئران المعرضة للاشعاع ولفترات مختلفة .

2-4: المركبات الثانوية ذات الاستخدامات الطبية في نبات الحبة السوداء

تنتج النباتات مركبات كيميائية بوساطة عمليات الايض (Metabolism) التي تشمل عمليات البناء (Anabolism) وعمليات الهدم (Catabolism) (1987,Klock) . هناك نوع من المواد تنتجه الخلايا النباتية وهو مايطلق عليه نواتج الايض الاولى والتي تشترك مباشرة في نمو النبات وأيضه كالكاربوهيدرات والبروتينات واللبيدات من خلال عملية التمثيل الضوئي والتنفس ، ونواتج الايض الثانوي هي نواتج وسطية اونهائية للايض الاولي مثل القلويدات وغيرها (2004,Ramawat) 0

ان نواتج الايض الثانوي هي مركبات تختلف في درجة تعقيدها وهي مركبات لاتدخل في بناء وتكاثر ونمو الخلية النباتية , اذ هي وسيلة دفاعية يزداد انتاجها بعد اصابة النبات بالامراض او مهاجمتها من قبل الكائنات الحية(Taiz و Zeiger , 2002 ; 2005, Memelink)0

قد اشارت منظمة الصحة الدوائية الى ان 80% من سكان العالم يعتمدون على الادوية من مصادر نباتية في العلاج الطبي (Hartman, 2004) .

هناك نظريات عدة تفسر اهمية هذه المركبات للنباتات المتوافرة فيها منها :-

أ - انها مواد تنتج بوصفها وسيلة دفاعية لحماية النبات من المؤثرات الخارجية .

ب - انها مركبات خازنة للنتروجين او الكاربون او عناصر اخرى (الشماع , 1989) .

كما ان لها فوائد عديدة في حياة الانسان من اهمها :-

1- تؤدي دورا مهما بوصفها موادا فعالة دوائيا اذ يمكن استعمالها في عـــلاج الكـثير من الامراض لفعاليتها وكونها توفر الجانب الامن من الاســـتخدام البشـــري الطـــبي والعـــلاجي (Davuluri واخرون , 2005) .

2- تعد مركبات الايض الثانوي مهمة اقتصاديا اذ تستخدم علاجا وعطورا وصـــبغات واضـافات غذائية , وتستخدم مبيدات (Khan واخرون , 2009) .

بذور الحبة السوداء غنية بالعديد من المواد الفعالة اذ اشارت التميمي (2001) الى ان بذور الحبة السوداء تحتوي على عدد من القلويدات هي: Nigellone و Nigellidine و Nigellicine و Nigellimine التـــي تتوافر في الزيت الثابت , والطـــيار . والقلـويدات هي مجموعة غير متجانسة مـــــن المركبات التي لمعظـمها خواص قاعدية بسبب احتوائها على النتروجين ولمعظمها تاثيرات فسيولوجية واضحة تستعمل في علاج عدد من الامـــــراض (الشماع ، 1993) 0 القلويدات (alkaloids) كلمة لاتينيـة بمعنى alkali – like اي شـبيهات القـواعد وهـــي عبارة عن مركبات عضوية حلقية غير متجانسة تحتوي على النتروجـين في تركيبها وتعزى الخاصية القاعدية الى النتروجين الاميني المسؤول عن الفعل الدوائي الطبي وتتوافر هذه المركـبات في العوائل النباتية المختلفة , اذ تتوافـــر فـــي العائلـــة الشـــقيقة (Ranunculaceae) والباذنجانيـــة (Solanaceae) والعائلـــــة البقولية (Leguminaseae) وتتوافر القـــلويدات في الاجزاء المختلفة من النبات ويختلف مكان توافرها باختلاف النبات فقد تتوافر في الجذور , او السيقان , او الاوراق وقد تتكون في جزء وتنتقل الى جزء اخر لتخزن فيه (Harborne , 1973 ; Ross و Brain , 1977) .

يحتوي زيت الحبة السوداء على انواع من القلويدات والتي يعزى اليهـــــا المفعول الطبي مثل مركب النيجلون (Nigellone) (Mossa وآخـــرون , 1987)0الـــذي تم عـــزله وتشخيصه مـــن زيت بـــذور الحبـــة الســـوداء مـــن قـــبل Mahfouz و EL – Dakhakhny (1960) , كما عـــزل قلويـــد النيجلسين (Nigellicine) من قبل Rahman و Malik (1985) كـذلك قلويـد النيجلمين(Nigellimine) (Rahman وآخرون, 1992 Rahman; وآخرون , 1985) .في سنة 1995 قام Rahman وآخـرون بعزل قلويد النيجلدين (Nigellidine) من بذور الحبة السوداء . وجد النجار (1997) ان زيت الحبة السوداء يحوي مادة الثايموكوينون Thymoquinone ومشتقها الثايموهيدروكوينون Thymohydroquinone المعروف بالنيجلون Nigellone 0

استخلص Kruk وآخرون (2000) الزيوت الاساسية المهمة من بذور الحبة السوداء وهي Thymol ، Thymoquinone , Caracol ، Trans– a nethol و Terpinol0 واستخلص Merfort وآخرون (1997) ثلاثة انواع من الفلافونات الكلايكوسيدية Flavonoid glycosides لأول مرة من بذور الحبة السوداء مثل صبغة الانثوسيانين.

2-5: زراعة الانسجة النباتية Plant tissue culture

تعرف تقنية زراعة الانســجة النباتيـــــة بانها عزل خلية او نسيج او عضو نباتي من النبات وتعقيمه ومن ثم زراعته في اوساط غذائية صناعية معقمة في ظروف بيئية محددة من حيث الحرارة والرطوبة والضوء (سلمان , George;1988 واخرون, 2008) 0

عني الباحثون بتطوير تقانة زراعة الانسجة النباتية وتوجيه استخدامها في العديد من المسارات البحثية والعملية والمجالات الحيوية سواء كانت زراعية متضمنة انتاج نباتات مقاومة

للمسببات المرضية او ذات مواصفات انتاجية معينة او في مجالات صناعية متضمنة استخلاص المواد المهمة صناعيا , او طبيا ولاسيما المركبات الطبية من مصادرها النباتية والتمكن من استغلال العديد منها على مستوى تجاري (1982,Staba)0

تستخدم الهرمونات النباتية (Plant growth regulators) بوصفها مركبات عضـوية غير الغذائيـــة تنتج مـــن قبـــل النبات ويمكنهـــا بتراكيز قليلة ان تحفز(Promote) اوتثبط (Inhibit) اوتحور (Modify) الفعاليات الفسيولوجية في النبات وهذه المركبات تعمل بوصفها عوامل ارتباط مهمتها ربط نمو احد اجزاء النبات بنمو اجزائه الاخرى .(1995,Davies)

هناك خمس مجاميع من الهرمونات النباتيـــة هي الاوكسينات والسايتوكاينينات والجبرلينات وهى مـــــواد مشجعة للنمو وحامض الابسسك والاثلين وهي مواد مثبطة للنمو وقـــد امكن ايجاد مجموعة من المنظمات الصـناعية وهي تشبه تماما في تأثيرها تلك المنتجة طبيعيا . فمن الاوكسـينات اندول حـامض البيوتريك Indol Butyric Acid .IBA) (وانـدول حـــامض الخـليك Indol Acetic Acid (.IAA) ونفثالين حامض الخليك Naphthalene Aciti Acid (.NAA) ومن السايتوكانينات الكاينتين Kinetin (.Kin) وبنزيل ادينين Benzyl Adenine (.BA) الـتي تقوم بتنظيم تطور الاعضاء النباتية وتكشفها في اجزاء عديدة مـن النبات او في الاجزاء النباتية المـزروعة في بيئات غذائية صناعية (محمد وعمر , 1990) 0

2-6: تاثير الاوكسين والسايتوكاينين في نشوء الكالس ونموه

يعرف الكـالس (Callus) بانه مجموعة متراكـمة من الخلايا البرنكيمية المفككـة غير المتخصصة وغير منتظـمة الشكل تنشأ من الخلايا المولدة للنباتات بسبب الجروح التـي تحدث على الاجزاء النباتية ويمكن استحثاثه بزراعة الانسجة النباتية على اوساط غذائية صناعية مجهزة بمنظمات النمو النباتية 0 وعـرفه Trigiano و Gray (1996) على انـه عبارة عن نسيج غير متـمايـز يتألف من خلايا برنكيمية ويمكن ان يستخدم في العديد من المجالات منها في مجال الهندسة الوراثية وفـي تكـوين الاعضاء وتكوين الاجـنة الجسمية (Somatic embryos) واستخدامه في المفاعلات الحيوية وفي انتاج المركبات الطبية والصيدلانية .

ذكر George (1996) ان عملية ادامة الكالس واخلاف النبات تعتمد عـلى نـوع وتركيز منظمات النمو المضـافة في مراحل زراعة الكـالس وهـي مـرحلة الاسـتحثاث والادامة , فاضافة التراكيز العالية من الاوكسينات فـي مرحلة الاستحثاث يؤدي الى انخفاض نسبة التمايز في كثير من النباتات , وان اضافـة السايتوكاينينات مع الاوكسينات في مرحلة الاستحثاث تزيد من قابلية تمايز الكالس الـى نموات خضرية وهذا مااكده Barik وآخرون (2004) . اشار Youssef (1998) الى ان القطع النباتية المختلفة (الاوراق ، والسيقان , والجذور) لبادرات الحبة السوداء تستجيب لاستحداث الكالس عند تنميتها على وسط MS المجهز بتراكيز مختلفة من .Kin و2,4-D , وكان افضلها وسط MS المضاف له 2 ملغم/ لتر من 2,4-D و 2 ملغم / لتر من الكاينتين وان كالس الاوراق اعطى اعلى قيمة للوزن الطري يتبعه كالس السيقان ثم الجذور0وجدت البكر والصالح (2005) ان افضل الاوساط المشجعة لاستحداث كالس الحبة السوداء ونموه هو وسط MS المزود بالتركيز 2

ملغم / لتر من 2,4-D لوحده اذ بلغ الوزن الطري للكالس النامي عليها بعمر 45 و75 يـوم (3.58 و12.89) غم على التوالي 0بـــين Al-ani (2008) ان وســـط MS الصلب المزود بمنظمات النمو (Kin.1.5+ 1 2,4-D) ملغم / لتر اعطى افضل وزن للكالس المستحث من اوراق الحبة السوداء بعد مرور 75 يوم من الزراعة اذ بلغ 1400 ملغم0 توصلت النعيمي وهناء (2010) الى ان افضل الاوساط المشجعة لانشاء المزارع الخلوية لنبات الحبة السوداء هو وسط MS المدعم بالتركيز 2 ملغم / لتر من 2,4-D + 0.2 ملغم / لتر من .Kin والذي اعطى اعلى نسبة لاستحثاث الكالس بلغت 95.74% 0

وجدت التميمي (2012) عند استعمال .Kin مع 2,4-D ان افضل وزن طري للكالس الناشئ من المجموع الخضري للحبة السوداء كان عند اضافة (Kin.1.5 + 2,4-D 0.5) ملغم / لتر الى وسط MS الصلب اذ بلغ 353 ملغم , وبلغ اعلى وزن طري للكالـــــس المستحدث مــن الجذور 378.5 ملغم عند تجهيز الوسط بتركيز (Kin.1.5 + 2,4-D 1.5) ملغم /لـــتر 0

2-7:انتاج مركبات الايض الثانوي ذات الاستخدامات الطبية بالزراعة النسيجية

تمتاز المـــــزارع النسـيجية بامكانية اســـتعمالها في انتاج مركبات الايض الثانوي على مدار السنة دون التقيد بموسـم الزراعـة , فضـــــــلا عن تقليل المساحة اللازمة للزراعة مقارنة بالزراعة الحقلية (سلمان , 1988) . تبرز اهمية الزراعة النســـيجية لانتاج العقاقــير والمـــواد الصيدلانية اذ انـــها تساعد في الانتاج السريع لهذه المـركبات بنقاوة عالية للمواد المتكونة اذا ماقـورنت بتلك المصنعة فضلا عــن تقليل المساحة اللازمــة للزراعة ,

ويمـــكن رفـــع معدلات النمو وانتاج مركبات الايض الثانوي الى اعلى مســـــتوياتها عن طريق تنظيم العـوامل الفـيزيائية والكيميائية عند الزراعة النسيجية , وانتخاب الخلايا عـالية الانتاجية , فضلا عن اسـتخدام وســـط انتاج مناسب (Ramawat, 2004) . من الجدير بالذكـــــر ان انتاج المـــواد الطبية والعقاقير وغيرها عن طريق زراعة الانسجة يتأثر بعوامل عدة منها طبيعية الجـــــــزء المستخدم للزراعة explant ومصـــــدره وكمية انتاجه للمادة الفعالة ومكونات الوســط الغذائي المســـتخدم للزراعة وظـــــــروف حفظ المزروعات مـن اضـــاءة , وتـــــهوية , وحـــــــرارة (Mantell و Smith , 1984) . والتي تؤثر بشـــــكل مباشر علـى النواتج الاولية النباتية ومن ثم تؤثر على المـواد الايضية الثـــانوية والتي تشـــتق من المـــواد الايضـــية الاوليـة (Bhalsing و Maheswar, 1998) 0

يعد الكالس من اهم الاجزاء النباتية التي تـقوم بانتاج المركبات الطبية خارج الجسم الحي اذ وجد بعض الباحثين ان كـمية الـمركبات الطبية المنتجة مـــن الكالـس تقترب من كميتها المنتجة من النباتات الحقلية وقد تتساوى معها او تفوقها في احيان كثيرة اذ تمكن El-Said واخرون (2002) من استحثاث الكالـــس مـــــن اوراق الحـــــــبة الســـوداء المـــــزروعة علـى وســط MS مجهـز بتركـــيز (2,4-D 1.0 + Kin.0.1) ملـــغم / لتر واستخـلاص الزيـوت مثـــل Thymoquinone و Thymol و p-cymene و 0Pinene توصلت البكر (2002) الى ان المستخلص الكحولـي لكالس الحبة السوداء ذي فعالية تحفـــيزية لعملـــية البلعمة الخلـــوية (Phagocytosis) في دم الفئران البيض وهذا مايؤكد احتواء مستخلص الكالس على مستوى مناسب من المركبات الفـعالة والتي سببت

هذا التحفـــيز . وجدت الـــبكر وهناء (2005) ان محتوى كالس نبات الحبة السوداء من المركبات الفعالة يكاد يكون مساويا او اكثر من محتواها في البذور اذ وجدتا ان كمية المواد المفصولة مــن عينة الكالـــس حسب زمن الاحتباس Retention time والذي تراوح مابين 4 – 14 دقـيقة كانت مقاربة جدا لكمية المـــــواد المفصـــولة مـن مستخلص الـــــبذور (الطور الذائب بالكحول) اعتمادا على مساحة القمم المفصولة0 اشار الـــدليمي وعـــــبود (2006) الى ان كـمية الـــفوليت (Folic acid) المستخلصة من خلايا كالـــس الحبة السوداء النامي على وسط MS المدعم بتركيز 2 ملغم/ لتر من 2,4-D بعمر 35 يوما بلغت0.805 مايكروغرام / غم وهي مساوية تقريـــــــبا 3,4,8,13,24 اضـــعاف كـــــميتها المستخلصة مــن بذور نبات الحبة السوداء وجــذورها وازهـــارها وسوقها واوراقها والتي كانت 0.033, 0.062, 0.101, 0.201, 0.321 مايكروغرام / غم وزن طري على الـــتوالي , واظهرت النتائج ايضا ان كمية الفوليت الكلية المستخلصة مـــن كالس نبات الحبة السوداء قد ازدادت مع زيادة فترة النمو , وبلغت كمية الفوليت مقدار 1.289 مايكروغرام / غرام من الوزن الطري المستخلص مـــــن الكالس بعمر50 يوما مقارنة بتلك الكمية 0.201 مايكروغرام / غرام المستخلص مـــــن قطع سوق بادرات الحبة السوداء قبل زراعتها على الوسط الغذائي. استطاع Al-ani (2008) من استخلاص مركب Thymol من كالس نبات الحبة السوداء الناشئ على وسط MS المزود بتراكيز مختلفة من .Kin و2,4-D. تمكنت النعيمي وهناء (2010) من اســتخلاص مركب Thymol من كـــــالس الحبة السوداء النامي في المزارع الخلوية المجهزة بمنظمات النمو 2,4D بتركيز2 ملغم / لتر و.Kin بتركيز0.2 ملغم/ لتر0 وتمكنت التميمي (2012) من فصل وتقدير الزيوت الفعالة من

كالس نبات الحبة السوداء النامي على وسط MS مثل Thymol و Thymoquinoneو Thymohydroquinone 0 تمكن حمد واخرون (2010) من استخلاص قلويد المورفين والكودائين من كالس نبات الخشخاش *Papaver somniferum* المستحث من القمة النامية للبادرات المزروعة على وسط MS مضاف اليه تركيز (Kin. 0.5 + 2 2,4-D) ملغم / لتر 0وجدت تويج (2011) تفوقا واضحا وكبيرا لكمية المركبات الطبية catchin و hypersoid و hypericin و pseudohypericin و hyperforin و prenylatedphlorglucin المنتجة من كالس اوراق نبات الروجة ونبات عنب الذيب المتكون على وسط MS المزود بتراكيز مختلفة من منظمات النمو2,4-D و NAA و BA مقارنة بالكميات المنتجة من الاوراق الجافة للنبات الكامل وصلت الى الضعف والى خمسة اضعاف بل وحتى الى تسعة اضعاف. 0 وجد العزاوي (2012) ان الكالس المستحث من اوراق نبات الشليك Vesca على وسط MS المدعم بمنظمات النمو .Kin + NAA قد اعطى اعلى كمية لمركب Camphene و Ellagic acid بلغت230.51 و 167.55 مايكروغرام/مل على التوالي واعطى كالس الشليك Salwan الناشئ على وسط MS مدعم بمنظم النمو 2,4-D اعلى كمية لمركب Catachin اذ بلغت 74.04 مايكروغرام/ مل متفوقة بذلك عن كمياتها المستخلصة من النباتات الحقلية 0

2-8: اثر حامضي الاسكوربك والسترك في انبات البذور ونمو بادرات الحبة السوداء

حامض الاسكوربك او فيتامين C ($C_6H_8O_6$) هو احد المكونات الاساسية الضرورية في النباتات الراقية والتي تحتاج اليه بكميات قليلة للمحافظة على نموها الطبيعي بوصفه منظما للعديد من الوظائف داخل الانسجة النباتية منها تقليل تأثير الاجهاد الناتج عن درجة

الحرارة والسموم ودوره في تحفيز عمليات التنفس وانقسام الخلايا وزيادة فعالية عدد من الانزيمات وكذلك يدخل في نظام نقل الالكترونات كما ويحافظ على الكلوروبلاست من الاكسدة (1987,Oertli).

حامض الستريك $C_6 H_8 O_7$ من الاحماض العضوية الذي يتوافر طبيعيا وبتراكيز عالية في عصير ثمار الحمضيات والفواكه الطازجة وبعض الخضر ويحضر صناعيا من السكر بمساعدة البكتريا والخمائر , وهو وسيط مهم من اجل اكمال دورة كربس (Krebs cycle) او دورة حامض الستريك (citric acid cycle) التي تعد واحد من المسارات المهمة في مجموعة التفاعلات التي يتم فيها اكسدة السكر الى ثنائي اوكسيد الكاربون والماء المصاحب لتوليد الطاقة على شكل مركب ATP لذا فهو يلعب دورا مهما في تحفيز عمليات البناء الضوئي في النبات (Abd-El-al , 2009) .

من الدراسات التي تبين دور حامض الاسكوربك في انبات البذور ونمو البادرات ماوجده Dehghan واخرون (2011) عند زراعة بذور صنفين من نبات البزاليا هما Sahar وDPX مختبريا في اطباق بتري بعد نقعهما بحامض الاسكوربك بتركيز 400 ملغم / لتر ولمدة 4ساعات قبل الزراعة اذ وجدوا ان النسبة المئوية لانبات البذور في االصنف DPX بلغت 86% قياسا بمعاملة المقارنة التي بلغت 81%, في حين ان نسبة الانبات للصنف Sahar بلغت 93% قياسا بمعاملة المقارنة التي اعطت نسبة انبات بلغت 95% وتفوقت معاملات النقع بحامض الاسكوربك على معاملة المقارنة في صفة الوزن الطري وطول الرويشة وطول الجذير 0 توصل Rafique واخرون (2011) الى ان نقع بذور نبات اليقطين لمدة 12 ساعة قبل الزراعة بحامض الاسكوربك بتركيز15 و 30 ملغم / لتر قد زاد من نمو البادرات والوزن

الطري والجاف للكتلة الحية للرويشة والجذير وبشكل معنوي, وقد تفوق التركيز 30 ملغم / لتر لحامض الاسكوربك في معظم الصفات للنباتات المزروعة على اوراق الترشيح وفي اطباق بتري داخل المختبر0وجد Raza واخرون (2013) عند نقع بذور نبات الباميا *Ablemoschus esculantus* بحامض الاسكوربك تركيز 50 و 100 ملغم / لتر وجدوا ان حامض الاسكوربك تركيز 100 ملغم / لتر قد تفوق في صفة طول الرويشة والوزن الطري والجاف للرويشة والجذير, وعدد الاوراق في حين تفوق حامض الاسكوربك تركيز 50 ملغم / لتر في صفة طول الجذير.

2-9: أثر الحديد المخلبي في نمو النبيتات النسيجية

تعد مكونات أملاح الوسط الغذائي من العوامل الأساسية والمؤثرة في مراحل الزراعة ويعد الحديد أحد اهم العناصر لنمو النبات من خلال تأثيره في العديد من العمليات الحيوية في النبات ومنها دوره في بناء الكلوروفيل وتصنيع DNA (Dunlap و Robacker , 1988) ويستخدم المركب المخلبي Fe-EDTA بوصفه مصدر للحديد في الأوساط الغذائية ومنها وسط MS وقد بينت بعض الدراسات ان هذه الصورة من الحديد يرافقها بعض المشاكل في تجهيز الحديد ومنها قلة ثباته في الحالة المخلبية عند تغير مستوى pH الوسط الغذائي فضلا عن تكون بعض المركبات السامة كما ان مركب Fe-EDTA غير ثابت ويفقد 45% من الحديد الجاهز عند تغير pH الوسط عن5.8 (Dalton وآخرون, 1983 ; Hangarter و Stasinopoulos , 1991). ويعد الحديد عاملا مساعدا للأوكسين (IAA) داخل النبات (Gaspar وآخرون , 1992)0 فضلا عن انه يشترك في بناء انزيم البيروكسيديز والذي له دور أساس في المراحل الأولى من نشوء الجذور (Naija وآخرون , 2008) 0

ان استبدال مركب الحديد المخلبي نوع Fe-EDTA بنوع مخلبي آخر كاستخدام النوع Fe-EDDHAقد يعطى نتائج جيدة في الإكثار الدقيق في العديد من الأنواع النباتية 0

في دراسة أجريت من قبل Molassiotis (2003) قارن فيها بين إضافة ثلاث انواع من أملاح الحديد الى الوسط الغذائي Fe-EDDHA، Fe-EDTA و $FeCl_3$ في تجذير الأفرع , وجد ان إستخدام مركب Fe-EDDHA اعطت نسبة تجذير بلغت 100% قياسا بنسبة 81% لمركب Fe-EDTA ونسبة 86% لمركب $FeCl_3$ وذكر الباحث بان صيغة الحديد الوحيدة التي نجحت في تجذير أصل الخوخ GF_{677} هي Fe-EDDHA .

في دراسة قام بها Antonopoulou وآخرون (2007) بزراعة أفرع من أصل الخوخ GF_{677} على وسط MS مدعم بمستويات مختلفة من مركب الحديد المخلبي Fe-EDDHA بدلا من مركب Fe-EDTA وهي 93.5 (5.6 Fe) و 187(11.2 Fe) و 280 (Fe 16.8) ملغم / لتر، وجدوا ان المعاملة 187 ملغم / لتر قد تفوقت باعطاء نسبة تجذير 100% وبلغ عدد الجذور 5.7 جذر/ فرع ، في حين بلغ معدل أطول جذر 3.88 سم في المعاملة المجهزة بـ 280 ملغم / لتر والتي تفوقت في الوزن الرطب والجاف للأفرع المجذرة قياسا بباقي المعاملات.

وجد عبيد (2009) ان نوع الحديد المخلبي Fe-EDDHA قد اعطى زيادة معنوية في العدد والطول والوزن الطري والجاف لجذور الافرع المجذرة لنبات الخوخ صنف محلي بيضاوي المزروعة على وسط MS الصلب مقارنة بنوع الحديد المخلبي Fe-EDTA وبالتركيز المجهز به وسط MS نفسه 0

2-10:اثر المجال المغناطيسي في نمو النبات

المجال المغناطيسي (Magnetic Field) كمية اتجاهية يتمثل بخطوط وهمية تسمـــــى خطوط التدفق المغناطيسي , فالمجال المغناطيسي هو الحيز الذي تظهر فيه قوة مغناطيسية تؤثر في شحنة كهربائية متحركة , اومغناطيس موجود في ذلك الحيز. وخطوط التدفق المغناطيسي هي حلقات مقفلة بعكس خطوط المجال الكهربائي (Tischler,2003)0 ان عدد الخطوط المغناطيسية العمودية على وحدة المساحة تسمى شدة التدفق المغناطيسي (magnetic flux density) , ويرمز له بالحرف ß ويسمى كل خط تدفق بالنظام العالمـــي بالويبر لذلك فان وحدات ß هي ويبر/م$_2$ اما في النظام العلمي والكهرومغناطيسي فتقاس وحدة التدفق بالماكسويل وتكون وحدة ß ماكسويل/م$_2$, ويطلق على هذه الوحدة بالكاوس اذ ان كـــل كاوس واحد = ماكسويل/سم$_2$, ويبر/م$_2$ = 10^4كاوس=1تسلا (الكتل واخرون,1986). تعد المغناطيسية هي الخاصية الفعالة في كوكب الأرض الذي يعيش فيه الانسان والحـيوان والنبات ، فكوكب الأرض عبارة عن مغناطيس كبير تبلغ شدة مجاله المغناطيـسي 0.5 كـــــــاوس(Marshall و 1987,Skitiet)0

تكتسب كل المواد الموجودة على الأرض خواصا مغناطيسية مختلفة حسب تركيبـــــــها الذري الداخلي ، وان الكائنات الحية تترتب جزيئاتها الداخلية حسب هذا المجال المغناطيســـــــــــي (خوجلي ،1998) ; لذلك فان للمجال المغناطيسي الأرضي دورا مهما في نمو النبـات وتطـوره وان النباتات تستجيب لهذا المجال ، لذلك أجريت العديد من الدراسات لبيان هذا التأثير والتي بينـــت ان خلايا بعض النباتات والحيوانات تستجيب للتغايرات التي تحصل في المجال المغناطيســـــي الأرضي (Presman ,1968) .

هناك الكثير من الدراسات التي بينت اهمية المجال المغناطيسي في زيادة نسب الانبات للبذور, وتحسين نمو النباتات وزيادة الحاصل الكلي اذ تمكن Ruzic واخرون (1993) من تحسين اخلاف الاجزاء المأخوذة من شجرة الكستناء المزروعة خارج الجسم الحي وذلك بتعريضها الى مجال كهرومغناطيسي بشدة 250 ملي تسلا وبتردد 2و12و24 هرتز ولثلاث مدد تعريض 1و2و24 ساعة / يوم اذ وجد بعد مرور 28 يوما من الزراعة ان اعلى معدل للتضاعف كان عند التعرض الى القطب الجنوبي ولمدة تعريض ساعة واحدة / يوم وباقل ترددية (2هرتز) , اما مدة تعريض 24 ساعة فكان تأثيرها مثبط ولكلا القطبين. وفي دراسة اخرى لبيان دور المجال المغناطيسي في نمو اطراف الافرع لبادرات فول الصويا قام Atak واخرون (2007) بتعريض اطراف الافرع الى شدة مجال مغناطيسي (2.9 و4.6) ملي تسلا ولمدة (0 و2.2 و9.8) ثانية اذ لاحظوا ان مدة التعريض 2.2 ثانية سببت رفع نسبة استجابة الاجزاء النباتية فى تكوين الافرع الى94.3% قياسا بنسبة 28.5% للاجزاء غير المعرضة للمجال المغناطيسي . وقد درس عبيد (2009) تأثير المجال المغناطيسي والكهرومغناطيسي في اكثار اصل الخوخ Batch *Prunus persica* L. صنف محلي بيضاوي اذ قام بتعريض العقد الماخوذة من الحقل الى القطب الشمالي والجنوبي للمجال المغناطيسي200 ملي تسلا او المجال الكهرومغناطيسي 0.16 ملي تسلا فتبين له ان التعريض الى القطب الشمالي للمجال الكهرومغناطيسي ولمدة 8 اسابيع زاد من طول الافرع بنسبة 12% قياسا بالعقد غير المعرضة للمجال المغناطيسي , ودرس ايضا تأثير تعريض العقد الناتجة من مرحلة النشوء الى القطب الجنوبي للمغانط المعدنية وبعدد 1 و 2 و3 قطعة ولثلاث مدد تعريض 20 و40 و56 يوما من

زراعة العقد في وسط التضاعف فوجد ان المجـال المغناطيسي عالي الشدة ادى الى تقليل عدد الافرع الى 3.2 فرع قياسا بالافرع غير المعرضــة الى المجال المغناطيسي والتي اعطت 5.2 فرع . لاحظ Rezael واخرون (2007) تأثير للمجال المغناطيسي على نبات البندق *Corylus avellana* عند زراعة اجزاء نباتية منه على وسط MS مزود بمنظمات النمو اذ ان 30 ملي تسلا قللت من النمو وزادت فعالية Polyphenol Oxidase وانتاج مركـــب Toxol قياسا بمعاملة المقارنة 0

ذكرت ناصر (2012) في الدراسة التي قامت بها لمعرفة تأثير تعريض بـــذور وبادرات نباتي اللالنكي والليمون الحامض المحلي للقطب الشمالي والجنوبي للمجال المغناطيسي بشـــدة 200 ملي تسلا ان بادرات اللالنكي المعرضة لمدة 18 يوما تفوقت معنويا على معاملـــــة 14و11 يوما في ازدياد طول الرويشة , اذ بلغت 22 ملم وبلغ متوسط طـول الرويشة 19 ملم فـــي معاملة المقارنة , في حين ان بادرات الليمون الحامض المعرضة لـمدة 3 ايام تفوقت على باقـــي المعاملات وبفارق معنوي عن معادلة 18 و13 يوما فـــي صفات طول الرويشة , والجذير , وعـــــدد الاوراق المتفتحة اذ بلغت 12.8 ملم و13 ملم و2.7 ورقة / نبات على الـتوالي , وتفوقت معاملـة 7 ايام بازدياد مـتوسط الوزن الطري اذ بلغت 130ملغم 0

2-11: اثر المجال المغناطيسي في نمو الكالس وانتاج المركبات الفعالة

بينت عدد من الدراسات دور المجال المغناطيسي في زيادة نمو الكالس وانتاج المركبات الفعالة خارج الجسم الحي فقد اشارت التميمي (2012) الى ان تعريض كالـــس نبات الحبة السوداء المستحث من الرويشة الـــى مجـــــال مغناطيسي بشدة 200 ملي تسلا ولمدة تعريض

بلغت 8 ايام اعطت اعلى وزن طري بلـــــــغ 960.9 ملغم قياسا بالكالس غير المعرض التي اعطت 744.0 ملغم , اما الكالس المستحث من الجذير فقد تفوقت معاملـــة التعريض 4 ايام بوزن طري بلغ 1915.1 ملغم قياسا بالكالس غير المعرض للمجال المغناطيسي اذ بلـــــــغ 518.7 ملغم , اما نتائج الزيوت المفصولة من الكالـــــــــــس فبلغت اعلى كـمية لمركب Thymohydroquinone عند معاملة مغناطيسين وبلغت 6.8 مايكروغرام / غم قياسا بالـكالس غير المعرض التي بلغت 3.31 , اما Dithymoquinone فبلغت اعلى كمية له عند التعريض الـى شدة 3 مغانط بوزن بلغ 14.27مايكروغرام / غم قياسا بالكالس غير المعرض الــذي بلغ 2.78 مايكروغرام/غم , اما مـركب Thymoquinone فبلغت كميتــه 32.45مايكروغرام / غم عند تعريض الكالس الى 2 مغناطيس قياسا بالكالس غير المعرض الذي بلغ 15.28 مايكروغرام / غم , وبلغ اعلى وزن لمركب Thymol عـند تعريض الكاس الى 3 مــغانط بوزن بلغ 30.28 مايكروغرام/غم قياسا بالكالـس غير المعرض للمجال الذي بلغ وزنه 3.60 مايكروغرام/غم.

وجدت ناصر(2012) عند تقدير القلويدات من كالس نباتي اللالنكي والليمون الحامض ان كميـة مركب octapanine ازدادت بازدياد عدد المغانط اذ بلغت 73.74 مايكروغرام / غم فـــــي معاملـــة 3 مغانط , في حين لم يسجل له قراءة في الكالس غير المعرض , وبلغت اعلـــــى كــمية لمركب synephrine 366.99 مايكروغرام / غم في معاملة 3 مغانط في حين بلغت كميتـــه 151.60 مايكروغرام / غم فـــي معاملة المقارنة , وبلغت كمية مركب Tyramine 79.02 مايكروغرام / غم فـــــي معاملة 2 مغناطيس فـــــــي حين لم تسجل له قراءة في الكالس غير المعرض للمجال المغناطيسي , بيد ان كمية

مركب Ephedrine انخفضت عند تعريض الكالس الى المجال المغناطيسي اذ بلغت اعلى كمية له 219.99 مايكروغرام / غم في معاملة الكالس غير المعرض , في حين بلغت ادنى قيمـــة له 100.11 مايكروغرام / غم عند التعريض الى 1 مغناطيس.

2-12: اثر حامضي الاسكوربك والسترك في نمو وحاصل نباتات الحبة السوداء النامية في الحقل

2-12-1: حامض الاسكوربك

حامض الاسكوربك مكون اساس للنباتات الراقية لامتلاكه وظائف مهمة بوصفه مضادا للاكسدة ومنظما للنمو (Gomez و Lajolo , 2008)0 كما يزيد من ثباتية الاغشية الخلوية , ويحميها بفعالية من عملية dehydration عند تعرض النباتات لدرجات الحرارة العالية ويزيد من محتوى الخلايا من البرولين تحت ظروف الاجهاد الحراري ويزيد ايضا من محتوى الاوراق من الكلوروفيل ويشجع النمو الخضري والجذري في النباتات (Gadalla , 2000)0

اشـــار بعض الباحثين الى دور حامض الاسكوربك فـــي زيادة الـنمو الخضري للنباتات الخضر , فقد وجـد Midan (1986) ان رش نباتات الطماطـة بحامض الاسكوربك بتركيز 200 ملغم / لتر ادى الى زيادة عدد الافرع المتكونة على النباتات , والوزن الطري للمجموع الخـــضري .

وجد EL – Ghamriny واخرون (1999) ان الرش الورقي لنبات الطماطـة بحامض الاسكوربك وبتركيز 100 ملغم / لتر ادى الى زيادة عـدد الاوراق / نبات ومحتوى الاوراق مـــن الكلورفيل (a و b والكلي) فضلا عن الكاروتينات , كما ادى الـــى زيادة محتوى الاوراق مـــن عناصر النتروجين , والفسفور , والبوتاسيوم . حصل Arisha (2000) على زيادة معنوية في

ارتفاع النباتات وعدد الاوراق / نبات والوزن الجاف لنبات البطاطا عند رشها بحامض الاسكوربك وبمقدار 200 ملغم / لتر .

قام Baradisi (2004) برش نباتات الثوم بحامض الاسكوربك بتراكيز 100 و 200 ملغم / لتر فلاحظ ان هناك زيادة في ارتفاع النبات , وعدد الاوراق / نبات , والوزن الجاف للنبات 0 وجد Amin واخرون (2009) ان رش نبات الباميا *Abelmoschus esculentus* بحامض الاسكوربك بتركيز 188 ملغم / لتر تحت ظروف الاجهاد المائي ادى الى زيادة المساحة الورقية والوزن الطري والجاف للاوراق مقارنة بالنباتات غير المعاملة. لاحظت جري واخرون (2011) ان رش نبات الخس بحامض الاسكوربك بتركيز 100 ملغم / لتر ادى الى زيادة حاصل النبات وتحسين صفاته بزيادة وزن النبات الطري والجاف ونسبة المادة الجافة في الاوراق والمساحة الورقية / نبات.

توصلت جاسم (2012) عند رش نبات قرع الكوسة بحامض الاسكوربك بتركيزي 40 و 80 ملغم / لتر الى ان رش النبات بتركيز 40 ملغم / لتر بحامض الاسكوربك ادى الى زيادة معنوية في مؤشرات النمو الخضري والزهري وزيادة حاصل النبات ومكوناته اذ اعطت اعلى حاصل للنبات بلغ 1.184 كغم / نبات واعلى انتاجيه بلغت 7.23 طن / دونم0

2-12-2: حامض السترك

يعد حامض السترك احد مضادات الاكسدة غير الانزيمية اذ يعمل بوصفه مادة كانسة للتخلص من الجذور الحرة الناتجة من الاجهادات البيئية كالاجهاد الملحي والقلوي التي يتعرض لها النبات والتي تؤثر سلبا في سلسلة نقل الالكترون وتسبب زيادة في هدم الاغشية البلازمية وزيادة في بيروكسيد الدهون , (صقر, 2012) 0 اذ وجد Sun و Hong

(2001) ان رش نباتات *Leymus chinensis* بحـــامض السترك تركيز 50 ملغم / لتر ادى الى زيادة تحمل النبات لهذين الاجهادين مـــــن خلال زيادة فعالية الانزيمات المضادة للاكسدة . يحمي حامض السترك النباتات من الاجهادات الحيوية ومنها المرضية اذ توصل Hassan واخـرون (2006) الى ان رش نباتات الباقلاء بحامض السترك بتركيز 100 ملغم /لتر ادى الى انخفاض اصابة النباتات بمرض التبقع وتحسين بعض مؤشرات النمو الخضري كالوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري للنباتات.

لاحظ Kamel و Sakr (2009) ان رش حامض السترك بتركيز 400 ملغم / لتر الـى نباتات *Sama occidentatis* ادى الى تحســين النمو الخضري المتمثل بارتفاع النبات , وقطر الساق , وعدد الافرع , والوزنين الطري والجاف لاجزاء النبات .

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

الفصل الثالث / المواد وطرائق العمل:

نفـذت التجارب الحقلـية فـــي مشـاتل كلـيــة الزراعة / جامعة ديالى لعامي 2012 – 2013 م , اما التجارب النسيجية فقد اجريت في مختبر زراعة الانسجة النباتية العائد الى قسم البستنة وهندسة الحدائق / كلية الزراعة / جامعة ديالى وبالتوقيت نفسه مع تنفيذ التجارب الحقلية على نبات الحبة السوداء المحلية *Nigella sativa L.* والتي تم الحصول على بذورها من قسم المحاصيل الحقلية / كلية الزراعة / جامعة بغداد .

3-1: تحضيرات التجارب المختبرية(الزراعة خارج الجسم الحي *In vitro*)

3-1-1: تعقيم البذور

عقمت البذور باستعمال القاصر التجاري (فاس) المخفف بتركيز 0.5% من هايبوكلورات الصوديوم واستخدم الصابون السائل بوصفها مادة ناشرة بتركيز 0.1 %, وضعت البذور في المحلول لمدة 15 دقيقة ثم غسلت 4 مرات بالماء المقطر المعقم لمدة خمس دقائق في كل مرة للتخلص من اثار مادة التعقيم , علما بان كافة خطوات التعقيم كانت تجري تحت ظروف معقمة في كابينة الزراعة Laminar air Flow cabinet مع التحريك المستمر للبذور لازالة الفقاعات الهوائية التي قد تحيط بالبذور ثم حضنت القناني الزجاجية جميعها للتجارب فـــي غرفة النـــمو علـــى درجـــة حرارة 25 ± 2 م° وشدة اضـاءة 2000 لوكـــــــس لمدة 16 ســـاعة ضـــوء و 8 ساعـــات ظـلام / يـوم 0 (2008 , AL- Ani)

3-1-2:- تحضير الوسط الغذائي

حضـــرت امـــــلاح الوسط الغذائي Murashige و Skoog ، 1962 (MS) (جدول ,1) ، بعد اضافة منظمات النمو النباتية تم تعديل رقم الدالة الهيدروجينية pH 5.7-5.8 ثم وزع الوسط الغذائي في قناني زجاجية سعة 125 مل وبواقع 20 مل لكل قنينة لاستخدامه في تجارب الانبات ونشوء الكالس وبعدها غطيت القناني بورق الالمنيوم ، ثم عقمت على درجة حرارة 121 م° وضغط 1.04 كغم / سم^2 باستخدام جهاز المؤصدة Autoclave ولمدة 15 دقيقة (سلمان , 1988) .

3-1-3:- تعقيم الادوات المستعملة

عقمت جميع ادوات الزراعة النسيجية من ملاقط ، ومشارط ، واطباق بتري ، والماء المقطر باستخدام جهاز المؤصدة Autoclave على درجة حرارة 121 م° وضغط 1.04 كغم / سم^2 لمدة 30 قيقة ، فضلاً عن استخدام الكحول الاثيلي تركيز 95% في تعقيم الشفرات والملاقط وتركيز 70% في تعقيم منضدة انسياب الهواء الطبقي والايدي في اثناء العمل (محمد وعمر، 1990) 0

الجدول (1) مكونات الوسط الغذائي MS

ت	اسم المادة	الرمز الكيميائي	الكمية (ملغم/لتر)
أ	**العناصر الغذائية الكبرى** 0		
1	نترات الأمونيوم 0	NH_4NO_3	1650
2	نترات البوتاسيوم 0	KNO_3	1900
3	كلوريد الكالسيوم المائي 0	$CaCl_2.2H_2O$	440
4	كبريتات المغنيسيوم المائية 0	$MgSO_4.7H_2O$	370
5	فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين 0	KH_2PO_4	170
ب	**العناصر الغذائية الصغرى 0**		
1	حامض البوريك 0	H_3BO_3	6.2
2	كبريتات المنغنيز المائية 0	$MnSO_4.4H_2O$	22.3
3	كبريتات الخارصين المائية 0	$ZnSO_4.7H_2O$	8.6
4	مولبيدات الصوديوم المائية 0	$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
5	أيوديد البوتاسيوم 0	KI	0.83
6	كبريتات النحاس المائية 0	$CuSO_4.5H_2O$	0.025
7	كلوريد الكوبلت المائي 0	$CoCl_2.6H_2O$	0.025
8	اثيلين الأمين رباعي حامض الخليك ثنائي الصوديوم 0	Na_2EDTA	37.25
9	كبريتات الحديدوز المائية 0	$FeSO_4.7H_2O$	27.85
ج	**الفيتامينات والأحماض الأمينية** 0		
1	ثايمين حامض الهيدروكلوريك (B_1) Thiamine – HCl.		0.1
2	بايرودوكسين حامض الهيدروكلوريك (B_6) Pyridoxine – HCl.		0.5
3	حامض النيكوتينك (B_3) Nicotinic acid.		0.5
4	مايوانوسيتول Myo – Inositol.		100
5	الكلايسين Glycine.		2
	سكروز Sucrose.		30000
	آكار Agar.		6000

	الرقم الهيدروجيني pH		5.8-5.7

3-1-4:- حساب النسبة المئوية وسرعة الانبات

تم حساب النسب المئوية للانبات وسرع الانبات بعد توقف الانبات كليا لكل المعاملات بعد مرور 4 اسابيع من الزراعة وذلك باستخدام المعادلات الاتية :

عدد البذور النابتة

أ- النسبة المئوية للانبات (%) = ـــــــــــــــــــــــــــ ×100

عدد البذور الكلي

(أ)ن1+(أ+ب)ن2+(ب+ج)ن3+(ج+د)ن4+.....

ب- سرعة الانبات = ـــ

أ + ب + ج + د +.....

اذ تم عد البذور النابتة كل اربعة ايام ابتداء من ظهور اول انبات حتى توقف الانبات كليا وتم ذلك بحساب عدد البذور التي نبتت في كل عد وضربها في عدد الايام اللازمة للانبات بين عد واخر , ثم قسم مجموعها على عدد البذور النابتة الكلية عند اخر عد0

اذ ان أ , ب , ج , د ,....= عدد البذور النابتة في كل عد .

و ن1 , ن2 , ن3 ,ن 4 , ...= الفترة الزمنية مابين عد واخر (يوم)(خليل , 2004) .

3-2: التجارب والمعاملات

3-2-1: التجارب النسيجية

3-2-1-1: اثر نقع البذور بحامضي الاسكوربك والسترك في انبات البذور ونمو بادرات الحبة السوداء

اجريت التجربة لدراسة تأثير نقع البذور بحامض الاسكوربك Ascorbic acid وحامض السترك Citric acid في انبات البذور ونمو بادرات الحبة السوداء المحلية , اذ تم نقع البذور بحامضي الاسكوربك والسترك وبتركيزين هما (100 و 300) ملغم / لتر لكل منهما وكلا على حدة لمدة 10 ساعات وتم نقع بذور اخرى في الماء المقطر كمعاملة مقارنة وبالمدة نفسها(Razaواخرون,2013), عقمت البذور , ثم زرعت على الوسط الغذائي الصلب MS المعقم والخالي من اي اضافات وبواقع 20 بذرة لكل معاملة موزعة على عشر قناني بزراعة بذرتين لكل قنينة زراعة , ومن ثم وضعت في غرفة النمو , واخذت القراءات بعد مرور 4 اسابيع من الزراعة لتحديد مدى استجابة البذور للنمو والتي تمثلت بنسب الانبات وسرعه وطول الرويشة (سم) وعدد الاوراق (ورقة / بادرة) والوزن الطري للبادرات(ملغم) 0

3-2-1-2: اثر نوع الحديد المخلبي المستخدم في وسط MS في الانبات ونمو البادرات

نفذت التجربة من اجل معرفة اثر نوع الحديد المستعمل في وسط MS الصلب في انبات البذور ونمو البادرات , اذ استعمل نوعان من الحديد المخلبي Fe – EDDHA و Fe–EDTA وتم تحضير وسط لكل منهما , ثم وزع كل وسط على 10 قناني سعة 125 مل لكل معاملة , عقمت البذور ثم زرعت على الوسط بواقع 2 بذرة لكل قنينة , بعد مرور 4 اسابيع من الزراعة اخذت القراءات لتحديد نسب الانبات وسرعه وطول الرويشة (سم) وطول الجذير (سم) وعدد الاوراق (ورقة/ بادرة) وعدد الجذور (جذر / بادرة) والوزن الطري للرويشة (ملغم) والوزن الطري للجذير (ملغم) .

3-2-1-3 : اثر .Kin و 2,4–D في نشو الكالس ونموه

اجريت تجربة عاملية لمعرفة تأثير التداخل بين .Kin و 2,4–D في نشو كالس الحبة السوداء ونموه اذ استعملت ثلاث مستويات لكل منهما فكانت لل .Kin(0.5 و 1 و 1.5)

ملغم / لتر , واما 2,4-D فكانت (1 و 1.5 و 2) ملغم / لتر , استعمل في هذه التجربة جزءان من النبات (الرويشة والجذير) ؛ وذلك لمعرفة التركيز الامثل لنشوء ونمو الكالس منهما اذ تم تقسيم الرويشة والجذير الى اجزاء صغيرة بطول 1 سم , ثم زرعت على الوسط الغذائي الصلب MS وبواقع 10 مكررات لكل معاملة , ثم نقلت الزروعات الى غرفة النمو و بعد مرور 4 اسابيع من الزراعة اخذت القياسات لمعرفة تأثير التداخلات بين Kin. و 2,4-D في نسب استجابة نشوء الكالس , والوزنين الطري والجاف للكالس المتكون لتحديد التركيز الامثل لتنفيذ التجارب اللاحقة .

3-2-1-4: اثر نوع الحديد المخلبي في نشوء الكالس ونموه

اجريت التجربة باستخدام وسط MS وقورنت نتائجه مع استبدال الحديد المخلبي Fe- EDTA بالحديد المخلبي Fe – EDDHA لمعرفة تأثير نوعي الحديد المخلبي في نشوء ونمو كالس الحبة السوداء من الرويشة بطول 1سم ماخوذة من بادرات نامية في المختبر وبواقع 10 مكررات لكل معاملة واخذت القراءات بعد مرور 4 اسابيع من الزراعة في صفة نسبة استجابة الكالس والوزن الطري (ملغم) والوزن الجاف (ملغم) علما ان الوسطين قد زودا بمنظمات نمو (2,4-D 2 + Kin 1.5) ملغم / لتر .

شكل(1) بادرة نبات الحبة السوداء والاجزاء المستخدمة منها للتجارب النسيجية

كالس مهيئ للتعريض للمجال المغناطيسي

كالس معرض لغرض انتاج مركبات الزيوت الفعالة

شكل(2) مراحل الدراسة النسيجية تبين انبات البذور ونشوء الكالس لنبات الحبة السوداء

3-2-1-5 : تحديد منحنى نمو الكالس من الرويشة والجذير لنبات الحبة السوداء

اجريت التجربة لتحديد منحنى نمو الكالس الناشئ من الرويشة , والجذير وتحديد وقت وصول نموه الى مرحلة الاستقرار والتي تعد المثلى لانتاج المركبات الثانوية (2004,Ramawat) 0 ومعرفة تأثير تعريض الكالس الى المجال المغناطيسي بشدة 200ملي تسلا لتقدير مركبات الزيوت الفعالة للحبة السوداء اذ تم وزن 500 ملغم / قنينة من الكالس النامي في المختبر وزراعته على الوسط الغذائي الصلب MS المضاف له 2,4-D2 + Kin. 1.5 ملغم / لتر (الوسط الملائم لنمو الرويشة) ، و 2,4-D2 + Kin. 0.5 ملغم / لتر (الوسط الملائم لنمو الجذير) وبواقع 10 مكررات في كل قياس بفترات زمنية متعاقبة 0 و 6 و 12 و 18 و 24 و 30 و 36 يوما.

3-2—1-6: اثر المجال المغناطيسي في نمو كالس الحبة السوداء

نفذت التجربة على كالس الحبة السوداء المتكون من الرويشة والمزروع على وسط MS مزودا بمنظمات النمو 2,4-D 2 + Kin. 1.5 ملغم / لتر لبيان دور المجال المغناطيسي بشدة 200 ملي تسلا ولثلاثة مغانط (التميمي,2012) في نمو الكالس وانتاج مركبات الزيوت الفعالة منه ، تم تعريض الكالس النامي في المختبر وهو بعمر 20 يوما للمجال المغناطيسي لمدة 10 ايام (غير معرض, وشمالي, وجنوبي, وشمالي+جنوبي) وتم تقدير الزيوت المتوافرة في الكالس بعد مرور 30 يوما استنادا على نتائج التجربة السابقة 0

3-2-2: التجارب الحقلية

3-2-2-1: اثر نقع البذور بحامضي الاسكوربك والسترك في الانبات ونمو بادرات الحبة السوداء

اجريت التجربة الحقلية في حقول كلية الزراعة /قسم البستنة وهندسة الحدائق وكان الهدف من اجراء التجربة هو اختبار تأثير نقع بذور نبات الحبة السوداء بحامضي الاسكوربك والسترك بتركيزي 100 و300 ملغم/ لتر لكل منهما في انبات البذور وتحسين نمو البادرات , بالاضافة الى نقع البذور بالماء المقطر (معاملة المقارنة) ولمدة 10ساعات قبل الزراعة , اخذت 20 بذرة لكل معاملة , ووزعت على 5 سنادين بواقع 4 بذور لكل سندانة في جميع المعاملات , وتم حساب سرع الانبات كل 4 ايام منذ ظهور الانبات الاول الى توقف الانبات بشكل كامل , ثم اخذت القراءات بعد 4 اسابيع من الزراعة

لحساب النسبة المئوية للانبات وسرعة الانبات (بذرة / يوم) , وطول الرويشة (سم) وطول الجذير (سم) , وعدد الاوراق (ورقة / بادرة) , وعدد الجذور (جذر / بادرة) , والوزن الطري للبادرات (ملغم) وبطريقة التجارب السابقة نفسها 0

3-2-2-2: اثر الرش بحامضي الاسكوربك والسترك في نمو وحاصل نبات الحبة السوداء

ان الهدف من اجراء التجربة هو اختبار تأثير الرش الورقي بالتراكيز المختلفة من حامض الاسكوربك وحامض السترك في النمو والحاصل لنبات الحبة السوداء النامية في الحقل , زرعت البذور بتاريخ 10-12-2012 فـــي اصص (سنادين) تحتوي على التراب النـــهري (تربة مزيجة) موزعا على 60 اصيص وبمقدار 3 كيلوغرام/ اصيص و5 بذرات لكل اصيص خفت فيما بعد الى 2 نبات وجرى ري الشتلات وتسميدها بحسب الحاجة , قسمت الاصص الى 5 معاملات , تكونت كل معاملة من 12 اصيص مقسمة الى 3 وحـدات تجريبية وزعت عشوائيا على مساحة التجربة باستخدام تصميم RCBD , ثم رشت النباتات ورقيا بحامضي الاسكوربك والسترك بتركيزي 50 و100 ملغم / لتر لكل منهماعلى انفراد في حين رشت معاملة المقارنة بالماء المقطر وبواقع ثلاث رشات بين رشة واخرى 14 يوما وتم ذلك في الساعات الاولى من النهار وحتى البلل الكامل ابتداء من 12/ 3/ 2012 واخذت القراءات بتاريخ 30/ 2012/5 لمعرفة اثر الرش في تحسين صفات النمو الخضري وحاصل نبات الحبة السوداء .

3-3: التقدير الكمي والنوعي لمركبات الزيوت الفعالة من النبات النامي في الحقل والكالس المعرض للمجال المغناطيسي

قدرت مركبات الزيوت الفعالة في الكالس وفي جذور , وسيقان , وازهار , وبذور النباتات المزروعة في ظروف الحقل باستخدام جهاز كروموتوكرافي السائل ذي الاداء العالي HPLC، اذ جفف الكالس على درجة 60 مْ ولمدة 24 ساعة في حين جففت الاجزاء النباتية والبذور هوائيا بدرجة حرارة الغرفة , ثم طحنت جميع الاجزاء والكالس بوساطة الجفنة الخزفية ، تم التقدير بالاعتماد على النماذج القياسية المقدرة ، اذ وضع مستخلص العينات والمحلول القياسي في جهاز HPLC ذي النوع FLC (Fast Liquid Chromotographic) الماني المنشأ ، لتحديد زمن الاحتجاز (Retention time) ومساحة حزمة العينة (Area) لكل من المحلول القياسي والعينة , وتم حقن المستخلص في عمود (column) من النوع 50 x 4.6 mm I.D وطور صلب C – 18 وطور متحرك (mobile phase) يتكون من Water : HPLC methanol : 2- propanol ونسبة 50 : 43 : 7 v/v وكانت سرعة جريان الجهاز 1.2 مل / دقيقة وقيست القراءات على طول موجي قدره 254 nm وبحسب تركيز كل عينة من خلال استعمال المعادلة الاتية (Hadi ، 1999) :

$$\text{تركيز النموذج} = \frac{\text{مساحة حزمة النموذج}}{\text{مساحة حزمة القياس}} \times \text{تركيز المحلول القياسي} \times \text{عدد مرات التخفيف}$$

3-4: - التصاميم التجريبية والتحاليل الاحصائية

استخدم التصميم العشوائي الكامل (CRD) Completely Randomized Design في تنفيذ التجارب النسيجية وتصميم (RCBD) للتجربة الحقلية وتمت المقارنة بين المتوسطات على وفق اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى احتمال 5% واستعمال البرنامج الجاهز SAS (1999) لتحليل البيانات , وتمت مقارنة المتوسطات لمركبات الزيوت الفعالة على وفق اختبار T test تحت مستوى احتمال 5 % و 1 % (الساهوكي و وهيب , 1990) .

B-النباتات بعمر52عند الرشة الاولى بالاحماض

A- الزراعة وبداية الانبات

C– نباتات الحبة السوداء في مرحلة التزهير

D– زهـــــــــــــــرة

E – جـــرس

F– بـــذور الحاصل

شكل(3) مراحل مختلفة من حياة نبات الحبة السوداء النامي في الحقل 0

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

4 : النتائج والمناقشة

4 – 1 : التجارب النسيجية

4-1-1: أثر النقع بحامضي الاسكوربك والسترك في انبات البذور ونمو بادرات الحبة السوداء

1: نسبة الانبات %

تبين النتائج الموضحة في الجدول(2) عدم توافر فروق معنوية بين المعاملات في نسبة الانبات , اذ اعطت معاملة النقع بحامض السترك بتركيز 300 ملغم / لتر اعلى نسبة انبات بلغت 80 % تلتها معاملة النقع بحامض الاسكوربك بتركيز 300 ملغم/لتر التي اعطت نسبة انبات بلغت 75 % واعطت معاملة النقع بالماء المقطر (المقارنة) نسبة انبات بلغت 65 % , في حين بلغت نسبة الانبات 50 % في معاملتي النقع بحامضي الاسكوربك والسترك بتركيز 100 ملغم / لتر.

2- سرعة الانبات (بذرة / يوم)

توضح النتائج في الجدول (2) ان معاملة النقع بحامض السترك بتركيز 300 ملغم / لتر اعطت اعلى سرعة للانبات بلغت 9.81 بذرة / يوم تلتها معاملة النقع بحامض الاسكوربك بتركيز 300 ملغم / لتر بسرعة انبات بلغت 9.67 بذرة / يوم ثم تلتها معاملة النقع بحامض الاسكوربك بتركيز 100 ملغم / لتر اذ سجلت سرعة انبات بلغت 7.57 بذرة / يوم , في حين اعطت معاملة النقع بالماء المقطر (المقارنة) سرعة انبات بلغت 6.85 بذرة / يوم , واعطت معاملة النقع بحامض السترك بتركيز 100 ملغم / لتر اقل سرعة انبات بلغت 6.10 بذرة / يوم 0

3- طول الرويشة (سم)

يتضح من الجدول (2) عدم توافر فروق معنوية بين المعاملات في صفة طول الرويشة وان افضل متوسط لطول للرويشة بلغ 3.72 سم عند معاملة النقع بحامض الاسكوربك بتركيز 300 ملغم / لتر تلتها معاملة النقع بحامض الاسكوربك بتركيز 100 ملغم / لتر بمتوسط طول بلغ 3.50 سم , في حين سجلت معاملتا النقع بحامض السترك بتركيزي300و 100 ملغم / لتر متوسط طول بلغ 3.37 و 3.14 سم على التوالي قياسا بمعاملـــة المقارنة التي اعطت اقل متوسط لطول الرويشة وبلغ 3.11 سم0

جدول(2) أثر نقع بذور الحبة السوداء بحامضي الأسكوربك والسترك فى انبات البذور والصفات الخضرية للبادرات بعد مرور4 اسابيع من انبات البذور على وسط MS 0

الصفات المدروسة / معاملات النقع (ملغم/لتر)	النسبة المئوية للانبات%	سرعة الانبات (بذرة/يوم)	طول الرويشة (سم)	طول الجذير (سم)	عدد الاوراق (ورقة/ بادرة)	الوزن الطري (ملغم)
المقارنة	65 AB	6.85	3.11 A	1.61 C	2.30 B	56.00 B
حامض سترك100	50 AB	6.10	3.14 A	1.99 BC	3.67 A	55.50 B
حامض سترك300	80 A	9.81	3.37 A	2.77 AB	3.00 AB	147.69 A
حامض اسكوربك100	50 AB	7.57	3.50 A	2.38 ABC	2.17 B	57.00 B
حامض اسكوربك300	75 A	9.67	3.72 A	3.28 A	2.00 B	89.89 AB

المتوسطات التي تحمل أحرف متشابهة لا تختلف فيما بينها معنوياً بحسب أختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%0

4- طول الجذير (سم)

توضح النتائج في صفة طول الجذير (الجدول 2 والشكل4) توافر فروق معنوية بين المعاملات اذ تفوقت معاملة النقع بحامض الاسكوربك بتركيز 300 ملغم / لتر والتي اعطت متوسط طول للجذير بلغ 3.28 سم معنويا على معاملتي النقع بحامض السترك

بتركيز100 ملغم / لتر ومعاملة المقارنة واللتين اعطتا متوسط طول الجذير بلغ 1.99 سم و1.61 سم على التوالي في حين بلغ متوسط طول الجذير في معاملة النقع بحامض السترك بتركيز 300 ملغم / لتر ومعاملة النقع بحامض الاسكوربك بتركيز100 ملغم / لتر 2.77 سم و 2.38 سم علـى التوالي0

5- عدد الاوراق (ورقة / بادرة)

بينت نتائج صفة عدد الاوراق (الجدول2) فروقا معنوية بين المعاملات فسجلت معاملة النقع بحامض السترك بتركيز 100 ملغم / لتر تفوقا معنويا في متوسط عدد الاوراق بلغ 3.67 ورقة / بادرة متفوقة بذلك على المعاملات جميعا باستثناء معاملـة النقع بحامض السترك بتركيز 300 ملغم / لتر التي اعطت متوسط لعدد الاوراق بلغ 3.00 ورقة / نبات في حين اعطت معاملتا النقـع بحامض الاسكوربك بتركيزي 100 و 300 ملغم / لتر متوسط عدد للاوراق بلغ 2.17 و2.00 ورقة / بادرة علـى التوالي في حين بلغ متوسط عدد الاوراق في معاملة المقارنة 2.3 ورقة / بادرة 0

6- الوزن الطري (ملغم)

تشير النتائج الموضحة في الجدول(2) الى توافر فروق معنوية فـي صفة الوزن الطري للبادرات اذ تفوقت معاملة النقع بحامض السترك بتركيز 300 ملغم / لتر بتسجيلها لاعلى متوسط وزن للبادرات بلغ 147.69 ملغم/بادرة متفوقة بذلك معنوياعلى جميع المعاملات باستثناء معاملة النقع بحامض الاسكوربك بتركيز 300 ملغم / لتر التي اعطت متوسط وزن بلغ 89.89 ملغم/ بادرة في حين اعطت معاملـة النقع بحامض الاسكوربك بتركيز 100 ملغم / لتر متوسط وزن بلغ 57.00 ملغم واعطت معاملة النقـع بحامض السترك

بتركيز 100 ملغم / لتر ومعاملة المقارنة اقل متوسط وزن بلغ 55.50 و 56.00 ملغم/ بادرة على التوالي 0

ان زيادة نسبة وسرعة الانبات ربما يعود الى الدور الذي تلعبه الاحماض كحامض الاسكوربك والسترك في التخديش الكيميائي (chemical scarification) لاغلفة البذور , وكذلك ازالة المواد الشمعية والمواد الاخرى من غلاف البذرة مما يسهل عملية نفاذ الماء والاوكسجين الى داخل البذرة فيحفز عملية الانبات , وقد يعود السبب لدور الاحماض في تنشيط النظام الانزيمي من خلال تقليل تأثير حامض الابسسك التثبيطي للانزيمات داخل البذور كانزيم catalase و poly phenol oxidase و isoperoxidase(سلمان,1988) , وتوفير pH ملائم لزيادة نشاط الانزيمات المسؤولة عن عمليات الانبات ونمو البادرات والمتوافرة اصلا في البذور كانزيم B-amylase و Amylopactine و glucosidase و Phosphtase او المساهمة في تكوين الانزيمات الجديدة المتكونة بعد الانبات مثل الفا amylase و Protase و Lipase و Nitrate reductase 0العائلة الشقيقية تمتلك نوعا من الكمون يدعى كمون الجنين غير الناضج (Immuture Embryo) كما في بعض انواع جنس الدردار (لسان العصفور) *Fraxinus* والشقيق (شقائق النعمان) *Ranunculus* والكمون الناشئ بسبب عدم نضج الاجنة يمكن كسره فقط بالسماح للجنين باكتمال تكشفه في داخل البذرة تحت ظروف بيئية للانبات (دفلن وويذام , 1991) 0 وربما يمتلك جنس *Nigella* هذا النوع من الكمون فقد يكون النقع بحامضي الاسكوربك والسترك بتركيز 300 ملغم / لتر ووجود البيئة الملائمة وهي الوسط الغذائي الصناعي الدائم الرطوبة هي من العوامل التي تعالج سكون البذور من نوع الجنين غير الناضج 0

وان تفوق معاملات النقع بكلا الحامضين على معاملة المقارنة في معظم صفات النمو للبادرات قد يعود لتشجيع الاحماض لعمليات الانبات وان الزيادة في تركيز الحامضين قد حسن من العمليات الفسيولوجية داخل البادرات , من خلال تأثيرها في عملية استطالة الخلايا وانقسامها (Oertli , 1987) 0 وان الزيادة في الوزن الطري للبادرات قد كان بسبب الزيادة في طول الجذور التي تسببت في زيادة امتصاص المواد الغذائية من الوسط وزيادة العمليات الايضية مما انعكس ايجابا في صفة عدد الاوراق والوزن الطري , اذ يعد حامض الاسكوربك من المواد المضادة للاكسدة والذي يؤدي الـــى تحفيز وتشجيع النمو وان تأثيره يكون مشابها لتأثير منظمات النمو المشجعة لنمو النباتات (Ahmed واخرون , 1997 وPrestamo و Arroyo , 1999 و Johnson واخرون , 1999) 0 وتتفق هذه النتائج مع ماحصل عليه Rafique واخرون (2011) عند نقع بذور نبات اليقطين بحامض الاسكوربك من تحسن في معظم الصفات المدروسة 0 و تتفق ايضا مع ماوجده Dehghan واخرون (2011) عند نقع بذور نبات البزاليا بحامض الاسكوربك تفوقا للجذير في الطول وفي الوزن الطري , في حين تفوقت معاملة المقارنة في الوزن الطري للرويشة 0 كما تتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه Raza واخرون (2013) عند نقع نبات الباميا بحامض الاسكوربك لمدة 10 ساعات قبل الزراعة0

شكل (4) أثر نقع بذور الحبة السوداء بحامضي الأسكوربك والسترك في الصفات الخضرية للبادرات بعد مرور4 اسابيع من زراعة البذور على وسط MS الخالي مـــن منظمات النمو (A اسكوربك B,300 اسكوربك 100, C سترك300 , D سترك 100, E المقارنة) ملغم / لتر 0

4-1-2: اثر مصدر الحديد المخلبي في انبات البذور ونمو بادرات الحبة السوداء

1- نسبة الانبات %

تبين النتائج الموضحة في الجدول (3) عدم توافر فروق معنوية بين نوع الحديد المخلبي المضاف الى وسط MS اذ اعطت معاملة الحديد Fe-EDTA نسبة انبات بلغت 45 % واعطت معاملة الحديد Fe-EDDHA نسبة انبات بلغت 35 % .

2- سرعة الانبات (بذرة / يوم) اظهرت النتائج (الجدول 3) ان معاملة الحديد Fe-EDTA اعطت سرعة انبات بلغت 5.42 بذرة / يوم , في حين اعطت معاملة الحديد Fe-EDDHA سرعة انبات بلغت3.17 بذرة / يوم0

3- طول الرويشة (سم)

اظهرت النتائج الموضحة في الجدول (3) فروقا معنوية بين المعاملات اذ تفوقت معاملة مصدر الحديد Fe-EDTA بمتوسط طول للرويشة بلغ 4.50 سم على معاملة مصدر الحديد Fe-EDDHA التي بلغ فيها متوسط طول الرويشة 3.33 سم .

4- عدد الاوراق (ورقة/بادرة)

تبين نتائج (الجدول 3) ان معاملة مصدر الحديد Fe-EDTA سجلت متوسط عدد اوراق بلغ 2.33 ورقة / بادرة وان معاملة مصدر الحديد Fe-EDDHA سجلت متوسط لعدد الاوراق بلغ 2.17 ورقة / نبات ولم تظهر نتائج التحاليل الاحصائية فروقا معنوية بين المعاملات 0

5- الوزن الطري للرويشة (ملغم)

تبين النتائج الموضحة في جدول (3) تفوق معاملة مصدر الحديد Fe-EDTA معنويا بمتوسط الوزن الطري للرويشة اذ بلغ 24.00 ملغم/بادرة على معاملة مصدر الحديد Fe-EDDHA التي اعطت متوسط وزن طري بلغ 14.83 ملغم /بادرة0

جدول (3). أثر مصدر الحديد المخلبي المستعمل في وسط MS في انبات البذورونمو بادرات نبات الحبة السوداء بعد مرور 4 اسابيع من الانبات0

الصفات / نوع الحديد	النسبة المئوية للانبات %	سرعة الانبات بذرة/ يوم	طول الرويشة (سم)	عدد الاوراق / بادرة	الوزن الطري للرويشة (ملغم)	طول الجذير (سم)	عدد الجذور / بادرة	الوزن الطري للجذير (ملغم)
Fe-EDDHA	35 A	3.17	3.33 B	2.17 A	14.83 B	2.95 A	1.17 A	13.18 B
Fe-EDTA	45 A	5.42	4.50 A	2.33 A	24.00 A	3.25 A	1.33 A	31.67 A

*المتوسطات التي تحمل أحرف متشابهة لا تختلف فيما بينها معنوياً بحسب أختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%

6- طول الجذير (سم)

تشير النتائج الموضحة في الجدول (3) الى عدم توافر فروق معنوية بين معاملتي مصدر الحديد في صفة طول الجذير اذ اعطت معاملة مصدر الحديد Fe-EDTA متوسط طول للجذير بلغ 3.25 سم في حين ان معاملة مصدر الحديد Fe-EDDHA سجلت متوسط طول بلغ 2.95 سم .

7- عدد الجذور (جذر/بادرة)

توضح النتائج (جدول 3) عدم توافر فروق معنوية في صفة عدد الجذور اذ اعطت معاملة مصدر الحديد Fe-EDTA متوسط عدد للجذور بلغ 1.33 جذر / بادرة في حين اعطت معاملة مصدر الحديد Fe-EDDHA متوسط لعدد الجذور بلغ 1.17 جذر / بادرة 0

8- الوزن الطري للجذير (ملغم)

تبين النتائج الموضحة في الجدول(3) تفوقا لمعاملة الحديد المخلبي Fe-EDTA معنويا بمتوسط وزن طري للجذير بلغ 31.67 ملغم / بادرة قياسا بمعاملة الحديد المخلبي Fe-EDDHA التي اعطت متوسط وزن طري بلغ 13.18 ملغم/بادرة .

قد يعود التفوق في صفتي الوزن الطري للرويشة والجذير الى زيادة امتصاص عنصر الحديد المجهز من النوع Fe-EDTA وان الحديد الممتص بشكل جيد يعمل على تحسين نمو البادرات من خلال تأثيره في العمليات الحيوية داخل الخلايا النباتية ومنها دوره في تصنيع DNA وبناء الخلايا (Dunlap و Robaker , 1988), او لدوره بوصفه عاملا مساعدا للاوكسين (IAA) الذي يعمل على استطالة الخلايا وبالتالي زيادة طول الرويشة والوزن الطري نتيجة لزيادة حجم الخلايا وامتلائها بالماء والمركبات الاخرى كالاحماض

النووية والبروتينات 0 فضلا عن انه يشترك في بناء انزيم البيروكسيديز والذي له دور اساس فـــي نمو الجـــــــــذور (Naija واخرون , 2008) 0

4-1-3: اثر اضافة .Kin و 2,4-D في نشوء الكالس من المجموع الخضري لبادرات الحبة السوداء

4-1-3-1 : نسبة نشوء الكالس

يتضـح مـن النتـائج المبينـة فـي الجـدول (4) لتـأثير .Kinان نسـبة نشـوء الكـالس بلغـت 100%عنـد تجهيـز الوسـط الغـذائي بتركيـز 1 او1.5ملغـم / لتـر فـي حـين بلغـت النسـبة 93.33% عنـد اضـافة 0.5 ملغـم / لتـر مـن.Kin الـى الوسـط الغـذائي امـا عـن تـأثير اضـافة 2,4-D فبينـت النتـائج ان نسـبة نشـوء الكـالس بلغـت 100%عنـد تجـــهيز الوســـط الغذائـــي بتركيـــز2 ملغـم / لتـــر, فـــي حـــين بلغـــت96.66% عنـــد تجهيـز الوسـط بتركيـز1 او 1.5 مـلغم / لتـر ولـم تظهـر التحاليـل الاحصـائية فروقـا معنوية بين المعاملات 0

واما عن تاثير التداخل بين.Kin و 2,4-D فقد بلغت نسبة نشوء الكالس المستحث من الرويشة 100% في المعاملات جميعا باستثناء المعاملتين 0.5 .Kin +1 او 2 2,4-D ملغم / لتر اللتين اعطتا نســـبة استجابة بلغت 90% لكل منهما ولم تظهر نتائج التحاليل الاحصائية فروقا معنوية بين المعاملات 0

4-1-3-2: الوزن الطري للكالس

تظهرالنتائج المبينة في الجدول(5) انه ليس هناك فروق معنوية في تأثير Kin. و2,4-D كلا على حدة اما عن تأثير Kin. اعطت معاملة 0.5 ملغم / لتر اعلى وزن طري بلغ 919.6 ملغم في حين اعطت معاملتا 1 و1.5 ملغم / متوسط وزنا طريا للكالس بلغ 871.10 و 733.20 ملغم على التوالي , اما عن تأثير اضافة 2,4-D فبينت النتائج ان معاملة 1ملغم / لتر اعطت اعلى وزن طري بلغ 963.10 ملغم , في حين اعطت معاملتا 2 و 1.5 ملغم / لتر وزنا طريا بلغ 845.20 ملغم و 715.50 ملغم على التوالي0 اما عن تأثير التداخل بين الكاينتين و2,4-D فقد بينت النتائج (جدول 5) ان اعلى متوسط وزن طري للكالس بلغ 1221.80 ملغم عند معاملة Kin.1 + 1 2,4-D ملغم/ لتر التي تفوقت معنويا على المعاملتين Kin.1.5 + 1.5 2,4-D ملغم / لتر و Kin.1 + 2 2,4-Dملغم / لتر اللتين سجلتا اقل متوسط وزن طري للكالس بلغ 512.20 و605.60 ملغم على التوالي0

4-1-3-3:الوزن الجاف للكالس

اما عن تأثير اضافة Kin. في متوسط الوزن الجاف للكالس النامي على وسط MS بعد مرور 45 يوما من الزراعة فقد بينت النتائج (الجدول 6) ان اعلى وزن للكالس بلغ 63.05 ملغم في معاملة 1.5ملغم / لتر , في حين اعطت معاملة 1 و0.5 ملغم/ لتر 55.41 و 53.48 ملغم على التوالي , واما عن تاثير 2,4-D فبينت النتائج ان اعلى متوسط وزن جاف بلغ 60.05 ملغم , في حين بلغ 57.96 و 53.93 ملغم في معاملتي 1 و1.5ملغم/لتر على التوالي ولم تظهر التحاليل الاحصائية فروقا معنوية بين المعاملات0

وبينت نتائج التداخل بين .Kinو2,4-D (الجدول 6) عدم توافر فروق معنوية بين المعاملات اذ بلغ اعلى متوسط وزن جاف للكالس 67.16 ملغم عـند معاملة 1.5 .Kin + 2 2,4-D ملغم/ لتر فـي حـين بلــغ اقل متوسط وزن للكالــس 45.13 ملغم عنـد معاملـة 1 .Kin +1.5 2,4-D ملغم/لتر0

جدول(4) اثر .Kin و2,4-D في نسب الاستجابة لنشوء الكالس بعد مرور45 يوما من زراعة المجموع الخضري لنبات الحبة السوداء على وسط MS

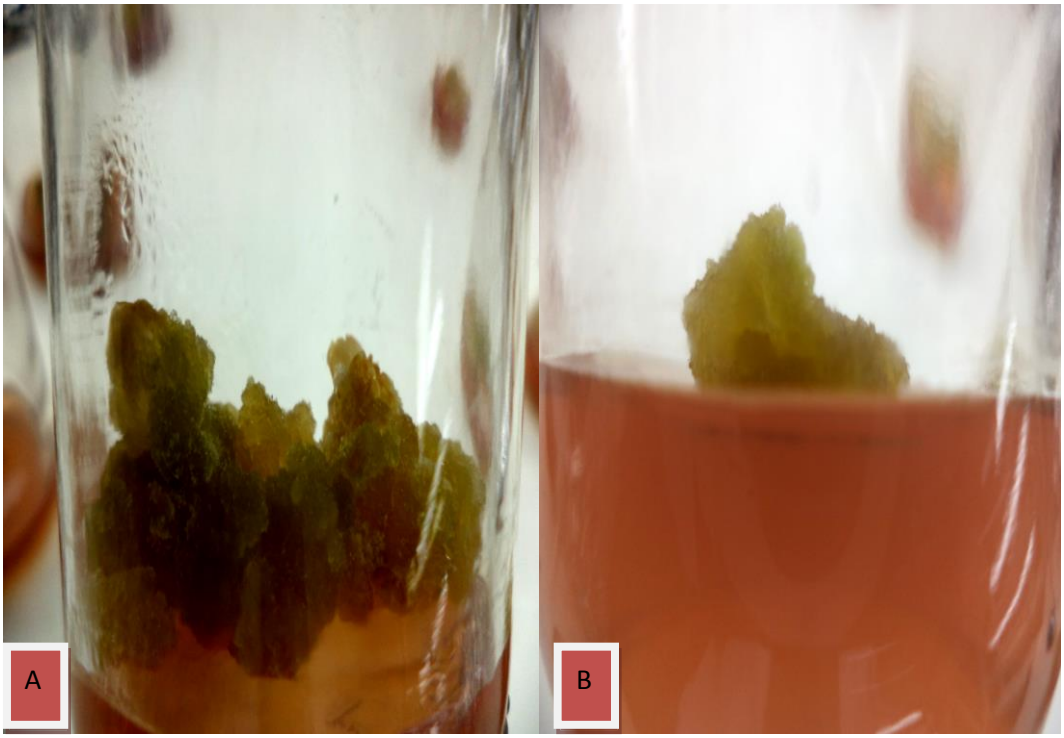
النسبة المئوية لنشوء الكالس%				
2,4-D ملغم/لتر / Kin ملغم/لتر	1	1.5	2	المعدل (تاثير .Kin)
0.5	90 A	90 A	100 A	93.33 A
1	100 A	100 A	100 A	100 A
1.5	100 A	100 A	100 A	100 A
المعدل(تاثير 2,4-D)	96.66 A	96.66 A	100 A	

*المتوسطات التي تحمل الحرف نفسه لكل عمود لاتختلف معنويا فيما بينها بحسب اختبار دنكن متعدد الحدودعند مستوى احتمال 5%

جدول (5) اثر .kin و2,4-D في الوزن الطري(ملغم) للكالس الناشئ من المجموع الخضري لنبات الحبة السوداء بعد مرور45 يوما من الزراعة على وسط MS.

2,4-D ملغم/لتر / Kin ملغم/لتر	1	1.5	2	المعدل
0.5	991.50 AB	848.70 AB	918.60 AB	919.60 A
1	1221.80 A	785.70 AB	605.60 B	871.10 A
1.5	675.90 AB	512.20 B	1011.40 AB	733.20 A
المعدل	963.10 A	715.50 A	845.20 A	

*المتوسطات التي تحمل الحرف نفسه لكل عمود لاتختلف معنويا فيما بينها بحسب اختبار دنكن متعدد الحدودعند مستوى احتمال 5%



شكل (5) اثر .kin و2,4-D في الوزن الطري للكالس المجموع الخضري لنبات الحبة السوداء بعد مرور45 يوما من الزراعة على وسط MS (A اكبركالس باضافة2,4-D1+Kin.1 ,B اصغر كالس باضافة2,4-D1.5+Kin.1.5 ملغم/لتر) 0

جدول (6)اثر .kin و 2,4-Dفي الوزن الجاف (ملغم) للكالس الناشئ من المجموع الخضري لنبات الحبة السوداء بعد مرور45 يوما من الزراعة على وسط 0MS

2,4-D ملغم/لتر / Kin ملغم/لتر	1	1.5	2	المعدل
0.5	58.20 A*	53.21 A	49.02 A	53.48 A
1	57.14 A	45.13 A	63.96 A	55.41 A
1.5	58.55 A	63.44 A	67.16 A	63.05 A
المعدل	57.96 A	53.93 A	60.05 A	

*المتوسطات التي تحمل الحرف نفسه لكل عمود لاتختلف معنويا فيما بينها بحسب اختبار دنكن متعدد الحدودعند مستوى احتمال 5%

4-1-4: اثر اضافة .Kin و2,4-D في نشوء ونمو الكالس الناشئ من جذور بادرات الحبة السوداء

4-1-4-1: نسبة تكون الكالس

يتضح من النتائج (الجدول 7) لتأثير .Kinان نسبة نشوء الكالس بلغت 100% عند تجهيز الوسط الغذائي بتركيزي 1 و 1.5 ملغم / لتر وبفارق معنوي عن معاملة تجهيز الوسط بتركيز 0.5 ملغم / لتر من .Kinالتي بلغت 86.66% , اما عن تأثير اضافة 2,4-D فبينت النتائج ان نسبة نشوء الكالس بلغت 100% عند تجهيز الوسط الغذائي بتركيز2 ملغم / لتر , في حين بلغت93.33% عند تجهيز الوسط بتركيز 1 و 1.5 ملغم / لتر ولم تظهر التحاليل الاحصائية

فروقا معنوية بين المعاملات في تأثير 2,4–D في نسبة نشوء الكالس من الجذير بعكس تاثير .Kin المعنوي في نسبة نشوء الكالس 0

اما عن تأثير التداخل بين.Kin و 2,4–D فقد بلغت نسبة نشوء الكالس المستحث من الجذير 100% في جميع المعاملات باستثناء المعاملتين0.5 .Kin+1 او1.5 2,4–D ملغم / لتر لتر اللتين اعطتا نسبة استجابة بلغت 80% لكل منهما , ولم تظهر نتائج التحاليل الاحصائية فروقا معنوية بين المعاملات 0

جدول (7) اثر .kin و 2,4–D في نسب الاستجابة لنشوءالكالس بعد مرور45 يوما من زراعة المجموع الجذري لنبات الحبة السوداءعلى وسط MS.

التراكيز(ملغم/لتر)	النسبة المئوية لنشوء الكالس%			المعدل (تاثير.Kin)
2 ,4 – D ملغم/لتر / .Kin ملغم/لتر	1	1.5	2	
0.5	80 A*	80 A	100 A	86.66 B
1	100 A	100 A	100 A	100 A
1.5	100 A	100 A	100 A	100 A
(تاثير2,4–D)	93.33 A	93.33 A	100 A	

*المتوسطات التي تحمل الحرف نفسه لكل عمود لاتختلف معنويا فيما بينها بحسب اختبار دنكن متعدد الحدودعند مستوى احتمال 5%

4–1–4–2: الوزن الطري للكالس

تشير النتائج المبينة في الجدول (8) الى توافر اختلافات معنوية بين تأثير تراكيز .Kinفي صفة الوزن الطري للكالس , اذ تفوقت معاملة 0.5 ملغم / لتر التي اعطت متوسط وزن طري بلغ 738.90 ملغم على معاملة 1.5 ملغم / لتر والتي اعطت 349.1 ملغم ,

في حين اعطت معاملة 1ملغم / لتر متوسط وزن طري بلغ 535.0 ملغم 0 اما عن تأثير اضافة 2,4-D فبينت النتائج ان معاملة 2 ملغم /لتر اعطت اعلى متوسط وزن طري بلغ 695.8 ملغم , في حين اعطت معاملتا 1.5 و 1ملغم / لتر متوسط وزن طري بلغ 502.3 و 424.9 ملغم على التوالي , ولم تظهر نتائج التحاليل الاحصائية فروقا معنوية بين المعاملات0

واما عن تأثير تداخل .Kin مع 2,4-D جدول(8) فقد اعطت معاملة (0.5 .Kin + 2 2,4-D) ملغم / لتر اعلى متوسط وزن طري بلغ 936.70 ملغم متفوقة بذلك معنويا على معاملتي 1.5 ملغم / لتر .Kin مع 1 او1.5 ملغم/ لتر 2,4-Dاللتين اعطتا متوسط وزن طري للكالس بلغ 267.90 و 334.40 ملغم على التوالي 0

جدول (8)اثر .kin و 2,4-D في الوزن الطري(ملغم) للكالس الناشئ من المجموع الجذري لنبات الحبة السوداء بعد مرور45 يوما من الزراعة على وسط 0MS

2,4-D ملغم/لتر / Kin ملغم/لتر	1	1.5	2	المعدل
0.5	560.30 AB*	719.60 AB	936.70 A	738.90 A
1	446.30 AB	452.90 AB	705.80 AB	535.00 AB
1.5	267.90 B	334.40 B	445.00 AB	349.10 B
المعدل	424.90 A	502.30 A	695.80 A	

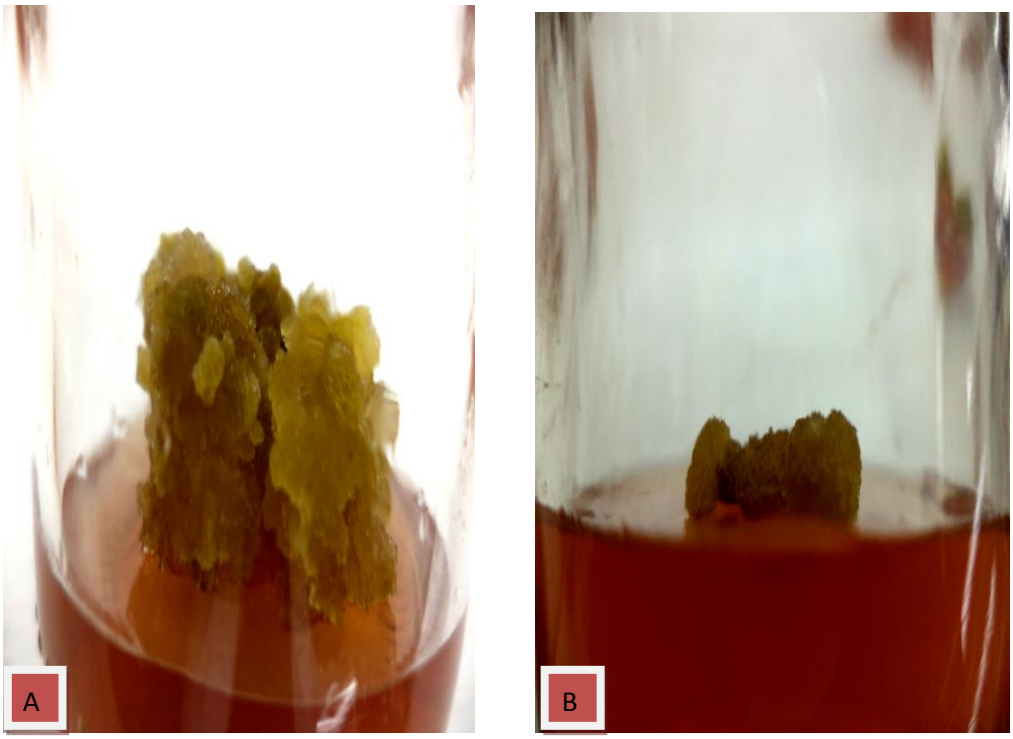
*المتوسطات التي تحمل الحرف نفسه لكل عمود لاتختلف معنويا فيما بينها بحسب اختبار دنكن متعددالحدودعند مستوى احتمال 5%

4-1-4-3: الوزن الجاف للكالس

تبين النتائج الموضحة في الجدول (9) ان هناك اختلافات معنوية بين تأثير تراكيز .Kinفي صفة الوزن الجاف للكالس , اذ تفوقت معنويا معاملة 0.5 ملغم / لتر التي اعطت

اعلى متوسط وزن جاف بلغ 63.90 ملغم على معاملتي 1 و 1.5 ملغم / لتر اللتين اعطتا متوسط وزن جاف بلغ 44.33 ملغم و43.58 ملغم على التوالي , اما عن تأثير اضافة 2,4-Dفتشير النتائج الى توافر اختلافات معنوية بيـــن المعاملات اذ اعطت معاملة 2 ملغم / لتر افضل وزن جـــــاف بلـــغ 64.83 ملغم وبفارق معنوي عن المعاملتين 1 و 1.5ملغم / لتر اذ اعطتا متوسط وزن بلغ 45.33 ملغم و41.99 ملغم على التوالي 0

اما عن تاثير تداخل Kin. مع 2,4-D فتشير النتائج (الجدول 9) الى توافر فروق معنوية بين المعاملات اذ تفوقت معاملة 2,4-D 2+ Kin.0.5 ملغم / لتر التي اعطت متوسط وزن جاف بلغ 79.82 ملغم وبفارق معنوي على المعاملات جميعا ماعدا المعاملتين 2,4-D 2 + Kin.1 ملغم / لتر و2,4-D 1 + Kin.0.5 اذ بلغ فيهما متوسط وزن الكالس الجاف 66.92 ملغم و59.72 ملغم على التوالي , في حين اعطت المعاملة 2,4-D 1.5 + Kin.1 ملغم / لتر اقل متوسط وزن جاف للكالس بلغ 30.81ملغم 0



شكل (6) اثر .kin و 2,4-D في الوزن الطري للكالس الناشئ من المجموع الجذري لنبات الحبة السوداء بعد مرور45 يوم من الزراعة على وسط MS (A اكبركالس باضافة 2,4-D 2+Kin.0.5, B اصغر كالس باضافة 2,4-D1+Kin.1.5ملغم/لتر)0

جدول (9) اثر .kin و 2,4–D في الوزن الجاف(ملغم) للكالس الناشئ من المجموع الجذري لنبات الحبة السوداء بعد مرور45 يوما من الزراعة على وسط 0MS

2,4–D / KIN ملغم/لتر	1	1.5	2	المعدل
0.5	59.72 ABC	52.17 BC	79.82 A*	63.90 A
1	36.27 CD	30.81 D	66.92 AB	44.33 B
1.5	39.99 CD	43.00 BCD	47.74 BC	43.58 B
المعدل	45.33 B	41.99 B	64.83 A	

***المتوسطات التي تحمل الحرف نفسه لكل عمود لاتختلف معنويا فيمابينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدودعند مستوى احتمال 5%**

وقد يعود السبب في ظهور فروق معنوية في نسبة استجابة الكالس من المجموع الجذري عند تزويد الوسط بالتراكيز 0.5 .Kin + 2 2,4–D ملغم/لتر و 0.5.Kin + 2,4–D 2 ملغم/لتر الى تحقيق حالة التوازن بين تراكيز منظمات النمو الداخلية للنبات والخارجية (المضافة الى الوسط) اذ تلعب حالة التوازن بين المحتوى الداخلي للنبات من الهورمونات ومنظمات النمو المضافة الى الوسط الغذائي دورا مهما في نشوء الكالس ونموه من خلال تحفيز انقسام الخلايا وتطور نموهاالى الكالس (Skoog و Miller ,1957)وان ظهور فروق معنوية في نسبة نشوء الكالس من المجموع الجذري وعدم ظهورها في حالة نشوء الكالس من المجموع الخضري قد يعود الى تباين الاجزاء النباتية في محتواها الداخلي من منظمات النمو , ان اضافة منظمات النمو النباتية الى البيئة الغذائية لتنمية الخلايا والانسـجة النباتية يعتمد بالقدر الاكبر على الجزء النباتي وكـذلك نوع النبات , اذ تتوافر

بعض الاجزاء النباتية والتي تستطيع ان تنتج كمية كافية من السايتوكاينينات ولاتحتاج الى اضافة كميات اخرى في الوسط (الشحات ,2000) 0

وان توافر فروق معنوية بين المعاملات في الوزن الطري للكالس قد يعود الى ان المعاملات التي اعطت افضل الاوزان الطرية قد وصلت فيها تراكيز منظمات النمو الى حالة التوازن الامثل بين السايتوكاينينات التي تحفز من عمليات الانقسامات الخلوية وبين الاوكسينات التي تساعد في عملية استطالة الخلايا وبناء المواد الخلوية؛ وبالتالي زادت اعداد واحجام الخلايا وعمليات الايض الخلوي مما اثر ايجابا في زيادة الوزن الطري للكالس0 اذ ان هناك اهمية كبيرة لنسبة الاوكسينات الى السايتوكاينينات وهذه النسبة تختلف من نبات الى اخر ومن نسيج الى نسيج , ولكل حالة نسبة معينة تساعد على تكوين الكالس (الرفاعي والشوبكي ,2002)0 وهذا يتفق مع الدراسات السابقة اذ اشارت نتائج دراسات عديدة الى ان توافر 2,4-D مع السايتوكاينينات له تأثير واضح على استحداث ونمو الكالس (Murashige و Skooge , 1962 ; Moore و Colline , 1993)0 وتتفق هذه النتائج مع ما وجده (Youssef واخرون , 1998 ; النعيمي 2004) انه عند رفع تركيز .Kin عن تركيز 2,4-D في وسط الزراعة قل الوزن الطري لكالس نبات الحبة السوداء0 وتتفق مع ماوجدته البكر وهناء (2005) في كالس الحبة السوداء عندما استخدمت تراكيز من BA مع تراكيز من 2,4-D في وسط الزراعة . وكذلك تتفق هذه النتائج مع ما وجده Al-Ani (2008) من ان التراكيز المتوازنة من .Kin و 2,4-D ادت الى استحثاث الكالس ونموه وتطوره وزيادة وزنه الطري المتكون لنبات الحبة السوداء , في حين وجدت التميمي (2012) عند دراسة تأثير اضافة .Kin مع 2,4- D الى وسط MS في نشوء كالس نبات الحبة السوداء ان افضل وزن طري ناشيء من المجموع

الخضري كان عنـــد اضافة 2,4-D 0.5 + Kin. 1.5 ملغم / لتر إذ بلغ 353 ملغم ، وبلغ اعلى وزن طري للكالس الناشيء من الجذور 378.5 ملغم عند تجهيز الوسط بتركيز 2,4- D 1.5 + Kin. 1.5 ملغم / لتر 0

4-1-5: اثر نوع الحديد المخلبي المستعمل في نشوء الكالس ونموه لنبات الحبة السوداء

1- نسبة الاستجابة %

تبين النتائج الموضحة في الجدول (10) عدم توافر فروق معنوية بين المعاملتين اذ ان نسبـــة استجابة الكالس بلغت 70 % لكليهما.

2- الوزن الطري للكالس (ملغم)

توضح النتائج المبينة في الجدول (10) ان الحديـــد المخلبي Fe-EDTA قد اعطى اعلى متوســط وزن طري بلغ 548.00 ملغم , في حين بلغ متوسط الوزن الطري للكالس427.00 ملغم في معاملة الحديد Fe-EDDHA ,ولم تظهر نتائج التحاليل الاحصائية فروقا معنوية بين المعاملات0

3- الوزن الجاف للكالس (ملغم)

تشير النتائج المبينة في الجدول (10) الى توافر فروق معنوية في صفة الوزن الجاف للكالس اذ تفوقت معاملة الحديد المخلبي Fe-EDTA معنويا واعطت متوسط وزن جاف للكالس بلغ 38.14 ملغم , في حين اعطت معاملة الحديد المخلبي Fe-EDDHA متوسط وزن جاف بلغ 27.00 ملغم 0

قد يعود تفوق معاملة الحديد المخلبي Fe-EDTA علـــى معاملة الحديد المخلبي Fe-EDDHA في صفة الوزن الجاف لكالس الحبـــة السوداء الى زيادة امتصاص النوع

الاول من الحديد من قبل خلايا الكالس , وبالتالـي زيادة بناء المواد الاولية والثانوية داخل الخلايا مما ادى الى زيادة اوزانها الجافــة , وان امتصاص الحديد بشكل جيد يزيد النشاط الانزيمي وبالتالي تزداد عمليات بناء RNA و DNA فيزداد النمو وهذا يتوافق مـع ما ذكره Dunlap و Robacker (1988) بان الحديد هو احد العناصر المهمة للنبات مـن خلال تأثيره في العديد من العمليات الحيوية في النبات ومنها دوره في بناء الكلورفيل وتصنيع DNA .

جدول(10) اثر نوع الحديد المستعمل في وسط MS في نسب الاستجابة والوزن الطري والجاف(ملغم) لكالس نبات الحبة السوداء بعد مرور 4 اسابيع من الزراعة0

الصفات / نوع الحديد	النسبة المئوية لنشوء الكالس %	الوزن الطري للكالس (ملغم)	الوزن الجاف للكالس (ملغم)
Fe-EDDHA	70 A*	427.00 A	27.00 B
Fe-EDTA	70 A	548.00 A	38.14 A

***المتوسطات التي تحمل أحرف متشابهة لا تختلف فيما بينها معنوياً بحسب أختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%**

4-2: التجارب الحقلية

4-2-1: اثر النقع بحامضي الاسكوربك والسترك في انبات البذور و نمو البادرات

1- نسبة الانبات %

تبين النتائج الموضحة في الجدول (11) ان اعلى نسبة انبات بلغت 50 % في معاملتي النقع بحامض الاسكـــوربك تركيزي 100 و 300 ملغم / لتر وفي معاملة المقارنة التي بلغت 50 % ايضا , فيما بلغت نسبة الانبات 45 % في معاملتي النقع

بحامض السترك بتركيز 100 و 300 ملغم / لتر , ولم تظهر نتائج التحاليل الاحصائية فروقا معنوية بين المعاملات 0

2- سرعة الانبات (بذرة / يوم)

يتضح من النتائج المبينة في الجدول (11) ان افضل سرعة للانبات هي في معاملة الاسكوربك 300 ملغم / لتر , اذ بلغت 4.30 بذرة / يوم تلتها معاملة النقع بحامض الاسكوربك بتركيز 100 ملغم / لتر التي بلغت فيها سرعة الانبات 3.57 بذرة / يوم فمعاملة النقع بحامض السترك بتركيز 300 ملغم / لتر بسرعة انبات بلغت 3.40 بذرة / يوم , في حين بلغت سرعة الانبات في معاملة المقارنة 2.97 بذرة / يوم , واعطت معاملة النقع بحامض السترك بتركيز 100 ملغم / لتر متوسط سرعة انبات بلغ 2.80 بذرة / يوم .

3-طول الرويشة (سم)

تظهر النتائج الموضحة في الجدول (11) فروقا معنوية في صفة طول الرويشة اذ تفوقت معاملتا النقع بحامض الاسكوربك بتركيزي 300 ملغم / لتر و 100 ملغم / لتر بمتوسط طول بلغ 4.29 سم لكلتيهما على معاملة المقارنة والتي بلغ متوسط طول الرويشة لبادراتها 3.17 سم , في حين بلغت في معاملة نقع البذور بحامض السترك بتركيزي 300 و100 ملغم/لتر 4.00 سم و3.69 سم على التوالي(الشكل7) 0

4- عدد الاوراق (ورقة / بادرة)

تبين النتائج (الجدول 11) توافر فروق معنوية بين المعاملات في صفة عدد الاوراق اذ تفوقت معاملة النقع بحامض السترك بتركيز 300 ملغم / لتر على معاملتي المقارنة ومعاملة النقع بحامض السترك تركيز100ملغم / لتر , اذ اعطت متوسط عدد للاوراق بلغ

4.60 ورقة / بادرة تلتها معاملة النقع بحامض الاسكوربك بتركيز 300 ملغم / لتر والتي اعطت متوسط عدد للاوراق بلغ 4.00 ورقة / بادرة , واعطت معاملة النقع بحامض الاسكوربك بتركيز 100 ملغم / لتر متوسط عدد للاوراق بلغ 3.86 ورقة / بادرة , في حين اعطت معاملة النقع بحامض السترك بتركيز 100 ملغم / لتر متوسط عدد للاوراق بلغ 2.63 ورقة / بادرة , واعطت معاملة المقارنة متوسط عدد للاوراق بلغ 3.11 ورقة / بادرة0

جدول(11): أثر نقع بذور الحبة السوداء بحامضي الأسكوربك والسترك فى انبات البذور والصفات الخضرية للبادرات بعد مرور 4 اسابيع من الانبات في الحقل.

الصفات / المعاملات (ملغم/لتر)	النسبة المئوية للانبات%	سرعة الانبات (بذرة/يوم)	طول الرويشة (سم)	عدد الاوراق (ورقة/ بادرة)	عدد الجذور (جذر/بادرة)	طول الجذور (سم)	الوزن الطري للبـــــادرات (ملغم)
ماء مقطر(المقارنة)	50 A	2.97	3.17 B	3.11 BC	3.78 C	9.94 A	35.78 A
حامض السترك100	45 A	2.80	3.69 AB	2.63 C	7.00 B	12.13 A	43.25 A
حامض السترك300	45 A	3.40	4.00 A	4.60 A	9.60 A	15.80 A	60.00 A
حامض الأسكوربك100	50 A	3.57	4.29 A	3.86 AB	7.43 AB	11.29 A	51.57 A
حامض الأسكوربك300	50 A	4.3	4.29 A	4.00 AB	5.57 BC	13.00 A	65.00 A

***المتوسطات التي تحمل أحرف متشابهة لا تختلف فيما بينها معنوياً بحسب أختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%**

5-عدد الجذور (جذر / بادرة)

تشير النتائج الموضحة في الجدول (11) الى توافر فروق معنوية بين المعاملات اذ تفوقت معاملة النقع بحامض السترك بتركيز 300 ملغم / لتر على المعاملات الباقية بمتوسط عدد للجذور بلغ 9.60 جذر/ بادرة باستثناء معاملة النقع بحامض الاسكوربك بتركيز 100 ملغم / لتر التي اعطت متوسط عدد جذور بلغ 7.43 جذر / بادرة , اما معاملتا النقع بحامض السترك بتركيز 100 ملغم / لتر والاسكوربك بتركيز 300 ملغم / لتر فبلغ متوسط عدد الجذور فيهما 7.00 و 5.57 جذر/ بادرة على التوالي , في حين كان اقل متوسط عدد للجذور في معاملة المقارنة والذي بلغ 3.78 جذر / بادرة (الشكل7).

6- طول الجذور (سم)

اظهرت النتائج المبينة في الجدول (11) ان معاملة نقع البذور بحامض السترك تركيز 300 ملغم / لتر اعطت متوسط طول للجذور بلغ 15.80 سم تلتها معاملة النقع بحامض الاسكوربك تركيز 300 ملغم / لتر بمتوسط طول بلغ 13.00 سم , ثم معاملتي النقع بحامضي السترك والاسكوربك بتركيز 100 ملغم / لتر بمتوسط طول بلغ 12.13 سم و 11.29 سم على التوالي , في حين بلغ متوسط طول الجذير في معاملة المقارنة 9.94 سم ولم تظهر نتائج التحليل الاحصائي فروقا معنوية بين المعاملات (الشكل7) 0

7- الوزن الطري (ملغم)

يتضح من الجدول (11) ان معاملة نقع البذور بحامض الاسكوربك بتركيز 300 ملغم / لتر اعطت اعلى متوسط وزن طري بلغ 65.00 ملغم تلتها معاملة النقع بحامض السترك بتركيز 300 ملغم / لتر بمتوسط وزن بلغ 60.00 ملغم , في حين بلغ اقل متوسط

للوزن الطري 35.7 ملغم وذلك في معاملة النقع بالماء المقطر(المقارنة), ولم تظهر نتائج التحاليل الاحصائية فروقا معنوية بين المعاملات0

ان وجود فروقا معنوية بين المعاملات قد يعود الى التأثيرات الفسيولوجية المهمة لحامضي الاسكوربك والسترك في تحسين انبات البذور ونمو البادرات كما ورد في تجربة النقع النسيجية 0

شكل (7): أثر نقع بذور الحبة السوداء بحامضي الأسكوربك والسترك لمدة 10ساعات في نمو البادرات بعد مرور 4 اسابيع من الزراعة في الحقل(A , سترك 300 ملغم/لتر , B اسكوربك 300 ملغم/لتر , C اسكوربك100 ملغم/لتر , D سترك100ملغم/لتر , E المقارنة)0

4-2-2: اثر الرش بحامضي الاسكوربك والسترك في نمو نباتات الحبة السوداء المزروعة في الحقل وحاصلها

4-2-2-1: اثر الرش بحامضي الاسكوربك والسترك في الصفات الخضرية والجذرية

1- متوسط عدد الافرع الرئيسة (فرع / نبات)

تشير النتائج الموضحة في الجدول(12) الى فروق معنوية بين المعاملات اذ تفوقت معاملة الرش بحامض السترك بتركيز 100 ملغم / لتر بمتوسط عدد افرع بلغ 33.75 فرع / نبات تلتها معاملة الرش بحامض الاسكوربك بتركيز 100 ملغم / لتر والتي اعطت متوسط عدد بلغ 32.50 فرع / نبات وبفارق معنوي عن المعاملات الباقية التي كانت اقلها معاملة الرش بحامض السترك بتركيز 50 ملغم / لتر بمتوسط بلغ 19.38 فرع / نبات , في حين اعطت معاملة الرش بحامض الاسكوربك بتركيز 50 ملغم / لتر ومعاملة الماء المقطر (المقارنة) متوسطا لعدد الافرع بلغ 20.63 و 20.50 فرع / نبات على التوالي .

2- ارتفاع النبات (سم)

تبين النتائج الموضحة في الجدول(12) توافر فروق معنوية بين المعاملات , اذ تفوقت معنويا معاملة الرش بحامض السترك بتركيز 100 ملغم / لتر في متوسط ارتفاع النبات بمتوسط طول بلغ 41.50 سم وبفارق معنوي على جميع المعاملات الاخرى باستثناء معاملة الرش بحامض الاسكوربك بتركيز 100 ملغم / لتر والتي اعطت متوسط ارتفاع للنبات بلغ 36.75 سم , في حين بلغ متوسط ارتفاع النبات 28.50 سم لمعاملة المقارنة والتي سجلت اقل قيمة وبفارق معنوي عن جميع المعاملات الاخرى 0

3-عدد الجذور (جذر/ نبات)

تظهر النتائج المبينة في الجدول (12) توافر فروق معنوية بين المعاملات , اذ تفوقت المعاملات جميعا على معاملة المقارنة باستثناء معاملة الرش بحامض السترك

بتركيز 50 ملغم/لتر , اذ اعطت معاملة الرش بحامض الاسكوربك بتركيز 100 ملغم / لتر متوسطا لعدد الجذور بلغ 27.50 جذر / نبات , تلتها معاملة الرش بحامض الاسكوربك بتركيز 50 ملغم / لتر اذ اعطت متوسطا بلغ 25.25 جذر / نبات , ومن ثم تلتها معاملة الرش بحامض السترك بتركيز 100 ملغم / لتر بمتوسط عدد للجذور بلغ 23.88 جذر / نبات, في حين اعطت معاملة المقارنة متوسط لعدد الجذور بلغ 11.38 جذر/ نبات 0

4- طول الجذور (سم)

تبين النتائج (الجدول12) توفر فروق معنوية بين المعاملات اذ اعطت معاملة الرش بحامض الاسكوربك بتركيز 100 ملغم / لتر اعلى متوسط طول للجذور بلغ 36.00 سم متفوقة بذلك معنويا على معاملة المقارنة ومعاملة الرش بحامض الاسكوربك بتركيز 50 ملغم / لتر واللتين اعطتا متوسط طول للجذور بلغ 24.88 سم و24.75 سم على التوالي واعطت معاملتا الرش بحامض السترك بتركيزي 100 و 50 ملغم / لتر متوسط طول بلغ 32.63 و 29.88 سم على التوالي0

جدول(12): اثر الرش بتراكيز مختلفة من حامضي الأسكوربك والسترك في الصفات الخضرية لنبات الحبة السوداء المزروعة في الحقل0

الصفات / المعاملات(ملغم/لتر)	متوسط عددافرع الساق(فرع/نبات)	متوسط ارتفاع النبات(سم)	عدد الجذور /نبات)	متوسط طول الجذور(سم)
ماء مقطر (المقارن)	20.50 B	28.50 C	11.38 B	24.88 B
حامض السترك50	19.38 B	34.75 B	18.00 AB	29.88 AB
حامض السترك 100	33.75 A	41.50 A	23.88 A	32.63 AB
حامضالأسكوربك50	20.63 B	34.50 B	25.25 A	24.75 B
حامض الأسكوربك100	32.50 A	36.75 AB	27.50 A	36.00 A

*المتوسطات التي تحمل الحرف نفسه لكل عمود لاتختلف معنويا فيمابينها بحسب اختبار دنكن متعدد الحدودعند مستوى احتمال 5%

4-2-2-2: اثر الرش بحامضي الاسكوربك والسترك في الوزن الطري و الجاف للمجموع الخضري والجذري .

1- الوزن الطري للمجموع الخضري (غم)

تشير النتائج (الجدول 13) الى توافر فروق معنوية بين المعاملات , اذ تفوقت معاملة الرش بحامض السترك بتركيز 100 ملغم / لتر معنويا على معاملة المقارنة في صفة الوزن الطري , اذ اعطتا 7.19 غم و2.16 غم على التوالي , واعطت معاملة الرش بحامض الاسكوربك بتركيز 100 ملغم / لتر متوسط وزن طري بلغ 4.44 غم في حين سجلت معاملة الرش بحامض السترك بتركيز 50 ملغم / لتر متوسط بلغ 4.13 غم , وبلغ متوسط الوزن الطري في معاملة الرش بحامض الاسكوربك بتركيز 50 ملغم / لتر 4.07 غم 0

2- الوزن الجاف للمجموع الخضري (غم)

توضح النتائج المبينة في الجدول (13) تفوق معاملة الرش بحامض السترك بتركيز 100 ملغم / لتر التي اعطت متوسط وزن جاف بلغ 3.67 غم تفوقا معنويا على معاملة المقارنة التي اعطت متوسط وزن جاف بلغ 1.13 غم واعطت معاملات الرش بحامض السترك بتركيز 50 ملغم / لتر وحامض الاسكوربك بتركيز 50 ملغم / لتر و 100 ملغم / لتر متوسط وزن جاف بلغ 2.29 غم و 2.14 غم و 2.11 غم وعلى التوالي 0

3- الوزن الطري للمجموع الجذري (غم)

تبين النتائج في الجدول (13) توافر فروق معنوية بين المعاملات اذ تفوقت معاملة الرش بحامض السترك بتركيز 100 ملغم / لتر التي اعطت متوسط وزن طري بلغ 6.37 غم وبفارق معنوي على باقي المعاملات باستثناء معاملة الرش بحامض الاسكوربك بتركيز 100 ملغم / لتر والتي اعطت متوسط وزن بلغ 4.32 غم , في حين اعطت معاملة الرش بحامض الاسكوربك بتركيز 50 ملغم / لتر متوسط وزن طري بلغ 2.25 غم واعطت

معاملة الرش بحامض السترك بتركيز 50 ملغم / لتر متوسط وزن بلغ 2.05غم , في حين اعطت معاملة المقارنة اقل متوسط وزن طري بلغ 1.75 غم 0

4- الوزن الجاف للمجموع الجذري (غم)

تشير النتائج (الجدول 13) الى تفوق معاملة الرش بحامض السترك بتركيز 100 ملغم / لتر وبفارق معنوي على جميع المعاملات الاخرى باعطائها اعلى متوسط وزن جاف بلغ 2.93 غم باستثناء معاملة الرش بحامض الاسكوربك بتركيز 100 ملغم / لتر التي اعطت متوسط وزن بلغ 1.63 غم , في حين اعطت معاملة المقارنة اقل متوسط وزن بلغ 0.69 غم 0

جدول(13): اثر الرش بتراكيز مختلفة من حامضي الأسكوربك والسترك على الوزن الطري والجاف (غم) للمجموع الخضري والجذري لنبات الحبة السوداء المزروع في الحقل 0

الصفات / المعاملات(ملغ/لتر)	الوزن الطري للساق(غم/نبات)	الوزن الجاف للساق(غم/نبات)	الوزن الطري للجذر(غم/نبات)	الوزن الجاف للجذر(غم/نبات)
ماء مقطر (المقارنة)	2.16 B*	1.13 B	1.75 B	0.69 B
حامض السترك 50	4.13 AB	2.29 AB	2.05 B	0.92 B
حامض السترك 100	7.19 A	3.67 A	6.37 A	2.94 A
حامض الاسكوربك 50	4.07 AB	2.14 AB	2.25 B	0.97 B
حامض الأسكوربك 100	4.44 AB	2.11 AB	4.32 AB	1.63 AB

***المتوسطات التي تحمل الحرف نفسه لكل عمود لاتختلف معنويا فيمابينها بحسب اختبار دنكن متعدد الحدودعند مستوى احتمال 5%**

4-2-2-3: اثر الرش بحامضي الاسكوربك والسترك في حاصل نبات الحبة السوداء

1- عدد الاجراس (جرس / نبات)

توضح النتائج (الجدول 14) توافر فروق معنوية بين المعاملات في صفة عدد الاجراس اذ تفوقت معنويا معاملة الرش بحامض الاسكوربك بتركيز 100 ملغم / لتر على المعاملات الباقية بمتوسط عدد للاجراس بلغ 27.00 جرس/ نبات باستثناء معاملة الرش

بحامض السترك بتركيز 100 ملغم / لتر , التي اعطت متوسط عدد بلغ 22.13 جرس /نبات , واعطت معاملة الرش بحامض السترك بتركيز 50 ملغم / لتر متوسط عدد للاجراس بلغ 18.00 جرس / نبات , وبلغ متوسط عدد الاجراس في معاملة الرش بحامض الاسكوربك بتركيز50 ملغم / لتر 17.38 جرس / نبات , في حين اعطت معاملة المقارنة اقل متوسط عدد للاجراس بلغ 16.50 جرس / نبات 0

2- عدد البذور (بذرة / نبات)

تبين النتائج الموضحة في الجدول (14) توافر فروق معنوية بين المعاملات , اذ اعطت معاملة الرش بحامض الاسكوربك بتركيز 50 ملغم / لتر متوسط عدد للبذور بلغ 774.40 بذرة / نبات متفوقة بذلك معنويا على معاملة الرش بحامض السترك بتركيز 100 ملغم / لتر التي اعطت متوسط بلغ 460.00 بذرة / نبات , وعلى معاملة المقارنة التي اعطت ادنى متوسط بلغ 351.00 بذرة / نبات 0

3- وزن البذور (ملغم/نبات)

تشير النتائج الموضحة في الجدول (14) الى توافر اختلافات معنوية بين المعاملات في صفة وزن البذور , اذ تفوقت معاملتا الرش بحامض السترك وحامض الاسكوربك بتركيز 50 ملغم / لتر على معاملة المقارنة معنويا واللتين اعطتا متوسط وزن بلغ 1509.50 ملغم / نبات و 1362.00 ملغم /نبات على التوالي , واعطت معاملتا الرش بحامضي الاسكوربك والسترك بتركيزي 100 ملغم / لتر لكليهما متوسط وزن بلغ 860.10 و 855.80 ملغم / نبات وعلى التوالي , في حين اعطت معاملة المقارنة اقل متوسط وزن للبذور بلغ 641.90 ملغم / نبات0

4- وزن 100 بذرة (ملغم)

تظهر النتائج (جدول 14) ان معاملة الرش بحامض السترك بتركيز 50 ملغم / لتر اعطت اعلى متوسط وزن بلغ 221.63 ملغم , تلتها معاملة الرش بحامض السترك بتركيز 100 ملغم /لتر والتي اعطت متوسط وزن بلغ 195.75 ملغم , واعطت معاملتا الرش بحامض الاسكوربك بتركيز 100 ملغم / لتر و 50 ملغم / لتر متوسط وزن بلغ 194.38 ملغم و 154.63 ملغم على التوالي , في حين اعطت معاملة المقارنة متوسط وزن بلغ 162.75 ملغم , ولم تظهر نتائج التحاليل الاحصائية فروقا معنوية بين المعاملات0

جدول(14): اثر الرش بتراكيز مختلفة من حامضي الأسكوربك والسترك في حاصل نبات الحبة السوداء المزروع في الحقل0

الصفات / المعاملات	متوسط عدد الأجراس/ نبات	متوسط عدد البذور (بذرة/ نبات)	متوسط وزن البذور (ملغم/ نبات)	وزن 100بذرة (ملغم)
ماء مقطر (المقارنة)	16.50 B	351.00 C	641.90 B	162.75 A*
حامض السترك (50ملغم/لتر)	18.00 B	651.60 AB	1509.50 A	221.63 A
حامض السترك (100ملغم/لتر)	22.13 AB	460.00 BC	855.80 AB	195.75 A
حامض الأسكوربك (50ملغم/لتر)	17.38 B	774.40 A	1362.00 A	194.38 A
حامض الأسكوربك (100ملغم/لتر)	27.00 A	651.10 ABC	860.10 AB	154.63 A

***المتوسطات التي تحمل الحرف نفسه لكل عمود لاتختلف معنويا فيمابينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدودعند مستوى احتمال 5%**

قد يعود التفوق في الصفات المدروسة عند الرش بحامضي الاسكوربك والسترك على معاملة المقارنة الى الدور الذي تلعبه هذه الحوامض في تحسين النبات ونموه وتطوره اذ ان رش النباتات ادى الى زيادة معدل نمو الجذور من خلال زيادة عددها , وانتشارها في التربة مما اسهم في زيادة امتصاص الماء والعناصر الغذائية فدعم النمو الخضري مما زاد من عدد الافرع , وارتفاع النبات فزاد الحاصل 0

ان الكلوروفيل المتوافر داخل البلاستيدة الخضراء (الكلوروبلاست) يتعرض الى الهدم بعملية الاكسدة الضوئيـــة (photo oxidation) نتيجة لزيادة شدة الاضاءة وبتوافر الاوكسجين علما ان الضوء احـــــــد العوامل الاساسية في بناء الكلوروفيل (محمد ,1985).ويعد الاوكسجين الثلاثي (الاوزون O_3) احد المخاطر التي تواجه النبات , لقدرته العالية على اكسدة بعض مكونات الخلية النباتية وإتلافها , ويمكن للنباتات حماية نفسها مـــــن الاكسدة الضوئية للكلورفيل والتقليل من التأثير الضار للاوزون من خلال زيادة تركيز حامـــض الاسكوربك في جدران خلاياها والذي يحد من كمية الاوزون الداخلة الى محتويات الخليـــــــــة الحساسة والقابلة للاكسدة والتلف(Chameides , 1989) , لذا فان حامض الاسكوربك يعـــد الخط الدفاعي الاول ضد الاوزون وتأثيره الضار على الانسجة النباتية وخاصة الاوراق , اذ وجـــــد ان حساسية النبات للاوزون ترتبط بعلاقة عكـــسية مع محتوى النبات مـــــن حامض الاسكوربك (Conklin و Barth , 2004 . ان هذه التاثيرات الفسيولوجية ادت الى زيادة مقاومة النبات للظروف البيئية غير الملائمة , فضلا عن دوره في التأثير في جنس الازهار وزيادة نسبة انبات البذور والنمو الخضري وزيادة تحمـــل النباتات للملوحة الزائدة (Singh و Choudhri , 1972) , وان حامض السترك هو وسيط مهم من اجل اكمال دورة كربس التي تعد واحدة من المسارات المهمة في مجموعة التفاعلات التي يتم فيها اكسدة الســـكر الى ثنائي اوكسيد الكاربون والماء المصاحب لتوليد الطاقة علـــى شكل ATP وNADPH (Abd EL . al , 2009) 0

وقد يعود سبب هذا التأثير الى الدور الذي تقوم به هذه الحوامض في زيادة بعض الفعاليات الفسيولوجية ومنها تنشيط عملية البناء الضوئي (Hathout , 1995) 0 كما ان لها دور في حماية النبات من الاجهادات الحرارية والضوئية (youssef و Talaat ,

2003) وزيادة امتصاص العناصر المعدنية كالنحاس والرصاص والنتروجين والفسفور والبوتاسيوم (Kamelو Sakr , 2009) 0 ان حامض الاسكوربك في الغالب مضاد للاكسدة Antioxidant لحماية الخلايا من الاجهادات , وكذلك لوحظ انه يزيد النسبة المئوية للكاربوهيدرات الكلية الذائبة والنتروجين الكلي Biokhina واخرون 2003) 0 وتتوافق هذه النتائج مع نتائج دراسات سابقة بهذا الاتجاه , فهي تتفق مع ماوجـده Yong و Houg (1998) في ان رش حامض السترك بتركيز 50 ملغم/ لتر على بادرات الحمص ادى الى زيادة معنوية في ارتفاع البادرات , وزيادة الوزن الطري للمجموعين الخضري والجذري مقارنة بعدم الاضافة0 وكذلك تتفق مع مالاحظه Baradisi (2004) عند رش نبات الثوم بحامض الاسكوربك وجد زيادة في محتوى الاوراق من الكلوروفيل الكلي وعناصر النتروجين والفسفـــور والبوتاسيـــوم , كما تتفق ايضا مع ماوجده EL- Bassiouny واخـــرون (2005) من زيادة في ارتفاع نبات الباقلاء , وعدد اوراقه , وزيادة حاصل النبات , وتحسين نوعيته , وذلك عند رش النبات بحامض الاسكـوربك بتراكـــيز مختلفة مقارنـــة بنباتات غيـر معامـــلة . كما تتفق مع دراسة El-Tohamy واخرون (2008) اذ وجدوا ان رش نبات الباذنجان بعد شهر من الشتل بحامض الاسكوربك بتركيزين (100 و 200) ملغم / لتر ولرشتين ولفترة بينهما 15 يوما ادى الى تحسين مؤشرات النمو الخضري للنبات المتمثل بارتفاعه , وعدد اوراقه , وافرعه , والوزنين الطري والجاف للنبات مقارنة بمعاملة المقارنة . وتتفق مع مالاحظه AbdEl-al (2009) من زيادة معنوية في ارتفاع النبات , وعدد الاوراق , والافرع الجانبية , و الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري , وطول الثمرة , وقطرها , والحاصل المبكر والكلي لنبات الفلفل الحلو عندما رش بحامض السترك بتركيز 500 ملغم / لتر مقارنة بالنباتات غير المعاملة , كما وافقت هذه النتائج مع

ما توصل اليه عبد الله (2013) عندما رش نباتات الباقلاء بحامض السترك بتركيز 225 ملغم / لتر ادى الى زيادة ارتفاع النبات , وعدد الافرع الجانبية , وعدد الاوراق الكلية , والمساحة الورقية , وعدد القرنات , والنسبة المئوية للمواد الصلبة الذائبة الكلية في البذور مقارنة بالنباتات غير المعاملة.

4-3: التقدير الكمي و النوعي لمركبات الزيوت الفعالة في الحبة السوداء

4-3-1: منحنى نمو الكالس النامي من الرويشة و الجذير على وسط MS بعد مرور 36 يوما من الزراعة

اجريت التجربة لتحديد المدة التي يستغرقها الكالس للوصول الى مرحلة الاستقرار بعد مرحلة النمو الاسية بوصفها المرحلة المثلى لفصل المركبات الفعالة وتقديرها من الكالس 0 (2004,Ramawat)

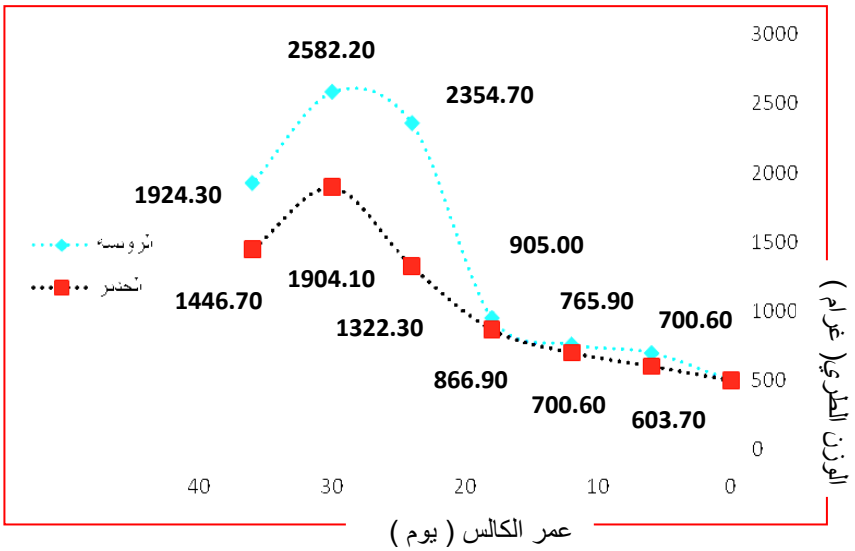
1- الوزن الطري لكالس الرويشة (ملغم)

تظهر النتائج (الشكل8 والملحق 1) ان زيادة مدة بقاء الكالس , زاد معها معدل الوزن الطري اذ بلغ اعلى وزن طري للكالس الناشئ من الرويشة بعد مرور 30 يوما بمتوسط وزن بلغ 2582.20 ملغم التي اختلفت معنويا على المواعيد الاخرى جميعها باستثناء مدة 24 يوما التي بلغ وزن الكالس فيها 2354.70 ملغم , في حين اعطت مدة 36 يوما متوسط وزن بلغ 1924.30 ملغم وبلغ متوسط وزن الكالس بعمر 18 يوما 905.00 غم , في حين اعطت مدة 6 ايام اقل متوسط وزن بلغ 700.60 ملغم , وان منحنى نمو الكالس الناشئ من الجذور مشابه لنموه من الرويشة , اذ اعطت المدة الزمنية 30 يوما اعلى وزن طري بلغ 1904.10 ملغم تلتها المدد 36 و 24 يوما التي اعطت متوسط وزن بلـــغ

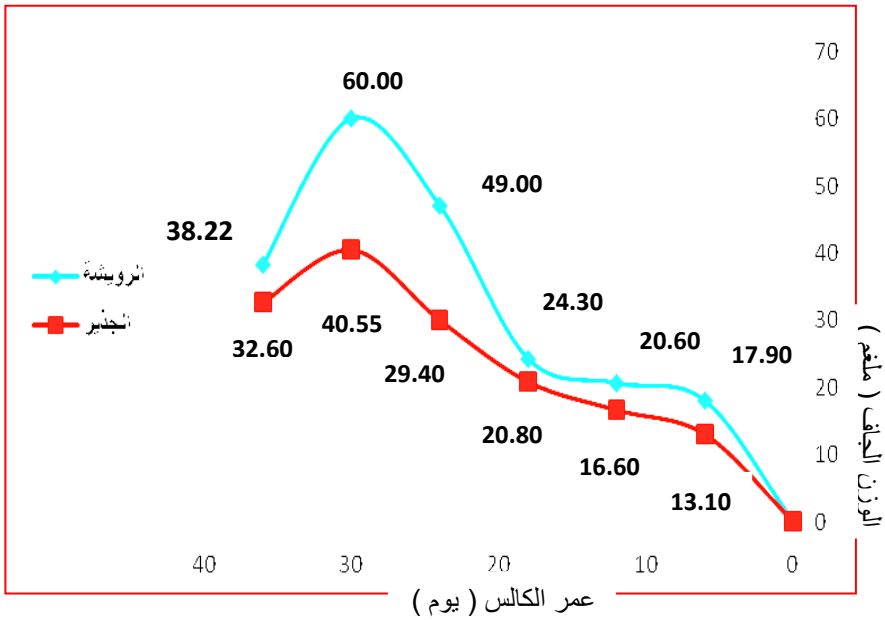
1446.70 و 1322.30 ملغم على التوالي , واعطت المدتان 18 و 12 متوسط وزن طري بلغ 866.90 و 700.60 ملغم , في حين كان في مدة 6 ايام 603.7 ملغم 0

2- الوزن الجاف للكالس (ملغم)

تشير النتائج الموضحة في الشكل (9) والملحق (1) ان صفة الوزن الجاف مشابهة لصفة الوزن الطري , اذ اعطت المدة الزمنية 30 يوما اعلى متوسط وزن جاف للكالس الناشئ من الرويشة بلغ 60.00 ملغم , تلتها المدة 24 يوما التي اعطت متوسط وزن بلغ 49.00 ملغم , واعطت المدة 36 يوما متوسط وزن بلغ 38.22 ملغم , في حين اعطت المدد 18 و 12 و 6 يوما متوسط وزن جاف بلغ 24.30 و 20.60 و 17.90 ملغم على التوالي 0كما ان هناك اختلافات معنوية بين المدد الزمنية للوزن الجاف للكالس الناشئ من الجذور , اذ تميزت المدة 30 يوما باعطائها اعلى متوسط وزن جاف بلغ 40.55 ملغم , تلتها المدة 36 يوما والتي بلغ فيها وزن الكالس 32.60 ملغم واعطت المدتان 24 و18 يوما متوسط وزن بلغ 29.60 و 20.80 ملغم , في حين اعطت المدتان 12 و6 يوما 16.60 و 13.1 ملغم وعلى التوالي .



شكل (8) : منحنى نمو الكالس (الوزن الطري) والناشئ من الرويشة والجذير بعد مرور 36 يوما من زراعة الكالس على وسط MS مضافا له(2,4-D 2+Kin, 1.5 للرويشة,2,4-D 2+Kin. 0.5 للجذير)



شكل(9) منحنى نمو الكالس (الوزن الجاف) والناشئ من الرويشة والجذير بعد مرور 36 يوما من زراعة الكالس على وسط MS مضافا له (2,4-D 2+Kin, 1.5 للرويشة,2,4-D 2+Kin. 0.5 للجذير)

يحدث نمو الكتلة الحية (Biomass) في المزارع الكمية على وفق نمو ثابت في البداية تمر المزارع بفترة تباطؤ في النمو يتبعها فترة نمو اسية تنقسم فيها الخلايا بسرعة ,

وبعد ثلاثة او اربعة اجيال خلوية يتدهور النمو وتدخل المزارع في النهاية في مرحلة التوقف عن الانقسام (سلمان , 1988) 0وبذلك فان مدة بقاء الكالس30 يوما بعد الزراعة تعد مثالية لتقدير مركبات الزيوت الفعالة(Ramawat , 2004)0

4-3-2: أثر قطبية المجال المغناطيسي في نمو كالس الحبة السوداء

1- الوزن الطري (غم)

تشير النتائج الموضحة في الجدول(15) الى توافر فروق معنوية بين المعاملات في صفة الوزن الطري اذ تفوقت المعاملات جميعها على معاملة المقارنة , اذ اعطت معاملة التعريض للقطب الشمالي + القطب الجنوبي اعلى معدل وزن بلغ 5264 ملغم , تلتها معاملة التعريض للقطب الشمالي التي اعطت متوسط وزن طري بلغ 4632 ملغم , واعطت معاملة القطب الجنوبي متوسط وزن بلغ 4549 ملغم , في حين اعطت معاملة المقارنة اقل وزن طري بلغ 2704 ملغم الشكل (10)0

2- الوزن الجاف (ملغم)

تبين النتائج (الجدول15) توافر فروق معنوية بين المعاملات في صفة الوزن الجاف , اذ تفوقت معاملة التعريض للقطب الشمالي + القطب الجنوبي ومعاملة التعريض للقطب الشمالي بمتوسط وزن بلغ 128 ملغم و 115 ملغم على التوالي على معاملة عدم التعريض للمجال المغناطيسي والتي اعطت متوسط وزن جاف بلغ 60 ملغم , في حين اعطت معاملة القطب الجنوبي متوسط وزن بلغ 105 ملغم 0

الجدول: (15) أثر قطبية المجال المغناطيسي في نمو كالس نبات الحبة السوداء بعد مرور 30 يوما من الزراعة على وسط MS مضافا له 2,4-D 2 + Kin. 1.5 ملغم/لتر

الصفات المدروسة / معاملات التعريض	الوزن الطري (ملغم)	الوزن الجاف(ملغم)
بدون تعريض (المقارنة)	2704 B	60 B
قطب شمالي بشدة 200 ملي تسلا/قطعة مغناطيس	4631 A	115 A
قطب جنوبي بشدة 200 ملي تسلا/قطعة مغناطيس	4549 A	105 AB
قطب شمالي + جنوبي بشدة 200ملي تسلا/قطعة مغناطيس	5264 A	128 A

المتوسطات التي تحمل الحرف نفسه لكل عمود لاتختلف معنويا فيما بينها بحسب اختبار دنكن متعدد الحدودعند مستوى احتمال 5%

الشكل (10)تأثير قطبية المجال المغناطيسي في نمو كالس نبات الحبة السوداء بعد مرور 28يوما من الزراعة على وسط MS مضافا له 2,4-D 2 + Kin. 1.5 ملغم/لتر0

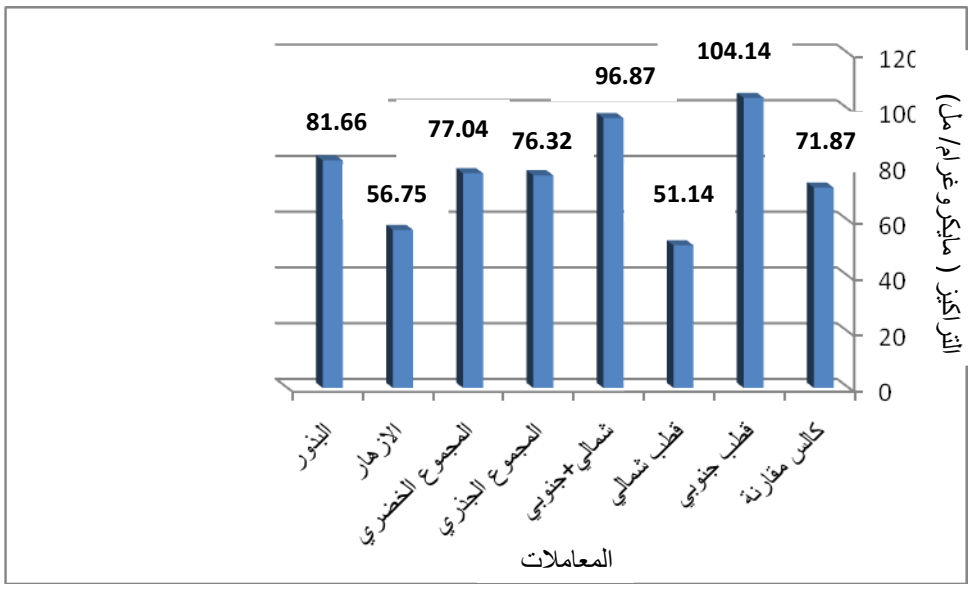
ان تفوق الكالس المعرض للمجال المغناطيسي في صفة الوزن الطري والجاف على الكالس غير المعرض ربما يعود الى التأثير الايجابي للمجال المغناطيسي في زيادة معدل انقسام الخلايا وبناء المواد الاولية والثانوية فيها , وبالتالي زيادة الوزن الطري والجاف للكالس , اذ ان تعرض الكالس مع الوسط قد يكسب الماء طاقة كافية تعيد ترتيب شحنات الماء العشوائية بشكل منتظم مما يعطيه القدرة العالية في اختراق جدران الخلايا (Barefoot و Reich , 1992) اذ ذكر ان تأثير المجال المغناطيسي في زوايا الارتباط بين ذرتي الهيدروجين والاوكسجين بجزيئة الماء , وخواص الماء الممغنطة المتمثلة بصغر حجم مجاميع الماء الممغنط 6 – 7 جزيئة مقارنة ب10 – 12 جزيئة بالحالة الطبيعية الامر الذي يؤدي الى انتظام جزيئات الماء باتجاه واحد مما يسهل دخوله الى الاغشية الخلوية و من ثم زيادة النمو . وكذلك تبرز أهمية المجال المغناطيسي من خلال تأثيره في الخلايا , ووظائف وخواص الغشاء الخلوي , وتصنيع البروتين , وفعالية الانزيمات , وفعالية الخلايا وانتاجيتها (Hong ، 1995) 0 كما ان التعريض للمجال المغناطيسي يزيد من بعض الهرمونات التي تؤثر في زيادة النمو وهذه النتيجة تتفق مع ما وجدته التميمي (2012) من ان تعريض كالس نبات الحبة السوداء الى المجال المغناطيسي بشدة 200 ملي تسلا قد زاد من كمية الهرمونات كالكاينتين الذي ازداد الى اكثر من 10 اضعاف عند التعريض الى المجال المغناطيسي وIAA الذي ازداد الى اكثر من ثلاثة اضعاف كما ازدادت كمية GA_3 الى اكثر من ضعفين قياسا بكميتها في الكالس غير المعرض للمجال المغناطيسي , كما تتوافق مع ما توصلت اليه ناصر(2012) من نتائج مشابهة عند تعريض كالس نباتي اللالنكي الى المجال المغناطيسي اذ لاحظت زيادة في انتاج الهرمونات الداخلية للنبات0 وكذلك تتفق مع مالاحظ Kondic وآخرون (1998)من ان المجال المغناطيسي حفز

تكون الكالس ونموه في نبات الحنطة *Triticum aestivum* 0وتتفق مع ما وجده Matsuo وآخرون (1993) من ان المجال المغناطيسي اعطى اعلى نسبة تكون الكالس وزيادة الوزن الطري والجاف لنبات الهليون *Asparagus officinalis*.

4-3-3: التقدير الكمي والنوعي لمركبات زيت الحبة السوداء في النباتات النامية في الحقل و الكالس المعرض للمجال الغناطيسي

1-مركب Thymoquinone

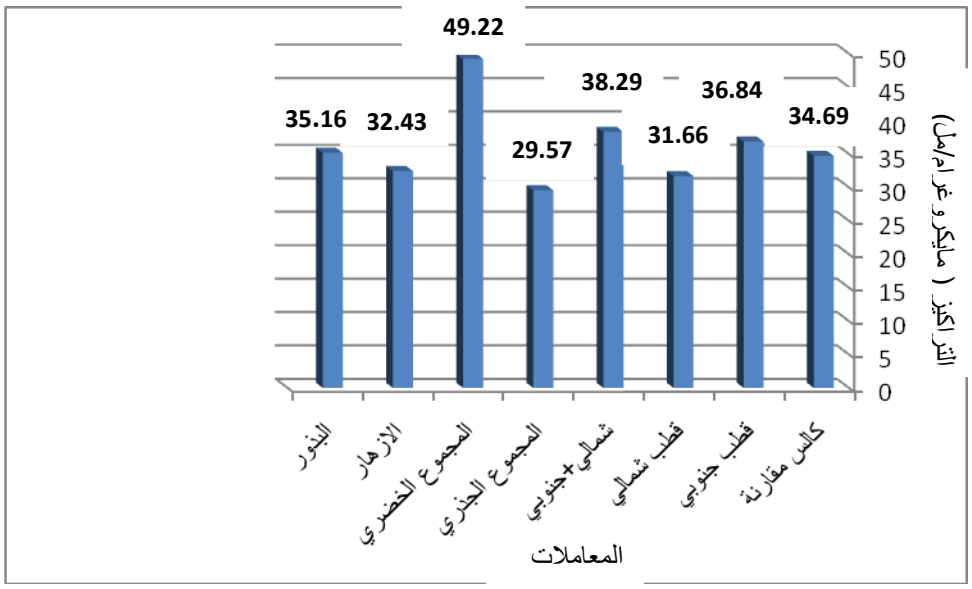
تشير النتائج الموضحة في الشكل (11) والملحق (2) الى توافر اختلافات معنوية بين المعاملات وفق اختبار T وعلى مستوى احتمالية 1% و 5% في كمية مركب Thymoquinone اذ اعطت معاملة الكالس المعرض الى القطب الجنوبي اعلى كمية من المركب بلغت 104.14 مايكروغرام / مل , تلتها معاملة الكالس المعرض الى القطب الشمالي + القطب الجنوبي التي اعطت 96.87 مايكروغرام / مل وبلغت كميته في البذور 81.66 مايكروغرام / مل, في حين انخفضت في معاملة الكالس المعرض الى القطب الشمالي الى 51.14 مايكروغرام /مل , وبلغت في الازهار 56.75 مايكروغرام / مل, وتقاربت قيمته في المجموع الخضري والمجموع الجذري والكالس غير المعرض اذ بلغت 77.04 و 76.32 و 71.87 مايكروغرام / مل على التوالي (الاشكال14-23)0



شكل(11) تركيز مركب Thymoquinone مايكروغرام/مل للعينات المختلفة للحبة السوداء مقاسا بجهاز HPLC (قيمة L.S.D لاختبار T = **12.120)

2- مركب Thymohydroquinone

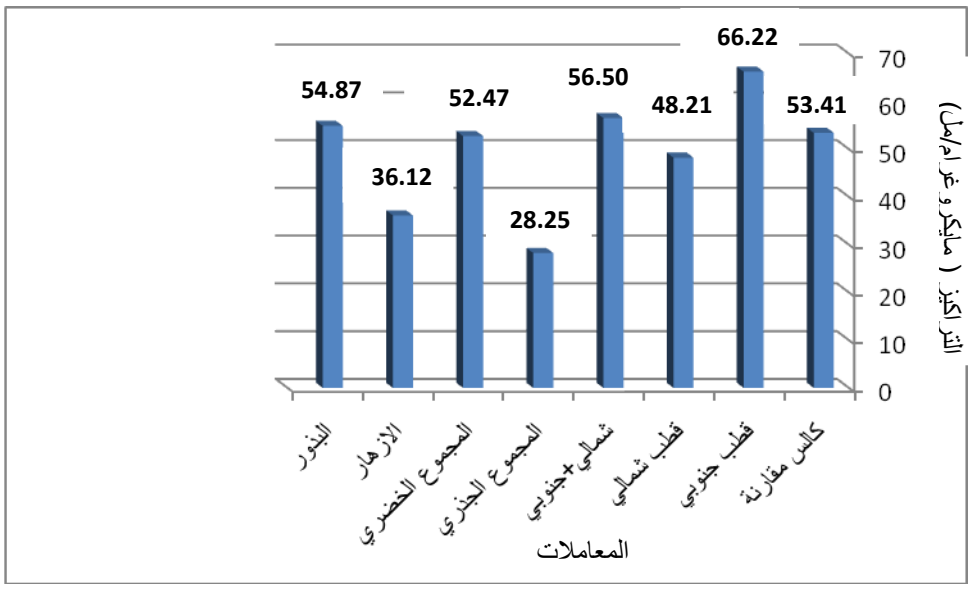
تظهر النتائج في الشكل (12) والملحق(2) فروقا معنوية في كمية مركب Thymohydroquinone بحسب اختبار T , اذ تفوق المجموع الخضري في اعطاء اكبر كمية من المركب بلغت 49.22 مايكروغرام / مل , تلتها معاملة الكالس المعرض الى القطب الشمالي + القطب الجنوبي اذ بلغت قيمته 38.92 مايكروغرام / مل , في حين بلغت قيمته في معاملة تعريض الكالس الى القطب الجنوبي 36.84 مايكروغرام / مل , وسجلت اقل كمية للمركب في المجموع الجذري والتي اعطت وزنا بلغ 29.57 مايكروغرام / مل , و اما كميته في البذور والكالس غير المعرض فبلغت 35.16 و 34.69 مايكروغرام / مل على التوالي واما كميته في الازهار والكالس المعرض الى القطب الشمالي فبلغت قيما قدرها و32.43 و 31.66 مايكروغرام / مل على التوالي (الاشكال 14-23) 0



شكل(12) تركيز مركب Thymohydroquinone مايكروغرام/مل للعينات المختلفة للحبة السوداء مقاسا بجهاز HPLC (قيمة L.S.D لاختبار T =**16.827) 0

3- مركب Tras- anethole

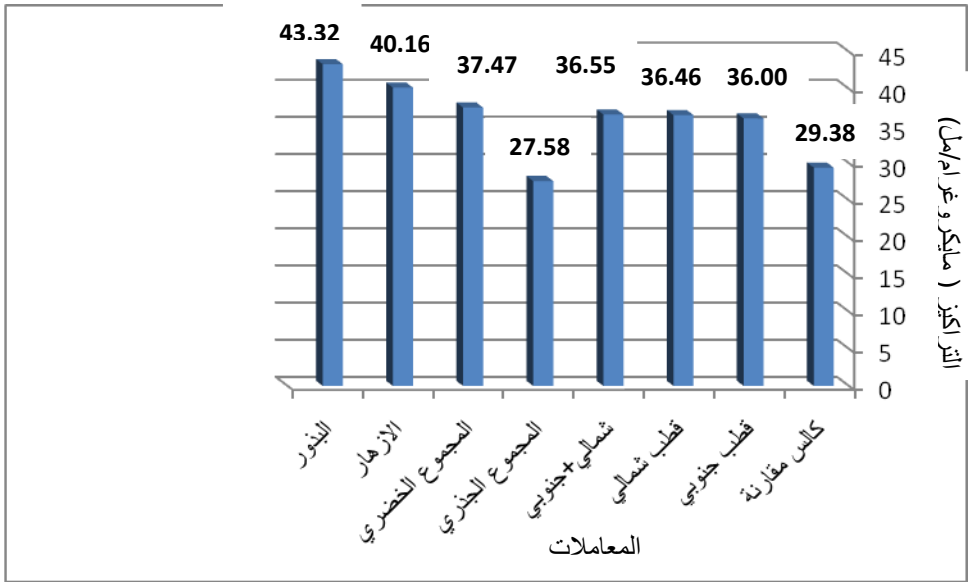
تشير النتائج في الشكل(13) والملحق (2) الى ان هناك فروقا معنوية بين كمية مركب Tras- anethole التي تم الحصول عليها من الكالس ومن الاجزاء النباتية , اذ سجلت معاملة القطب الجنوبي ومعاملة القطب الشمالي + الجنوبي اعلى كمية من المركب بلغت 66.22 و 56.50 مايكروغرام / مل , وبلغت كميته في االبذور 54.87 مايكروغرام / مل , في حين بلغت كميته في معاملة الكالس غير المعرض 53.41 مايكروغرام / مل , وبلغت كميته في المجموع الخضري 52.47 مايكروغرام / مل , وبلغت كمية المركب في معاملة الكالس المعرض الى القطب الشمالي 48.21 مايكروغرام / مل والازهار 36.12 على التوالي في حين بلغت اقل كمية له في المجموع الجذري اذ بلغت 28.25 مايكروغرام / مل (الاشكال 14-23) 0



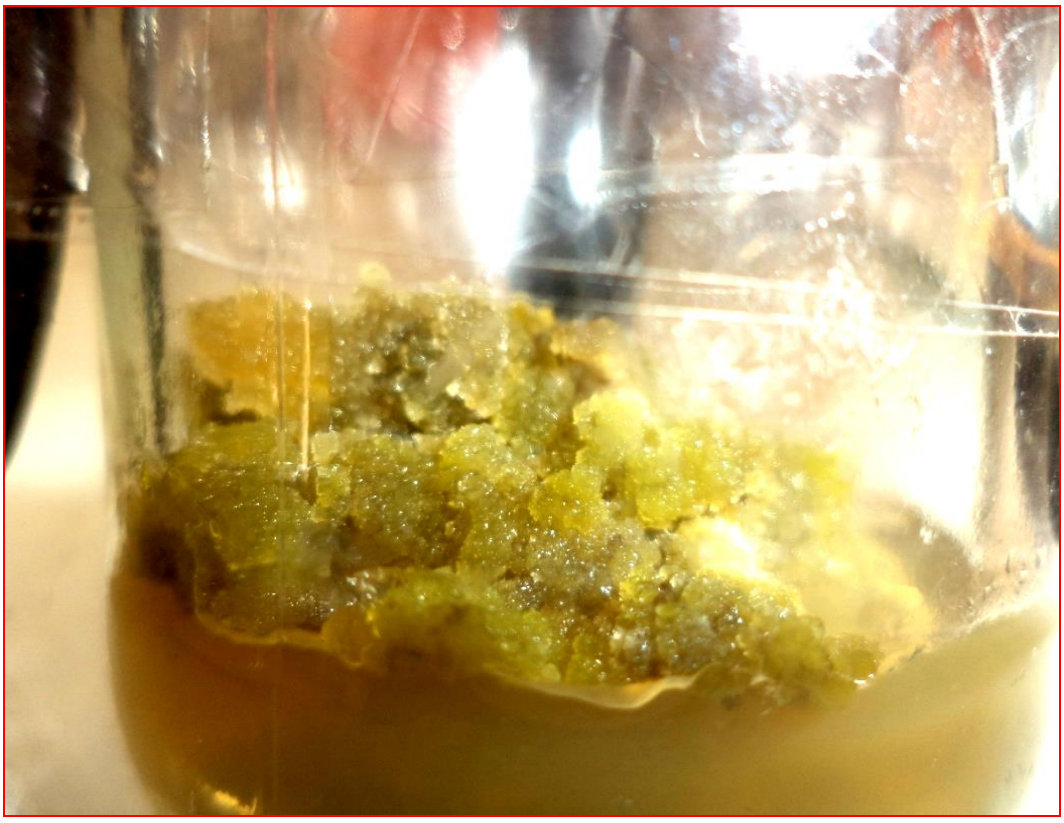
شكل(13) تركيز مركب Trans-anethole مايكروغرام/مل للعينات المختلفة للحبة السوداء مقاس بجهاز HPLC (قيمة L.S.D لاختبار T = **11.636) 0

4- مركب Thymol

تبين النتائج الموضحة في الشكل (14) والملحق(2) توافر فروق معنوية بين المعاملات اذ احتوت البذور اكبر كمية من مركب Thymol بلغت 43.32 مايكروغرام / مل تلتها الازهار اذ بلغت كميته فيها 40.16 مايكروغرام / مل , في حين تقاربت كمياته في المجموع الخضري الذي اعطى 37.47 مايكروغرام / مل و الكالس المعرض للقطب الشمالي + الجنوبي الذي اعطى كمية بلغت 36.55 مايكروغرام / مل , في حين بلغت كميته في الكالس المعرض الى القطب الشمالي و الكالس المعرض الى القطب الجنوبي , اذ كانت 36.46 و36.00 مايكروغرام / مل على التوالي. وكانت اقل قيم له في المجموع الجذري والكالس غير الممغنط والتي كانت 27.58 و 29.38 مايكروغرام / مل على التوالي (الاشكال14-23) 0

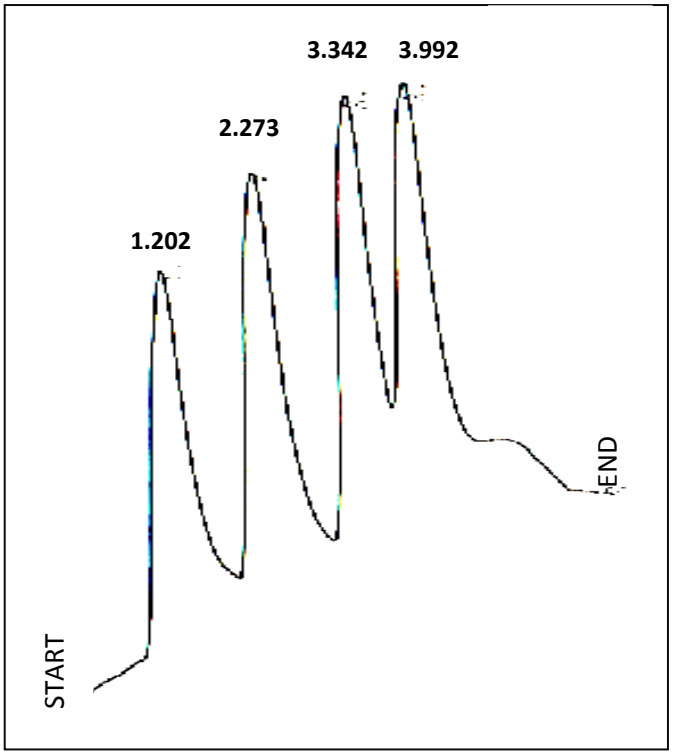


شكل(14) تركيز مركب Thymol (مايكروغرام/مل) للعينات المختلفة للحبة السوداء مقاسا بجهاز HPLC (قيمةL.S.D لاختبار T= **19567)



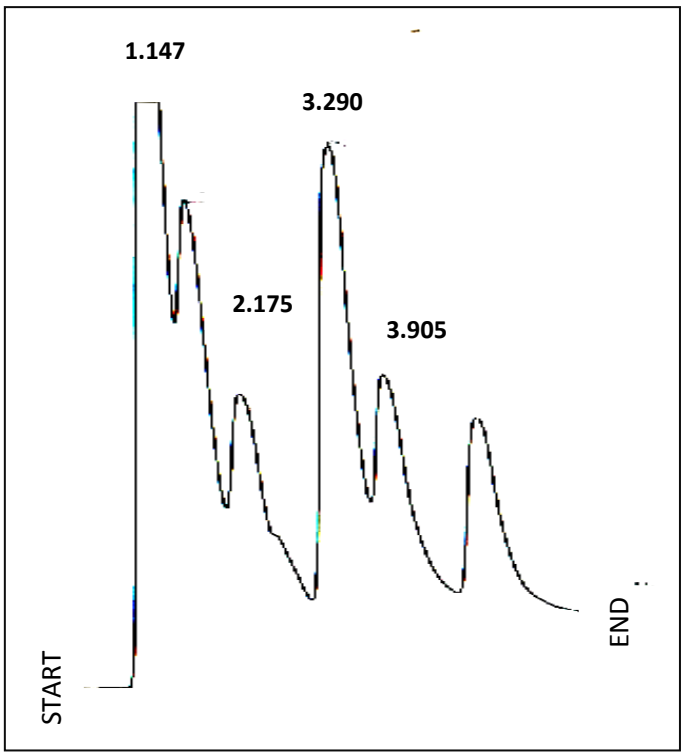
شكل(15) كالس نبات الحبة السوداء معرض للمجال المغناطيسي بشدة 200 ملي تسلا لغرض انتاج مركبات الزيوت الفعالة

ان تعريض الكالس الى المجال المغناطيســـي ادى الى زيادة في اغلب مركبات الزيوت الفعالة مقارنة بالكالـس غير الممغنط , و قد يعود السبب الـى دور المجال المغناطيسي في تحسين ايض النبات او مـــن خلال زيادة انتاج منظمات النمو وخصوصا الاوكسينات والسايتوكاينينات(التميمي, 2012 ; ناصر,2012) مما قد ينعكس بشكل ايجابي في زيادة معدل انقسام الخلايا وزيادة امتصاص المواد الغذائية فيزيد من مسـتويات مركبات الزيوت الفعالة 0وتتفق هذه النتائج مع ماتوصلت اليــه التميمي (2012) في قدرتها على استخلاص كميات اضافية من مركبات الزيوت الفعالة من كالس نبات الحبة السوداء المعرض الـى المجال المغناطيسي و المزروع على وسط MS المجهز بمنظمات النمو Kin. و 2,4-D . كذلك تتفق مع الدراسة التي قامت بها ناصر(2012) في قدرتها على زيادة كميات القلويدات المستخلصة نسيجيا وذلك من خلال تعريض كالس نبات اللالنكي الى تاثير المجال المغناطيسي 0



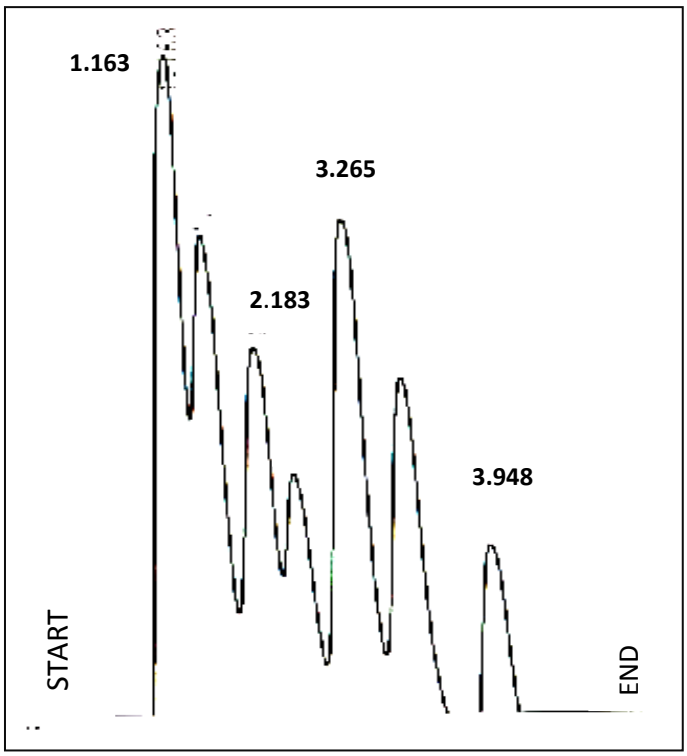
شكل (16) مركبات الزيوت الفعالة المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من عينة القياس لنبات الحبة السوداء.

ت	المركبات	المساحة	زمن الاحتجاز	تركيز عينة القياس
1	Thymoquinone	35517	1.202	20مايكروغرام/مل لجميع العينات
2	Thymohydroquinone	39591	2.273	
3	Trans-anethole	36905	3.342	
4	Thymol	42550	3.992	



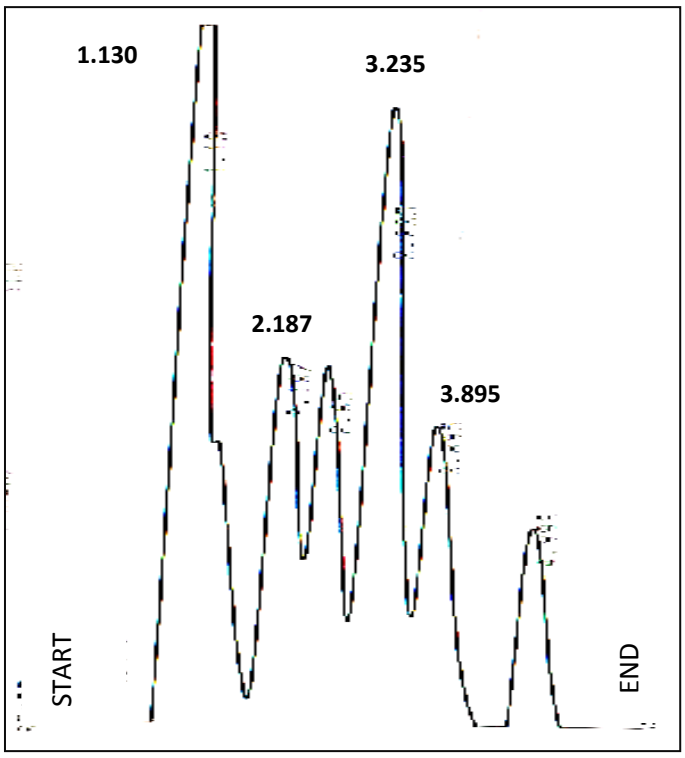
شكل (17) مركبات الزيوت الفعالة المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من عينة الكالس غيرالمعرض للمجال المغناطيسي النامي على وسط MSالمزود بمنظمي النمو Kin+2,4-D لنبات الحبة السوداء.

ت	المركبات	المساحة	زمن الاحتجاز	تركيز عينة القياس
1	Thymoquinone	63817	1.147	20مايكروغرام /مل لجميع العينات
2	Thymohydroquinone	34340	2.175	
3	Trans-anethole	49278	3.290	
4	Thymol	31251	3.905	



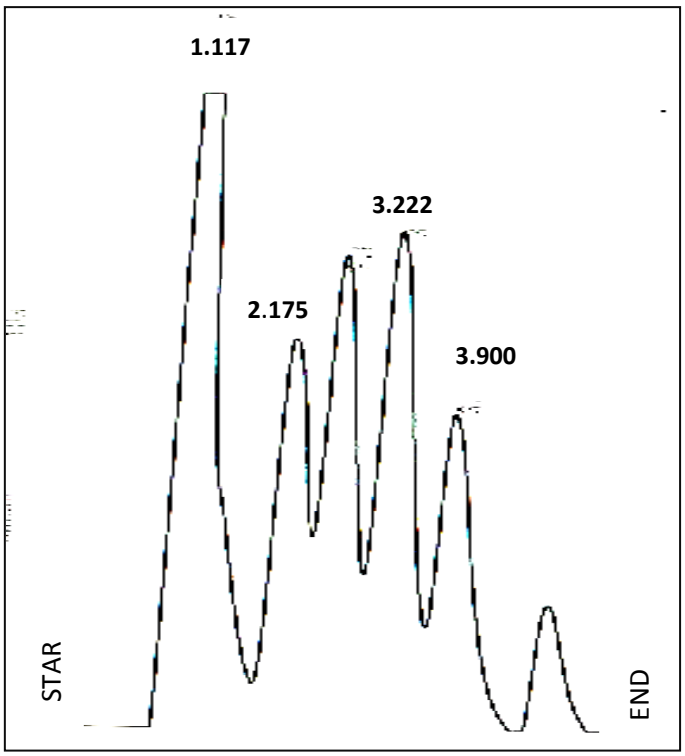
شكل (18) مركبات الزيوت الفعالة المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من عينة الكالس المعرض للقطب الشمالي للمجال المغناطيسي النامي على وسط MS المزود بمنظمي النمو Kin+2,4-D لنبات الحبة السوداء.

ت	المركبات	المساحة	زمن الاحتجاز (دقيقة)	تركيز عينة القياس
1	Thymoquinone	45402	1.163	20مايكروغرام /مل لجميع العينات
2	Thymohydroquinone	31.334	2.183	
3	Trans-anethole	44479	3.265	
4	Thymol	38789	3.948	



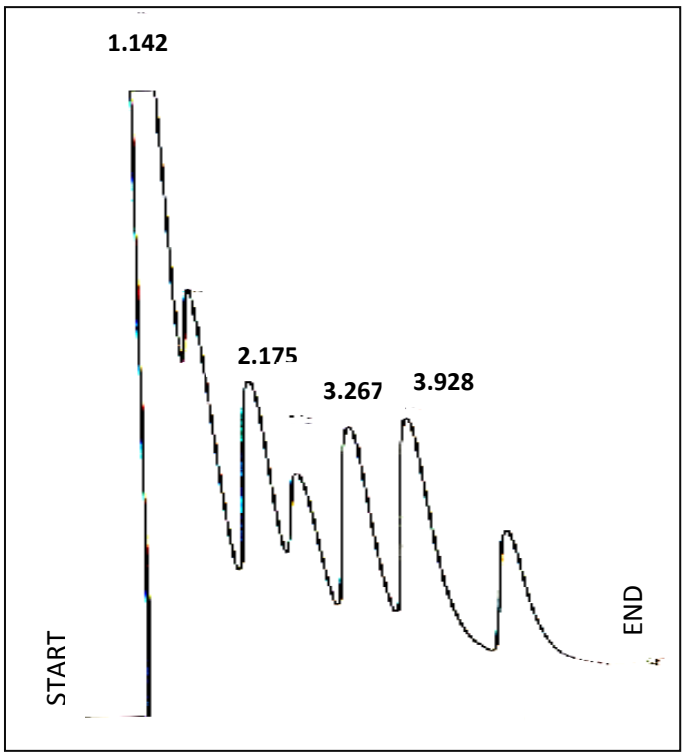
شكل (19) مركبات الزيوت الفعالة المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من عينة الكالس المعرض للقطب الجنوبي للمجال المغناطيسي النامي على وسط MSالمزود بمنظمي النمو Kin+2,4-D لنبات الحبة السوداء.

ت	المركبات	المساحة	زمن الاحتجاز (دقيقة)	تركيز عينة القياس
1	Thymoquinone	92465	1.130	20مايكروغرام /مل لجميع العينات
2	Thymohydroquinone	36462	2.187	
3	Trans-anethole	61096	3.235	
4	Thymol	38291	3.895	



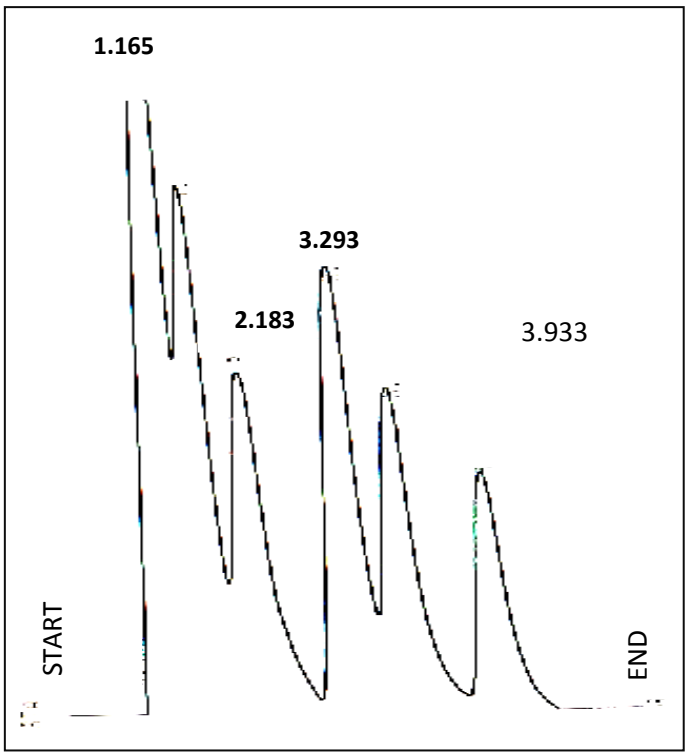
شكل (20) مركبات الزيوت الفعالة المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من عينة الكالس المعرض للقطب الشمالي + القطب الجنوبي للمجال المغناطيسي النامي على وسط MS المزود بمنظمي النمو Kin + 2,4-D لنبات الحبة السوداء.

ت	المركبات	المساحة	زمن الاحتجاز (دقيقة)	تركيز عينة القياس
1	Thymoquinone	86005	1.117	20مايكروغرام /مل لجميع العينات
2	Thymohydroquinone	37897	2.175	
3	Trans-anethole	52129	3.222	
4	Thymol	38884	3.900	



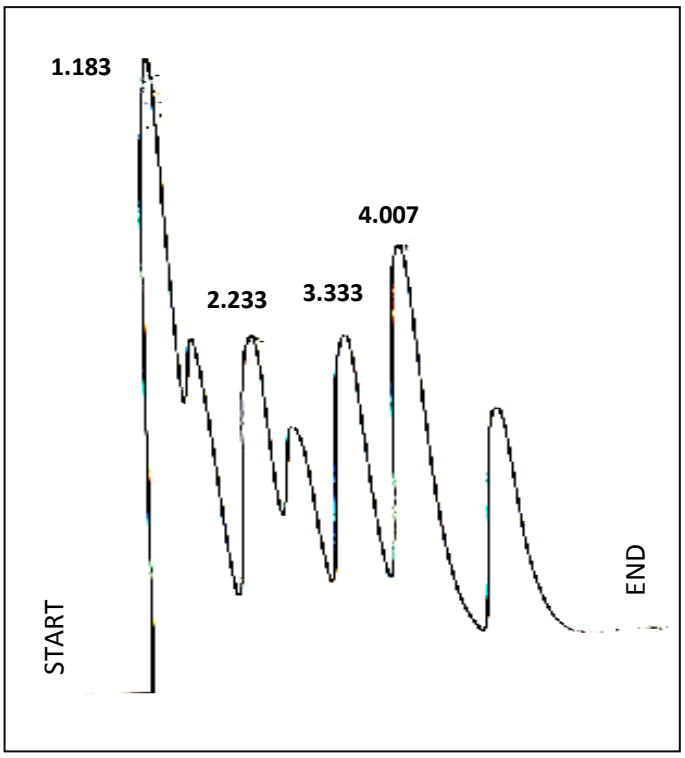
شكل (21) مركبات الزيوت الفعالة المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من عينة الجذور لنبات الحبة السوداء النامية في الحقل0

ت	المركبات	المساحة	زمن الاحتجاز (دقيقة)	تركيز عينة القياس
1	Thymoquinone	67762	1.142	20مايكروغرام /مل لجميع العينات
2	Thymohydroquinone	29271	2.175	
3	Trans-anethole	26063	3.267	
4	Thymol	29340	3.928	



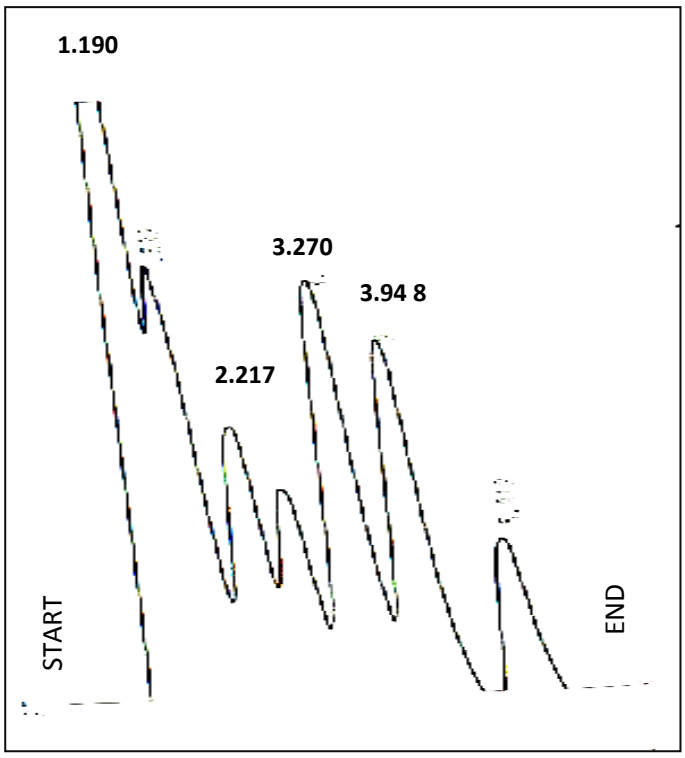
شكل (22)مركبات الزيوت الفعالة المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من عينة الساق لنبات الحبة السوداء النامية في الحقل.

ت	المركبات	المساحة	زمن الاحتجاز (دقيقة)	تركيز عينة القياس
1	Thymoquinone	68402	1.165	20مايكروغرام /مل لجميع العينات
2	Thymohydroquinone	48720	2.183	
3	Trans-anethole	48409	3.292	
4	Thymol	39858	3.933	



شكل (23)مركبات الزيوت الفعالة المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من عينة الازهار لنبات الحبة السوداء النامية في الحقل.

ت	المركبات	المساحة	زمن الاحتجاز (دقيقة)	تركيز عينة القياس
1	Thymoquinone	50390	1.183	20مايكروغرام /مل لجميع العينات
2	Thymohydroquinone	32108	2.233	
3	Trans-anethole	33328	3.333	
4	Thymol	42727	4.007	



شكل (24) مركبات الزيوت الفعالة المقدرة بجهاز الكروماتوكرافيا من عينة البذور لنبات الحبة السوداء النامية في الحقل.

ت	المركبات	المساحة	زمن الاحتجاز (دقيقة)	تركيز عينةالقياس
1	Thymoquinone	72506	1.190	20مايكروغرام/مل لجميع العينات
2	Thymohydroquinone	34800	2.217	
3	Trans-anethole	50629	3.270	
4	Thymol	46078	3.948	

الاستنتاجات

1–ادى نقع البذور بحامض الاسكوربك والسترك بتركيز 300ملغم/لترالى زيادة انبات البذور ونمو البادرات 0

2–ادت اضافة الحديد المخلبي Fe–EDTA الى وسط MS الى زيادة في انبات البذور ووزنها الطري وزيادة الوزن الطري والجاف للكالس قياسا بالنوع Fe–EDDHA 0

3–اضافة 1ملغم/لتر Kinetinوتداخله مع 2,4–Dالى وسط MS حفز نشوء الكالس وزيادة وزنه الطري ,اما عند اضافة 0.5 .Kinملغم/لتر وتداخله مع2ملغم/لتر2,4–D حفز نشوء الكالس للجذور وزيادة وزنه الطري 0

4– زيادة الوزن الطري والجاف للكالس عند التعريض الى القطب المغناطيسي الشمالي والجنوبي بشدة 200ملي تسلا0

5– تعريض الكالس الى القطب الجنوبي للمجال المغناطيسي , زاد من مركبي Thymoquinoneو Trans–anethole,اما التعريض الى القطب الشمالي مع الجنوبي زاد مركبي Thymohydroquinoneو Thymol 0

6– ادى الرش بحامضي الاسكوربك والسترك الى حصول زيادة في الوزن الطري والجاف وطول وعدد الافرع الخضرية والجذور0

7– ادى الرش بحامضي الاسكوربك بتركيز 50ملغ/لتر الى زيادة عدد البذور , اما الرش بحامض السترك بتركيز 50ملغم/لتر فادى الى زيادة وزن البذور0

التوصيات

1- دراسة تاثير تعريض البذور الى المجال المغناطيسي في انبات ونمو البادرات 0

2- دراسة دور منظمات النمو في تخصص كالس نبات الحبة السوداء 0

3- دراسة تاثير رش النباتات النامية في الحقل بحامضي الاسكوربك والسترك في محتوى النبات والبذور من مركبات الزيوت الفعالة 0

4- استخلاص مركبي Thymoquinone و Trans-anetholeمن الكالس المعرض الى القطب الجنوبي , واستخلاص مركب Thymohydroquinone من الساق للنباتات النامية في الحقل, اما مركب Thymol فيوصى باستخلاصه من ازهار النباتات الحقلية 0

5- دراسة تأثير اوساط غذائية اخرى كوسط B_5 في تحفيز الكالس وتراكم المواد الفعالة في اجزاء مختلفة من الحبة السوداء0

6- دراسة تأثير مركبات اخرى كمحفزات لبناء هذه المركبات مثل حامضي السالسلك او الجاسمونك و Polyamineوتراكيز اخرى من وسط 0MS

7- دراسة استعمال مصادر اجهاد مختلفة مثل NaClو PECو ABAوتأثيرها في تحفيز تراكم المنتجات الايضية الثانوية لكالس نبات الحبة السوداء0

8- اضافة بعض ىلاحماض الامينية الاروماتية التي تدخل كبوادئ او مركبات وسطية في بناء هذه المركبات الفعالة0

شكل (4) أثر نقع بذور الحبة السوداء بحامضي الأسكوربك والسترك في الصفات الخضرية للبادرات بعد مرور4 اسابيع من انبات البذور على وسط MS الخالي مـــن منظمات النمو (A اسكوربك B,300 اسكوربك 100, C سترك300 , D سترك 100, E المقارنة) ملغم / لتر 0

4-1-2: اثر مصدر الحديد المخلبي في انبات البذور ونمو بادرات الحبة السوداء

1- نسبة الانبات %

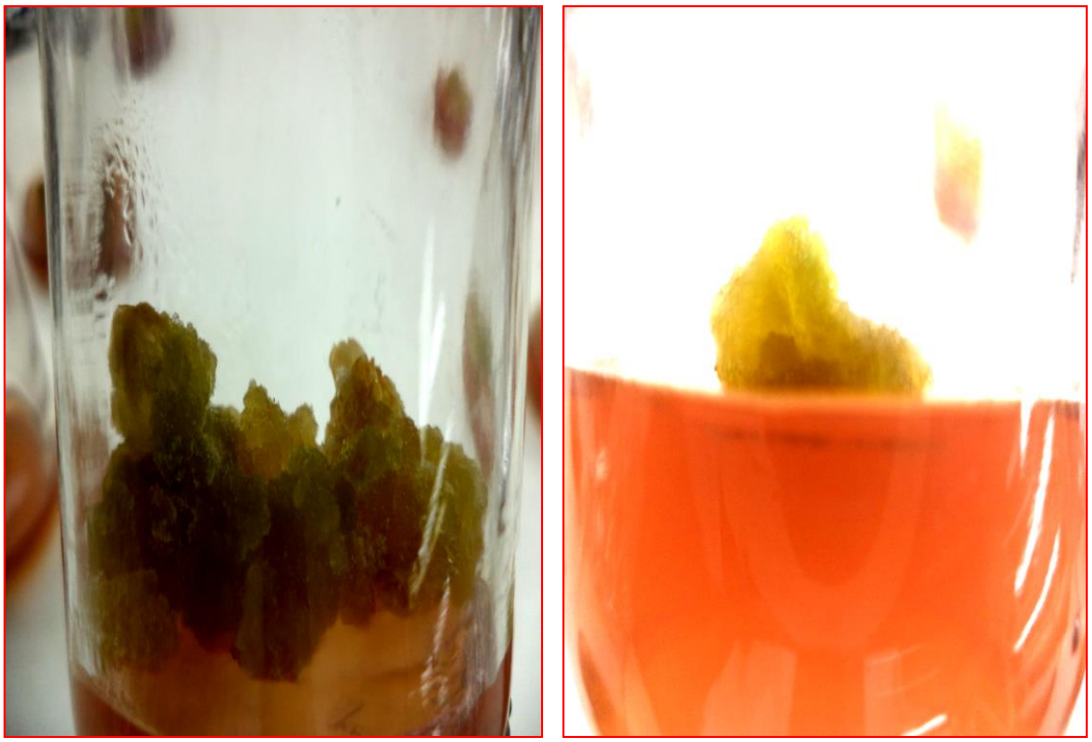
تبين النتائج الموضحة في الجدول (3) عدم توافر فروق معنوية بين نوع الحديد المخلبي المضاف الى وسط MS اذ اعطت معاملة الحديد Fe-EDTA نسبة انبات بلغت 45 % واعطت معاملة الحديد Fe-EDDHA نسبة انبات بلغت 35 % .

2- سرعة الانبات (بذرة / يوم) اظهرت النتائج (الجدول 3) ان معاملة الحديد Fe-EDTA اعطت سرعة انبات بلغت 5.42 بذرة / يوم في حين اعطت معاملة الحديد Fe-EDDHA سرعة انبات بلغت3.17 بذرة / يوم0

جدول (5) اثر .kin و2,4-D في الوزن الطري(ملغم) للكالس الناشئ من المجموع الخضري لنبات الحبة السوداء بعد مرور45 يوما من الزراعة على وسط MS.

2,4-D ملغم/لتر / Kin ملغم/لتر	1	1.5	2	المعدل
0.5	991.50 AB	848.70 AB	918.60 AB	919.60 A
1	1221.80 A	785.70 AB	605.60 B	871.10 A
1.5	675.90 AB	512.20 B	1011.40 AB	733.20 A
المعدل	963.10 A	715.50 A	845.20 A	

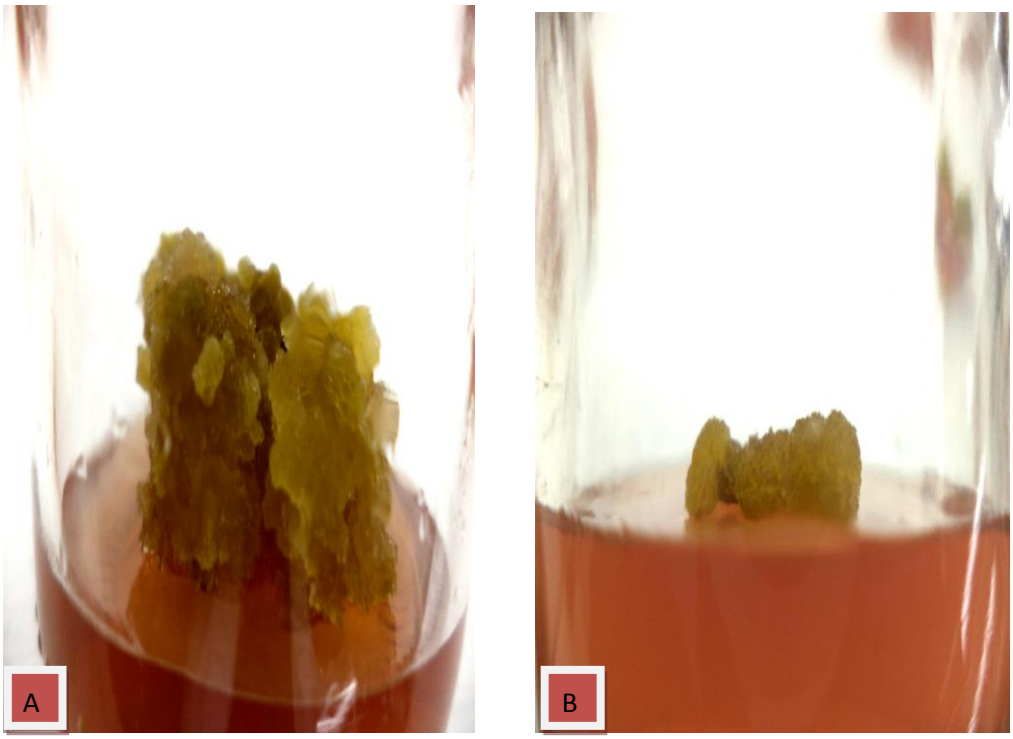
*المتوسطات التي تحمل الحرف نفسه لكل عمود لاتختلف معنويا فيما بينها بحسب اختبار دنكن متعدد الحدودعند مستوى احتمال 5%



شكل (5) اثر .kin و2,4-D في الوزن الطري للكالس المجموع الخضري لنبات الحبة السوداء بعد مرور45 يوما من الزراعة على وسط MS (A اكبر كالس باضافة1.Kin +D1 -2,4 B اصغر كالس باضافة1.5Kin+D1.5-2,4 ملغم/لتر) 0

اعطت اعلى متوسط وزن جاف بلغ 63.90 ملغم على معاملتي 1 و 1.5 ملغم / لتر اللتين اعطتا متوسط وزن جاف بلغ 44.33 ملغم و43.58 ملغم على التوالي , اما عن تأثير اضافة 2,4-D فتشير النتائج الى توافر اختلافات معنوية بين المعاملات اذ اعطت معاملة 2 ملغم / لتر افضل وزن جـــاف بلـــغ 64.83 ملغم وبفارق معنوي عن المعاملتين 1 و 1.5 ملغم / لتر اذ اعطتا متوسط وزن بلغ 45.33 ملغم و41.99 ملغم على التوالي 0

اما عن تاثير تداخل Kin. مع 2,4-D فتشير النتائج (الجدول 9) الى توافر فروق معنوية بين المعاملات اذ تفوقت معاملة 2,4-D 2+ Kin.0.5 ملغم / لتر التي اعطت متوسط وزن جاف بلغ 79.82 ملغم وبفارق معنوي على المعاملات جميعا ماعدا المعاملتين 2,4-D 2 + Kin.1 ملغم / لتر و2,4-D 1 + Kin.0.5 اذ بلغ فيهما متوسط وزن الكالس الجاف 66.92 ملغم و59.72 ملغم على التوالي , في حين اعطت المعاملة 2,4-D 1.5 + Kin.1 ملغم / لتر اقل متوسط وزن جاف للكالس بلغ 30.81ملغم 0



شكل (6) اثر .kin و 2,4-D في الوزن الطري للكالس الناشئ من المجموع الجذري لنبات الحبة السوداء بعد مرور 45 يوم من الزراعة على وسط MS (A اكبركالس باضافة 2,4-D 2+Kin.0.5, B اصغر كالس باضافة 2,4-D1+Kin.1.5ملغم/لتر)0

الطري 35.7 ملغم وذلك في معاملة النقع بالماء المقطر(المقارنة), ولم تظهر نتائج التحاليل الاحصائية فروقا معنوية بين المعاملات0

ان وجود فروقا معنوية بين المعاملات قد يعود الى التأثيرات الفسيولوجية المهمة لحامضي الاسكوربك والسترك في تحسين انبات البذور ونمو البادرات كما ورد في تجربة النقع النسيجية 0

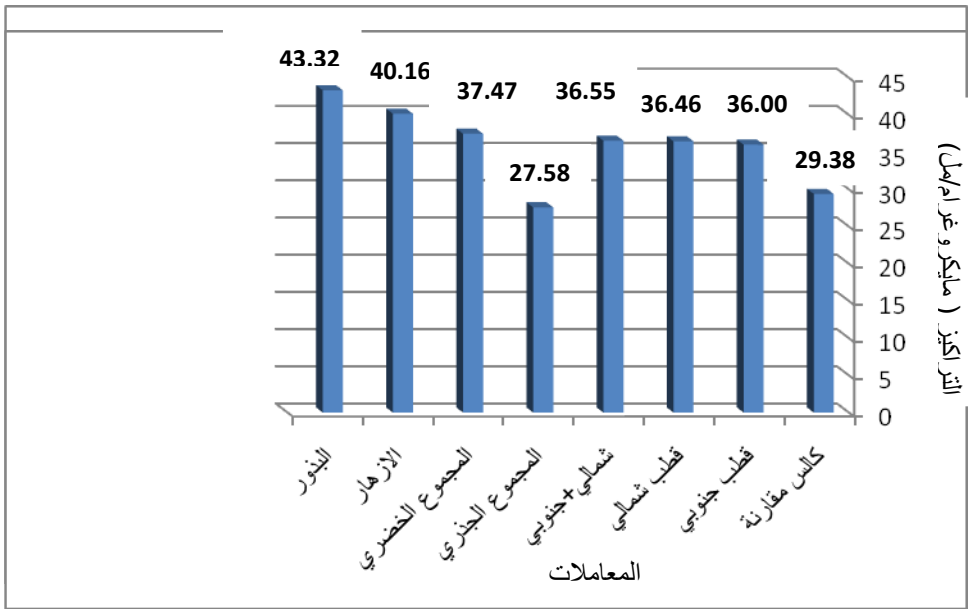
شكل (7): أثر نقع بذور الحبة السوداء بحامضي الأسكوربك والسترك لمدة 10ساعات في نمو البادرات بعد مرور 4 اسابيع من الانبات في الحقل(A , سترك 300 ملغم/لتر , B اسكوربك 300 ملغم/لتر , C اسكوربك100 ملغم/لتر , D سترك100ملغم/لتر , E المقارنة)0

الجدول (15) أثر قطبية المجال المغناطيسي في نمو كالس نبات الحبة السوداء بعد مرور 30 يوما من الزراعة على وسط MS مضافا له 2,4-D 2 + Kin. 1.5 ملغم/لتر

الصفات المدروسة / معاملات التعريض	الوزن الطري (ملغم)	الوزن الجاف(ملغم)
بدون تعريض (المقارنة)	2704 B	60 B
قطب شمالي بشدة 200 ملي تسلا/قطعة مغناطيس	4631 A	115 A
قطب جنوبي بشدة 200 ملي تسلا/قطعة مغناطيس	4549 A	105 AB
قطب شمالي + جنوبي بشدة 200ملي تسلا/قطعة مغناطيس	5264 A	128 A

المتوسطات التي تحمل الحرف نفسه لكل عمود لاتختلف معنويا فيما بينها بحسب اختبار دنكن متعدد الحدودعند مستوى احتمال 5%

الشكل (11)تأثير قطبية المجال المغناطيسي في نمو كالس نبات الحبة السوداء بعد مرور 30يوما من الزراعة على وسط MS مضافا له 2,4-D 2 + Kin. 1.5 ملغم/لتر0



شكل(14) تركيز مركب Thymol (مايكروغرام/مل) للعينات المختلفة للحبة السوداء مقاسا بجهاز HPLC (قيمةL.S.D لاختبار T= **19567)

شكل(15) كالس نبات الحبة السوداء معرض للمجال المغناطيسي بشدة 200 ملي تسلا لغرض انتاج مركبات الزيوت الفعالة

بادرة نامية على وسطMS

بادرة في بداية الانبات

الامهات

المزارع النسيجية

كالس مهيئ للتعريض للمجال المغناطيسي

كالس معرض لغرض انتاج مركبات الزيوت الفعالة

شكل(2) مراحل الدراسة النسيجية تبين انبات البذور ونشوء الكالس لنبات الحبة السوداء

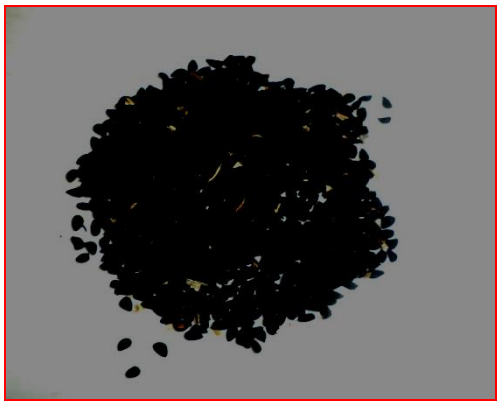
B–النباتات بعمر52عند الرشة الاولى بالاحماض

A– الزراعة وبداية الانبات

C– نباتات الحبة السوداء في مرحلة التزهير

D– زهـــــــــــــرة

E – جـــرس



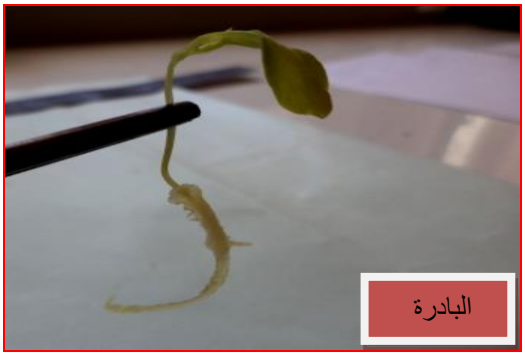
F– بـــذور الحاصل

شكل(3) مراحل مختلفة من حياة نبات الحبة السوداء النامي في الحقل 0

الغذائي الصلب MS وبواقع 10 مكررات لكل معاملة , ثم نقلت الزروعات الى غرفة النمو و بعد مرور 4 اسابيع من الزراعة اخذت القياسات لمعرفة تأثير التداخلات بين Kin. و 2,4-D في نسب استجابة نشوء الكالس , والوزنين الطري والجاف للكالس المتكون لتحديد التركيز الامثل لتنفيذ التجارب اللاحقة .

3-2-1-4: اثر نوع الحديد المخلبي في نشوء الكالس ونموه

اجريت التجربة باستخدام وسط MS وقورنت نتائجه مع استبدال الحديد المخلبي Fe- EDTA بالحديد المخلبي Fe – EDDHA لمعرفة تأثير نوعي الحديد المخلبي في نشوء ونمو كالس الحبة السوداء من الرويشة بطول 1سم ماخوذة من بادرات نامية في المختبر وبواقع 10 مكررات لكل معاملة واخذت القراءات بعد مرور 4 اسابيع من الزراعة في صفة نسبة استجابة الكالس والوزن الطري (ملغم) والوزن الجاف (ملغم) علما ان الوسطين قد زودا بمنظمات نمو (2,4-D 2 + Kin 1.5) ملغم / لتر .



شكل(1) بادرة نبات الحبة السوداء والاجزاء المستعملة منها للتجارب النسيجية

المصـــــادر

الملاحق

ملحق (1) : اثر عمر الكالس (يوم) النامي من الرويشة والجذير بعد مرور 36 يوم من الزراعة على وسط MS

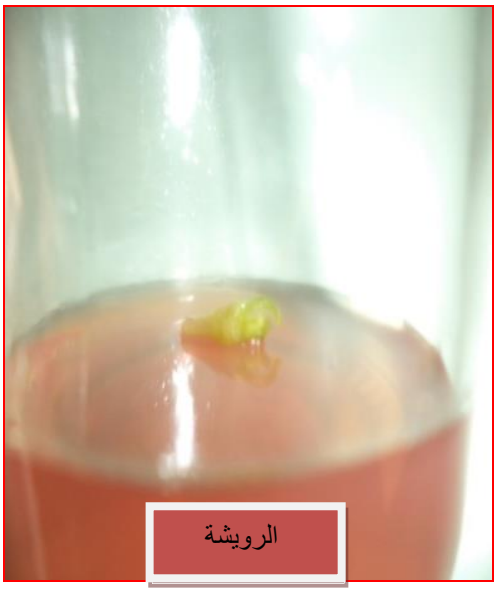
الصفات المدروسة / عمر الكالس (يوم)	الكالس الناشئ من الرويشة (2,4-D 2+Kin. 1.5)ملغم/لتر		الكالس الناشئ من الجذير (2,4-D 2+Kin.0.5)ملغم/لتر	
	الوزن الطري (ملغم)	الوزن الجاف (ملغم)	الوزن الطري (ملغم)	الوزن الجاف (ملغم)
0	500.00 D	0.00 E	500.00 F	0.00 F
6	700.60 CD	17.90 D	603.70 EF	13.10 E
12	765.90 CD	20.60 D	700.60 E	16.60 D
18	905.00 C	24.30 D	866.90 D	20.80 C
24	2354.70 A	49.00 B	1322.30 C	29.60 B
30	2582.20 A	60.00 A	1904.10 A	40.55 A
36	1924.30 B	38.22 C	1446.70 B	32.60 B

*المتوسطات التي تحمل الحرف نفسه لكل عمود لاتختلف معنويا فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5 %

ملحق (2) : التقدير الكمي والنوعي لمركبات الزيوت الفعالة للاجزاء النباتية المختلفة المزروعة في الحقل والكالس المعرض للمجال المغناطيسي (مايكروغرام/مل) .

المركبات / *المعاملات	Thymoquinone	Thymohydro--quinone	Trans-anethole	Thymol	قيمة اختبار T
كالس غيرمعرض	71.87	34.69	53.41	29.38	4.897
كالس معرض للقطب الجنوبي	104.14	36.84	66.22	36.00	3.785
كالس معرض للقطب الشمالي	51.14	31.66	48.21	36.46	9.001**
كالس معرض للقطب الشمالي والجنوبي	96.87	38.29	56.50	36.55	4.070
الجذرور	76.32	29.57	28.25	27.58	3.377
الساق	77.04	49.22	52.47	37.47	6.502**
الازهار	56.75	32.43	36.12	40.16	7.709**
البذور	81.66	35.16	54.87	43.32	5.299
قيمة اختبار T	12.120**	16.827**	11.636**	19.567**	

** وجود اختلافات معنوية حسب اختبار t عند مستوى احتمالية 5% و 1 % , *مدة التعريض للمجال المغناطيسي 10ايام



ملحق(3) بادرة نبات الحبة السوداء والاجزاء المستخدمة منها للتجارب النسيجية

القران الكريم0

البغا , مصطفى ديب (1987) . صحيح البخاري دار ابن كثير , اليمامة , بيروت , ط3 : 5364 .

البكر ، رحاب عبد الجبار و هناء سعيد الصالح 0 (2005). دور التداخلات المشتركة من BAوD – 2, 4 في نمو وتمايز كالس نبات الحبة السوداء *Nigella sativas* L. وعلاقتها بمحتوى المركبات الفعالة فيه ، مجلة علوم الرافدين ، 16 (8) :211 – 224.

التميمي ، أريج عدنان يوسف (2001) . فعالية مستخلصات الحبة السوداء المحلية (*Nigella sativa* L.) في الأصابة المرضية ببكتريا *E. coli* في الفئران البيض ، رسالة ماجستير – كلية التربية للبنات – جامعة بغداد .

التميمي, رجاء محمد عبيد (2012) اثر بعض منظمات النمو والمغذيات والمجال المغناطيسي في نشوء الكالس ومحتواه من الهرمونات وبعض الزيوت لنبات الحبة السوداء .(*Nigella sativa* L) , رسالة ماجستير , جامعة ديالى .

الدليمي , حكمت مصطفى و ساجدة عزيز عبود (2006) وجود انزيم الداي هيدروفوليت ردكتيز في بادرات وكالس نبات الحبة السوداء (*Nigella sativa* L.) مجلة علوم الرافدين 17 , (1) , 26–38 0

الرفاعي, عبد الرحيم توفيق وسمير عبد الرازق الشوبكي 0(2008)0تقنيات القرن 21 لتحسين النبات باستخدام زراعة الانسجة 0دار الفكر العربي , القاهرة , جمهورية مصر العربية 0

الساهوكي ، مدحت مجيد وكريمة محمد وهيب (1990) . تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب ، دار الحكمة للطباعة والنشر ، الموصل .

الشحات, ابو زيد نصر (1981). النباتات والاعشاب الطبية . المركز القومي للبحوث, القاهرة , دار البحار , بيروت.

الشحات , ابو زيد نصر (2000) الهرمونات النباتية والتطبيقات الزراعية . الدار العربية للنشر والتوزيع . مصر .

الشحات , ابو زيد نصر (2000) الزيوت الطيارة . الدار العربية للنشر والتوزيع الطبعة الاولى 0

الشكلي , عبد العزيز احمد محمد (2003) اثر الماء الممغنط على امتصاص نبات الرجلة للحديد . رسالة ماجستير , جامعة السودان للعلوم والتكنولوجيا .

الشماع ، علي عبد الحسين (1993) العقاقير وكيمياء النباتات الطبية . دار الحكمة – بغداد .

العاني ، أوس هلال (1998) . دراسة مكونات الحبة السوداء المحلية وتأثير مستخلصاتها في بعض الأحياء المجهرية – رسالة ماجستير . الجامعة المستنصرية . كلية العلوم . قسم علوم الحياة – فرع الأحياء المجهرية .

العزاوي , عماد خلف نجم (2012) . استجابة نبات الشليك للاكثار ونشوء الكالس وانتاج بعض المركبات الطبية خارج الجسم الحي . رسالة ماجستير , كلية التربية للعلوم الصرفة , جامعة ديالى .

القداحي, فرح عبد الحميد (1991) .الشفاء بالحبة السوداء . دار الاسراء للنشر والتوزيع القاهرة .

الكاتب ، يوسف منصور. (1988) . " تصنيف النباتات البذرية " وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . جامعة بغداد .

الكاتب ، يوسف منصور. (2000) . " تصنيف النباتات البذرية " دار النشر . جامعة بغداد .

الكاكي ، اسماعيل صالح (1999) . تأثير بعض النباتات المخفضة لسكر الدم في بيروكسدة الدهن ومستوى الكلوتاثيون وبعض الجوانب الكيمياوية الحياتية لذكور الأرانب السليمة بداء السكر التجريبي . أطروحة دكتوراه ، كلية العلوم ، جامعة الموصل ، العراق .

الكتل , رحيم عبد وعبد السلام عبد الامير وطالب ناهي وفياض عبد اللطيف (1986) الفيزياء الجامعية (الكهربائية والمغناطيسية) . مطبعة الجامعة التكنولوجية .

النجار ، عبد الرحمن (1997) أسرار جديدة عن حبة البركة ، دار ألأخبار اليوم – القاهرة.

النعيمي , ازهار وعادل محمد علي (2004) . دراسة بعض المتغيرات البايلوجية بفعل مركب الثايمول المعزول من المزارع النسيجية لنبات الحبة السوداء *Nigella sativa* L. اطروحة دكتوراه كلية العلوم . جامعة الموصل .

النعيمي ، مها محمد طه و هناء سعيد الصالح (2010) . دور تداخل بعض منظمات النمو والسلفانيل أمايد في استحداث ونمو الكالس والمزارع الخلوية لنبات الحبة السوداء (*Nigella sativa* L.). مجلة علوم الرافدين , 21 (3) : 56-72 .

تويج , بان منعم عبد الرزاق (2011) استخدام بعض المحفزات الفيزيائية والكيميائية في انتاج بعض مركبات الايض الثانوي لنباتي الروجة *Hypericum triquetrifolium* وعنب الذيب *Solanum nigrum* خارج الجسم الحي . رسالة ماجستير . كلية العلوم 0 الجامعة المستنصرية . العراق .

جاسم , هتاف حمود (2012) تاثير الرش بحامض الاسكوربك والحديد المخلبي في نمو وحاصل قرع الكوسة *Cucurbita pepo* L.) مجلة البصرة للعلوم الزراعية 25 (1) 22-28 .

جري , عواطف نعمة و عبد الله عبد العزيز عبدالله و خيون عبد عبدالسيد (2011) تاثير الرش بحامض الاسكوربك في حاصل وصفات الخس(*Luctuca sativa* L.) المزروع في جنوب العراق . مجلة البصرة للعلوم الزراعية , 24 , (1) 0

حمد، محمد شهاب و إبراهيم عبد الله حمزة و سراب عبد الهادي المختار(2010) . تأثير السكروز والثايروسين فـــي استحثاث الكالس وإنتاج المورفين والكودائين من نبات الخشخاش *Papaver somniferum* خارج الجسم الحي ، مركز بحوث التقنات الاحيائية 4 (2) : 45 - 52 .

خليل , محمود عبد العزيز ابراهيم (2004) . النباتات الخضر . منشاة المعارف بالاسكندرية . حلال حربي وشركائه . مصر.

خميس , سعدي سبع ومثنى حامد حسن0(2008)0تأثير مستخلص حبة السوداء والثوم على الصورة الدموية خارج الجسم المعاملة بكلوريد الكادميوم $CdCl_2 .5H_2O$ واوكسيد الزئبق HgO 0مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة20 (2) :8941-8911

خوجلي ، احمد (1998). فيزياء الجوامد . عزة للنشر والتوزيع ، الخرطوم ، السودان

دفلن , روبرت . م . و ويذام فرانسيس . هـ فسلجة النبات , الجزء الثاني , ترجمة تحرير رمضان عبد المجيد واخرون (1991) . كلية التربية (ابن الهيثم) جامعة بغداد

سعد , شكري ابراهيم و عبد الله القاضي و عبد الكريم محمد صالح (1988) النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي . جامعة الدول العربية . المنظمة العربية للتنمية الزراعية . الخرطوم . السودان .

سلمان ، محمد عباس . (1988) . أساسيات زراعة الخلايا والأنسجة النباتية . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – جامعة بغداد .

سلمان , محمد عباس (1988) . اكثار النباتات البستنية , وزارة التعليم العالي والبحث العلمي, جامعة بغداد , العراق .

شنشل , سجى ناظم محمد (2004) دراسة التأثير الوقائي لمستخلص بذور الحبة السوداء (*Nigella sativa* L.)على بعض الوظائف الخصوية في الفئران البيض السويسرية (Balb/c) المعرضة لاشعة كاما . رسالة ماجستير . كلية التربية . جامعة الموصل 0 العراق .

صقر, محب طه (2012) . فيسولوجيا الاجهاد , كلية الزراعة .جامعة المنصـــــــورة .

عبيد ، إياد عاصي (2009) . تأثيرات الوسط الغذائي والمجال المغناطيسي في الإكثار والصفات التشريحية لأصل الخوخ *Prunus persica* L . Batsch صنف محلي بيضاوي بالزراعة النسيجية ، أطروحة دكتوراه ، جامعة الموصل ، العراق .

عبد الله , عبد الله عبد العزيز (2013) تاثير الرش بحامض السترك في النمو والحاصل الاخضر لنبات الباقلاء (*Vicia faba* L.) المزروعة جنوبي العراق مجلة ابحاث البصرة0 العلميات . (39) . B1 . 1817-02695

قطب ، فوزي طه . (1981) . النباتات الطبيعية زراعتها ومكوناتها ، دار المريخ للنشر الرياض ، السعودية .

مجيد , سامي هاشم ومحمود مهند جميل 0(1988) 0النباتات والاعشاب العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي 0ط01مجلس البحث العلمي , مركز بحوث علوم الحياة 0

محمد، عبد العظيم كاظم(1985).علم فسلجة النبات –الجزء الثاني.مديرية دار الكتب للطباعة والنشر جامعة الموصل ، العراق .

محمد ، عبد المطلب ومبشر صالح عمر . (1990) . المفاهيم الرئيسة في زراعة الخلايا والانسجة والاعضاء للنبات ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، مطبعة جامعة الموصل ، العراق .

ناصر، نور صبري . (2012) . أثر المجال المغناطيسي ومنظمات النمو النباتية في نمو واستحثاث الكالس في نباتي اللالنكي (*Citrus reticulate blanco*) والليمون الحامض (*Citrus limon* L . *Burumf*) خارج الجسم الحي ، رسالة ماجستير ، جامعة ديالى .

Abd El-al, Faton S. (2009). Effect of urea and some organic acids on plant growth, fruit yield and its quality of sweet pepper (*Capsicamannuns*). Res. J. Agri. An Biol.Sci. 5(4): 372-379**.**

Ahmed, F.F. ; A.M. Akl ; A.A. Gobora and A.E. Mansour (1997 **)**. Yield and quality of Anna apple trees (*Malus domestica* L.) in response to foliar application of ascorbine and citrine fertilizer . Eygpt J. Hort., 25(2) : 120-139 .

Al – Ani , N.K. (2008).Thymol production from callus culture of ***Nigella sativa*** **L.** Plant Tissue . Biotech , 18 (2) : 181 – 185 .

Alansari, A.A.; S. Hassan; L. Kenne; A. Rahman and T. Wehler (1988). Structural studies on Saponia isolated from *Nigella sativa*. Phytochem. 27(12).

Al–Jassir , M.S. (1992) Chemical compostion and Microflora of black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds growing in Saudi Arabia . Food Chemistry 45:239 – 242.

Amin , B. , G. Mahleghah ; H.M.R. Mohmood and M.Hossein (2009) .Evalution of interaction effect of drought stress with ascorbate and salicylic acid on some of physiological and biochemical parameters okra (*Hibiscus esculentus* L.) Research Journal of biological science , 4 (4) : 380 – 387 .

Antonopoulou, C., K. Dimassi; I. Therios;C. Chatzisswidi and I. Paradaki (2007). The effect of Fe-EDDHA and of ascorbic acid on *in vitro* rooting of the peach rootstock GF-677 explants , Acta Physiol. Plant., 29 : 559-561.

Arisha, H. M. (2000) . Effect of vitamin C on growth , yield and tuber quality of some potato cultivars under sandy soil conditions . Zagazig J. Agric. Res., 27(1) : 91-104 .

Atak, C., O. Emiroglu; S. Alikamanoglu and A. Rzakoulieva (2003). Stimulation of regerenation by magnetic field in soybean (*Glycine max* L. Merrill) tissue cultures, J. of Cell and Molecultar Biology , 2: 113-119.

Atak,C., O.Celik; A. Olgun; S. Alikamanoglu and A. Rzakoulieva (2007). Effect of magnetic field on peroxidase activities of soybe tissue culture . Biotechnol and Biotechnol. EQ. 21/2007/2,:61-71.

Baradisi, A. (2004 **).** Influence of vitamin C and salicylic acid foliar application on Garlic plants under sandy soil conditions . Zagazig J. Agric. Res., 31 (4A) : 1335-1347 .

Barefoot , R . R . and C . S . Reich . (1992) . The Calcium Factor : the Scientific Secret of health and youth , South eastern , PA : Triad Marketing ; 5th edition

Barik , D. P ; S.K Naik ; U. Mohaparta and P.K Chand . (2004).

Bashandy , S. A. E. (1996). Effect of *Nigella sativa* oil on liver and kidney function of adult and senile rats . Egyptian .d. of Pharmacentical . Sci . 37 : 313 – 327 .

Bhalsing , S.R . and V.L Maheshwari . (1998) . Plant tissue culture . apotential source of Medical compounds . J. scient .Indust . Res . 27 :703- 708.

Blokhina, O., E. Virolainen and K.V. Fagerstedt (2003). Antioxidant,oxidative damage and oxygen deprivations stress. A review Ann. Bot., 91: 179-190.

Chakraverty , H. L. (1976) . Plant wealth of Iraq , a dictionary of economic plant . Vol . (1) P.387-388, ministry of Agriculture and Agrataon Reform , Baghdad . Iraq .

Chakravarty, N. (1993) Inhibition of histamine release from mast cell by Nigellone – Ann – Allergy. 70 (3):237 – 242.

Chameides, W. L. (1989). The chemistry of ozone deposition to plant leaves : Role of ascorbic acid . Environ . Sci. Technol. , 23 (5) : 595-600 .

Conklin, P. L. and C. Barth (2004). Ascorbic acid , a familiar small molecule intertwined in the response of plants to ozone , pathogenes , and the onset of senescence . Plant, Cell and Environment , 27 : 959-970 .

Dalton, C C., K. Iqbal and D. A. Turver (1983). Iron phosphate precipitation in murashige and skoog media .physiol. plant., 57: 472-476.

Davies, P.J.(1995). Plant Hormones, Physiology, Biochemistry and Molecular Biology. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht London.

Davuluri , G.R ; T . A .Van and P. D Fraser .(2005) . Fruit specific RNAI – Mediated suppression of DET1 enhances carotenoid and flavonoid content in tomatoes . Nature Biotechnology , 23(7) : 890 – 895.

Dehghan , gholamreza; Leyla Rezazadeh and Ghader Habibi (2011) exogenous ascorbate improves antioxidant defence system and induces salinity tolerance in sobean seedlings . Acta Biologica szegedlensis . 55 (2) : 261 – 264 .

Dunlap, J. R. and K. M. Robacker (1988). Nutrient salts promote light- induced degradation of indole-3-aceticacid in tissue culture. Plant physiol. 88: 379-382.

Del, H. M. (1997). Effect of a magnetic Field on the growth of spinach. KH Biology-Univ . SW Louisiana .Lafayette , LA 70504-2451.

El-Bassiouny, H.M.S.;M.E. Gobarah and A.A. Ramadan (2005). Effect of antioxidants on growth,yield,ssavism causative agents in

seeds of *Vicia faba* L.plants growth under reclaimed sandy soils. J. Agr. Pakistan.

El-Dakhakhny, M.; M. Barakat,; M. A. El-Halim and S. M.Aly. (2000) Effect of *Nigella sativa* oil on gastric secretion and ethanol induced ulcer in rats. J. Ethano. Pharmacol., 72(1-2):299-304.

El-Ghamriny, E. A. ; H. M. Arisha ; and K. A. Nour (1999) . Studies on tomato flowering , fruit set , yield and quality in summer Spraying with thiamine , ascorbic acid and yeast . Zagazig J. Agric. Res., 26 (5) : 1345-1364

El – Faham and Sawsan. (1994). Comparative studies on chemical composition of *Nigella sativa* L. Seeds and its cake .J. Agric. Sci. Mansoura . Univ . 19:2283 – 2289.

EL – Kadi, A. and O. Kandil . (1986). The effect of *Nigella sativa* (the black seed) on Immunity . presonted at 4th International conference on Islamic medicine . Karachi. Pakistan.

El- Sayed, A.M ; A.H. Hussiney and A.I.Yussa.(1997) . Constituents of *Nigella sativa* oil and evaluation of its inhibitory effect on growth and a flotation production by Aspergillms parasiticus Deutsche leben smittle . Rund so han , 93 (5) : 144-52 .

El – Said , Mansour S. , Mahmoud M. EL- Olemy , Hamid and M. Elhay .(2002). Biotechnological Production of Biologically active metabolites of pharmacy , King Saud university . N (1) : 10-34 .

El-Tohamy, W.A.; H.M . El-Abagy and N.H.M. El- Greadly (2008). Studies on the effect of putrescine, yeast and vitamin C on growth, yield and physiological responses of eggplant (*Solanum melongena* L.) under sandy soil conditions. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 2(2): 296-300.

Gadallah. M.A.A. (2000). Effect of acid mist and ascorbic acid treatment on the growth. stability of leaf membranes . chlorophyll

content and some mineral elements of *Carthamus tinctorius* . the safflower. Water. Air and Soil Pollution. 118 : 311 – 327 .

Gaspar, T.; C. Kevers; J. F. Husman; J. Y. Berthon and V. Ripetti (1992). Practical use of peroxidase activity as aproductive marker of rooting performance of micropropagated shoots. Agronomy, 12:757-765.

George, E.F.(1996). Plant Propagation by Tissue Culture. Part 2. In Practice.in praclice 2nd Exegetics Ltd. England , 573 – 590.

George, F. E. , M. A. Hall and Deklerk G. (2008). Plant Propagation by Tissue Culture 3rd ed .published by springe , pp:1 – 479 .

Gomez. M.L.P. and F.M. Lajolo (2008) . Ascorbic acid metabolism in fruits : activity of enzymes involved in synthesis and degradation during ripening in mango and guava . J. Sci. Food Agric.. 88 : 756 – 762 .

Hadi, S. M. .(1999). Production of viblastine and vincristine from callus tissue of catharnthus roseus using plants tissue culture technique .M.Sc.Thesis college of science , Baghdad university .

Hailat, N.; Z. Bataineh; S. Lafi; E. Raweily; M. A gel ; M. Al-Katib and S. Hanash. (1995). Effect of *Nigella sativa* volatile oil on Jurkat T cell leukemia polypeptides. Int. J. Pharmacog. 33 (1):16-20.

Hangarter, R. P. and T. C. Stasinopoulos (1991). Effect of Fe-catalyzed photooxidation of EDTA on root growth in plant culture media. Plant physiol 96:843-847.

Harborne, J. B. (1973). Textbook of phytochemical Methods. Jhon willey and Sons. Inc. New York .

Hartman , T.(2004) .plant . derived secondary metabolites asdehenesiv chemicals herbivorous insect: acase study in chemical ecology . blanta 219 : 1 – 4 .

Harvy , A . (2000).Strategies for discovering dugs from previously unexplored natural products Drug Discovery today, 5 (7) : 294-300.

Hassan, M. E. M. ; S.S. Abd El-Raman; I. H. El-Abbasi and M. S. Mikhail.(2006). Inducing resistance against faba bean chocolate spot disease. Egypt. J. Phto. Pathol. 34:69-79.

Hathout, T.A. (1995) Diverse effects of uniconazole and nicotinamid on germination, growth , endogenous hormones and some enzymatic activity of peas. Egypt. J. of physiol. Sci., 19:77-95.

Hoghton , P. J. ; Zarka , R. de – las – Heras m b. and Hoult , J. R. (1995). Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in Leukocytes and membrane lipid peroxidation plantamed . 61 (1) : 33 – 36 .

Hong , F. T. (1995) . Magnetic field effect on biomolecules cell , and living organisms . Bios/ stem. 36 : 187 – 229 .

Johnson, J.R.; D. Fahy ; N. Gish and P.K. Andrews (1999) . Influence of ascorbic acid sprays on apple sunburn . Good Grower , 50 (13) : 81 – 83.

Kamal M.M and Weaam R. Sakr. (2009). Response of senna occidentalis, Link plants to fertilization as well as citric acid and their role in remediating soil polluted with Cu and Pb. World J. Agri. Sci. 5(6): 784-798.

Khan , Mohammad Yassen , Saleh Ali Abbas , Vimal Kumar and Shalini Rajkumar .2009 . Recent advaneces in medicinal plant Biotechnology . India Journal of Biotechnology .pp : 9 – 22 .

Klock , J.A.(1987) . Natural plant compound useful insect control waller G.R.NewYork,USA .

Kondic, A. ; S.Sesel and Pekaric – Nadjin. (1998). Pulsating electro magnetic field stimulating influence on wheat embryo callus

growth *In vitro* – Abstract from sarremeng poljoprirreda No. 3-4 : 37 – 4 .

Kruk, m I. ; M , T. , Lichsztell , K. ; Klanda , A. and Aboul – Eneir , H. Y .(2000). The effect of thymol and its derivatives on reactions generating reactive oxygen species . Chemosphere , 41 . 1059.

Mahfouz,M. and El-Dakhakhny,M.(1960). Isolation of crystalline active Principle from *Nigella sativa* L. Seeds.J.Pharm.Sci.U.A.A., 1(1):9.

Mantell, S. H. and Smith, H. (1984). "Plant biotechnology". Great Britain by the University Press, Cambridge.

Marshell , S.V and G.G.Skitiek (1987) . Electomagnetic concepts and application . 2 nd edtion . Englewood . cliffs , N.J . Prentice –hall Inc.

Matsuo , M. , Uchino T. , and Ohmuram. (1993) . Effect of alternating electric field of distorted wave of plant growth . J. Jap. Soc Agri mach 54 : 81 – 88 .

Merfort ; W.V. ; Barakat H. H. ; Hussein S. A. ; Nawwarymn . A. M. and Willuhn G. (1997) . Flavonal triglycosides from seed of *Nigella sativa* . phytochemistry , 46 (2) : 354 – 363 .

Midan, A. (1986 **) .** Effect of IAA, NAA, Vitamin C application on tomato growth , chemical constituents and yield . Zagazig J. Agric. Res., 13 (2) : 76-100 .

Molassiotis, A. N. (2003).Iron is an essential micronutrient of plant tissue culture :Biol. Plant., 47(1):141-144.

Moore, P.J. and Colline, G.B., 1993. Transformation in soybean (*Glycine max* L.).Biotech. Agri. Forestry., Vol.23, pp.228-236.

Mossa, J. S.; Al-Yahya, M. A. and Al-Meshal, I. A. (1987). Medicinal plants of Saudi Arabia. Vol. 1. King Saud University libraries.

Murashige, T. and F. Skoog.(1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. physiol. Plant.15:473-497.

Naghma, K.; S. Sonia and S. Sarwat. (2003). *Nigella sativa* (black cumin) ameliorates potassium bromate-induced early events of carcinogenesis: diminution of oxidative stress. Hum. Exp. Toxicol. 22:193-203.

Naija, S., N. Elloumi ,N. Jbir,S. Ammar and C.Kevers(2008). Anatomical and biochemical changes during adventitious rooting of apple rootstocks MM_{106} cultured *in vitro*. Comptes Rendus Biologies 331(7):518-525.

Negishi, Y. A.H.; M. Tsushima and C. Dobrota. (1999). Growth of Pea epicotyl in low magnetic field .Adv. Space Res., 23(12): 29- 32.

Oertli, J. J. (1987) . Exogenous application of vitamins as regulators for growth and development of plant . Preview . Z. Planzenr Nahr. Bodenk 150 : 375-391 .

Prestamo, G. and G. Arroyo (1999) . Protective effect of ascorbic acid against the browning developed in apple fruit treated with high hydrostatic pressure . J. Agric. & Food Chem., 47 (9) : 3541-3545 .

Presman,A.S.(1968).The Elctromagnetic field and living nature Moscow.Nauka.

Rafique , Noman ; Raza , syed hammad ; qasim , Muhammad and iqbal , Naeem (2011) . pro . sowing application of ascorbic acid and salicylic acid to seed of Pumkin and seedling response to salt . pak . J.Bat; 43(6) :2677 – 2682 .

Rahman, A.; S. Malik; S. Ahmad; I. Chaudhary and H. Rehman. (1985). Negellimine N-Oxide a new isoquinoline alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. Hetrocyclase, 23(4):953-955.

Rahman, A.and S. Malik. (1985). Isolation and structure determination of Nigellicine, Anovel alkaloid from the seed of *Nigella sativa*. Terahedron Lett., 26(23):2759-2762.

Rahman, A.; S. Malik; S. S. Hasan and M. I. Choudhary. (1995). Nigellidine- anew indole alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. Tetrahedron. Lett., 36(12):1993-1996.

Rahman, A. ; S. Malik and K. Zaman. (1992). Nigellimine a new isoquinoline alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. J. Natural produm., 55(5):676-678.

Ramawat,K. G.(2004) . Plant Biotechnology .Rajendra Ravindra Prinbers(Pvt.) 7361.Ram Naggar .New Delhi .11055.India.

Raza , Syed Hammad ; Fahad shafiq and imvan khan (2013) . Seed invigoration with water , Ascorbic and Salicylic Acid stimulates Devel opment and Bioehemical characters of Okra (Able moschus esculentus) under Normal and Salinc condition . international Journal of agriculture and biology ISSN print : 1560 – 8530 .

Reina , F ,. L Pascual and I . Fundora . 2001 . Influence of a stationary magnetic Field on water relations in lettuce seed , Part II : experimental results . Bioelectromagnetic , Dec : 22 (8) : 595 – 602.

Rezae I . A ; F.G and M. Behmanesh.(2007) . Static magnetic field improved salicylic acid cultured Hazel (*Corylus avellna*) cell . Journal FAO in Vienna . 26 – 30 . August .

Riaz M. ; S.M. and F. M. Chaudhary. (1996) . Chemistry of the medicinal plants of the genus Nigella (family Rananculaceae) . Hamdard , 39 (2) : 40 –4 5 .

Ross, M. S. F. and Brain, K. R. (1977). "An introduction to Phytopharmacy". Pitman Medical Publishing Co. Ltd. UK.

Ruzic R., I. , A. Jeglic and D. Fefer (1993). Various effects of pulsed and static magnetic fields on the development of *Castanea sativa* Mill. in tissue culture. Electro and Magnetobiol. 12(2):165-177.

SAS . (1996) . Statistical Analysis System, Release7, SAS . Institute . Inc.Cary . N.C. USA

Singh, A. N. and R.S. Choudhri (1972). Effect of ascorbic acid on germination and seedling growth of wheat , maize and pea seeds . J. Sci. Res. Banaras Hindu University , 22 (2) : 63-68 .

Skoog, F. and C.O. Miller (1957). Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *in vitro*. Symp. Soc. Exp. Biol., 9:118-131.

Staba , E. J. (1982) . Plant tissue culture as a source of biochemicals . CRC . press. , Inc. Baca raton , Florida . P.P : 1 – 271 .

Sun. Yan-Lin and Hong, Soon. Kwan. (2001). Effects of citric acid as an important of the responses to saline and alkaline stress in the halophyte *leymus chinensis* (Trin). Plant Growth Regulation. 64(2):129-139.

Taiz and E.Zeiger. (2002). Planta physiology. Sinaure Assciates, Inc. pp.283 – 308 .

Trigiano, R. N. and D. J. Gray.(2000) . Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises. Boca Raton,FL : CRC . press Inc,. P : 11- 17 .

Townsion, C.C. (1980) . Family Helleboraceae in Townsend , C.C. and Guest . E : flora of Iraq . Vol. (4) . Ministry of Agriculture, Baghdad .

Yong-Hua Yang and Hong-Yanzhaug. . (1998). Effect of citric acid on aluminum toxicity in the growth of mung bean seedlings. J. Plant. Nur21(5): 1037-1044.

Youssef , A. A. ; M.R. Rady and S.A. Ghanemy.(1998) . Growth and some primary products in callus culture of *Nigella sativa* as influnced by various cultured conditions and salt stress fttotera Pia LXIX , (4) : 329 – 336 .

Youssef, A.A. and I.M. Talaat (2003). Physiological response of rosemary plants to some vitamins. Egypt.Pharm. J. 1: 81-90.

Zaoui, A.; Y.Cherrah; M.A. Lacaille-Dobois; A. Settaf; H. Amarouch and M. Hassar. (2000). Diuretic and hypotensive effects of *Nigella sativa* in the spontaneously hyperter rat. Planta. Med-55(3):379-382.

Summery

This study was carried out in the Horticulture Science and Landscape Design department, college of agriculture, university of Diyala during 2012-2013. Experiments have been achieved on *Nigella sativa* L., The experiment of the culture was conducted to increase seed germination by ascorbic and citric acid , the effect of kinetin and 2,4-D on callus initiation and growth . Oils production from callus treated with magnetic field and black cumin in vivo . The in vivo experiment conducted to show the effect of ascorbic and citric acid spray on growth and yield of black cumin .

The results showed that seed soaking with citric acid by 300 mg/l increase seed germination to 80% as a compared with 65% in the control , fresh weight of seedling increase to 147.00 mg whoever the control gave 56.00 mg . seed soaking in 300 mg/l ascorbic acid increase root length to 3.28 cm ase compared with 1.61 cm in control.Leaf number/seedling increase to 3.67 leaf / seedling whoever the control gave 2.30 leafe/ seedling .

The results of the callus initiation and its growth shows that the addition of 2,4-D 1+Kin.1 mg / L gives the best fresh weight for the shoot callus 1221.80 mg, and best dry weight shows that the addition of 2,4-D 2+Kin.1.5 mg / L 67.16 mg , and adding 0.5 Kin.+2 2,4 – D mg / L gaves the best fresh weight for the root callus 936.70 mg, and best dry weight 79.82mg .

The results of the experiments show the best growing seeds within the farm environment for the shoot length reached 4.29 cm and the best fresh weight reached 65.00 mg in soaking treatment in the Ascorbic acid concentrated 300 mg / L , and the best medium number for the roots reached 9.60 root / seedling in soaking treatment in citric acid concentrated 300 mg /L compared with the treatment control that gave a medium number for the roots which reached 3.78 root/ seedling.

While spraying the growing plants in the farm with Ascorbic and Citric acid, show the best results for the highest level for the plant reached 41.50 cm and a medium number branches for the stem reached 33.75 branch/plant when spraying it with Citric acid concentrated 100 mg / L as compared with the spraying with control

which shows 20.50 branch/plant and 28.50 cm repectively and the best medium for the number and root length when spraying with Ascorbic acid concentrated 100mg /L 27.50 root / plant and 36.00 cm respectively as compared with the controlling treatment which show11.38 root /plant and 24.88 cm , while the best fresh and dry weight of stem and root was in spraying it with citric acid concentrated 100mg / L which reached 7.19 , 3.67 , 6.37 and 2.94 g /plant while in controlling treatment reached 2.16 , 1.13 ,1. 75 and 0. 69 g/plant respectively . Also the best medium results for the number of the seeds when spraying with Ascorbic acid concentrated 100 , 50 mg / L which reached 27.00 bell/plant and 774.40 seed /plant as compared with the treatment which gave 16.50 bell/plant and 351.00 seed/plant respectively, while the best weight for the total seeds when spraying with citric acid concentrated 50 mg / L , it reached 1509.50 mg as compared with medium weight for the seeds which reached 641.90 mg/plant .

While the assessment of the active Oils component which isolated by using HPLC , the results show that the highest rate of Thymoquinone and Trans – anethole was in the callus in Antacritica for it reached 104.14 µg /ml and 66.22 µg/ml respectively , while the highest quantity for Thymoquinone reached 49.22 µg /ml in extracted Oil in the growing plant farms and Thymol reached its highest quantity in the extracted Oil seeds 43.32 µg/ml.

University of Diyala

College of Education for Pure Sciences

In vivo and *In invitro* production of Thymol and it's derivatives in black seed *Nigella sativa* L.

A Thesis Submitted

TO

The Council of the College of Education for Pure Sciences,University of Diyala
In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science

in

Biology,Botany

by

Tahseen Ali Ibrahim AL- Abtan

Supervised by

Dr. WISAM MALIK DAWOOD — **Professor**

Dr. AYAD ASSI OBAID — **Assistant professor**

2013 A.C

1434 H