

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1



رقم الترتيب:
رقم التسلسل:

كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم البيولوجيا و علم البيئة النباتية

أطروحة

قدمت لنيل شهادة دكتوراه علوم
في بيولوجيا و فيزيولوجيا النبات
تخصص: الأسس البيولوجية للإنتاج النباتي
العنوان :

تحديد أثر معاملات البوتاسيوم على الخصائص المورفوفيزيولوجية و الجزيئية للعقد الجذرية
لنبات الفول (*Vicia faba L.*) أثناء نمو و تطور مرحلة إثمار النبات تحت الظروف الملحية
من اعداد: سعيد هاجر

أعضاء لجنة المناقشة

شايب غنية	رئيسة	أستاذ التعليم العالي	جامعة الإخوة منتوري - قسنطينة 1
شوقي سعيدة	مشرفة	أستاذ التعليم العالي	جامعة الإخوة منتوري - قسنطينة 1
غمام عمار الجيلاني	ممتحنا	أستاذ التعليم العالي	جامعة الشهيد حمة لخضر - الوادي
بولعسل معاد	ممتحنا	أستاذ محاضر أ	جامعة الإخوة منتوري - قسنطينة 1
بوحوحو مولود	ممتحنا	أستاذ محاضر أ	المدرسة العليا للأساتذة - قسنطينة
صويلح نبيلة	ممتحنة	أستاذ محاضر أ	جامعة 20 أوت 1955 - سكيكدة

السنة الجامعية: 2022 - 2023

التشكرات

أشكر الله تعالى وأحمده، فهو المنعم و المتفضل قبل كل شيء، أشكره أن حقق لي ما أصبو إليه في استكمال درجة الدكتوراه فبفضله تتم الأعمال و ما توفيقنا إلا بالله.

أتوجه بأسمى معاني الشكر و التقدير و الاحترام إلى الأستاذة الدكتورة " شوقي سعيدة " عرفانا لإشرافها على هذا البحث و ما تلقيته منها من مساعدة علمية و توجيهات قيمة.

ثم أزجي الشكر فائقه إلى الأستاذة الدكتورة شايب غنية على قبولها رئاسة هذه اللجنة و مناقشة هذا العمل المتواضع.

و جزيل الشكر كذلك لكل الأساتذة الكرام أ.د. غمام عمارة الجيلاني و د. بوحوحو مولود و

د. بولعسل معاد و د. صويلح نبيلة على تفضلهم لمناقشة هذه الرسالة.

و كل من أمدوني بالعون و المساعدة لكم مني جزيل الشكر و الامتنان.

الإهداء

إلى روح والدي العزيز رحمه الله

إلى أمي الغالية أمد الله في عمرها

إلى إخوتي و أخواتي و أولادهم

و إلى كل من شجعني وساعدني على إتمام هذا العمل

فهرس المحتويات

01.....	مقدمة
الجزء الأول: استعراض المراجع	
04.....	البقوليات و العقد الجذرية
04.....	I. البقوليات
04.....	1- تعريف عام للعائلة البقولية
04.....	2- - تاريخ تصنيف العائلة البقولية
05.....	1-2- التصنيف الكلاسيكي للعائلة البقولية
06.....	2-2- التصنيف التطوري السلالي (phylogénétique) للعائلة البقولية
08.....	2-3- تصنيف LPWG للعائلة البقولية
10.....	II. العقد الجذرية
10.....	1- العقد الجذرية عند البقوليات
10.....	2- تعايش بكتيريا <i>Rhizobium</i> مع البقوليات
10.....	1-2- نظرة عامة عن التعايش (SYMBIOSE)
11.....	2-2- صفات بكتيريا <i>Rhizobium</i>
11.....	2-3- مراحل تكوين العقد الجذرية و ميكانزيم تعايش بكتيريا <i>Rhizobium</i>
16.....	2-4- نشاط العقد الجذرية
16.....	2-5- المحفزات البيوكيميائية لتثبيت النيتروجين الجوي في العقد الجذرية
18.....	2-6- المحفزات الجزيئية لتثبيت النيتروجين الجوي في العقد الجذرية
20.....	2-7- آلية تثبيت النتروجين الجوي في العقد الجذرية
22.....	III. الإجهاد الملحي و تأثيره على تعايش بكتريا العقد الجذرية و نمو البقوليات
22.....	1- تعريف الإجهاد الملحي
22.....	2- آلية حساسية الخلية الجذرية للإجهاد الملحي
23.....	3- تأثيرات الإجهاد الملحي على مؤشرات النمو لبكتيريا العقد الجذرية و البقوليات

- 3-1- تأثير الإجهاد الملحي على نمو بكتيريا *Rhizobium* وتكوين العقد الجذرية.....23
- 3-2- تأثير الإجهاد الملحي على نمو البقوليات.....24
- 4- تأثيرات الإجهاد الملحي على الخصائص الفيزيولوجية للعقد الجذرية والبقوليات.....24
- 4-1- تأثير الإجهاد الملحي على الخصائص الفيزيولوجية للعقد الجذرية.....24
- 4-2- تأثير الإجهاد الملحي على الخصائص الفيزيولوجية للبقوليات.....25

IV. المؤشرات الجزيئية و تطبيقاتها على مستوى الإجهاد الملحي في النبات.....27

- 1- المؤشرات الجزيئية.....27
- 2- مراحل تفاعل ال-PCR.....30
- 3- الفرق بين تخليق ال-ADN داخل الخلية وتخليقه بواسطة ال-PCR.....32
- 4- أنواع المؤشرات الجزيئية التي تعتمد على تقنية ال-PCR.....33
- 4-1- تفاعل البلمرة المتسلسل العادي (PCR).....33
- 4-1-1- المؤشرات التي تستهدف مواقع متعددة من الجين.....33
- 4-1-2- المؤشرات التي تستهدف موقع محدد معروف التسلسل.....36
- 4-2- تفاعل RT PCR.....37
- 5- تطبيقات تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) في الكشف عن الجينات المقاومة للملوحة في النبات.....37

V. البوتاسيوم ودوره في تخفيف الإجهاد الملحي في النبات.....39

- 1- البوتاسيوم في القشرة الأرضية.....39
- 2- البوتاسيوم في التربة.....39
- 2-1- البوتاسيوم الميسر.....39
- 2-2- البوتاسيوم بطيء التيسير.....40
- 2-3- البوتاسيوم الغير الميسر.....40
- 3- أثر البوتاسيوم على نمو النبات.....40
- 4- امتصاص البوتاسيوم تحت ظروف الإجهاد الملحي.....42
- 5- دور الأسمدة البوتاسية في تخفيف الإجهاد الملحي في النبات.....42

الجزء الثاني: مواد و طرق البحث

44.....	I. الهدف من الدراسة
44.....	II. تسيير و متابعة التجربة
44.....	1- تصميم التجربة
45.....	1-1- المستويات
45.....	1-2- المعاملات
45.....	1-3- المكرارات
46.....	2- تنفيذ التجربة
46.....	2-1- نشر البذور
46.....	2-2- عملية الزرع
47.....	2-3- عملية السقي
48.....	III. الدراسة التحليلية المطبقة
48.....	1- تحليل التربة
48.....	1-1- التحاليل الفيزيائية
50.....	1-2- التحاليل الكيميائية
54.....	2- تحليل النبات
54.....	2-1- القياسات المورفولوجية
54.....	2-2- القياسات الفيزيولوجية
64.....	2-3- القياسات الجزيئية
70.....	3- الدراسة الإحصائية

الجزء الثالث: تحليل النتائج

72.....	I. تحليل التربة
72.....	II. تحليل النبات
72.....	1- التحليل الوصفي
72.....	1-1- تحليل المركبات النموذجية (ACP).

- 2-1- التحليل العاملي التمييزي (Analyses Factorial Discriminate).....90
- 2- التحليل الاستدلالي لأثر الفعل الكمي للبوتاسيوم و الملوحة و التداخل بينهما.....94
- الجزء الرابع: مناقشة النتائج

- I. مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية (مرحلة تثبيت النيتروجين).....100
- 1- الدراسة المورفولوجية.....100
- 1-1- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم على عدد العقد الجذرية لصنفي الفول.....100
- 2-1- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم على الوزن الجاف للعقد الجذرية لصنفي الفول.....101
- 3-1- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم على المساحة الورقية لصنفي الفول.....103
- 2- الدراسة الفيزيولوجية.....104
- 1-2- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم على المحتوى المائي للعقد الجذرية و للأوراق في صنفي الفول.....104
- 2-2- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم على مؤشر تحمل الملوحة في العقد الجذرية و في المجموع الخضري لصنفي الفول.....107
- 3-2- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم على تركيز البرولين في العقد الجذرية و في الجذور و في الأوراق لصنفي الفول.....109
- 4-2- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم على تركيز السكريات الكلية في العقد الجذرية و في الجذور و في الأوراق لصنفي الفول.....111
- 5-2- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم على تركيز الفلافونويدات الكلية في الجذور و تركيز بروتين Leghémoglobine في العقد الجذرية لصنفي الفول.....113
- 6-2- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم على تركيز الكلوروفيل الكلي في الأوراق لصنفي الفول.....115
- 7-2- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم على تركيز ARNm في العقد الجذرية و في أوراق صنفي الفول.....117
- 8-2- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم على تركيز ADN في العقد الجذرية و في أوراق صنفي الفول.....118
- 9-2- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم على العناصر المعدنية لصنفي الفول.....120

129.....	II. مرحلة النمو الثمري
129.....	1- الدراسة المورفولوجية
129-1-1	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على عدد و طول القرون لصنفي الفول...129
131-2-1	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على المساحة الورقية لصنفي الفول.....131
132.....	2- الدراسة الفيزيولوجية
132-1-2	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على محتوى الماء النسبي في أوراق صنفي الفول.....132
132-2-2	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على مؤشر تحمل الملوحة في المجموع الخضري لصنفي الفول.....134
134-3-2	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز البرولين و السكريات الكلية في أوراق صنفي الفول.....136
136-4-2	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز الكلوروفيل الكلي في الأوراق لصنفي الفول.....138
138-5-2	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز البروتينات الكلية في بذور صنفي الفول.....140
140-6-2	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز الـARNm في أوراق صنفي الفول.....142
142-7-2	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز الـADN في أوراق صنفي الفول.....143
143-8-2	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز العناصر المعدنية لصنفي الفول.....145
145.....	3- الدراسة الجزيئية
150.....	3-1- تضاعف بادئات تقنية (RAPD)
150-1-1-3	تضاعف البادئ C ₁₁ للـMalti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم.151
153-2-1-3	تضاعف البادئ C ₁₁ للـHistal تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم.153
154-3-1-3	تضاعف البادئ C ₁₄ للـMalti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم.154

157	4-1-3- تضاعف البادئ C_{14} للـصنف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم.
158	2-3- تضاعف بادئات تقنية (ISSR)
159	1-2-3- تضاعف البادئ INC_1 للـصنف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم.....
161	2-2-3- تضاعف البادئ INC_1 للـصنف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم.....
164	3-2-3- تضاعف البادئ INC_2 للـصنف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم.....
165	4-2-3- تضاعف البادئ INC_2 للـصنف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات البوتاسيوم.....
166	3-3- كفاءة بادئات تقنيتي (RAPD) و (ISSR) في تشخيص جينات مقاومة الملوحة.....
169	مناقشة عامة.....
178	الخلاصة.....
181	- قائمة المراجع باللغة العربية.....
183	- قائمة المراجع باللغة الأجنبية.....
207	- الملخص باللغة العربية.....
208	- الملخص باللغة الفرنسية.....
210	- الملخص باللغة الإنجليزية.....

الملحقات

قائمة الجداول

الصفحة	العنوان	الرقم
44	صفات صنفى الفول Histal, Malti	01
45	توزيع معاملات البوتاسيوم و مستويات الملوحة	02
67	تسلسل النيوكليوتيدات للبادئات المستخدمة	03
67	تراكيز مكونات خليط تفاعل (RAPD) و (ISSR)	04
68	مراحل تفاعل تقنية (RAPD) و (ISSR)	05
72	الخصائص الفيزيائية و الكيميائية للتربة المستعملة	06
73	مصفوفة معامل الإرتباطات بين المتغيرات المقدره على المجموع الجذري لصنفى الفول المعاملة بخلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة لمرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية	07
74	فعالية المتغيرات المقدره على المجموع الجذري لصنفى الفول المعاملة بخلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة لمرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية	08
79	مصفوفة معامل الإرتباطات بين المتغيرات المقدره على المجموع الخضري لصنفى الفول المعاملة بخلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة لمرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية	09
80	فعالية المتغيرات المقدره على المجموع الخضري لصنفى الفول المعاملة بخلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة لمرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية	10
85	مصفوفة معامل الإرتباطات بين المتغيرات المقدره على المجموع الخضري لصنفى الفول المعاملة بخلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة لمرحلة النمو الثمري	11
86	فعالية المتغيرات المقدره على المجموع الخضري لصنفى الفول المعاملة بخلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة لمرحلة النمو الثمري	12
94	تحليل التنبان بين الملوحة و البوتاسيوم و التداخل بينهم على محتوى الماء النسبي في العقد الجذرية TER_N للصنفى الفول	13
99	سلم ترتيب اثر فعل الملوحة و البوتاسيوم و الصنف و التداخل بينهما للمتغير محتوى الماء النسبي في العقد الجذرية TER_N تبعا لطريقة New man- Keuils على مستوى 5 %	14
151	الحزم المتضخمة مع أحجامها الجزيئية للبادئ C_{11} للصنف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم	15
153	الحزم المتضخمة مع أحجامها الجزيئية للبادئ C_{11} للصنف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم	16
155	الحزم المتضخمة مع أحجامها الجزيئية للبادئ C_{14} للصنف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم	17
157	الحزم المتضخمة مع أحجامها الجزيئية للبادئ C_{14} للصنف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم	18
159	الحزم المتضخمة مع أحجامها الجزيئية للبادئ INC_1 للصنف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم	19
162	الحزم المتضخمة مع أحجامها الجزيئية للبادئ INC_1 للصنف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم	20
164	الحزم المتضخمة مع أحجامها الجزيئية للبادئ INC_2 للصنف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم	21

قائمة الأشكال

الصفحة	العنوان	الرقم
7	التصنيف التطوري السلالي (phylogénétique) للعائلة البقولية	01
9	تصنيف LPWG للعائلة البقولية	02
12	ميكائزيم التصاق بكتيريا <i>Rhizobium</i> بجذور نبات بقولي	03
13	مراحل تشكل العقد الجذرية لنبات البازلاء (<i>Pisum sativum</i> L.)	04
14	العقد المحدودة النمو والعقدة غير المحدودة النمو عند البقوليات	05
15	عقد جذرية نشطة تحتوي على بروتين Leghémoglobine لنبات فول الصويا (<i>Glycine max</i> L.)	06
17	البنية الجزيئية لإنزيم Nitrogénase	07
18	البنية الجزيئية لبروتين Leghémoglobine للعقد الجذرية لنبات فول الصويا (<i>Glycine max</i> L.)	08
21	ميكانيكية تثبيت النتروجين الجوي	09
23	كيفية استشعار النبات للإجهاد	10
28	مراحل تفاعل تقنية RFLP	11
32	مراحل تفاعل تقنية ال-PCR	12
47	المخطط التجريبي لعملية زرع صنف الفول	13
70	مكونات جهاز الرحلان الكهربائي	14
75	حلقة ارتباطات المتغيرات المقدره على المجموع الجذري لصنفي الفول المعاملة بخلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة لمرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية	15
76	منحنى توزيع أفراد صنف الفول المعاملة بخلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة على مستوى متغيرات المجموع الجذري لمرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية	16
81	حلقة ارتباطات المتغيرات المقدره على المجموع الخضري لصنفي الفول المعاملة بخلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة لمرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية	17
84	منحنى توزيع أفراد صنف الفول المعاملة بخلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة على مستوى متغيرات المجموع الخضري لمرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية	18
87	حلقة ارتباطات المتغيرات المقدره على المجموع الخضري لصنفي الفول المعاملة بخلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة لمرحلة النمو الثمري	19
90	منحنى توزيع أفراد صنف الفول المعاملة بخلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة على مستوى متغيرات المجموع الخضري لمرحلة النمو الثمري	20
91	المسافة التأثيرية بين تراكيز الملوحة	21
92	المسافة التأثيرية بين تراكيز البوتاسيوم	22
93	المسافة التأثيرية بين صنف الفول	23
101	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على عدد العقد الجذرية لصنفي الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية	24
102	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على الوزن الجاف للعقد الجذرية لصنفي الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية	25
103	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على المساحة الورقية لصنفي الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية	26

105	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على محتوى الماء النسبي في العقد الجذرية و في أوراق صنفى الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية	27
107	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على مؤشر تحمل الملوحة في العقد الجذرية و في المجموع الخضري لصنفى الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية	28
109	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز البرولين في العقد الجذرية و في الجذور و الأوراق لصنفى الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية	29
111	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز السكريات الكلية في العقد الجذرية و في الجذور و في أوراق صنفى الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية	30
114	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز الفلافونويدات الكلية في الجذور و تركيز بروتين Leghémoglobine في العقد الجذرية لصنفى الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية	31
116	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز الكلوروفيل الكلي في الأوراق لصنفى الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية	32
118	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز ARNm في العقد الجذرية و في أوراق صنفى الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية	33
119	تأثير معاملات الملوحة و مستويات البوتاسيوم على تركيز ADN في العقد الجذرية و في أوراق صنفى الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية	34
121	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز الصوديوم في العقد الجذرية و في أوراق صنفى الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية	35
122	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز البوتاسيوم في العقد الجذرية و في أوراق صنفى الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية	36
124	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على معامل الإنتقاء K^+/Na^+ في العقد الجذرية و في أوراق صنفى الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية	37
126	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز النيتروجين الكلي في العقد الجذرية و في أوراق صنفى الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية	38
128	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز الحديد النشط في العقد الجذرية لصنفى الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية	39
129	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على عدد وطول القرون لصنفى الفول خلال مرحلة النمو الثمري	40
131	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على المساحة الورقية لصنفى الفول خلال مرحلة النمو الثمري	41
133	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على محتوى الماء النسبي لصنفى الفول خلال مرحلة النمو الثمري	42
135	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على مؤشر تحمل الملوحة في المجموع الخضري لصنفى الفول خلال مرحلة النمو الثمري	43
137	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز البرولين و السكريات الذائبة في أوراق صنفى الفول خلال مرحلة النمو الثمري	44
139	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز الكلوروفيل الكلي في أوراق لصنفى الفول خلال مرحلة النمو الثمري	45

141	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز البروتينات الكلية في بذور صنف الفول خلال مرحلة النمو الثمري	46
142	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز ARNm في أوراق صنف الفول خلال مرحلة النمو الثمري	47
144	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز ADN في أوراق صنف الفول خلال مرحلة النمو الثمري	48
145	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز الصوديوم و البوتاسيوم في أوراق صنف الفول خلال مرحلة النمو الثمري	49
147	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على معامل الإنتقاء K^+/Na^+ في أوراق صنف الفول خلال مرحلة النمو الثمري	50
149	تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز النيتروجين الكلي في أوراق صنف الفول خلال مرحلة النمو الثمري	51
152	الترحيل الكهربائي لنواتج البادئ C_{11} على هلام الأгарوز للصنف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم	52
154	الترحيل الكهربائي لنواتج البادئ C_{11} على هلام الأгарوز للصنف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات البوتاسيوم	53
156	الترحيل الكهربائي لنواتج البادئ C_{14} على هلام الأгарوز للصنف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم	54
158	الترحيل الكهربائي لنواتج البادئ C_{14} على هلام الأгарوز للصنف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم	55
161	الترحيل الكهربائي لنواتج البادئ INC_1 على هلام الأгарوز للصنف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم	56
163	الترحيل الكهربائي لنواتج البادئ INC_1 على هلام الأгарوز للصنف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم	57
165	الترحيل الكهربائي لنواتج البادئ INC_2 على هلام الأгарوز للصنف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم	58
165	الترحيل الكهربائي لنواتج البادئ INC_2 على هلام الأгарوز للصنف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم	59

قائمة المختصرات

المختصر	المعنى	الترجمة
ND	Le nombre des nodules	عدد العقد الجذرية
PSN	Le poids sec des nodules	الوزن الجاف للعقد الجذرية
SF	La surface foliaire	المساحة الورقية
NG	Le nombre des gousses	عدد القرون
LG	La longueur des gousses	طول القرون
TER _N	La teneur relative en eau dans les nodules	محتوى الماء النسبي في العقد الجذرية
TER _F	La teneur relative en eau dans les feuilles	محتوى الماء النسبي في الأوراق
STI _N	L'indice de tolérance a la salinité dans les nodules	مؤشر تحمل الملوحة في العقد الجذرية
STI _{pv}	L'indice de tolérance a la salinité dans la partes végétative	مؤشر تحمل الملوحة في الجزء الخضري
PRO _N	La concentration du proline dans les nodules	تركيز البرولين في العقد الجذرية
PRO _R	La concentration du proline dans les racines	تركيز البرولين في الجذور
PRO _F	La concentration du proline dans les feuilles	تركيز البرولين في الأوراق
SUCR _N	La concentration des sucres totaux dans les nodules	تركيز السكريات الكلية في العقد الجذرية
SUCR _R	La concentration des sucres totaux dans les racines	تركيز السكريات الكلية في الجذور
SUCR _F	La concentration des sucres totaux dans les feuilles	تركيز السكريات الكلية في الأوراق
FLAV _R	La concentration des flavonoïdes totaux dans les racines	تركيز الفلافونويدات الكلية في الجذور
LEG _N	La concentration de Leghémoglobine dans les nodules	تركيز بروتين Leghémoglobine في العقد الجذرية
CHLT _F	La concentration des chlorophylles totales dans les feuilles	تركيز الكلوروفيل الكلي في الأوراق
ARNm _N	La concentration d'ARNm dans les nodules	تركيز الحمض النووي الـARNm في العقد الجذرية
ARNm _F	La concentration d'ARNm dans les feuilles	تركيز الحمض النووي الـARNm في الأوراق
ADN _N	La concentration d'ADN dans les nodules	تركيز الحمض النووي الـADN في العقد الجذرية
ADN _F	La concentration d'ADN dans les feuilles	تركيز الحمض النووي الـADN في الأوراق
PROT _G	La concentration de protéines totales dans les gousses	تركيز البروتينات الكلية في البذور
Na ⁺ _N	La concentration de Na ⁺ dans les nodules	تركيز الصوديوم في العقد الجذرية
Na ⁺ _F	La concentration de Na ⁺ dans les feuilles	تركيز الصوديوم في الأوراق
K ⁺ _N	La concentration de K ⁺ dans les nodules	تركيز البوتاسيوم في العقد الجذرية

K^+_F	La concentration de K^+ dans les feuilles	تركيز البوتاسيوم في الأوراق
K^+/Na^+_N	coefficient de selection dans les nodules	معامل الإنتقاء في العقد الجذرية
K^+/Na^+_F	coefficient de selection dans les feuilles	معامل الإنتقاء في الأوراق
N_N	La concentration de l'azote totale dans les nodules	تركيز النيتروجين الكلي في العقد الجذرية
N_F	La concentration de l'azote totale dans les feuilles	تركيز النيتروجين الكلي في الأوراق
Fe^{+2}_N	La concentration de fer active dans les nodules	تركيز الحديد النشط في العقد الجذرية



المقدمة

يعد توفير الغذاء مشكلة معقدة جعلت الكثير من دول العالم تفكر في إيجاد مصادر غذائية بديلة تؤمن متطلبات مجتمعاتها حاضرا و مستقبلا ولاسيما المصادر الحيوانية التي أصبحت مرتفعة التكلفة و خاصة في الدول النامية، لذا أصبحت المصادر النباتية الغنية بالبروتينات الحل البديل لسد هذه الفجوة الغذائية، ومن أهم الفصائل النباتية الغنية بالبروتينات الفصيلة البقولية و من أجناسها العدس و الحمص و الفاصولياء و البازلاء و الفول، حيث يعتبر هذا الأخير نواهمية كبيرة في العالم كمحصول غذائي و علفي لغنى بذوره بالفيتامينات و المعادن و الألياف و البروتين، بالإضافة إلى دوره في تحسين خواص التربة و زيادة خصوبتها من عنصر النيتروجين، فهذا راجع لمقدرته على القيام بعملية التثبيت الحيوي للنيتروجين الجوي من خلال علاقته التكافلية مع بكتيريا *Rhizobium*، فهو يزود الهكتار الواحد بحوالي 70 كغ من النيتروجين العضوي، كما أن كفاءة هذه العلاقة التكافلية تتأثر بعدة عوامل بيئية تحد من تكوين و نشاط العقد الجذرية و من بينها ملوحة التربة (Graham et Vance, 2003).

تعاني كثير من مناطق العالم من مشكلة تملح التربة، فحوالي 900 مليون هكتار من الأراضي الزراعية في الكرة الأرضية متأثرة بالملوحة (Hasegawa, 2013) ، كما أن مساحة الأتربة المتأثرة بالملوحة تختلف من بلد إلى آخر، حيث تصل في الجزائر من 10 الى 15 % (FAO et ITPS, 2015).

يؤدي المعدل العالي لملوحة التربة إلى تراجع المحاصيل و يعتبر عائقا مهما تواجهه الزراعة، فهو يؤثر بشكل خاص على الأراضي القاحلة و شبه القاحلة و ينجم أيضا عن ممارسات الري السيئة، أضف إلى ذلك أنماط الطقس المتقلبة على نحو متزايد والتي تؤدي إلى زيادة سنوات الجفاف و التي من شأنها أن تضاعف تأثيرات ملوحة التربة المتزايدة.

أما مشكلة النباتات التي تزرع في الأراضي ذات التربة عالية الملوحة، فنكمن في تجمع الأيونات السامة عند الجذور الامر الذي يؤثر على آليتي امتصاص الماء و عملية النتج و يسبب خلا في التوازن الأيوني

وضعف النمو والتطور المتأخر و قد يؤدي إلى ذبول النبات وموته، حيث تعد وفرة أيونات الصوديوم العامل الأكثر ضررا فهي تعتبر سامة في العصارة الخلوية وتنافس أيونات البوتاسيوم الضرورية لوظائف النبات الحيوية، حيث يتطلب الحفاظ على تركيز عال لنسبة K^+ / Na^+ في عصارة الفجوة الخلوية كي يكون النبات متحملا للملوحة .

ونتيجة لهذه الحقائق ولتزايد الطلب على الغذاء وللحاجة الملحة في وقف عمليات تملح التربة واستصلاح الأراضي المتأثرة بالأملاح لاستزراعها، انصبت بحوث ودراسات كثيرة في هذا المجال لزيادة مساحة الأراضي المزروعة مع زيادة الإنتاجية، و هذا من خلال استعمال اساليب الحراثة العميقة والري بالتقطير، و تطبيق تقنيات الهندسة الوراثية، و كذا استخدام منظمات النمو و التسميد الحيوي و الكيميائي.

يعد التسميد الكيميائي وسيلة فعالة في تحسين مقاومة النبات للإجهاد الملحي لما له من دور فعال في نمو و إنتاج المحاصيل الزراعية المعرضة للإجهاد الملحي، ومن بين هذه الأسمدة سماد البوتاسيوم الذي يعتبر من أهم العناصر السمادية التي تساهم في تحمل الإجهاد الملحي، إذ تكمن أهميته في زيادة مقاومة تحمل الملوحة من خلال زيادة الضغط الأسموزي للخلايا، و زيادة محتوى الماء النسبي و السيطرة على حركة انغلاق وانفتاح الثغور، و كذا التقليل من الإمتصاص الزائد لبعض الأيونات ذات الأثر السام على النبات مثل الصوديوم، فضلا عن دوره في زيادة عدد العقد الجذرية في النباتات البقولية و بالتالي الزيادة في تثبيت النيتروجين الذي ينعكس بدوره في زيادة النشاط الإنزيمي وتحسين العمليات البيولوجية في النبات.

من جهة اخرى تعتبر المعالجات الكلاسيكية المطبقة في تخفيف الملوحة على المحاصيل الزراعية قاصرة في مواجهة مشكلة الملوحة، إذ تحتاج الى معالجات وراثية و ذلك بإدخال جينات تحمل الملوحة من تراكيب مقاومة للملوحة الى تراكيب غير مقاومة و هذا من اجل تعزيز الجهد الجيني في مقاومة الملوحة، حيث تعتمد طريقة التشخيص و الكشف عن الجينات المقاومة للملوحة في النبات على استخدام التقنيات الجزيئية و منها تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) و التي تعتمد على مضاعفة الـADN خارج الجسم الحي و بكميات

كبيرة جدا، و من هذه التقنية ظهرت العديد من التقنيات منها AFLP، SSR، ISSR، RAPD إذ تختلف عن بعضها في مبادئها وطريقة عملها، حيث ساهمت هذه التقنيات بشكل كبير في توضيح الإستجابة الجزيئية للنباتات تحت ظروف مختلف أنواع الإجهادات اللاحيوية و منها الملوحة الأمر الذي سهل في إيجاد أو استنباط محاصيل زراعية متحملة للملوحة تفيد في برامج زراعة النبات.

وعليه استهدفت هذه الدراسة في مجملها التعرف علي بعض الآليات والاستجابات المورفولوجية و الفيزيولوجية و الجزيئية لصنفين من نبات الفول (*Vicia faba L.*) المعرضة لتراكيز مختلفة من ملح كلوريد الصوديوم (NaCl) و محاوله كبح التأثيرات الضارة للملوحة بإضافة تركيزين من السماد البوتاسي على صورة خلات البوتاسيوم (CH_3CO_2K) خلال مرحلتين من دورة حياة النبات: مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية و مرحلة النمو الثمري.

A graphic of a scroll with a black outline and a grey shadow on the left side. The scroll is unrolled, showing two lines of Arabic text in a bold, black, serif font. The text is centered on the scroll.

استعراض

المراجع

البقوليات و العقد الجذرية

I. البقوليات

1- تعريف عام للعائلة البقولية

العائلة البقولية هي أحد أهم الفصائل النباتية عند ثنائيات الفلقة، والتي يتوفر فيها أكبر عدد من الأنواع المفيدة للإنسان، سواء كانت المواد الغذائية أو المنتجات الصناعية أو الطبية، وأكثرها ثراء من حيث التنوع إذ فيها جميع أنماط النمو من النباتات العشبية والأشجار والشجيرات، حيث ظهرت العائلة البقولية قبل 70 مليون سنة وشهدت تنوع سريع بعد ظهورها (Lavin et al., 2005).

كما تتميز بأنها عائلة ذات توزيع عالمي في الرقعة الجغرافية (cosmopolite) أي واسعة الانتشار من المناطق الباردة إلى المناطق المدارية (Schrire et al., 2005).

2- تاريخ تصنيف العائلة البقولية

تعتبر العائلة البقولية ثالث أرقى و أوسع عائلة من عائلات مغطاة البذور (Angiosperm) بعد العائلة المركبة (Asteraceae) و العائلة السحلبية (Orchidaceae)، فهي تضم نحو 770 جنس وحوالي 20.000 نوع (Gepts et al., 2005).

تصنف البقوليات ضمن عائلة Leguminoseae أو Fabaceae، إذ يعتبر كلا الإسمين مقبولين من طرف المدونة الدولية لأسماء النباتات (International Code of Botanical Nomenclature).

و هذا بعد القانون الدولي الذي وضع سنة 1978 (Lewis et Schrire, 2003).

أطلق مصطلح Leguminoseae سنة 1789 من قبل عالم النبات الفرنسي Antoine-Laurent de Jussieu وهو أول من اقترح نظاماً لتصنيف النباتات الزهرية، أما مصطلح Fabaceae فقد استخدم لأول

مرة من طرف عالم النبات البريطاني *John Lindley* سنة 1836 استنادا إلى جنس *Faba* (Stafleu, 1978)

يأتي مصطلح *Leguminosae* من كلمة *legumen* اللاتينية وهي في الأصل فاكهة جافة تتخذ شكل قرونا بذرية تتوضع البذور بداخلها وغالبا ما تنشطر بشكل طولي لتطلق بذورها، حيث تولى مصطلح قرنا شرح كلمة *legume* في المرادفات النباتية (Bernard, 1988).

2-1- التصنيف الكلاسيكي للعائلة البقولية

اعتمد Cronquis, (1981) في التصنيف الكلاسيكي للعائلة البقولية على المعايير المورفولوجية حيث وصفها بانها عائلة تشمل النباتات التي تتميز بأزهار على شكل فراشة، مكونة من بتلة عليا تسمى علم وبتلتين متعاكستين على الجانبين تسمى الأجنحة، وبتلة سفلية تسمى الزورق و التي تتوضع فيها الأجهزة التناسلية، الأوراق غالبا مركبة و الثمار تتخذ شكل القرون .

اعتمد Polhill et al., (1981) كذلك في تقسيم العائلة البقولية (*Fabaceae*) على أساس المعايير المورفولوجية إلى ثلاث عائلات تحتية هي: تحت العائلة الطلحية (*Mimosoideae*) و تحت العائلة البقمية (*Faboideae*) أو (*Papilionoideae*) و تحت العائلة الفراشية (*Caesalpinioideae*)

• تحت عائلة *Mimosoideae*

تضم حوالي 2500 نوعًا في حوالي 40 جنسًا، أفراد هذه العائلة تنتج زهور متناظرة شعاعيا (*actinomorphic*) متجمعة في نورة كثيفة (*inflorescences*) تحتوي هذه العائلة بشكل رئيسي على الأشجار والشجيرات موزعة على المناطق الإستوائية والشبه الإستوائية في جميع القارات، الأجناس الأكثر تمثيلا في هذه الفصيلة هي جنس *Acacia* 350 نوع، و جنس *Calliandra* 150 نوع ، و جنس *Mimosa* 380 نوع ، و جنس *Prosopis* 22 نوع (Polhill et al., 1981).

• تحت عائلة *Caesalpinoideae*

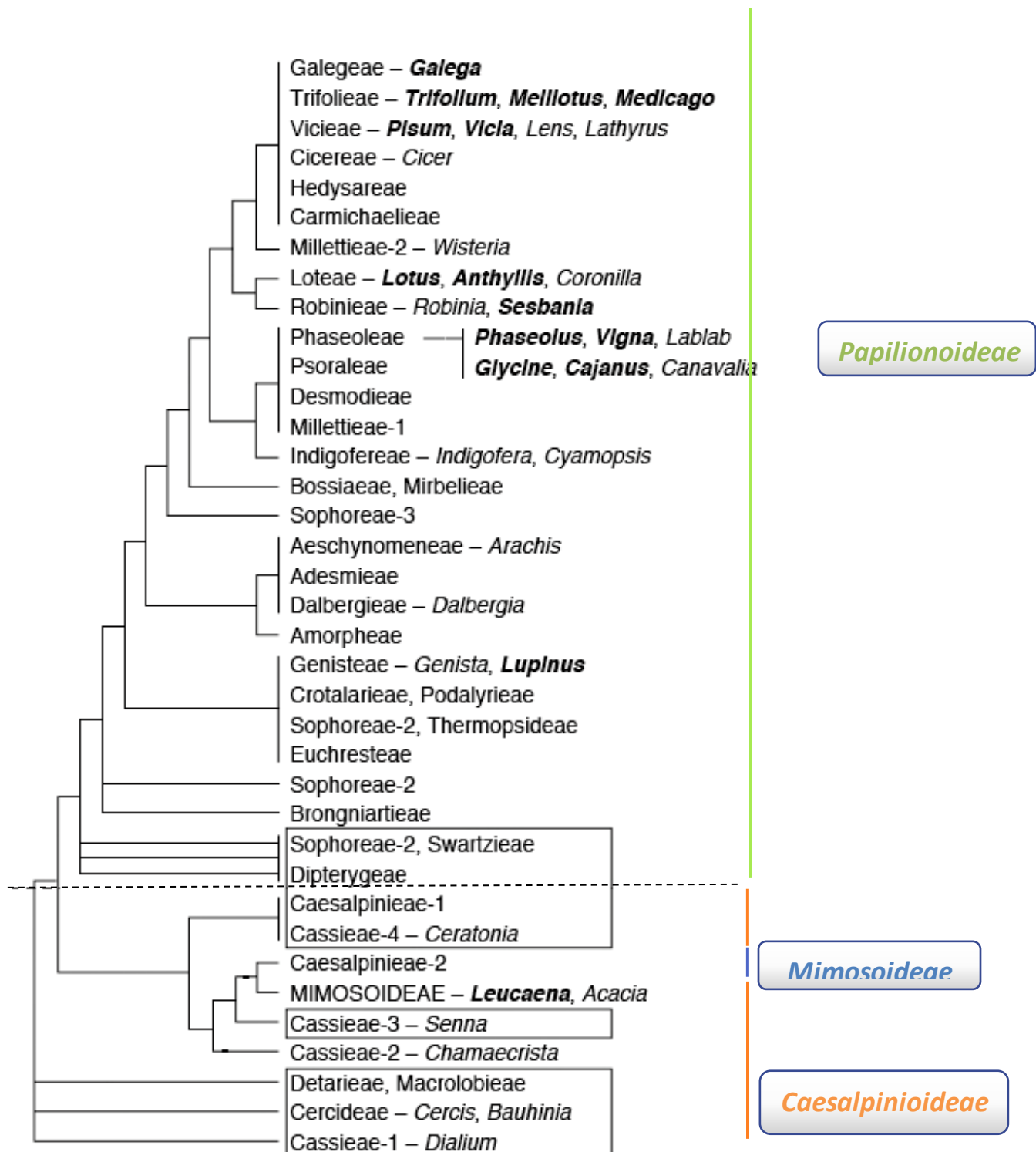
تعتبر الأكثر بدائية، وتشمل حوالي 4200 نوع في 135 جنس، الأنواع التي تنتمي إليها تحمل أزهار غير منتظمة منها الأشجار المعمرة والشجيرات والنباتات العشبية تتوزع على المناطق الإستوائية إلى المناطق المعتدلة، يعتبر جنس *Caesalpinia* (35 نوع) و *Cassia* (450 نوعًا)، جنس *Cercis* (7 الأنواع) و *Gleditzia* (75 نوع) الاجناس الأكثر تمثيلا لدى هذه العائلة التحتية (Polhill et al., 1981).

• تحت عائلة *Faboideae* أو *Papilionoideae*

تمثل تحت العائلة الأكثر تنوعا فهي تضم أكثر من 12000 نوع بأزهار غير منتظمة تتخذ شكل الفراشة متجمعة في 429 جنس، موزعة في جميع أنحاء العالم، موجودة في المناطق المعتدلة و الإستوائية، تشمل كل من الشجيرات والأنواع العشبية المعمرة والحوالية، في هذه الأخيرة نجد جميع الأنواع الهامة المستخدمة لتغذية الإنسان مثل: البازلاء (*Pisum sativum L.*) ، الفاصولياء (*Phaseolus vulgaris L.*) و الحمص (*Cicer arietinum L.*)، والفول (*Vicia faba L.*)، و فول الصويا (*Glycine max L.*)، و أهم نباتات المراعي مثل البرسيم (*Medicago sativa L.*) (Polhill et al., 1981).

2-2- التصنيف التطوري السلالي (phylogénétique) للعائلة البقولية

إن التصنيف الكلاسيكي للعائلة البقولية لا يعكس المعرفة الحالية للعلاقات التطورية في العائلة، ففي سنة 1998 تم وضع أول تصنيف لسلاسل التطورية (phylogeny) الذي تتولاه مجموعة (Angiosperms Phylogeny Group) اختصارا (APG) و هو تعاون دولي يجمع عددًا كبيرًا من علماء النبات الأكثر شهرة ، أعمال مجموعة (APG) تقوم أساسا على تحليلات جينات الصانعات الخضراء و الواسمات الجزيئية مع المعايير المورفولوجية و كمياء النبات ، حيث أحدث تصنيف (APG) على مستوى العائلة البقولية (الشكل 01) تغييرات كبيرة على أساس تحليل جينات الصانعات الخضراء مع التصنيف الكلاسيكي (Kajita et al., 2001)



الشكل (01): التصنيف التطوري السلافي (phylogénétique) للعائلة البقولية حسب

Doyle, (1998)

2-3- تصنيف LPWG للعائلة البقولية

في عام 2010 انشأت مجموعة LPWG (Legume Phylogeny Working Group) و هي تضم نخبة كبيرة من علماء تصنيف البقوليات، هدف هاته المجموعة هو تعزيز وتطوير التصنيف التطوري السلالي (phylogénétique) للبقوليات، حيث كان أول نشر للمجموعة في 2010 تحت اسم (LPWG)، إذ يعتمد تصنيف مجموعة (LPWG) على تحليلات جين (MatK) للصانعة الخضراء للبقوليات باعتبار منطقة جين (MatK) الأكثر تسلسلا في البقوليات مقارنة مع الجينات الأخرى، هذا التصنيف الجديد يصادق عليه مجمع تصنيف البقوليات (Legume Systematics Community) (Manuel *et al.*, 2018).

و حسب تصنيف LPWG لسنة 2017 يقترح ستة تحت عائلات للعائلة للبقوليات هي :

Duparquetioideae Dialioideae , Cercidoideae ,Caesalpinioideae ,Detarioideae

, Papilionoideae (الشكل 02).

II. العقد الجذرية

1- العقد الجذرية عند البقوليات

إن جميع الأنواع التي تنتمي إلى العائلة البقولية ليست كلها قادرة على تكوين العقد الجذرية، فحوالي 20 % فقط من تمتلك القدرة على تكوين العقد الجذرية، حيث تحتل تحت العائلة *papilionoideae* المرتبة الأولى في تكوين العقد الجذرية بنسبة 97 % و تحت عائلة *Mimosoideae* نسبة 90 % و تحت عائلة *Caesalpinoideae* نسبة 23 % (Duhoux et Nicol , 2004).

2 – تعايش بكتيريا *Rhizobium* مع البقوليات

1-2- نظرة عامة عن التعايش (SYMBIOSE)

تأتي كلمة (SYMBIOSE) من الكلمة اليونانية **SYM** والتي تعني الاشتراك، و كلمة **BIOS** تعني الحياة ومن هنا يأتي تعريفها العام والواسع الحياة معا أو الحياة المشتركة (Vandenkoornhuyse *et al.*, 2015)

التعايش بالتعريف العلمي هو ارتباط يجمع بين كائنين من نوعين مختلفين وتكون نتيجتها تبادل المنفعة بين الكائنين (Broughton *et al.*, 2000).

و قد لوحظ هذا النوع من العلاقة الحيوية لأول مرة من قبل العالم Woronin سنة 1866 في جذور نبات الترمس الطفري (*Lupinus mutabilis* L.) ، حيث لاحظ كائنات دقيقة تشبه البكتيريا في العقد الجذرية لهذا النبات (Perry *et al.*, 2004).

أظهر كل من العالمان Hellriegel و Wilfarth سنة 1888 أن تشكيل العقيدات هو نتيجة العدوى الخارجية في كل من نبات الفاصولياء (*Phasiolus vulgaris* L.) و الفول (*Vicia faba* L.) و رجل الطير (*Ornithopus sativus* L.) و نبات النفل (*Trifolium repens* L.) و نبات الترمس الطفري (*Lupinus mutabilis* L.)، و مع ذلك فإن العالم Beyerinck سنة 1890 أول من قدم دليل على أن

البكتيريا هي الأصل في تكوين العقد الجذرية، حيث قام بعزل بكتيريا العقد الجذرية لنبات الفول وتنميتها في وسط زراعي نقي، ثم قام بإصابة جذور نبات الفول المزروع في تربة عقيمة بهذه البكتيريا (Perry *et al.*, 2004)

2-2- صفات بكتيريا *Rhizobium*

بكتيريا *Rhizobium*، هي بكتيريا قادرة على تثبيت النيتروجين الجوي في العقد الجذرية للنباتات البقولية، و النباتات الغير البقولية من أشجار المناطق الإستوائية التي تنتمي إلى جنس *Parasponia tomentosa* من العائلة الدرارية (*Ulmaceae*) (Lafay *et al.*, 2006).

تتميز بكتيريا *Rhizobium* بأنها هوائية، سالبة لصبغة الجرام غير متجترمة عصوية الشكل يتراوح طولها من 1.2 - 3 ما يكرون وعرضها من 0.5-0.9 ما يكرون، تتحرك بواسطة الأسواط، تحتوي خلايا بكتيريا *Rhizobium* من 52 - 55 % من الكربون و من 4 - 5 % من الأزوت تتراوح نسبة قواعد السايروسين C و الكوانين G في 59 ADN - 65 % (Prescott *et al.*, 2010).

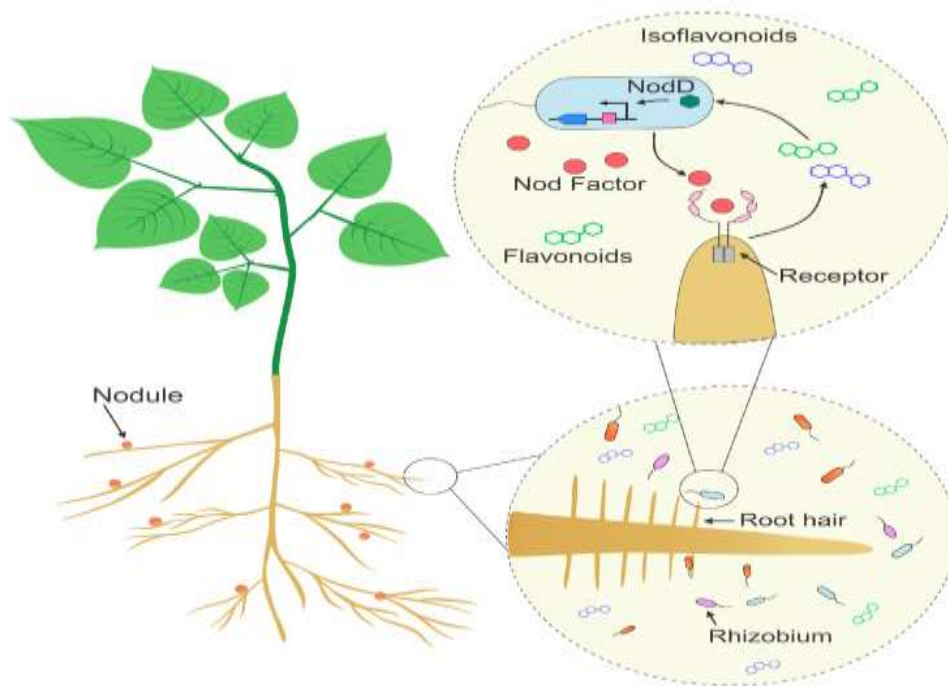
2-3- مراحل تكوين العقد الجذرية و ميكانيزم تعايش بكتيريا *Rhizobium*

تمتلك بكتيريا *Rhizobium* خاصية التفاعل مع جذور النباتات البقولية لتكوين أعضاء خاصة تسمى بالعقيدات أو العقد الجذرية التي يتم بداخلها تثبيت النيتروجين الجوي إلى الأمونيا، وتشمل هذه العملية المعقدة تمايز خلايا عديدة متخصصة كنتيجة لسلسلة من التفاعلات بين البكتيريا والنبات العائل (Cermola *et al.*, 2000) و تمر عملية التكوين بالمرحل التالية:

✓ مرحلة الالتصاق

تبدأ علاقة التعايش في المنطقة المحيطة بالجذر (*Rhizosphere*) والتي تبنى على مبدأ تبادل الجزيئات المعقدة بين الطرفين المتعايشين، بعد إنبات بذور البقوليات تفرز شعيراتها الجذرية مركبات الفلافونويد (*Flavonoides*) المتخصصة (Hirsh *et al.*, 2001)، لتمكن بكتيريا *Rhizobium* من تمييز عائلها

المناسب لها عن البقوليات الأخرى، فضلا عن دورها المعروف بوصفه عامل جذب كيميائي يوجه البكتيريا باتجاه عائلها النباتي ، فعلى سبيل المثال نبات فول الصويا (*Glycine max L.*) يقوم بإفراز مركبات Isoflavonoides، بينما يفرز نبات البرسيم (*Medicago sativa L.*) فلافونويد Luteoline ، حيث تعمل هاته الفلافونويدات على تحفيز الجينات المكونة للعقد في بكتيريا *Rhizobium* للتعبير عن نفسها و التشفير لبناء وتخليق العامل Nod (lipo –chitooligosaccharides) الذي بواسطته ترتبط بكتيريا *Rhizobium* باللاكتين (Lectine) النبات المفروز عند قمم الشعيرات الجذرية الفتية لتحداث أول علامات الإصابة المتمثلة بتغيير شكل الشعيرات الجذرية من الشكل المستقيم الى الشكل المشوه الناتج عن انحناء الشعيرة الجذرية والتفافها حوالي 360 درجة مئوية وهذا تحت تأثير العامل Nod، عندئذ تصبح بكتيريا *Rhizobium* داخل تجويف الشعيرة الملتفة (الشكل 03) (Graham, 2007).



الشكل (03): ميكانيزم التصاق بكتيريا *Rhizobium* بجذور نبات بقولي حسب

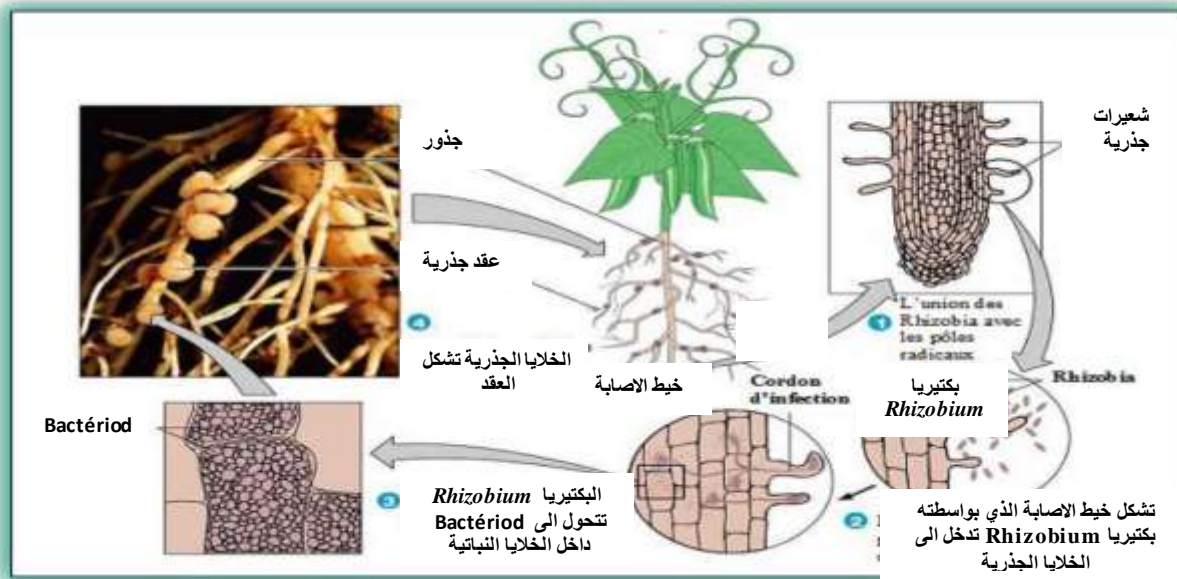
Clúa et al, (2018)

✓ مرحلة العدوى

عند دخول بكتيريا *Rhizobium* إلى تجويف الشعيرة الجذرية تبدأ بالنمو و الإنقسام و تحيط بنفسها بتركيب أنبوبي الشكل يدعى خيط الإصابة الذي ينمو ويتفرع باتجاه خلايا القشرة المنقسمة لتكوين العقد الأولية، تتحرر بكتيريا *Rhizobium* من خيط الإصابة إلى سيتوبلازم خلايا القشرة المصابة بعملية تدعى الإدخال الخلوي (Endocytosis) لتحيط نفسها بغشاء مشتق من الأغشية النباتية (Mathesius *et al.*, 2000).

✓ مرحلة نمو العقدة

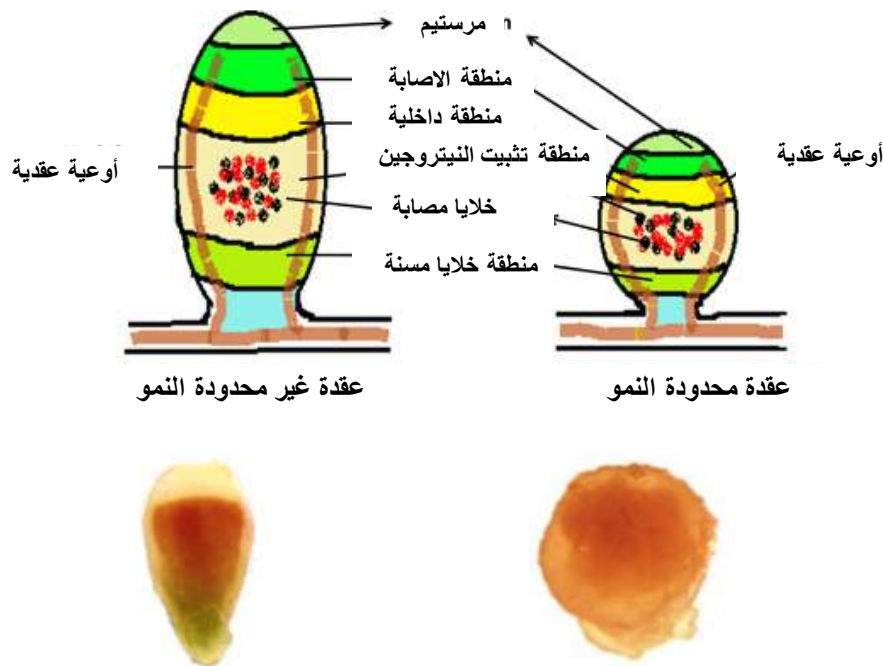
تتجمع الخلايا البكتيرية حول أنوية خلايا قشرة الجذر لتحث خلايا القشرة على الانقسام عن طريق إفراز هرمون الأوكسين (Auxin) الذي يسبب النشاط و الإنقسام الغزير للخلايا المصابة في القشرة، مع تغير تركيز أيونات الكالسيوم (Ca^{+2}) داخل هذه الخلايا، فينشأ عن ذلك تضخم جانبي في الجذور يكون السبب في دفع القشرة إلى الخارج وتكوين العقد الجذرية (الشكل 04) (Brewin, 2004).



الشكل (04): مراحل تشكل العقد الجذرية لنبات البازلاء (*Pisum sativum* L.)

حسب Tortora *et al.*, (2010)

إذا حدث الانقسام في خلايا القشرة الخارجية تتشكل عندئذ العقدة محدودة النمو كما في العقد الجذرية المتكونة على نباتات فول الصويا (*Glycine max* L.) و الفاصولياء (*Phaseolus vulgaris* L.) ، أما إذا حدث الانقسام في خلايا القشرة الداخلية يؤدي إلى تكوين العقدة غير محدودة النمو كما في نبات البرسيم (*Medicago sativa* L.) و نبات الفول (*Vicia faba* L.) و نبات البازلاء (*Pisum sativum* L.) (الشكل 05) (Martínez-Hidalgo et Hirsch, 2017).



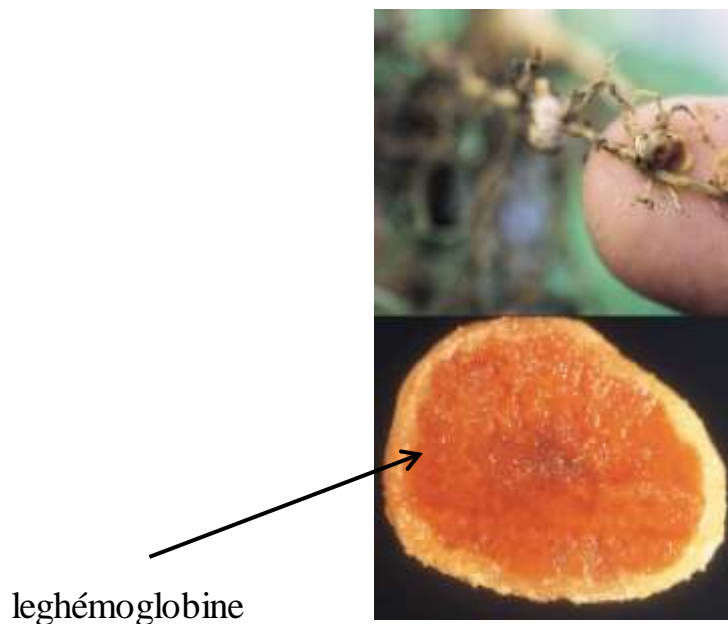
الشكل (05): العقدة محدودة النمو والعقدة غير محدودة النمو عند البقوليات حسب

Ajey et al., (2021)

بعد تجمع الخلايا البكتيرية في نصف العقدة تتحول من الشكل العصوي إلى أشكال غير منتظمة على هيئة حروف X, V, L, Y, T، تسمى Bactériode تحتوي خلاياه على إنزيم Nitrogénase، كما يحاط الـ Bactériode بغشاء نباتي داخل الخلية النباتية يسمى symbiosome، الذي يتم تنظيم نموه من طرف النباتات العائل (Foucher et Kondorosi, 2000).

إن تحول بكتيريا *Rhizobium* الى طور Bactériod يكون مصحوبا بتكوين مادة شبيهة بالهيموجلوبين تسمى Leghémoglobine تشترك كل من بكتيريا *Rhizobium* و النبات العائل في تكوينه، وهو بروتين نباتي له دور هام في تنظيم إنتشار الأوكسجين في العقد الجذرية حتى يتمكن انزيم Nitrogénase من تثبيت النيتروجين الجوي في غياب الأوكسجين، وذلك لأن هذا الإنزيم ذو قابلية عالية للتكسير بواسطة الأوكسجين (Perret *et al.*, 2000).

طور Bactériode هو الشكل الذي يسمح لبكتيريا *Rhizobium* بتثبيت النيتروجين الجوي، حيث يقوم إنزيم Nitrogénase باختزال النيتروجين الجوي (N_2) إلى أمونيا (NH_3)، و تكون العقد الجذرية في هذا الطور نشطة ذات لون أحمر أرجواني لاحتوائها على بروتين Leghémoglobine (الشكل 06) (Gage, 2004).



الشكل (06): عقد جذرية نشطة تحتوي على بروتين Leghémoglobine لنبات فول الصويا

(*Glycine max* L.) حسب (Andri, 2003)

4-2- نشاط العقد الجذرية

إن الزمن الذي تستغرقه العقد الجذرية في نشاطها و تثبيتها للنيتروجين الجوي هي مدة 7 أسابيع، إذ يتم تكوين العقد الجذرية في مدة لا تقل عن 15 يوم من بدء الإصابة، و تعيش بكتيريا *Rhizobium* داخل العقد الجذرية في هذه الفترة معيشة تبادل المنفعة، و تكون العقد الجذرية نشطة ذات لون أحمر أرجواني في هذه الفترة لاحتوائها على بروتين Leghémoglobine، و بعد فترة السبعة أسابيع تتحول بكتيريا *Rhizobium* من معيشة تبادل المنفعة إلى معيشة التطفل بعد أن تقل المواد الغذائية الواصلة إلى العقد فتفرز البكتيريا إنزيم pectinase الذي يذيب الصفيحة الوسطى للخلايا البرانشيمية التي تستقر فيها مما يؤدي إلى تحلل العقد وخروج البكتيريا إلى التربة، فتصبح العقد الجذرية ذات لون أبيض لغياب بروتين Leghémoglobine غير قادرة على تثبيت النيتروجين الجوي (Meuelenberg et Dakora, 2007).

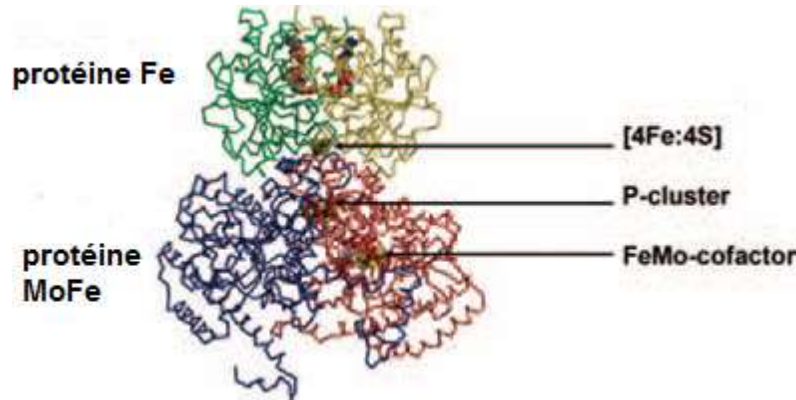
5-2 – المحفزات البيوكيميائية لتثبيت النيتروجين الجوي في العقد الجذرية

• إنزيم Nitrogénase

هو إنزيم رئيسي في تثبيت النيتروجين، تم عزل الانزيم من البكتيريا الهوائية (*Azotobacter*) و البكتيريا اللاهوائية (*Clostridium*) و من البكتيريا الخضراء المزرقاة (*Cyanobactérie*) و كذلك بكتيريا (*Rhizobium, Bradyrhizobium*)، على الرغم من تنوع الكائنات التي تعمل على تثبيت النيتروجين، فإن جميع انزيمات Nitrogénase المعروفة يتم بناؤها على نفس النموذج ولها سمات مشتركة (Rees et Howard, 2000)

يتكون إنزيم Nitrogénase (الشكل 07) من نوعين من البروتينات المعدنية مختلفة الحجم، النوع الأول يحتوي على الموليبدان و الحديد Mo-Fe-protein و يسمى أيضا بإنزيم Dinitrogénase (المركب 1)، و هذا المركب مكون من أربعة وحدات فرعية ($2\alpha, 2\beta$) و هو البروتين المسؤل عن اختزال النيتروجين، أما النوع الثاني (المركب 2) فهو عبارة عن بروتين يحتوي على الحديد Fe-protein يدعى بإنزيم

Dinitrogénase reductase و يعرف إنزيم Nitrogénase بحساسيته العالية للأكسجين الجزيئي فكلما المركبين يتم تعطيلهما بشكل لا رجعي بواسطة الأكسجين (Newton et Dilworth, 2001).



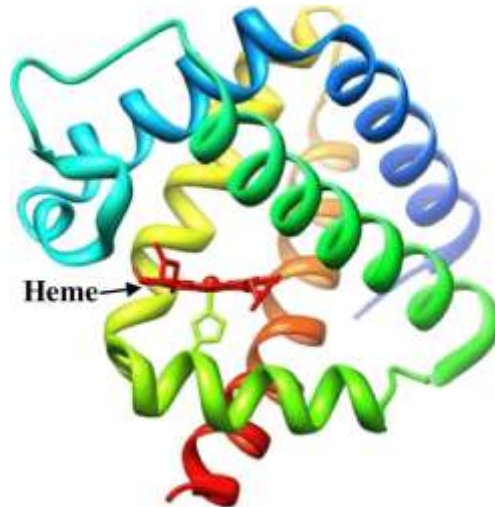
الشكل (07): البنية الجزيئية لأنزيم Nitrogénase حسب

Dixon et Kahn, (2004)

• بروتين Leghémoglobine

اكتشف بروتين Leghémoglobine عام 1939 من قبل العالم الياباني Kubo في العقد الجذرية لنبات فول الصويا، و هو بروتين نباتي يعرف بالهيموغلوبين البقولي يتكون من وحدتين فرعيتين (الشكل 08) بهيكل مشابه لمادة الـ globine من الهيموغلوبين، يتكون Leghémoglobine من جزء الـ hème وعدد بيتيد واحد هو الـ globine، حيث يعتمد تسلسل الأحماض الأمينية لـ globine على أنواع البقوليات، بينما يظل جزء الـ hème ثابتا بغض النظر عن السلالة البكتيرية و أنواع البقوليات، يبدأ تخليق Leghémoglobine بعد وقت قصير من بدء تكوين العقد الجذرية وقبل تخليق انزيم Nitrogénase، و يتم تخليقه داخل السيتوبلازم الخلوي للخلايا المصابة، حيث يعتمد تخليق بروتين Leghémoglobine على المعلومات الوراثية التي يوفرها كل من النبات العائل و بكتيريا *Rhizobium* و لا يستطيع أي شريك إنتاجها بشكل

مستقل عن الآخر، و يتم تشفير مجموعة الـ hème بواسطة جينوم بكتيريا *Rhizobium* و يتم تشفير الـ globine بواسطة ريبوزومات الخلايا المصابة (Hoy et Hargrove, 2008).



الشكل (08): البنية الجزيئية لبروتين Leghémoglobine للعقد الجذرية لنبات فول الصويا (*Glycine max L.*) حسب (Oshtrakh et al., 2014)

2-6- المحفزات الجزيئية لتثبيت النيتروجين الجوي في العقد الجذرية

• جينات بكتيريا *rhizobium*

تتمركز الجينات المشاركة في التفاعلات التكافلية بشكل عام في بلازميد بكتيريا *Rhizobium* و في كروموزوم سلالات *bradyrhizobiums* (Dupuy et Nougier, 2005).

الجينات التي تحملها بكتيريا *Rhizobium* بشكل رئيسي وتشارك في تكافل وتثبيت النيتروجين وهي:

- **جينات sym (gène sym):** وهي الجينات اللازمة لتشكيل العقيدات الوظيفية المثبتة للنيتروجين (Broughton et al., 2000).

- **جينات nod (gène nod):** تقع جينات nod (من 20 إلى 30 جين) على البلازميدات البكتيرية العملاقة، بعضها مسؤول عن التعرف التخصصي لإصابة العائل المناسب وتكوين العقد منها ثلاثة

جينات العقد (nodA ، nodB ، nodC)، وهي جينات عقيدية شائعة في جميع حالات بكتيريا

Rhizobium تقوم بتشفير هيكل العامل nod (chitin-oligosaccharide) (Noel, 2009).

- جينات nif (gène nif):

تتوضع جينات nif أو جينات انزيم Nitrogénase في البلازميدات البكتيرية وتشارك في تخليق مكونات

إنزيم Nitrogénase وفي تثبيت النيتروجين (Madigan et Martink, 2007).

إنزيم Nitrogénase ناتج عن التعبير الجيني للأوبرون (operon) (هو عبارة عن تسلسل من ADN

يحتوي على مجموعة من جينات متجاورة)، مكون من ثلاثة جينات تركيبية وهي nifH، nifK، nifD من

أصل 20 جين مثبت للنيتروجين الجوي، يقوم الجين nifD بتشفير الوحدة الفرعية من نوع α و يشفر الجين

nifK الوحدة الفرعية من نوع β للمركب البروتيني Dinitrogénase ، بينما الجين nifH فيقوم بتشفير

إنزيم Dinitrogénase reductase (Hopkins, 2003).

- جينات fix (gène fix):

جينات fix هي جينات إضافية خاصة بالمتبئات التكافلية وتشارك في المراحل المتأخرة من تطور العقد

الجزرية أثناء تثبيت النيتروجين التكافلي، بعض هذه الجينات (fix J ، fix L) هي منظمات لتخليق جين nifA

المشارك في تخليق إنزيم Nitrogénase و البعض الآخر هي جينات (fix NOPQ) تشفر لتخليق الإنزيمات

التي تحفز تنظيم الأكسجين أثناء تثبيت النيتروجين مثل (cbb3) cytochrome oxydase (Crossman,)

(2004).

كما تنتمي جينات dct (Dicarboxylate transport genes) إلى جينات fix وهي ضرورية لاستيعاب

البكتيريا للأحماض الكربوكسيلية (succinate, malate) الناتجة عن مركبات الكربون (الجلوكوز،

الفركتوز) التي يتم إحضارها بواسطة النبات أثناء تثبيت النيتروجين، حيث تؤدي طفرة هذه الجينات في

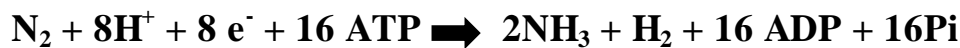
البكتيريا إلى انتشار ضعيف للبكتيريا و نقصها أثناء تثبيت النيتروجين (Noel, 2009).

• جينات النبات العائل

هي جينات متخصصة تشفر البروتينات من نوع noduline و تتمركز في جينوم النبات العائل بعضها يشارك اثناء تكوين العقد الجذرية والبعض الآخر بعد تكوين العقد الجذرية مثل جين تشفير مركب الـ globine لبروتين Leghémoglobine وكذلك الإنزيمات المشاركة في تخليق الهرمونات النباتية والأحماض الأمينية والأحماض العضوية (Abdelaal, 2013).

7-2- آلية تثبيت النتروجين الجوي في العقد الجذرية

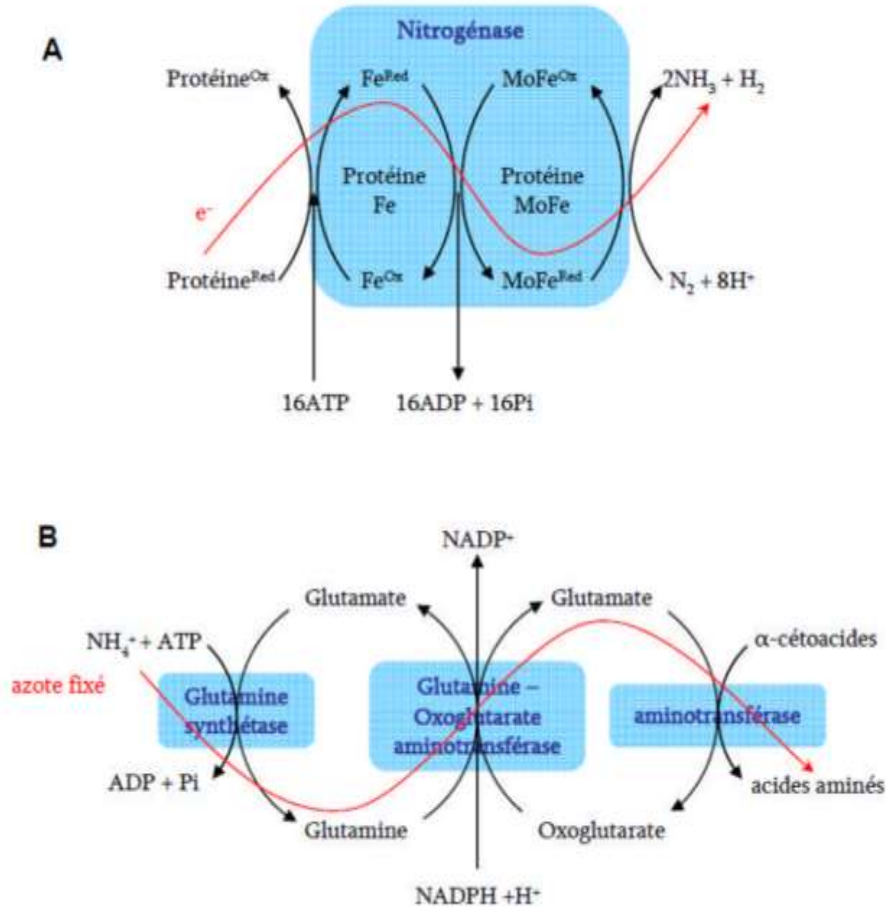
تحت تحفيز إنزيم Nitrogénase يتم اختزال النيتروجين الجزيئي على مرحلتين، حيث في البداية بروتين Fe يختزل من طرف المعطي الأولي للإلكترونات وهو ferrédoxine ، و في الخطوة الثانية يقوم بروتين Fe بدروه بتحويل الإلكترونات إلى بروتين Mo-Fe الذي يحفز كلاً من اختزال النيتروجين الغازي وإنتاج الهيدروجين حسب العادلة التالية:



يأتي ATP التفاعل من التنفس الهوائي لبكتيريا *Rhizobium*، يتفاعل ATP مع بروتين Fe المختزل ويتوسط نقل الإلكترونات بين بروتين Fe وبروتين Mo-Fe ، يحتاج كل جزيء نيتروجين مختزل 16 ATP على الأقل إثنان لكل الكترون (الشكل 09) (Seefeldt *et al.*, 2009) عموماً تحتاج البقوليات حوالي 22 % من الطاقة الناتجة عن التركيب الضوئي لتثبيت النيتروجين الجوي (Cavaillès, 2009).

يتم تحويل الأمونيا (NH_3^+) إلى أمونيوم (NH_4^+) في symbiosome ثم ينتقل الأمونيوم (NH_4^+) إلى cytosol عن طرق ناقل بطاقة التدرج الإلكتروني، في cytosol يتم تمثيل الأمونيوم بواسطة كل من إنزيم Glutamine synthetase-GS (الشكل 09) و إنزيم

Glutamine2- oxoGlutarate Amino Transferase- GOGAT لتشكيل الأحماض الأمينية أو ureides ليتم نقلها إلى الأجزاء الهوائية من النبات (Udvardi et Poole, 2013).



الشكل (09): ميكانيكية تثبيت النتروجين الجوي حسب

Godfroy, (2008)

يتم تشكيل الأحماض الأمينية مثل (asparagine, glutamine) من طرف بقوليات المناطق المعتدلة ذات العقد الجذرية غير محدودة النمو مثل البازلاء و الفول و العدس، في حين يتم تشكيل ureides مثل (allantoïne) من طرف بقوليات المناطق المدارية ذات العقد الجذرية محدودة النمو مثل فول الصويا و الفاصولياء و الفول السوداني (Prell et Poole, 2006).

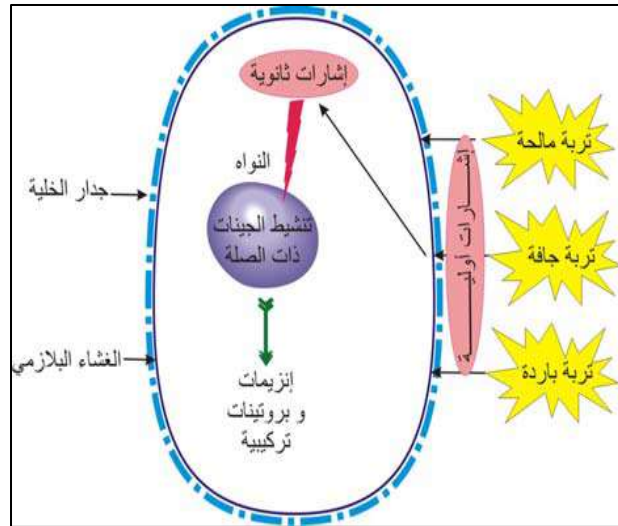
III. الإجهاد الملحي و تأثيره على تعايش بكتريا العقد الجذرية و نمو البقوليات

1 - تعريف الإجهاد الملحي

يمكن تعريف الإجهاد الملحي على أنه مجموعة من الظروف الناتجة عن تراكم الأملاح الذائبة بماء التربة الزراعية بتركيز عالية وغير ملائمة لنمو النبات، تنشأ هذه الظروف في المناطق الجافة أو شبه الجافة وأحيانا في المناطق الرطبة المجاورة للبحار، وتؤثر الملوحة بشكل كبير على مختلف مراحل النمو وتطور النباتات، وبشكل عام على كل الوظائف الفيزيولوجية فتأثيرها متعلق بنوع التربة وخصائصها الفيزيائية والكيميائية ونوع الأملاح والنبات وحركة الأيونات (محب، 2002).

2- آلية حساسية الخلية الجذرية للإجهاد الملحي

تكتشف خلايا الجذر الخارجية وجود الإجهاد الملحي وهي الإشارة الأولية بواسطة مستقبلات توجد في أغشيتها البلازمية وتنتج اشارات ثانوية تنتقل لداخل خلايا الجذر (الشكل 10)، مما يحفز تكوين المزيد من الإشارات الثانوية، هذه الإشارات مع اختلاف طبيعتها تنشط الجينات التي تتحكم في الوسائل الدفاعية ضد الإجهاد الملحي، هذه العملية المركبة التي تبدأ باكتشاف الإجهاد ثم إنتاج الإشارات الثانوية وتناقلها بين الأنسجة والأعضاء المختلفة في النبات وتنتهي بتنشيط الجينات ذات الصلة بتحمل الإجهاد الملحي تسمى استشعار النبات للإجهاد (Zhang *et al.*, 2012).



الشكل (10): رسم يوضح كيفية استشعار النبات للإجهاد حسب (ANONYME, 2019)

3- تأثيرات الإجهاد الملحي على مؤشرات النمو لبكتيريا العقد الجذرية والبقوليات

3-1- تأثير الإجهاد على نمو بكتيريا *Rhizobium* وتكوين العقد الجذرية

بين (Bouhmouch *et al.*, 2005) أن تراكم أيونات سامة (Na^+) و (Cl⁻) في العقد الجذرية لنبات

الفاصولياء (*Phaseolus vulgaris* L.) يؤثر على عملية التمثيل الغذائي فيها ويمنع نموها.

وضح (Keneni *et al.*, 2010) أن الملوحة العالية في وسط النمو تؤثر في عملية تكوين خيط الإصابة الذي

تكونه بكتيريا *Rhizobium* ، وهذا يؤدي إلى تثبيط تكوين العقد الجذرية.

لاحظ (Predeepa *et Ravindran*, 2010) أن أعداد العقد الجذرية لنبات اللوبياء (*Vigna*

unguiculata L.) و الوزن الجاف لها تتناقص بتزايد تراكيز الملوحة في وسط النمو.

بينت الدراسة التي أجراها باسل و آخرون، (2010) و التي تضمنت عزل 60 عزلة من بكتيريا

Sinorhizobium meliloti من العقد الجذرية لنبات النفل (*Medicago Sativa* L.) أن العزلات جميعها

نمت بصورة جيدة على الوسط الزراعي الصلب بعد إضافة ملح كلوريد الصوديوم له بتركيز 2 % أو 3 %،

إلا أن التركيز 7 % ثبط نمو العزلات جميعها.

كما أوضح حيدر و آخرون، (2017) في الدراسة التي قام بها على عزلات من بكتيريا *Rhizobium* المعزولة من أشجار مثبنة لنيتروجين هي: (*Sesbania formasa*) أن جميع العزلات قادرة على النمو تحت تركيز ملحي يصل الى 5 % من ملح الـ NaCl .

2-3- تأثير الإجهاد الملحي على نمو البقوليات

لاحظ (Essa, 2002) أن التراكيز العالية من الملوحة أدت إلى انخفاض معنوي في جميع صفات النمو لثلاثة أصناف من نبات فول الصويا (*Glycine max L.*) من المساحة الورقية و طول الساق والكتلة الجافة و تركيز العناصر المعدنية في الأوراق.

بين (Udvardi et al., 2007) أن البقوليات المزروعة تتباين في درجة تحملها للملوحة فمنها ما هو حساس مثل الفاصوليا و الحمص و البازلاء و منها ما هو متوسط إلى مقاوم للملوحة مثل فول الصويا.

كما بين انتصار و مجيد، (2011) أن معاملة محصول البازلاء بمستويات من الملوحة أدت إلى انخفاض معنوي في معدل عدد البذور للقرنة الواحدة و عدد وطول القرون والوزن الطري والجاف للقرون.

4-تأثيرات الإجهاد الملحي على الخصائص الفيزيولوجية للعقد الجذرية والبقوليات

1-4- تأثير الإجهاد الملحي على الخصائص الفيزيولوجية للعقد الجذرية

بين (Unni and Rao, 2001) أنه من التأثيرات و التغيرات التي تحصل لبكتيريا العقد الجذرية *Rhizobium* النامية تحت ظروف الإجهاد الملحي هي بناء بعض البروتينات الجديدة، وحصول تغير أو تحوير في جزيئات Lipopolysaccharids التي تفرزها بكتيريا *Rhizobium* على سطحها الخارجي لإصابة جذر النبات العائل، وهذه التغيرات التي تحصل تمثل آلية أو طريقة للتكيف و النمو في الظروف الملحية ولكن في نفس الوقت قد تؤثر هذه التغيرات على عملية إصابة البكتيريا لجذر النبات العائل، مما يؤدي إلى فشل البكتيريا في إصابة الجذور وهذا يؤثر على عملية تثبيت النيتروجين .

تشير النتائج التي توصل اليها Djilianov *et al.*, (2003) إلى أن تراكم أيونات (Na^+ و Cl^-) السامة في العقد الجذرية لنبات النفل (*Medicago sativa* L.) يؤثر بشكل سلبي على التمثيل الغذائي في هذه الأجهزة ويمنع نشاطها في تثبيت النيتروجين الجوي (N_2).

توصل Anthraper et Du Bois, (2003) أن تركيز 150 ملي مول من NaCl يؤدي الى اختزال تركيز إنزيم Nitrogénase في العقد الجذرية و تركيز الأزوت الكلي في العقد الجذرية و أوراق نبات اللبوسينا (*Leucaena leucocephala* L.).

وضح Tejera *et al.*, (2004) أن تراكيز الملوحة العالية تثبط نشاط إنزيم Nitrogénase والتنفس العقدي في العقد الجذرية لنبات الفاصولياء (*Phaseolus vulgaris* L.) مما يؤدي الى انخفاض في إجمالي محتوى النيتروجين في النبات.

بين Yasuta et Kokubun, (2014) أن انخفاض نشاط تثبيت النيتروجين (N_2) في العقد الجذرية لنبات فول الصويا (*Glycine max* L.) بواسطة الإجهاد الملحي يرجع بشكل عام إلى انخفاض التنفس العقدي، كما أوضح أن سبب هذا الانخفاض يعود إلى الحد من تنظيم إنتشار الأكسجين في العقد وانخفاض في إنتاج البروتينات الخلوية وخاصة Leghémoglobine بواسطة العقد الجذرية.

4-2- تأثير الإجهاد الملحي على الخصائص الفيزيولوجية للبقوليات

وجد كل من Hernández *et al.*, (2000) من خلال تحليلهم لمحتوى البرولين و السكريات الكلية و تركيز الصوديوم في أوراق صنفين من نبات البازلاء (*Pisum sativum* L.) تزايد تراكيزها بتزايد تراكيز الملوحة في وسط النمو.

لاحظ Özcan *et al.*, (2000) في دراسة أجروها على نبات الحمص (*Cicer arietinum* L.) زيادة تركيز البرولين في الأوراق و انخفاض تركيز البوتاسيوم و الفسفور في الأوراق عند زيادة مستويات الملوحة.

أشار (2003) Lacerda *et al.*, أن الاجهاد الملحي يؤدي الى تغيرات في الجهد المائي والضغط الإنتفاخي للورقة و أن تركيز 150 ملي مول NaCl يؤدي إلى انخفاض معنوي في نسبة المحتوى المائي للمجموعين الجذري و الخضري لصنفين من نبات فول الصويا (*Glycine max L.*).

وضح (2004) Garg *et Singla*, أن التراكيز العالية من الأملاح لها تأثيرات سلبية على إنزيمات البناء الضوئي و الكلوروفيل و الكاروتينات و القدرة على البناء الضوئي مع انخفاض تركيز الأزوت الكلي في أوراق نبات الحمص (*Cicer arietinum L.*).

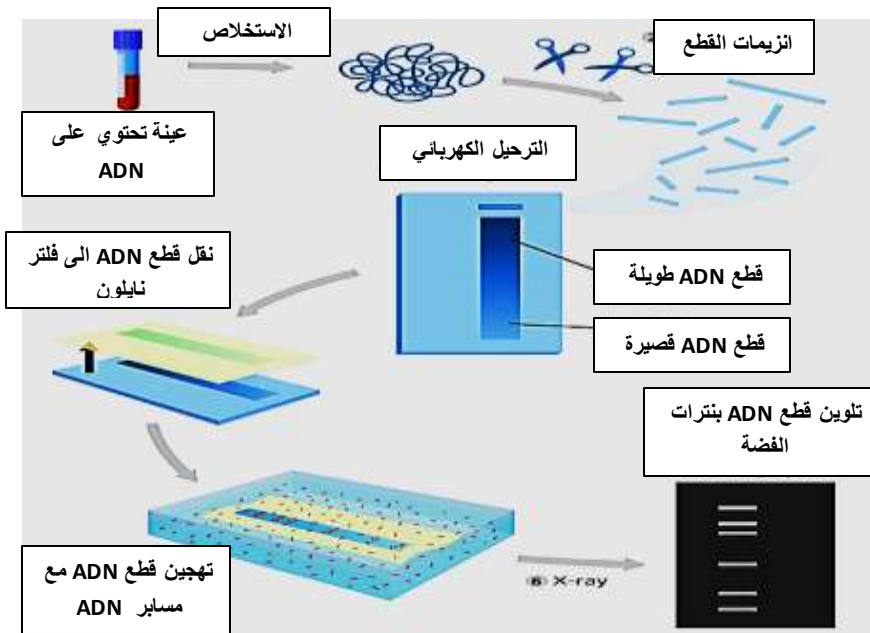
بين (2004) Azooz, أن الإجهاد الملحي يؤدي إلى اضطراب في تكوين البروتين و انخفاض تركيزه على مستوى أوراق ثلاثة أصناف من نبات فول الصويا (*Glycine max L.*) مع انخفاض تركيز العناصر المعدنية في الأوراق.

IV. المؤشرات الجزيئية و تطبيقاتها على مستوى الإجهاد الملحي في النبات

1- المؤشرات الجزيئية

تعتمد المؤشرات الجزيئية على تحليل جزيئة ADN مباشرة، و هي أكثر أنواع تقنيات الهندسة الوراثية و الأوسع انتشارا، و الأكثر دقة في التحاليل الوراثية و دراسات التحسين الوراثي و دراسة التنوع الوراثي و القرابة الوراثية بين الأنواع المزروعة و أقاربها البرية و ذلك لعدم تأثر هذه المؤشرات بالظروف البيئية من جهة، و لمقدرتها على تغطية مناطق عدة و متنوعة من جينوم الفرد من جهة أخرى، كما يمكن استخدام أي جزء من النبات و في أي مرحلة من النمو، حيث تعطي نتائج مكملة و مدعمة للتوصيف المورفولوجي (Ben Amer, 2000).

كانت أول الطرق الجزيئية استخداما طريقة التباين في أطوال مقاطع ADN المعاملة بإنزيمات القطع (Restriction fragment length polymorphism) اختصارا (RFLP) و التي شاع استخدامها منذ عام 1980، حيث يتم تقطيع سلسلة ADN بأنزيمات قطع متخصصة للحصول على أعداد غير متناهية من قطع ADN صغيرة الحجم وذات طبيعة وراثية متساوية السيادة، يتم تمييز قطع ADN من خلال وصمة العالم سودرن (Southern blotting)، ثم يتم نقل قطع ADN المرحلة بالهجرة الكهربائية إلى فيلتر نايلون، حيث يتم تهجينها مع مسابر ADN (ADN probes) مشعة (المسابر هي جزء من ARNm أو ADN يتراوح طوله ما بين 100-1000 قاعدة يمكن وسمها إشعاعيا و تستخدم للتحري عن وجود متتالية معينة في عينة من ARNm أو ADN بالاعتماد على خاصية القواعد المتممة لبعضها و يتم تعليم هذه المسابر بمواد مشعة)، ثم يتم الكشف عنها لونها و تلوينها بنترات الفضة لتحليلها، تحليل (RFLP) معقد نسبيا فهو يأخذ وقتا طويلا و مكلفا كما أنه يصعب تطبيق هذه الطريقة عند دراسة مجتمعات ذات عدد كبير من الأفراد لأنها بحاجة إلى وقت و جهد كبيرين للحصول على النتائج (Ciaffi et al., 2000).



الشكل (11): مراحل تفاعل تقنية (RFLP) حسب (ANONYME, 2022)

و بعدها سنة 1983 ظهرت تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل (Polymerase Chain Reaction) اختصارا (PCR) ، حيث يتم من خلالها تضخيم قطع صغيرة من الـADN مخبريا خارج النظام الحيوي إلى أعداد كبيرة تصل إلى ملايين النسخ من الـADN وحيد السلسلة و هذا بعد استخلاص المادة الوراثية و تنقيتها و تقطيعها (Mondini *et al.*, 2009).

و أشار (Naghavi *et al.*, 2005) إلى أن تفاعل الـPCR يحتاج الى وجود:

- جهاز للتحكم بدرجات حرارة التفاعل يسمى جهاز الدوران الحراري (Thermocycleur) يقوم بتغيير درجة الحرارة بشكل سريع، لأن تغيير درجة الحرارة هو الأساس الذي تقوم عليه هذه الفكرة.
- عينة التفاعل و هي جزئ الـADN المراد نسخه والذي يستخدم كقالب Template لبناء خيوط من الـADN باستخدام تفاعل الـPCR.
- إنزيم (Taq polymerase): و هو الإنزيم الذي يقوم ببناء و ترتيب القواعد النيتروجينية (وحدات الحمض النووي)، و يجب أن يكون هذا الإنزيم مقاوم لدرجة الحرارة العالية ليتمكن من العمل

ويستخلص من بكتريا تعيش في الينابيع الحارة *Thermus aquaticus* ، حيث كلمة Taq جاءت من حرف T من اسم الجنس وحرفي aq من اسم النوع.

- القواعد النيتروجينية (Nitrogen Base dNTPs): وهي Adenine و Thymine و Guanine و Cytosine ليتمكن إنزيم Taq polymerase من ترتيبها في مواقعها أثناء عملية نسخ الحمض النووي، والتي تعتبر بمثابة أحجار البناء عند بناء الـADN حيث يرتبطها بالنهاية 3' للبادئ تكون شريط الـADN الجديد، وتضاف النيوكليوتيدات في تفاعل الـPCR على هيئة نيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات (dATP, dGTP, dTTP, dCTP) تحتوي على سكر دي أوكسي ريبوز deoxyribose (من هنا جاء حرف d الصغير قبل اسم النيوكليوتيدة بينما ترمز TP إلى كونها ثلاثية الفوسفات Tri-(phosphate).

- البادئ (Amorce) : يتم تخليقه صناعيا بواسطة جهاز (DNA Synthesizer) و هو عبارة قطعة صغيرة من الـADN (عبارة عن تسلسل قواعد نيتروجينية في شريط واحد قصير 20-25 bp)، يعمل على تحديد المنطقة (الجين) التي سيتم بناءها باستخدام الـPCR اي انه مكمل لبداية الجزء المراد تضخيمه في الحامض النووي، حيث يمكن الانزيم من بدئ البناء و النسخ عليها.

- محلول منظم: يضبط درجة الحموضة pH عند المستوى المناسب لتفاعل بناء الـADN ويحتوي على بعض المواد التي تحسن من أداء إنزيم البناء.

- أيونات المغنسيوم الثنائية (Mg^{+2}): و التي تعمل كمرافق إنزيمي لإنزيم البناء وتضاف على هيئة كلوريد مغنسيوم $MgCl_2$.

- الماء النقي المعقم: وهو الوسط المناسب لحدوث التفاعلات الحيوية ويضاف في تفاعل الـPCR لضبط الحجم النهائي لمخلوط التفاعل تبعا للكميات المستخدمة من كل مكون من المكونات الستة السابقة والتي قد تختلف من تجربة لأخرى.

2- مراحل تفاعل الـ PCR

بعد وضع الحمض النووي المراد نسخة مع البادئ و إنزيم (Taq polymerase) في أنبوبة داخل جهاز الدوران الحراري فان هناك ثلاث مراحل او خطوات أساسية تتكرر في كل دورة من الدورات التضاعف ولمدة زمنية محددة (الشكل 12)، وهذه المراحل هي:

أ- مرحلة المسخ:

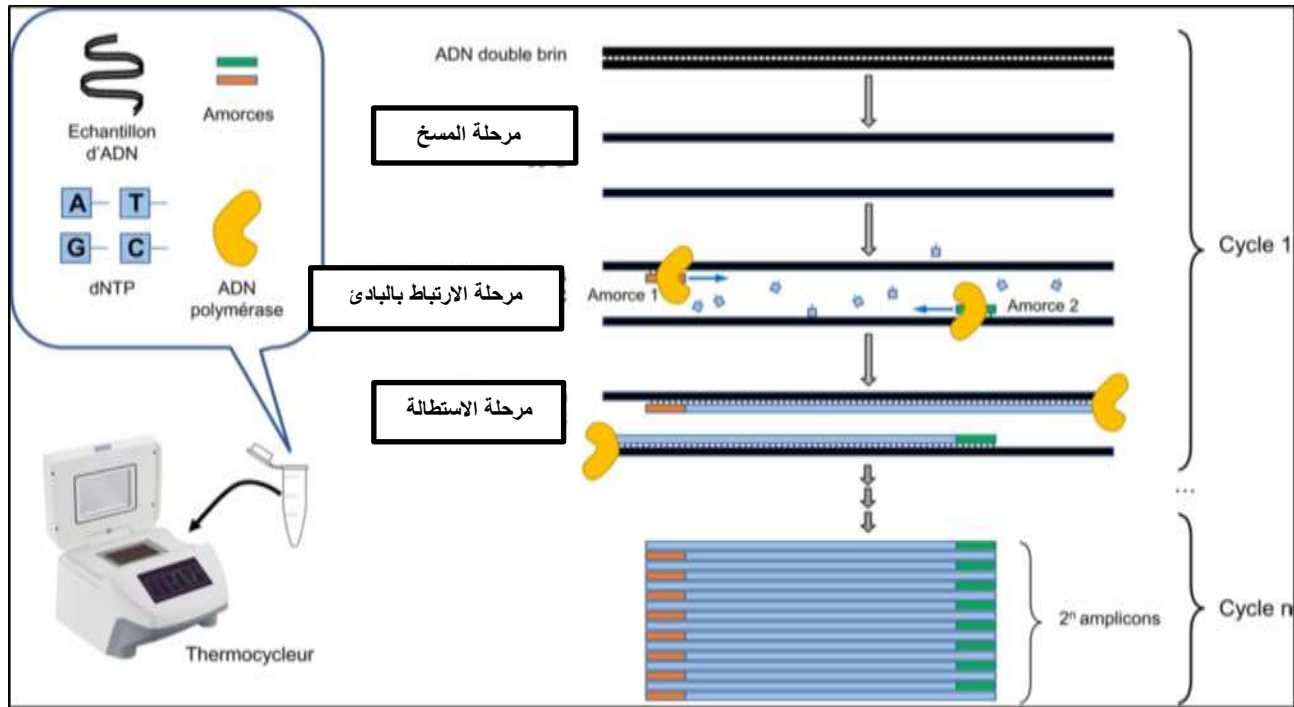
تعد هذه المرحلة الأولى و الأساسية في تحضير الـ ADN القالب مزدوج السلسلة للعمليات اللاحقة ومن المعروف أن تلك العملية تحدث في الخلية أثناء الطور البييني من الانقسام الخلوي و بواسطة إنزيمي (DNA Helicase و Topoisomerase)، إذ أن ارتباط الشريطين يكون عن طريق الروابط الهيدروجينية فقد وجد بأن الحرارة العالية أيضا تؤدي الى فتح الشريطين و قد استثمرت هذه الظاهرة في تحقيق المرحلة الأولى من الـ PCR و ذلك برفع درجة الحرارة لمحلول التفاعل والذي يحتوي على قالب الـ ADN (92- 95 م°) لوقت يتراوح من 3 الى 5 دقائق للحصول على شريط مفرد ليعمل كقالب لبناء القطعة المكملة لها، وتعتمد عملية المسخ على عدد من العوامل كنوعية ومصدر الـ ADN القالب ونوع الإنزيم المستخدم (Yang et Rothman, 2004)

ب- مرحلة الإرتباط بالبادئ:

هي المرحلة التي تأتي بعد مرحلة المسخ مباشرة إذ يتم فيها ارتباط البادئات مع التتابعات من القواعد النيتروجينية المكملة لها في الشريط المفرد من الـ ADN القالب وذلك ببناء الأواصر الهيدروجينية بينهما وتعتمد درجة الحرارة وطول الفترة الزمنية اللازمة لهذه المرحلة على العديد من العوامل التي تحدد كفاءتها ومنها تركيز و طول البادئ ونسبة احتوائه على قواعد G و C (Yang et Rothman, 2004).

ج- مرحلة الإستطالة:

وهي المرحلة الأخيرة من تفاعل الـ PCR و تتضمن عملية إضافة محلول dNTPs الى النهاية OH للبادئ عند منطقة ارتباطه بقالب الـ ADN لتكوين شريط ADN مكمل لذلك القالب من قبل إنزيم البلمرة، و ان أفضل درجة حرارية تتم فيها عملية الإستطالة وهي الدرجة الملائمة لإعطاء أعلى فعالية للإنزيم وهي 72 م°، أما المدة اللازمة لذلك فتختلف حسب نوع المؤشرات المستخدمة والمؤشرات التي تعطي نواتج تضاعف كبيرة الحجم تحتاج إلى وقت أطول من تلك التي تعطي نواتج تضاعف قصيرة و ذلك لقدرة إنزيم البلمرة المستخدم (Taq DNA polymerase) على بناء 35 - 100 نيوكليوتيدة في الثانية، وعلى العموم تكون الفترة اللازمة للاستطالة أطول (10 دقائق) في الدورة الأخيرة لتفاعلات الـ PCR وذلك لضمان استطالة جميع نواتج التفاعل، وهذه المراحل الثلاث تعتبر دورة كاملة وفيها يصبح الحمض النووي الـ ADN الأصل قد تضاعف، و تعتمد كمية ناتج الحمض النووي الـ ADN على عدد الدورات، وتجدر الإشارة إلى أن عدد الدورات المستخدمة في تفاعلات الـ PCR وهي 40 دورة كافية للحصول على عدد نسخ ملائمة للـ ADN، بحيث يمكن رؤيتها عند الكشف عنها باستخدام هلام الأغاروز (Agarose) ، كما أن فعالية الإنزيم تقل بعد ذلك العدد من الدورات، أما الكشف عن نواتج الـ PCR فيتم بعدة طرق أكثرها شيوعًا الهجرة الكهربائية باستخدام هلام الأغاروز أو التصبيغ باستخدام بروميد الاثيديوم، أو باستخدام هلام متعدد الأكريلاميد . (Yang et Rothman, 2004)



الشكل (12): مراحل تفاعل تقنية الـ PCR حسب (Uhel et Zafrani, 2019)

3- الفرق بين تخليق الـ ADN داخل الخلية وتخليقه بواسطة الـ PCR

وضح (Hodgkin et al., 2001) الفروق بين تخليق الـ ADN داخل الخلية وتخليقه بواسطة الـ PCR

حيث:

- يتم تخليق نسخة واحدة داخل الخلية بينما يتم تخليق ملايين ومليارات النسخ باستخدام الـ PCR ولهذا يطلق مصطلح التضخيم (Amplification) على ناتج الـ PCR بدلا من التكرار (Replication) الذي تقوم به الخلية الحية طبيعيا.
- تقوم الخلية بتخليق نسخة كاملة من الـ ADN لكامل الجينوم بينما يعمل الـ PCR على جزء محدود فقط من الجينوم قد يكون جينا أو جزءا من الجين.
- تستخدم الخلية بادئا من الـ ARNm يتم إزالته فيما بعد بينما يستخدم الـ PCR بادئا من الـ ADN المخلوق صناعيا.

- تستخدم الخلية مجموعة من البروتينات والإنزيمات لبناء ADN حيويًا بينما يستخدم إنزيم واحد فقط (إنزيم بناء ADN) في الـ PCR و يستبدل عن باقي الإنزيمات والبروتينات باستخدام الحرارة بدلا من ذلك.

- تحتاج إنزيمات بناء الـ ADN إلى قطعة صغيرة من الـ ARNm أو الـ ADN تعمل كبداي من أجل بناء الـ ADN ، حيث لا بد من توافر مجموعة هيدروكسيل (OH) حرة على الطرف 3' لسكر دي أوكسي ريبوز ليقوم إنزيم بناء الـ ADN بإضافة القواعد النيتروجينية إليها من أجل بناء الـ ADN بينما لا تحتاج إنزيمات بناء الـ ARNm إلى وجود البداي حيث يمكنها بناء الـ ARNm مباشرة على قالب من DNA بدون الحاجة إلى وجود مجموعة الهيدروكسيل (OH) الحرة ولهذا السبب يتم بناء الـ ADN داخل الخلية الحية باستخدام بادئات من الـ ARNm ، بينما يستخدم بادئ من الـ ADN (يتم تخليقه صناعيا بجهاز DNA Synthesizer) في تفاعل الـ PCR.

4- أنواع المؤشرات الجزيئية التي تعتمد على تقنية الـ PCR

تختلف الطرق المعتمدة على تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) عن بعضها في مبادئها وطريقة عملها كما تختلف في كمية و نوع التباينات التي تظهرها حيث يوجد نوعين من تفاعل البلمرة المتسلسل وهما الـ PCR العادي و RT PCR:

4-1- تفاعل البلمرة المتسلسل العادي (PCR)

يعتمد تفاعل الـ PCR العادي على المؤشرات التي تستهدف مواقع متعددة من الجين و المؤشرات التي تستهدف موقع محدد معروف التسلسل (Hatzopoulos *et al.*, 2002).

4-1-1- المؤشرات التي تستهدف مواقع متعددة من الجين

و هذا النوع من المؤشرات يشمل الأنواع التالية:

أ- المؤشرات التي تستخدم فيها بادئات عشوائية تماما: و تشمل التقنيات التالية:

• تقنية RAPD (Random amplified polymorphic DNAs)

هي طريقة سهلة سريعة و رخيصة التكلفة لكشف الاختلافات الوراثية بين الكائنات الحية والتي تعتمد على تضاعف قطع من الـADN الموزعة عشوائيا، وهي من أولى التقنيات الجزيئية المعتمدة على تقنية الـPCR التي تم تطويرها، حيث تسمح هذه التقنية بزيادة قطع من الـADN موزعة ضمن جينوم الفرد باستخدام بادئات عشوائية قصيرة مكونة من عدد من القواعد الأزوتية (10 قواعد أزوتية) ، وتتسم ببساطتها وسرعتها وعدم تطلبها لكمية كبيرة من الـADN و لا تتطلب بادئات متخصصة وامكانية تطبيقها على مجتمعات وراثية كبيرة الحجم، بالإضافة إلى أن إمكانية استخدام البادئات العشوائية في هذه التقنية يسمح بتغطية مناطق مختلفة من جينومات الأفراد المدروسة، من مساوئ هذه التقنية أنها ذات تكرارية منخفضة وهذا ما يجعلها أقل دقة بالمقارنة مع الطرق الأخرى المعتمدة على الـPCR (Sharma *et al.*, 2008).

• تقنية ISSRs (Inter Simple Sequence Repeats) التتابع البيني البسيط المتكرر

هي تقنية بسيطة تم تطويرها حديثا مشابهة لتقنية (RAPD) في البساطة العشوائية لا تحتاج إلى معلومات مسبقة للتتابع الجينوم الذي سوف تتم دراسته، مناطق التتابع البيني البسيط هي مناطق قصيرة الطول تتراوح أحيانا من 10 الى 20 قاعدة مزدوجة و تتباين بشدة بين الأفراد الكائنات المختلفة و العشائر و الأنواع المختلفة، وقد تتكون من تكرار قاعدة واحدة أو إثنين أو ثلاثة مثل (A أو AG أو CGA) و التي قد تكرر من أربع الى عشر مرات، و هذه التقنية غالبا ما تستهدف مناطق التكرارات ثنائية و ثلاثية القواعد لأنها تميز الجينومات النووية، أما التكرارات أحادية القواعد توجد في جينومات الصانعة الخضراء (Sun *et al.*, 2005).

• تقنية (Arbitrary Primed PCR)

تعمل هذه التقنية على تضاعف الـADN عشوائيا باستخدام بادئات مشعة بالنظائر، و يتم الكشف عن النواتج المتضاعفة باستخدام هلام متعدد الأكريلاميد واستخدمت هذه التقنية في دراسة العلاقة الوراثية بين الأنواع النباتية،

و هي تختلف عن التقنيات السابقة في ظروف التفاعل وطريقة فصل النواتج المتضاعفة والتي تتم باستخدام هلام متعدد الأكريلاميد و طريقة الكشف المعتمدة على صبغة نترات الفضة الحساسة للكشف عن تركيز الـADN الذي يصل إلى البيكوغرام، حيث 1 جرام يساوي 10^{12} بيكوغرام (Semagn *et al.*, 2006).

ب- المؤشرات التي تستخدم فيها بادئات شبه عشوائية:

وتشمل:

• تقنية تباين أطوال قطع ADN المتضاعفة (Amplified Fragment Length Polymorphism)

وتختصر بـ AFLP و هي تقنية تعتمد على فكرة دمج مزايا نوعين من المؤشرات الجزيئية وهما (RFLP) و (RAPD)، مما يتيح الحصول على أكبر عدد من التباينات الشكلية والذي هو ناتج بالأساس من عملية قطع الحمض النووي إلى قطع متعددة الأطوال والأشكال وذلك بواسطة إنزيمات التحديد بناءً على فكرة واسمة (RFLP) إضافة إلى إمكانية الحصول على نفس النتائج عند تكرار نفس التجربة مما يمنح هذه التقنية صفة الثبات وهي من المميزات المهمة في دراسة التحليل الوراثي للكائنات الحية، كما أن فكرة تقنية (RAPD) تقوم بعملية تضخيم هذه القطع المتباينة في وقت قصير وبكميات كبيرة عن طريق تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) مما يمنح هذه التقنية السرعة والدقة، تنتج هذه التقنية قطعاً من الـADN متضاعفة بواسطة بادئات خاصة بالهضم التحديدي (Digestion restrictive) لجينوم الكائن المراد دراسته، و بالإعتماد على اختلاف ترتيب النيوكليوتيدات تعطي هذه التقنية البصمة الوراثية لأي كائن حي ومن أي مصدر دونما حاجة مسبقة لمعرفة لتتابعات الحمض النووي، و قراءة البيانات بهذه الطريقة تعتمد على مبدأ وجود أو عدم وجود مواقع الجينات بدلاً من تحديد موقعها أو طولها، حيث تعتمد الطريقة على هضم الحمض النووي بإنزيمات التحديد وربط ملائمت (Adaptors) على قطع الـADN ثم مضاعفة تلك القطع و يمكن تضخيم أكثر من 100 قطعة لكل توليفة بادئات مستخدمة في الإختبار، وبذلك يتم الحصول على معلومات واسعة جداً بحسب تعدد البادئات المستخدمة، وتمثل كل قطعة تم تشخيصها بهذه الطريقة موقعاً جينياً مميزاً عن غيره، مما يمكن واسمة (AFLP) من إنتاج

أكبر عدد من التعدد الشكلي (Polymorphism) ، من عيوب تقنية (AFLP) أنها توفر كمية كبيرة جداً من المعلومات والتي يصعب تفسيرها وقد تحتاج إلى برامج لتحليلها، و بمقارنتها مع تقنية (RAPD) فإنها تحتاج إلى كمية أكبر من الـADN (Saunders *et al.*, 2001).

ج- المؤشرات التي تستخدم فيها بادئات متخصصة

و تستهدف مواقع محددة متوزعة داخل الجين و تشمل :

● **تقنية التتابعات القصيرة المتكررة (Simple Sequence Repeats) SSR**

تعتبر مؤشرات المقاطع البسيطة المتكررة (SSR) من المؤشرات الجزيئية الهامة جدا و الواسعة الانتشار حاليا، تتكون هذه المؤشرات من مقاطع صغيرة متكررة تسمى وحدات متكررة و تتواجد بكثرة في جينات حقيقيات النوى حيث قدرت من 10^4 إلى 10^5 موقع تتوزع بصورة مبعثرة على جميع الصبغيات، و تسمح تقنية الـSSR بتحليل أعداد كبيرة من النباتات و عدد كبير من المواقع الوراثية بنفس الوقت، يستخدم في تقنية الـSSR بادئات خاصة يتألف كل واحد منها من شقين الأول يدعى (Forward) حيث يلتحم مع المنطقة التي تقع قبل الـSSR ، و الثاني يدعى (Reverse) و يلتحم مع المنطقة التي تقع بعد الـSSR (Zalapa *et al.*, 2012)

4-1-2-المؤشرات التي تستهدف موقع محدد معروف التسلسل

إن تطبيق هذا النوع يحتاج إلى معرفة تسلسل موقع الـADN الهدف، الذي ليس بالضرورة أن يكون في النواة بل قد يكون في الميتوكوندري أو الصانعات الخضراء في الخلايا النباتية، و من الأمثلة على هذا النوع من

المؤشرات: مؤشرات Alpha–Amylase Gene Analysis و مؤشرات Ribosomal Gene

Analysis (Jonah *et al.*, 2011).

2-4- تفاعل RT PCR

RT PCR هو اختصار لـ (Real Time PCR) و يقوم هذا النوع على نفس المبدأ السابق ولكن الاختلاف هو أن جهاز الدوران الحراري يكون مرتبط بكمبيوتر لتحديد الوقت الحقيقي لبدء التفاعل ومن ثم الكمية الحقيقية لعدد نسخ الحمض النووي الـ ADN و يعتمد ذلك على وجود أسس أزوتية حرة مشعة لتحديد ذلك، مما يسهل على الباحثين الوقت لتحديد وجود الجين المطلوب أم لا وكمية الجين بدون الوصول إلى نهاية الدورات الحرارية المحددة، و تعطي طريقة RT PCR نتائج رقمية بينما الـ PCR العادي يعطي نتائج كمية تقاس على قوة البادئات التي تظهر على الهلام نتيجة الرحلان الكهربائي (Poitras et Houde, 2002).

5- تطبيقات تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) في الكشف عن الجينات المقاومة للملوحة في النبات

تطبق تقنية الـ PCR على مستوى النبات من أجل عمل البصمة الوراثية للأصناف النباتية، تشخيص الأمراض الوراثية، دراسة العلاقات التطورية، تحديد المورثات التي تتحكم في الصفات الكمية مثل الطول والنضج و مقاومة الأمراض و الإجهادات البيئية المختلفة مثل الإجهاد الحراري و المائي و الملحي (Levin, 2008). أظهرت النتائج التي تحصل عليها (Niranjan et al., 2006) عن تفاعلات (AFLP) لنبات إسبارتينا (*Spartina alterniflora*) النامي في وسط ملحي عن جود تتابعات لخمسة بادئات لمواقع جينية تتصف بأنها جينات متحملة للملوحة.

بين (Eleuch et al., 2008) عند تقييم 12 صنفا من نبات الشعير تحت الإجهاد الملحي باستخدام ثلاث بادئات من تقنية (SSR) أن سبعة أصناف متحملة للملوحة و خمسة أصناف كانت حساسة للملوحة.

حسب (Turan et al., 2012) يكمن دور تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل في الكشف عن جينات مقاومة الملوحة في النباتات في استنباط محاصيل متحملة للملوحة تفيد في برامج التربية و إنتاج سلالات مقاومة للملوحة، كما أن التهجين بين التراكيب المختلفة المتحملة للملوحة يؤدي إلى تجميع جينات تحمل الملوحة في تركيب واحد وهذا سيزيد من الجهد الجيني للمركب الناتج عن التهجين.

سمحت تحليلات Khan *et al.*, (2013) على ADN خمسة أصناف من فول الصويا النامية في أوساط مختلفة من الملوحة بتقنية (RAPD) إلى تصنيفها إلى مجموعتين، صنفين مقاومين للملوحة، و ثلاثة أصناف حساسة للملوحة.

لاحظ Babgohari *et al.*, (2013) عند تطبيقه لتقنية (RT-PCR) على أصناف مختلفة من القمح البري و القمح المنزرع النامية في وسط ملحي ظهور حزم ADN الخاصة بجين 5 HKT1; (جين يقوم باستبعاد شوارد Na^+ ونقلها) في الأصناف المقاومة للملوحة و غيابها في الأصناف الحساسة.

استعمل باسم وآخرون، (2015) عشرة بادئات متخصصة في الكشف عن جينات مقاومة الملوحة من تقنية (ISSR) على ثلاثة أصناف من نبات البرغل (*Atriplex*) معرضة للإجهاد الملحي، حيث كشفت عن وجود أليات مرتبطة بمقاومة الملوحة في المادة الوراثية لصنفين و غيابها في صنف واحد.

البوتاسيوم ودوره في تخفيف الإجهاد الملحي في النبات

1- البوتاسيوم في القشرة الأرضية

يعد عنصر البوتاسيوم من العناصر المعدنية السبعة الأكثر وفرة في القشرة الأرضية، إذ يوجد في مناطق واسعة من سطح القشرة الأرضية ولكنه لا يوجد بصورة أيون البوتاسيوم (K^+) في الطبيعة وإنما يوجد متحد مع أيونات أخرى، حيث يمثل نسبة 2.6% من مكونات القشرة، إذ أن القشرة الأرضية غنية بالمعادن الحاملة للبوتاسيوم كمعدن الفلدسبار البوتاسي الذي يشكل نسبة 16% من مكونات القشرة الأرضية ومعدن البايوتايت الذي يمثل نسبة 3.8% ومعدن المسكوفاييت 1.4%، ومن أكثر الدول التي يتركز فيها خامات البوتاسيوم هي روسيا وألمانيا وهولندا وفرنسا والولايات المتحدة الأمريكية وشيلي وكندا والأردن والجزائر والمغرب وفلسطين (خلدون وآخرون، 2009).

2- البوتاسيوم في التربة

تختلف التربة في محتواها من البوتاسيوم تبعاً لنوع وكمية المعادن السائدة فيها إذ يقدر محتوى التربة من البوتاسيوم الكلي بحوالي 15000 مغ/كغ، حيث أن أصل البوتاسيوم في التربة يكمن في تواجده في المعادن الحاملة له التي تحرر البوتاسيوم خلال عمليات التجوية الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية التي تتعرض لها (خلدون وآخرون، 2009).

يتواجد البوتاسيوم بصيغ وصور وأشكال متعددة في التربة، فمن ناحية درجة تيسيره للنبات فقد يتواجد البوتاسيوم في ثلاثة صور هي:

1-2- البوتاسيوم الميسر

يشكل نسبة 0.1 – 2% من البوتاسيوم الكلي في التربة، وهو البوتاسيوم الذي يكون جاهزاً للامتصاص من قبل النبات ويشمل البوتاسيوم الموجود في محلول التربة الذي يسمى بالبوتاسيوم الذائب بالإضافة إلى

البوتاسيوم المتبادل الموجود على أسطح دقائق الطين والدقائق العضوية وهذه الصيغة هي الأكثر أهمية (Bronick et Lal, 2005).

2-2- البوتاسيوم بطيء التيسير

و يشكل نسبة 1-10% من البوتاسيوم الكلي، ويكون البوتاسيوم في هذه الصيغة ممسوكا بين طبقات معادن الطين مثل الألايت و البايوتايت الذين يمثلان مصدرا رئيسيا لهذه الصيغة وهو اقل جاهزية من الصيغة الأولى وتتطلب جاهزيته مدة طويلة (Bronick et Lal, 2005).

2-3- البوتاسيوم الغير الميسر

البوتاسيوم في هذه الصيغة يتواجد ضمن التركيب المعدني لمعادن التربة الأولية مثل معدن المايكا و الفلدسبار و يكون مرتبطا بقوة بدقائق الطين ويحتاج إلى مدة طويلة لكي يتحول إلى الصيغة الجاهزة من خلال عمليات التجوية والتي تتحدد بدرجة الحرارة و المحتوى الرطوبي ونوع المعدن، و يشكل من 90-98% من البوتاسيوم الكلي (Bronick et Lal, 2005).

3- أثر البوتاسيوم على نمو النبات

يعد عنصر البوتاسيوم من المغذيات الكبرى التي يحتاجها النبات الذي يقوم بدور مهم في نموه واكمال دورة حياته، إذ تحتاجه كافة النباتات على الرغم من عدم دخوله في أي مركب عضوي حيث يوجد بشكل أيون حر (K^+) داخل الأنسجة النباتية، وأن كمية البوتاسيوم التي يحتاجها النبات تختلف حسب النوع و الصنف ومرحلة النمو و نوعية الحبوب أو الثمار المنتجة (Cakmak, 2005).

و حسب ما أشار اليه Thompson et Zwieniecki, (2005) فإن للبوتاسيوم وظائف حيوية في النبات أهمها:

- يعد البوتاسيوم الأساس في عملية انقسام الخلايا كما يشجع نمو الأنسجة المرستيمية وبالتالي تشجيع نمو جذور النباتات ويزيد من حجم المجموع الخضري والحبوب والبذور ويحسن نوعية الثمار، لذا

يتواجد البوتاسيوم بكثرة في الخلايا حديثة النمو والجذور والأوراق والبراعم وبكميات قليلة في

الأجزاء المسنة.

- يساعد على سحب الماء إلى داخل خلايا الجذور من خلال رفع الضغط الأسموزي لها، وكذلك التقليل من معدل فقد بعملية النتح من خلال سيطرته على عملية غلق وفتح الثغور في الأوراق وبالتالي زيادة كفاءة استخدام المياه.
- يقوم بدور مهم في تثخين الجدران و بالتالي زيادة تحمل النباتات للإجهادات المختلفة منها الحيوية مثل التعرض للحشرات والإصابة بالأمراض و الإجهادات غير الحيوية مثل الإجهادات البيئية من ملوحة وجفاف و حرارة.
- البوتاسيوم له دور فعال في العمليات الفيزيولوجية الرئيسية كتمثيل ونقل البروتين وذلك من خلال دوره في إنتاج ATP كما يساعد في امتصاص وتمثيل النتروجين و يساهم في تحويل السكريات إلى سليلوز ونشويات كما يزيد من محتوى النبات من الدهون.
- للبوتاسيوم أهمية في زيادة كفاءة عملية التركيب الضوئي، و هذا لأهميته في بناء مركب الطاقة ATP ونقل نواتج التركيب الضوئي من أماكن تصنيعها إلى حيث يحتاجها النبات.
- يقوم البوتاسيوم بتنشيط أكثر من 70 إنزيما وخاصة الإنزيمات الداخلة في تصنيع البروتينات وإنزيمات الأكسدة والاختزال وإنزيمات نقل الطاقة وإنزيمات نزع الهيدروجين والإنزيمات التركيبية.
- يعمل البوتاسيوم على تنظيم عملية فتح وغلق الثغور وذلك من خلال وجوده بصورة أيون حر في الخلايا الحارسة إذ أن هذه العملية ترتبط بتراكم السكريات في الخلايا الحارسة وبالتالي سوف يتدفق الماء إليها مما يؤدي إلى فتح الثغور و بالعكس عندما يقل تراكم السكريات سوف ينتج عنها زيادة في تركيز حامض الأبسيسيك وبالتالي سوف يخرج الماء وتغلق الثغور.

- يعمل البوتاسيوم كحزام ناقل للمواد المعدنية إذ يساعد بنقل المغذيات من الجذور إلى الأجزاء العليا للنبات كالأوراق أو الحبوب أو الثمار بخاصة النترات كما يساعد بنقل المواد المصنعة في الأوراق بعملية التركيب الضوئي و تخزينها في البذور والجذور.

4- امتصاص البوتاسيوم تحت ظروف الإجهاد الملحي

يتنافس أيون (Na^+) مع أيون (K^+) على الامتصاص في الخلية الجذرية، لأن كلا الأيونين ينتقلان عبر غشاء البلازما بواسطة عدة أنظمة نقل متطابقة (قنوات كاتيون غير انتقائية من نوع NSCC وناقلات من نوع HKT) ، حيث تتفاقم هذه الظاهرة في حالة الإجهاد الملحي و تشكل شوارد (Na^+) تأثيرات ضارة على سطح الخلية و بالتحديد على الاستقطاب الكهربائي للغشاء البلازمي، مما يؤدي إلى نزع الاستقطاب وهذا بدوره يؤدي إلى زيادة كبيرة في تسرب البوتاسيوم خارج الخلية من خلال قنوات البوتاسيوم التي يتم تنشيطها عن طريق إزالة الاستقطاب (ما يسمى بقنوات KOR)، وبالتالي فإن زيادة الصوديوم في العصارة الخلوية ستثبط نشاط العديد من التفاعلات الإنزيمية التي تؤدي إلى خلل في الوظائف الخلوية (Shabala et Cuin, 2008).

5- دور الأسمدة البوتاسية في تخفيف الإجهاد الملحي في النبات

توصل إياد وآخرون. (2007) إلى أن تسميد نبات البازلاء بسلفات البوتاسيوم (K_2SO_4) قلل من تأثير الإجهاد الملحي و هذا من خلال خفض كمية البرولين في الأوراق و تقليل نسبة الصوديوم إلى البوتاسيوم و زيادة كل من تركيز البوتاسيوم في الأوراق و الوزن الجاف للمجموع الخضري.

بين Yanhai *et al.*, (2008) أن إضافة نترات البوتاسيوم (KNO_3) أدى إلى تخفيف أعراض الإجهاد الملحي في نبات القمح من خلال تحسين نمو الفروع و الجذور وتعزيز نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة وزيادة نسبة K^+/Na^+ .

بين Hossain *et al.*, (2010) أن ثلاثة أصناف من نبات الأرز المعالج بسماد كلوريد البوتاسيوم (KCl) استطاعت أن ترفع من الجهد الأسموزي داخل الفجوات ومن ثم تحمل الملوحة من خلال زيادة وزن و عدد الحبات الأرز.

وضحت Fatma *et al.*, (2011) أن إضافة سماد خلات البوتاسيوم ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{K}$) في الظروف الملحية حسن من الصفات المظهرية من طول الساق و عدد الأفرع و الوزن الغض والجاف لها ، و كذا زيادة تركيز البوتاسيوم في الأوراق و الجذور لصنفين من نبات الفول.

أشار Wang *et al.*, (2013) إلى أن مقاومة النبات للملوحة ترتبط بسهولة امتصاص النبات لعنصر البوتاسيوم دون تراكم كبير لعنصر الصوديوم، حيث في الأصناف المقاومة للملوحة تكون نسبة البوتاسيوم إلى الصوديوم K^+ / Na^+ منخفضة تحت مدى واسع من الظروف الملحية ، و أن زيادة الإمداد بعنصر البوتاسيوم يقلل امتصاص الصوديوم.

لاحظ Kausar *et al.*, (2016) أن التسميد بسلفات البوتاسيوم (K_2SO_4) بالمستوى 200 ppm كان له تأثيرا إيجابيا في صفات النمو والإنتاجية و في نسبة البروتين عند تعرض صنفين من نبات القمح للإجهاد الملحي بمستوى 50، 100، 150 ملي مول من NaCl.

توصل كريم و محمد، (2016) إلى أن التسميد بكبريتات البوتاسيوم تحت ظروف الشد الملحي أثر إيجابيا في نبات الذرة، و هذا بزيادة ارتفاع النبات و المساحة الورقية و الوزن الجاف للنبات و كذا زيادة تركيز البوتاسيوم في الأوراق.

لاحظ مؤيد و آخرون، (2018) أن تسميد صنفين من نبات الطماطم النامي في مستويات مختلفة من الملوحة عن طريق الرش بسيليكات البوتاسيوم (K_2SiO_3) زاد في عدد و وزن ثمار الطماطم.

A graphic of a scroll with a black outline and a grey shadow. The scroll is unrolled, showing the text. The text is in a bold, black, sans-serif Arabic font. The top corners of the scroll are rolled up, and the left edge has a vertical strip representing the binding.

مواد و طرق
البحث

مواد و طرق البحث

I. الهدف من الدراسة

أجريت هذه الدراسة بهدف معرفة تأثير إضافة البوتاسيوم على صورة خلات البوتاسيوم ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{K}$) في تخفيف تأثير ملوحة ماء الري على الصفات المورفولوجية و الفيزيولوجية و الجزيئية لصنفين من نبات الفول (Histal, Malti) خلال مرحلتين من نمو النبات: مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية، و مرحلة النمو الثمري.

II. تسير و متابعة التجربة

1- تصميم التجربة

صممت تجربة عاملية بتصميم القطاعات المنشقة (Split-plot) تضمنت صنفين من نبات الفول (*Vicia faba L.*) الصنف Malti محلي الأصل و الصنف Histal اسباني الأصل (الجدول 01) حيث عومل كل صنف بثلاث معاملات من البوتاسيوم (A_0, A_1, A_2) على صورة خلات البوتاسيوم ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{K}$) تحت أربعة مستويات من الملوحة (S_0, S_1, S_2, S_3) على صورة (NaCl).

الجدول (01): صفات صنف الفول Histal, Malti

الأصناف		
Histal	Malti	الخصائص
اسبانيا	الجزائر	البلد الأصلي
عادي	عادي	الفئة
98 %	95 %	نسبة النقاوة
85 %	90 %	نسبة الانبات
الساق طويلة، قوية و سميكة، ذات أوراق كبيرة، القرون طويلة جدا من 25-30 سم و عرض 3 سم تحتوي من 7-8 بذور	الساق متوسطة، قوية و سميكة، ذات أوراق كبيرة، القرون متوسطة من 15-25 سم و عرض 3 سم تحتوي من 5-7 بذور	الوصف
2015	2016	تاريخ الجني

1-1- المستويات

S_0 : تركيز 0 ميلي مول من NaCl

S_1 : تركيز 25 ميلي مول من NaCl

S_2 : تركيز 50 ميلي مول من NaCl

S_3 : تركيز 150 ميلي مول من NaCl

2-1- المعاملات

A_0 : تركيز 0 ميلي مول من CH_3CO_2K

A_1 : تركيز 25 ميلي مول من CH_3CO_2K

A_2 : تركيز 50 ميلي مول من CH_3CO_2K

3-1- المكررات

احتوت التجربة التي برمجت في هذه الدراسة على خمسة مكررات أي أن كل معاملة تحت المستوى الواحد كررت خمسة مرات لكلا الصنفين و بالتالي فقد تضمنت التجربة 120 وحدة تجريبية لكل مرحلة (مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية، و مرحلة النمو الثمري).

2صنف × 3 معاملات × 4 مستويات × 5 مكررات = 120 وحدة تجريبية

الجدول (02): توزيع معاملات البوتاسيوم و مستويات الملوحة

مستويات الملوحة				معاملات البوتاسيوم
S_3	S_2	S_1	S_0	
$R_1S_3A_0$	$R_1S_2A_0$	$R_1S_1A_0$	$R_1S_0A_0$	A_0
$R_2S_3A_0$	$R_2S_2A_0$	$R_2S_1A_0$	$R_2S_0A_0$	
$R_3S_3A_0$	$R_3S_2A_0$	$R_3S_1A_0$	$R_3S_0A_0$	
$R_4S_3A_0$	$R_4S_2A_0$	$R_4S_1A_0$	$R_4S_0A_0$	

$R_5S_3A_0$	$R_5S_2A_0$	$R_5S_1A_0$	$R_5S_0A_0$	
$R_1S_3A_1$	$R_1S_2A_1$	$R_1S_1A_1$	$R_1S_0A_1$	A_1
$R_2S_3A_1$	$R_2S_2A_1$	$R_2S_1A_1$	$R_2S_0A_1$	
$R_3S_3A_1$	$R_3S_2A_1$	$R_3S_1A_1$	$R_3S_0A_1$	
$R_4S_3A_1$	$R_4S_2A_1$	$R_4S_1A_1$	$R_4S_0A_1$	
$R_5S_3A_1$	$R_5S_2A_1$	$R_5S_1A_1$	$R_5S_0A_1$	
$R_1S_3A_2$	$R_1S_2A_2$	$R_1S_1A_2$	$R_1S_0A_2$	A_2
$R_2S_3A_2$	$R_2S_2A_2$	$R_2S_1A_2$	$R_2S_0A_2$	
$R_3S_3A_2$	$R_3S_2A_2$	$R_3S_1A_2$	$R_3S_0A_2$	
$R_4S_3A_2$	$R_4S_2A_2$	$R_4S_1A_2$	$R_4S_0A_2$	
$R_5S_3A_2$	$R_5S_2A_2$	$R_5S_1A_2$	$R_5S_0A_2$	

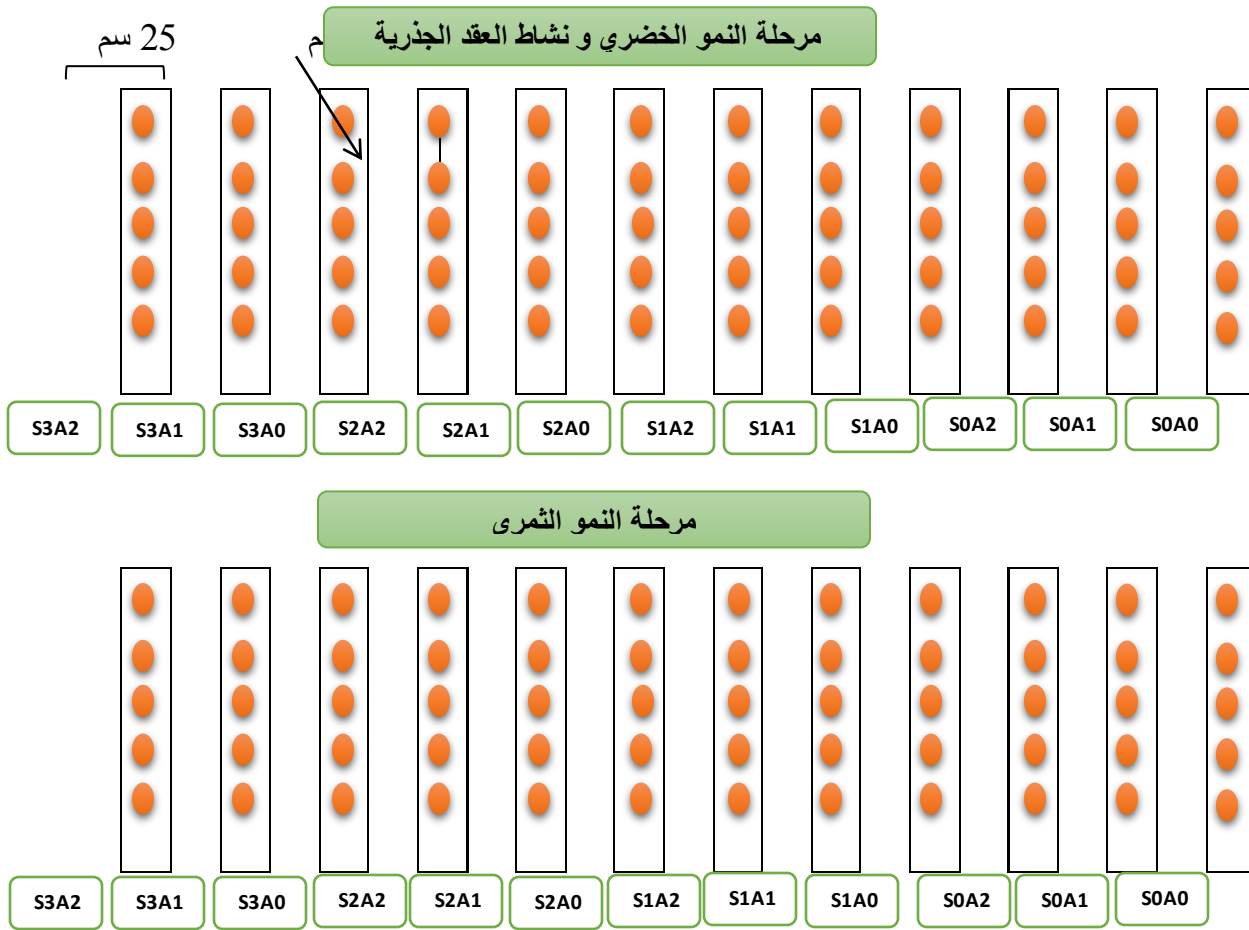
2- تنفيذ التجربة

2-1- تشرب البذور

تم تعقيم بذور صنف الفول المستعملة بماء الجافيل (Hypochloride Sodium) بتركيز 2 % لمدة 15 دقيقة ثم غسلت عدة مرات بالماء العادي و مرة بالماء المقطر، بعدها وضعت في حوطة زجاجية بها ماء مقطر كل صنف على حدى وتركت لمدة 24 ساعة تحت الظروف المخبرية.

2-2- عملية الزرع

تمت عملية الزرع خلال الموسم الفلاحي 2018 (من شهر ديسمبر إلى شهر أبريل) على مستوى بيت بلاستيكي في أرض زراعية بمنطقة سيدي عبد العزيز بولاية جيجل، درجة حرارته بين 20-25 م° نهارا وبين 18-20 م° ليلا، حيث وزعت البذور المتشربة على 48 خط كل 24 خط لصنف معين وكل خط وضعت فيه 5 بذور (12 خط لمرحلة النمو الخضري والعقد الجذرية و 12 خط لمرحلة النمو الثمري) حسب المخطط التالي:



الشكل (13): المخطط التجريبي لعملية زرع صنف الفول

3-2- عملية السقي

استغرقت التجربة مدة خمسة أشهر، شهرين و نصف لمرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية (بداية ظهور الازهار) و شهرين و نصف لمرحلة النمو الثمري (نضج الثمار)، حيث تمت عملية السقي بالماء العادي حتى ظهور الأوراق الحقيقية ، لتبدأ بعدها المعاملة بالتراكيز الملحية ($S_1 = 25$ ، $S_2 = 50$ ، $S_3 = 150$) ملي مول NaCl كل تركيز على حدى ثلاث مرات في الأسبوع بمقدار 25 مل لكل تركيز، يتخللها السقي بالماء العادي لتجنب تراكم الأملاح أمام الجذور في حين تمت المعاملة سقيا بخلات البوتاسيوم A_2 ($A_1 = 25 = 50$) ملي مول CH_3CO_2K مرة واحدة في الأسبوع بمقدار 25 مل الى حين بداية ظهور

الأزهار في مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية، و إلى حين نضج الثمار في مرحلة النمو الثمري.

III. الدراسة التحليلية المطبقة

1- تحليل التربة

1-1- التحاليل الفيزيائية

• تحديد قوام التربة

حدد قوام التربة باستخدام طريقة الهيدروميتر (المكثاف) حسب (Bouyoucos, 1962) وفقا للخطوات التالية:

- تم وزن 40 غ من التربة المجففة هوائياً و وضعت في ورق مخروطي سعته 250 مل، ثم أضيف لها 50 مل من الماء الأوكسجيني (H_2O_2) بتركيز 6 % و تركت لمدة 24 ساعة بهدف أكسدة المادة العضوية ومنع تشكل الرغوة لاحقاً، بعدها تم إضافة 50 مل من مادة مفرقة (سداسي ميثانوفوسفات الصوديوم $Na_6P_6O_{18}$ + كربونات الصوديوم Na_2CO_3) بهدف التفريق التام لحبيبات التربة (تم تحضيرها بجل 36 غ من $Na_6P_6O_{18}$ مع 8 غ من Na_2CO_3 و يكمل الحجم إلى واحد لتر من الماء المقطر)، ثم أضيف 120 مل من الماء المقطر إلى محتويات الدورق و رج على الرجاج الميكانيكي لمدة 15 - 20 دقيقة.

- بعدها تم نقل محتويات الدورق إلى مخبار ترسيب سعته 1 لتر و كمل الحجم بالماء المقطر إلى 1 لتر ورج المخبار بين راحتي اليد من الأعلى إلى الأسفل لمدة دقيقتين، بعد الإنتهاء من الرج تم ضبط زمن بدء ترسيب معلق التربة.

- أنزل المكثاف (الهيدروميتر) بشكل رأسي داخل معلق التربة بعد 40 ثانية من الرج، وأخذت القراءة الأولى و تمثل هذه القراءة عدد غرامات السلت والطين ثم سجلت درجة حرارة معلق التربة

مباشرة بعد القراءة، بعدها تم إنزال الهيدروميتر في معلق التربة بشكل رأسي مرة ثانية بدون تحريك، وأخذت القراءة الثانية بعد ساعتين من الزمن و التي تشير إلى حبيبات الطين و سجلت درجة الحرارة أيضا .

- و تم حساب النسب المئوية لكل من الرمل و الطين و السلت كما يلي:

$$\text{السلت + الطين} \% = \text{القراءة المصححة بعد 40 ثانية} / \text{وزن التربة الجاف} * 100$$

$$\text{الرمل} \% = 100 - (\text{السلت + الطين} \%)$$

$$\text{الطين} \% = \text{القراءة المصححة بعد ساعتين} / \text{وزن التربة الجاف} * 100$$

$$\text{السلت} \% = (\text{السلت + الطين} \% - \text{الطين} \%)$$

ملاحظة: درجة الحرارة المثالية (القياسية) لقراءة المكثاف هي 20 م° فعندما تكون درجة حرارة المعلق هي 20 م° لا نقوم بالتصحيح أما اذا كانت درجة الحرارة أعلى أو أقل من ذلك فيتم التصحيح على الشكل التالي:

$$\text{القراءة المصححة} = \text{قراءة الهيدروميتر المأخوذة} + \text{معامل التصحيح}$$

$$\text{معامل التصحيح} = (\text{درجة حرارة معلق التربة} - 20 \text{ م}^\circ) * 0.4$$

$$(\text{القراءة المصححة تحسب مرتين بعد 40 ثانية و بعد ساعتين})$$

- بعد الحصول على نسبة كل من الرمل والسلت والطين، تم إسقاطها على مثلث القوام الأمريكي (الملحق 1) لتحديد قوام التربة، و تم ذلك بوضع نسبة الطين على خط الطين وإنشاء خط يوازي خط الرمل، و وضع نسبة السلت على خط السلت وإنشاء خط يوازي خط الطين ثم وضعت نسبة الرمل على خط الرمل وإنشاء خط يوازي خط السلت، مكان تقاطع الخطوط الثلاثة يشير إلى قوام تربة الدراسة .

2-1- التحاليل الكيميائية

• تحضير عينة التربة المشبعة

حضرت عينة التربة المشبعة وفق الطريقة المشار إليها من طرف غروشة، (1995) و التي يمكن تلخيصها في ما يلي:

تم اخذ 250 غ من تربة جافة هوائية و منخولة بمنخل قطره 2 م ثم وضعت في جفنة بلاستيكية و أضيف الماء المقطر إليها تدريجيا مع خلط التربة و تقليبها بواسطة ملعقة (spatula) حتى نصل لعلامات التشبع (سطح العجينة لامع، تصبح قابلة للسيلان إذا مال الوعاء المحتوي علي العجينة) بعدها تم تغطية الجفنة بكيس بلاستيكي و ذلك لمنع تبخر الماء ثم تركت العجينة مدة 24 ساعة من الزمن للتأكد من الوصول إلى حالة الإشباع إذ يشترط عدم تجمع الماء فوق سطح العجينة، بعد ذلك نقلت العجينة المشبعة إلى قمع بخنر (Buchner Funnel) يوجد عليه ورق ترشيح و مركب على دورق ذي فتحة جانبية، بحيث تم الإستخلاص باستخدام التفريغ بواسطة مضخة ثم جمع مستخلص عينة التربة المشبعة في قارورة صغيرة لاستخدامه في التحاليل الكيميائية.

• تقدير pH مستخلص عينة التربة

قدرت قيمة pH في مستخلص عينة التربة باستعمال جهاز pH - meter من نوع (HANNA pH

211) حسب الطريقة المشار إليها من طرف Black , (1965)

• تقدير قيمة الناقلية الكهربائية لمستخلص عينة التربة (Ec)

حسب الطريقة Richards, (1954) قدرت قيمة الناقلية الكهربائية (Ec) في مستخلص عينة التربة

باستعمال جهاز EC-meter من نوع (WTW /720).

● تقدير الكربونات و البيكاربونات الذائبة في مستخلص عجينة التربة

تم تقدير الكربونات و البيكاربونات الذائبة في مستخلص عجينة التربة حسب الطريقة التي أشار إليها Richards, (1954) كما يلي:

تم أخذ من 10- 15 مل من مستخلص التربة و وضع بدورق مخروطي سعته 150مل، بعدها أضيف قطرتين من دليل الفينول فتالين (الملحق 2) و لوحظ عدم ظهور اللون الوردي دليلا لعدم وجود الكربونات، و تم التعرف على البيكاربونات بنفس المستخلص بإضافة قطرتين من دليل برتقالي الميثيل 0.1 % ثم المعايرة بحمض الكبريتيك N 0.01 (الملحق 2) حتى تحول اللون من الأصفر إلى الأحمر البرتقالي مما يدل على وجود البيكاربونات، و تم حساب نسبة البيكاربونات في مستخلص التربة حسب المعادلة التالية:

$$\text{HCO}^{-3} (\text{meq/L}) = T - 2Y \times N / Wt \times 100$$

T = حجم الحامض المستخدم في معايرة البيكاربونات

Y = حجم الحامض المستخدم في معايرة الكربونات

N = عيارية الحامض المستخدم (0.01)

Wt = حجم محلول التربة المأخوذ

● تقدير الكالسيوم و المغنسيوم الذائبين في مستخلص التربة

قدر الكالسيوم و المغنسيوم الذائبين في محلول التربة بطريقة Richards, (1954) حسب الخطوات التالية:

أ- تقدير الكالسيوم في التربة

- تم أخذ حجم 5 مل من مستخلص التربة و وضعه في دورق مخروطي سعة 100 مل ثم خفف

بإضافة 20 مل من ماء مقطر و أضيف له 5 قطرات من محلول هيدروكسيد الصوديوم N (NaOH)

2 (الملحق 2) و ذلك لرفع درجة حموضة الراشح إلى حوالي pH = 12 أي جعل الوسط قاعدي، حيث

يؤدي ذلك إلى ترسيب أيونات العناصر الثقيلة (النحاس، النترريك، الحديد، المنغنيز ، القصدير) ويمنع تفاعلها.

- أضيف لعينة التفاعل 50 ملغ من كاشف الميروكسيد (الملحق 2) فيتحول لون الوسط من الرائق الى اللون الوردي المحمر.

- رج المزيج و تمت معايرته مقابل محلول (EDTA) 0.01 N (الملحق 2) إلى أن تغير اللون من الوردي الى البنفسجي ثم سجل حجم (EDTA) المستخدم، و حسب تركيز الكالسيوم في محلول التربة حسب المعادلة التالية:

$$\text{Ca}^{+2} \text{ meq/L} = V (\text{EDTA}) \times N (\text{EDTA}) \times (1000/V \text{ liquid})$$

$$V (\text{EDTA}) = \text{حجم EDTA المستهلك بالمعايرة.}$$

$$N (\text{EDTA}) = \text{عيارية EDTA } 0.01 \text{ N}$$

$$V \text{ liquid} = \text{حجم محلول التربة المستخدم (5 مل)}$$

ب- تقدير أيوني المغنسيوم و الكالسيوم معا في التربة

لا يمكن تقدير المغنسيوم لوحده بسبب تفاعل مادة (EDTA) مع الكالسيوم أولاً، بعد التشبع بالكالسيوم تبدأ بالتفاعل مع المغنسيوم لذا نقدر تركيز الكالسيوم و المغنسيوم معا ثم نجد تركيز المغنسيوم بالطرح.

- تم أخذ 5 مل من محلول التربة و وضعه في دورق مخروطي سعة 100 مل ثم خفف بإضافة 20 مل من ماء مقطر و أضيف له 10 قطرات من محلول المنظم و المكون من هيدروكسيد الأمونيوم و كلوريد الأمونيوم (NH₄Cl -NH₄OH) (الملحق 2) و ذلك لغرض رفع قيمة pH الراشح الى 10 وهو الوسط الذي من الممكن أن تظهر فيه نقطة نهاية التفاعل عند استعمال كاشف (EBT) و رفع pH يساعد في ترسيب أيونات العناصر الثقيلة (Mn, Fe ,Al).

- أضيف لعينة التفاعل 4 قطرات من كاشف (EBT) (الملحق 2) فيتحول لون المحلول إلى البنفسجي.
- بعدها نقلت العينة إلى جهاز المعايرة لمعايرتها بمادة (EDTA) 0.01 N حتى يتحول لون المحلول من اللون البنفسجي إلى اللون الأزرق المخضر، ثم سجل حجم (EDTA) المستخدم.
- و يحسب تركيز الكالسيوم و المغنيسيوم معا في محلول التربة حسب المعادلة التالية:

$$\text{Ca}^{+2} + \text{Mg}^{+2} \text{ meq/L} = V (\text{EDTA}) \times N (\text{EDTA}) \times (1000/V \text{ liquid})$$

$$V (\text{EDTA}) = \text{حجم EDTA المستهلك بالمعايرة.}$$

$$N (\text{EDTA}) = \text{عيارية EDTA } 0.01 \text{ N}$$

$$V \text{ liquid} = \text{حجم محلول التربة المستخدم (5 مل)}$$

و لإيجاد تركيز المغنيسيوم نقوم بعملية الطرح حسب المعادلة التالية:

$$\text{Mg}^{+2} \text{ meq/L} = (\text{Ca}^{+2} + \text{Mg}^{+2}) - \text{Ca}^{+2}$$

• تقدير الصوديوم و البوتاسيوم القابلين للإستخلاص في التربة

تم تقدير كل من الصوديوم و البوتاسيوم القابلين للإستخلاص في التربة حسب طريقة Jackson, (1964) و فقا للخطوات التالية:

- تم أخذ 5 غ من عينة التربة و إضافة لها 50 مل من محلول خلات الأمونيوم $\text{pH} = 7$ 1 N ثم نقلت إلى جهاز الرج لمدة 15 د ، بعد ذلك تم ترشيح المحلول الناتج و اضيف له الماء المقطر الى ان وصل الحجم الى 100 مل، ليتم بعدها القراءة على جهاز (Flame photometer) من نوع (Jenway PFP7) لكل من K^+ و Na^+ في عينة الراشح كل على انفراد، و بالاعتماد على المنحنى القياسي لكل من K^+ و Na^+ تم حساب تركيز K^+ و Na^+ حسب المعادلة المشار إليها من طرف Jaroon and Jaroon, (2011)

$$\text{تركيز } \text{K}^+ \text{ (meq/L)} = 0.125/0.032 - Y$$

$$\text{تركيز } \text{Na}^+ (\text{meq/L}) - Y = 0.181 / 0.095$$

Flame photometer جهاز = قراءة جهاز Y

وحدة قراءة جهاز Flame photometer هي ppm، حيث 1 ppm = 1 meq/L

2- تحليل النبات

1-2- القياسات المورفولوجية

• حساب عدد العقد الجذرية و تقدير الوزن الجاف لها

تم حساب عدد العقد الجذرية في الجذور لكل وحدة تجريبية بعد نزع العينات وتنظيف الجذور جيدا بالماء العادي عدة مرات وتجفيفها بورق النشاف، و بواسطة ملقط تم نزع العقد الجذرية من الجذور ليتم تجفيفها في فرن درجة حرارته 85° م لمدة 48 ساعة و استمرت عملية التجفيف في الحاضنة إلى غاية ثبات الوزن، ثم أخذت الأوزان الجافة لكل وحدة تجريبية كل على حدى بواسطة ميزان حساس من نوع (ABS /220-4).

• حساب عدد و طول القرون

تم حساب عدد و طول قرون صنف الفول بعد نضج الثمار كل صنف و كل معاملة على حدى

• حساب المساحة الورقية (cm²)

تم اختيار خمسة أوراق من الجهة العلوية لكلا الصنفين (كل تركيز على حدى) لحساب المساحة الورقية في كلتا المرحلتين: في نهاية مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية و في نهاية مرحلة النضج الثمري بواسطة جهاز planimetre من نوع (Portable Area Meter/ LI-3000C).

2-2 - القياسات الفيزيولوجية

• تقدير محتوى الماء النسبي في العقد الجذرية و في الأوراق (%)

تم تقدير محتوى الماء النسبي للعقد الجذرية و للأوراق في مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد

الجزرية، و تقدير محتوى الماء النسبي للأوراق فقط في مرحلة النضج الثمري حسب طريقة Barrs, (1968) و الملخصة في ما يلي:

قدر الوزن الرطب (PF) للعقد الجزرية و للأوراق بعد نزعها مباشرة، ثم وضعت العينات في أنابيب اختبار بها ماء مقطر وتحت ظروف مخبرية من حرارة ورطوبة تركت لمدة 24 ساعة ليقدر الوزن الانتفاخي (PT) ، ثم جففت في مجفف درجة حرارته 85 م° لمدة 24 ساعة حتى ثبات الوزن و قدر الوزن الجاف (PS).

- تم حساب محتوى الماء النسبي حسب معادلة (Clarke and McCaig, 1982)

$$\text{TRE \%} = \frac{\text{PF} - \text{PS}}{\text{PT} - \text{PS}}$$

• حساب مؤشر تحمل الملوحة (STI) (%)

تم حساب مؤشر تحمل الملوحة في العقد الجزرية وفي المجموع الخضري لمرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجزرية، بينما مرحلة النمو الثمري تم حسابه في المجموع الخضري فقط و هذا حسب المعادلة التي ذكرت من طرف (Khayatnezhad *et al.*, 2010) :

$$\text{STI \%} = \frac{\text{الوزن الجاف للعينه المجهدة}}{\text{الوزن الجاف لعيته الشاهد}} * 100$$

• تقدير تركيز Leghémoglobin في العقد الجزرية (mg/ g MF)

حسب طريقة Wilson et Reisenauer, (1962) تم تقدير بروتين Leghémoglobin في العقد الجزرية، حيث تم سحق 100 ملغ من العقد الجزرية في 9 مل من محلول (Drabkin) (الملحق 3) بواسطة هاون، ثم نقلت العينات الى جهاز الطرد المركزي بمعدل 12000 دورة لمدة 15 دقيقة ثم رشحت العينات و قرأت الكثافة الضوئية بواسطة جهاز Spectrophotometer من نوع (JENWAY-6400) على طول موجة 540 نانومتر، و بالإعتماد على المنحنى القياسي للهيموغلوبين (Hb) تم حساب تركيز Leghemoglobin حسب المعادلة المشار إليها من طرف (Srivastava *et al.*, 2014)

تركيز Leghemoglobin (mg/ g MF) = القراءة - 0.0056/0.072

- تقدير تركيز البرولين في الجذور و العقد الجذرية والأوراق (ug/g MF)
- تم تقدير البرولين باتباع طريقة (Bates et al (1973) و الملخصة فيما يلي:
- قطعت 100 ملغ من المادة النباتية (تكون غضة) إلى قطع صغيرة و أضيف لكل عينة 2 مل من الميثانول 40 %.
- وضعت العينات في حمام مائي على درجة 85 م° لمدة ساعة مع مراعاة الغلق الجيد للأنابيب
- تم أخذ 1 مل من المستخلص و أضيف له: 2 مل من حمض الخل المركز، 25 ملغ من النينهيدرين، 1 مل من الخليط المشكل من (300 مل من حمض الخل المركز، 120 مل من الماء المقطر، 80 مل من حمض الارثوفوسفوريك).
- وضعت العينات من جديد في حمام مائي على درجة غليان 100 م° لمدة 30 دقيقة الى حين ظهور لون أحمر بني متفاوت.
- ومن أجل الفصل أضيف لكل عينة 5 مل من الطوليان (Toluene) تم الرج جيداً بواسطة الجهاز الزجاج (Vortex)، تركت العينات حتى الفصل للحصول على طبقتين وتكون العلوية ملونة، تم التخلص من الطبقة السفلية و أضيف للطبقة المتبقية ملعقة صغيرة من كبريتات الصوديوم اللامائية (Na₂SO₄).
- بعدها قرأت الكثافة الضوئية بواسطة جهاز (Spectrophotometer) من نوع (JENWAY- 6400) على طول موجة 528 نانو متر، و تم حساب تركيز البرولين حسب المعادلة المستخرجة من المنحنى القياسي للبرولين و المشار إليها من طرف بن جامع، (2008)

$$\text{تركيز البرولين (ug/g MF) = (القراءة - 0.0158) / 0.0205}$$

• تقدير تركيز السكريات الكلية في الجذور و العقد الجذرية و الأوراق (ug /g MF)

تم استخلاص السكريات الكلية باتباع طريقة الفينول حسب (Dubios *et al.*, 1956) والتي يمكن تلخيصها فيما يلي:

- تم أخذ 100 ملغ من المادة النباتية (تكون غضة) و أضيف لكل عينة 3 مل من الإيثانول 80 % و تركت العينات لمدة 48 ساعة في مكان مظلم .
- بعد تبخير الكحول وذلك بوضع العينات في حاضنة على 85 م° ، أضيف لكل عينة 20 مل من الماء المقطر.
- في أنابيب زجاجية نظيفة تم وضع 1 مل من المستخلص ثم أضيف له:
- 1 مل من الفينول 5 % و 5 مل من حمض الكبريت المركز (H_2SO_4) مع مراعاة نزول الحمض مباشرة في المستخلص و عدم ملامسة جدران الانبوب ليتم التفاعل جيدا .
- للحصول على لون متجانس تم رج العينات بواسطة الجهاز الرجاج (Vortex).
- بعد 10 دقائق وضعت العينات في حمام مائي درجة حرارته 30 م° لمدة 10-20 دقيقة.
- قرأت الكثافة الضوئية على جهاز Spectrophotometer من نوع (JENWAY-6400) على طول موجة 490 نانومتر، و تم حساب تركيز السكريات الذائبة حسب المعادلة المستخرجة من المنحنى القياسي للسكريات الذائبة و المشار إليها من طرف بن جامع، (2008)

تركيز السكريات الكلية (ug /g MF): (القراءة) - 0.0155/0.0096

• تقدير تركيز الكلوروفيل الكلي في الأوراق (mg/g)

تم تقدير الكلوروفيل الكلي في أوراق كلا الصنفين باتباع طريقة (Mackiney, 1941) حسب الخطوات التالية:

- حضر حجم كاف من المذيب المشكل من: 75 % اسيتون و 25 % من الإيثانول

- قطعت 100 ملغ من الأوراق النباتية الغضة الى قطع صغيرة وغمرت في 10مل من المذيب ثم حفظت في مكان دافئ ومظلم لمدة 24 ساعة.

- قرأت الكثافة الضوئية لمختلف العينات بواسطة جهاز Spectrophotometer من نوع (JENWAY- 6400) على طول موجة 645 و 663 نانومتر، و تم حساب تركيز الكلوروفيل الكلي حسب المعادلة المشار إليها من طرف (Rajalakshmi et Banu, (2015)

تركيز الكلوروفيل الكلي (mg/g): 20.2 (القراءة 645) + 8.02 (القراءة 663)

• **تقدير تركيز الفلافونويدات الكلية في الجذور (mg QE /g MF)**

أ- تحضير المستخلص النباتي

تم اعتماد طريقة الاستخلاص الكحولي حسب (Zheng et Wang, (2001 في تحضير المستخلصات النباتية حسب الخطوات التالية:

- جففت العينات محل الدراسة (الجذور) في أماكن بعيدة عن المؤثرات الخارجية (الغبار، الرطوبة أشعة الشمس) للحفاظ على المركبات التي تحتويها، وهذا لتفادي تأثير مختلف الأنزيمات الموجودة بالنبات، و بعد التجفيف سحقت العينات كل تركيز على حدى بواسطة هاون حتى الحصول على مسحوق ناعم.
- تم وزن 100 غ من المسحوق لكل عينة محل الدراسة كل على حدى و أضيف إليها 500 مل من الإيثانول تركيز 98 %، مزجت العينات جيدا وتركت لمدة 24 ساعة في درجة حرارة الغرفة 25°م بعدها رشح المستخلص باستعمال ورق ترشيح (Whatman N°1).

- تم تركيز الراشح بواسطة جهاز التبخير الدوراني (Rotavapeure) عند درجة حرارة 40° م و ترك الراشح عند درجة حرارة الغرفة للتخلص التام من المذيب حتى الحصول على مادة مركزة شديدة اللزوجة.

تم إضافة إلى كل 2 غ من هذه المادة اللزجة 50 مل ماء مقطر، و وضعت في قناني معتمدة محكمة الغلق و حفظت في الثلاجة تحت درجة حرارة 4 °م لحين الإستعمال.

ب- التقدير الكمي للفلافونويدات الكلية:

- تم التقدير الكمي للفلافونويدات الكلية حسب (Ordoñez *et al.*, (2006) بطريقة كلوريد الالمونيوم AlCl_3 ، حيث أخذ 0.5 مل من المستخلص السابق الذكر و أضيف له 0.5 مل من محلول AlCl_3 (ethanol) بتركيز 2 % و تركت العينات في الظلام لمدة ساعة إلى غاية ظهور اللون الأصفر ثم قرأت الإمتصاصية بواسطة جهاز Spectrophotometer من نوع (JENWAY-6400) عند طول موجة 420 نانومتر.

- استعمل (Quercetine) لتحديد منحنى العيارية و عبر عن النتائج بوحدة mg QE /g MF حسب المعادلة المشار إليها من طرف (Harrar, (2012)

$$\text{تركيز الفلافونويدات الكلية (mg QE /g MF)} = (\text{القراءة}) - 0.034/0.018$$

• تقدير البروتينات الكلية في البذور (ug /ml)

تم تقدير تركيز البروتينات الكلية في البذور حسب طريقة (Bradford, (1976) وفقا للخطوات التالية:

أ- الاستخلاص

تم طحن 1 غ من البذور الطازجة مع 10 مل من المحلول المنظم (tampon phosphate) (الملحق 3) ذو $\text{pH} = 7$ و مولارية $M = 0.06$ في هاون، حيث تم الاستخلاص في وسط بارد (وضع الهاون في وعاء فيه ثلج) ، ثم نقلت العينات إلى جهاز الطرد مركزي عند 5000 دورة لمدة 15 د تحت درجة حرارة 4 °م .

ب – التقدير الكمي للبروتينات الكلية

- تم أخذ 1 مل من محلول الاستخلاص لكل العينة و أضيف لها 2 مل من كاشف (Coomassie)

(الملحق 3) و بعد دقيقتين من تطور التفاعل قرأت الكثافة الضوئية بواسطة جهاز Spectrophotometer من نوع (JENWAY-6400) عند الطول الموجي 595 نانومتر، و بالإعتماد على المنحنى المعياري لتقدير البروتين باستعمال مصل البقر (Bovine Serum albumin BSA) تم حساب تركيز البروتينات الذائبة في البذور حسب المعادلة المشار إليها من طرف (Isaac *et al.*, (2012)

$$\text{تركيز البروتينات الكلية (ug/ml) = (القراءة) - 0.0043/0.004}$$

• تقدير تركيز الأحماض النووية (ARNm , ADN)

أ- الاستخلاص

تم استخلاص الأحماض النووية بالطريقة التي أشار إليها (Burton, (1956) و فقا للخطوات التالية:

- تم طحن العقد الجذرية و أوراق العينات كل على حدى بعد تجفيفها إلى مسحوق ناعم، ثم وزن كل منها 0.2 غ و وضعت في أنابيب اختبار و أضيف لها 2 ملل من حمض بيركلوريك (0.5N) ، بعدها وضعت العينات في حمام مائي على درجة حرارة 90 م° لمدة 20 دقيقة، بعد انتهاء هذه المرحلة نقلت العينات إلى جهاز الطرد المركزي بمعدل 2000 دورة لمدة 20 دقيقة إذ تم الحصول على محلول رائق، هذا المستخلص يحتوي على الـADN و الـARNm، بعدها رشحت العينات بواسطة ورق الترشيح كل تركيز على حدى.

ب- تقدير تركيز الـADN (umol/g MS)

تم أخذ 0.5 مل من مستخلص الراشح السابق الذكر و أضيف له 0.5 مل من حمض بيركلوريك (0.5N) في أنبوبة اختبار ليصبح المحلول 1 مل ثم اضيف الى كل أنبوبة اختبار 2 مل من كاشف (Diphenylamine) (الملحق 3) و أغلقت أنابيب الإختبار و وضعت في مكان مظلم لمدة 18 ساعة، بعدها قرأت العينات على جهاز Spectrophotometer من نوع (JENWAY-6400) على الطول الموجي 600 نانومتر.

و حسب تركيز DNA حسب المعادلة المشار إليها من طرف (Bennabi, 2017)

$$\text{تركيز ADN (umol/g MS) = القراءة - 0.015 / 0.005986}$$

ج- تقدير تركيز الـARNm (umol/g MS)

تم سحب 0.5 مل من راشح المستخلص السابق الذكر وأضيف له 1 مل ماء مقطر و 1.5 مل من كاشف (Orcinol) (الملحق 3) في أنابيب الإختبار كل تركيز على حدى، ثم وضعت العينات في حمام مائي لمدة 45 د، بعدها قرأت العينات على جهاز Spectrophotometer من نوع (JENWAY-6400) على طول موجة 670 نانومتر.

و حسب تركيز الـARNm حسب المعادلة المشار إليها من طرف (Bennabi, 2017)

$$\text{تركيز ARNm (umol/g MS) = القراءة - 0.0071 / 0.0061}$$

• تقدير تركيز الصوديوم و البوتاسيوم في الجذور و الأوراق (mg/kg)

تم تقدير تركيز الصوديوم و البوتاسيوم تبعا لطريقة الدوري واخرون، (1989) وفقا للخطوات التالية:

- أضيف إلى 100 ملغ من المادة النباتية الجافة (عقد جذرية، أوراق) كل تركيز على حدى 5 مل من مزيج الأحماض التالية : حمض الازوت (HNO_3)، حمض بركلوريك (HClO_4) حمض الكبريت المركز (H_2SO_4) بنسب 5 : 2 : 1 على التوالي، أجريت عملية الهضم في حمام مائي 80 م° لمدة 6 ساعات لضمان التخلص من أكاسيد النترات وتحول المادة الناتجة عن الهضم إلى اللون الأبيض، بعد الترشيح تم تخفيف العينات الى 100 مل بواسطة الماء ثنائي التقطير .

- تم تقدير كل من الصوديوم (Na^+) و البوتاسيوم (K^+) بواسطة جهاز طيف الامتصاص ذو اللهب

(Flame photometer) من نوع (Jenway PFP7)، و بالإعتماد على المنحنى القياسي لكل

من Na^+ و K^+ تم حساب تركيز Na^+ و K^+ حسب المعادلة المشار إليها من طرف Jaroon et Jaroon,

(2011)

$$0.125/0.032 - Y = (\text{mg/kg}) K^+$$

$$0.181/0.095 - Y = (\text{mg/kg}) Na^+$$

Flame photometer جهاز = Y

وحدة قراءة جهاز Flame photometer هي ppm، حيث 1 ppm = 1 mg/kg

• تقدير تركيز الأزوت الكلي في الجذور و الأوراق (%)

تم تقدير الأزوت الكلي حسب طريقة الصحاف، (1989) وفقا للخطوات التالية:

- بعد تجفيف العينات النباتية في فرن كهربائي درجة حرارته 65° م تم طحنها بواسطة هاون

- أخذ 0,2 غ من المادة المطحونة لهضمها باستخدام 5 مل من حمض الكبريت المركز (H₂SO₄) و 2 مل من الماء الأكسجيني (H₂O₂)، ثم خففت بإضافة 50 مل من الماء المقطر.

- نقلت العينات إلى جهاز (Microkjeldahl) من نوع (BUCHI / K-350) حيث أخذ 5 مل من العينة المهضومة وأضيف إليها 10 مل من هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) تركيز 40 % وذلك لغرض تقطير محتوى العينة من الأمونيا المتصاعدة و تحويلها إلى نترات بفعل الحرارة، حيث وضع وعاء زجاجي صغير سعته 50 مل يحتوي على 10 مل من حامض البوريك تركيز 20 % لاستقبال النترات و تحويلها إلى ثنائي بورات الأمونيوم، ثم أضيف قطرات من كاشف (Tashiro) صبغة أزرق المثل و أحمر المثل بنسبة (1:1) أثناء عملية التقطير.

- بعدها تمت معايرة ثنائي بورات الأمونيوم مقابل حجم معين من (HCl) تركيز 0.1 N، و حسبت

النسبة المئوية للنيتروجين وذلك بتطبيق العلاقة التي أشار إليها (Bremner et Mulraney, 1982)

$$\% N = \frac{V_1 \times N_1 \times V_2 \times 14 \times 100}{A \times B \times 1000}$$

V₁ = حجم حامض الـ HCl مل

$$N_1 = \text{عيارية حامض الـ HCl المستعمل } 0.1 \text{ N}$$

$$14 = \text{الوزن الذري للنيتروجين}$$

$$100 = \text{التحويل الى نسبة مئوية}$$

$$V_2 = \text{حجم العينة المهضومة المخففة } 50 \text{ مل}$$

$$A = \text{حجم العينة المهضومة المخففة الموضوعة في جهاز التقطير } 5 \text{ مل}$$

$$B = \text{وزن العينة النباتية الجافة } 0.2 \text{ غ}$$

$$1000 = \text{التحويل من الملغرام الى الغرام}$$

• **تقدير تركيز الحديد النشط (Fe^{+2}) في العقد الجذرية (mg/kg)**

تم تقدير تركيز الحديد النشط في العقد الجذرية حسب طريقة (Katyal et Sharma, 1980) و ذلك بواسطة الكاشف (1.10. orthophenantroline)، حيث حضرت عينات العقد الجذرية لجميع المعاملات تحت الدراسة لكلا الصنفين بغسلها جيدا بالماء العادي ثم بمحلول حامضي (HCl) 0.1 N وأخيرا بالماء المقطر مرتين، بعد التجفيف بالورق النشاف تم الاستخلاص بإضافة 10 مل من كاشف (1.10. orthophenantroline) (1.5 % و pH = 3) (الملحق 3) إلى 1 غ من العقد الجذرية الغضة و تركت العينات لمدة 16 ساعة تحت الظروف المخبرية بعد ظهور اللون البرتقالي تم ترشيح العينات بواسطة ورق الترشيح (Watman N°1)، قرأت الكثافة الضوئية بواسطة جهاز (Spectrophotometer) من نوع (JENWAY-6400) عند الطول الموجي 510 نانومتر، و بالإعتماد على المنحنى القياسي للحديد النشط (Fe^{+2}) تم حساب تركيز الحديد النشط في العقد الجذرية حسب المعادلة المشار إليها من طرف: Angelika, (2000):

$$\text{تركيز } \text{Fe}^{+2} \text{ (mg/kg) = القراءة - } 0.0139 / 0.1893$$

3-2- القياسات الجزيئية

أ- جمع العينات النباتية

جمعت العينات النباتية (الأوراق) في مرحلة النضج الثمري كل تركيز على حدى، ثم وضعت في أنابيب بها الأزوت السائل و حفظت في المبرد على درجة حرارة -20° م لحين الاستعمال.

ب-استخلاص الحمض النووي (DNA)

تمت عملية عزل الـDNA بطريقة (CTAB) اعتمادا على طريقة Fulton *et al.*, (1995) وفقا للخطوات التالية:

- سحقت أوراق العينات (كل تركيز على حدى) في جفنة خزفية بوجود الأزوت السائل إلى أن أصبحت على شكل مسحوق.

- تم ترقيم عدد من أنابيب (Eppendorf) حجم 1.5 مل المعقمة بحسب أرقام العينات بحيث تكون الأرقام في أعلى غطاء الأنبوبة (بواسطة قلم خطاط لا يمسح بسهولة) و وضع فيها 100 ملغ من مسحوق الأوراق لكل عينة.

- أضيف إلى كل أنبوبة (Eppendorf) الحاوية على مسحوق الأوراق (كل تركيز على حدى) 500 ul من محلول الاستخلاص (CTAB) (الملحق 4) و المسخن مسبقا على درجة 60° م لتحتيم الجدران الخلوية و تحرير المكونات الخلوية بما فيها الـADN ومن ثم وضعت الأنابيب في جهاز (Vortex) لمدة 10 د.

- حضنت الأنابيب لمدة ساعة بدرجة حرارة 60° م وخلال هذه المدة تم تحريك الأنابيب كل ربع ساعة، بعد الحضانة تم إضافة 500 ul من محلول chloroforme/alcool isoamylique البارد و المحضر بنسبة (24:1) مع تحريك كل أنبوبة يدويا لمدة 10 د.

- وضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي بسرعة 14000 دورة لمدة 10 دقائق تحت درجة حرارة 4 م°، حيث تم في هذه المرحلة فصل المزيج إلى ثلاث طبقات: الطبقة العليا الطبقة المائية التي تحتوي على الـ ADN و الطبقة الوسطى تحتوي على البروتينات والطبقة السفلى تحتوي الكلوروفورم.

- رفعت الطبقة المائية العليا و التي تمثل الراشح (Surnagent) بحرص شديد لتجنب تكسير شريط الـ ADN و نقل الراشح إلى أنبوبة جديدة بحجم 0.5 مل ثم أضيف 500 مايكرو لتر من كحول Isopropanol (المحفوظ في 4 م°) لكل عينة و مزجت جيدا بالتقليب.

- نقلت العينات إلى جهاز الطرد المركزي بسرعة 1400 دورة لمدة 10 دقائق تحت درجة حرارة 4 م°. بعدها تم سكب كحول (Isopropanol) بحرص حتى لا تسقط كرية الـ ADN و تبقى لوحدها عالقة بجدار الأنبوبة.

- غسلت كرية الـ ADN للتخلص من (Isopropanol) بإضافة 500 µL من الإيثانول بتركيز 70 % لكل أنبوبة، بعدها نقلت العينات إلى جهاز الرج بالدوران (Centrifuge/Vortex) لمدة 30 دقيقة حتى تتحرك كرية الـ ADN و تسبح في الكحول.

- نقلت العينات مرة أخرى إلى جهاز الطرد المركزي بسرعة 14000 دورة لمدة 5 دقائق تحت درجة حرارة 4 م°.

- تم سكب الإيثانول بحذر حتى لا تقع كرية الـ ADN، وعلى ورق منديل جفف ما تبقى من الإيثانول تحت درجة حرارة الغرفة.

- أضيف 100 ul من محلول (TE buffer 1X) (الملحق 4) لكل عينة و ذلك حتى تتوزع خيوط الـ ADN في وسط (TE buffer) (وسط لتعليق الـ ADN).

- بعدها أضيف لكل عينة 1 ul من انزيم (RNase) لكل 100 ul ، ثم حضنت كل العينات في حمام مائي لمدة 30 دقيقة و بدرجة حرارة 37 °م.

- حفظ الـADN المستخلص تحت درجة حرارة 4 °م ليلة كاملة، ثم بعدها نقلت العينات إلى جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 لمدة دقيقتين.

- حفظت العينات على شكل نموذج الـADN الأساس بدرجة حرارة 4 °م للإستعمال المباشر، أو بدرجة -20 °م عند الرغبة بحفظ العينات لوقت طويل.

ج- قياس تركيز الـADN وتقدير نقاوته

تم قياس تركيز الـADN بجهاز (Nanodrope) من نوع (Thermo scientific- Nano Drop) (8000) والذي يعتمد في عمله على قياس كمية الـADN الموجودة عن طريق امتصاصه للأشعة فوق البنفسجية بموجات طولها 260 و 280 نانوميتر، وأن النسبة بين قراءة الموجة 260 نانومتر / إلى قراءة 280 نانومتر تساعد في تقدير نقاوة الـADN و يجب ان تتراوح هذه النسبة بين 1.8-2.0 (الملحق 5).

د- تحضير تفاعلات الـPCR

تم تحضير تفاعلات الـPCR وفقا للخطوات التالية:

✓ تحضير البادئات

استخدم في تفاعل الـPCR أربعة بادئات لمواقع جينية تنتصف بأنها جينات مقاومة للملوحة من شركة (TIB MOLBIOL) الألمانية منها بادئين من تقنية (RAPD) بطول 10bp و بادئين من تقنية (ISSR) بطول 18bp، و حسب النشرة المرفقة من الشركة المجهزة و للحصول على المحلول الأصلي بتركيز 100 بيكومول تم أخذ 10 مايكرو لتر من كل بادئة كل على حدى و اضافة الماء ثنائي التقطير حتى حجم 100 مايكرو لتر ليصبح التركيز 100 pmol/ul و الجدول (03) يبين تسلسل البادئات:

الجدول (03): تسلسل النيوكليوتيدات للبادئات المستخدمة

تسلسل النيوكليوتيدات 3-5	اسم البادئ	نوع البادئ
5 - AAA GCT GCG G-3	C ₁₁	بادئات RAPD
5-TGC GTG CTT G-3	C ₁₄	
5- (AG) ₈ YC-3	INC ₁	بادئات ISSR
5-(GATA) ₄ GC -3	INC ₂	

✓ تحضير خليط التفاعل الرئيسي (Master mix)

تم تحضير خليط التفاعل الرئيسي (Master mix) لتقنية (RAPD) حسب طريقة Elsayed *et al.*, (2016) و لتقنية (ISSR) حسب طريقة Ehab *et al.*, (2015) مع بعض التعديلات، بحيث كان حجم التفاعل النهائي 20 مايكرو لتر حسب الجدول التالي:

الجدول (04): تراكيز مكونات خليط تفاعل (RAPD) و (ISSR)

حجم تفاعل (ISSR) (μL)	حجم تفاعل (RAPD) (μL)	مكونات (Master mix)
2 μL	2 μL	Buffer BD (10x)
1.6 μL	1.6 μL	MgCl ₂ (25mM)
0.4 μL	0.4 μL	dNTPs (20mM)
0.8 μL	0.8 μL	Amorce (100 pmol/ μL) (البادئ)
0.2 μL	0.8 μL	Taq polymerase (5 U/ μL)
4 μL	4 μL	Solution S (10x)
9 μL	8.4 μL	H ₂ O
2 μL	2 μL	DNA القالب
20 μL	20 μL	الحجم النهائي

✓ وضع العينات في جهاز الدوران الحراري (Thermocycleur)

- حضر خليط التفاعل النهائي بمزج مكونات خليط التفاعل الرئيسي (Master mix) مع 2 ul

من الـADN العينات (كل عينة على حدى) بأنبوبة من الأنابيب الصغيرة (Eppendorf) سعة 200 مايكرو لتر معقمة ليصبح الحجم النهائي 20 مايكرو لتر.

- مزجت العينات جيدا ثم وضعت في جهاز الطرد المركزي لعدة ثواني لجمع محتويات التفاعل في قعر الأنبوبة.

- نقلت الأنابيب إلى جهاز الدوران الحراري (Thermocycleur) من نوع C1000TM / BIORAD

لبدء التفاعل التضاعفي للـADN ، حيث في تفاعل (RAPD و ISSR) تم الفصل الأولي لسلاسل الـADN لمدة 5 د تحت درجة حرارة 95°م ، تبعتها 40 دورة لتفاعل (RAPD) و 35 دورة لتفاعل (ISSR) تضمنت كل منها الخطوات الموضحة في الجدول التالي:

الجدول (05): مراحل تفاعل تقنية (RAPD) و (ISSR)

تفاعل (ISSR) 35 دورة		تفاعل (RAPD) 40 دورة		مراحل تضاعف الـADN
المدة الزمنية	درجة الحرارة	المدة الزمنية	درجة الحرارة	
1 د	95°م	1 د	95°م	فصل سلاسل الـADN
1 د	45°م	1 د	30°م	التحام البادئ
1 د	72°م	1 د	72°م	الإستطالة

بعد هذه الدورات استكمل تضاعف الـADN باستطالة نهائية لمدة 10 دقائق تحت درجة حرارة 72°م لكلا التفاعلين (ISSR و RAPD)، و ليتم بعدها حفظ العينات بالتبريد تحت درجة حرارة 4°م.

✓ تحضير هلام الأغاروز (Agarose)

- حضر هلام الأغاروز بتركيز 1% و ذلك للكشف عن نواتج تفاعل الـPCR ، و للحصول على هذا التركيز تم إذابة 500 ملغ من الأغاروز في 50 سم³ من محلول (TBE) بقوة 1X (الملحق 4) و سخن مع التحريك المستمر لحين اكتمال الإذابة.

- بعدها تم تحضير لوح هلام الأغاروز باستخدام لوح بلاستيكي شفاف نو أبعاد ملائمة لحوض

الرحلان الكهربائي، ثم لف حواف اللوح بشريط لاصق و وضع المشط الخاص لتكوين الحفر في المكان المناسب له في اللوح.

- سكب هلام الأغاروز المحضر في اللوح البلاستيكي الذي يحتوي على المشط برفق لتجنب تكوين الفقاعات الهوائية و ترك الهلام في درجة حرارة المخبر إلى أن تصلب.

✓ الترحيل الكهربائي لنواتج تفاعل الـ PCR على هلام الأغاروز

- بعد تصلب هلام الأغاروز رفع المشط بهدوء، و تم غمر لوح هلام الأغاروز في محلول الترحيل (TBE 1X) الموجود في حوض الرحلان الكهربائي.

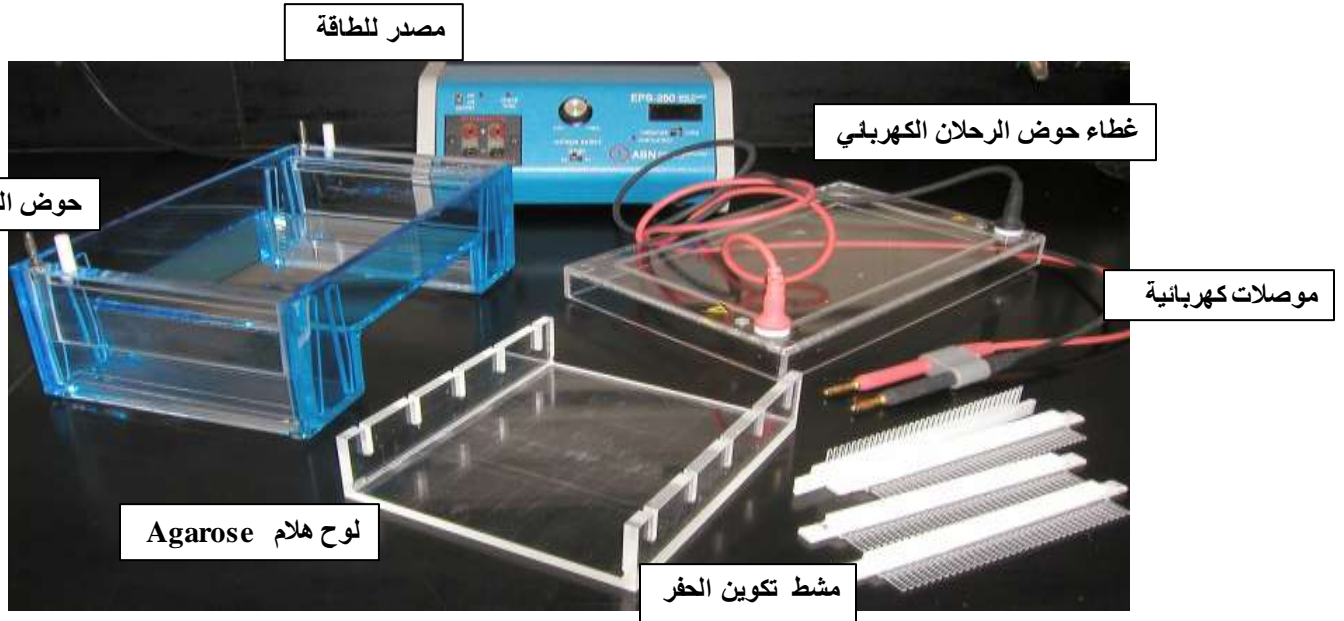
- بعدها تم خلط 5 مايكرو لتر من ناتج تفاعل الـ PCR كل تركيز على حدى مع 2 مايكرو لتر من محلول التحميل الذي يتكون من مادة (Bromophenol Blue)، و التي تعمل كمادة مساعدة في الحقن لتثقيل المادة الوراثية حتى لا تطفو فوق محلول الترحيل وكذلك لمتابعة حركة المادة الوراثية أثناء عملية الترحيل عن طريق اللون الأزرق للمحلول .

- حقنت العينات (عينات الخلط) في الحفر الموجودة في هلام الأغاروز (حفر أسنان المشط) كل عينة في حفرة باستخدام أداة الحقن الخاصة (Micropipette) ، كذلك تم وضع المؤشر الجزيئي (Marqueur de taille ADN) في إحدى الحفر للمقارنة و إيجاد الأحجام الجزيئية على أساسه.

- أغلق حوض الرحلان الكهربائي و تم توصيل أقطاب التيار الكهربائي و جهاز تحت جهد كهربائي قدره 85 فولط و تم الترحيل باتجاه القطب الموجب و بعد ساعة من الزمن وعند وصول الصبغة الزرقاء إلى ما قبل نهاية الهلام تم إيقاف الترحيل.

- بعد رفع اللوح من حوض الرحلان الكهربائي تم وضع الهلام في جهاز التصوير من نوع DocTM (Gel XR+ / BIORAD) و صورت حزم الـ ADN الظاهرة بوجود الأشعة فوق البنفسجية.

- تم تحديد حجم حزم الـ ADN الناتجة عن التضخيم باستخدام برنامج (Image Lab 6.0.1) و تم مقارنتها بالحجم المعروف لحزم المؤشر الجزيئي (Marqueur de taille ADN)، بعدها حولت المعطيات يدويا إلى جداول تبين وجود الحزمة من عدمها لكل عينة من العينات المدروسة بوضع إشارة + عند وجود الحزمة وإشارة - عند غيابها ، و تبعا لمعادلة (Grudman *et al.*, (1995) قدرت كفاءة كل بادئ حيث: كفاءة البادئ = (العدد الكلي لحزم البادئ / العدد الكلي لحزم كل البادئات × 100).



الشكل (14): مكونات جهاز الرحلان الكهربائي

3- الدراسة الإحصائية

على مستوى الدراسة المورفولوجية و الفيزيولوجية و لمعرفة أفضل متغير مثل الأفراد أحسن تمثيل في إظهار أثر الفعل النوعي للبتوتاسيوم والملوحة و التداخل بينهما على أوراق وجذور صنف الفول أثناء مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية و أثناء مرحلة النمو الثمري طبقت على نتائج المتغيرات دراسة إحصائية وصفية تمثلت في اتباع تحليل المركبات النموذجية (ACP)، تم من خلالها استنتاج الارتباطات الايجابية و السلبية بين مختلف المتغيرات قيد الدراسة، و اتباع تحليل العامل التمييزي

(AFD) (Analyse Factorielle Discriminante) لتحديد مدى تأثير التراكيز الملحية المطبقة و تأثير تراكيز خلات البوتاسيوم المفترضة و تحديد مدى استجابة صنفى الفول لها، كما طبقت على نتائج المتغيرات في كلا المرحلتين التي مثلت الأفراد أحسن تمثيل دراسة احصائية استدلالية (ANOVA) تحت تصميم المنشقة (Split-plot) لإظهار أثر الفعل الكمي للبوتاسيوم تحت جميع مستويات الملوحة وتحديد التداخل بينهما و استنتاج مختلف المجموعات المتباينة و المتشابهة تبعا لتقسيم (New man- Keuils) عند مستوى 5 % و دعمت هذه الدراسة بواسطة البرنامج الإحصائي (XL-Stat version 2014) .

تحليل النتائج

تحليل النتائج

I. تحليل التربة

تبين النتائج المتحصل عليها من تحليل التربة و المدونة في الجدول (06) أن التربة المستعملة في الدراسة هي تربة ذات قوام طفالي طيني رملي حسب المثلث الأمريكي لقوام التربة (الملحق 1)، و تربة خفيفة القلوية ذات $pH = 7.8$ حسب تصنيف (Hazelton et Murphy, 2007)، و هي في مجال حموضة التربة الذي تكون فيه العناصر الغذائية قابلة للإمتصاص و مناسبة لنشاط الأحياء الدقيقة (Thompson, 1957) كما أنها غير مالحة لأن قيمة الناقلية الكهربائية EC التي تعبر عن درجة ملوحة التربة قدرت بـ 0.35 dS/m و هي أقل من 4 dS/m حيث إن زادت عن هذا الحد تعتبر تربة مالحة حسب تصنيف FAO et UNESCO, (1973)، أما محتوى التربة من الأيونات فتبين النتائج أن أعلى محتوى سجل عند الكالسيوم بقيمة (2.6 meq/L) يليه البيكاربونات بقيمة (2.1 meq/L) ثم المغنيزيوم بقيمة (1.8 meq/L) و البوتاسيوم بقيمة (1.65 meq/L) ، في حين أقل محتوى سجل عند الصوديوم بقيمة 0.47 meq/L.

الجدول (06): الخصائص الفيزيائية و الكيميائية للتربة المستعملة

الخصائص الكيميائية						الخصائص الفيزيائية				
Na ⁺ meq/L	K ⁺ meq/L	Mg ⁺² meq/L	Ca ⁺² meq/L	HCO ₃ ⁻ meq/L	CO ₃ ⁻² meq/L	EC التربة dS/m	pH التربة	الرمل %	الطين %	السلت %
0.47	1.65	1.8	2.6	2.1	-	0.35	7.8	62.5	25	12.5
								قوام طفالي طيني رملي		

II. تحليل النبات

1- التحليل الوصفي

1-1- تحليل المركبات النموذجية (ACP)

إن الهدف من إجراء تحليل المركبات النموذجية (ACP) على المتغيرات التي قدرت على أفراد كلا الصنفين Malti, Histal هو تحديد المتغير الأكثر تعبيراً على إبراز أثر الفعل النوعي للملوحة والبوتاسيوم والتداخل بينهما و استنتاج الإرتباطات الإيجابية والسلبية بين مختلف المتغيرات تحت الدراسة في مرحلة

النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية، و في مرحلة النضج الثمري، و لإظهار ذلك تم تفسير النتائج ضمن ثلاث مستويات مختلفة:

• على مستوى مصفوفة معامل الارتباطات

• على مستوى حلقة الارتباطات

• على مستوى المنحنى البياني لتوزيع الأفراد

أ - مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية

• التحليل الوصفي للمجموع الجذري على مستوى مصفوفة معامل الارتباطات

بينت مصفوفة معامل الارتباطات المدونة في الجدول (07) أن أكبر ارتباط إيجابي سجل بين تركيز

البوتاسيوم في العقد الجذرية (K^+_N) و محتوى الماء النسبي في العقد الجذرية (TER_N) ($r = +0.9881$)

كما ظهر أكبر ارتباط سلبي بين تركيز الصوديوم في العقد الجذرية Na^+_N و تركيز البوتاسيوم في العقد

الجذرية K^+_N ($r = -0.9694$)

Variables	ND	PSN	TER _N	STI _N	PRO _N	PRO _R	SUCR _N	SUCR _R	LEG _N	FLAV _R	Na ⁺ _N	K ⁺ _N	K ⁺ /Na ⁺ _N	Fe ²⁺ _N	N _N	ARN _{mN}	ADN _N
ND	1																
PSN	0.9634	1															
TER _N	0.9018	0.9408	1														
STI _N	0.3521	0.3336	0.4359	1													
PRO _N	-0.6308	-0.6737	-0.8615	-0.5234	1												
PRO _R	-0.7110	-0.7597	-0.9090	-0.4670	0.9619	1											
SUCR _N	-0.5629	-0.6157	-0.8172	-0.4787	0.9759	0.9567	1										
SUCR _R	-0.6796	-0.7372	-0.8734	-0.4166	0.9007	0.9802	0.9263	1									
LEG _N	-0.9226	0.9203	0.8774	0.3778	-0.6663	-0.7901	-0.6266	-0.7930	1								
FLAV _R	0.9250	0.9403	0.8182	0.1748	-0.4883	-0.6354	-0.4459	-0.6489	0.9209	1							
Na ⁺ _N	-0.8909	-0.9329	-0.9646	-0.3521	0.7915	0.8953	0.7706	0.9003	-0.9240	-0.8829	1						
K ⁺ _N	0.9326	0.9636	0.9881	0.3579	-0.8029	-0.8740	-0.7611	-0.8502	0.8950	0.8693	-0.9694	1					
K ⁺ /Na ⁺ _N	0.9646	0.9733	0.9509	0.3554	-0.6988	-0.7556	-0.6324	-0.7148	0.8652	0.8757	-0.9089	0.9711	1				
Fe ²⁺ _N	0.9539	0.9810	0.9628	0.2992	-0.7305	-0.8188	-0.6838	-0.7980	0.9115	0.9232	-0.9571	0.9842	0.9733	1			
N _N	0.9182	0.9404	0.9839	0.4222	-0.8351	-0.8807	-0.7924	-0.8457	0.8702	0.8221	-0.9395	0.9841	0.9554	0.9674	1		
ARN _{mN}	0.9120	0.9193	0.9767	0.4348	-0.8362	-0.8718	-0.7907	-0.8283	0.8457	0.7882	-0.9198	0.9725	0.9529	0.9540	0.9874	1	
ADN _N	0.9154	0.9450	0.9877	0.4514	-0.8285	-0.8830	-0.7746	-0.8474	0.8918	0.8322	-0.9607	0.9795	0.9529	0.9606	0.9719	0.9672	1

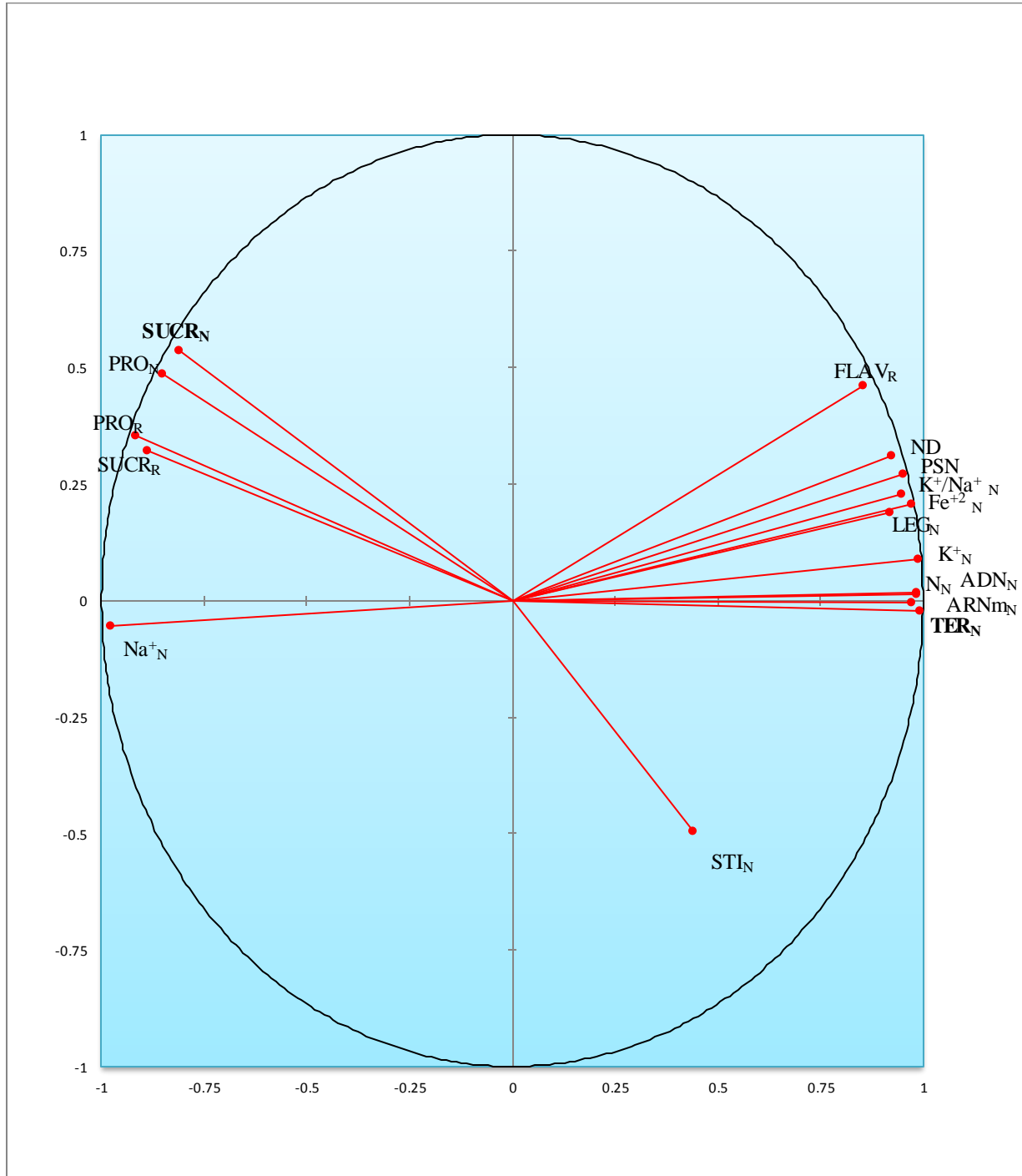
الجدول (07): مصفوفة معامل الارتباطات بين المتغيرات المقدرّة على المجموع الجذري لصنفي الفول المعاملة بخلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة لمرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية.

• التحليل الوصفي للمجموع الجذري على مستوى حلقة الارتباطات

تبين النتائج المدونة في الجدول (08) أن محتوى الماء النسبي في العقد الجذرية (TER_N) هو المتغير الأكثر تعبيراً على الأفراد في إبراز أثر فعل الملوحة والبوتاسيوم والتداخل بينهما بنسبة 99.21 % مقارنة مع باقي المتغيرات، حيث ساهم في تمثيل المحور 1 بمصادقية قدرها 92.33 %، بينما محتوى السكريات الذائبة في العقد الجذرية ($SUCR_N$) عبر عن نفس الأفراد بنسبة 53.73 % مقارنة مع المتغيرات الأخرى ومثل المحور 2 بمصادقية قدرها 8.98 %، لذلك أسند إلى المحور 1 محتوى الماء النسبي في العقد الجذرية (TER_N) و المحور 2 محتوى السكريات الذائبة في العقد الجذرية ($SUCR_N$) (الشكل 15).

الجدول (08) : فعالية المتغيرات المقدرة على المجموع الجذري لصنفي الفول المعاملة بخلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة لمرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية.

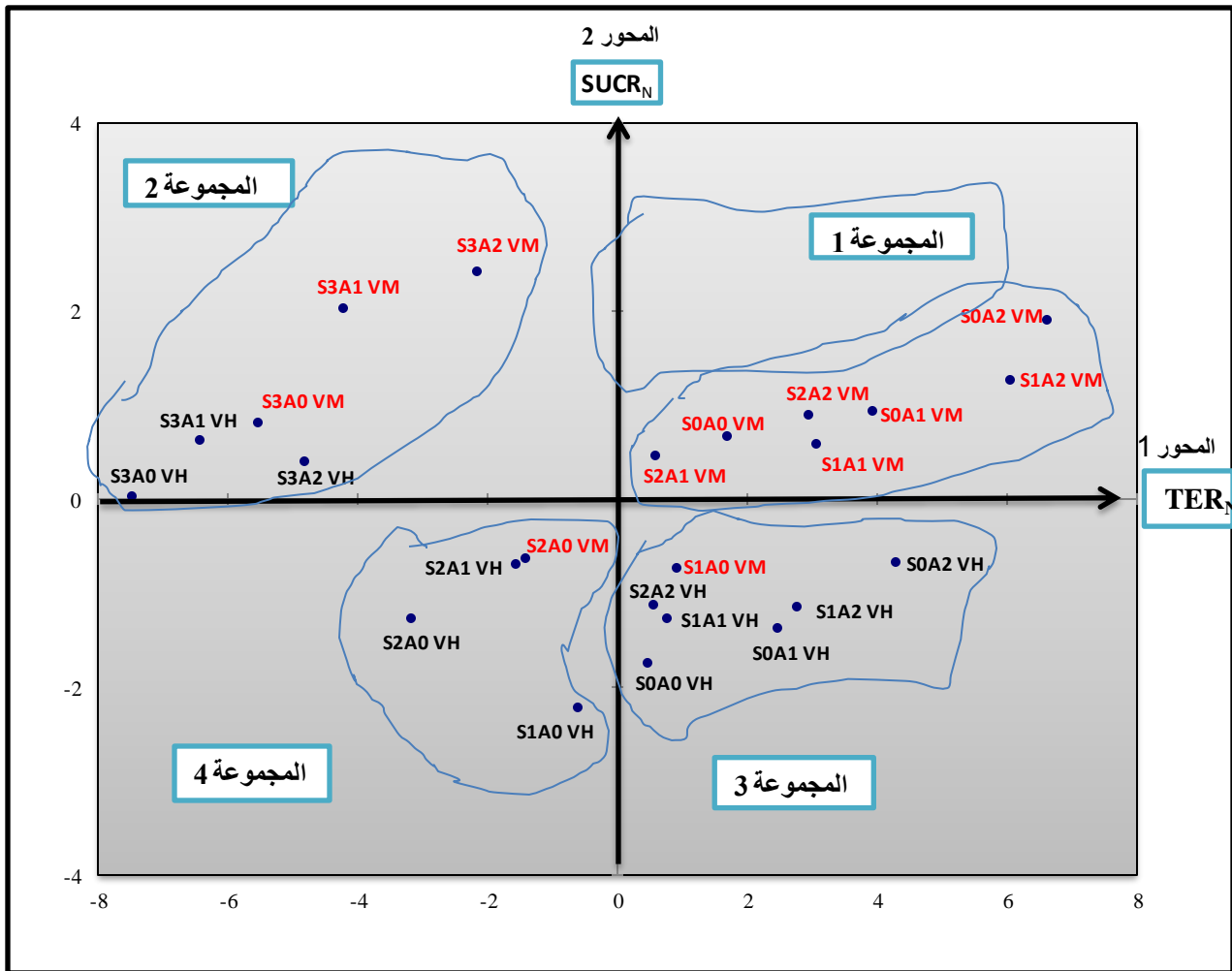
المحور 2	المحور 1	المتغيرات
0.3106	0.9240	ND
0.2728	0.9509	PSN
-0.0233	0.9921	TER_N
-0.4971	0.4409	STI_N
0.1894	0.9185	LEG_N
0.4852	-0.8499	PRO_N
0.3536	-0.9148	PRO_R
0.5373	-0.8113	$SUCR_N$
0.3228	-0.8893	$SUCR_R$
0.4602	0.8546	$FLAV_R$
0.0549	-0.9757	Na^+_N
0.0884	0.9893	K^+_N
0.2291	0.9479	K^+/Na^+_N
0.0146	0.9842	N_N
0.2084	0.9726	Fe^{+2}_N
-0.0055	0.9733	$ARNm_N$
0.0178	0.9855	ADN_N
% 8.98	% 92.33	مصادقية المحورين



الشكل (15): حلقة ارتباطات المتغيرات المقدره على المجموع الجذري لسنفي الفول المعاملة بخلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة لمرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية.

• التحليل الوصفي للمجموع الجذري على مستوى المنحنى البياني لتوزيع الأفراد

إن تقاطع المحورين 1 و 2 أدى إلى توزيع الأفراد توزيعاً فضائياً بحيث تشكلت أربعة مجموعات متميزة مع العلم أن هذا التوزيع تحكم فيه المحور 1 ذو المصدقية العالية و الذي يشير إلى محتوى الماء النسبي في العقد الجذرية (TER_N) مقارنة مع المحور 2 الذي يشير إلى تركيز السكريات الكلية في العقد الجذرية ($SUCR_N$) (الشكل 16).



الشكل (16): منحنى توزيع أفراد صنفى الفول المعاملة بخلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة على مستوى متغيرات المجموع الجذري لمرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية.

المجموعة الأولى:

تميزت أفراد هذه المجموعة بوجود أفراد الصنف Malti فقط ($S_0A_2 V_M, S_0A_1 V_M, S_0A_0V_M$) ، حيث تمركزت في الجهة الموجبة لإتجاه المحور 1 وهذا يعني أن محتوى الماء النسبي في العقد الجذرية لهذه الأفراد مرتفع جدا، أي أنها غير متأثرة بالملوحة بسبب معاملات البوتاسيوم كما أن كل المتغيرات التي تمركزت في الجهة الموجبة لهذا المحور من عدد العقد الجذرية و الوزن الجاف لها و كذا تركيز كل من الفلافونويدات الكلية و leghémoglobine و الحديد النشط و البوتاسيوم و معامل الإنتقاء في العقد الجذرية وتركيز الـADN و الـARNm في العقد الجذرية كانت مرتفعة، فتواجدها في هذه الجهة يعني أنها افراد غير حساسة للملوحة و استجابت لمعاملات البوتاسيوم تحت تركيز الملوحة خاصة في التركيزين (S_2A_0, S_1A_0).

المجموعة الثانية:

مثلت هذه المجموعة كل من أفراد الصنف Malti و الصنف Histal ($S_3A_2V_M, S_3A_1V_M, S_3A_0V_M$) ، حيث تميزت بالتراكيز العالية للملحة بغض النظر عن معاملات البوتاسيوم الأمر الذي تسبب في توزعهم في الجهة الموجبة للمحور 2، حيث انعكس هذا على انخفاض محتوى الماء النسبي في عقدها الجذرية نتيجة توترهم الملحي و ارتفاع تراكيز كل من البرولين و السكريات الكلية في عقدها الجذرية، حيث أن تراكم هذه المركبات العضوية في خلايا العقد الجذرية يعتبر ميكانيزم التأقلم للتوترات البيئية و لا تعتبر مواد سامة بل تساهم في حل مشكل فيزيولوجي تعاني منه الخلية النباتية أثناء تعرضها للملحة.

المجموعة الثالثة:

تميزت أفراد هذه المجموعة بارتفاع مؤشر تحمل الملوحة في العقد الجذرية (STI_N) تحت المعاملة بعنصر

البوتاسيوم، فتواجدها في الموقع القريب من المحور 1 يعني أن محتوى الماء النسبي مرتفع في خلايا العقد الجذرية نتيجة المعاملة بالبوتاسيوم و كانت معظم هذه الأفراد تنتمي إلى الصنف Histal (V_H) ($S_0A_0V_H$), $S_0A_1V_H$, $S_0A_2V_H$, $S_1A_1V_H$, $S_1A_2V_H$, $S_2A_2V_H$ ما عدا فرد واحد ينتمي إلى الصنف Malti (V_M) و الذي كان معامل بالتركيز الملحي S_1A_0 بدون المعاملة بالبوتاسيوم ($S_1A_0V_M$) فيمكن استنتاج أن جميع هذه الأفراد شبه حساسة للملوحة تحت تراكيز البوتاسيوم (A_2, A_1).

المجموعة الرابعة

أغلبية أفراد هذه المجموعة تميزت بارتفاع كبير لعنصر الصوديوم في خلايا العقد الجذرية أي أنها جد متوترة خاصة تحت التركيز الملحي (S_1A_0, S_2A_0) بدون إضافة البوتاسيوم، فتواجدها في هذا الموقع السالب للمحورين 1 و 2 و المقابل لموقع المجموعة 1 يدل أن جميع المتغيرات المقدرة في العقد الجذرية كانت منخفضة من بينها انخفاض محتوى البوتاسيوم و ارتفاع عنصر الصوديوم في خلايا العقد الجذرية الأمر الذي أدى إلى انخفاض معامل الإنتقاء على مستوى الخلايا، و هذا يعني أن جميع أفراد هذه المجموعة متوترة و أغلبية هذه الأفراد تنتمي إلى الصنف Histal ($S_1A_0V_H, S_2A_0V_H, S_2A_1V_H$) ما عدا فرد واحد من الصنف Malti ($S_2A_0V_M$).

• التحليل الوصفي للمجموع الخضري على مستوى مصفوفة معامل الارتباطات

بينت مصفوفة معامل الارتباطات المدونة في الجدول (09) أن أكبر ارتباط ايجابي سجل بين تركيز البوتاسيوم في الأوراق و تركيز الأزوت الكلي في الأوراق (K^+_F/N_F) ($r = + 0.9882$) كما ظهر أكبر ارتباط سلبي بين محتوى الماء النسبي في الأوراق و بين تركيز الصوديوم في الأوراق (Na^+_F/TER_F) ($r = - 0,9661$).

Variables	SF	TER _F	STI _{pv}	PRO _F	SUCR _F	CLHT _F	Na ⁺ _F	K ⁺ _F	K ⁺ /Na ⁺ _F	N _F	ARN _{mF}	ADN _F
SF	1											
TER _F	0.9117	1										
STI _{pv}	0.8454	0.9462	1									
PRO _F	-0.5503	-0.7541	-0.8634	1								
SUCR _F	-0.4813	-0.7078	-0.8130	0.9880	1							
CLHT _F	0.9256	0.9009	0.7877	-0.4715	-0.4030	1						
Na ⁺ _F	-0.8839	-0.9661	-0.9389	0.7635	0.7082	-0.9160	1					
K ⁺ _F	0.8845	0.9855	0.9392	-0.7244	-0.6745	0.9020	-0.9647	1				
K ⁺ /Na ⁺ _F	0.8950	0.9661	0.9079	-0.6443	-0.5965	0.8836	-0.9157	0.9794	1			
N _F	0.8837	0.9824	0.9581	-0.7486	-0.7023	0.8698	-0.9485	0.9882	0.9774	1		
ARN _{mF}	0.8264	0.9556	0.9734	-0.8695	-0.8286	0.7982	-0.9483	0.9442	0.9053	0.9445	1	
ADN _F	0.8652	0.9693	0.9679	-0.7944	-0.7418	0.8503	-0.9649	0.9766	0.9474	0.9715	0.9732	1

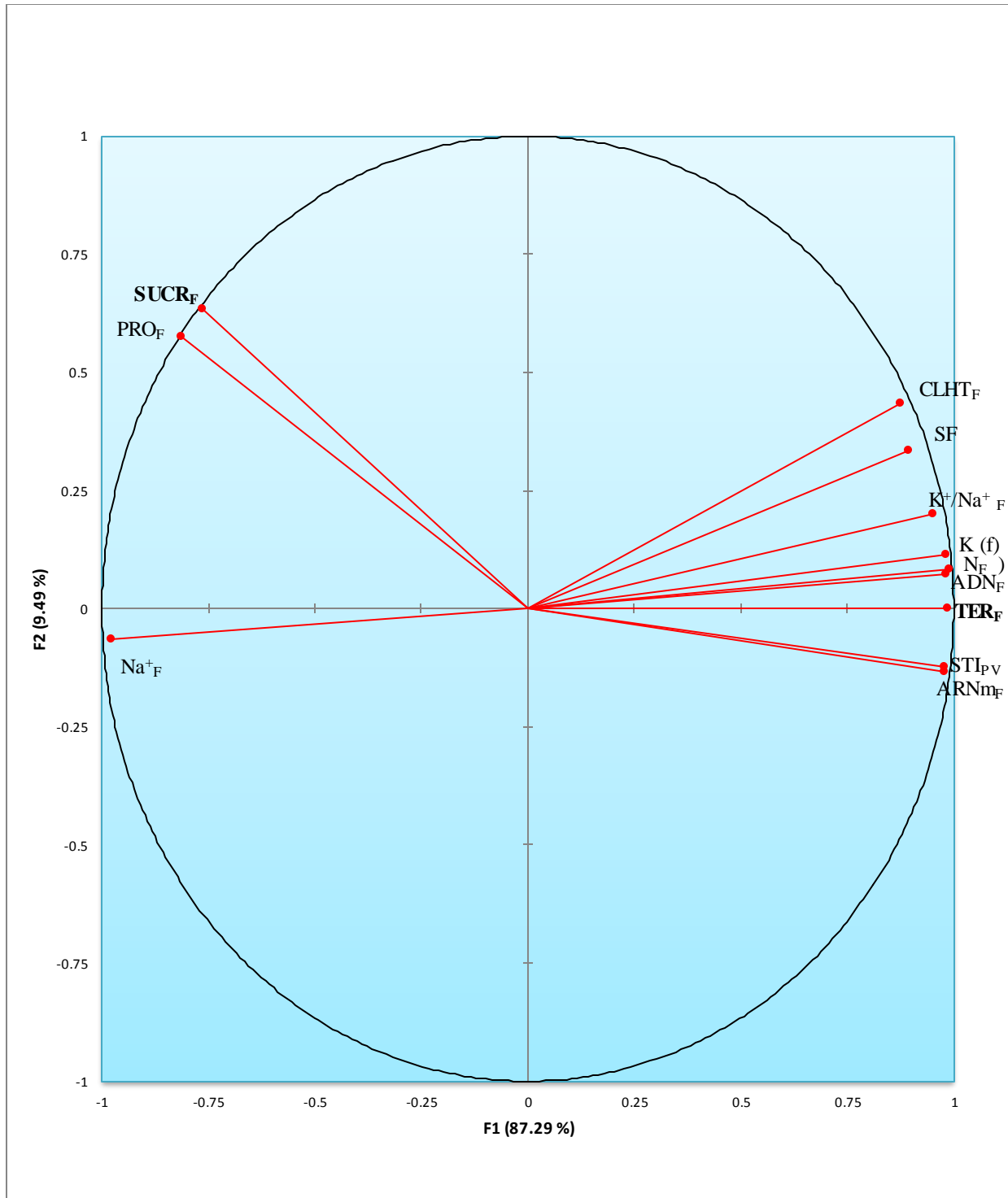
الجدول (09): مصفوفة معامل الارتباطات بين المتغيرات المقدره على المجموع الخضري لسنفي الفول المعاملة بخلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة لمرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية.

• التحليل الوصفي للمجموع الخضري على مستوى حلقة الارتباطات

تبين النتائج المدونة في الجدول (10) أن محتوى الماء النسبي في الأوراق (TER_F) هو المتغير الأكثر تعبيراً على أفراد سنفي الفول في إبراز أثر فعل الملوحة والبوتاسيوم والتداخل بينهما بنسبة 98.95 % مقارنة مع باقي المتغيرات، حيث ساهم في تمثيل المحور 1 بمصدافية قدرها 87.29 % ، بينما محتوى السكريات الذائبة في الأوراق (SUCR_F) عبر عن نفس الأفراد بنسبة 63.50 % مقارنة مع المتغيرات الأخرى ومثل المحور 2 بمصدافية قدرها 9.49 %، لذلك أسند إلى المحور 1 محتوى الماء النسبي في الأوراق (TER_F) و المحور 2 محتوى السكريات الذائبة في الأوراق (SUCR_F) (الشكل 17).

جدول (10) : فعالية المتغيرات المقدرة على المجموع الخضري لسنفي الفول المعاملة بخلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة لمرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية .

المحور 2	المحور 1	المتغيرات
0.3352	0.8942	SF
0.0848	0.9895	TER _F
-0.1218	0.9775	STI _F
0.5750	-0.8121	PRO _F
0.6350	-0.7641	SUCR _F
0.4347	0.8741	CHLT _F
-0.0653	-0.9776	Na ⁺ _F
0.1158	0.9831	K ⁺ _F
0.2005	0.9538	K ⁺ / Na ⁺ _F
0.0715	0.9836	N _F
-0.1351	0.9796	ARNm _F
0.0007	0.9869	ADN _F
% 9.49	% 87.29	مصادقية المحورين



الشكل (17): حلقة إرتباطات المتغيرات المقدره على المجموع الخصري لصنفي الفول المعاملة بخلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة لمرحلة النمو الخصري و نشاط العقد الجذرية.

• التحليل الوصفي على مستوى المنحنى البياني لتوزيع الأفراد

من نتائج الشكل (18) يتضح أن المحور 1 الذي يشير إلى محتوى الماء النسبي في الأوراق (TER_F) تحكم في توزيع الأفراد حيث تشكلت أربعة مجموعات رئيسية:

المجموعة الأولى:

مثلت أفراد هذه المجموعة أفراد كل من الصنف Malti ($S_1A_2V_M, S_1A_1V_M, S_0A_2V_M, S_0A_1V_M$) حيث تميزت بانخفاض معاملات الملوحة بغض النظر عن مستويات البوتاسيوم، أي أن هذه الأفراد غير متأثرة بالملوحة بسبب معاملات البوتاسيوم، إذ تركزت في الجهة الموجبة لاتجاه المحور 1 و الذي مثله محتوى الماء النسبي في الأوراق، مما يعني ان هذه الأفراد تميزت بنسب عالية لمحتوى الماء النسبي في أوراقها و كذا ارتفاع تراكيز كل من المتغيرات التي تركزت في جهة المحور 1 الموجبة، منها تركيز كل من الكلوروفيل الكلي والبوتاسيوم و معامل الإنتقاء و النيتروجين الكلي في الأوراق بالإضافة الى تركيز الن-ADN في الأوراق و المساحة السطحية للأوراق.

المجموعة الثانية:

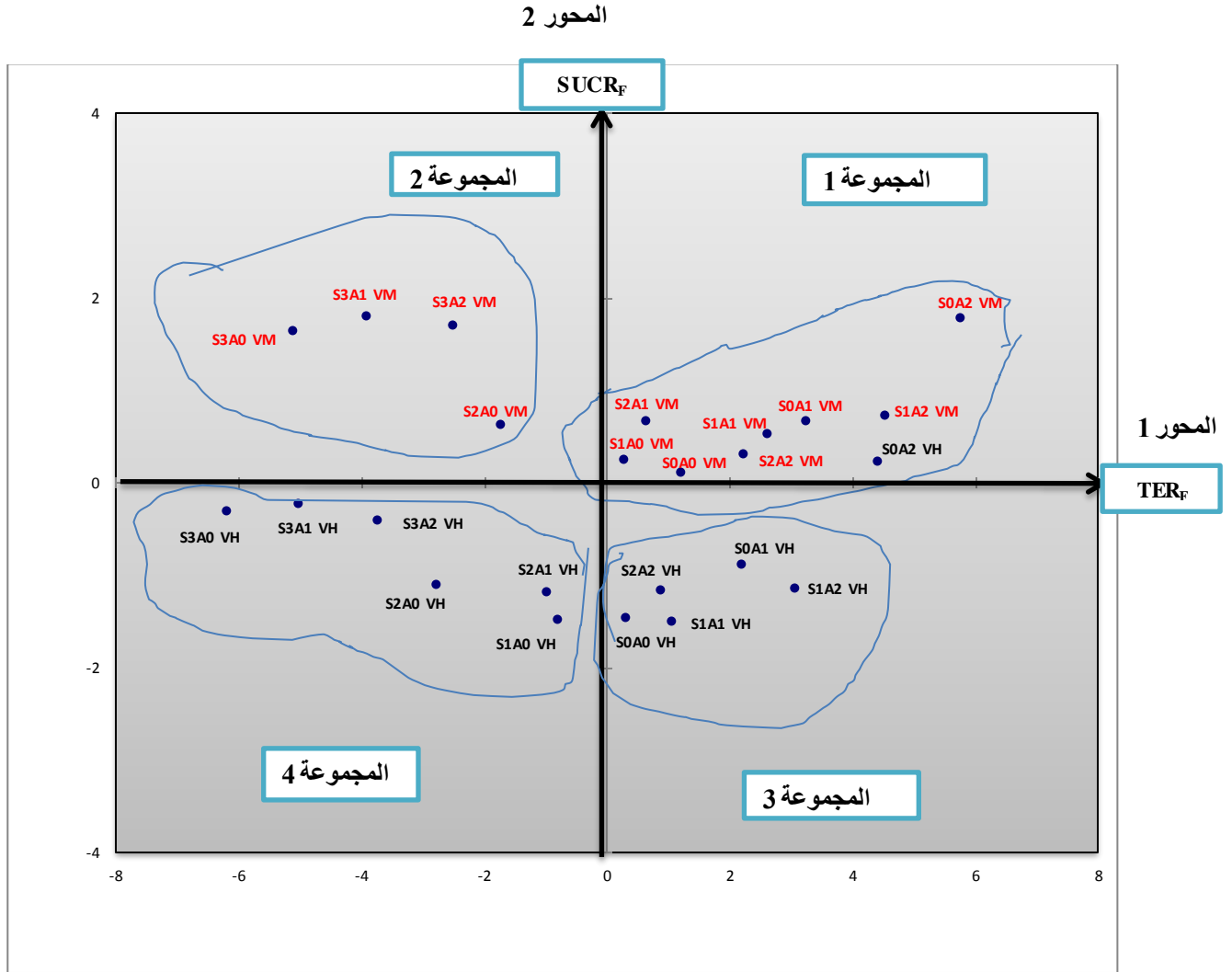
إن تجمع أفراد هذه المجموعة في الجهة السالبة للمحور 1 و الجهة الموجبة للمحور 2 رافقه ارتفاع كبير للمنظمات الأسموزية من السكريات الكلية و البرولين في الأوراق التي تعتبر كمؤشر للمقاومة الملحية على مستوى الخلية النباتية فتراكمها فيها يحقق الانتفاخ الخلوي و التعديل الأسموزي و تعتبر كإستجابة لتوتر بيئي، حيث مثلت هذه المجموعة افراد من الصنف Malti منها افراد تحت التركيز الملحي العالي (S_3A_0) و المعاملة بالبوتاسيوم ($S_3A_2V_M, S_3A_1V_M, S_3A_0V_M$) و فرد واحد من التركيز S_2A_0 الغير معاملة بالبوتاسيوم، و بالتالي يمكن استنتاج أن أفراد هذه المجموعة شبه مقاومة للملوحة.

المجموعة الثالثة:

تميزت أفراد هذه المجموعة بانتمائها كلها للصنف Histal ($S_2A_2V_H, S_1A_2V_H, S_1A_1V_H, S_0A_1V_H$) مع الشاهد ($S_0A_0V_H$) ، فوجودها في هذا الموقع الموجب للمحور 1 و السالب للمحور 2 يدل على ارتفاع مؤشر حساسيتها للملوحة و قربها للمحور 1 الذي يمثله محتوى الماء النسبي للماء في الأوراق الأمر الذي يوحي أن هذه الافراد شبه حساسة للملوحة.

المجموعة الرابعة:

أفراد هذه المجموعة تنتمي إلى الصنف Histal فتواجدها في الجهة السالبة للمحور 1 و 2 يدل على ارتفاع تركيز الصوديوم في خلايا الأوراق و بما ان موقعها يعاكس أفراد المجموعة 1 فإن كل المتغيرات المطبقة على أوراق هذه الأفراد منخفضة بما في ذلك مساحة الورقة و محتوى البوتاسيوم في خلايا الأوراق، الأمر الذي أدى إلى إنخفاض معامل الإنتقاء، و على هذا الاساس فإن أفراد هذه المجموعة ($S_3A_1V_H, S_3A_0V_H$) متوترة لمعاملات الملوحة تحت جميع مستويات البوتاسيوم. ($S_2A_1V_H, S_2A_0V_H, S_1A_0V_H, S_3A_2V_H$)



الشكل (18): منحنى توزيع أفراد صنفى الفول المعاملة بخلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة على مستوى متغيرات المجموع الخضري لمرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية.

ب- مرحلة النمو الثمري

• التحليل الوصفي على مستوى مصفوفة معامل الارتباطات

بينت مصفوفة معامل الارتباطات المدونة في الجدول (11) أن أكبر ارتباط إيجابي سجل بين تركيز الـADN_F في الأوراق و تركيز الـARNm_F في الأوراق ($r = + 0.9971$) كما ظهر أكبر ارتباط سلبي بين المساحة الورقية و بين تركيز الصوديوم في الأوراق ($r = - 0,9165$).

Variables	NG	LG	SF	TER _F	STI _{pv}	PRO _F	SUCR _F	CHLT _F	PROT _G	Na ⁺ _F	K ⁺ _F	K ⁺ /Na ⁺ _F	N _F	ARN _{mF}	ADN _F
NG	1														
LG	0.6571	1													
SF	0.9558	0.7804	1												
TER _F	0.9243	0.8467	0.9712	1											
STI _{pv}	0.8675	0.8884	0.9179	0.9614	1										
PRO _F	-0.6730	-0.8624	-0.7726	-0.8783	-0.8981	1									
SUCR _F	-0.6064	-0.8468	-0.7158	-0.8288	-0.8574	0.9924	1								
CHLT _F	0.9660	0.7032	0.9561	0.9535	0.9197	-0.7565	-0.6942	1							
PROT _G	0.9362	0.7923	0.9431	0.9692	0.9696	-0.8435	-0.7916	0.9769	1						
Na ⁺ _F	-0.8668	-0.7544	-0.9165	-0.9509	-0.9144	0.8889	0.8527	-0.9197	-0.9437	1					
K ⁺ _F	0.8779	0.8674	0.9040	0.9480	0.9851	-0.8636	-0.8221	0.9319	0.9782	-0.8985	1				
K ⁺ /Na ⁺ _F	0.9010	0.8396	0.9242	0.9479	0.9709	-0.8214	-0.7693	0.9408	0.9729	-0.8834	0.9855	1			
N _F	0.9390	0.8305	0.9549	0.9735	0.9724	-0.8213	-0.7635	0.9698	0.9864	-0.9048	0.9789	0.9832	1		
ARN _{mF}	0.8959	0.8117	0.9261	0.9716	0.9716	-0.8969	-0.8513	0.9520	0.9881	-0.9624	0.9681	0.9564	0.9658	1	
ADN _F	0.8936	0.8196	0.9264	0.9735	0.9715	-0.8998	-0.8555	0.9531	0.9868	-0.9619	0.9683	0.9500	0.9664	0.9971	1

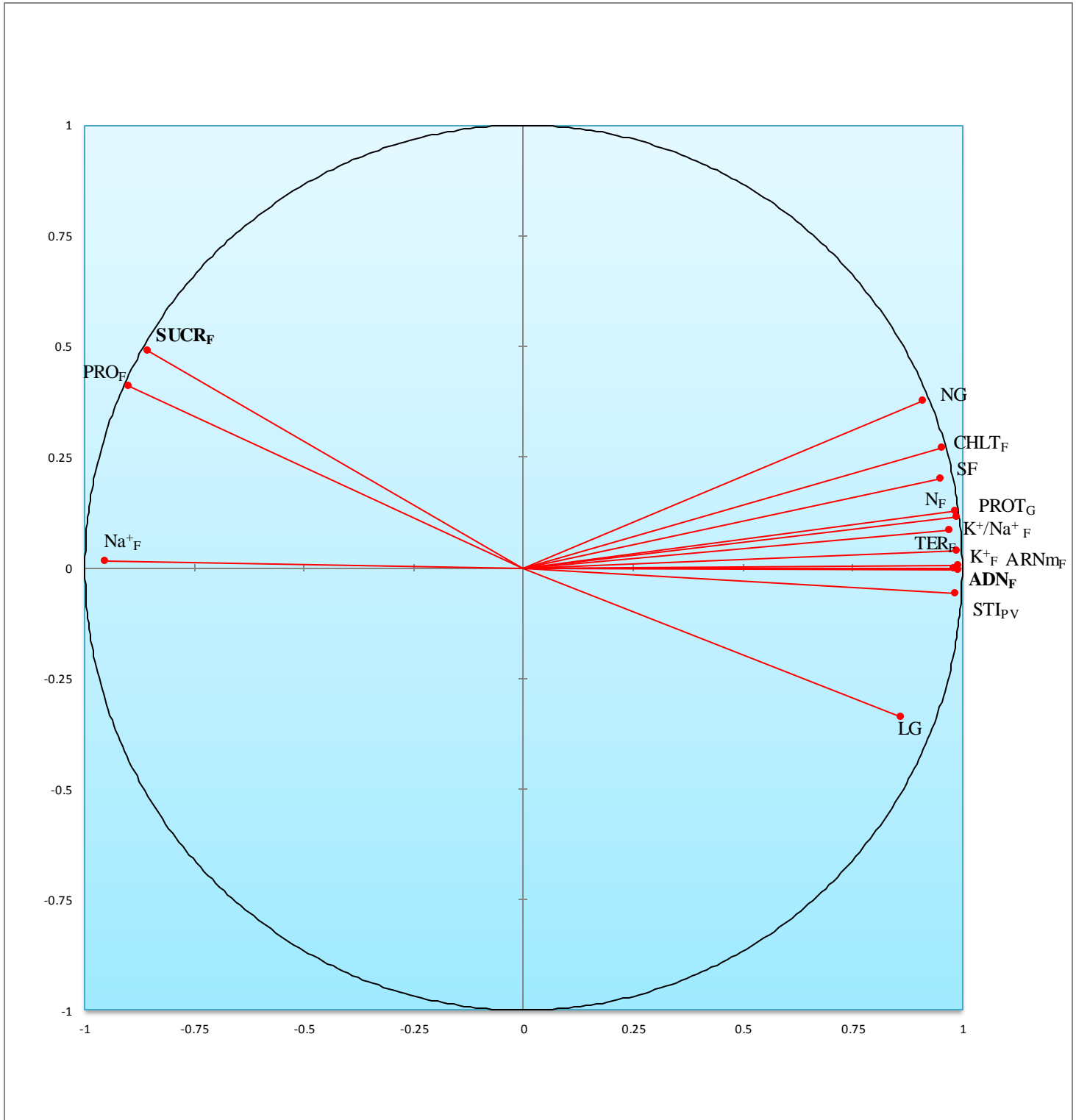
الجدول (11): مصفوفة معامل الارتباطات بين المتغيرات المقدرة على المجموع الخضري لصنفي الفول المعاملة بخلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة لمرحلة النمو الثمري.

• التحليل الوصفي على مستوى حلقة الارتباطات

تبين النتائج المدونة في الجدول (12) أن تركيز الـADN في الأوراق هو المتغير الأكثر تعبيراً على الأفراد في إبراز أثر فعل الملوحة والبوتاسيوم والتداخل بينهما بنسبة 99.04 % مقارنة مع باقي المتغيرات، حيث ساهم في تمثيل المحور 1 بمصدقية قدرها 90.64 %، بينما محتوى السكريات الذائبة في الأوراق (SUCR_F) عبر عن نفس الأفراد بنسبة 49.06 % مقارنة مع المتغيرات الأخرى ومثل المحور 2 بمصدقية قدرها 5.47 %، لذلك أسند إلى المحور 1 تركيز الـADN في الأوراق (ADN_F) والمحور 2 محتوى السكريات الذائبة في الأوراق (SUCR_F) (الشكل 19).

الجدول (12): فعالية المتغيرات المقدرة على المجموع الخضري لصنفي الفول المعاملة بخلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة لمرحلة النمو الثمري.

المحور 2	المحور 1	المتغيرات
0.3767	0.9109	NG
- 0.3336	0.8595	LG
0.2015	0.9520	SF
0.0379	0.9885	TER _F
-0.0583	0.9885	STI _F
0.4109	-0.8993	PRO _F
0.4906	-0.8552	SUCR _F
0.2702	0.9550	CHLT _F
0.1131	0.9880	PROT _G
0.0156	-0.9547	Na ⁺ _F
- 0.0015	0.9801	K ⁺ _F
0.0840	0.9715	K ⁺ / Na ⁺ _F
0.1292	0.9832	N _F
0.0048	0.9899	ARNm _F
-0.0037	0.9904	ADN _F
% 5.47	% 90.64	مصادقية المحورين



الشكل (19): حلقة إرتباطات المتغيرات المقدره على المجموع الخصري لصنفي الفول المعاملة بخلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة لمرحلة النمو الثمري.

• التحليل الوصفي على مستوى المنحنى البياني لتوزيع الأفراد

أوضحت البيانات المدونة في الشكل (20) أن تركيز الـADN في الأوراق تحكم في توزيع الأفراد التي تجمعت في أربعة مجموعات رئيسية:

المجموعة الأولى:

هذه المجموعة مثلتها أفراد من الصنف Malti ($S_1A_1V_M$, $S_1A_0V_M$, $S_0A_2V_M$, $S_0A_1V_M$) حيث عوملت بالتركيز الملحية المنخفضة ($S_0A_0V_M$ والشاهد $S_2A_2V_M$, $S_2A_1V_M$, $S_1A_2V_M$ ، بغض النظر عن معاملات البوتاسيوم، فتمركزهم في الجهة الموجبة لإتجاه المحور 1 لازمه ارتفاع معنوي في تركيز الـADN في أوراقهم و الذي مثل المحور 1 و هذا لعدم تأثرهم بالملوحة، كما لازمه كذلك ارتفاع في قيم المتغيرات التي تمركزت في هاته الجهة، منها المساحة السطحية للأوراق و عدد القرون و تركيز كل من الكلوروفيل الكلي و البوتاسيوم و النيتروجين الكلي والـARNm في الأوراق بالإضافة إلى معامل الإنتقاء في الأوراق و تركيز البروتينات الكلية في البذور و النسبة المئوية لكل من محتوى الماء في الأوراق و مؤشر تحمل الملوحة في المجموع الخضري.

المجموعة الثانية:

تميزت أفراد هذه المجموعة بالمعاملة العالية للملوحة S_3 بغض النظر عن معاملات البوتاسيوم و كانت كلها تنتمي الى الصنف Malti ($S_3A_2V_M$, $S_3A_1V_M$, $S_3A_0V_M$) ما عدا فرد واحد تحت التركيز الملحي S_2 ($S_2A_0V_M$) فتواجد هذه الأفراد في الجهة السالبة للمحور 1 و الموجبة للمحور 2 دلالة على ارتفاع محتوى السكريات الكلية و الحامض الأميني البرولين و التي تعتبر مركبات عضوية كمؤشر للمقاومة الملحية تلجأ اليها خلايا الأفراد المتوترة لضبط أسموزيتها لذلك تعتبر هذه الأفراد شبه مقاومة للملوحة.

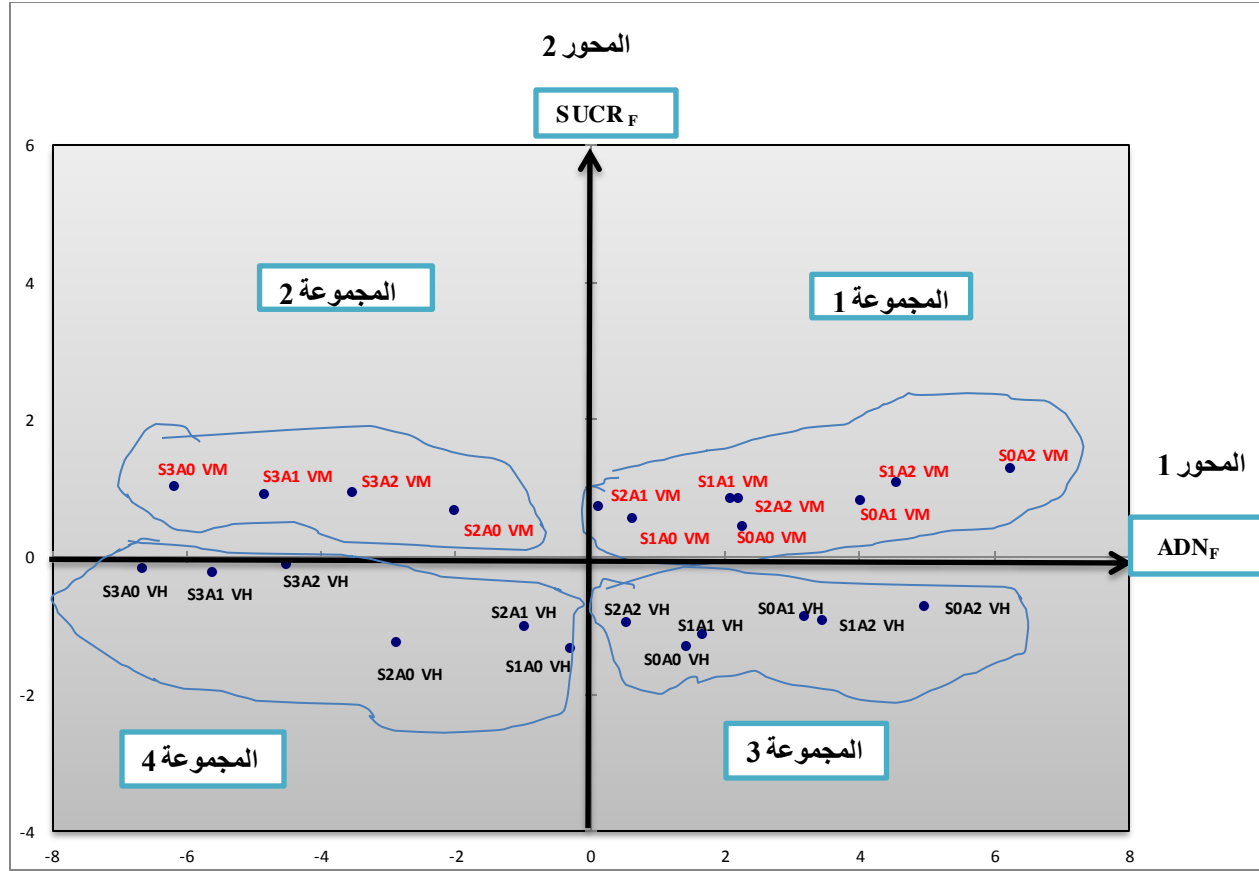
المجموعة الثالثة:

تنتمي أفراد هذه المجموعة إلى الصنف Histal إذ كانت معاملة بالتركيز الملحية التالية (S_2 , S_1 , S_0)

تحت جميع مستويات البوتاسيوم (A_2, A_1, A_0) فتواجدها في الجهة الموجبة للمحور 1 و الجهة السالبة للمحور 2 دلالة على ارتفاع مؤشر الحساسية للملوحة و قربها من المحور 1 الذي يمثل محتوى الـADN في خلايا الأوراق يشير الى أن الأحماض النووية لم تتأثر بصورة واضحة بالملوحة، الأمر الذي يدل على أن هذه الأفراد ($S_2A_2V_H, S_1A_2V_H, S_1A_1V_H, S_0A_2V_H, S_0A_1V_H, S_0A_0V_H$) شبه حساسة للملوحة بحيث لم تتأثر كي تنتج ثمار طويلة.

المجموعة الرابعة:

أفراد هذه المجموعة تنتمي إلى الصنف Histal النامية تحت ظروف ملحية عالية بغض النظر عن معاملات البوتاسيوم، حيث تفوقت بارتفاع محتوى الصوديوم في الأوراق، الأمر الذي أدى إلى انخفاض كل المتغيرات المدروسة بالمقارنة مع المجموعة الأولى المقاومة للملوحة في حين لم تتمكن من تمثيل بصورة كبيرة المركبات العضوية كالكسكريات و البرولين للمحافظة على تعديل أسموزية الخلية مقارنة بالمجموعة الثانية الشبه المقاومة و بذلك تعتبر هذه الأفراد ($S_2A_0V_H, S_1A_0V_H, S_3A_2V_H, S_3A_1V_H, S_3A_0V_H$) جد حساسة للملوحة تحت جميع معاملات البوتاسيوم.



الشكل (20): منحنى توزيع أفراد صنفى الفول المعاملة بخلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة على مستوى متغيرات المجموع الخصري لمرحلة النمو الثمري.

2-1- التحليل العاملي التمييزي (Analyse Factorielle Discriminante)

إن الهدف من إجراء التحليل العاملي التمييزي (AFD) على المتغيرات التي مثلت أفراد صنفى الفول أحسن تمثيل (TER_F, TER_N) في مرحلة النمو الخصري و نشاط العقد الجذرية و (ADN_F) في مرحلة النضج

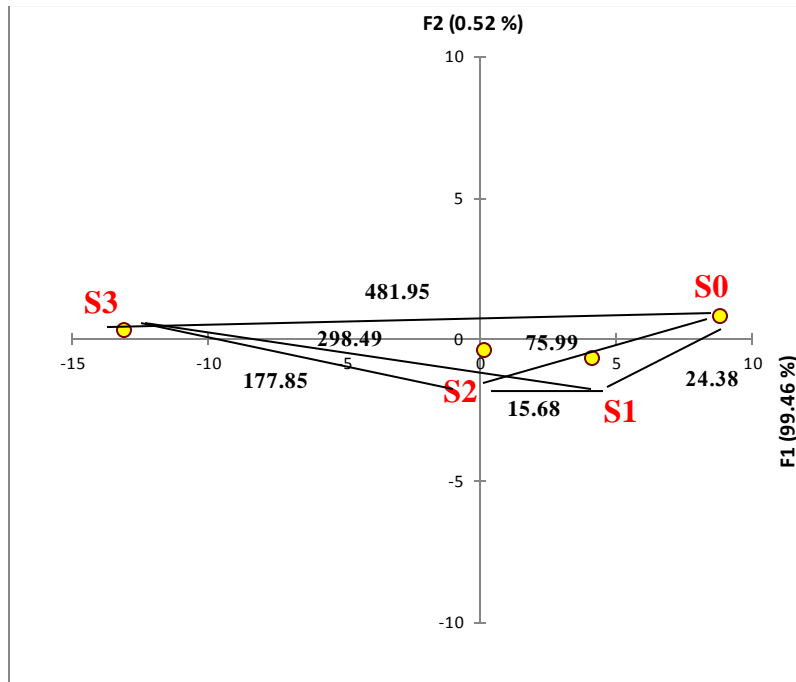
الثمري هو تحديد المسافة التأثيرية بين التراكيز الملحية (S_3, S_2, S_1, S_0) و بين تراكيز البوتاسيوم (A_0)

(A_2, A_1) بين سلوك صنفى الفول Malti و Histal، حيث تم تحديد هذه المسافة عن طريق قياس مسافة

.Mahalanobis

● المسافة بين تراكيز الملوحة حسب مسافة Mahalanobis

	S0	S1	S2	S3
S0	0			
S1	24.3896	0		
S2	75.9979	15.6848	0	
S3	481.9592	298.4940	177.8586	0

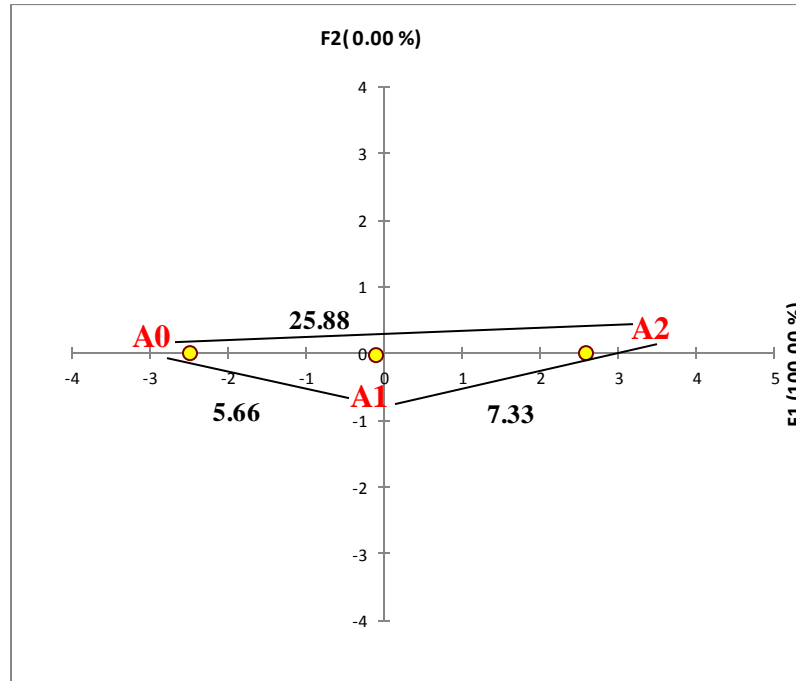


الشكل (21): المسافة التأثيرية بين تراكيز الملوحة حسب مسافة Mahalanobis

يتضح من النتائج الموضحة في الشكل (21) أن أكبر مسافة تأثيرية بين تراكيز الملوحة كانت بين التركيزين (S_3 و S_0) بمسافة قدرت بـ 481.95 ، في حين أقل مسافة تأثيرية قدرت بين التركيزين (S_2 و S_1) بـ 15.68 ، حيث تمركز التركيز S_0 (بدون إضافة) في الجهة الموجبة للمحور 1 أي لا يوجد تأثير للملوحة في حين التركيز العالي من الملوحة S_3 (150 ملي مول NaCl) كان ذو تأثير سلبي لذلك تمركز في الجهة السالبة للمحور 1 ، أما التركيز S_2 (50 ملي مول NaCl) فتمركز بين تقاطع المحورين 1 و 2 فكان متوسط التأثير، و التركيز S_1 (25 ملي مول NaCl) الأقل تأثيراً و هذا لقربه من للجهة الموجبة للمحور 1.

● المسافة التأثيرية بين تراكيز البوتاسيوم حسب مسافة Mahalanobis

	A0	A1	A2
A0	0		
A1	5.6632	0	
A2	25.8806	7.3312	0

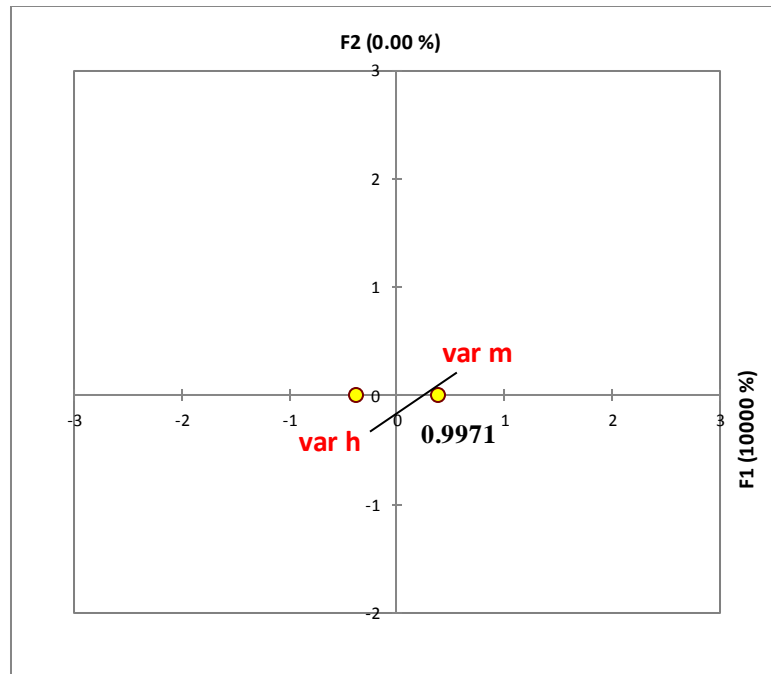


الشكل (22): المسافة التأثيرية بين تراكيز البوتاسيوم حسب مسافة Mahalanobis

تبين النتائج المدونة في الشكل (22) أن أكبر مسافة بين تأثير تراكيز البوتاسيوم (A_2, A_1, A_0) قدرت بـ 25.88 بين التركيزين (A_2 و A_0)، بينما أصغر مسافة قدرت بقيمة 5.66 بين التركيزين (A_1 و A_0)، حيث تمركز التركيز A_2 في الجهة الموجبة للمحور 1 و بذلك أبدى فعاليته في إزالة الأثر السلبي للملوحة مقارنة مع التركيز A_1 الذي تمركز بين تقاطع المحورين 1 و 2 و الذي كان متوسط التأثير في إزالة الأثر السلبي للملوحة، في حين التركيز A_0 (بدون إضافة) لم يكن له تأثير لذلك تمركز في الجهة السالبة للمحور 1.

● المسافة التأثيرية بين صنفى الفول حسب مسافة Mahalanobis

	var h	var m
var h	0	0.9971
var m	0.9971	0



الشكل (23): المسافة التأثيرية بين صنفى الفول حسب مسافة Mahalanobis

تشير النتائج المبينة في الشكل (23) أن المسافة بين صنفى الفول Malti و Histal قدرت بقيمة 0.9971، حيث تمركز الصنف Malti في الجهة الموجبة للمحور 1 و الصنف Histal في الجهة السالبة للمحور 1، و هذا يعني أن الصنف Malti مقاوم للملوحة و استجاب لمعاملات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة مقارنة مع الصنف Histal الذي أظهر حساسيته للملوحة بتمركزه في الجهة السالبة للمحور 1.

2- التحليل الإستدلالي لأثر الفعل الكمي للبوتاسيوم و الملوحة و التداخل بينهما

من خلال نتائج تحليل المركبات النموذجية تبين أن المتغير (TER_N) هو المتغير الأكثر تعبيراً في إبراز أثر فعل الملوحة والبوتاسيوم والتداخل بينهما على مستوى المجموع الجذري لمرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية بنسبة 99.75% مقارنة مع المتغير (TER_F) الذي مثل الأفراد بنسبة 98.95% على مستوى المجموع الخضري و مقارنة مع المتغير (ADN_F) الذي مثل الأفراد بنسبة 99.04% على مستوى المجموع الخضري لمرحلة النمو الثمري، لذلك حلت نتائج المتغير (TER_N) تحليلاً استدلالياً باتباع تحليل ANOVA تحت تصميم المنشقة (Split-plot) و تم هذا بتحليل التباين و بتقسيم تأثير الفعل الكمي على طريقة New man- Keuls.

أ- تحليل التباين

من خلال الجدول (13) يتبين أن الفعل الكمي للمتغير (TER_N) كان معنوياً على مستوى أكبر من 0.1% استناداً إلى ف البيانية المقارنة ف الجدولية:

الجدول (13): تحليل التباين بين الملوحة و البوتاسيوم و التداخل بينهم على محتوى الماء النسبي في

العقد الجذرية (TER_N) لاصفي الفول

مصدر التباين	درجة الحرية	ف البيانية	الاحتمال	الانحراف المعياري	معامل التباين
التباين الكلي	23				
مستويات الملوحة (S)	3	380.3875	0.0001		
معاملات البوتاسيوم (K)	2	170.6852	0.0001		
الاصنف (var)	1	81.8450	0.0001		
الخطأ التجريبي	6			17.31	4.16
التداخل بين S/K	6	3.344	0.0837		
التداخل بين S/var	3	1.0895	0.4227		
التداخل بين K/var	2	1.9540	0.2221		

ب- تقسيم أثر الفعل الكمي على طريقة New man- Keuils على مستوى 5 %

تم تقسيم New man- Keuils للأفراد صنفى الفول للمتغير (TER_N) على النحو التالي:

❖ أثر فعل الملوحة:

تم توزيع أثر فعل الملوحة بغض النظر عن معاملات البوتاسيوم الى أربعة مجموعات متباينة الجدول (14):

- المجموعة A ($S_3 = 150$ ملي مول NaCl):

أفراد هذه المجموعة جد متأثرة بالملوحة و شملت كلا صنفى الفول، حيث قدرت المسافة التأثيرية بين S_0 و S_3 بـ 481.95.

- المجموعة B ($S_2 = 50$ ملي مول NaCl):

كل أفراد هذه المجموعة تنتمي إلى كلا صنفى الفول و كانت جد حساسة للملوحة، حيث قدرت المسافة التأثيرية بين S_0 و S_2 بـ 75.99.

- المجموعة C ($S_1 = 25$ ملي مول NaCl):

شملت أفراد هذه المجموعة كلا صنفى الفول و كانت حساسة للملوحة، حيث بلغت المسافة التأثيرية بين S_0 و S_1 بـ 24.38.

- المجموعة D ($S_0 = 0$ ملي مول NaCl): هذه المجموعة أفرادها تنتمي لكلا صنفى الفول غير

معاملة بالملوحة و نموها كان عاديا.

❖ أثر فعل البوتاسيوم:

تم توزيع أثر فعل البوتاسيوم بغض النظر عن معاملات الملوحة إلى ثلاثة مجموعات مختلفة الجدول (14):

- المجموعة A ($A_0 = 0$ ملي مول CH_3C_2K):

بدون إضافة لخلات البوتاسيوم، كان نمو أفراد هذه المجموعة التي تنتمي لكلا صنفى الفول متوترا بالملوحة.

- المجموعة B ($A_1 = 25$ ملي مول CH_3C_2K):

أفراد هذه المجموعة كانت نصف حساسة للملوحة و شملت كلا صنفى الفول، حيث قدرت المسافة التأثيرية بين A_0 و A_1 بـ 5.66.

- المجموعة C ($A_2 = 50$ ملي مول CH_3C_2K):

تنتمي أفراد هذه المجموعة الى كلا صنفى الفول تميزت بتفوقها في مقاومة الملوحة، حيث بلغت المسافة التأثيرية بين A_0 و A_2 بـ 25.88.

❖ أثر فعل التداخل بين الملوحة والبوتاسيوم:

تم توزيع أثر فعل التداخل بين الملوحة و البوتاسيوم الى سبعة مجموعات مختلفة حسب الجدول (14):

- المجموعة A ($S_3A_1V_{M+H}$, $S_3A_0V_{M+H}$):

أفراد هذه المجموعة تنتمي إلى كلا صنفى الفول و تميزت بأنها جد متوترة للتركيز الملحي $S_3=150$ ملي مول سواء على مستوى الجذور و على مستوى الأوراق في كلتا المرحلتين رغم إضافة التركيز A_1 من خلاص البوتاسيوم.

- المجموعة B ($S_3A_2 V_{M+H}$):

تميزت أفراد هذه المجموعة بالحساسية العالية للتركيز الملحي $S_3=150$ ملي و كانت استجابتها لتركيز البوتاسيوم A_2 قليلة، حيث كان نمو الأوراق و الجذور قليلا لكلا الصنفين و هذا أثناء مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية و كذلك أثناء مرحلة النمو الثمري.

- المجموعة C ($S_2A_0V_{M+H}$):

تميزت أفراد هذه المجموعة بالحساسية للتركيز الملحي $S_2=50$ ملي و شملت كلا صنفى الفول، حيث كان نمو أوراقها و جذورها حساس في كلا المرحلتين.

- المجموعة D $(S_0A_0V_H, S_2A_1V_{M+H}, S_1A_0V_{M+H})$:

أفراد هذه المجموعة منها من ينتمي الى كلا صنفى الفول تحت تأثير تداخل الملوحة مع البوتاسيوم S_2A_1 و تحت تأثير التركيز الملحي S_1A_0 و منها فرد ينتمي للصنف Histal تحت تأثير التركيز S_0A_0 ، حيث كانت نصف حساسة للتركيز الملحية (S_2, S_1, S_0) و استجابتها لمعاملة البوتاسيوم بالتركيز A_1 كانت قليلة.

- المجموعة E $(S_0A_0V_M, S_2A_2V_H, S_1A_1V_H)$:

كانت أفراد هذه المجموعة متوسطة التأثير بالتركيز الملحية (S_2, S_1, S_0) ، منها أفراد من الصنف Histal تحت تأثير تداخل الملوحة مع البوتاسيوم $(S_2A_2$ و $S_1A_1)$ و منها فرد ينتمي للصنف Malti تحت تأثير التركيز S_0A_0 و استجابتها لمعاملات البوتاسيوم (A_2, A_1) كانت متوسطة.

- المجموعة F $(S_0A_1V_{M+H}, S_2A_2V_M, S_1A_1V_M)$:

مثلت هذه المجموعة أفراد من الصنف Malti تحت تأثير تداخل الملوحة مع البوتاسيوم S_1A_1 و S_2A_2 و أفراد من كلا الصنفين تحت تركيز البوتاسيوم S_0A_1 ، تميزت هذه الأفراد بالنمو الجيد على مستوى المجموع الجذري و المجموع الخضري لكلا المرحلتين، حيث استطاعت أن تقاوم التركيزين الملحيين (S_2, S_1) و استجابت لمعاملات البوتاسيوم (A_2, A_1) .

- المجموعة G $(S_1A_2V_{M+H}, S_0A_2V_{M+H})$:

تميزت هذه الأفراد التي كانت تنتمي لكلا صنفى الفول بالمقاومة العالية بفعل استجابتها لمعاملة البوتاسيوم A_2 سواء بدون إضافة ملوحة أو مع التركيز الملحي S_1A_0 ، حيث كان النمو جيدا على مستوى الأوراق و الجذور أثناء مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية و على مستوى الأوراق أثناء مرحلة النمو الثمري.

❖ أثر فعل التداخل بين الملوحة و الصنف

تم توزيع أثر فعل التداخل بين الملوحة و الصنف إلى ستة مجموعات مختلفة حسب الجدول (14):

- المجموعة A (S_3V_H) :

مثل هذه المجموعة الصنف Histal تحت التركيز الملحي S_3 ، و كان شديد التوتر للملوحة.

- المجموعة B (S_3V_M) :

أفراد هذه المجموعة تنتمي للصنف Malti، و كانت أقل توترا للتركيز الملحي S_3 مقارنة بالصنف Histal.

- المجموعة C (S_2V_H) :

ينتمي إلى هذه المجموعة الصنف Histal الذي كان شديد الحساسية للتركيز الملحي S_2 .

- المجموعة D (S_2V_M) :

نمو أفراد الصنف Malti التي تنتمي إلى هذه المجموعة كان أقل حساسية مقارنة مع الصنف Histal.

- المجموعة E (S_1V_H, S_0V_H) :

ينتمي إلى هذه المجموعة أفراد الصنف Histal، منها أفراد تحت إضافة التركيز الملحي S_1 و أفراد بدون

إضافة S_0 ، حيث كان سلوك نموهم متشابه و متوسط الحساسية.

- المجموعة F (S_1V_M, S_0V_M) :

مثل هذه المجموعة أفراد الصنف من Malti تحت تأثير التركيز الملحي S_1 و تحت تأثير التركيز S_0 (بدون

إضافة) و تشابه سلوك نموها و كان شبه حساس مقارنة مع الصنف Histal .

❖ أثر فعل التداخل بين البوتاسيوم و الصنف

تم توزيع أثر فعل التداخل بين البوتاسيوم و الصنف الى أربع مجموعات مختلفة حسب الجدول (14):

- المجموعة A (A_0V_H) :

ينتمي إلى هذه المجموعة الصنف Histal، أفرادها لم تعامل بالبوتاسيوم و كانت غير مقاومة للتراكيز

الملحية المطبقة مقارنة مع الصنف Malti.

- المجموعة B (A_1V_H, A_0V_M) :

مثل هذه المجموعة أفراد من الصنف Malti لم تعامل بالبوتاسيوم A_0 و أفراد من الصنف Histal عوملت بالبوتاسيوم بتركيز A_1 ، حيث كان سلوك نموها متشابه و حساس للملوحة.

- المجموعة C (A_2V_H, A_1V_M) :

أفراد هذه المجموعة تميزت بالنمو المتوسط، منها أفراد من الصنف Malti معاملة بتركيز البوتاسيوم A_1 و أفراد من Histal معاملة بتركيز البوتاسيوم A_2 .

- المجموعة D (A_2V_M) :

كل أفراد هذه المجموعة تنتمي إلى الصنف Malti فقط، تميزت بالمقاومة العالية للملوحة لمعاملتها بالتركيز العالي من البوتاسيوم A_2 .

الجدول (14): سلم ترتيب أثر فعل الملوحة و البوتاسيوم و الصنف و التداخل بينهما للمتغير محتوى الماء النسبي في العقد الجذرية (TER_N) تبعا لطريقة New man- Keuils على مستوى 5 %

الصنف Malti				الصنف Histal				
S_3	S_2	S_1	S_0	S_3	S_2	S_1	S_0	
AAAAB	BACDB	CADFB	DAEFB	AAAAA	BACCA	CADEA	D ¹ A ² D ³ E ⁴ A ⁵	A_0
ABABC	BBDDC	CBFFC	DBFFC	ABAAB	BBDCB	CBEEB	DBFEB	A_1
ACBBD	BCFDD	CCGFD	DCGFD	ACBAC	BCECC	CCGEC	DCGEC	A_2

1- تأثير الملوحة

2- تأثير البوتاسيوم

3- تأثير التداخل بين الملوحة و البوتاسيوم

4- تأثير التداخل بين الملوحة و الصنف

5- تأثير التداخل بين البوتاسيوم و الصنف



مناقشة

النتائج

مناقشة النتائج

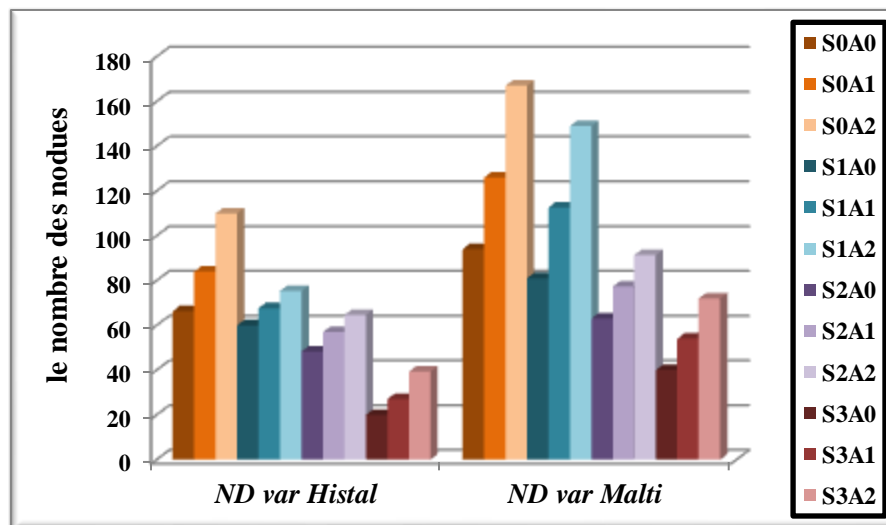
I. مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية (مرحلة تثبيت النيتروجين)

استغرقت هذه المرحلة مدة شهرين و نصف وهذا من بداية الزرع حتى بداية ظهور الأزهار، حيث تم تسليط الضوء على العقد الجذرية، ففي هذه الفترة تكون العقد الجذرية نشطة متخذة اللون الأحمر البني لوجود بروتين Leghémoglobine و فيها تتم عملية تثبيت النيتروجين، تم أخذ قياسات مورفولوجية و فيزيولوجية.

1- الدراسة المورفولوجية

1-1- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على عدد العقد الجذرية لسنفي الفول

من خلال النتائج المدونة في جدول الملحق (06) و الشكل (24) نلاحظ أن معاملة كلا سنفي الفول بتراكيز الملوحة ($S_1 = 25$ ، $S_2 = 50$ ، $S_3 = 150$) ميلي مول من NaCl أدى إلى تناقص معنوي جدا في عدد العقد الجذرية مقارنة مع الشاهد S_0A_0 ($r = -0.8909$) ND/Na⁺ n (الجدول (07))، حيث عند التركيز S_1 قدرت نسبة الإنخفاض بـ 9.5 % في الصنف Histal و بـ 13.8 % في الصنف Malti ، و عند التركيز S_2 بلغت نسبة الإنخفاض 27.10 % في الصنف Histal و 32.97 % في الصنف Malti ، أما عند التركيز S_3 بلغت نسبة الإنخفاض 69.83 % في الصنف Histal و 57.44 % في الصنف Malti. في حين أدت إضافة خلات البوتاسيوم (CH_3CO_2K) إلى زيادة معنوية في عدد العقد الجذرية لكلا سنفي الفول بوجود و بغياب الملوحة ($r = +0.9326$) ND/K⁺ n (الجدول (07))، حيث بلغت نسبة الزيادة في غياب الملوحة عند التركيز S_0A_1 26.69 % في الصنف Histal و 34.04 % في الصنف Malti، وعند التركيز S_0A_2 بلغت نسبة الزيادة في الصنف Histal 56.91 % و 77.65 % في الصنف Malti مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

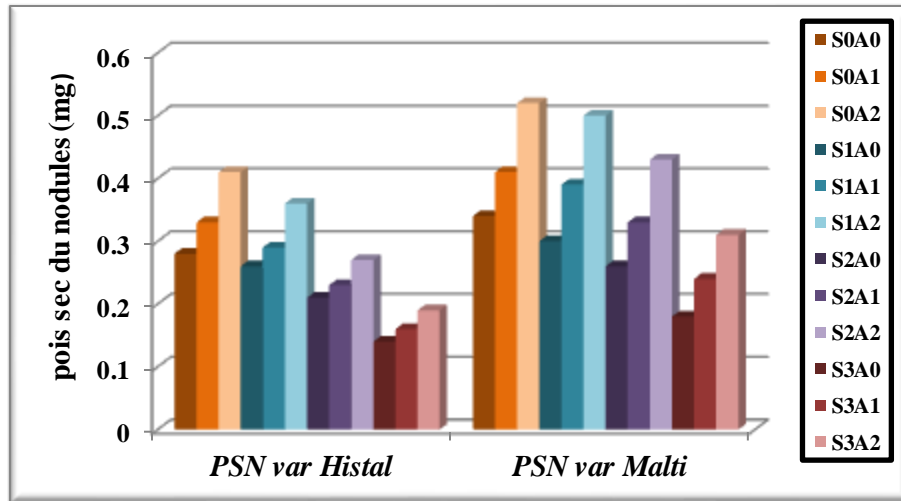


الشكل (24): تأثير مستويات الملوحة و معاملات خللات البوتاسيوم على عدد العقد الجذرية لصنفي الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية

أما في وجود الملوحة، في الصنف Histal قدرت أعلى نسبة زيادة عند التركيز S_2A_2 بـ 33.78 % مقارنة بالتركيز الملحي S_2A_0 ، و في الصنف Malti قدرت بـ 83.95 % عند التركيز S_1A_2 مقارنة بالتركيز الملحي S_1A_0 .

1-2- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خللات البوتاسيوم على الوزن الجاف للعقد الجذرية لصنفي الفول

من جدول الملحق (06) و الشكل (25) يتبين أن تراكيز الملوحة العالية أدت إلى إنخفاض معنوي جدا في الوزن الجاف للعقد الجذرية لكلا الصنفين ($r = -0.9329$) PSN/Na^+_N (الجدول 07)، ففي الصنف Histal قدرت نسبة الإنخفاض عند التراكيز الملحية (S_3A_0, S_2A_0, S_1A_0) بـ 7.14 %، 25 %، 50 % على التوالي، و بـ 14.28 %، 38.29 %، 48.57 % على التوالي في الصنف Malti مقارنة بالشاهد S_0A_0 .



الشكل (25) : تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على الوزن الجاف للعقد الجذرية لاصنفي الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية

من جهة أخرى عند إضافة معاملات خلات البوتاسيوم ارتفعت قيم الوزن الجاف للعقد الجذرية بشكل معنوي في كلا الصنفين (PSN/K_N⁺ (الجدول 07)، $r = +0.9636$)، ففي غياب الملوحة سجلت أعلى نسبة ارتفاع للوزن الجاف للعقد الجذرية عند التركيز S₀A₂ بـ 46.42 % في الصنف Histal و بـ 48.57 % في الصنف Malti مقارنة مع الشاهد S₀A₀، أما في وجود الملوحة فقدرت أعلى نسبة ارتفاع بـ 38.46 % عند التركيز S₁A₂ في الصنف Histal مقارنة بالتركيز الملحي S₁A₀، و بنسبة 72.22 % عند التركيز S₃A₂ في الصنف Malti مقارنة بالتركيز الملحي S₃A₀.

يعزى إنخفاض عدد العقد الجذرية و وزنها الجاف إلى التأثير السلبي للملوحة العالية و التي قللت من تفرع الجذور مما تسبب في التقليل من نمو العقد الجذرية على الشعيرات الجذرية، كما أن الملوحة العالية تعمل على تثبيط فعالية بكتيريا *rhizobium* مما قلل من عدد العقد الجذرية (Omid *et al.*, 2013).

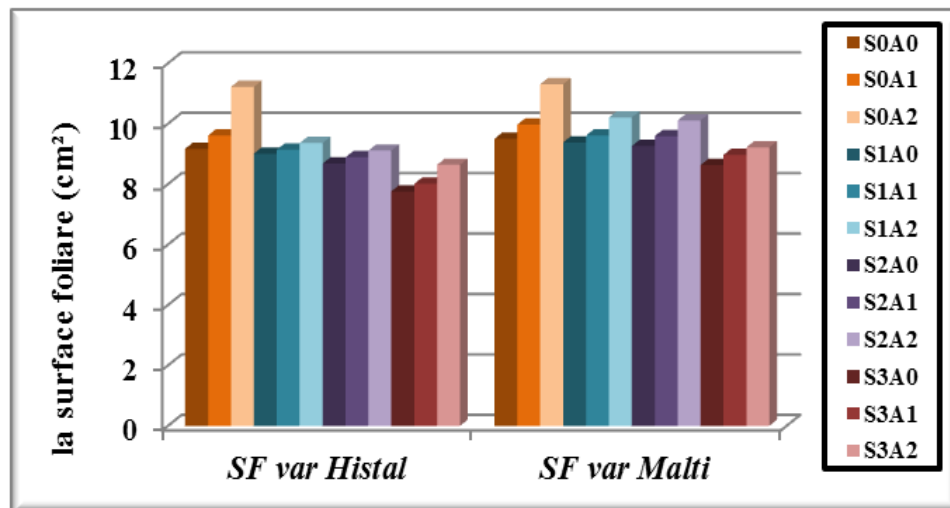
وهذا يتفق مع ما توصل إليه Lawson *et al.*, (2004) على كل من نبات فول صويا، و النفل و الفاصولياء، حيث لاحظوا انخفاض في أعداد العقد الجذرية لكل نوع و أوزانها الجافة عند المعاملة بالتركيز العالية للملوحة.

كما تعزى الزيادة في عدد العقد الجذرية و الوزن الجاف لها بفعل البوتاسيوم إلى دوره في نقل نواتج التمثيل الضوئي من الأوراق إلى الجذور مما زاد من تراكم المادة الجافة في الجذور بما في ذلك العقد الجذرية (Ana et al., 2009).

نتائج مماثلة تحصل عليها إباد و اخرون، (2007) بملاحظتهم انخفاض عدد العقد الجذرية و وزنها الجاف لنبات البازلاء تحت مستويات الملوحة و ارتفاع عددها و وزنها الجاف بمعاملات البوتاسيوم.

3-1- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على المساحة الورقية لصنفي الفول

يتضح من النتائج المدونة في جدول الملحق (06) و الشكل (26) أن المساحة الورقية لكلا صنف الفول انخفضت بشكل معنوي في التراكيز العالية للملوحة ($r = -0.8839$) SF/Na^+_F (الجدول 09)، فعند التركيز S_1A_0 قدرت نسبة الإنخفاض بـ 1.74 % في الصنف Histal و بـ 1.26 % في الصنف Malti مقارنة مع الشاهد S_0A_0 ، و في التركيز S_2A_0 قدرت نسبة الإنخفاض بـ 5.34 % في الصنف Histal و بـ 2.52 % في الصنف Malti مقارنة مع الشاهد S_0A_0 ، في حين سجلت أعلى نسبة إنخفاض عند التركيز S_3A_0 بنسبة 15.37 % في الصنف Histal و بنسبة 9.15 % في الصنف Malti مقارنة بالشاهد S_0A_0 .



الشكل (26): تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على المساحة الورقية لصنفي الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية

يعود سبب إنخفاض مساحة الأوراق بفعل تراكيز الملوحة إلى ارتفاع الضغط الأسموزي لخلايا الأوراق الذي تسببه قلة كمية الماء المتدفقة الى المجموع الخضري و من ثم قلة الجهد الانتباجي لخلايا الأوراق وهذا يؤدي إلى قلة استطالتها مما ينعكس على المساحة الورقية (Zhu, 2001).

توصل (Abbas et al., 2013) الى نتائج مماثلة، حيث لاحظوا انخفاض المساحة الورقية لنبات البامية (*Abelmoschus esculentus* L.) المعامل بتراكيز مختلفة من الملوحة.

أما معاملات خلات البوتاسيوم فقد أدت إلى زيادة معنوية في المساحة الورقية ($r=+0.8845$) SF/K_F^+ (الجدول 09) ، ففي غياب الملوحة بلغت أعلى نسبة إرتفاع عند التركيز S_0A_2 لكلا الصنفين بنسبة 22.35 % في الصنف Histal و بنسبة 19.05 % في الصنف Malti مقارنة بالشاهد، و في وجود الملوحة بلغت أعلى نسبة إرتفاع عند التركيز S_3A_2 بنسبة 11.34 % مقارنة بالتركيز S_3A_0 في الصنف Histal، وعند التركيز S_2A_2 بنسبة 9.17 % مقارنة بالتركيز الملحي S_2A_0 في الصنف Malti.

حسب (Leigh, 2001) يرجع سبب هاته الزيادة في المساحة الورقية إلى الدور الإيجابي للبوتاسيوم في زيادة نشاط الأنسجة المرستيمية وزيادة انقسام الخلايا الذي انعكس على زيادة مساحة الأوراق وتأخر شيخوختها.

تتفق هذه النتيجة مع ملاحظة (Baque et al., 2006) أن الزيادة في المساحة الورقية لنبات القمح اللين (*Triticum aestivum* L.) كانت عند التسميد بالبوتاسيوم تحت الظروف الملحية.

2- الدراسة الفيزيولوجية

1-2- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على المحتوى المائي للعقد الجذرية و

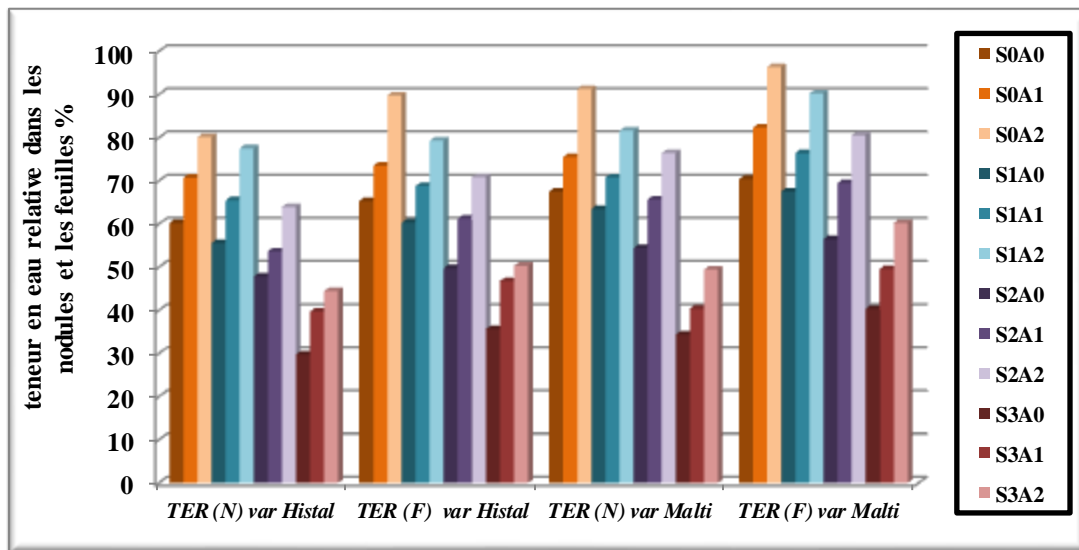
للأوراق في صنف الفول

يتضح من جدول الملحق (7، 8) و الشكل (27) أنه كلما زاد تركيز الملوحة انخفض محتوى الماء النسبي

بشكل معنوي فيا لعقد الجذرية ($r=-0.9646$) TER_N/Na^+_N (الجدول 07)، و في الأوراق ($r=-0.9661$)

TER_F/Na^+_F (الجدول 09) ، حيث أدى تطبيق التركيز $S_1A_0 = 25$ ملي مول NaCl إلى انخفاض

طفيف في المحتوى المائي بنسبة 7.72 % و 6.05 % في العقد الجذرية للسنف Histal و الصنف Malti على التوالي، و بنسبة 7.66 % و 4.15 % في أوراق الصنف Histal و الصنف Malti على التوالي، أما في التركيز ($S_2A_0 = 50$ ملي مول NaCl) فقد بلغت نسبة الإنخفاض عنده بـ 20.62 % و 19.37 % في العقد الجذرية للسنف Histal و الصنف Malti على التوالي، و بنسبة 22.31 % و 20.18 % في أوراق الصنف Histal و الصنف Malti على التوالي، في حين التركيز ($S_3A_0 = 150$ ملي مول NaCl) تفوق معنويا على التركيزين (S_1, S_2) حيث بلغت عنده أعلى قيمة انخفاض في محتوى الماء النسبي، وهذا بنسبة 50.60 % و 49.09 % في العقد الجذرية للسنف Histal و الصنف Malti على التوالي، و بنسبة 45.46 % و 42.77 % في الأوراق للسنف Histal و الصنف Malti على الترتيب مقارنة بالشاهد.



الشكل (27): تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على محتوى الماء النسبي في العقد الجذرية و في أوراق صنف الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية

أوضح Koyro, (2006) أن سبب تراجع محتوى الماء النسبي في الأوراق بسبب الملوحة يعود إلى ازدياد

تركيز الأملاح وخفض قيمة الجهد المائي بين محلول التربة و المجموع الجذري مما يقلل من معدل تدفق الماء و امتصاصه من قبل الجذور، إذ يعد فرق التدرج في الجهد المائي بمنزلة القوة المحركة لإنتقال الماء و تصبح تبعاً لذلك كمية الماء الممتصة قليلة.

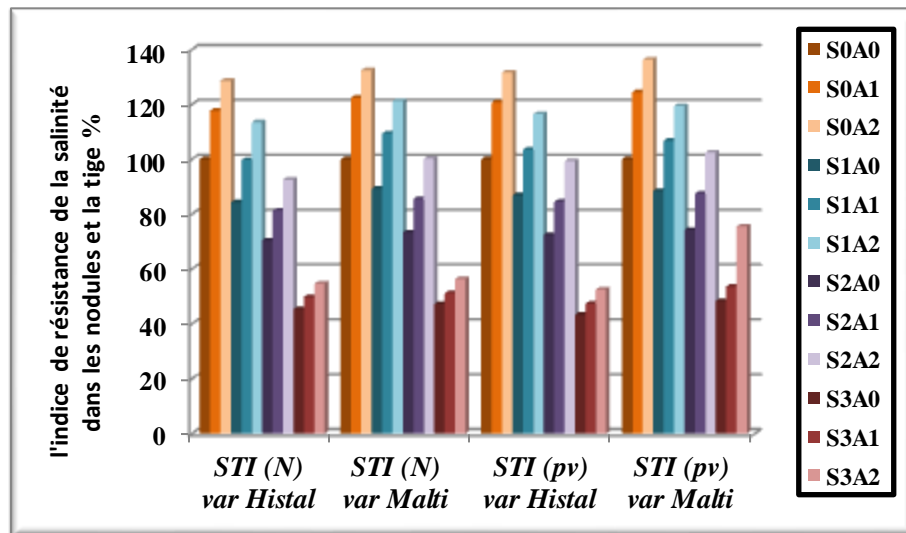
من جهة أخرى بينت النتائج أن تطبيق التسميد البوتاسي على صورة ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{K}$) أدى إلى زيادة معنوية في المحتوى النسبي للماء لكلا الصنفين في العقد الجذرية ($r = +0.9881$) $\text{TER}_N / \text{K}^+_N$ (الجدول 07) و في الأوراق ($r = +0.9855$) $\text{TER}_F / \text{K}^+_F$ (الجدول 09)، حيث في غياب الملوحة تفوقت المعاملة بالتركيز ($S_0A_2 = 50$ ملي مول) على المعاملة بالتركيز ($S_0A_1 = 25$ ملي مول) بأعلى نسبة زيادة قدرت بـ 33.04 % و 35.07 % في العقد الجذرية للصنف Histal و الصنف Malti على التوالي، وبنسبة 37.43 % و 39.84 % في أوراق الصنف Histal و الصنف Malti على التوالي مقارنة بالشاهد S_0A_0 ، أما في وجود الملوحة فقد بلغت أعلى نسبة زيادة في محتوى الماء النسبي في الصنف Histal عند التركيز S_1A_2 بنسبة 39.54 % في العقد الجذرية مقارنة بالتركيز الملحي (S_1A_0)، و عند التركيز S_2A_2 بنسبة 40.99 % في الأوراق مقارنة بالتركيز الملحي S_2A_0 ، أما الصنف Malti فقد قدرت أعلى زيادة في المحتوى النسبي للماء عند التركيز S_2A_2 بنسبة 40.49 % في العقد الجذرية، وبنسبة 43.17 % في الأوراق مقارنة مع التركيز الملحي S_2A_0 .

حسب (Kant et Kafkafi, 2002) يعود سبب ارتفاع نسبة المحتوى المائي للأوراق عند إضافة البوتاسيوم إلى وسط الزرع إلى الدور الذي يلعبه البوتاسيوم في زيادة مقدرة النبات على امتصاص الماء وفي المحافظة على انتاج خلايا الأوراق لمدة أطول.

توافقت نتائجنا مع ما توصل إليه كل من (Hashi et al., 2015) و التي تفيد بأن التسميد البوتاسي زاد من محتوى الماء للأوراق لصنفين من نبات فول الصويا (*Glycine max L.*) المروية بمياه مالحة.

2-2- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم على مؤشر تحمل الملوحة في العقد و في المجموع الخضري لسنفي الفول

يلاحظ من جدول الملحق (7، 8) و الشكل (28) أن مؤشر تحمل الملوحة انخفض معنويا بزيادة تراكيز الملوحة في كل من العقد الجذرية ($r = -0.3521$) STI_N / Na^+_N (الجدول 07) و في المجموع الخضري لسنفي الفول ($r = -0.9389$) STI_{PV} / Na^+_F (الجدول 09)، حيث قدرت نسبة الإنخفاض عند التراكيز الملحية (S_3A_0, S_2A_0, S_1A_0) على مستوى العقد الجذرية بـ 15.67%، 29.57%، 54.61% على التوالي في الصنف Histal، و بنسبة 10.64%، 26.63%، 52.77% على التوالي في الصنف Malti، و على مستوى المجموع الخضري قدرت نسبة الإنخفاض بـ 13.13%، 27.54%، 56.64% على الترتيب في الصنف Histal، و بنسبة 11.49%، 25.79%، 51.61% على التوالي في الصنف Malti مقارنة بالشاهد (S_0A_0).



الشكل (28): تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم على مؤشر تحمل الملوحة في العقد الجذرية و في المجموع الخضري لسنفي الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية

فسر (2010) Amirjani تراجع مؤشر تحمل الملوحة بسبب التراكيز العالية للملوحة إلى انخفاض في وزن المادة الجافة وهذا راجع إلى أن الأملاح المرتفعة في وسط النمو تعيق من امتصاص العناصر الكبرى و انتقالها مما أثر على نمو النبات.

تحصل كل من (2017) Soualmi *et al.* على نتائج مماثلة، حيث لاحظوا انخفاض مؤشر تحمل الملوحة لنبات القطف (*Atriplex halimus* L.) مع زيادة تراكيز الملوحة في وسط النمو.

ومن نفس جدول الملحق (7، 8) يتبين أن إضافة معاملات خلاص البوتاسيوم أدت إلى زيادة معنوية في مؤشر تحمل الملوحة في العقد الجذرية ($r = +0.3579$) STI_N / K^+_N (الجدول 07)، و في المجموع الخضري ($r = +0.9392$) STI_{PV} / K^+_N (الجدول 09)، حيث في وجود الملوحة قدرت أعلى نسبة زيادة في ب 29.21 % و 34.11 % عند التداخل ($S_1A_2 = 25$ ملي مول NaCl + 50 ملي مول CH_3CO_2K) في العقد الجذرية و في المجموع الخضري للسنف Histal على التوالي مقارنة بالتركيز الملحي S_1A_0 ، و بنسبة 36.69 % و 38.06 % عند التداخل ($S_2A_2 = 50$ ملي مول NaCl + 50 ملي مول CH_3CO_2K) في العقد الجذرية و في المجموع الخضري للسنف Malti مقارنة مع التركيز الملحي S_2A_0 .

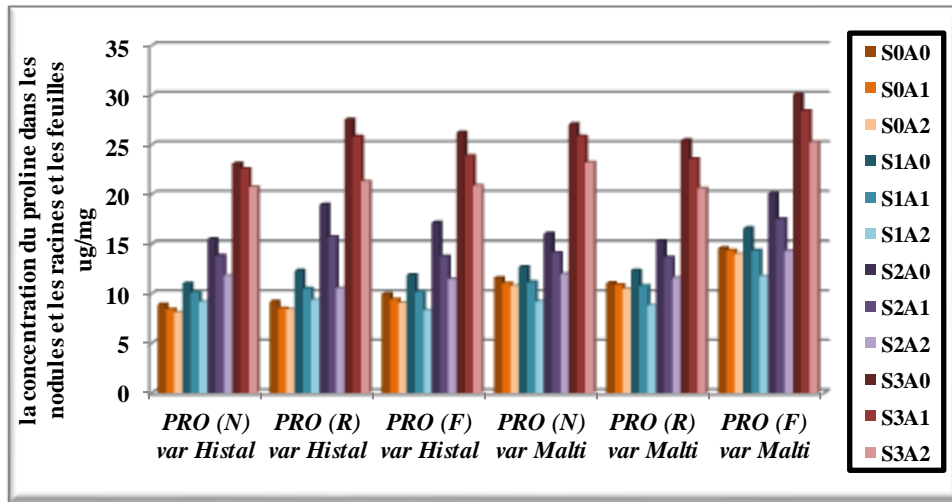
أما في غياب الملوحة فقد تفوق التركيز S_0A_2 على التركيز S_0A_1 و أعطى أعلى نسبة ارتفاع في مؤشر تحمل الملوحة قدرت ب 28.65 % و 32.5 % في العقد الجذرية للسنف Histal و السنف Malti على التوالي، و بنسبة 31.62 % و 36.35 % في المجموع الخضري للسنف Histal و السنف Malti على الترتيب مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

يعود سبب إرتفاع نسبة مؤشر تحمل الملوحة إلى زيادة تركيز البوتاسيوم داخل النبات ودوره المحفز في نقل نواتج التركيب الضوئي إلى مناطق تتطلب هذه المركبات ولا سيما السيقان والجذور في بناء الألياف السيليلوزية فضلا عن تراكم الكربوهيدرات في أنسجة هذه الأعضاء مما انعكس هذا التوزيع على تراكم المادة الجافة (2008) (Amtmann *et al.*).

تتفق هاته النتائج مع نتائج Akram *et al.*, (2009) الذين أشاروا بأن التسميد البوتاسي يرفع من مؤشر تحمل الملوحة لنبات دوار الشمس (*Helianthus annuus L.*) المزروع في وسط ملحي.

2-3- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز البرولين في العقد الجذرية و في الجذور و في الأوراق لصنفي الفول

من نتائج جدول الملحق (7، 8) و الشكل (29) نلاحظ زيادة معنوية في تركيز البرولين لكلا صنفي الفول بزيادة تراكيز الملوحة في كل من العقد الجذرية ($r = +0.7915$) PRO_N / Na^+_N (الجدول 07) و الجذور ($r = +0.8953$) PRO_R / Na^+_N (الجدول 07) و الأوراق ($r = +0.7635$) PRO_F / Na^+_F (الجدول 09) فكانت أعلى زيادة عند التركيز ($S_3A_0 = 150$ ملي مول NaCl) بنسبة 159.50% و 143.31% في العقد الجذرية للصنف Histal و الصنف Malti على التوالي، و بنسبة 199.02% و 130.08% في جذور الصنف Histal و الصنف Malti على التوالي، و بنسبة 164.02%، 100.06% في أوراق الصنف Histal و الصنف Malti على الترتيب مقارنة بالشاهد (S_0A_0).



الشكل (29): تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز البرولين في العقد الجذرية و في الجذور و الأوراق لصنفي الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية.

تعد الزيادة في مستوى الحامض الأميني البرولين وسيلة دفاعية من قبل الخلايا النباتية عند تعرضها للشد الملحي إذ أن التراكيز الملحية تعيق بناء البروتينات فيزداد تركيز الأمونيا ولكن استهلاك الأمونيا لبناء البرولين يقلل من أثرها السام في النبات (Ashraf et Harris, 2004).

في حين تم تسجيل انخفاض معنوي في تركيز البرولين عند المعالجة بخلات البوتاسيوم في كل من العقد الجذرية (PRO_N / K^+_N ($r = -0.8029$) و في الجذور (PRO_R / K^+_N ($r = -0.8740$) (الجدول 07) و في الاوراق (PRO_F / K^+_F ($r = -0.8029$) (الجدول 09) لكلا صنف الفول، حيث قدرت أعلى نسبة انخفاض في الصنف Histal عند التداخل S_2A_2 بـ 44.41 % في الجذور، و بـ 24.08 % في العقد الجذرية، و بـ 33.15 % في الأوراق مقارنة بالتركيز S_2A_0 ، وفي الصنف Malti عند التداخل S_2A_2 قدرت أعلى نسبة انخفاض لتركيز البرولين في الجذور بـ 24.38 % مقارنة بالتركيز S_2A_0 ، و عند التداخل S_1A_2 بلغت أعلى نسبة انخفاض في تركيز البرولين في العقد الجذرية و في الأوراق قدرت بـ 27.45 % و بـ 29.21 % مقارنة بالتركيز S_1A_0 ، أما في غياب الملوحة فلم يسجل أي انخفاض معنوي لتركيز البرولين في الجذور و في العقد الجذرية و في الأوراق لكلا الصنفين عند إضافة خلات البوتاسيوم، حيث عند التركيز S_0A_2 قدرت أعلى نسبة انخفاض بـ 8.97 % و 8.78 % و 8.94 % في كل من العقد الجذرية و الجذور و الأوراق للvنف Histal على الترتيب مقارنة مع الشاهد، و بـ 6.74 % و 5.23 % و 3.97 % في كل من العقد الجذرية و الجذور و الأوراق للvنف Malti على التوالي مقارنة مع الشاهد.

حسب (Kant et Kafkafi, 2002) يعود سبب تراجع تركيز البرولين في الجذور و الأوراق و العقد الجذرية عند المعالجة بالبوتاسيوم الى دوره في حماية الأنزيمات من الأكسدة الناتجة عن الإجهاد الملحي، و بالتالي تقليل كمية البرولين التي ينتجها النبات كآلية حماية أو مقاومة ضد هذا الاجهاد.

تحصل (Akram et Ashraf, 2011) على نتائج مماثلة، حيث بينا أن الملوحة العالية تسببت في تراكم البرولين في أوراق نبات دوار الشمس (*Helianthus annuus L.*) في حين أدى التسميد بالبوتاسيوم إلى

انخفاضها.

4-2- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم على تركيز السكريات الكلية في العقد الجذرية

و في الجذور و في الأوراق لصنفي الفول

وفقا لنتائج جدول الملحق (7، 8) و الشكل (30) يتضح أن التراكيز الملحية أدت إلى زيادة معنوية جدا في

تركيز السكريات الكلية في كل من العقد الجذرية ($r = +0.7706$) $SUCR_N/Na^+_N$ و الجذور $SUCR_R$

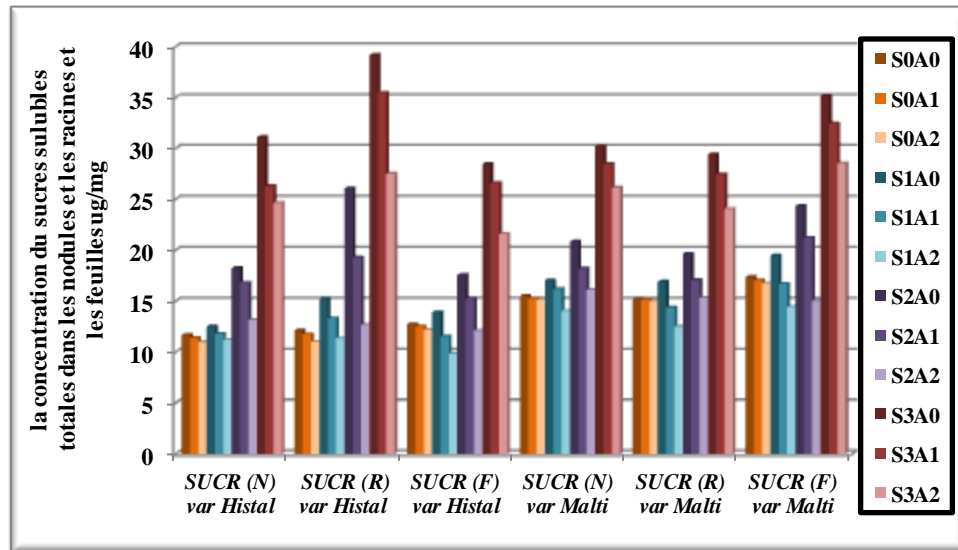
($r = +0.9003$) Na^+_N (الجدول 07) و الأوراق ($r = +0.7082$) $SUCR(f)/Na^+(f)$ (الجدول 09)

لكلا صنف الفول، و كانت أعلى نسبة زيادة في العقد الجذرية و في الجذور و في الأوراق عند المستوى

الملحي S_3A_0 ، بنسبة 165.75 % ، 223.78 % ، 123.64 % في العقد الجذرية و في جذور و أوراق

الصنف Histal على التوالي مقارنة بالشاهد، و بنسبة 94.71 % ، 93.17 % ، 106.03 % في العقد

الجذرية و في جذور و أوراق الصنف Malti على التوالي مقارنة بالشاهد.



الشكل (30): تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم على تركيز السكريات الكلية في العقد

الجذرية و في الجذور و في أوراق صنف الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية

يرجع سبب زيادة تركيز السكريات الكلية مع زيادة تراكيز الملوحة الى نشاط إنزيم Sucrose synthase وإنزيم Sucrose-phosphate-synthase تحت ظروف الإجهاد الملحي، ويكون تراكم السكريات استجابة طبيعية للإجهاد لكي تلعب دورا في التوازن الحلولي للنبات (Benhassaini *et al.*, 2012).

في حين أدت معاملات خلاص البوتاسيوم بتركيز 25 و 50 ملي مول إلى انخفاض معنوي في تركيز السكريات الكلية الذائبة في كل من العقد الجذرية ($r = -0.7611$) و الجذور ($r = -0.8502$) (الجدول 07) و الأوراق ($r = -0.6745$) (الجدول 09) $SUCR_N / K^+_N$ و الجذور $SUCR_F / K^+_F$ (الجدول 09) لكلا الصنفين، حيث في وجود الملوحة عند الصنف Histal تفوق التركيز S_2A_2 بأعلى نسبة انخفاض قدرت بـ 27.82 % في العقد الجذرية مقارنة بالتركيز الملحي S_2A_0 ، و تفوق التركيز S_3A_2 بأعلى نسبة انخفاض قدرت بـ 29.78 % في الجذور و بنسبة 24.09 % في الأوراق مقارنة بالتركيز S_3A_0 ، و في الصنف Malti تفوق التركيز S_2A_2 بأعلى نسبة انخفاض قدرت بـ 22.71 % في العقد الجذرية و بنسبة 24.38 % في الجذور و بنسبة 28.90 % في الأوراق مقارنة بالتركيز الملحي S_2A_0 .

في المقابل لم تؤدي إضافة خلاص البوتاسيوم في غياب الملوحة إلى نقصان معنوي في تركيز السكريات الكلية الذائبة، فعند التركيز S_0A_1 قدرت نسبة الإنخفاض بـ 2.80 % و 2.97 % و 1.49 %، و بنسبة 6.23 % و 9 % و 4.16 % عند التركيز S_0A_2 في العقد الجذرية و في الجذور و في الأوراق للصنف Histal على التوالي مقارنة بالشاهد، و بنسبة 1.86 % و 0.59 % و 1.55 % في العقد الجذرية و في الجذور و في الأوراق للصنف Malti على التوالي عند التركيز S_0A_1 ، و بنسبة 2.57 % و 1.37 % و 3.29 % في العقد الجذرية و في الجذور و في الأوراق على التوالي عند التركيز S_0A_2 مقارنة بالشاهد.

حسب (Gierth et Mäser, 2007) يعود سبب انخفاض تركيز السكريات الكلية الى دور البوتاسيوم و تحكمه في غلق الثغور وفتحها مما زاد من المحافظة على جهد أسموزي أقل ساليبه في الخلايا، الأمر الذي انعكس على بقاء كميات قليلة من السكريات الذائبة في الأوراق و الجذور و العقد الجذرية.

وتتفق هاته النتائج مع ما ذكره Ashraf *et al.*, (2013) على نبات القمح، حيث أكدوا أن زيادة تراكيز الملوحة أدت إلى زيادة في تراكيز السكريات الذائبة في الأوراق، في حين التسميد البوتاسي أدى إلى تقليلها.

5-2 - تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز الفلافونويدات الكلية في الجذور و تركيز بروتين Leghémoglobine في العقد الجذرية لسنفي الفول

يلاحظ من جدول الملحق (7، 8) و الشكل (31) أن مستويات الملوحة خفضت بشكل معنوي من تركيز كل

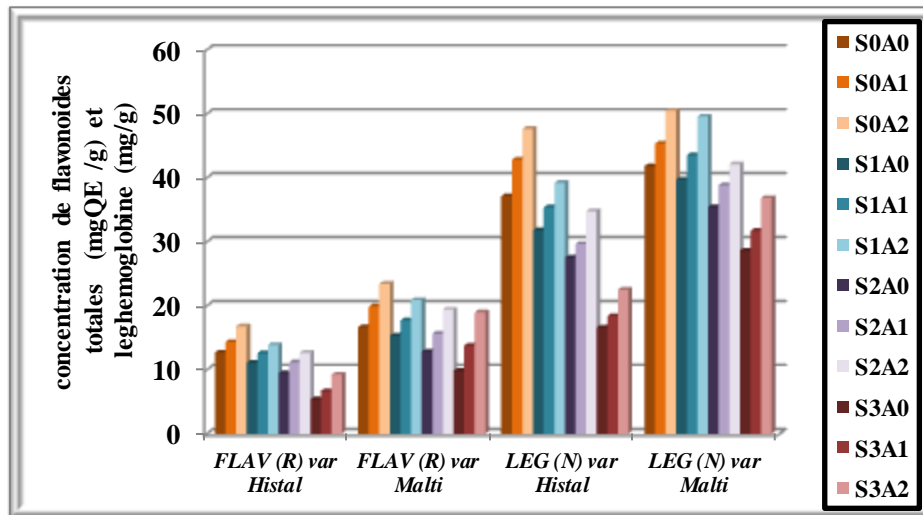
من الفلافونويدات الكلية في الجذور ($r = -0.8829$) $FLAV_R/Na^+_N$ (الجدول 07) و بروتين Leghémoglobine في العقد الجذرية ($r = -0.9240$) LEG_N/Na^+_N (الجدول 07) لكلا سنفي الفول إذ حقق المستوى الملحي S_3A_0 أعلى انخفاض معنوي مقارنة بالشاهد S_0A_0 بنسبة 57.58 % في الصنف Histal، و بنسبة 40.90 % في الصنف Malti على مستوى تركيز الفلافونويدات الكلية في الجذور، و بنسبة 55.30 % في الصنف Histal و 31.72 % في الصنف Malti على مستوى تركيز بروتين Leghémoglobine في العقد الجذرية مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

يرجع تناقص بروتين Leghémoglobine في العقد الجذرية بسبب الملوحة إلى تثبيط فعالية بعض الأنزيمات المهمة في بناء بروتين Leghémoglobine بسبب شوراد Na^+ و Cl^- و إلى انخفاض في محتوى الخلايا من الأحماض الأمينية بسبب انخفاض امتصاص بعض العناصر الضرورية لبنائها كالنيتروجين، الفسفور والكبريت (Babber *et al.*, 2000).

نتائج مماثلة تحصل عليها Vishal *et al.*, (2013) حيث ذكروا أن تركيز بروتين Leghémoglobine في العقد الجذرية لنبات البرسيم (*Trifolium alexandrium* L.) تناقص عند الري بتراكيز عالية من

.NaCl

كما بين (Agati *et al.*, 2011) أن سبب انخفاض محتوى الفلافونويدات الكلية في الجذور عند التراكيز العالية للملوحة مرتبط بالتأثير الضار لسمية الملح على الجذور حيث يغير إجهاد الملوحة شكل الجذور وصفات الشعيرات الجذرية، الأمر الذي انعكس على انخفاض تركيز الفلافونويدات الكلية في الجذور. تحصل (Dardanelli *et al.*, 2010) على نتائج مماثلة حيث لاحظوا انخفاض تركيز الفلافونويدات الكلية في جذور نبات فول الصويا بسبب الملوحة العالية.



الشكل (31): تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز الفلافونويدات الكلية في الجذور و تركيز بروتين Leghémoglobine في العقد الجذرية لاصنفي الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية

بينما معاملات خلات البوتاسيوم أدت إلى زيادة معنوية في تركيز الفلافونويدات الكلية في جذور كلا الصنفين (الجدول 07) $FLAV_R / K_N^+$ ($r = + 0.8693$) ، و في تركيز بروتين Leghémoglobine في العقد الجذرية لكلا الصنفين (الجدول 07) LEG_N / K_N^+ ($r = +0.8950$) و هذا في وجود و في غياب الملوحة حيث حققت المعاملة S_{0A_2} في غياب الملوحة زيادة معنوية على مستوى تركيز الفلافونويدات بنسبة قدرها 32.20 % و 40.78 % في كل من الصنف Histal و الصنف Malti على التوالي، و بنسبة قدرها

28.27 % في الصنف Histal و 20.75 % الصنف Malti على مستوى تركيز بروتين Leghémoglobine مقارنة بالشاهد.

أما في وجود الملوحة فكان أعلى معدل ارتفاع في تركيز كل من الفلافونويدات الكلية في الجذور و تركيز بروتين Leghémoglobine في العقد الجذرية عند التركيز S_3A_2 وهذا بنسبة 71.88 % و 92.88 % في الصنف Histal و الصنف Malti على التوالي في الفلافونويدات الكلية في الجذور، و بنسبة 35.54 % و 28.77 % الصنف Histal و الصنف Malti على الترتيب في تركيز بروتين Leghémoglobine في العقد الجذرية مقارنة بالتركيز الملحي S_3A_0 .

يعود سبب هذا التزايد في تركيز الفلافونويدات الكلية في الجذور و تركيز بروتين Leghémoglobine في العقد الجذرية إلى دور البوتاسيوم في تنظيم امتصاص العناصر الغذائية، حيث يخفض من امتصاص الأيونات المسببة للملوحة كالصوديوم والكلوريد مما يؤدي إلى اختزال تأثيراتها الضارة في العمليات الأيضية بينما يزداد امتصاص العناصر الأساسية لنمو وبناء البروتين كالنيتروجين والفسفور والكبريت، كما أن للبوتاسيوم دور في تنشيط انزيمات تخليق الفلافونويدات ونقلها الى الجذور (Wang *et al.*, 2013).

وتتفق هذه النتائج مع ما توصل له كل من Wyn *et al.*, (2002) على نبات فول الصويا حيث لاحظ ارتفاع محتوى الفلافونويدات الكلية في الجذور عند المعاملة بالبوتاسيوم.

و تتفق كذلك مع نتائج Sanghmitra *et al.*, (2014) الذين لاحظوا ارتفاع محتوى بروتين Leghémoglobine في العقد الجذرية لنبات العدس (*Lens culinaris Medik*) بارتفاع تراكيز البوتاسيوم في وسط النمو.

6-2 - تأثير مستويات الملوحة ومعاملات خلاص البوتاسيوم على تركيز الكلوروفيل الكلي في الأوراق

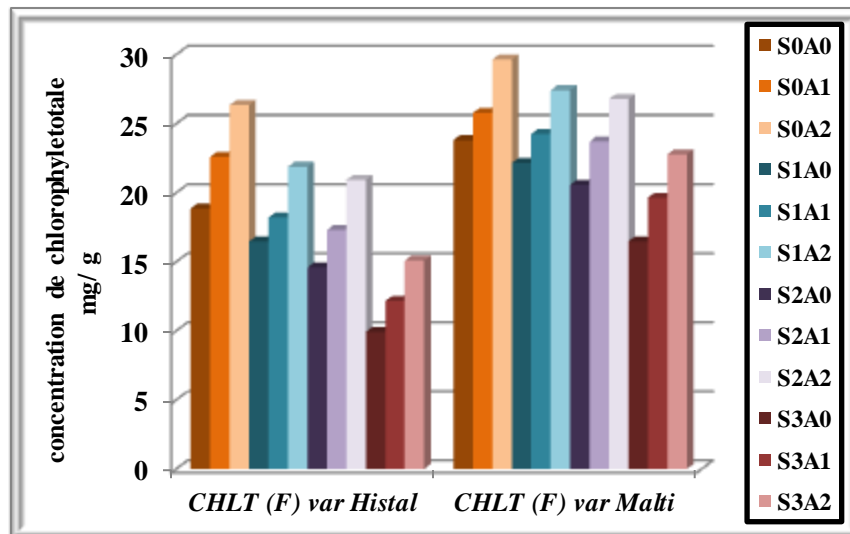
لصنفي الفول

من خلال جدول الملحق (7، 8) و الشكل (32) يتبين أن تركيز الكلوروفيل الكلي في الأوراق تناقص بشكل معنوي ($r = -0.9160$) $CHLT_F / Na^+_F$ (الجدول 09) بزيادة تراكيز الملوحة في كلا صنف الفول،

ف عند التركيز الملحي S_3A_0 بلغ أعلى مستوى انخفاض بنسبة 47.40 % في الصنف Histal و بنسبة 29.48 % في الصنف Malti مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

فسر (Shahbaz *et al.*, (2011) انخفاض تركيز الكلوروفيل بسبب الملوحة بأنه يعود إلى تأثير أيونات الصوديوم والكلور على الأنزيمات المهمة في تخليق الكلوروفيل والمسؤولة على بناء مادة الكلوروفيلد (Chlorophilled) التي تعد الأصل المباشر في بناء صبغة الكلوروفيل.

نتائج مماثلة تحصل عليها كل من (Ali *et al.*, (2004) بملاحظتهم انخفاض محتوى الكلوروفيل الكلي في أوراق نبات الأرز (*Oryza sativa* L.) بسبب الملوحة العالية.



الشكل (32): تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز الكلوروفيل الكلي

في الأوراق لصنفي الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية

مقابل ذلك تزايد تركيز الكلوروفيل الكلي معنوياً في أوراق صنفي الفول بإضافة معاملات خلات البوتاسيوم $CHLT_F/K_F^+$ (الجدول 09)، ففي غياب الملوحة عند التركيز S_0A_2 كان أعلى معدل ارتفاع بنسبة 39.79 % و 24.48 % في الصنف Histal و الصنف Malti على التوالي مقارنة بالشاهد

S_0A_0 ، و في وجود الملوحة عند التركيز S_3A_2 كانت أعلى نسبة ارتفاع في كلا الصنفين 52.11 % في الصنف Histal، و بنسبة 38.14 % في الصنف Malti مقارنة بالتركيز الملحي S_3A_0 . يعود سبب هذه الزيادة في تركيز الكلوروفيل الكلي إلى دور البوتاسيوم في التأثير على الهرمونات المحفزة لتكوين الكلوروفيل في الأوراق وزيادة محتواها ومن هذه الهرمونات Cytokinine الضروري لنشوء الصانعات الخضراء (الخفاجي و آخرون، 2000).

وتتفق هذه النتائج مع ما توصل له كل من Shirazi *et al.*, (2005) على نبات القمح المزروع تحت تراكيز ملحية مختلفة، حيث لاحظوا ارتفاع محتوى الكلوروفيل الكلي في الأوراق عند المعاملة بالبوتاسيوم.

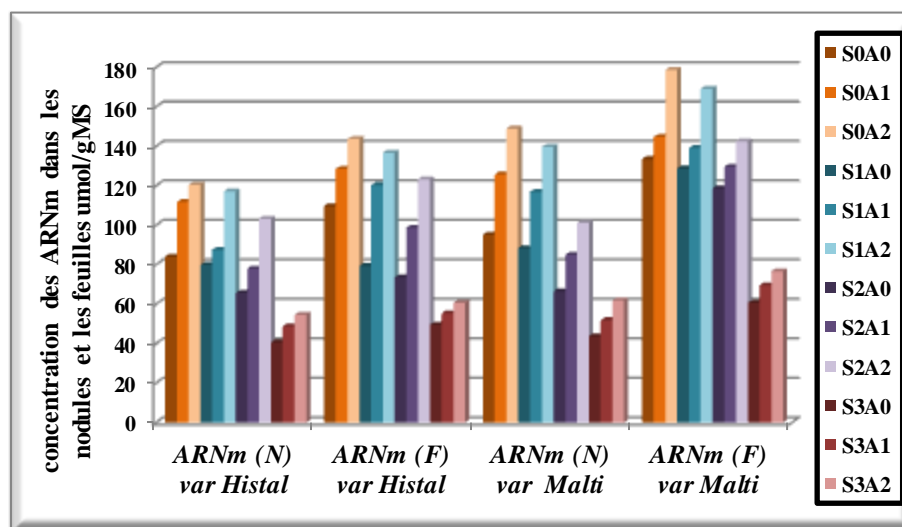
7-2- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلاص البوتاسيوم على تركيز ARNm في العقد الجذرية و

في أوراق صنف الفول

من خلال النتائج الظاهرة في جدول الملحق (7، 8) و الشكل (33) يتضح أن ارتفاع مستويات NaCl قد أدى إلى انخفاض معنوي في تركيز ARNm في العقد الجذرية $ARNm_N / Na^+_N$ ($r=-0.9198$) الجدول (07) و في الأوراق $ARNm_F / Na^+_F$ ($r=-0.9483$) (الجدول 09) لكلا صنفي الفول وذلك ابتداء من التركيز $S_1A_0 = 25$ ملي مول و انتهاء بالتركيز $S_3A_0 = 150$ ملي مول الذي بلغ الانخفاض اقصاه عنده بنسبة 51.67 % و 54.08 % في العقد الجذرية لكل من الصنف Histal و الصنف Malti على التوالي، و بنسبة 54.79 % و 54.85 % في أوراق الصنف Histal و الصنف Malti على الترتيب مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

و من نفس الملحق (7، 8) يتضح وجود زيادة معنوية في تركيز ARNm بفعل معاملات خلاص البوتاسيوم في كل من العقد الجذرية $ARNm_N / K^+_N$ ($r=+0.9725$) الجدول (07) و في الأوراق $ARNm_F / K^+_F$ ($r=+0.9442$) (الجدول 09) لكلا صنفي الفول، حيث حققت المعاملة $S_0A_2 = 50$ ملي مول من CH_3CO_2K أعلى معدل ارتفاع في تركيز ARNm في العقد الجذرية و في أوراق كلا

صنفي الفول في غياب الملوحة، وهذا بنسبة 43.51% و 31.18% في العقد الجذرية و في أوراق الصنف Histal على التوالي، و بنسبة 46.14% و 33.96% في العقد الجذرية و في أوراق الصنف Malti على التوالي مقارنة بالشاهد S_0A_0 .



الشكل (33): تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم على تركيز الـARNm في العقد الجذرية و في أوراق صنف الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية

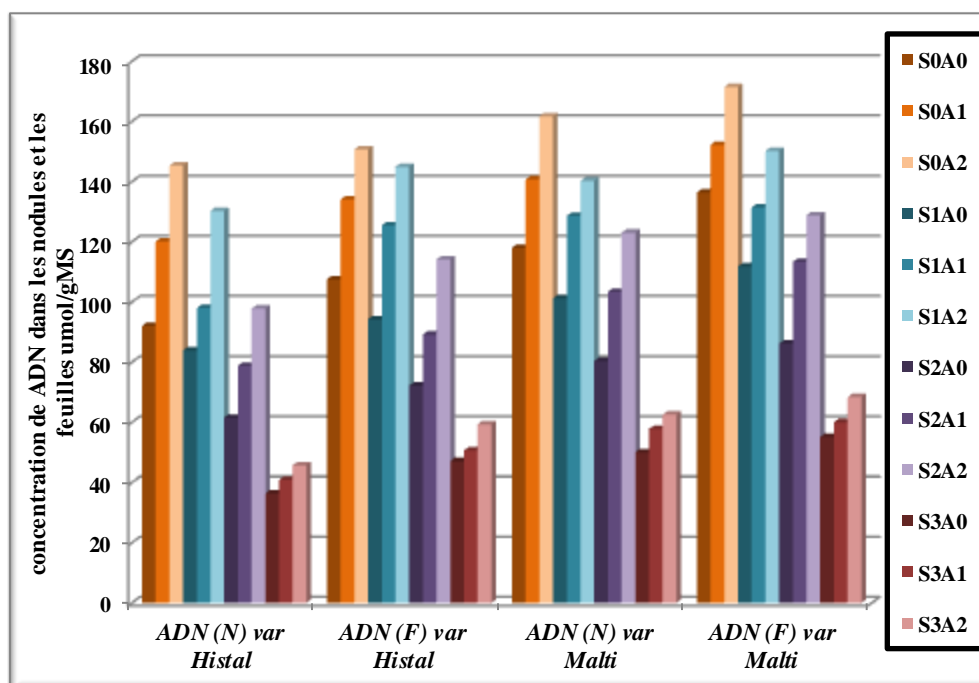
أما في وجود الملوحة فقد حقق التداخل عند المستوى S_2A_2 أعلى قيمة ارتفاع في تركيز الـARNm بنسبة 57.51% و 67.70% في كل من العقد الجذرية و أوراق الصنف Histal على التوالي مقارنة مع التركيز الملحي S_2A_0 ، في حين الصنف Malti بلغت أعلى نسبة ارتفاع له في تركيز الـARNm في كل من العقد الجذرية و الأوراق عند التركيز S_1A_2 بنسبة 58.10% و 31.49% على الترتيب مقارنة مع التركيز الملحي S_1A_0 .

8-2- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم على تركيز الـADN في العقد الجذرية و في

أوراق صنف الفول

يلاحظ من نتائج جدول الملحق (7، 8) و الشكل (34) أن المستويات الملحية أثرت بشكل معنوي في التقليل من تركيز الـADN في العقد الجذرية ($r = -0.9607$) (ADN_N / Na^+_N) (الجدول 07) و في أوراق صنف

الفول ADN_F/Na^+ (الجدول 09)، إذ حقق المستوى $S_3A_0 = 150$ ملي مول $NaCl$ أعلى نسبة انخفاض قياسا بالمستويات الأخرى ($S_1A_0 = 25$ ، $S_2A_0 = 50$ ملي مول) و أعطى نسبة انخفاض قدرت بـ 60.42 % و 56.20 % في كل من العقد الجذرية و في أوراق الصنف Histal على التوالي، و قدرت بـ 57.53 % و 59.52 % في العقد الجذرية و في أوراق الصنف Malti على التوالي مقارنة بالشاهد S_0A_0 .



الشكل (34): تأثير معاملات الملوحة و مستويات البوتاسيوم على تركيز الـADN في العقد الجذرية و في أوراق صنف الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية.

و على العكس من ذلك ارتفع تركيز الـADN عند المعاملة بخلات البوتاسيوم بشكل معنوي في العقد الجذرية ADN_N/K^+ (الجدول 07) و في الأوراق ADN_F/K^+ ($r=+0.9766$) ($r=+0.9795$) حيث بلغت أعلى زيادة ارتفاع في غياب الملوحة عند التركيز $S_0A_2 = 50$ ملي مول بنسبة 44.91 % و 40.13 % في العقد الجذرية و في أوراق الصنف Histal على التوالي، و

بنسبة 49.80 % و 45.50 % في العقد الجذرية و في أوراق الصنف Malti على الترتيب مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

أما في وجود الملوحة فقد بلغت أعلى زيادة لتركيز الـADN عند التداخل ($S_1A_2=25$ ملي مول + 50 ملي مول من CH_3CO_2K) بنسبة 55.27 % و 53.72 % في العقد الجذرية و في الأوراق للصنف Histal على التوالي مقارنة مع التركيز الملحي S_1A_0 ، و في الصنف Malti قدرت أعلى نسبة ارتفاع في تركيز الـADN عند التداخل ($S_2A_2=50$ ملي مول + 50 ملي مول من CH_3CO_2K) بـ 52.90 % في العقد الجذرية، و بـ 49.48 % في الأوراق مقارنة مع التركيز الملحي S_2A_0 .

حسب (Hasegawa *et al.*, 2000) يعود سبب انخفاض تركيز الأحماض النووية في العقد الجذرية و في الأوراق لكلا الصنفين إلى التأثير السمي لأيونات Na^+ و Cl^- ، إذ يؤثر كل منهما على الإنقسام و الإتساع الخلوي و بالتالي تتأثر مراحل بناء الـADN، كما أن الملوحة تثبط فعالية الأنزيمات الضرورية لبناء الأحماض النووية.

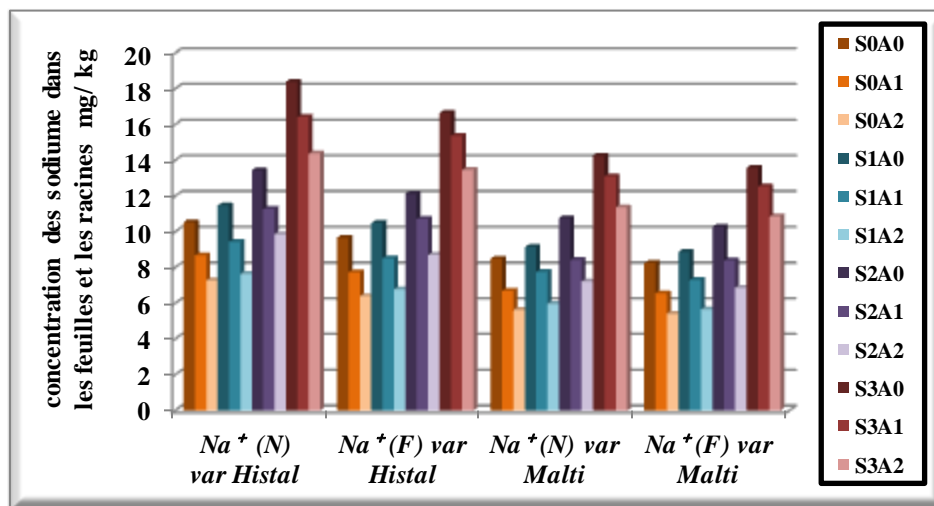
كما يعود الدور الإيجابي للبوتاسيوم في زيادة تركيز الأحماض النووية في العقد الجذرية و في الأوراق إلى دوره في تمثيل الأحماض النووية في النبات حيث يقوم بتنشيط و نقل الأنزيمات الضرورية لبناء الاحماض النووية (Anschütz *et al.*, 2014).

2-9- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلاص البوتاسيوم على العناصر المعدنية لصنفي الفول

أ – تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلاص البوتاسيوم على تركيز الصوديوم في العقد الجذرية و في أوراق صنف الفول

من خلال النتائج المدونة في جدول الملحق (09) و الشكل (35) يتضح أن تركيز الصوديوم في العقد الجذرية و في الأوراق تزايد بشكل معنوي بتزايد تراكيز $NaCl$ ($S_1=25$ ، $S_2=50$ ، $S_3=150$) ميلي مول في كلا صنف الفول، حيث قدرت نسبة الإرتفاع في العقد الجذرية بـ 8.92 %، 27.51 %، 74.57 % على التوالي في الصنف Histal و بنسبة 7.64 %، 26.47 %، 67.76 % على الترتيب في

الصف Malti مقارنة بالشاهد S_0A_0 ، و قدرت نسبة الإرتفاع في الأوراق بـ 8.59 % ، 25.56 % ،
72.36 % على التوالي في الصف Histal ، و بنسبة 7.75 % ، 24.60 % ، 64.60 % على الترتيب في
الصف Malti مقارنة بالشاهد S_0A_0 .



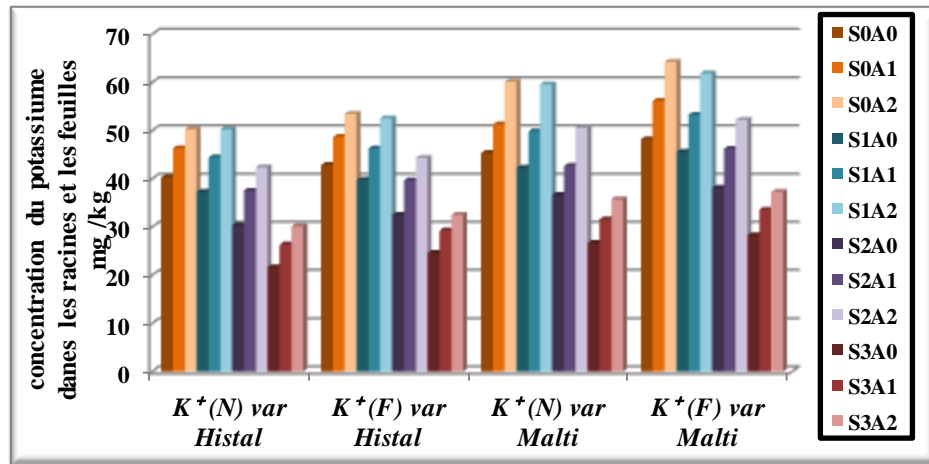
الشكل (35) : تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز الصوديوم في العقد الجذرية وفي أوراق صنف الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية

على العكس من ذلك عند إضافة معاملات خلات البوتاسيوم تناقص تركيز الصوديوم بشكل معنوي جدا لكلا صنف الفول في كل من العقد الجذرية ($r = -0.9694$) Na^+_N/K^+_N (الجدول 07) و في الأوراق Na^+_F ($r = -0.9674$) $/K^+_F$ (الجدول 09) ، حيث قدرت أعلى نسبة انخفاض في غياب الملوحة عند التركيز S_2A_0 بـ 30.92 % و 33.74 % في العقد الجذرية و في أوراق الصف Histal على التوالي، و بنسبة 33.76 % و 34.30 % في العقد الجذرية و في أوراق الصف Malti على التوالي مقارنة بالشاهد S_0A_0 ، أما في وجود الملوحة عند التداخل S_1A_2 بلغت أعلى نسبة انخفاض في تركيز الصوديوم قدرت بـ 33.30 % في العقد الجذرية و بـ 35.64 % في أوراق الصف Histal، و قدرت بـ 34.64 % و 36.22 % في العقد الجذرية و في أوراق الصف Malti على التوالي مقارنة بالتركيز الملحي S_1A_0 .

ب- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز البوتاسيوم في العقد الجذرية و في

أوراق صنف الفول

تشير نتائج جدول الملحق (09) و الشكل (36) الى حدوث انخفاض معنوي في تركيز البوتاسيوم عند المعاملة بتركيز NaCl في العقد الجذرية (K^+_N / Na^+_N ($r = -0.9694$) الجدول (07) و في الأوراق (K^+_F / Na^+_F) (الجدول 09) لكلا صنف الفول، حيث بلغ مستوى الإنخفاض عند التراكيز ($S_3A_0 = 150$ ملي مول) نسبة 7.37%، 24.61%، 46.24% على التوالي في العقد الجذرية للسنف Histal، و بنسبة 6.81%، 19.29%، 41.22% على الترتيب في العقد الجذرية للسنف Malti و قدرت نسبة الإنخفاض في الأوراق بـ 7.21%، 24.16%، 42.61% على التوالي في السنف Histal، و بنسبة 5.47%، 20.85%، 41.33% على الترتيب في السنف Malti مقارنة بالشاهد S_0A_0 .



الشكل (36) : تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز البوتاسيوم في العقد

الجذرية و في أوراق صنف الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية

في حين إضافة خلات البوتاسيوم كسماد بتركيز ($S_0A_1 = 25$ ، $S_0A_2 = 50$ ملي مول) أدت إلى تزايد

تركيز البوتاسيوم في كل من العقد الجذرية وفي الأوراق لكلا صنف الفول في وجود وفي غياب الملوحة

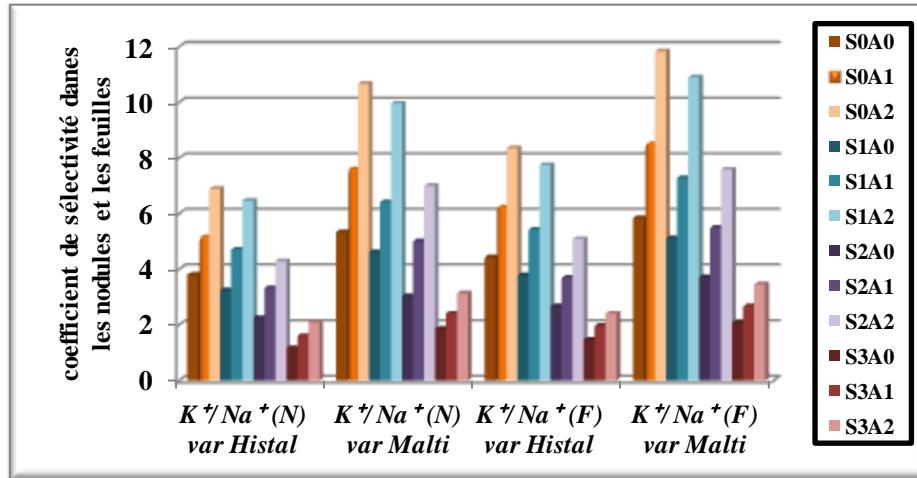
ففي غياب الملوحة عند التركيز S_0A_2 بلغ أعلى معدل ارتفاع في تركيز البوتاسيوم نسبة 24.81 % و 32.57 % في العقد الجذرية للصنف Histal و الصنف Malti على التوالي، و بنسبة 24.84 % و 33.26 % في أوراق الصنف Histal و الصنف Malti على التوالي مقارنة بالشاهد S_0A_0 . أما في وجود الملوحة بلغت أعلى قيمة لتزايد تركيز البوتاسيوم عند التداخل S_2A_2 بنسبة 39.57 % و 36.48 % في العقد الجذرية و في أوراق الصنف Histal على التوالي، و بنسبة 38.12 % و 36.89 % في العقد الجذرية و في أوراق الصنف Malti مقارنة مع التركيز الملحي S_2A_0 .

ج- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلاص البوتاسيوم على معامل الإنتقاء في العقد الجذرية وفي أوراق صنف الفول

تشير نتائج جدول الملحق (09) و الشكل (37) إلى أن مستويات الملوحة (S_3A_0 ، S_2A_0 ، S_1A_0) خفضت بشكل معنوي من معامل الإنتقاء في كل من العقد الجذرية ($r = -0.9089$) $K^+/Na^+_N / Na^+_N$ (الجدول 07) و في الأوراق ($r = -0.9157$) $K^+/Na^+_F / Na^+_F$ (الجدول 09) لصنف الفول وهذا بنسبة 14.69 %، 40.94 %، 69.29 % على التوالي في العقد الجذرية للصنف Histal، و بنسبة 13.50 %، 42.96 %، 65.10 % على التوالي في العقد الجذرية للصنف Malti، و بنسبة 18.95 %، 39.72 %، 66.81 % على التوالي في أوراق الصنف Histal، و بنسبة 12.32 %، 36.47 %، 60.97 % على الترتيب في أوراق الصنف Malti مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

في حين أدت إضافة معاملات خلاص البوتاسيوم إلى ارتفاع معنوي في معامل الإنتقاء في العقد الجذرية ($r = +0.9711$) K^+/Na^+_N (الجدول 07) و في الأوراق ($r = +0.9794$) K^+/Na^+_F (الجدول 09) لكلا الصنفين، حيث في وجود الملوحة وعند التداخل S_1A_2 قدرت أعلى نسبة ارتفاع في الصنف Histal بـ 99.07 % في العقد الجذرية وبـ 105.02 % في الأوراق مقارنة مع التركيز الملحي S_1A_0 ، و عند التداخل S_2A_2 قدرت أعلى نسبة ارتفاع في معامل إنتقاء العقد الجذرية للصنف Malti بـ 130.26 % مقارنة

بالتركيز الملحي S_2A_0 ، وعند التداخل S_1A_2 قدرت أعلى نسبة ارتفاع في معامل انتقاء أوراق الصنف Malti بـ 112.89 % مقارنة مع التركيز الملحي S_1A_0 .



الشكل (37) : تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على معامل الإنتقاء K^+/Na^+ في العقد الجذرية و في أوراق صنف الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية

أما في غياب الملوحة عند إضافة معاملات خلات البوتاسيوم سجلت أعلى نسبة ارتفاع في معامل الإنتقاء في العقد الجذرية و في أوراق صنف الفول عند التركيز ($S_0A_2 = 50$ ملي مول CH_3CO_2K) قدرت بـ 81.10 %، 100.18 في العقد الجذرية للصنف Histal و الصنف Malti على التوالي، و قدرت بـ 88.48 %، 102.73 % في أوراق الصنف Histal و الصنف Malti على الترتيب مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

حسب Blumwald, (2000) يعزى ازدياد تركيز شوارد الصوديوم المترافق مع انخفاض تركيز شوارد البوتاسيوم و انخفاض معامل الإنتقاء بازدياد تركيز الأملاح في وسط النمو إلى منافسة شوارد الصوديوم لشوارد البوتاسيوم في الدخول عبر منافذ الشوارد الموجبة العامة والمنافذ الخاصة بشوارد البوتاسيوم. أما إضافة البوتاسيوم فأدت إلى انخفاض تركيز الصوديوم وزيادة تركيز البوتاسيوم وزيادة في معامل الإنتقاء في كل من العقد الجذرية و الأوراق وهذا راجع لفاعلية أيون (K^+) في تقليل التأثيرات السمية لأيون Na^+

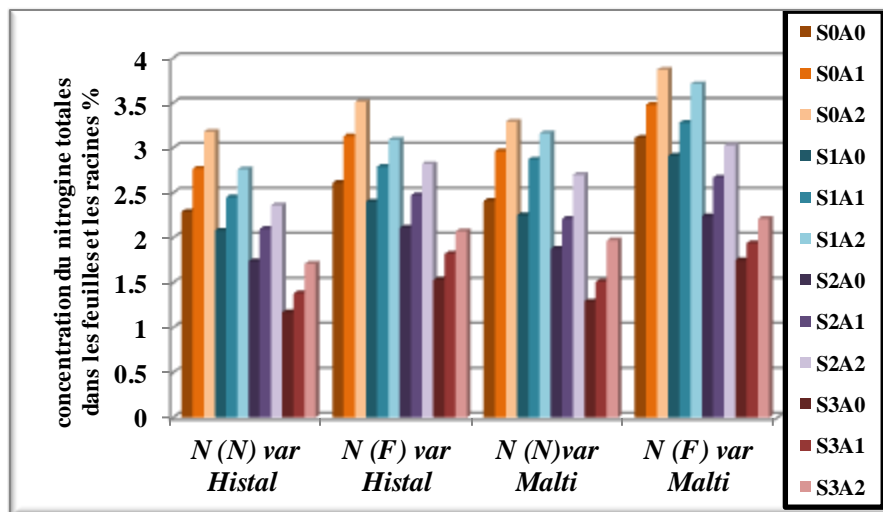
ولدوره في تحسين الحالة الغذائية للنبات من خلال إعادة التوازن بين العناصر الغذائية في التربة والنبات وكذلك لدوره في إعادة تنظيم الجهد الأسموزي داخل النبات (Bar-Tal *et al.*, 2004). وهذا يتوافق مع ما توصل إليه El-Lethy *et al.*, (2013) الذين لاحظوا انخفاض في تركيز البوتاسيوم و معامل الإنتقاء في جذور و أوراق نبات القمح، و يقابله ارتفاع في تركيز الصوديوم، في حين إضافة البوتاسيوم أدت الى ارتفاع تركيز البوتاسيوم و معامل الإنتقاء و انخفاض تركيز الصوديوم في كل من الأوراق و الجذور.

د- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز النيتروجين الكلي في العقد الجذرية و في أوراق صنف الفول

يظهر من نتائج جدول الملحق (09) و الشكل (38) أن تركيز النيتروجين الكلي في العقد الجذرية و في أوراق صنف الفول قد تناقص بشكل معنوي بزيادة تراكيز الملوحة N_N / Na^+_N ($r=-0.9395$) (الجدول 07) N_F / Na^+_F ($r=-0.9485$) (الجدول 09)، حيث تفوق تركيز الملوحة S_3A_0 على التركيزين S_2A_0 و S_1A_0 في أعلى نسبة انخفاض قدرت بـ 48.90 % و 46.47 % في العقد الجذرية في كل من الصنف Histal و الصنف Malti على التوالي، و بنسبة 41.37 %، 43.72 % في أوراق كل من الصنف Histal و الصنف Malti على الترتيب مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

إن تناقص تركيز النيتروجين في العقد الجذرية و في الأوراق بزيادة تركيز الملوحة يعود إلى تناقص عدد العقد الجذرية والذي أدى إلى انخفاض في تثبيت النيتروجين (Annie et John, 2003).

نتائج مشابهة وجدها كل من Dhanapackiam et Muhammad, (2010) من انخفاض في تركيز النيتروجين الكلي في العقد الجذرية و في أوراق نبات السيسبان (*Sesbania grandiflora*) عند التراكيز العالية للملوحة.



الشكل (38): تأثير مستويات الملوحة و معاملات خللات البوتاسيوم على تركيز النيتروجين الكلي في العقد الجذرية و في أوراق صنفى الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية

كما يتضح من نفس الجدول و الشكل إن اضافة معاملات خللات البوتاسيوم أدت إلى زيادة معنوية في تركيز النيتروجين الكلي في كل من العقد الجذرية (N_N / K^+_N (الجدول 07) و في الأوراق (N_F / K^+_F (الجدول 09) لكلا صنفى الفول، ففي غياب الملوحة تفوق التركيز S_0A_2 على التركيز S_0A_1 و أعطى أعلى زيادة في تركيز النيتروجين الكلي قدرت بـ 38.86 % و 44.81 % في العقد الجذرية للصنف Histal و للصنف Malti على التوالي، و قدرت بـ 34.86 % و 37.91 % في أوراق كل من الصنف Histal و الصنف Malti على الترتيب مقارنة الشاهد S_0A_0 .

أما المعاملة بخلات البوتاسيوم في وجود الملوحة فأعطت أعلى زيادة في تركيز النيتروجين الكلي عند التداخل S_1A_2 (25 ملي مول CH_3CO_2K + 50 ملي مول $NaCl$) في كلا الصنفين بنسبة قدرت بـ 42.30 %، 39.58 % في العقد الجذرية و في أوراق الصنف Histal على التوالي، و بنسبة قدرت بـ 45.95 %، 39.62 % في العقد الجذرية و أوراق الصنف Malti على الترتيب مقارنة مع التركيز الملحي S_1A_0 .

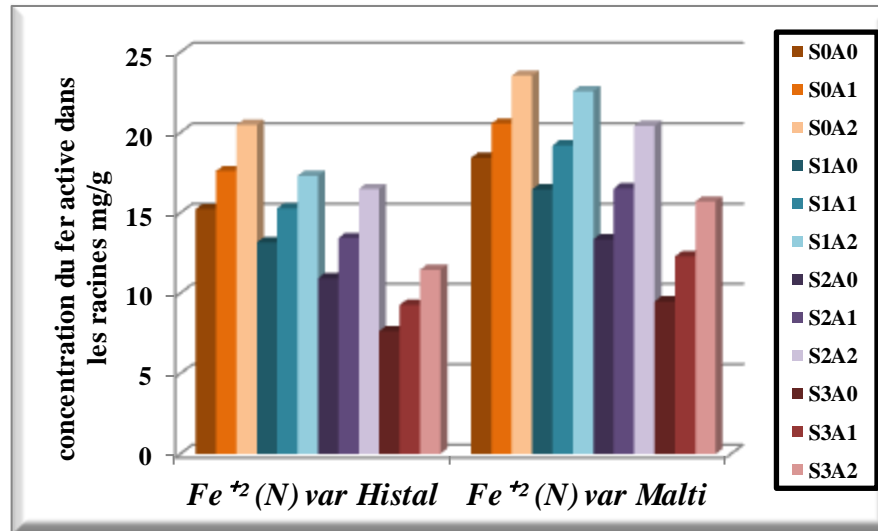
حسب (Fathi et al., 2016) يعود سبب زيادة تركيز النيتروجين في العقد الجذرية و في الأوراق إلى زيادة تثبيت النيتروجين في العقد الجذرية و هذا راجع إلى دور البوتاسيوم في نقل نواتج التركيب الضوئي إلى العقد الجذرية و تنشيط إنزيم Nitrogénase المسؤول عن تثبيت النيتروجين في العقد الجذرية حيث انعكست هذه الزيادة على الأوراق كذلك.

نتائج مماثلة تحصل عليها (Abolhassan, 2006) حيث لاحظ زيادة في تركيز النيتروجين الكلي في العقد الجذرية لثلاثة اصناف من نبات البرسيم (*Medicago sativa L.*) المعامل بسماذ البوتاسيوم.

ه- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز الحديد النشط في العقد الجذرية لصنفي الفول

تشير نتائج جدول الملحق (09) و الشكل (39) أن تركيز الحديد النشط في العقد الجذرية لصنفي الفول تناقص معنوياً بفعل تراكيز الملوحة (Fe^{+2}_N / Na^+_N (الجدول 07)، و تبين النتائج أنه كلما زادت مستويات الملوحة في التربة انخفض تركيز الحديد النشط في العقد الجذرية ليبلغ أعلى انخفاض عند التركيز S_3A_0 بنسبة 49.83 % في الصنف Histal و بنسبة 48.47 % في الصنف Malti بالمقارنة مع الشاهد S_0A_0 .

يعود سبب انخفاض تركيز الحديد النشط في العقد الجذرية إلى الزيادة في مستوى أملاح مياه الري والتي تؤدي إلى تغير الرقم الهيدروجيني لمحلول التربة ومن المعروف أن بعض العناصر الغذائية كالحديد حساسة للرقم الهيدروجيني و بالتالي قلة تيسره للنبات و انخفاض مستواه في العقد الجذرية. كذلك قد يعزى السبب إلى التأثير السام لكل من أيونات (Na^+) و (Cl^-) التي تؤدي إلى خفض القدرة الإنتخابية على الإمتصاص و بالتالي التأثير على امتصاص العناصر الضرورية مثل الحديد (Esmat et al., 2000).



الشكل (39): تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز الحديد النشط في العقد الجذرية لسنفي الفول خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية

كما اتضح من نفس جدول الملحق (09) تفوق التركيز ($S_0A_2 = 50$ ملي مول) على التركيز ($S_0A_1 = 25$ ملي مول) من خلات البوتاسيوم (CH_3CO_2K) في الرفع من تركيز الحديد النشط بشكل معنوي (الجدول 07) سواء في وجود أو في غياب الملوحة، حيث قدرت أعلى نسبة ارتفاع في غياب الملوحة بـ 34.40% في العقد الجذرية للسنف Histal و بـ 34.85% في العقد الجذرية للسنف Malti مقارنة مع الشاهد S_0A_0 .

في حين قدرت أعلى قيمة ارتفاع في وجود الملوحة عند التركيز S_1A_2 بنسبة 43.46% في العقد الجذرية للسنف Histal و بنسبة 46.89% في العقد الجذرية للسنف Malti مقارنة بالتركيز الملحي S_1A_0 . تعود هاته الزيادة في تركيز الحديد النشط إلى دور البوتاسيوم في تحفيز امتصاص العناصر الصغرى والكبرى بما في ذلك الحديد (Aleman et al., 2011).

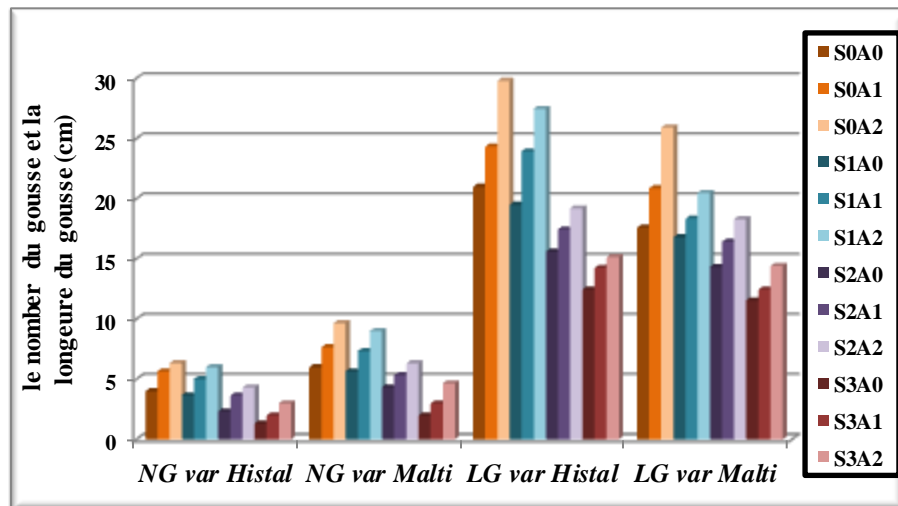
.II مرحلة النمو الثمري

استغرقت مرحلة النمو الثمري (من بداية الإزهار حتى نضج الثمار) مدة شهرين و نصف، في هذه الفترة تكون العقد الجذرية غير نشطة ذات لون أبيض لغياب بروتين Leghémoglobine لذلك تم تسليط الضوء على الجزء الخضري فقط، حيث أخذت القياسات المورفولوجية و الفيزيولوجية و الجزيئية.

1- الدراسة المورفولوجية

1-1- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على عدد و طول القرون لصنفي الفول

تشير النتائج الموضحة في جدول الملحق (10) و الشكل (40) إلى أن مستويات الملوحة أدت إلى انخفاض معنوي في كل من عدد القرون ($r = -0.8668$) و طولها ($r = -0.7544$) (الجدول 11) لكلا صنفي الفول، حيث عند التركيز $S_3A_0 = 150$ ملي مول بلغت أعلى نسبة انخفاض قدرت بـ 66.75 % و 55.66 % في عدد القرون لكل من الصنف Histal و الصنف Malti على التوالي، و بنسبة 50.57 % و 42.08 % في طول القرون لكل من الصنف Histal و الصنف Malti على الترتيب مقارنة بالشاهد S_0A_0 .



الشكل (40): تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على عدد و طول القرون لصنفي الفول خلال مرحلة النمو الثمري

يرجع سبب انخفاض عدد القرون و طولها في كلا صنفى الفول إلى قلة توفر الماء بسبب الملوحة و إلى انخفاض قدرة انزيمات بناء البروتينات بسبب شوارد Na^+ و Cl^- و بالتالي عدم توفر البروتينات بكميات كافية لبناء القرون (Tavakkoli *et al.*, 2010).

تحصل انتصار و مجيد، (2011) على نتائج مماثلة، حيث لاحظوا انخفاض طول و عدد القرون في نبات البازلاء (*Pisum sativum* L.) نتيجة الري بمياه مالحة.

في حين أدت المعاملة بخلات البوتاسيوم في غياب و في وجود الملوحة الى زيادة معنوية في عدد القرون NG/K^+_F ($r=+0.8779$) و في طولها NG/K^+_F ($r=+0.8674$) (الجدول 11)، حيث في غياب الملوحة تفوق التركيز $S_0A_2 = 50$ ملي مول على التركيز $S_0A_1 = 25$ ملي مول و أعطى أعلى نسبة زيادة قدرت بـ 58.25 % و 61 % في عدد القرون لكل من الصنف Histal و الصنف Malti على التوالي، و أعلى نسبة زيادة في طول القرون قدرت بـ 54.42 % 55.52 % لكل من الصنف Histal و الصنف Malti على التوالي مقارنة الشاهد S_0A_0 .

في حين أعطت المعاملة بخلات البوتاسيوم في وجود الملوحة اعلى نسبة زيادة عند التداخل $S_3A_2 = 150$ ملي مول $NaCl$ + 50 ملي مول CH_3CO_2K) قدرت بـ 125 % في عدد قرون الصنف Histal و بـ 133 % في عدد قرون الصنف Malti مقارنة بالتركيز الملحي S_3A_0 ، و أعلى نسبة زيادة في طول القرون عند التداخل ($S_1A_2 = 25$ ملي مول $NaCl$ + 50 ملي مول CH_3CO_2K) قدرت بـ 64.15 % و 64.54 % لكل من الصنف Histal و الصنف Malti على التوالي مقارنة بالتركيز الملحي S_1A_0 .

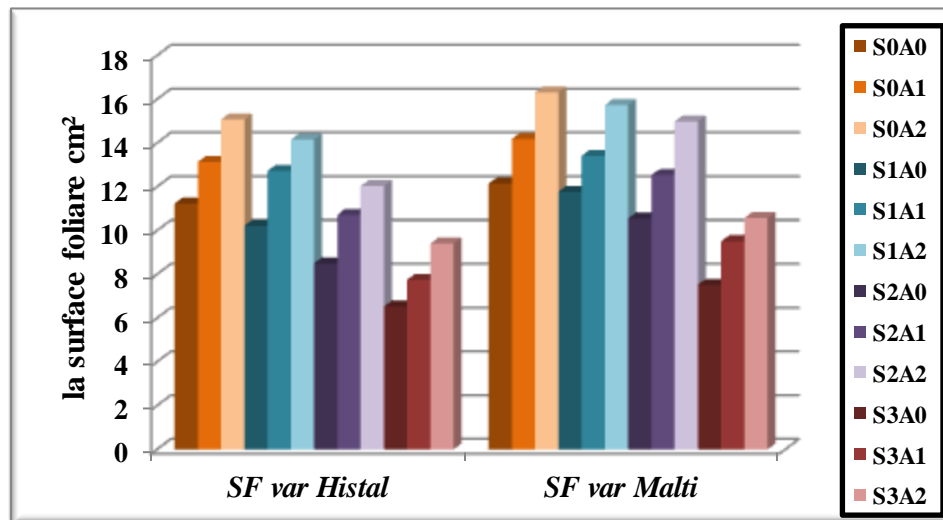
يرجع سبب زيادة عدد قرون صنفى الفول و طولها إلى تأثير البوتاسيوم الإيجابي في انقسام الخلايا نتيجة تنشيطه للأنظمة الأنزيمية ، كما يقوم بنقل الكربوهيدرات المصنعة وانتقالها إلى البذور و بالتالي زيادة عدد القرون و طولها (Adrian, 2004).

وهذا نفس ما لاحظته كل من سعدون وآخرون، (2010) على نبات البازلاء (*Pisum sativum* L.) من أن التسميد البوتاسي زاد معنويًا من عدد القرون وارتفاعها.

2-1- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على المساحة الورقية لصنفي الفول

يلاحظ من نتائج جدول الملحق (10) و الشكل (41) أن المساحة الورقية لكلا صنفَي الفول انخفضت بشكل معنوي بزيادة تراكيز الملوحة (SF/Na^+_F ($r=-0.9165$) (الجدول 11)، حيث قدرت نسبة الإنخفاض عند المستويات الملحية ($150 = S_3A_0$, $50 = S_2A_0$, $25 = S_1A_0$) بمول NaCl 9.08 %، 24.30 %، 41.94 % على التوالي لدى الصنف Histal، و بـ 3.04 %، 13.09 %، 38.05 % على الترتيب لدى الصنف Malti مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

أرجع (Dolo *et al.*, (2016) تناقص المساحة الورقية إلى قلة انتقال العناصر المعدنية وهرمونات النمو من الجذور إلى باقي أجزاء النبات بسبب قلة كمية الماء الممتص أو إلى قلة الضغط الانتفاخي لخلايا الورقة مما يؤدي إلى قلة استطالتها.



الشكل (41): تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على المساحة الورقية لصنفي الفول خلال مرحلة النمو الثمري

كما تشير النتائج كذلك إلى أن إضافة معاملات خلات البوتاسيوم في غياب الملوحة و في وجودها أدت إلى زيادة معنوية في المساحة الورقية لكلا الصنفين (SF/K_F^+ (الجدول 11)، حيث في غياب الملوحة عند التركيز ($S_0A_2 = 50$ ملي مول CH_3CO_2K) بلغت أعلى نسبة زيادة قدرت بـ 34.19 % و 34.34 % في الصنف Histal و الصنف Malti على التوالي مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

أما التداخل بين مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم فقد أعطى أعلى زيادة في المساحة الورقية عند التركيز ($S_2A_2 = 50$ ملي مول $NaCl + 50$ ملي مول CH_3CO_2K) بنسبة قدرت بـ 41.52 % و 41.99 % لكل من الصنف Histal و الصنف Malti على التوالي مقارنة بالتركيز الملحي S_2A_0 .

تعزى سبب هذه الزيادة في مساحة الورقة إلى دور البوتاسيوم في نقل و توزيع العناصر المعدنية باتجاه مصادر الإستهلاك و النمو و إلى قدرته في تأخير شيخوخة الأوراق من خلال زيادة الانقسام الخلوي و سرعة تجديد الخلايا، و بالتالي زيادة المساحة الورقية (Adrian, 2004).

نتائج مماثلة تحصل عليها كل من (Badar-Uz-Zaman *et al.*, 2018)، حيث لاحظوا تقلص مساحة أوراق نبات عباد الشمس المعامل بـ $NaCl$ في حين المعالجة بالبوتاسيوم أدت إلى زيادة المساحة الورقية.

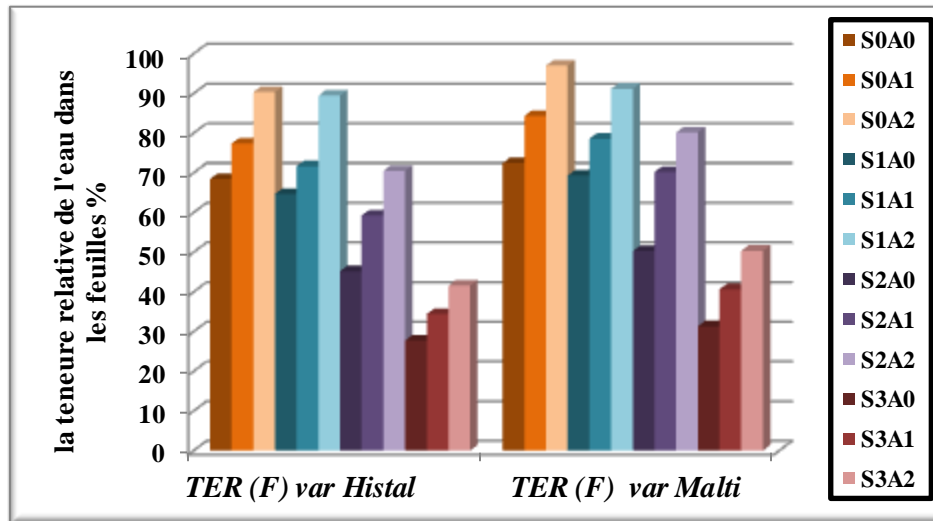
2- الدراسة الفيزيولوجية

1-2- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على محتوى الماء النسبي في أوراق صنفى

الفول

النتائج المدونة في جدول الملحق (11، 12) و الشكل (42) تبين أن الملوحة أثرت بشكل معنوي و أدت إلى انخفاض محتوى الماء النسبي في أوراق صنفى الفول (TER_F / Na_F^+ (الجدول 11)، حيث قدرت نسبة الإنخفاض عند التركيز $S_1A_0 = 25$ ملي مول من $NaCl$ بـ 5.49 % في أوراق الصنف Histal و بـ 5.15 % في أوراق الصنف Malti، وعند التركيز $S_2A_0 = 50$ ملي مول من $NaCl$ قدرت نسبة الانخفاض بـ 33.92 % في أوراق الصنف Histal و بنسبة 30.63 % في أوراق الصنف Malti،

أما التركيز $S_3A_0 = 150$ ملي مول من NaCl فقد بلغت عنده أعلى نسبة انخفاض قدرت بـ 59.46 % في أوراق الصنف Histal، وبـ 56.77 % في أوراق الصنف Malti مقارنة بالشاهد S_0A_0 .



الشكل (42): تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على محتوى الماء النسبي لصنفي الفول خلال مرحلة النمو الثمري.

يمكن سبب انخفاض محتوى الماء النسبي في الأوراق الى انخفاض الجهد الأسموزي بسبب تراكيز الملوحة العالية و الذي له تأثير على خفض جاهزية النبات من الماء، الأمر الذي انعكس على انخفاض محتوى الماء في الأوراق (Karimi et al., 2005).

في حين سمد خلات البوتاسيوم سلك سلوك مغاير لملح NaCl، حيث عند إضافته في غياب الملوحة و في وجودها ارتفع محتوى الماء النسبي في أوراق صنفي الفول ($r=+0.9480$) TER_F / K_F^+ (الجدول 11) حيث قدرت أعلى نسبة ارتفاع في غياب الملوحة عند التركيز ($S_0A_2 = 50$ ملي مول) بـ 32.04 % في أوراق الصنف Histal و بـ 33.94 % في أوراق الصنف Malti مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

أما في وجود الملوحة فقد أعطى التداخل بين NaCl و CH_3CO_2K أعلى نسبة ارتفاع في محتوى الماء النسبي في أوراق صنفي الفول عند التركيز ($S_2A_2 = 50$ ملي مول NaCl + 50 ملي مول CH_3CO_2K)

قدرت بـ 55.95 % في الصنف HistaI وبـ 59.49 % في الصنف Malti مقارنة بالتركيز الملحي S_2A_0 .

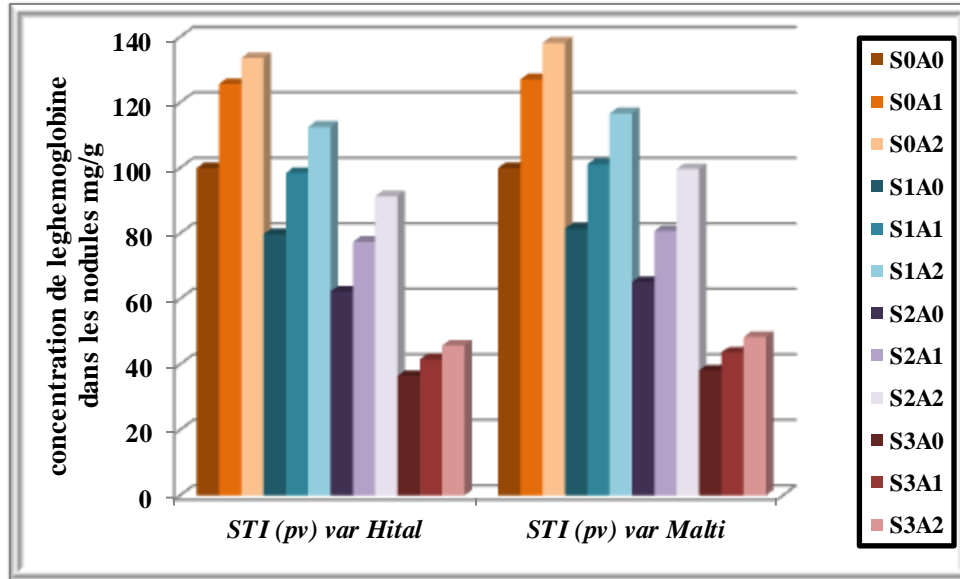
يعزى سبب زيادة محتوى الماء النسبي في الأوراق الى امتصاص البوتاسيوم بكمية كبيرة، فالنباتات المجهزة بصورة جيدة بعنصر البوتاسيوم تزداد قدرتها على الإحتفاظ بالماء بسبب انخفاض معدل النتح و ذلك لدور البوتاسيوم كعامل مسيطر على عملية فتح و غلق ثغور الأوراق (Shabala et Cuin, 2008). تطابقت هاته النتائج مع ما توصل اليه Tracey et al., (2003) حيث لاحظوا انخفاض محتوى الماء النسبي في أوراق نبات الشعير (*Hordeum vulgare L.*) ، في حين المعالجة بالبوتاسيوم أدت الى ارتفاع محتوى الماء النسبي في الأوراق.

2-2- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم على مؤشر تحمل الملوحة في المجموع

الخضري لصنفي الفول

يلاحظ من نتائج جدول الملحق (11،12) و الشكل (43) أن مؤشر تحمل الملوحة في المادة الجافة للمجموع الخضري لصنفي الفول تحت مستويات الملوحة تناقص بشكل معنوي ($r=-0.9144$) STI_{PV}/Na^+_F (الجدول 11)، حيث بلغت نسبة الإنخفاض عند التراكيز $25 = S_1A_0$ ، $50 = S_2A_0$ ، $150 = S_3A_0$ ملي مول (NaCl) 20.23 %، 37.73 %، 63.55 % على التوالي في الصنف HistaI، و بنسبة 18.53 %، 34.83 %، 61.84 % على التوالي في الصنف Malti مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

حسب (Tester et Davenport, 2003) يعزى سبب انخفاض مؤشر تحمل الملوحة في المجموع الخضري لكلا الصنفين إلى انخفاض الجهد المائي نتيجة زيادة تركيز الملوحة و عدم التوازن الغذائي، و قلة امتصاص العناصر الضرورية لبناء الأغشية الخلوية و البروتينات و السكريات، مما أدى الى انخفاض الوزن الجاف للمجموع الخضري الأمر الذي انكس على انخفاض مؤشر تحمل الملوحة.



الشكل (43): تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على مؤشر تحمل الملوحة في المجموع الخضري لاصنفي الفول خلال مرحلة النمو الثمري

مقابل ذلك معاملات خلات البوتاسيوم أدت الى زيادة معنوية في مؤشر تحمل الملوحة في كلا صنفى الفول $(r=+0.9851)$ STI_{pv}/K^+_{F} (الجدول 11) بتفوق التركيز $(S_{0A_2} = 50$ ملي مول $CH_3CO_2K)$ على التركيز $(S_{0A_1} = 25$ ملي مول $CH_3CO_2K)$ في وجود الملوحة وفي غيابها، حيث قدرت أعلى نسبة زيادة في وجود الملوحة عند التداخل $(S_{2A_2} = 50$ ملي مول $NaCl + 50$ ملي مول $CH_3CO_2K)$ بـ 46.69 % في الصنف Hital و بـ 52.97 % في الصنف Malti مقارنة مع التركيز الملحي S_{2A_0} ، و في غياب الملوحة قدرت أعلى نسبة زيادة بـ 33.55 %، 38.27 % في كل من الصنف Hital و الصنف Malti على التوالي مقارنة بالشاهد S_{0A_0} .

تعود هاته الزيادة في مؤشر تحمل الملوحة إلى دور البوتاسيوم في تأخير شيخوخة أوراق النباتات والمحافظة على نشاطها في عملية التمثيل الضوئي لمدة أطول مما يزيد من كمية المواد المصنعة في الأوراق ونقل نواتجها إلى أجزاء النبات بما فيها المجموع الخضري، الأمر الذي أدى إلى زيادة وزنه الجاف لاحتوائه على الكربوهيدرات والبروتينات مما انعكس على زيادة مؤشر تحمل الملوحة (Akhtar et al., 2003).

اتفقت هذه النتائج مع نتائج Abdel-Mawly et Zanouny, (2004) الذين لاحظوا انخفاض مؤشر تحمل الملوحة لنبات الشمندر السكري (*Beta vulgaris L.*) مع زيادة مستويات ملوحة مياه الري، في حين التسميد بالبوتاسيوم أدى إلى ارتفاعه.

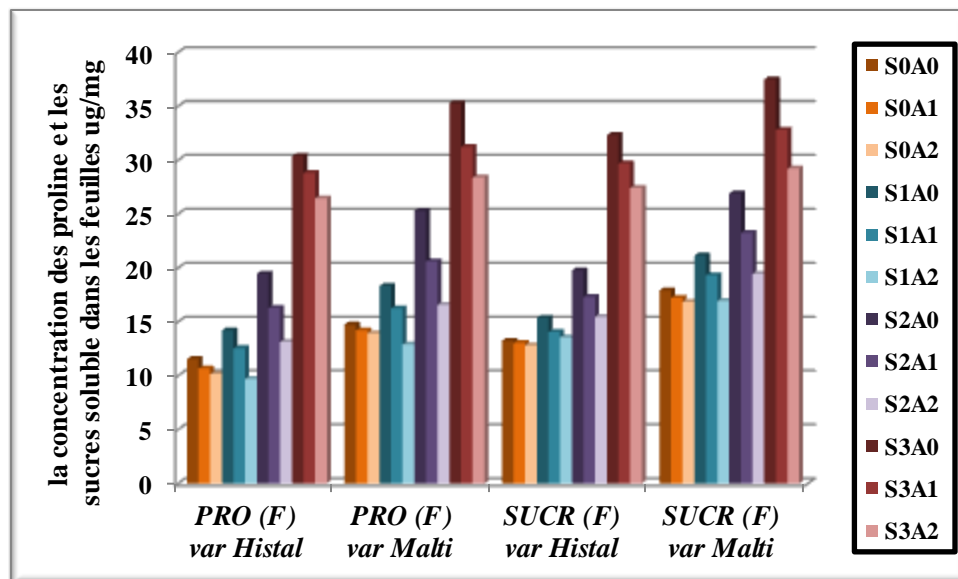
2-3- تأثير مستويات الملوحة ومعاملات خلات البوتاسيوم على تركيز البرولين و السكريات الكلية في

أوراق صنف الفول

يتبين من نتائج جدول الملحق (11،12) و الشكل (44) أن تراكيز الملوحة (S_3A_0, S_2A_0, S_1A_0) ملي مول NaCl أدت إلى زيادة معنوية في تركيز كل من البرولين ($r=+0.8889$) و السكريات الكلية ($r=+0.8527$) ($SUCR_F/Na^+_F$) (الجدول 11) في أوراق صنف الفول، حيث تزايد برولين أوراق الصنف Histal بنسب 23.03 % ، 68.31 % ، 163.03 % على التوالي و برولين أوراق الصنف Malti تزايد بنسب 24.37 % ، 69.92 % ، 139.51 % على التوالي مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

أما السكريات الكلية في الأوراق فقد تزايدت بنسب 16.19 % ، 49.50 % ، 144.66 % على التوالي عند الصنف Histal ، و بنسب 18.10 % ، 50.22 % ، 109.44 % على التوالي عند الصنف Malti مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

حسب Tuteja, (2007) يعزى سبب زيادة تركيز الحامض الأميني البرولين و السكريات الذائبة في الأوراق إلى دورهما في التعديل الأسموزي بين السيتوبلازم و الفجوات داخل الخلية و ضمان استمرار دخول الماء إلى النبات، كما يعملان كعامل وقائي للإنزيمات و يحافظان على تركيب أغشية العضيات الخلوية.



الشكل (44): تأثير مستويات الملوحة و معاملات خللات البوتاسيوم على تركيز البرولين و السكريات الذائبة في أوراق صنفى الفول خلال مرحلة النمو الثمري

من جهة أخرى، عند المعاملة بخلات البوتاسيوم في وجود الملوحة تناقص بشكل معنوي تركيز كل من البرولين (PRO_F / K^+_F ($r=-0.8636$) و السكريات الكلية ($SUCR_F / K^+_F$ ($r=-0.8221$) (الجدول 11) في أوراق كلا الصنفين، حيث كانت أعلى نسبة انخفاض في تركيز البرولين عند التداخل ($S_2A_2 = 50$ ملي مول $NaCl + 50$ ملي مول CH_3CO_2K) قدرت بـ 32.40 % في الصنف Histal ، و قدرت بـ 33.83 % في الصنف Malti مقارنة مع التركيز الملحي S_2A_0 .

في حين لم يكن هناك تأثير معنوي عند المعاملة بتركيزي خللات البوتاسيوم ($S_0A_1 = 25$ ، $S_0A_2 = 50$ ملي مول CH_3CO_2K) في غياب الملوحة، حيث تناقص تركيز البرولين بنسبة 7.72 % و 12.12 % على التوالي في الصنف Histal، و بنسبة 3.66 %، 5.43 % على التوالي في الصنف Malti مقارنة مع الشاهد S_0A_0 .

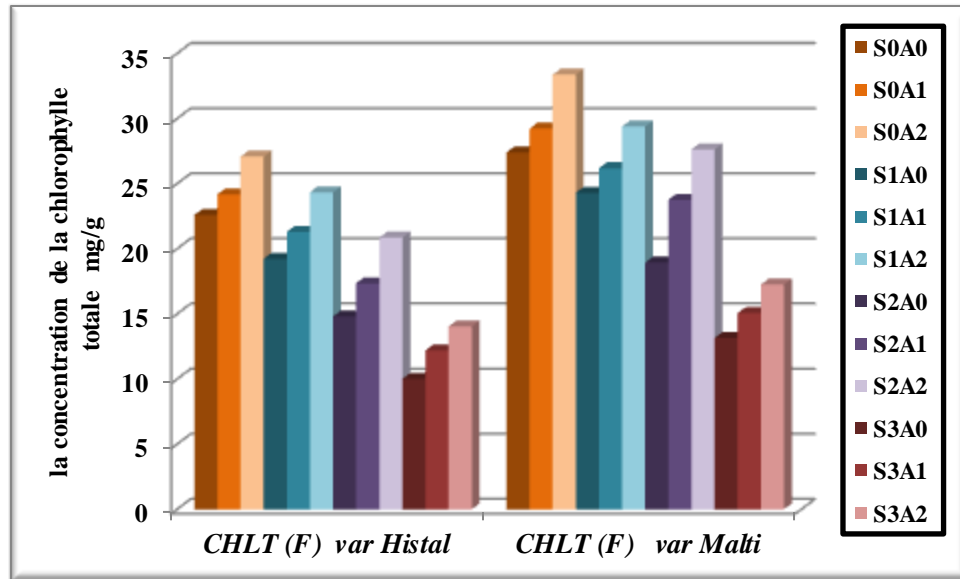
يعزى سبب تراجع تركيز كل من البرولين و السكريات الكلية في الأوراق إلى دور البوتاسيوم و تحكمه في غلق الثغور وفتحها مما زاد من المحافظة على جهد أسموزي أقل سالبيه في الخلايا، الأمر الذي انعكس على بقاء كميات قليلة من البرولين و السكريات الكلية في الأوراق (Wang et Wu, 2013). تماثلت هاته النتائج مع ما توصل إليه (Ebrahimi et al., (2012، حيث لاحظوا أن تركيز كل من البرولين و السكريات الكلية تراكم في أوراق نبات الأرز بسبب الملوحة، في حين المعاملة بالبوتاسيوم خفضت من تركيزيهما.

4-2- تأثير مستويات الملوحة ومعاملات خلات البوتاسيوم على تركيز الكلوروفيل الكلي في الأوراق

لصنفي الفول

توضح النتائج الدونة في جدول الملحق (11،12) و الشكل (45) إلى أن تركيز الكلوروفيل الكلي في أوراق صنفي الفول تناقص معنويا ($r=-0.9197$) CHL_T / Na^+_F (الجدول 11) بزيادة تراكيز NaCl (S_1A_0) $(25 = S_2A_0, 50 = S_3A_0, 150 = S_4A_0)$ ، حيث قدرت نسب التناقص بـ 14.86 % ، 34.46 % ، 55.66 % على التوالي في الصنف Histal، و بـ 11.31 % ، 30.87 % ، 52 % على الترتيب في الصنف Malti مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

يعود سبب انخفاض تركيز الكلوروفيل الكلي في الأوراق بفعل الملوحة الى التأثير السمي لأيون الصوديوم Na^+ الذي أدى إلى تحطيم البروتينات المسؤولة عن تكوين جزئية الكلوروفيل وزاد من فعالية إنزيم Chlorophyllase الذي يؤدي إلى تحطيم جزئية الكلوروفيل، كما تسبب أيونات الصوديوم تشوه على مستوى الصانعات الخضراء (Yaşar et Esra, 2012).



الشكل (45): تأثير مستويات الملوحة و معاملات خللات البوتاسيوم على تركيز الكلوروفيل الكلي في أوراق صنف الفول خلال مرحلة النمو الثمري

في حين أدى تسميد عينات صنف الفول بخلات البوتاسيوم إلى زيادة معنوية في تركيز الكلوروفيل الكلي في الأوراق ($CHLT_F / K_F^+$ (الجدول 11)، بحيث كانت أعلى زيادة عند التداخل ($S_2A_2 = 50$ ملي مول $NaCl + 50$ ملي مول CH_3CO_2K) بنسبة قدرت بـ 40.85 % في الصنف Histal، و بنسبة قدرت بـ 45.88 % في الصنف Malti مقارنة بالتركيز الملحي S_2A_0 .

كما تزايد تركيز الكلوروفيل الكلي عند إضافة خللات البوتاسيوم في غياب الملوحة، حيث قدرت أعلى نسبة زيادة عند التركيز ($S_0A_2 = 50$ ملي مول CH_3CO_2K) بـ 19.82 % في الصنف Histal، و بنسبة 21.78 % في الصنف Malti مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

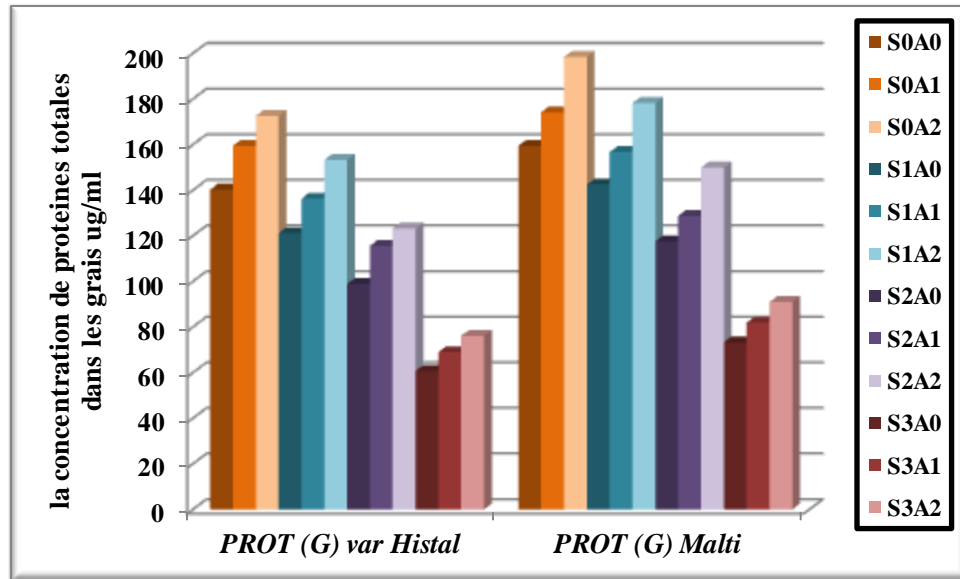
يعود سبب ارتفاع تركيز الكلوروفيل الكلي في الأوراق إلى دور البوتاسيوم في تنشيط مجموعة من الإنزيمات ذات الوظائف الفيزيولوجية المهمة مثل إنزيمات (Synthetase) و إنزيمات الأكسدة و الإختزال و إنزيمات الهدرجة (Dehydrogenase) والإنزيمات الناقلة وإنزيمات تحرير الطاقة (Kinase) مما أثر في بناء و تكوين الكلوروفيل (Wang et Wu, 2017).

تطابقت هذه النتائج مع ما توصل إليه Geovani *et al.*, (2018) على نبات الكرز (*Prunus cerasus*) حيث ذكروا أن تراكيز الملوحة العالية أدت الى انخفاض تركيز الكلوروفيل الكلي في الأوراق، في حين التسميد بالبوتاسيوم زاد من تركيزه في الأوراق.

5-2- تأثير مستويات الملوحة ومعاملات خلات البوتاسيوم على تركيز البروتينات الكلية في بذور صنف

الفول

تشير نتائج جدول الملحق (11، 12) و الشكل (46) أن تراكيز الملوحة أثرت بصورة معنوية على محتوى البروتينات الكلية في بذور صنف الفول ($PROT_G/Na^+_F$ (r=-0.9437) (الجدول 11)، حيث حقق الصنف Histal أعلى معدل انخفاض في كل التراكيز ($S_1A_0 = 25$ ، $S_2A_0 = 50$ ، $S_3A_0 = 150$ ملي مول NaCl) بنسبة 13.62%، 29.53%، 56.72% على التوالي، في حين سجل الصنف Malti أقل معدل انخفاض بنسبة 10.68%، 26.27%، 54.02% على الترتيب مقارنة بالشاهد S_0A_0 . يعزى سبب انخفاض تركيز البروتينات الكلية في البذور إلى أن الملوحة المرتفعة تؤثر بشكل سلبي على محتوى الخلايا من الأحماض الأمينية، حيث تخفض من امتصاص العناصر المعدنية الضرورية لبناء الاحماض الأمينية، كما ان الملوحة العالية تؤدي إلى زيادة فعالية إنزيم (Proteinase) المسؤول عن تحلل البروتين (Kosova *et al.*, 2013).



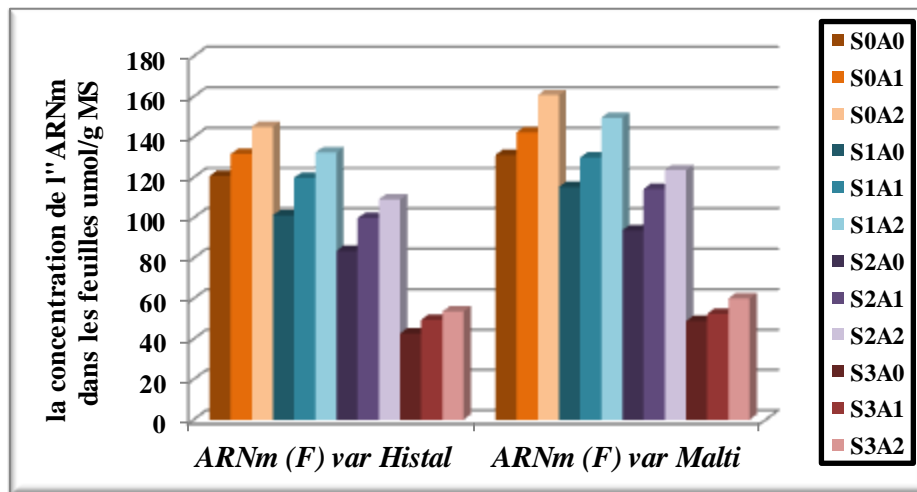
الشكل (46): تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز البروتينات الكلية في بذور صنف الفول خلال مرحلة النمو الثمري.

وعلى النقيض من ذلك تزايد تركيز البروتينات الكلية في بذور كلا الصنفين بشكل معنوي عند المعالجة بخلات البوتاسيوم ($PROT_G / K^+ F$ ($r=+0.9197$) (الجدول 11)، حيث في وجود الملوحة بلغت أعلى نسبة ارتفاع للصنف Histal عند التداخل ($S_1A_2 = 25$ ملي مول $NaCl + 50$ ملي مول CH_3CO_2K) و قدرت بـ 26.48 % مقارنة بالتركيز الملحي S_1A_0 ، و عند التداخل ($S_1A_2 = 50$ ملي مول $NaCl + 50$ ملي مول CH_3CO_2K) بلغت أعلى نسبة ارتفاع لتركيز البروتينات الكلية في بذور الصنف Malti و قدرت بـ 27.51 % مقارنة بالتركيز الملحي S_2A_0 ، أما في غياب الملوحة بلغ أعلى معدل ارتفاع عند التركيز ($S_0A_2 = 50$ ملي مول CH_3CO_2K) بنسبة قدرت بـ 23.05 % في الصنف Histal و بـ 24.42 في الصنف Malti مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

يعزى سبب هذه الزيادة في تركيز البروتينات الكلية في البذور إلى دور البوتاسيوم في تنشيط إنزيم مختزل النترات المهم في عملية اختزال النترات إلى أمونيا التي ترتبط مع حامض عضوي لتكوين الأحماض الأمينية و من ثمة البروتينات (White et Karley, 2010).

وتمثلت هذه النتائج مع ما لاحظته Morshedi et Farahbakhsh, (2010) من انخفاض في تركيز البروتينات الكلية في بذور نبات القمح مع زيادة تراكيز الملوحة في وسط النمو، في حين التسميد البوتاسي عاكس تأثيرها الضار.

2-6- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز الـARNm في أوراق صنف الفول تبين نتائج جدول الملحق (11، 12) و الشكل (47) أن تركيز الـARNm في أوراق صنف الفول تراجع معنويا بفعل الملوحة ($r = -0.9624$) $ARNm_F / Na^+_F$ (الجدول 11)، حيث عند المستويات الملحية ($S_1A_0 = 25$ ، $S_2A_0 = 50$ ، $S_3A_0 = 150$ ملي مول NaCl) قدرت نسبة الانخفاض في أوراق الصنف Histal بـ 16.05%، 30.63%، 64.51% على التوالي، و بـ 12.09%، 28.41%، 61.98% على التوالي في أوراق الصنف Malti مقارنة مع الشاهد S_0A_0 .



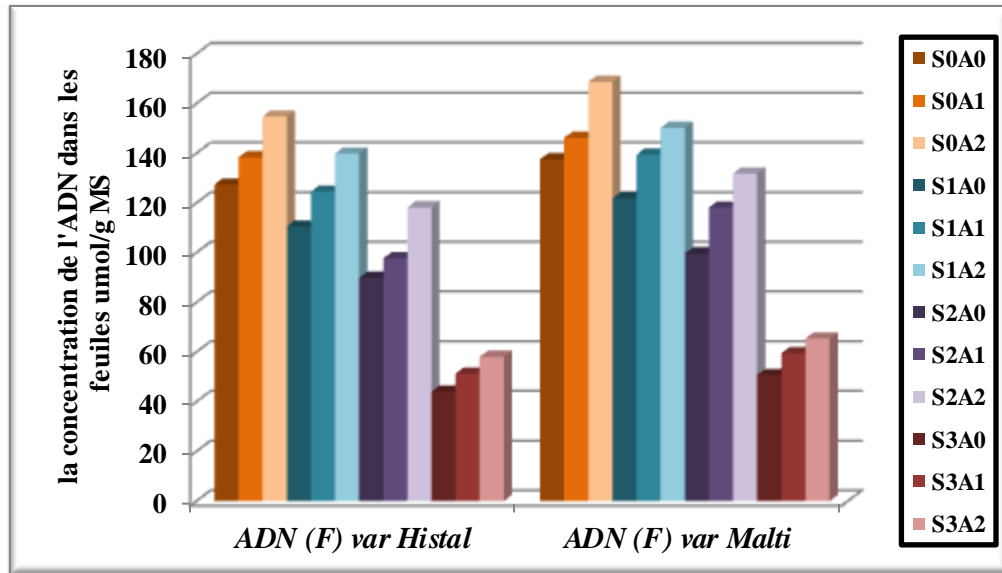
الشكل (47): تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز الـARNm في أوراق صنف الفول خلال مرحلة النمو الثمري

في حين أدت إضافة معاملات خلات البوتاسيوم إلى تزايد تركيز الـARNm معنويا في أوراق كلا الصنفين ($r = +0.9681$) $ARNm_F / K^+_F$ (الجدول 11)، حيث في وجود الملوحة بلغت أعلى نسبة ارتفاع عند التداخل ($S_1A_2 = 25$ ملي مول NaCl + 50 ملي مول CH_3CO_2K) قيمة 30.60% في أوراق الصنف

Histal مقارنة مع التركيز الملحي S_1A_0 ، وقيمة 31.68 % عند التداخل ($S_2A_2 = 50$ ملي مول NaCl + 50 ملي مول CH_3CO_2K) في أوراق الصنف Malti مقارنة مع التركيز الملحي S_2A_0 . وفي غياب الملوحة عند التركيز ($S_0A_2 = 50$ ملي مول CH_3CO_2K) من خلاص البوتاسيوم قدرت أعلى نسبة ارتفاع في تركيز ARNm بـ 20.29 %، و 22.59 % في أوراق الصنف Histal و الصنف Malti على التوالي مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

7-2- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلاص البوتاسيوم على تركيز الـADN في أوراق صنف الفول
يتضح من نتائج جدول الملحق (11، 12) و الشكل (48) أن معاملات الملوحة ($S_1A_0 = 25$ ، $S_2A_0 = 50$ ، $S_3A_0 = 150$ ملي مول) أثرت سلباً و بشكل معنوي على تركيز الـADN في أوراق صنف الفول ($r = -0.9619$) ADN_F / Na^+_F (الجدول 11)، حيث تراجع بنسبة 13.26 %، 29.50 %، 65.36 % على التوالي في أوراق الصنف Histal، و بنسبة 11.44 %، 27.52 %، 63.09 % على التوالي في أوراق الصنف Malti مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

في حين تزايد تركيز الـADN معنوياً في أوراق كلا الصنفين عند إضافة تركيز خلاص البوتاسيوم في وجود الملوحة و في غيابها ($r = +0.9683$) ADN_F / K^+_F (الجدول 11)، حيث عند التداخل ($S_2A_2 = 50$ ملي مول NaCl + 50 ملي مول CH_3CO_2K) قدرت أعلى نسبة ارتفاع في وجود الملوحة بـ 31.59 % في أوراق الصنف Histal و بـ 32.19 % في أوراق الصنف Malti مقارنة بالتركيز الملحي S_2A_0 ، و في غياب الملوحة عند التركيز ($S_0A_2 = 50$ ملي مول CH_3CO_2K) قدرت أعلى نسبة ارتفاع بـ 21.49 % في أوراق الصنف Histal و بـ 22.66 % في أوراق الصنف Malti مقارنة بالشاهد S_0A_0 .



الشكل (48): تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز الـADN في أوراق صنف الفول خلال مرحلة النمو الثمري

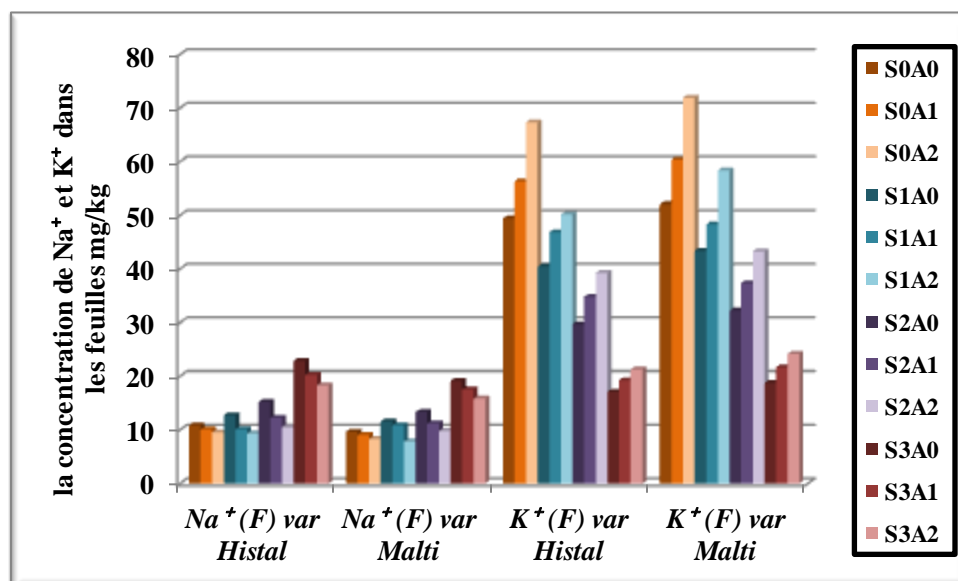
يعود تناقص تركيز الـADN في الأوراق إلى تكسير روابط السلسلة المزدوجة لـADN بفعل شوارد Na^+ و Cl^- ، أما تناقص تركيز الـARNm فيعود إلى زيادة نشاط إنزيم (ARN-ase) بفعل الملوحة و الذي يعمل على تفكيك الـARNm (Parida et Das, 2005).

أما تزايد تركيز كل من الـADN و الـARNm في الأوراق بفعل مستويات خلات البوتاسيوم فهو راجع لدور البوتاسيوم في تمثيل الأحماض النووية (Akhtar et al., 2003).

نتائج مطابقة تحصل عليها (2000) Al Karaki، على نبات الطماطم (*Solanum lycopersicum* L.) حيث لاحظ انخفاض تركيز الأحماض النووية في الأوراق بفعل تراكيز الملوحة في حين التسميد بالبوتاسيوم زاد من تركيزها في الأوراق.

8-2 تأثير مستويات الملوحة ومعاملات خلات البوتاسيوم على تركيز العناصر المعدنية لصنفي الفول

أ – تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز الصوديوم في أوراق صنفي الفول
 يلاحظ من جدول الملحق (13) و الشكل (49) أن محتوى الأوراق من الصوديوم ارتفع معنويا بتزايد تراكيز الملوحة في كلا صنفي الفول، حيث قدرت نسبة الإرتفاع في الصنف Histal عند التراكيز $(S_1A_0 = S_1A_0)$ = 25، $(S_2A_0 = S_2A_0)$ = 50، $(S_3A_0 = S_3A_0)$ = 150 بـ 17.29 %، 40.24 %، 111.65 % على التوالي، و بـ 16.07 %، 38.27 %، 98.34 % على الترتيب في الصنف Malti مقارنة بالشاهد S_0A_0 .



الشكل (49): تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز الصوديوم و البوتاسيوم في أوراق صنفي الفول خلال مرحلة النمو الثمري

أما بالنسبة لتأثير التداخل بين الملوحة و البوتاسيوم، فقد تناقص تركيز الصوديوم في أوراق صنفي الفول عند إضافة خلات البوتاسيوم بشكل معنوي $(r = -0.8985)$ Na^+_F / K^+_F (الجدول 11)، حيث قدرت أعلى نسبة انخفاض في الصنف Histal بـ 29.08 % عند التداخل $(S_2A_2 = S_2A_2)$ = 50 ملي مول NaCl + 50 ملي مول (CH_3CO_2K) مقارنة بالتركيز الملحي S_2A_0 ، و بـ 30.20 % عند التداخل $(S_1A_2 = S_1A_2)$ = 25 ملي مول NaCl + 50 ملي مول (CH_3CO_2K) في الصنف Malti مقارنة بالتركيز الملحي S_1A_0 .

كما أن المعاملة بخلات البوتاسيوم فقط أدت إلى انخفاض تركيز الصوديوم في أوراق صنف الفول، حيث قدرت أعلى نسبة انخفاض عند التركيز ($S_0A_2 = 50$ ملي مول CH_3CO_2K) بـ 11.65 % و بـ 13.79 % في كل من الصنف Histal و الصنف Malti على التوالي مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

ب- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز البوتاسيوم في أوراق صنف الفول تبين نتائج جدول الملحق (13) و الشكل (49) أن تراكيز الملوحة (S_1A_0 ، S_2A_0 ، S_3A_0) خفضت من تركيز البوتاسيوم في أوراق صنف الفول بشكل معنوي ($r = -0.8985$) K^+_F / Na^+_F (الجدول 11) وهذا بنسبة 18.11 %، 39.89 %، 65.42 % على التوالي في الصنف Histal، و بنسبة 16.69 %، 38.10 %، 64.06 % على التوالي في الصنف Malti مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

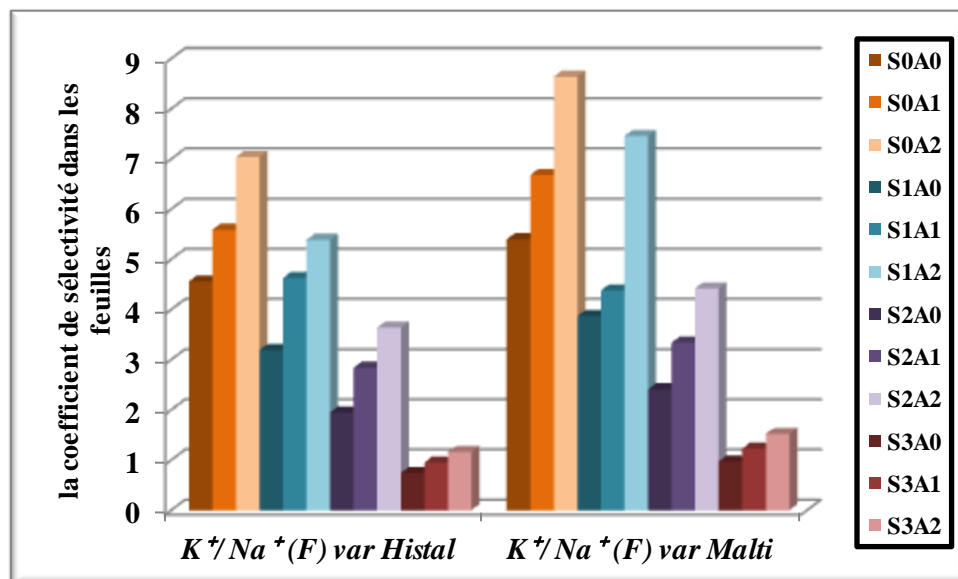
في حين أدى تسميد عينات صنف الفول بخلات البوتاسيوم إلى زيادة معنوية في محتوى الأوراق من البوتاسيوم في كلا صنف الفول، حيث عند التداخل ($S_2A_2 = 50$ ملي مول $NaCl + 50$ ملي مول CH_3CO_2K) بلغت أعلى نسبة ارتفاع قدرت بـ 43.17 % في الصنف Histal و بـ 49.81 % في الصنف Malti مقارنة بالتركيز الملحي S_2A_0 .

وعلى غرار ذلك تزايد تركيز البوتاسيوم في أوراق صنف الفول عند إضافة خلات البوتاسيوم فقط في غياب الملوحة عند كلا التركيزين ($S_0A_1 = 25$ ، $S_0A_2 = 50$ ملي مول CH_3CO_2K)، و قدرت أعلى نسبة ارتفاع عند التركيز S_0A_2 بـ 32.06 % في الصنف Histal، و بـ 34.29 % في الصنف Malti مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

ج - تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على معامل الانتقاء K^+/Na^+ في أوراق صنف الفول

من خلال نتائج جدول الملحق (13) و الشكل (50) يتبين أن معامل الانتقاء K^+/Na^+ في أوراق صنف الفول تناقص معنويا بتزايد مستويات الملوحة ($r = -0.8834$) K^+_F / Na^+_F (الجدول 11)، حيث قدرت نسبة الإنخفاض عند المستويات الملحية ($S_1A_0 = 25$ ، $S_2A_0 = 50$ ، $S_3A_0 = 150$ ملي مول

(NaCl) في الصنف Histal بـ 30.04%، 57.23%، 83.77% على التوالي، وفي الصنف Malti بـ 28.33%، 55.37%، 82.33% على الترتيب مقارنة بالشاهد S_0A_0 .



الشكل (50): تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على معامل الإنتقاء K^+/Na^+ في أوراق صنف الفول خلال مرحلة النمو الثمري

وعلى عكس من هذا فقد ارتفع معامل الإنتقاء K^+/Na^+ في أوراق صنف الفول عند إضافة خلات البوتاسيوم معنويا في وجود الملوحة و في غيابها ($r=+0.9855$) $K^+/Na^+_F / K^+_F$ (الجدول 11)، حيث في وجود الملوحة قدرت أعلى نسبة ارتفاع في الصنف Histal عند التداخل ($S_2A_2 = 50$ ملي مول NaCl + 50 ملي مول CH_3CO_2K) بـ 86.66% مقارنة بالتركيز الملحي S_2A_0 ، و في الصنف Malti عند التداخل ($S_1A_2 = 25$ ملي مول NaCl + 50 ملي مول CH_3CO_2K) قدرت أعلى نسبة ارتفاع بـ 92.76% مقارنة بالتركيز الملحي S_1A_0 .

أما في غياب الملوحة فكانت أعلى نسبة ارتفاع عند التركيز ($S_0A_2 = 50$ ملي مول CH_3CO_2K)، ففي الصنف Histal قدرت بـ 54.38%، وفي الصنف Malti قدرت بـ 60% مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

حسب (Benito *et al.*, 2014) يكمن سبب انخفاض تركيز البوتاسيوم و معامل الإنتقاء في الأوراق الى ارتفاع الجهد الأسموزي لمحلول التربة الناتج من استخدام المياه المالحة في الري مما يؤدي الى خفض كمية الماء الممتص من قبل النبات وكذلك العناصر المعدنية ولاسيما أيون البوتاسيوم بينما يزداد انتقال أيونات الصوديوم والكلور مما يؤدي إلى حصول عدم توازن.

و يعزى سبب زيادة تركيز البوتاسيوم و معامل الإنتقاء في الأوراق و انخفاض تركيز الصوديوم إلى زيادة البوتاسيوم الجاهز بزيادة مستويات الإضافة في محلول التربة والقابل للامتصاص من قبل الجذور وبالتالي زيادة تركيزه و انخفاض تركيز الصوديوم في الأوراق (Yousefnejad *et al.*, 2013).

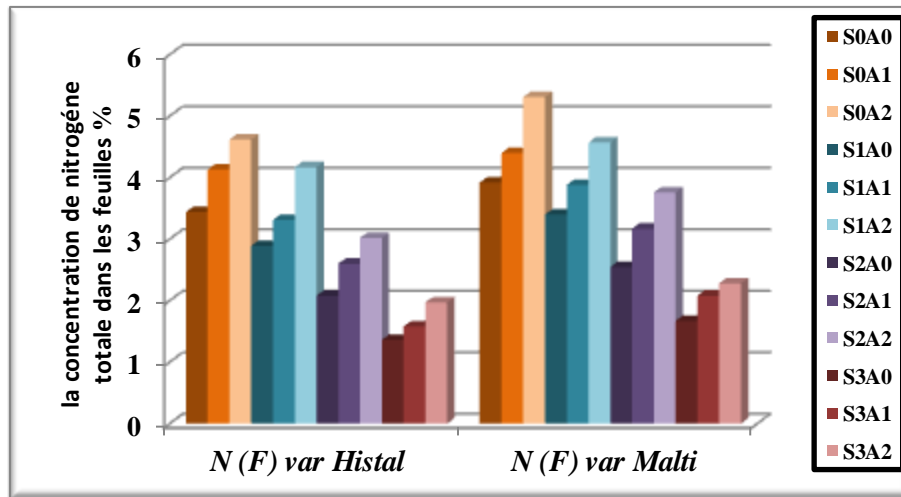
وتمثلت هذ النتائج مع ما وجدته (Rabbi *et al.*, 2005) من أن التراكيز العالية للملوحة زادت من تركيز الصوديوم و خفضت من تركيز البوتاسيوم و معامل الإنتقاء في أوراق اصناف من نبات الأرز، في حين مستويات البوتاسيوم زادت من تركيز كل من البوتاسيوم و معامل الإنتقاء و خفضت من تركيز الصوديوم.

د- تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز النيتروجين الكلي في أوراق صنف الفول

يتضح من نتائج جدول الملحق (13) و الشكل (51) أن تراكيز الملوحة ($S_1A_0 = 25$ ، $S_2A_0 = 50$ ، $S_3A_0 = 75$)

$= 150$ ملي مول NaCl) اختزلت بشكل معنوي محتوى النيتروجين الكلي ($r = -0.9048$) N_F / Na^+_F (الجدول 11) في أوراق صنف الفول، حيث قدرت نسبة الإختزال في الصنف Histal بـ 15.98 %، 39.53 %، 60.46 % على التوالي، و بـ 13.26 %، 34.94 %، 57.39 % على الترتيب في الصنف Malti مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

إن السبب في انخفاض تركيز النيتروجين في الأوراق قد يكون ناتج عن تأثير الكلور على النفاذية الإختيارية لأغشية خلايا الجذر و تداخله بشدة وخاصة مع النترات، كما يرجع نقص المحتوى من النيتروجين لنقص امتصاصه بسبب نقص امتصاص الماء المتاح تحت ظروف الإجهاد الملحي (Ramoliya *et al.*, 2004)



الشكل (51): تأثير مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم على تركيز النيتروجين الكلي في أوراق صنف الفول خلال مرحلة النمو الثمري

على العكس من ذلك فقد ازداد تركيز النيتروجين الكلي في أوراق صنف الفول عند المعاملة بخلات البوتاسيوم (N_F / K_F^+ (الجدول 11)، حيث عند التداخل ($S_2A_2 = 50$ ملي مول NaCl + 50 ملي مول CH_3CO_2K) بلغت أعلى نسبة ارتفاع 45.19 % في الصنف Histal و 47.45 % في الصنف Malti مقارنة بالتركيز الملحي S_2A_0 .

كما ارتفع تركيز النيتروجين الكلي في أوراق صنف الفول عند إضافة خلات البوتاسيوم بدون ملوحة، حيث عند التركيز ($S_0A_2 = 50$ ملي مول CH_3CO_2K) بلغت أعلى نسبة ارتفاع قدرت بـ 34.30 % في الصنف Histal و بـ 35.45 % في الصنف Malti مقارنة بالشاهد S_0A_0 .

يعود سبب ارتفاع تركيز النيتروجين في الأوراق الى تأثير المجموع الجذري لمستويات البوتاسيوم حيث أدى إلى زيادة نمو الجذور وزيادة كثافتها وتعمقها مما زاد من قابليتها على امتصاص العناصر المعدنية المختلفة بما فيها النترات (Wang et al., 2013).

نتائج مطابقة توصل اليها Bishnu *et al.*, (2020) على نبات فول الصويا، حيث لاحظوا انخفاض تركيز النيتروجين في الأوراق بفعل معاملات الملوحة، في حين التسميد بالبوتاسيوم رفع من تركيزه في الأوراق.

3- الدراسة الجزيئية

تهدف هذه الدراسة الجزيئية إلى تشخيص بعض جينات مقاومة الملوحة في التراكيب المدروسة لصنفي الفول تحت مستويات مختلفة من الملوحة و المعاملة بخلات البوتاسيوم بطريقة تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR)، وقد استخدمت بادئات من تقنيتي (RAPD) و (ISSR) لهذا الغرض لتفوقهما من حيث السهولة والدقة وامكانية الكشف بأوسع مساحة في جينوم النبات وقلّة التكلفة مقارنة بتقنيات الـ PCR الأخرى بالإضافة إلى أنهما تحتاجان إلى كميات قليلة من الـADN، منها بادئين من تقنية (RAPD) و بادئين من تقنية (ISSR) تتصف بأنها بادئات للكشف عن جينات مقاومة الملوحة في نبات الفول حسب الدراسة التي قام بها كل من *et* (2016) و *Elsayed al.*, (2015) و *Ehab et al.*, (2015) و بالإعتماد على المؤشر الجزيئي لتحديد أحجام حزم الـADN بطول 3000 (bp) تم مقارنة حزم الـADN الظاهرة، ثم وضعت المعطيات في جداول بحيث أعطي لحزمة الـADN الموجودة رمز + و لحزمة الـADN الغائبة رمز -.

3-1- تضاعف بادئات تقنية (RAPD)

تم في هذه الطريقة مضاعفة مواقع (Loci) على شريط الـADN باستخدام بادئات عشوائية قصيرة لا تحتاج إلى معلومات مسبقة لتتابع الجينوم الذي سوف تتم دراسته تتكون من 10 قواعد نيتروجينية (نيوكليوتيدات) إذ تجد هذه البادئات مواقع مكملة لها على شريط الـADN، و تسمح هذه التقنية بتغطية مناطق مختلفة من جينوم الأفراد المدروسة و أن ناتج التضاعف يكون عبارة عن قطع (حزم) الـADN مختلفة الأطوال والعدد ويعتمد طول وعدد القطع على عدد مواقع الارتباط (Agarwal *et al.*, 2008).

1-1-3- تضاعف البادئ C_{11} للصف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم

توضح نتائج الجدول (15) عدد و حجم حزم الـADN الناتجة عن التضخيم بفعل البادئ C_{11} من تقنية

(RAPD) للصف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم.

الجدول (15): الحزم المتضخمة مع أحجامها الجزيئية للبادئ C_{11} للصف Malti تحت مستويات الملوحة و

معاملات خلاات البوتاسيوم

نوع الحزمة	مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم												الوزن الجزيئي لحزم ADN (bp)
	S_3A_2	S_3A_1	S_3A_0	S_2A_2	S_2A_1	S_2A_0	S_1A_2	S_1A_1	S_1A_0	S_0A_2	S_0A_1	S_0A_0	
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	776
فريدة	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	786
فريدة	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	818
فريدة	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	960
فريدة	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1019
متعددة المظهر	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1027
متعددة المظهر	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	1481
فريدة	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1492
فريدة	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	1500
فريدة	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	1640
متعددة المظهر	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	1790
حزمة 14	4	3	0	0	2	0	0	0	0	3	2	0	المجموع

أوضحت نتائج الجدول (15) و الشكل (52) ظهور 14 حزمة ADN في الصف Malti ناتجة عن

التضاعف العشوائي (RAPD) للبادئ C_{11} ، تراوحت أوزنها الجزيئية بين 776 – 2031 (bp) بالإعتماد

على المؤشر الجزيئي المستخدم، حيث لم تظهر أية حزمة ADN عند الأفراد التي لم تعامل بالملوحة و

البوتاسيوم (الشاهد S_0A_0) و عند الأفراد المعاملة بالتركيز الملحية التالية: (S_3A_0 , S_2A_0 , S_1A_0) وعند

الأفراد المعاملة بالملوحة و البوتاسيوم عند المستويات التالية: (S_1A_1 , S_1A_2 , S_2A_2) و هذا نتيجة لعدم توافق تسلسلات هذا البادئ مع تتابعات الـADN القالب لهذه الأفراد.

أما حزم الـADN الظاهرة فكانت منها حزم متعددة المظهر و حزم فريدة، فالحزم المتعددة المظهر سجلت منها حزمتين بين الأفراد المعاملة بالبوتاسيوم فقط عند التركيزين S_0A_1 و S_0A_2 بطول 1481 و 2031 (bp)، حيث تمثل هذه الحزم جينات تنشط بوجود البوتاسيوم، و حزمة واحدة بين الأفراد المعاملة بتركيز البوتاسيوم A_1 و A_2 تحت المستوى الملحي S_3 (S_3A_1 , S_3A_2) بطول 1027 (bp)، حيث تمثل هذه الحزم تعبيراً لجينات مقاومة الملوحة تحت معاملات البوتاسيوم.



الشكل (52): الترحيل الكهربائي لنواتج البادئ C_{11} على هلام الأغاروز للصف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خللات البوتاسيوم.

M: يمثل المؤشر الجزيئي لتحديد أحجام حزم الـADN

أما الحزم الفريدة فظهرت حزمة واحدة عند الأفراد المعاملة بالبوتاسيوم فقط عند التركيز S_0A_2 بطول 776 (bp) و عند الأفراد المعاملة بالملوحة مع البوتاسيوم ظهرت حزمتين فريدتين بطول 1500، 1640 (bp) عند التركيز S_2A_1 و حزمتين فريدتين بطول 818، 1019 (bp) ظهرت عند الأفراد المعاملة بالتركيز S_3A_1 ، و ثلاث حزم فريدة بطول 786، 960، 1492 (bp) ظهرت عند الأفراد المعاملة بالتركيز S_3A_2 إذ تمثل هذه الحزم تعبيراً لجينات مقاومة الملوحة تحت معاملات البوتاسيوم.

3-1-2- تضاعف البادئ C_{11} للصف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم

توضح نتائج الجدول (16) عدد و حجم حزم الـ ADN الناتجة عن التضخيم بفعل البادئ C_{11} من تقنية (RAPD) للصف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم.

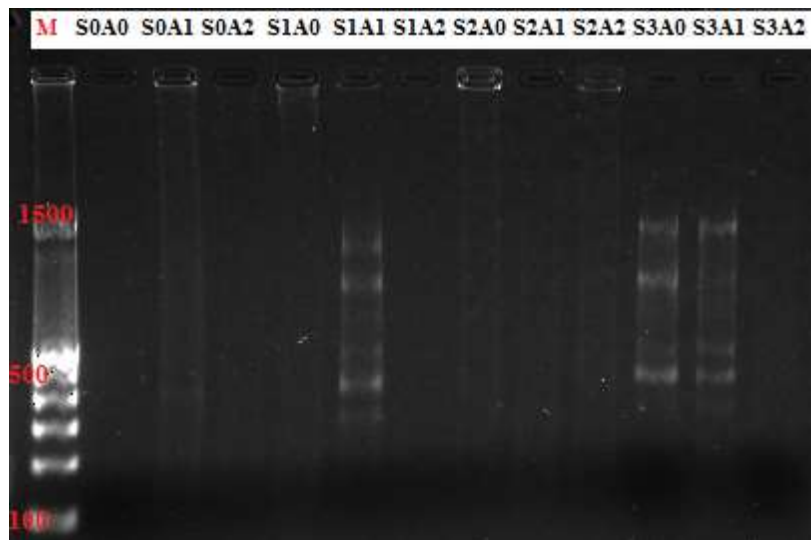
الجدول (16): الحزم المتضخمة مع أحجامها الجزيئية للبادئ C_{11} للصف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم

نوع الحزمة	مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم												الوزن الجزيئي لحزم ADN (bp)
	S_3A_2	S_3A_1	S_3A_0	S_2A_2	S_2A_1	S_2A_0	S_1A_2	S_1A_1	S_1A_0	S_0A_2	S_0A_1	S_0A_0	
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	459
متعددة المظهر	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	507
فريدة	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	612
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	992
فريدة	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1035
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1332
متعددة المظهر	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1500
9 حزم	0	3	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0	المجموع

بينت نتائج تضاعف البادئ C_{11} لـ ADN الصف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم و التداخل بينهم المدونة في الجدول (16) و الشكل (53) أنه لم تظهر أية حزمة ADN عند كل من الأفراد الغير معاملة بالملوحة والبوتاسيوم (الشاهد S_0A_0) و الأفراد المعاملة بالملوحة فقط عند التركيزين (S_1A_0, S_2A_0) و الأفراد المعاملة بالبوتاسيوم فقط عند التركيزين (S_0A_2, S_0A_1) و كذا الأفراد المعاملة بالملوحة مع البوتاسيوم عند التراكيز ($S_3A_2, S_2A_2, S_2A_1, S_1A_2$) و هذا راجع لعدم تكامل ADN القالب لهذه الأفراد مع تسلسلات هذا البادئ.

في حين أظهر هذا البادئ تسعة حزم ADN منها حزم متعددة المظهر و حزم فريدة، فالحزم متعددة المظهر سجلت بظهور حزمتين بطول 433 و 1499 (bp) بين الأفراد المعاملة بالتركيز العالي للملوحة (S_3A_0) و

الأفراد المعاملة بهذا التركيز مضاف إليها البوتاسيوم بتركيز A_1 (S_3A_1)، أما الحزم الفريدة فسجل ظهورها عند كل من الأفراد المعاملة بالتركيز الملحي (S_3A_0) بظهور حزمة واحدة بطول 966 (bp)، و الأفراد المعاملة بالملوحة مع البوتاسيوم عند التركيز (S_1A_1) ظهرت عندها ثلاثة حزم فريدة بطول 394، 923، 1260 (bp) و الأفراد المعاملة بالتركيز (S_3A_1) ظهرت عندها حزمة واحدة فريدة بطول 547 (bp)، إن ظهور هذه الحزم عند هذه الأفراد دون أفراد الشاهد (S_0A_0) ما هو إلا تعبيراً لجينات مقاومة الملوحة سواء عند المعاملة بالملوحة فقط أو عند تداخل الملوحة مع البوتاسيوم.



الشكل (53): الترحيل الكهربائي لنواتج البادئ C_{11} على هلام الأغاروز للصنف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات البوتاسيوم

M: يمثل المؤشر الجزيئي لتحديد أحجام حزم الـADN

3-1-3- تضاعف البادئ C_{14} للصنف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم

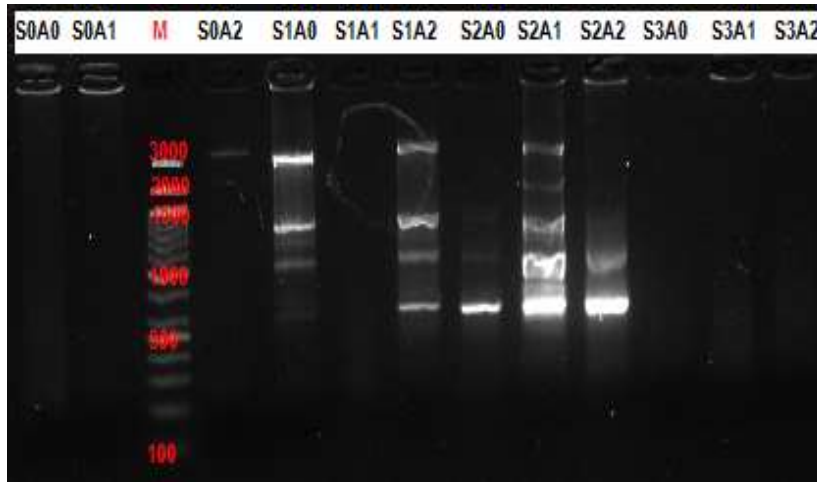
توضح النتائج المدونة في الجدول (17) عدد و حجم حزم الـADN الناتجة عن التضخيم بفعل البادئ C_{14} من تقنية (RAPD) للصنف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم.

الجدول (17): الحزم المتضخمة مع أحجامها الجزيئية للبادئ C_{14} للسنف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم

نوع الحزمة	مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم												الوزن الجزيئي لحزم ADN (bp)
	S_3A_2	S_3A_1	S_3A_0	S_2A_2	S_2A_1	S_2A_0	S_1A_2	S_1A_1	S_1A_0	S_0A_2	S_0A_1	S_0A_0	
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	644
فريدة	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	697
فريدة	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	716
متعددة المظهر	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	726
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	1093
متعددة المظهر	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	1102
فريدة	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	1147
فريدة	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	1157
متعددة المظهر	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	1405
فريدة	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	1452
متعددة المظهر	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	2050
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	3000
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	3010
متعددة المظهر	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	3030
حزمة 18	0	0	0	2	5	2	4	0	4	1	0	0	المجموع

النتائج المدرجة في الجدول (17) و الشكل (54) تبين أن تضاعف ADN الأفراد المعاملة بالملوحة و البوتاسيوم و التداخل بينهم للسنف Malti تحت فعل البادئ C_{14} لم يظهر أية حزمة ADN في الأفراد الغير معاملة بالملوحة و البوتاسيوم (الشاهد S_0A_0) و الأفراد المعاملة بالبوتاسيوم فقط عند التركيز (S_0A_1) ، و الأفراد المعاملة بالتركيز الملحي (S_3A_0) و الأفراد المعاملة بالملوحة مع البوتاسيوم عند التراكيز (S_3A_1) ، إن عدم ظهور حزم الـ ADN راجع لعدم تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكتملة له في ADN القالب للأفراد المذكورة أعلاه.

في حين أظهر هذا البادئ 18 حزمة ADN وزعت على أفراد مختلفة منها الحزم الفريدة و الحزم متعددة المظهر، حيث ظهرت عشرة حزم فريدة سجل منها حزمة واحدة بطول 3010 (bp) عند الأفراد المعاملة بالبوتاسيوم فقط عند التركيز (S_0A_2) و هذه الحزمة لها علاقة بجينات تنشط في وجود البوتاسيوم.



الشكل (54): الترحيل الكهربائي لنواتج البادئ C_{14} على هلام الأغاروز للصف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم.

M: يمثل المؤشر الجزيئي لتحديد احجام حزم ADN

و سجلت ثلاثة حزم فريدة بطول 644، 1093، 3000 (bp) عند الأفراد المعاملة بالملوحة فقط عند التركيز (S_1A_0) و حزمتين عند الأفراد المعاملة بالتركيز S_2A_0 بطول 667، 1147 (bp) ، كما سجلت الحزم الفريدة عند الأفراد المعاملة بالملوحة مع البوتاسيوم بظهور ثلاثة حزم بطول 716، 115، 1452 (bp) عند التركيز (S_1A_2) و حزمة واحدة عند الأفراد المعاملة بالتركيز (S_2A_1) بطول 2050 (bp)، أما الحزم متعددة المظهر فقد ظهرت حزمتين بطول 726، 1102 (bp) عند كل من الأفراد المعاملة بتركيزي البوتاسيوم A_1 و A_2 تحت المستوى الملحي S_2 (S_2A_2 S_2A_1) ، و حزمة واحدة بطول 1405 (bp) ظهرت عند كل من الأفراد المعاملة بتركيز البوتاسيوم A_1 تحت المستوى الملحي S_2 (S_2A_1) و الأفراد المعاملة بالتركيز الملحي (S_1A_0) ، و حزمة واحدة بطول 3030 زوج قاعدي (bp) ظهرت عند الأفراد

المعاملة بتركيزي البوتاسيوم A_1 و A_2 تحت المستويين الملحيين S_1 و S_2 (S_1A_2, S_2A_1) ، إن كل هذه الحزم التي ظهرت عند الأفراد المعاملة بالملوحة فقط و الأفراد المعاملة بالملوحة مع البوتاسيوم سواء الفريدة منها أو المتعددة المظهر تمثل جينات مقاومة الملوحة و هذا راجع لغيابها في أفراد الشاهد (S_0A_0) و في الأفراد المعاملة بالبوتاسيوم فقط (A_2, A_1).

3-1-4- تضاعف البادئ C_{14} للصف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم

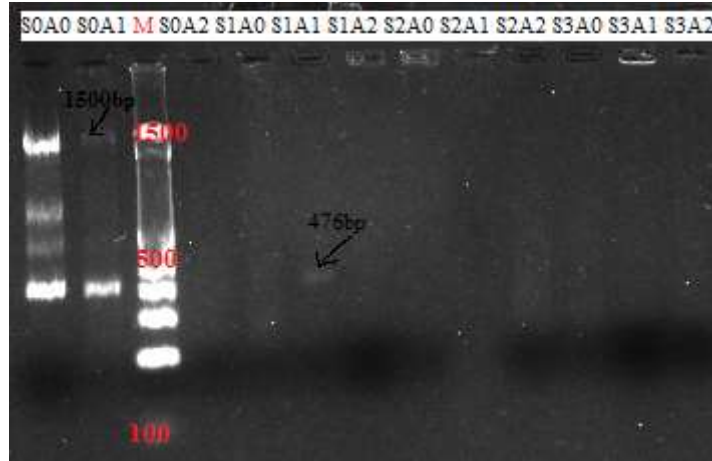
توضح نتائج الجدول (18) عدد و حجم حزم الـADN الناتجة عن التضخيم بفعل البادئ C_{14} من تقنية (RAPD) للصف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم.

الجدول (18): الحزم المتضخمة مع أحجامها الجزيئية للبادئ C_{14} للصف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم

نوع الحزمة	مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم												الوزن الجزيئي لحزم ADN (bp)
	S_3A_2	S_3A_1	S_3A_0	S_2A_2	S_2A_1	S_2A_0	S_1A_2	S_1A_1	S_1A_0	S_0A_2	S_0A_1	S_0A_0	
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	408
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	420
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	476
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	616
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	843
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	1478
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	1500
7 حزم	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	4	المجموع

من نتائج الجدول (18) و الشكل (55) يتبين أن البادئ C_{14} أنتج 6 حزم فريدة فقط لـADN أفراد الصف Histal المعاملة بالملوحة و خلاات البوتاسيوم و التداخل بينهم، أربعة من هذه الحزم سجلت عند الأفراد الغير معاملة بالملوحة و البوتاسيوم (الشاهد S_0A_0) بأطوال 408، 616، 843، 1478 (bp)، و حزمتين عند الأفراد المعاملة بالبوتاسيوم فقط عند التركيز (S_0A_1) بطول 420، 1500 (bp)، و حزمة واحدة بطول

476 (bp) سجلت عند الأفراد المعاملة بالتركيز البوتاسيوم A_1 تحت المستوى الملحي S_1 (S_1A_1)، أما الأفراد المتبقية المعاملة بالتركيز ($S_3A_2, S_3A_1, S_3A_0, S_2A_2, S_2A_1, S_2A_0, S_1A_2, S_1A_0, S_0A_2$) فلم تظهر عندها أية حزمة ADN لعدم امتلاك هذا البادئ مواقع متممة أو مكملة له ضمن ADN القالب لهذه الأفراد.



الشكل (55): الترحيل الكهربائي لنواتج البادئ C_{14} على هلام الأغاروز للصلنف Hista تحت مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم

M: يمثل المؤشر الجزيئي لتحديد أحجام حزم الـADN

2-3- تضاعف بادئات تقنية (ISSR)

تم في هذه الطريقة تضخيم مناطق ADN ذات تتابعات بسيطة متكررة على مستوى جينوم الأفراد المدروسة، حيث تتكون هذه المناطق من تكرار قاعدة واحدة أو اثنين أو ثلاثة تتكرر من حوالي 4 إلى 10 مرات مثل (A أو AG أو CGA) وتكون جنباً إلى جنب، كما تعتمد على الوجود الوفير والتوزيع العشوائي في الجينوم، و هي مثل تقنية (RAPD) يستخدم فيها بادئات عشوائية لا تحتاج إلى معلومات مسبقة عن جينوم الأفراد المدروسة، ينجم عن تضخيم الـADN بهذه التقنية حزم ذات تعددية شكلية كبيرة ناجمة عن عدة مواقع وراثية (Agarwal et al., 2008).

3-2-1- تضاعف البادئ INC_1 للصف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم

تشير نتائج الجدول (19) الى عدد و حجم حزم ADN الناتجة عن التضخيم بفعل البادئ INC_1 من تقنية

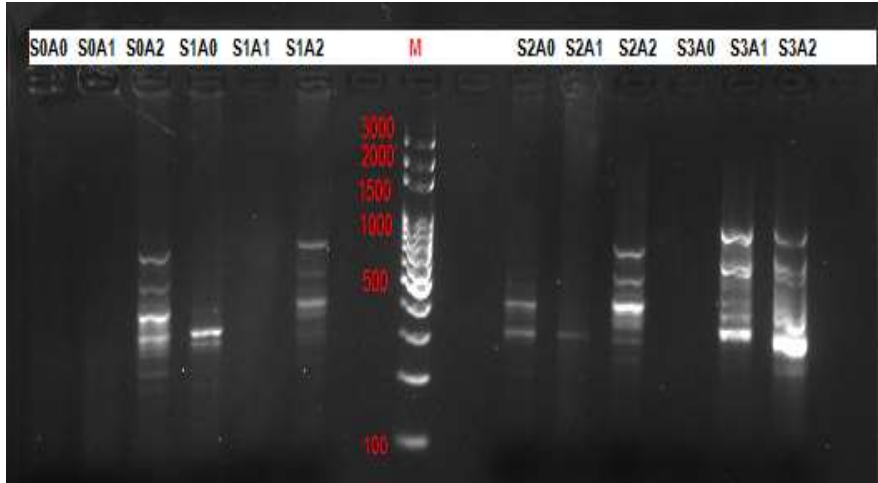
(ISSR) للصف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم.

الجدول (19): الحزم المتضخمة مع أحجامها الجزيئية للبادئ INC_1 للصف Malti تحت مستويات الملوحة

و معاملات خلاات البوتاسيوم

نوع الحزمة	مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم												الوزن الجزيئي لحزم bp ADN
	S_3A_2	S_3A_1	S_3A_0	S_2A_2	S_2A_1	S_2A_0	S_1A_2	S_1A_1	S_1A_0	S_0A_2	S_0A_1	S_0A_0	
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	203
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	277
متعددة المظهر	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	287
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	290
متعددة المظهر	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	300
فريدة	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	310
فريدة	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	313
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	354
فريدة	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	362
فريدة	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	400
متعددة المظهر	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	418
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	478
فريدة	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	525
متعددة المظهر	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	581
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	668
فريدة	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	720
فريدة	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	797
فريدة	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	838
فريدة	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	870
26 حزمة	4	5	0	4	1	2	3	0	2	5	0	0	المجموع

من خلال نتائج الجدول (19) و الشكل (56) يتضح أن العدد الكلي لحزم الـADN الناتجة عن استخدام البادئ INC_1 في الصنف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم و التداخل بينهم هو 26 حزمة تراوحت أوزنها الجزيئية بين 203 – 870 (bp) بالإعتماد على المؤشر الجزيئي المستخدم حيث أظهرت بصمة الـADN غياب كلي لحزم الـADN عند الأفراد الغير معاملة بالملوحة و البوتاسيوم (الشاهد S_0A_0) و الأفراد المعاملة بالبوتاسيوم فقط عند التركيز (S_0A_1) و الأفراد المعاملة بالملوحة و البوتاسيوم عند التركيز (S_1A_1) و الأفراد المعاملة بالتركيز الملحي (S_3A_0) و هذا يشير إلى عدم وجود تتابع القواعد للبادئ INC_1 عند هذه الأفراد، كما أظهرت بصمة الـADN وجود حزم ADN مختلفة العدد و الأطوال منها حزم فريدة و حزم متعددة المظهر، حيث ظهرت 14 حزمة فريدة منها خمسة حزم بأطوال 203، 290، 354، 478، 668 (bp) سجلت عند الأفراد المعاملة بالبوتاسيوم فقط عند التركيز (S_0A_2) ، و هذا يدل أن هذه الحزم تشير إلى التعبير الجيني للجينات التي تنشط بوجود البوتاسيوم، و حزمتين بطول 277 و 400 (bp) ظهرت عند الأفراد المعاملة بالملوحة فقط عند التركيز (S_1A_0) و (S_2A_0) على التوالي، و هذا يدل على أن هذه الحزم ذات تعبير جيني خاص بجينات مقاومة الملوحة، و سجل كذلك ظهور الحزم الفريدة عند الأفراد المعاملة بالملوحة و البوتاسيوم بظهور حزمتين بطول 525 و 720 (bp) عند الأفراد المعاملة بالتركيز (S_2A_2) و حزمتين بطول 362 و 838 (bp) عند الأفراد المعاملة بالتركيز (S_3A_1) ، و حزمتين بطول 313 و 870 (bp) عند الأفراد المعاملة بالتركيز (S_3A_2) ، و حزمة فريدة بطول 797 (bp) عند الأفراد المعاملة بالتركيز (S_1A_2) ، إن ظهور هذه الحزم عند تداخل الملوحة مع البوتاسيوم دون غيرها يدل على أنها حزم ذات تعبير جيني لجينات مقاومة الملوحة تحت معاملات البوتاسيوم.



الشكل (56): الترحيل الكهربائي لنواتج البادئ INC_1 على هلام الأغاروز للصف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم

M : يمثل المؤشر الجزيئي لتحديد أحجام حزم الـADN

أما الحزم المتعددة المظهر، فقد ظهرت حزمة واحدة بطول 310 (bp) عند الأفراد المعاملة بالتركيزين الملحيين (S_1A_0) و (S_2A_0) و لم تظهر عند باقي الأفراد سواءا المعاملة بالملوحة و البوتاسيوم أو غير المعاملة و هذا يدل على أن هذه الحزمة ناتجة عن التعبير الجيني للجينات المقاومة للملوحة تحت مستويات الملوحة فقط، كما ظهرت حزمة واحدة بطول 287 (bp) عند الأفراد المعاملة بالتركيزين (S_2A_2) و (S_3A_2) ، و حزمة واحدة بطول 300 (bp) ظهرت عند الأفراد المعاملة بالتركيزين (S_2A_1) و (S_3A_1)، و ظهرت كذلك حزمة واحدة بطول 418 (bp) عند الأفراد المعاملة بالتركيزين (S_3A_1 ، S_2A_2 ، S_1A_2)، و الأفراد المعاملة بالتركيزين (S_3A_2 ، S_3A_1 ، S_1A_2) ظهرت عندها حزمة واحدة بطول 581 (bp) ، و هذا يدل على أن هذه الحزم ناتجة عن التعبير الجيني للجينات المقاومة للملوحة تحت معاملات البوتاسيوم.

3-2-2-2- تضاعف البادئ INC_1 للصف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم

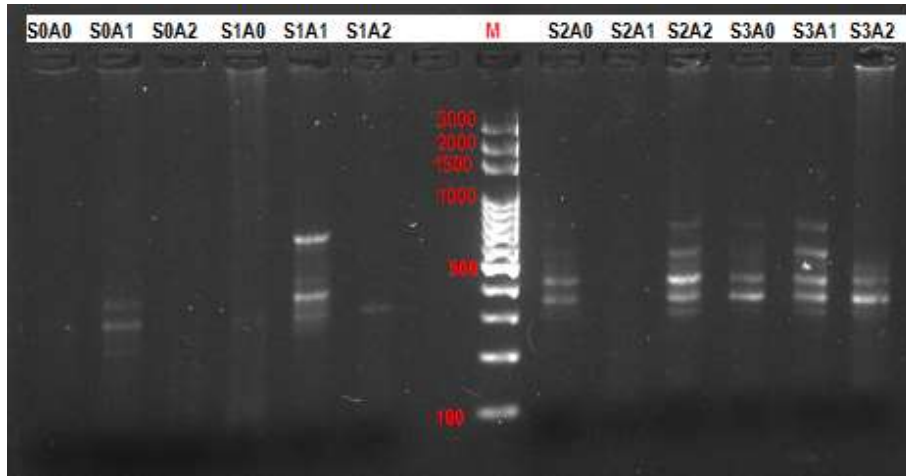
تشير نتائج الجدول (20) إلى عدد و حجم حزم الـADN الناتجة عن التضخيم بفعل البادئ INC_1 من تقنية (ISSR) للصف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم.

الجدول (20): الحزم المتضخمة مع أحجامها الجزيئية للبادئ INC_1 للصف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم

نوع الحزمة	مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم												الوزن الجزيئي لحزم ADN (bp)
	S_3A_2	S_3A_1	S_3A_0	S_2A_2	S_2A_1	S_2A_0	S_1A_2	S_1A_1	S_1A_0	S_0A_2	S_0A_1	S_0A_0	
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	259
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	295
متعددة المظهر	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	315
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	329
متعددة المظهر	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	352
متعددة المظهر	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	363
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	367
متعددة المظهر	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	438
فريدة	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	443
فريدة	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	448
متعددة المظهر	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	596
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	695
متعددة المظهر	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	802
حزمة 21	2	4	2	5	0	2	1	3	0	0	2	0	المجموع

أظهرت نتائج تحليل البصمة الوراثية (ISSR) باستخدام البادئ INC_1 المبينة في الجدول (20) و الشكل (57) أن هذا البادئ أنتج 21 حزمة ADN بأوزان جزيئية تراوحت بين 802-259 (bp) في الصف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم و التداخل بينها، حيث لم تظهر عندهم أية حزمة ADN عند الأفراد غير المعاملة بالملوحة و البوتاسيوم (الشاهد S_0A_0) و الأفراد المعاملة بالبوتاسيوم فقط عند التركيز (S_0A_2) و الأفراد المعاملة بالتركيز الملحي (S_1A_0) و الأفراد المعاملة بالتركيز الملحي S_2 مع البوتاسيوم بتركيز A_1 (S_2A_1) و ذلك بسبب غياب المواقع الكاملة لتسلسلات هذا البادئ في جينوم هذه الأفراد، أما الحزم الظاهرة فكانت منها الفريدة و المتعددة المظهر، حيث سجل ظهور ستة حزم فريدة مها

حزمتين بطول 259 و 329 (bp) ظهرت عند الأفراد المعاملة بالبوتاسيوم فقط عند التركيز (S_0A_1) و هي عبارة عن حزم حصيلة تعبير جيني لجينات تنشط بوجود البوتاسيوم، كما ظهرت ثلاثة حزم فريدة بطول 295، 367، 695 (bp) عند الأفراد المعاملة بالملوحة بتركيز S_1 و البوتاسيوم بتركيز A_1 (S_1A_1)، و حزمة واحدة فريدة بطول 448 (bp) ظهرت عند الأفراد المعاملة بالملوحة بتركيز S_2 و البوتاسيوم بتركيز A_2 (S_2A_2)، إذ تعتبر هذه الحزم تعبيراً لجينات مقاومة الملوحة تحت معاملات البوتاسيوم.



الشكل (57): الترحيل الكهربائي لنواتج البادئ INC_1 على هلام الأغاروز للصف $Hista1$ تحت مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم

M : يمثل المؤشر الجزيئي لتحديد أحجام حزم ADN

في حين الحزم المتعددة المظهر وزعت على أفراد مختلفة، فعند الأفراد المعاملة بالتركيزين الملحيين S_2A_0 و (S_3A_0) سجل ظهور حزمتين بطول 352 و 443 (bp) و لم تظهر عند الأفراد الأخرى سواء المعاملة بالملوحة و البوتاسيوم أو غير المعاملة مما يدل على أن هذه الحزم تمثل جينات مقاومة الملوحة تحت مستويات الملوحة فقط، كما ظهرت الحزم المتعددة المظهر بين الأفراد المعاملة بالملوحة و البوتاسيوم فعند الأفراد المعاملة بالتركيزين (S_1A_2) و (S_2A_2) سجل ظهور حزمة واحدة بطول 315 (bp)، و حزمة واحدة بطول 438 (bp) ظهرت عند الأفراد المعاملة بالتركيزين (S_3A_1) و (S_3A_2) ، و حزمتين بطول 596 و 802 (bp) ظهرت عند الأفراد المعاملة بالتركيزين (S_2A_2) و (S_3A_1) ، إن ظهور هذه الحزم

المتعددة المظهر بين الأفراد المعاملة بالملوحة و البوتاسيوم دون غيرها يدل على أن هذه الحزم لها علاقة بجينات مقاومة الملوحة تحت معاملات البوتاسيوم.

3-2-3- تضاعف البادئ INC_2 للصف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خللات البوتاسيوم

تشير النتائج المدونة في الجدول (21) عدد و حجم حزم ADN الناتجة عن التضخيم بفعل البادئ INC_2 من تقنية (ISSR) للصف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خللات البوتاسيوم.

الجدول (21): الحزم المتضخمة مع أحجامها الجزيئية للبادئ INC_2 للصف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خللات البوتاسيوم

نوع الحزمة	مستويات الملوحة و معاملات خللات البوتاسيوم												الوزن الجزيئي لحزم ADN (bp)
	S_3A_2	S_3A_1	S_3A_0	S_2A_2	S_2A_1	S_2A_0	S_1A_2	S_1A_1	S_1A_0	S_0A_2	S_0A_1	S_0A_0	
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	893
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	1480
فريدة	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1500
3 حزم	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0	المجموع

من نتائج الجدول (21) و الشكل (58) يتضح أن البادئ INC_2 تمكن من التعرف على التتابعات المكملة له في قالب ADN الصف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خللات البوتاسيوم و انتج ثلاث حزم فقط متباينة الحجم الجزيئي، حيث ظهرت حزمة واحدة بطول 1480 (bp) عند الأفراد المعاملة بالبوتاسيوم عند التركيز (S_0A_1) و هي تعبير الجينات تنشط بوجود البوتاسيوم، و حزمتين بطول 893 و 1500 (bp) عند الأفراد المعاملة بالتركيز الملحي S_1 مع البوتاسيوم بتركيز A_1 (S_1A_1)، إذ مثلت هذه الحزم تعبيراً لجينات مقاومة الملوحة تحت معاملة البوتاسيوم، في حين لم تظهر أية حزم ADN عند الأفراد المتبقية، و هذا لعدم تطابق تسلسلات هذا البادئ مع جينوم هذه الأفراد.



الشكل (58): الترحيل الكهربائي لنواتج البادئ INC_2 على هلام الأجاروز للصنف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم

M : يمثل المؤشر الجزيئي لتحديد احجام حزم الـADN

3-2-4- تضاعف البادئ INC_2 للصنف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات البوتاسيوم

من الشكل (59) يتبين أن البادئ INC_2 لم يتعرف على التتابعات المكتملة له في قالب ADN الصنف Histal، لذلك لم تظهر الحزم عند كل الأفراد تحت مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم و التداخل بينهما و بدت بشكل مسحة بالرغم من تغيير درجة حرارة تفاعل PCR و إعادة التفاعل أكثر من مرة.



الشكل (59): الترحيل الكهربائي لنواتج البادئ INC_2 على هلام الأجاروز للصنف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات خلاات البوتاسيوم

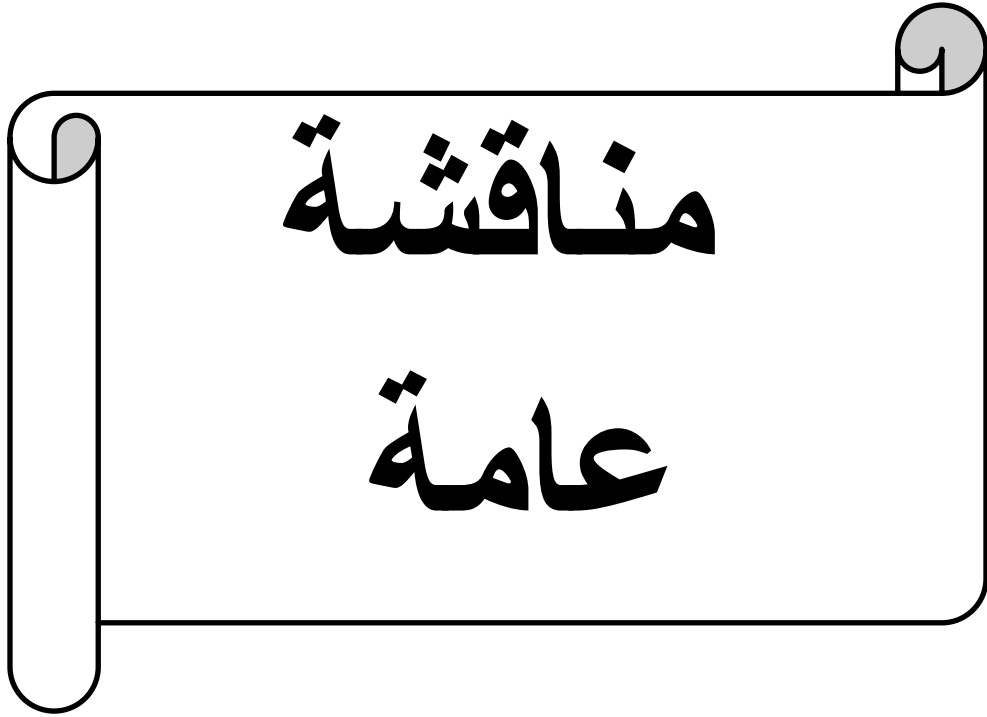
3-3- كفاءة بادئات تقنيتي (RAPD) و (ISSR) في تشخيص جينات مقاومة الملوحة

من مجمل ما تحصلنا عليه من نتائج تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) يتضح أن الصنفين Histal و Malti اختلفا في إظهار حزم الـADN المرتبطة بصفة مقاومة الملوحة أو غير مرتبطة بذلك بفعل بادئات تقنية التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال (RAPD) و بادئات تقنية التابع البسيط البيئي المتكرر (ISSR)، حيث تفوق الصنف Malti بإظهار 49 حزمة ADN لجينات مقاومة الملوحة و 12 حزمة ADN لجينات غير مرتبطة بصفة مقاومة الملوحة على الصنف Histal الذي أظهر 29 حزمة لجينات مقاومة الملوحة و 8 حزم ADN لجينات غير مرتبطة بصفة مقاومة الملوحة، كما اختلفت البادئات في الكشف عن هذه الحزم، حيث أبدى البادئ INC_1 من تقنية (ISSR) أعلى كفاءة قدرت بنسبة 47.96% و أعطى في الصنف Malti 21 حزمة ADN ذات تعبير جيني مرتبطة بصفة مقاومة الملوحة موزعة على الأفراد التي عوملت بالتركيز التالية: ($S_3A_2, S_3A_1, S_2A_2, S_2A_1, S_2A_0, S_1A_0, S_1A_1$) و خمسة حزم ADN ذات تعبير جيني لجينات تنشط بوجود البوتاسيوم فقط وزعت على الأفراد التي عوملت بتركيز (S_0A_2) من خلاص البوتاسيوم، و في الصنف Histal أعطى هذا البادئ 19 حزمة ADN ذات تعبير جيني مرتبطة بصفة مقاومة الملوحة موزعة على الأفراد التي عوملت بالتركيز التالية: ($S_3A_2, S_3A_1, S_3A_0, S_2A_2, S_2A_0, S_1A_2, S_1A_1$) و حزمتين ADN ذات تعبير جيني لجينات تنشط بوجود البوتاسيوم فقط وزعت على الأفراد التي عوملت بتركيز (S_0A_1) من خلاص البوتاسيوم، يليه البادئ C_{14} من تقنية (RAPD) الذي أبدى كفاءة بنسبة 25.51% و كشف عن وجود 17 حزمة ADN لجينات مقاومة الملوحة في الصنف Malti موزعة على الأفراد التي عوملت بالتركيز التالية: ($S_2A_2, S_2A_1, S_2A_0, S_1A_2, S_1A_0$) و حزمة ADN واحدة ذات تعبير جيني لجينات تنشط بوجود البوتاسيوم فقط وزعت على الأفراد التي عوملت بتركيز S_0A_2 من خلاص البوتاسيوم، في حين أعطى هذا البادئ حزمة واحدة متعلقة بصفة مقاومة الملوحة في الصنف Histal عند الأفراد التي عوملت بتركيز S_1A_1 ، و حزمتين ADN ذات تعبير جيني لجينات تنشط بوجود البوتاسيوم فقط وزعت على

الأفراد التي عوملت بتركيز S_0A_1 من خلاات البوتاسيوم و أربعة حزم ADN وزعت على الأفراد التي لم تعامل بالملوحة و البوتاسيوم (S_0A_0 الشاهد)، ثم البادئ C_{11} من تقنية (RAPD) الذي أبدى كفاءة بنسبة 23.47 % و كشف عن وجود 9 حزم ADN ذات تعبير جيني مرتبطة بصفة مقاومة الملوحة في الصنف Malti موزعة على الأفراد التي عوملت بالتركيز التالية: (S_3A_1, S_2A_1, S_3A_2) و كشف عن وجود ثلاثة حزم ADN وزعت على الأفراد التي عوملت بتركيز (S_0A_2) من خلاات البوتاسيوم و حزمتين ADN وزعت على الأفراد التي عوملت بتركيز S_0A_1 من خلاات البوتاسيوم و هي حزم ذات تعبير جيني لجينات تنشط بوجود البوتاسيوم فقط، و في الصنف Histal أعطى هذا البادئ (C_{11}) 9 حزم ADN ذات تعبير جيني مرتبطة بصفة مقاومة الملوحة موزعة على الأفراد التي عوملت بالتركيز التالية: (S_1A_1, S_3A_0, S_3A_1)، بينما البادئ INC_2 من تقنية ISSR كان الأقل كفاءة بنسبة 3.06 % و ساهم في إظهار حزمتين ADN ذات تعبير جيني مرتبطة بصفة مقاومة الملوحة في الصنف Malti عند التركيز (S_1A_1) و حزمة ADN واحدة ذات تعبير جيني لجينات تنشط بوجود البوتاسيوم فقط وزعت على الأفراد التي عوملت بتركيز (S_0A_1) من خلاات البوتاسيوم، في حين لم تظهر أية حزم ADN مرتبطة بصفة مقاومة الملوحة و غير مرتبطة بذلك بتطبيق هذا البادئ في الصنف Histal ، و بذلك يمكن اعتبار كل من البادئ INC_1 من تقنية (ISSR) و البادئين C_{11} و C_{14} من تقنية (RAPD) من المؤشرات الجزيئية المرتبطة موجبا بصفة تحمل الملوحة في كلتا صنفى الفول و هذا راجع لظهور حزم ADN في الأفراد المعاملة بتركيز الملوحة فقط و تراكيز تداخل الملوحة مع البوتاسيوم دون ظهورها في الأفراد غير المعاملة بالملوحة و البوتاسيوم (الشاهد) في كلا صنفى الفول، كما يمكن اعتبار البادئ INC_2 من تقنية (ISSR) من المؤشرات الجزيئية الأقل كفاءة في اظهار جينات مقاومة الملوحة لدى الصنف Malti و من المؤشرات الجزيئية المرتبطة سلبا بصفة مقاومة الملوحة لدى الصنف Histal.

اتفقت هذه النتائج مع دراسة (Elsayed *et al.*, 2016) التي استخدم فيها خمسة بادئات من تقنية (RAPD) على خمسة أصناف من نبات الفول للتمييز بين الأصناف الحساسة و المقاومة للملوحة، حيث كشفت الدراسة بظهور حزم ADN مختلفة الأوزان لجينات مقاومة الملوحة عند أربعة أصناف في التركيز الملحي 50 و 100 ملي مول NaCl بفعل أربعة بادئات (C₁₈, C₁₆, C₁₄, C₁₁) و غيابها في الصنف الحساس.

و اتفقت كذلك مع دراسة (Ehab *et al.*, 2015) و التي تناولت استخدام تسعة بادئات من تقنية (ISSR) للتمييز بين ستة أصناف من نبات الفول من حيث مقاومتها و حساسيتها للملوحة و خلصت الدراسة إلى ظهور حزم ADN مختلفة الأوزان لجينات مقاومة الملوحة عند كل الأصناف في التركيز الملحي 40 و 80 ملي مول NaCl بفعل ستة بادئات (INC₁, INC₂, INC₄, INC₆, INC₇, INC₉) في حين البادئات (INC₃ و INC₅ و INC₈) لم تظهر أية حزم ADN لصفة مقاومة الملوحة عند كل الأصناف.



مناقشة

عامة

مناقشة عامة

تتصف النباتات البقولية بقدرتها على تثبيت الأزوت الجوي نتيجة التعايش مع بكتيريا *Rhizobium* وتعتمد الكفاءة التثبيتية و نمو النبات البقولي على وجود كميات مناسبة من العناصر المعدنية في التربة و على الظروف الملائمة، حيث تؤدي الإجهادات البيئية إلى تثبيط النشاط التعايشي للبقوليات و إلى تغيرات مورفولوجية و إلى نشوء خلل فيزيولوجي في النبات، كما تؤثر على معظم مظاهر نمو النبات وتطوره واستقلابه، و من بين هذه الإجهادات الإجهاد الملحي (Susana et al., 2015).

مقابل ذلك يؤدي تحسين مقاومة البقوليات للملوحة بعملية التسميد البوتاسي إلى الرفع من كفاءتها في تثبيت الأزوت الجوي و إلى تعزيز نموها، كما تكمن أهمية التسميد بالبوتاسيوم في زيادة مقاومة تحمل الإجهاد الملحي من خلال زيادة الضغط الأسموزي للخلايا و زيادة محتوى الماء النسبي والسيطرة على حركة انغلاق وانفتاح الثغور، و بالتالي تنظيم عملية النتج (Anschütz et al., 2014).

لذا يهدف هذا البحث إلى محاولة الاستدلال عن التأثيرات الإيجابية للسماد البوتاسي في نمو صنفين من نبات الفول على الدلائل المورفولوجية و الفيزيولوجية و الجزيئية تحت الظروف الملحية أثناء مرحلتين من دورة حياة النبات (مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية، و مرحلة النمو الثمري).

بتطبيق التحليل الإحصائي الوصفي (ACP) على المتغيرات المختبرة لكلا المرحلتين على صنف الفول تبين أنه في مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية أن محتوى الماء النسبي في العقد الجذرية مثل الأفراد المضاف إليها معاملات خلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة بنسبة 92.33 % في المجموع الجذري أما محتوى الماء النسبي في الأوراق مثل الأفراد بنسبة 98.55 % في المجموع الخضري مقارنة مع المتغيرات الأخرى، إذ يعد محتوى الماء النسبي أفضل مؤشر للتعبير عن حالة الماء في الخلية النباتية كما يعتبر من المؤشرات المهمة في تصنيف النباتات المتحملة للإجهاد الملحي (Radi et al., 2013).

سببت ملوحة مياه الري المستخدمة في السقي خاصة في التركيز (150 ملي مول NaCl) في انخفاض محتوى الماء النسبي في العقد الجذرية لكلا صنفى الفول و هذا نتيجة زيادة الجهد الاسموزي لمحلول التربة حول منطقة الجذور، مما قلل من امتصاص الماء بواسطة الجذور و بالتالي انخفاض وصول الماء إلى خلاياه الأمر الذي أدى إلى انخفاض نسبة المحتوى المائي في العقد الجذرية (Borucki et Sujkowska, 2008) ، حيث أعقبه انخفاض في عددها و وزنها الجاف مما أدى الى اضطراب في العمليات الحيوية داخل العقد الجذرية لكلا الصنفين وتجلى هذا في انخفاض تركيز بروتين Leghémoglobine نتيجة لأكسدته و انخفاض تركيز الحديد النشط داخل العقد الجذرية، إذ يعتبر الحديد عنصر أساسي في تركيب بروتين Leghémoglobine، و نتج عن ذلك انخفاض في عملية تثبيت النيتروجين الجوي و بالتالي انخفاض تركيز النيتروجين الكلي في العقد الجذرية، و تؤكد نتائجنا قيمة الارتباطات العالية السلبية بين تركيز الصوديوم في العقد الجذرية و عدد العقد الجذرية ($r = -0.8909$) (Na^+_N / ND) (الجدول 07) و بين تركيز الصوديوم في العقد الجذرية و محتوى كل من الماء النسبي في العقد الجذرية ($r = -0.9646$) (Na^+_N / TER_N) (الجدول 07) و محتوى بروتين Leghémoglobine في العقد الجذرية ($r = -0.9240$) (Na^+_N / LEG_N) (الجدول 7)، و محتوى الحديد النشط في العقد الجذرية ($r = -0.9571$) (Na^+_N / Fe^+_N) (الجدول 07) و محتوى النيتروجين الكلي في العقد الجذرية ($r = -0.9395$) (Na^+_N / N_N) (الجدول 07)، و تتفق النتائج مع ما لاحظته كل من (Elsheikh et Wood, 2000) و (Yong et al., 2017) في نبات فول الصويا من نقص في عدد العقد الجذرية و انخفاض محتوى الماء النسبي و بروتين Leghémoglobine في العقد الجذرية.

أما على مستوى الجزء الخضري فقد أدت الملوحة المرتفعة بتركيز 150 ملي مول إلى انخفاض معنوي في محتوى الماء النسبي في الأوراق لكلا صنفى الفول، حيث سبب هذا الإنخفاض تقليص في المساحة الورقية و انخفاض تركيز الكلوروفيل الكلي في الأوراق، و هذا حسب (Mekki, 2016) يؤدي الى انخفاض في فعالية

ونشاط التركيب الضوئي، إذ يعتبر الماء ضروري في عملية البناء الضوئي كما أن الماء يعد مصدرا مهما لذرات الهيدروجين المهمة في عملية اختزال CO_2 وعليه فإن حالة نقص الماء أحدثت تغيرا في التراكيب الداخلية للصناعات الخضراء بما في ذلك الأغشية الحاملة لصبغات البناء الضوئي (Thylakoid) والإنزيمات المسرعة لتفاعلات البناء الضوئي، و الإنزيمات المهمة في تخليق الكلوروفيل والمسؤولة عن بناء مادة (Chlorophilled) التي تعد الأصل المباشر لبناء صبغة الكلوروفيل و هذا سبب انخفاض نواتج التركيب الضوئي من الكربوهيدرات، مما انعكس سلبا على الوزن الجاف لصنفي الفول الذي أدى إلى انخفاض مؤشر تحمل الملوحة لكلاهما في التركيز العالي للملوحة.

ومن التأثيرات الوظيفية الأخرى لانخفاض محتوى الماء النسبي هو انخفاض توزيع و انتشار العناصر المعدنية و أهمها البوتاسيوم، حيث أن عدم حصول النباتات على عنصر البوتاسيوم بسبب الملوحة سوف يزيد من فقد الماء ومن ثم انخفاض المحتوى المائي في النبات، فالنباتات الميسر لها البوتاسيوم تزداد قدرتها بالاحتفاظ بالماء بسبب انخفاض معدل النتح وذلك لدور البوتاسيوم كعامل مسيطر على عملية فتح وغلق ثغور الأوراق (Oosterhuis *et al.*, 2013).

لذلك يعد ارتفاع محتوى الماء النسبي والضغط الانتفاخي للأوراق و للنبات عموما تحت ظروف الإجهاد الملحي من المؤشرات المهمة في تحمل النباتات للإجهاد الملحي، حيث تبين الدور الايجابي لسماذ خلات البوتاسيوم و خصوصا عند التركيز (50ملي مول CH_3CO_2K) في تقليل ضرر الملوحة لكلا صنفي الفول و تجل ذلك في ارتفاع محتوى الماء النسبي في العقد الجذرية لكلا الصنفين، إذ يلعب عنصر البوتاسيوم دورا في زيادة مقدرة النبات على امتصاص الماء، الأمر الذي أدى إلى زيادة عدد العقد الجذرية التي رفعت في كفاءة تثبيت النيتروجين الذي يلبي جزء كبير من حاجيات النبات من هذا العنصر الغذائي المهم، حيث يدخل في تركيب جزيئة الكلوروفيل و الأحماض النووية (ADN و ARNm) و البروتينات و الإنزيمات و الهرمونات (Paula *et al.*, 2019).

كما أن البوتاسيوم له دور في زيادة امتصاص وانتقال العناصر الغذائية، مما أدى إلى ارتفاع في مؤشرات النمو الخضري كالأوراق من جهة وزيادة صبغة الكلوروفيل من جهة أخرى وهذا ينعكس على زيادة كفاءة التمثيل الضوئي ومن ثم زيادة ونقل المواد المصنعة إلى أماكن تخزينها (Cakmak,2005) ، الأمر الذي انعكس إيجابا في زيادة الوزن الجاف للمجموع الخضري لكلا الصنفين و من ثم زيادة في مؤشر تحمل الملوحة، و يعزز نتائجنا وجود علاقة ارتباط عالية الإيجابية بين محتوى الماء النسبي في العقد الجذرية و تركيز البوتاسيوم في العقد الجذرية (TER_N / K^+_N (r = + 0.9881) (الجدول07) و بين محتوى الماء النسبي في الأوراق و تركيز كل من البوتاسيوم في الأوراق (TER_F / K^+_F (r = + 0.9855) و تركيز الكلوروفيل الكلي في الأوراق ($TER_F/CHLT_F$ (r= +0.9009) و تركيز الـADN في الأوراق (TER_F/AND_F (r = + 0.9693) و تركيز الـARNm في الأوراق (r =+ 0.9556) و $TER_F/ARNm_F$ (الجدول09)، و تتفق النتائج مع ما لاحظته (SHI et al., (2020) من خلال دراستهم لعدد من أصناف نبات الفول السوداني (*Arachis hypogaea*) المعرضة لتراكيز عالية من الملوحة من انخفاض نموها الخضري و الوزن الجاف والإنتاجية فضلا عن انخفاض محتوى الكلوروفيل والكاربوهيدرات و البوتاسيوم في الأوراق، بينما المعالجة بالبوتاسيوم حسنت من كل هذه الصفات.

أما في مرحلة النمو الثمري فان تركيز الـADN في الأوراق مثل الأفراد المضاف إليها معاملات خلات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة أحسن تمثيل بنسبة 99.04 %، حيث تحتوي المادة الوراثية (AND) على الرموز الجينية المميزة لكل نوع و صنف من النبات، والمعلومات اللازمة لبناء البروتينات المهمة للوظائف البيولوجية المختلفة، كما أن الخصائص الكيموحيوية لحياة وتطور النبات يعتمد في المقام الأول على كيمياء الأحماض النووية معبرا عنها من خلال البروتينات، وأن كل ضرر يقع على المادة الوراثية يؤدي إلى خلل أو تثبيط العمليات الحيوية في النبات (كبهوار، 2007).

من خلال نتائجنا المتحصل عليها تبين أن تركيز الـADN في الأوراق انخفض بشكل معنوي عند تركيز الملوحة المرتفع (150ملي مول NaCl) عند كلا صنفى الفول و هذا بفعل شوارد Na^+ و Cl^- التي أدت إلى تكسير روابط السلسلة المزدوجة لـADN ، كما أن تراكيز الملوحة العالية تعيق امتصاص عنصر الفسفور الضروري لبناء الأحماض النووية وتثبط فعالية الإنزيمات المسيطرة على بناء الأحماض النووية، و تزيد من نشاط بعض الجذور الأوكسجينية مثل H_2O_2 و O_2^- التي تؤدي إلى تكسير الـADN و تغيير صفاته الكيميائية، و حيث أن بناء الـADN مرتبط بعملية بناء البروتين أثناء انقسام الخلايا و أن الـARNm هو المسؤول عن تجميع الأحماض الأمينية لبناء البروتينات فهذا يدل على أن انخفاض كمية الأحماض النووية يعني انخفاض كمية البروتين و بالتالي تثبيط نمو النبات (Shabala et Munns, 2017).

و عززت هاته النتائج قيمة الارتباطات العالية السلبية بين تركيز الصوديوم في الأوراق و تركيز كل من الـADN في الأوراق ($r=-0.9619$) Na^+_F/ADN_F و تركيز الـARNm في الأوراق $Na^+_F/ARNm_F$ ($r=-0.9624$) و تركيز البروتين في البذور $Na^+_F/PROT_G$ ($r = -0.9437$) (الجدول 11).

و في ظل هذه الظروف الملحية تم تجميع جزيئات البرولين و السكريات الكلية في خلايا الأوراق كنتيجة لعملية التعديل الأسموزي، فهذه العملية تؤدي وظائف عديدة حيث تتحد مع الحمض النووي ومع البروتينات لحمايتها من الجذور الحرة، و تتحد أيضا مع المياه للحد من خروجها من الخلايا النباتية، كما أنها تتحد مع الأغشية الخلوية مما يؤدي إلى استقرار النبات والحفاظ عليه عندما تكون تراكيز الملوحة مرتفعة في النبات (Shin et al., 2000)، و عززت نتائجنا قيمة الارتباطات العالية الايجابية بين تركيز الصوديوم في الأوراق و تركيز كل من البرولين في الأوراق ($r = +0.8889$) Na^+_F/PRO_F و السكريات الكلية في الأوراق ($r = + 0.8527$) $Na^+_F/SUCR_F$ (الجدول 11).

في حين معاملات خلات البوتاسيوم و بالأخص عند التركيز (50 ملي مول) زادت من محتوى الـADN في أوراق صنفى الفول و هذا راجع لدور البوتاسيوم في تنشيط و نقل الإنزيمات الخاصة بتمثيل الأحماض

النوعية، و بالتالي زيادة في بناء البروتينات (Romheld et Kirkby, 2010) و منها البروتينات الكلية في البذور، و هذا الارتفاع في محتوى الاوراق من ADN رافقه ارتفاع الدلائل الفيزيولوجية كارتفاع محتوى كل من الكلوروفيل الكلي و النيتروجين الكلي و البوتاسيوم و معامل الإنتقاء في الأوراق مع انخفاض في تراكيز البرولين و السكريات الذائبة و الصوديوم في الأوراق، و يرجع ذلك لدور البوتاسيوم في التقليل من سمية عنصر الصوديوم و تحفيز العديد من الإنزيمات الضرورية لتمثيل الكربوهيدرات و البروتينات و التقليل من سرعة النتح، و له دور فعال أيضا في زيادة كفاءة النبات في امتصاص العناصر الضرورية للنمو كالمغنيزيوم و الكالسيوم، فضلا عن دوره في زيادة فعالية الإنزيمات المضادة للأكسدة، كما أن للبوتاسيوم دور في زيادة الهرمونات النباتية المشجعة للنمو ومنها هرمون Cytokinine الذي يؤخر الشيخوخة ومن ثم تأخير هدم البروتينات في النبات (Amtmann et al., 2008)، مما أدى إلى انخفاض تركيز البرولين و السكريات الذائبة في أوراق كلا الصنفين.

و إضافة لما سبق انعكس تحسين الوظائف الفيزيولوجية بمعاملات خلاص البوتاسيوم على المظاهر المورفولوجية بصفة ايجابية كعدد القرون و طولها و المساحة السطحية للأوراق لكلا صنف الفول، و هذا راجع لدور البوتاسيوم في تنشيط الهرمونات النباتية التي لها علاقة بنشوء ونمو الأزهار وتلقيحها و إخصابها و نقل منتجات عملية التمثيل الضوئي من أجزاء النبات لصالح الأزهار الناشئة والتي انعكست إيجابا في زيادة نسبة الإخصاب في الأزهار (Rawat et al., 2016) و من ثم زيادة عدد القرون في كلا الصنفين.

عززت نتائج قيمة الارتباط العالية الموجبة بين تركيز البوتاسيوم في الأوراق و تركيز كل من ADN في الأوراق K^+_{F}/AND_{F} ($r = + 0.9664$) و البروتينات في البذور $K^+_{F}/PROT_{G}$ ($r = + 0.9782$) و الكلوروفيل في الأوراق $K^+_{F}/CHLT_{F}$ ($r = +0.9319$) و عدد القرون K^+_{F}/NG ($r = +0.8779$) و كذا قيمة الارتباط عالية السلبية بين تركيز البوتاسيوم في الأوراق و تركيز كل من البرولين في الأوراق

(الجدول $K^+_F/SUCR_F$ ($r = -0.8221$) و السكريات الذائبة في الأوراق K^+_F/PRO_F ($r = -0.8636$) (11).

إن الآليات الفيزيولوجية السابقة الذكر لتحمل الملوحة تخضع بمضمونها لتنظيم وراثي، وبالتالي فإن مقدرة النبات على الاستجابة للإجهاد الملحي تتوقف على المورثات التي تشرف على عمل هذه الآليات، حيث في ظروف الإجهاد الملحي فإن النبات يمكنه إعادة برمجة موادته الوراثية لإحداث استجابة دفاعية تتحكم فيها الجينات المكونة من الحمض النووي وذلك من خلال استنساخ العديد من البروتينات الدفاعية إذ أن مقاومته للملوحة مسؤول عن توريثها مورثات متعددة (Hasegawa *et al.*, 2000)، كذلك بينت نتائجنا المتحصل عليها بتطبيق تقنية الـ PCR أن البادئين C_{11} و C_{14} من تقنية (RAPD) و البادئ INC_1 من تقنية (ISSR) أظهرت حزم ADN مختلفة الأوزن الجزيئية ذات تعبير جيني لجينات مقاومة الملوحة عند الأفراد المعاملة بالتراكيز الملحية فقط و عند الأفراد المعاملة بالملوحة و البوتاسيوم، بتفوق الصنف Malti على الصنف Histal بإظهار أكبر عدد من الحزم، فحسب (Wei *et al.*, 2000) كلما ازداد عدد الجينات المقاومة للملوحة في الصنف الواحد كلما زادت مقاومته للملوحة و وضح كذلك أن صفة مقاومة الملوحة صفة كمية يحكمها أكثر من جين لذلك ظهرت عدة حزم ADN مختلفة الأوزان عند الأفراد المعاملة بالملوحة فقط و الأفراد المعاملة بالملوحة و البوتاسيوم.

و حسب ما أشار إليه (Yang *et al.*, 2009) من أن الحزم التي ظهرت عند الأفراد المعاملة بالملوحة فقط ما هي إلا تعبيراً للجينات البروتينات المتخصصة بالتحكم بأيونات الأملاح أو تسمى بالجينات عالية الحساسية للملوحة (Salt Overly Sensitive Proteins) اختصاراً (SOS)، و التي تتألف من بروتينات SOS1, 2, 3 كما تعتبر هذه البروتينات بمثابة عوامل تحديد مقاومة الملوحة.

و حسب ما بينه (Kaivan *et al.*, 2015) من الممكن أن تكون هذه الحزم الظاهرة عند التراكيز الملحية فقط دون غيرها تعبيراً لجينات تنتج إنزيمات تخليق البرولين أو تعبيراً لجينات تنتج الإنزيمات المضادة

للأكسدة (catalase و ascorbat peroxidase و Superoxide dismutases) و هي إنزيمات خاصة لإزالة شقائق الأوكسجين الفعالة (Reactive oxygen species) اختصارا (ROS) ، التي يتم إنتاجها بشكل مفرط في الخلية النباتية أثناء الإجهاد الملحي نتيجة لخلل في سلاسل نقل الإلكترونات الخاصة بالتنفس والتركيب الضوئي و الذي يؤدي إلى أكسدة الأوكسجين و إنتاج عدة أنواع نشطة من الأوكسجين مثل السوبر أوكسيد (O_2^-) و بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) و الهيدروكسيل (OH) و التي تلحق ضررا بالأحماض النووية و البروتينات و الدهون.

اتفقت نتائجنا مع الدراسة التي قامت بها Rania *et al.*, (2007) باختبار صنفين من نبات فول الصويا لمقاومتها للملوحة باستخدام عشرة بادئات من تقنية (RAPD) و عشرة بادئات من تقنية (ISSR) و خلصت النتيجة بظهور حزم ADN عند معاملات الملوحة دون معاملة الشاهد في الصنف المقاوم للملحة دون الصنف الحساس بفعل أربعة بادئات (Z12 ,O16 ,C05 ,C02) من تقنية (RAPD) و خمسة بادئات (17898A , 17899A , 844A , 844B , HB11) من تقنية (ISSR)، مما استدل به على أنها بادئات ذات كفاءة في الكشف عن جينات مقاومة الملوحة في نبات فول الصويا.

و اتفقت كذلك مع النتائج التي تحصل عليها Abdel-Hamid, (2014) في دراسته لأربعة أصناف من نبات الشعير النامية تحت التركيز الملحي 200 ملي مول حيث كشفت نتائج تطبيق ستة بادئات من تقنية (RAPD) ظهور حزم ADN مختلفة الأوزان في صنفين و غيابها في صنفين عند التركيز الملحي 200 بفعل أربعة بادئات (OPA10) (OPB14) (OPD20) (OPZ11).

كما أن ظهور حزم ADN عند الأفراد المعاملة بالملوحة مع البوتاسيوم دون غيرها ممكن أن تكون تعبيراً لجينات تشفير القنوات البروتينية لنقل البوتاسيوم حيث تنشط هذه الجينات بوجود البوتاسيوم (Véry et Sentenac, 2003)

تطابقت نتائجنا كذلك مع ما توصل إليه Kaddour *et al.*, (2009) بتطبيق تقنية (RT-PCR) على صنفين من نبات (*Arabidopsis thaliana*) النامي تحت مستويات مختلفة من الملوحة و المعامل بثلاثة تراكيز مختلفة من سلفات البوتاسيوم (KH_2PO_4) ، حيث أدت إلى ظهور حزم ADN الخاصة بجينات SKOR و AKT2 التي تشفر القنوات المشاركة في التحكم في نقل البوتاسيوم في نسيج الخشب و اللحاء، و تم التعبير عنها بشكل مفرط في وجود 25 ملي مول من (KH_2PO_4) في جذور و أوراق كلا الصنفين تحت مستويات الملوحة.



الخلاصة

الخلاصة

استهدف هذا البحث دراسة تأثير إضافة سماد البوتاسيوم على الخصائص المورفولوجية و الفيزيولوجية و الجزيئية لصنفين من نبات الفول (*Vicia faba L.*) النامية تحت ظروف ملحية خلال مرحلتين من دورة حياة النبات: مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية و مرحلة النمو الثمري.

أجريت الدراسة في ظروف البيت البلاستيكي على صنفين من نبات الفول: صنف محلي Malti و صنف اسباني Histal، و صممت التجربة في القطاعات المنشقة (Split-plot)، حيث اشتملت على أربعة مستويات ملحية ($S_0=0, S_1=25, S_2=50, S_3=150$) ملي مول على صورة كلوريد الصوديوم (NaCl) و ثلاثة مستويات من البوتاسيوم ($A_0=0, A_1=25, A_2=50$) ملي مول على صورة خلات البوتاسيوم (CH_3CO_2K) مع خمس مكررات، و بذلك احتوت التجربة على 120 وحدة تجريبية، تمت هذه الدراسة تحت مراقبة عدة ميكانيزمات مورفولوجية و فيزيولوجية و جزيئية حيث:

- اظهرت الدراسة الإحصائية الوصفية (ACP) المطبقة على متغيرات مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية أن محتوى الماء النسبي في العقد الجذرية ساهم بفعالية عالية في تمثيل الأفراد على مستوى المجموع الجذري بنسبة 99.21% و محتوى الماء النسبي في الأوراق ساهم بفعالية عالية في تمثيل الأفراد على مستوى المجموع الخضري بنسبة 98.95% مقارنة مع المتغيرات الأخرى، أما محتوى ADN في الأوراق فقد ساهم بفعالية عالية في تمثيل الأفراد بنسبة 90.64% مقارنة مع المتغيرات الأخرى لمرحلة النمو الثمري.

- كما بينت نتائج التحليل العاملي التمييزي (AFD) المطبق على المتغيرات التي مثلت الأفراد أحسن تمثيل تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم أن التراكيز الملحية المطبقة أثرت تأثيرات متباينة مقارنة بالشاهد، حيث كانت المسافة التأثيرية (I) مختلفة بين كل تركيز و آخر ($I_{S_1-S_0}=24.3$)

($I_{S_2-S_0}=75.99$)، ($I_{S_3-S_0}=481.95$) ، كما أنه زاد تركيز معاملات البوتاسيوم على صورة خلات البوتاسيوم زاد تأثيرها الإيجابي في إزالة التأثير الضار للملوحة على الأصناف المدروسة مقارنة بالشاهد ($I_{A_1-A_0}=5.66$)، ($I_{A_2-A_0}=25.88$) الأمر الذي جعل هذين الصنفين يستجيبان لهذه المعاملات استجابة مختلفة، فالصنف Malti أصبح أكثر مقاومة بينما الصنف Histal أكثر حساسية ($I_{DM-DH}=0.99$).

- دلت النتائج المسجلة أن مستويات الملوحة خاصة في التركيز ($S_3 = 150$ ميلي مول من NaCl) أدت إلى تناقص معنوي في الصفات المورفولوجية لكلا الصنفين لكل من عدد العقد الجذرية و وزنها الجاف عدد القرون و طولها، المساحة الورقية و في الصفات الفيزيولوجية لكلا الصنفين لكل من محتوى الماء النسبي في العقد الجذرية و في الأوراق، مؤشر تحمل الملوحة في العقد الجذرية و في المجموع الخضري، محتوى كل من بروتين Leghemoglobin في العقد الجذرية، الفلافونويدات الكلية في الجذور، البروتينات الكلية في البذور، الكلوروفيل الكلي في الأوراق، و محتوى الـAND و الـARNm في العقد الجذرية و في الأوراق، تركيز البوتاسيوم و معامل الإنتقاء في العقد الجذرية و في الأوراق تركيز النيتروجين الكلي في العقد الجذرية و في الأوراق، و تركيز الحديد النشط في العقد الجذرية في حين كان لها تأثير إيجابي و معنوي في ارتفاع تركيز البرولين و السكريات الكلية في العقد الجذرية و في الجذور و في الأوراق، و في زيادة تركيز الصوديوم في العقد الجذرية وفي الأوراق.
- في حين المعاملة بخلات البوتاسيوم (CH_3CO_2K) قلل من التأثير الضار للملوحة خاصة عند التركيز ($A_2 = 50$ ملي مول) لكلا الصنفين في كلا المرحلتين، و تجلى ذلك في تحسن كل الصفات المورفولوجية و الفيزيولوجية مع انخفاض تركيز مؤشرات الملوحة من البرولين و السكريات الكلية و الصوديوم.
- كشف تطبيق تقنية الـPCR على الـADN المستخلص من أوراق صنف الفول تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم بفعل بادئات تقنية التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال (RAPD) C_{11} و

C_{14} و بادئات تقنية التابع البسيط البيئي المتكرر (ISSR) INC_1 و INC_2 عن ظهور حزم ADN مرتبطة بصفة مقاومة الملوحة عند الأفراد المعاملة بالملوحة و الأفراد المعاملة بالملوحة و البوتاسيوم و حزم ADN غير مرتبطة بصفة مقاومة الملوحة عند الأفراد المعاملة بالبوتاسيوم فقط، بتفوق الصنف Malti على الصنف Histal بإظهار هذه الحزم، كما تفوق البادئ INC_1 من تقنية (ISSR) على البادئين C_{14} و C_{11} من تقنية (RAPD) في الكشف عن الجينات المرتبطة بصفة مقاومة الملوحة و الجينات غير المرتبطة بصفة مقاومة الملوحة، في حين البادئ INC_2 من تقنية (ISSR) كان أقل كفاءة في إظهار هذه الحزم.

• الآفاق المستقبلية

يبقى من اهتماماتنا في إطار الأعمال المستقبلية النظر في ما يلي:

- التنوع في أصناف الفول و الأسمدة البوتاسية و بتراكيز مختلفة و ذلك لتحديد أفضل التراكيز التي تؤدي إلى أفضل النتائج.
- الإلمام بدراسة شاملة لجميع الميكانيزمات المورفولوجية و الفيزيولوجية ليتسنى لنا تحديد بدقة أكبر مفهوم التأقلم و المقاومة الملحية.
- زيادة العدد في بادئات تقني (RAPD) و (ISSR) لإيجاد أكبر عدد من جينات مقاومة الملوحة ضمن ADN الأصناف المدروسة لإعطاء صورة أوسع عن حجم التغيير الوراثي الموجود تحت الظروف الملحية.
- استعمال التقنيات الجزيئية ذات البادئات المتخصصة مثل تقنية (SSR) و (RT-PCR) لتوسيع قاعدة المعلومات حول المورثات المسؤولة عن مقاومة الملوحة.



قائمة المراجع باللغة العربية

1. الخفاجي، ع.ع.، احمد، ا.، نورالدين، ش.، احمد، ا.، حمد، م.ص.، عبد المجيد، ت.، خالد، ب.ح. (2000). اثر البوتاسيوم في الإنتاج الزراعي . مجلة علوم. 1(1): 15-25.
2. الدوري، م. و.، السعداوي، س؛ العاني، م؛ المشهداني، س. (1989). مقارنة تحمل الملوحة لأربعة تراكيب وراثية من الشعير. المجلة العراقية لعلوم الحياة. 8: 11-25.
3. الصحاف، ف.ح؛ (1989). تغذية النبات التطبيقي. جامعة بغداد. بيت الحكمة. ص: 12-15.
4. انتصار، ح.م؛ مجيد، ك.ع. (2011). تأثير مستويات الملوحة وفترات الري في مكونات الحاصل والصفات الكيميائية لبذور صنفين من نبات البازلاء. مجلة القادسية للعلوم الزراعية. 1(1): 1-12.
5. اياد، و.ر؛ انسام، غ؛ بلقيس، م.غ. (2007). تأثير التسميد البوتاسي و المياه المالحة في كمية البرولين والجهد المائي لأوراق نبات البازلاء. مجلة ام سلمة للعلوم. 4 (3): 351-357.
6. باسل، ع.ع.، جبار، د.، غصون، ف.، (2010). عزل جرثومة *Sinorhizobium meliloti* المعايشة لنبات الجت وتشخيصها مع دراسة تأثير الملوحة والأس الهيدروجيني عليها. مجلة ابحاث البصرة. 3 (36): 1-13.
7. باسم، أ.، يوسف، و.، مروان، ش.، وائل، أ. (2015). تقييم بعض مدخلات الرغل تحت ظروف الإجهاد الملحي وتوصيفها جزيئياً باستخدام تقنية ISSR. المجلة السورية للبحوث الزراعية. 2(1): 21-31.
8. بن جامع، ع. (2008). المحتوى الكيميائي لأوراق و بذور اصناف من القمح الصلب (*Triticum durum Desf*) النامية تحت ظروف الاجهاد المائي والمعاملة بالأوكسين (AIA) نفعاً ورشاً. رسالة ماجستير. جامعة منتوري. قسنطينة – الجمهورية الجزائرية.

9. حيدر، ر. ا.، جمال، ص. ا.، عبد الخالق، ص. ا. (2017). عزل بكتريا الرايزوبيا من نبات السيسبان وتقييم تحملها للملوحة وتأثيرها في بعض مؤشرات النمو. المجلة العراقية لدراسات الصحراء. 7 (1): 1-7.
10. خلدون، ص. ا.؛ سوسن، ح. ا.؛ نوال، أ. ر. ا. (2009). تحسين قابلية التبادل الأيوني للبوتاسيوم في الترب الرملية والجبسية. مجلة الجيولوجيا والتعدين العراقية. 5 (2): 29-37.
11. سعدون، ع.، جمال، ا.، كاظم، م. (2010). تأثير رش المحلول المغذي والتسميد البوتاسي في نمو وحاصل الصنف المحلي لنبات البزاليا الخضراء *Pisium sativum* L. مجلة الكوفة للعلوم الزراعية. 2 (1) 13-24.
12. غروشة، ح. (1995). تقنيات عملية في تحليل التربة- ديوان المطبوعات الجامعية- الجزائر.
13. كبهوار، م. ك. (2007). مبدأ تحديد تسلسل الـ DNA. مجلة التشخيص المخبري. 4 (5): 2.
14. كريم، ش.، محمد، ع. (2016). تأثير اضافة البوتاسيوم و الصوديوم الى التربة على محتوى نبات الذرة الصفراء من هذه العناصر. مجلة واسط للعلوم و الطب. 8 (3): 59-69.
15. مؤيد، ف. ع.، عواطف، ن. ج.، ناصر، ج. ر. (2018). تأثير الرش بالسليكون في التحمل الملحي لصنفين من الطماطم في تحسين مؤشرات الحاصل. مجلة الكوفة للعلوم الزراعية. 10 (1): 52-77.
16. محب، ط. ص. (2002). فسيولوجيا الاجهاد. كلية الزراعة جامعة المنصورة. ص 2.

قائمة المراجع باللغة الأجنبية

1. **Abbas, T., Pervez, M. A., Ayyub, C. M., Ahmad, R., (2013).** Assessment of Morphological, Antioxidant, Biochemical and Ionic Responses of Salt Tolerant and Salt Sensitive Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) under Saline Regime. Pakistan Journal of Life and Social Sciences. 11(2): 147-153.
2. **Abdelaal, S. (2013).** The Role of Different Genes Involved in Symbiotic Nitrogen Fixation – Review . Global Journal of Biotechnology & Biochemistry. 8 (4): 84-94.
3. **Abdel-Hamid, A.M.E. (2014).** Physiological and molecular markers for salinity tolerance in four barley cultivars. *Euro. Sci. J.* 10: 252-272.
4. **Abdel-Mawly, S.E., Zanonny, I. (2004).** Response of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) to potassium application and irrigation with saline water. Assiut Univ. Bull Environ. 7: 123-136.
5. **Abolhassan, F. (2006).** Effects of Different Rates of Potassium on Nitrogen Fixation and Agronomic Traits of Three *Medicago sativa* L. Varieties. Pakistan Journal of Biological Sciences. 9: 2881-2886.
6. **Adrian, D .R. (2004).** Potassium role in plant growth . J. of Plant and Soil. 80 (3): 37-39.
7. **Agarwal, M., Shrivastava, N., Padhn, H. (2008).** Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. Plant cell reports. 27:617-631.
8. **Agati, G., Biricolti, S., Guidi, L., Ferrini, F., Fini, A., Tattini, M. (2011).** The biosynthesis of flavonoids is enhanced similarly by UV radiation and root zone salinity in *L. vulgare* leaves. J Plant Physiol. 168: 204-212.
9. **Ajey, S., Singh. N.B., Vijaya. Y., Chanda. B., Niharika , Shubhra, K., Ravi .K. Y. (2021).** 2 - Nod factor signaling in legume-Rhizobium symbiosis: Specificity and molecular genetics of nod factor signaling. Abiotic Stress and Legumes. 33-67.

10. **Akhtar, M. E., Saleem, M. T., Stauffer, M. D. (2003).** Potassium in Pakistan Agriculture. Pakistan Agricultural Research Council, Islamabad. pp. 80.
11. **Akram, M. S., Ashraf, M., Akram, N. A. (2009).** Effectiveness of potassium sulfate in mitigating salt-induced adverse effects on different physio-biochemical attributes in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Flora*. 204: 471-483.
12. **Akram, M.S., Ashraf, M. (2011).** Exogenous Application of Potassium Dehydrogen Phosphate Can Alleviate the Adverse Effects of Salt Stress on Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Journal of Plant Nutrition*, (34): 1041-1057.
13. **Al Karaki, G.N. (2000).** Growth, sodium, and potassium uptake and translocation in salt-stressed tomato. *J. Plant Nutr.* 23: 369-379.
14. **Aleman, F., Nieves-Cordones, M., Martinez, V., and Rubio, F. (2011).** Root K⁺ acquisition in plants: the *Arabidopsis thaliana* model. *Plant Cell Physiol.* 52: 1603-1612.
15. **Ali, Y., Aslam, Z., Ashraf, M.Y., Tahir, G.R. (2004).** Effect of salinity on chlorophyll concentration, leaf area, yield and yield components of rice genotypes grown under saline environment. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 1:221-225.
16. **Amirjani, M.R. (2010).** Effect of NaCl on some physiological parameters of rice. *Eur. J. Biol. Sci.* 3: 6-16.
17. **Amtmann, A., Troufflard, S., Armengaud, P. (2008).** The effect of potassium nutrition on pest and disease resistance in plants. *Physiol. Plantarum.* 133: 682-691.
18. **Ana, D. F., Socorro, M., Jose, O., María, J. S. and Juan, S. N. (2009).** Role of Potassium Uptake Systems in *Sinorhizobium meliloti* Osmoadaptation and Symbiotic Performance. *Journal of Bacteriology.* 191(7): 2133–2143.
19. **Andri, S. (2003).** Soja: sélection, agronomie et production en Suisse. *Revue suisse Agric.* 35 (2): 69-76.

- 20. Angelika, Z. (2000).** Use of 1,10-phenanthroline in estimating metabolically active iron in plants. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 31(3-4): 481-500.
- 21. Annie, A., John, D. D. (2003).** The effect of NaCl on growth, N₂ fixation (acetylene reduction), and percentage total nitrogen in *leucaena leucocephala* (leguminosae) var. k-81. *American Journal of Botany*. 90(5): 683-692.
- 22. ANONYME., (2019):** <https://www.agro-lib.site>.
- 23. ANONYME., (2022):** <https://microbenotes.com>.
- 24. Anschutz, U., Becker, D., Shabala, S. (2014).** Going beyond nutrition: Regulation of potassium homeostasis as a common denominator of plant adaptive responses to environment. *J. Plant Physiol*. 171: 670-687.
- 25. Anthraper, A., Du Bois, J.D. (2003).** The effect of NaCl on growth, nitrogen fixation (acetylene reduction) and percentage total nitrogen in *Leucaena leucocephala* (Leguminosae) var.K-8-1. *Amer. J. Bot.* 90: 683-692.
- 26. Ashraf, M., Harris, P. (2004).** Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Sci*. 166: 3-16.
- 27. Ashraf, M.Y., Rafique, N., Ashraf, M., Azhar, N., Marchand, M. (2013):** Effect of supplemental potassium (K⁺) on growth, physiological and biochemical attributes of wheat grown under saline conditions. –*Journal of Plant Nutrition*. 36: 443-458.
- 28. Azooz, M.M. (2004).** Proteins, sugars and ion leakage as a selection criterion for the salt tolerance of three sorghum cultivars at seedling stage grown under NaCl and nicotinamide. *Int. J. Agri. Biol.* 6(1): 27 - 35.
- 29. Babber, S., Sheokand, S., Malik, S. (2000).** Nodule Structure and Functioning in Chickpea (*Cicer arietinum*) as Affected by Salt Stress. *Biologia Plantarum*. 43(2): 269-273.

- 30. Babgohari, M. Z., Niazi, A., Moghadam, A. A., Deihimi, T. and Ebrahimie, E. (2013).** Genome-wide analysis of key salinity-tolerance transporter (HKT1; 5) in wheat and wild wheat relatives (A and D genomes). *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant.* 49(2): 97-106.
- 31. Badar-Uz-Zaman, Arshad, A., Muhammad A., Jalal-Ud-Din., Muhammad S., Munazza Y., and Shoaib A. (2018).** Growth Response of Sunflower to Potassium Sulphate Application in Saline-sodic Soil. *AJRAF.* 1(3): 1-7.
- 32. Baque, M. A., Karim, M. A., Hamid, A. and Tetsushi, H. (2006).** Effect of potassium fertilizer on growth, yield and nutrient uptake of wheat (*Triticum aestivum* L.) under water stress conditions. *J. of Plant Nutrit.* 27(1):25-35.
- 33. Barrs, H. (1968).** Determination of water deficit in plant tissues. In: *Water Deficit and Plant Growth.* Koslowski T. Academy Press. New York. p, 235-368.
- 34. Bar-Tal, A., Feigenbaum, S., Sparks, D. L. (2004).** Potassium-salinity interactions in irrigated. corn. *Irrig. Sci.* 12: 27–35.
- 35. Bates L.S., Walden R.P. and Teare I.D. (1973).** Rapid determination of proline for water stress studies. *Plant Soil.*, 39 :205-207.
- 36. Ben Amer, I.M. (2000).** Molecular marker techniques in plant breeding and genetics: an introduction. *Proc. Int. Conf. on Seed Industry.* Tripoli, Libya. 27-30 March.
- 37. Benhassaini, H., Fetati, A., Hocine, A. K., Belkhodja, M. (2012).** Effect of salt stress on growth and accumulation of proline and soluble sugars on plantlets of *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* used as rootstocks. *Biotechnologie, Agronomie. Société et Environnement.* 16 (2):159-165.
- 38. Benito, B., Haro, R., Amtmann, A., Cuin, T. A., and Dreyer, I. (2014).** The twins K^+ and Na^+ in plants. *J. Plant Physiol.* 171: 723–731.

- 39. Bennabi, F. (2017).** Les marqueurs biochimiques de la résistance à la salinité chez *Phaseolus vulgaris* L. Mémoire de doctorat. Université d'Oran 1. Algérie.
- 40. Bernard, B. (1988).** Dictionnaire de botanique de. Reprint.
- 41. Biotech-ecolo.net**
- 42. Bishnu, A., Sanjeev, K. D., Doo, K., Dong, H.S. (2020).** Effect of foliar application of potassium fertilizers on soybean plants under salinity stress. journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. 19 (4). 261-269.
- 43. Black, C. A. (1965).** Method of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbiological Properties, American Society of Agronomy, Inc, Publisher, Madison, Wisconsin USA.
- 44. Blumwald, E. (2000).** Sodium transport and salt tolerance in plants. Curr. Opin. Cell Biol. 12: 431-434.
- 45. Boivin-Masson, C., Bontemps, C., Golfier, G., Gris-Liebe, C., Talini, L. (2006).** Détection et typage du gène nod C à l'aide de biopuces à ADN: perspectives pour l'étude de la diversité et de l'écologie moléculaire des rhizobia. Les Actes du BRG. 6: 97-110.
- 46. Borucki, W., Sujkowska, M. (2008).** The effects of sodium chloride salinity upon growth, nodulation, and root nodule structure of pea (*Pisum sativum* L.) plants. Acta Phys. Plant . 30: 293-301.
- 47. Bouhmouch, I., Souad-Mouhsine, B., Brhada, F. (2005).** Influence of host cultivars and *Rhizobium* species on the growth and symbiotic performance of *Phaseolus vulgaris* under salt stress. Journal of Plant Physiology. 162: 1103 - 1113.
- 48. Bouyoucos, G.J. (1962).** Hydrometer method improved for making particle size analysis of soils. Agronomy Journal. 54:464-465.

- 49. Bradford, M.M. (1976).** A Rapid and Sensitive Method for the Quantification of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248-254.
- 50. Bremner, J.M., Mulraney, C.S. (1982).** Nitrogen total . In A.L page , R.H Miller , and D.R Keeney (eds) *Methods of soil analysis Monograph 9 . part 2 2nd edition* Am . Soc Agronomy Madison Wisconsin. 595 – 624 .
- 51. Brewin, N.J. (2004).** Plant cell wall remodeling in the Rhizobium-Legume symbiosis. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 23: 293-316.
- 52. Bronick, C.J., Lal, R. (2005).** Soil structure and management: A review. *Geoderma*. 124 :3 - 22.
- 53. Broughton, W.J., Jabbouri, S., Perret, X. (2000).** Keys to Symbiotic Harmony. *Journal of Bacteriology*. 182 (20): 5641-5652.
- 54. Burton, K. (1956).** A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. *Biochemical journal*. 62: 315.
- 55. Cakmak, I. (2005).** The role of potassium in Alleviating detrimental effects in plants . *J. Plant Nutr*. 168: 521- 530.
- 56. Cavailès, E. (2009).** La relance des légumineuses dans le cadre d'un plan protéine: Quels bénéfices environnementaux ?. *Etudes et documents n°15*. p5.
- 57. Cermola, M., Fedorova, E., Tate, R., Riccio, A., Favre, R., & Patriarca, E.J. (2000).** Nodule invasion and symbiosome differentiation during Rhizobium etli-Phaseolus vulgaris symbiosis. *Mol Plant Microbe Interact*. 13: 733-741.
- 58. Ciaffi, M., Dominici, L., Umana, E. (2000).** Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) for protein disulfide isomerase (PDI) gene sequences in Triticum and Aegilops species. *Theor Appl Genet* 101(1–2):220–226.

- 59. Clark, J.M., McCaig, T.N.(1982).** Excised-leaf water retention capability as an indicator of drought resistance of Triticum genotypes. *Can. J. Plant Sci.* 62: 571-578.
- 60. Clúa, J., Roda, C., Zanetti, M.E., Blanco, F.A. (2018).** Compatibility between Legumes and Rhizobia for the Establishment of a Successful Nitrogen-Fixing Symbiosis. *Genes.* 9 (3):125.
- 61. Cronquis, T. A. (1981).** An integrated system of classification of flowering plants. Columbia Univ. Press, New-York. 284-250.
- 62. Crossman, L.C. (2004).** Plasmid replicons of Rhizobium. *Biochemical Society Transactions.* 33 (1): 157-158.
- 63. Dardanelli, M.S., Manyani, H., González-Barroso, S., Rodríguez-Carvajal, M.A., Gil-Serrano, A.M., Espuny, M.R., López-Baena, F.J., Bellogín R.A., Megías, M. and Ollero, F.J. (2010).** Effect of the presence of the plant growth promoting rhizobacterium (PGPR) *Chryseobacterium balustinum* Aur9 and salt stress in the pattern of flavonoids exuded by soybean roots. *Plant Soil.* 328: 483- 493.
- 64. Dhanapackiam, S., Muhammad, I.M.H. (2010).** Effect of NaCl salinity on growth, nodulation and total nitrogen in *Sesbania grandiflora*. *Indian Journal of Science and Technology.* 3(1):87-89.
- 65. Dixon, R. Kahn. D. (2004).** "Genetic regulation of biological nitrogen fixation". *Nature Reviews Microbiology.* 2(8): 621-631.
- 66. Djilianov, D., E. Prinsen, S. Oden, H. Van Onckelen and J. Muller (2003).** Nodulation under salt stress of alfalfa lines obtained after in vitro selection for osmotic tolerance. *Plant Science* 165: 887-894.
- 67. Dolo, J.S., Nchimbi-Msolla, S., Msaky, J.J. (2016).** Salinity stress effects on some morpho-physiological traits of selected rice (*oryza sativa* l.) genotypes. *International Journal of Development and Sustainability.* 5 (2): 74-86.

- 68.Doyle, J.J. (1998).** Phylogenetic perspectives on nodulation: evolving views of plants and symbiotic bacteria. *Trends in Plant Science* 3: 473-478.
- 69.Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, E. (1956).** Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Allal. Chem.* 28:350-356.
- 70.Duhoux, E., Nicole, M., (2004).** Biologie végétale. Associations et interaction chez les plantes. Edition DUNOD. Paris. France, pp 20.
- 71.Ebrahimi, R. F., Rahdari, P., Vahed, M. S., Shahinroksar, P. (2012).** Rice response to different methods of potassium fertilization in salinity stress condition. *International Journal of Agricultural and Crop Science.* 4: 798-802.
- 72.Ehab, M.R.M., Tamer, S.A., Mostafa, A.B., Naif, M.S. K. (2015).** Alleviation of salinity stress in faba bean (*Vicia faba* L.) plants by inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). *POJ.* 8(5):449-460
- 73.Eleuch, L., Jilal, A., Grando, S., Ceccarelli, S., Schmising, M. K., Tsujimoto, H., A., Hajer, A. D., Baum. M. (2008).** Genetic diversity and association analysis for salinity tolerance, heading date and plant height of barley germplasm using simple sequence repeat markers. *J. Integr. Plant Biol.* 50: 1004-1014.
- 74.El-Lethy, S. R., Abdelhamid, M. T., Reda, F. (2013).** Effect of potassium application on wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars grown under salinity stress. *World Appl. Sci. J.* 26 (7): 840-850.
- 75.Elsayed, A. A., Ibrahim, A. A., Mohamed, Z. D. (2016).** Effect of Salinity on Growth and Genetic Diversity of Broad Bean (*Vicia faba* L.) Cultivars. *Alexandria Science Exchange Journal.*37 (3):468-479.
- 76.Elsheikh, E.A.E., Wood, M. (2000).** Nodulation and N₂ fixation by soybean inoculated with salt-tolerant Rhizobia or salt sensitive *Bradyrhizobium* saline soil. *Soil Biol. Biochem.* 27: 657-661.

- 77.Esmat, H. A. N., Sadik, M. K., Attia, M. F. (2000).** Studies on tolerance of some plants to salinity. *Annal of Agric. Sci.Moshtohor.* 38:1329-1346.
- 78.Essa, T.A. (2002).** Effect of salinity stress on growth and nutrient composition of three soybean (*Glycine max* L. Merrill) cultivars. *J. Agron. Crop Sci.* 188: 86-93.
- 79.FAO & ITPS. (2015).** Status of the World's Soil Resources. Main Report.
- 80.FAO & UNESCO. (1973).** Irrigation, Drainage and salinity: an international source book.
- 81.Fathi, A.O., Dilsouz, N. A., AHMED, S. K. (2016).** Effect of molybdenum and potassium application on nodulation, growth and yield of lentil (*Lens culinaris* medic). *Pak. J. Bot.* 48(6): 2255-2259.
- 82.Fatma. B., Şener. A., Ahmet. E. (2011).** Growth and Uptake of Sodium and Potassium in Broad Bean (*Vicia faba* L.) under Salinity Stress, *Communications in Soil Science and Plant Analysis.* 42 (8): 945-961.
- 83.Foucher, F., Kondorosi, E. (2000).** Cell cycle regulation in the course of nodule organogenesis in *Medicago*. *Plant Mol Biol.* 43: 773-786.
- 84.Fulton, T. M., Chunwongse, J., Tanksley, S. D. (1995).** Miniprep protocol for extraction of DNA from tomato and other herbaceous plants. *Plant Mol Biol Rep.* 13: 207-209.
- 85.Gage, D.J. (2004).**infection and invasion of roots by symbiotic, nitrogen-fixing rhizobia during nodulation of temperate legumes. *Microbiol Mol Biol Rev.* 68:280-300.
- 86.Garg, N., Singla, R. (2004).** Growth, photosynthesis, nodule nitrogen and carbon fixation in the chickpea cultivars under salt stress. *Brazilian Journal of Plant Physiology.* 16: 137-146.

- 87. Geovani, S.L., Adaan, S.D., Leandro, P.S., Francisco, V.S.S., Hans, R.G., Lauriane, A.A.S. (2018)** Effects of saline water and potassium fertilization on photosynthetic pigments, growth and production of West Indian Cherry. *Rev. Ambient. Água* . 13 (3): 2164-2176.
- 88. Gepts, P., Beavis, W.D., Brummer, E.C., Shoemaker, R.C., Stalker, H.T., Weeden, N.F., Young, N.D. (2005).** Legumes as a Model Plant Family. *Genomics for Food and Feed Report of the Cross-Legume Advances through Genomics Conference. Plant Physiology*. 137: 1228-1235.
- 89. Gierth, M., Mäser, P. (2007).** Potassium transporters in plants – involvement in K^+ acquisition, redistribution and homeostasis. *FEBS Lett*. 581: 2348-2356.
- 90. Godfroy, O. (2008).** Etudes génétique et moléculaire de deux gènes de *Medicago truncatula*, DMI3 et RPG, contrôlant l'établissement de symbioses racinaires. Thèse Doctorat. Univ. Toulouse. p232.
- 91. Graham, P.H. (2007).** Ecology of the root- nodule bacteria of legume. In: Dilworth M.J. (Ed): *Leguminous nitrogen-fixing symbioses*. Ed. Springer. Dordrecht. 7: 23-58.
- 92. Graham, P.H., Vance, C.P. (2003).** Legume Importance and Constraints to Greater Use. *Plant Physiology*. 131: 872-877.
- 93. Grudman, H. C., Schneider, D., Hartung, F. D., Daschner., Pith, T. L. (1995).** Discriminatory power of three DNA Typing techniques for *Plant aeruginosn*. *J. clin. Microbiol*. 3: 528-532.
- 94. Harrar, A. (2012).** Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Mémoire de magistère. Université Sétif. Algeria.
- 95. Hasegawa, P.M. (2013).** Sodium (Na^+) homeostasis and salt tolerance of plants. *Environ. Exp. Bot*. 92: 19–31.

- 96. Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu, J.K. and Bohnert, H.J. (2000)** Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plan Mol. Biol.* 51:463-499.
- 97. Hashi, U.S., Karim, A., Saikat, H.M., Islam, R., Islam, M.A. (2015).** Effect of Salinity and Potassium Levels on Different Morpho-Physiological Characters of two Soybean (*Glycine max* L.) Genotypes. *J. Rice Res.* 3:143-147.
- 98. Hatzopoulos, P., Banilas, G., Giannoulia, K., Gazis, F., Nikoloudakis, N., Milioni, D., Haralampidis, K. (2002).** Breeding, Molecular Markers And Molecular Biology Of The Olive Tree. *Eur J Lipid Sci Technol.* 104: 574–586.
- 99. Hazelton, P.A., Murphy, B.W. (2007).** Interpreting Soil Test Results: What Do All the Numbers Mean? CSIRO Publishing, Melbourne.p22.
- 100. Hernández, J.A., Jiménez, A., Mullineaux, P.M., Sevilla, F. (2000).** Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defenses. *Plant Cell Environ.* 23: 853–862.
- 101. Hirsh, M.M., Lum, M.R., Downie, J.A. (2001).** What makes the rhizobia. Legume symbiosis so special?. *Plant Physiol.* 127: 1-9.
- 102. Hodgkin, T., Roviglioni, R., De Vicente, M.C. Dudnik, N. (2001).** Molecular methods in the conservation and use of plant genetic resources. In: Dor`e, Dosba & Baril (Eds.) Proceedings of the International Symposium on Molecular Markers, ISHS. *Acta Horticulturae.* 546: 107-118.
- 103. Hopkins, W.G. (2003).** Physiologie végétale. Université des Sciences et Technologie de Lille. Edition de boeck. p119.
- 104. Hossain, M. Z., Rabbi, S.M.F., Khanom, S., Amin, M.S., Islam, M.S. and Rahman, A. (2010).** effect of salinity and potassium fertilizer application on yield contributing characteristics of ric. khulna university studies. 10 (1&2): 145-152.

- 105. Hoy, J. A., Hargrove, M. S. (2008).** The structure and function of plant hemoglobins. *Plant Physiology and Biochemistry*. 46 (3): 371-379.
- 106. Isaac, O. A., Olanrewaju, R.A., Adekanbi, I.O. (2012).** Protein quantitation using dyes obtained from plant materials. *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 3: 227-230.
- 107. Jackson, M.L. (1964).** Chemical composition of soils, in: *Chemistry of the soil*. Van Nostrand Reinhold, New York, Bear, F. E. (Eds.). p,71- 75.
- 108. Jaroon, Ju., Jaroon, Ja. (2011).** Determination of Potassium, Sodium, and Total Alkalies in Portland Cement, Fly Ash, Admixtures, and Water of Concrete by a Simple Flow Injection Flame Photometric. *System Journal of Automated Methods and Management in Chemistry*. 2011: 1-9.
- 109. Jonah, P., Bello, L., Lucky, O., Midau, A., Moruppa, S. (2011).** Review: The importance of molecular markers in plant breeding programmes. *Global journal of science frontier research*. 11: 5-12.
- 110. Kaddour, R., Nasri, N., M'rah, S., Berthomieu, P., Lachaâl, M. (2009).** Comparative effect of potassium on K and Na uptake and transport in two accessions of *Arabidopsis thaliana* during salinity stress. *Comptes Rendus Biologies*. 332(9): 484-494.
- 111. Kaivan, B., Seyed, A.S .N., Ali, I.D., Azam, A. (2015).** Molecular mechanisms of plant salinity tolerance: a review. *AJCS*. 9(4): 321-336.
- 112. Kajita, T., Ohashi, H., Tateishi, Y., Bailey, C.D. & Doyle, J.J. (2001).** *rbcL* and legume phylogeny with particular reference to Phaseoleae, Millettieae and allies. *Syst. Bot.* 26: 515–536.
- 113. Kant, S., Kafkafi, U. (2002).** Potassium and abiotic stresses in plants. In: "Potassium for Sustainable Crop Production", Pasricha, N.S., Bansal, S.K., (Ed.), Potash Institute of India; Gurgaon, India. p 233-238.

- 114. Karimi , G ., Ghorbanli, M .H., Heidari, R . A., Khavarinejad and Assareh, M. H. (2005).**The effects of NaCl on growth water relations, osmolytes and ion content in kochia prostrate .Biol .plant .49: 301-304.
- 115. Katyal, J.C, Sharma B.D .(1980).** A new technique of plant analysis to resolve iron chlorosis. Plant and Soil. 55:105-119.
- 116. Kausar, A., Ashraf, M. Y., Gull, M., Ghafoor, R., Ilyas, M., Zafar, S., Niaz, M., Akhtar, N., Kanwal, H., Iqbal, N., Aftab, K. (2016).** Alleviation of salt stress by K₂SO₄ in two wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. Applied Ecology and Environmental Research. 14 (5): 137-147.
- 117. Keneni, A., Assefa, F., Prabu, P.C. (2010).** Characterization of Acid and Salt Tolerant *Rhizobial* Strains Isolated from Faba Bean Fields of Wollo, Northern Ethiopia . J. Agr. Sci. Tech . 12: 365-376.
- 118. Khan, F., Hakeem, K.R., Siddiqi, T.O., Ahmad, A. (2013).** RAPD Markers associated with salt tolerance in soybean genotypes under salt stress. Appl. Biochem. Biotechnol. 170 (2): 257-272.
- 119. Khayatnezhad, M., Gholamin, R., Jamaati-e-Somarin, S. H., and Zabihi-e-Mahmoodabad, R. (2010).** Study of NaCl salinity effect on wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars at germination stage. Am Eurasian J Agric Environ Sci, 9 (2): 128-132.
- 120. Kosova, K., Prasil, I.T., Vitamas, P. (2013).** Protein Contribution to Plant Salinity Response and Tolerance Acquisition. Int. J. Mol. Sci. 14:6757-6789.
- 121. Koyro, H.W. (2006).** Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potential cash crop halophyte (*Plantago coronopus* L.). Environmental and Experimental Botany. 56 (2): 136-146.

- 122. Lacerda, C. F., Cambraia, J., Olira, M. A., Ruiz, H. A. (2003).** Osmotic adjustment in roots and leaves of two sorghum genotypes under NaCl stress. *Braz. J. Plant Physiol.* 15 (2): 1-11.
- 123. Lafay, B., Bullier, E., Burdon, J. J. (2006).** Bradyrhizobia isolated from root nodules of *Parasponia* (Ulmaceae) do not constitute a separate coherent lineage. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 56: 1013-1018.
- 124. Lavin, M., Herendeen, P. S., Wojciechowski, M. F. (2005).** Evolutionary rates analysis of Leguminosae implicates a rapid diversification of lineages during the Tertiary. *Systematic Biology.* 54: 575-594.
- 125. Lawson, I.Y.D., Hayatsu, M., Nioh, I. (2004).** Effects of compost application on growth and nodulation of kidney bean, soybean and alfalfa under salt stress. *West Afr. J. Appl. Ecol.* 5:1-9.
- 126. Legume Phylogeny Working Group. (2017).** A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. *Taxon.* 66 (1): 44-77.
- 127. Leigh, R.A. (2001).** Potassium homeostasis and membrane transport. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science.* 164: 193-198.
- 128. Levin, R. E. (2008).** DNA-based technique: Polymerase Chain Reaction (PCR). In: *Modern techniques for food authentication.* Ed.: Daw-Wen Sun, Elsevier, Burlington, USA. p5.
- 129. Lewis, G.P. & Schrire, B.D. (2003).** Leguminosae or Fabaceae? in: Klitgaard, B. & Bruneau, A. (eds.), *Advances in legume systematics, part 10, Higher level systematics.* Richmond, U.K.: Royal Botanic Gardens, Kew. p 3.
- 130. Mackiney, G. (1941).** Absorption of light by chlorophyll solution. *J. Biol. Chem.* 140: 315-322.

- 131. Madigan, M., Martink, J. (2007).** Brock Biologie des microorganismes 11e edition. Edition Person Education France. p 599.
- 132. Manuel, E., Félix, F., Bente, K., Gwilym, P. L., Barbara, A. M., Luciano, P.Q., Jan, J. W., Anne, B. (2018).** A new phylogeny-based tribal classification of subfamily Detarioideae, an early branching clade of forally diverse tropical arborescent legumes. *Scientific Reports*. 8: (6884)1-14.
- 133. Martínez-Hidalgo, P., and Hirsch, A.M. (2017).** The Nodule Microbiome: N₂-Fixing Rhizobia Do Not Live Alone. *Phytobiomes* 1: 70–82.
- 134. Mathesius, U., Weinman, J.J., Rolfe, B.G., Djordjevic, M.A. (2000).** Rhizobia can induce nodules in white clover by "hijacking" mature cortical cells activated during lateral root development. *Mol Plant Microbe Interact.*13: 170-182.
- 135. Mekki, B.B. (2016).** High salinity stress tolerant halophytic plant species for sustainable agriculture in desert regions: a review. *World Applied Science Journal* 34: 1603-1611.
- 136. Meuelenberg, F.P., Dakora F.D. (2007).** Assessing the biological potential of N₂-fixing leguminosae in botswana for increased crop yields and commercial exploitation. *Afr. J. Biotechnol.*6 (4): 325-334.
- 137. Mondini, L., Noorani, A., Pagnotta, M. A. (2009).** Assessing Plant Genetic Diversity by Molecular Tools. *diversity*. ISSN: 1424-2818.
- 138. Morshedi, A., Farahbakhsh, H. (2010).** Effects of potassium and zinc on grain protein contents and yield of two wheat genotypes under soil and water salinity and alkalinity stresses . *Plant Ecophysiol. J.* 2: 67-72.
- 137. Naghavi, M. R., Ghareyazi, B., Hosseini, Gh. (2005).** Molecular markers. Tehran university press. Tehran. Iran.p 88-100.

- 138. Newton, W.E., Dilworth, M.J. (2011).** Assays of Nitrogenase Reaction Products. In Nitrogen Fixation, (Humana Press). p 105.
- 139. Niranjan, B., Prasanta, K. S., Neil, P. P. (2006).** cDNA AFLP analysis reveals differential gene expression in response to salt stress in a halophyte *Spartina alterniflora* Loisel. Plant Science. 170: 1141-1149.
- 140. Noel, K.D. (2009).** Bacteria Rhizobia. Encyclopedia of microbiology, SCHAECHTER M. San Diego. Marquette University, Milwaukee. WI. USA. 3: 877-893.
- 141. Omid, Y., Abolfazl, B., Amin, N. (2013).** The effects of *Pseudomonas* fluorescence and *Rhizobium meliloti* co-inoculation on nodulation and mineral nutrient contents in alfalfa (*Medicago sativa*) under salinity stress. Intl J Agri Crop Sci. 5 (14): 1500-1507.
- 142. Oosterhuis, D.M., Loka, D.A., Raper, T.B. (2013).** Potassium and stress alleviation: Physiological functions and management of cotton. J. Plant Nutr. Soil Sci. 176: 331-343.
- 143. Ordoñez, A.A.L., Gomez, J.D., Vattuone, M.A. and Lsla, M.I. (2006).** Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. Food Chemistry. 97: 452-458.
- 144. Oshtrakh, M. I., Kumar, A., Alenkina, I. V., Zakharova, A. P. Semionkin, V., Kundu, A. S. (2014).** Characterization of monomeric soybean leghemoglobin using Mössbauer spectroscopy with a high velocity resolution. Hyperfine Interact. 1(3):226-234.
- 145. Özcan, H., Turan, M. A., Koç, Ö., Çıkılı, Y., Taban, S. (2000).** Growth and variations in proline, sodium, chloride, phosphorus, and potassium concentrations of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars under salt stress. Turkish Journal of Agriculture and Forestry. 24:649–654.

- 146. Parida, A.K., Das, A.B. (2005).** Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicol Environ Saf.* 60: 324-349.
- 147. Paula, R., Natalia, R., Eduardo, O. L., Francisco, J. Q., and José M. P. (2019).** Regulation of K⁺ Nutrition in Plants. *Frontiers in Plant Science.* 10 (281): 1-21.
- 148. Perret, X., Stealing. C., Broughton.W.J. (2000).** Molecular basis of symbiotic promiscuity. *Microbiol Mol Biol Rev.* 64: 180-201.
- 149. Perry, J.J., Staley, J.T., Lory, S. (2004).** *Microbiologie : Cours et questions de révision.* Dunod. Paris.p.891-895.
- 150. Poitras, E., Houde, A. (2002).** La PCR en temps réel: principes et applications. *Reviews in biology and biotechnology.* 2 (2): 2-11.
- 151. Polhill, R.M., Raven, P.H., and Stirto, C.H. (1981).** Evolution and Systematics of the Leguminosae. In: Polhill, R.M. and Raven, P.H., Eds., *Advances in Legume Systematics, Part I,* Royal Botanic Garden, Kew. 1-26.
- 152. Predeepa, R.J., Ravindran, D.A. (2010).** Nodule formation, distribution and symbiotic efficacy of (*Vigna unguiculata* L). under different soil salinity regimes. *Emir. J. Food Agric.* 22 (4): 275-284.
- 153. Prell, J., and Poole, P. (2006).** Metabolic changes of rhizobia in legume nodules. *Trends Microbiol.* 14: 161–168.
- 154. Prescott, L.M., Sherwood, L.M., Woolverton, C.J. (2010).** *Microbiologie.* 3 ème ed. De Boeck. Bruxelles . p 544.
- 155. Rabbi, S.M.F., Islam, M.S., Kibria, K.Q., Rahman, A., Parveen, M.J., Ali, M. and Mollic, P. (2005).** Effect of salinity and potassium fertilizer application on potassium, sodium and calcium uptake by rice (*Oryza sativa*, L.). *Bangladesh Journal of Soil Science.* .31(1-2): 13-19.

- 156. Radi, A.A., Farghaly, F.A., Hamada ,A.M. (2013).** Physiological and biochemical responses of salt-tolerant and salt-sensitive wheat and bean cultivars to salinity. *J Biol Earth Sci.* 3(1):72-88.
- 157. Rajalakshmi, K., Banu, N. (2015).** Extraction and Estimation of Chlorophyll from Medicinal Plants. *IJSR.* 6(14). 209-212.
- 158. Ramoliya, P., Patel, H., Pandey, A.N. (2004).** Effect of salinization of soil on growth and macro- and micro-nutrient accumulation in seedlings of *Salvadora persica* (Salvadoraceae). *Forest Ecol. Mangt.* 202 (1-3):181-193.
- 159. Rania, A.A.Y., Ahmed, M.F., EL-Menshawi, M.M. (2007).** Molecular genetic markers associated with salt tolerance in grain sorghum. *Arab Journal of Biotechnology.* 2: 249-258.
- 160. Rawat, J., Sanwal, P., Saxena, J. (2016).** Potassium and Its Role in Sustainable Agriculture. In: Meena V.S., Maurya B.R., Verma J.P., Meena R.S., editors. *Potassium Solubilizing Microorganisms for Sustainable Agriculture.* Springer; New Delhi, India: p235.
- 161. Rees D, Howard J. (2000).** Nitrogenase: standing at the crossroads. *Current Opinion in Chemical Biology.* 4:559-566.
- 162. Richards, L.A. (1954).** Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. *Agricultural hand book No 60.* US Department of Agriculture, Washington: DC (Edit).p, 21- 60.
- 163. Romheld, V., Kirkby, E.A. (2010).** Research on potassium in agriculture: Needs and prospects. *Plant Soil.* 335: 155-180.
- 164. Sanghmitra, S., Afaq A.M., Ovais S. and Shahid, U. (2014).** Potassium and Rhizobium application to improve quantitative and qualitative traits of lentil (*Lens culinaris* Medik.). *International Journal of Agronomy and Agricultural Research.* 5 (3): 7-16.

- 165.Saunders, J.A., Mischke, S. Hemeida, A. (2001).**The use of AFLP techniques for DNA fingerprinting in plants. Beckman Coulter Application Notes. A1910A: 1-9.
- 166.Schrire, B.D., Lavin, M. & Lewis, G.P. (2005).** Global distribution patterns of the Leguminosae: Insights from recent phylogenies Biol. Skr. 55: 375–422.
- 167.ScienceDirect.com**
- 168.Seefeldt, L.C., Hoffman, B.M., Dean, D.R. (2009).** Mechanism of Mo-Dependent Nitrogenase. Annual Review of Biochemistry. 78: 701–722.
- 169.Semagn, K., Bjørnstad, Å. Ndjioudjop, M.N. (2006).** An overview of molecular marker methods for plants, African Journal of Biotechnology. 5: 2540 -2568.
- 170.Shabala, S., Cuin, T.A. (2008).** Potassium transport and plant salt tolerance. Physiol. Plant. 133: 651-669.
- 171.Shabala, S., Munns, R. (2017).** Salinity stress: physiological constraints and adaptive mechanisms. In Plant Stress Physiology, S. Shalala, ed. (CABI Publishing) p24.
- 172.Shahbaz, M., Ashraf, M., Akram, N.A., Hanif, A., Hameed, S., Joham, S., Rehman, R. (2011).** Salt-induced modulation in growth, photosynthetic capacity, proline content and ion accumulation in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Acta Physiol Plant. 33: 1113-1122.
- 173.Sharma, A., Ajay, N, G., Mahadik, K. R. (2008).** Molecular Markers: New Prospects in Plant Genome Analysis. Phcog Rev.2 (3):1-13.
- 174.Shi, X.L., Zhou, D.Y., Guo, P., Hangh, Z., Dong, J.L., Ren, J.Y., Jiang, C.J., Zhong, C., Zhao, X.H., Yu, H.Q. (2020).** External potassium mediates the response and tolerance to salt stress in peanut at the flowering and needling stages. Photosynthetica , 58(5):1141-1149.

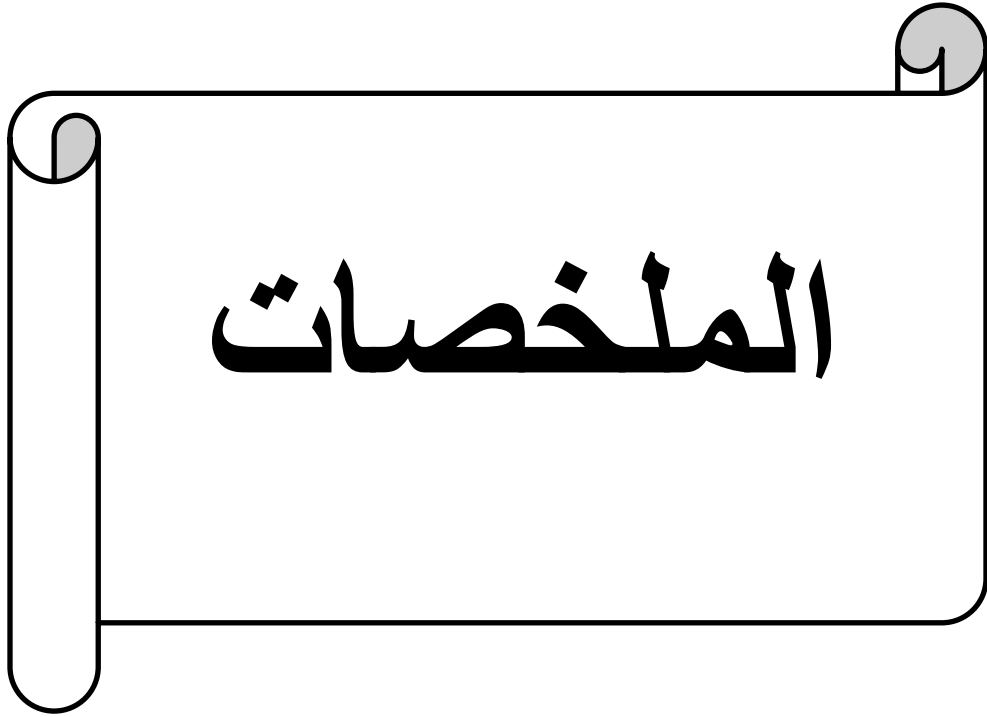
- 175. Shin, W., Katsumi, K., Yuji, I., Satohiko S. (2000).** Effects of saline and osmotic stress on proline and sugar accumulation in *Populus euphratica* in vitro *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 63:199–206.
- 176. Shirazi, M .U., Ashraf ,M.Y., Khan, M. H., Naqvi, M. H. (2005).** Potassium induced salinity tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Int .J. Environ. Sci. Tech.* 2 (3): 233-236.
- 177. Soualmi, N., Belkhodja, M., Adda, A. (2017).** Effect of salt stress on some physiological parameters in *Atriplex halimus* L. *J. Fundam. Appl. Sci.* 9(1):206-216.
- 178. Srivastava, T., Negandhi, H., Neogi, S.B., Sharma, J., Saxena, R. (2014).** Methods for Hemoglobin Estimation: A Review of “What Works”. *J Hematol Transfus.* 2 (3): 1028-1035.
- 179. Stafleu, F.A. (1978).** International code of botanical nomenclature adopted by the Twelfth International Botanical Congress, Leningrad, July 1975. *Regnum Vegetabile*, 97, p 457.
- 180. Sun, H., Cheng, J., Zhan, K., Zhang, X., Yang, Y. (2005).** ISSR marker and its Application in Crop Genetics and Breeding. *Molecular Plant Breeding.* 3(1): 123-127.
- 181. Susana, S. A., Steve, B., Martin, C., Brunon D., Esther M. G., Veronique, G., Isabelle, L., Wolfgang, L., Maria, J., Elena, P., Idupulapati, R., Vincent, V., and Maria, C. (2015).** Abiotic Stress Responses in Legumes: Strategies Used to Cope with Environmental Challenges. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 34: 237-280.
- 182. Tavakkoli, E., Rengasamy, P., Mc Donald, G.K. (2010)** High concentrations of Na^+ and Cl^- ions in soil solution have simultaneous detrimental effects on growth of faba bean under salinity stress. *J. Exper Bot.* 61(15): 4449-4459.

- 183. Tejera, N.A., Campos, R., Sanjuan, J., Lluch, C. (2004).** Nitrogenase and antioxidant enzyme activities in *Phaseolus vulgaris* nodules formed by *Rhizobium tropici* isogenic strains with varying tolerance to salt stress. *Plant Physiol.* 161:329-338.
- 184. Tester, M., Davenport, R.J. (2003).** Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Annals of Botany.* 91: 503-527.
- 185. Thompson, L. M. (1957).** Soil & Soil Fertility. 2nd McGraw-Hill Book Company Inc. New York.
- 186. Thompson, M. V., Zwieniecki, M. A. (2005).** “The role of potassium in long distance transport in plants” in *Vascular transport in plants.* eds. N. M. Holbrook and M. A. Zwieniecki (Burlington: Academic Press),p 221–240.
- 187. Tortora, G. J., Funke, B. R. and Case, C. L. (2010).** *Microbiology an introduction* 8th ed. Menlo Park, Calif. Benjamin/ Cummings, Publishing. p 305.
- 188. Tracey, A.C., Anthony, J. M., Sophie, A., Roger, A. (2003).** Potassium activities in cell compartments of salt-grown barley leaves. *Journal of Experimental Botany.* 54 (383): 657-661.
- 189. Turan, S., Cornish, K., Kumer, S. (2012).** Salinity tolerance in plants: Breeding and genetic engineering. *Australian J. of Crop Sci.* 6 (9): 1337-1348.
- 190. Tuteja, N. (2007).** Mechanisms of high salinity tolerance in plants. *Methods Enzymol.* 428: 419-438.
- 191. Udvardi, M. K., Kakar, K., Wandrey, M., Montanari, O., Murray, J., Andriankaja, A., Zhang, J. Y., Benedito, V., Hofer, J.M.I., Chueng, F., Town, C.D. (2007).** Legume Transcription Factors: Global Regulators of Plant Development and Response to the Environment. *Plant Physiology.* 144: 538-549.
- 192. Udvardi, M., Poole, P.S. (2013).** Transport and Metabolism in Legume-Rhizobia Symbioses. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64: 781–805.

- 193. Uhel, F., Zafrani, L. (2019).** Nouvelles techniques de biologie moléculaire. Méd. Intensive Réa. 28: 464-472.
- 194. Unni, S., Rao, K.K., (2001).** Protein and lipopolysaccharide profiles of a salt-sensitive *Rhizobium* sp. and its exopolysaccharide-deficient mutant. *Soil Biology and Biochemistry*. 33:111-115.
- 195. Vandenkoornhuise, P., Quaiser, A., Duhamel, M., Le Van, A., and Dufresne, A. (2015).** The importance of the microbiome of the plant holobiont. *New Phytol*. 206:1196–1206.
- 196. Véry, A., Sentenac, H. (2003).** Molecular mechanisms and regulation of K^+ transport in higher plants. *Annu Rev Plant Biol*. 54: 575-603.
- 197. Vishal, K. D., Shipra, A., Zubair, A. (2013).** Comparative Study of Berseem Cultivars (*Trifolium alexandrinum* L.) In Support of Nodulation and Leghaemoglobin content under Saline Conditions. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*. 4: 227-234.
- 198. Wang, M., Zheng, Q., Shen, Q., Guo, S. (2013).** The critical role of potassium in plant stress response. *Int. J. Mol. Sci*. 14: 7370-7390.
- 199. Wang, Y., Wu, W.H. (2013).** Potassium transport and signaling in higher plants. *Annu. Rev. Plant Biol*. 64: 451-476.
- 200. Wang, Y., Wu, W.H. (2017).** Regulation of potassium transport and signaling in plants. *Curr. Opin. Plant Biol*. 39:123–128.
- 201. Wei, J.Z., Tirajoph, A., Effendy, J., Plant, A.J. (2000).** Characterization of salt induced changes in gene expression in tomato roots and the role played by abscisic acid. *Plant Sci*. 159: 133-148.
- 202. White, P.J., Karley, A.J. (2010).** Potassium. In *Cell Biology of Metals and Nutrients*. Edited by Hell, R. and Mendel, R.-R. Springer, Heidelberg. p199.

- 203. Wilson, D.O., Reisenauer, H.M. (1962).** Determination of leghemoglobin in legume nodules. *Analytical Biochemistry*. 6:27-30.
- 204. Wyn, T.J., Yin, X., Brunlsema, T.W., Jackson, C.C., Rajcan, I. and Brouder, S.M. (2002).** Potassium fertilization effects on isoflavone concentrations in soybean. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 50: 3501-3506.
- 205. Yang, Q., Chen, Z.Z., Zhou, X.F., Yin, H.B., Li, X., Xin, X.F (2009).** Over expression of SOS (Salt Overly Sensitive) genes increases salt tolerance in transgenic *Arabidopsis*. *Mol Plant*. 2: 22-31.
- 206. Yang, S., Rothman, R.E. (2004).** PCR-based diagnostics for infectious diseases: uses, limitations, and future applications in acute-care settings. *Lancet Infect Dis* 4: 337–348.
- 207. Yanhai, A. J., Tangyuan, N., Ialin, X., Zengjia, L. G. J. (2008).** Potassium nitrate application alleviates sodium chloride stress in winter wheat cultivars differing in salt tolerance. *Journal of Plant Physiology*. 165(14): 1455-1465.
- 208. Yaşar, A., Esra S. (2012).** The effect of salt stress on growth, chlorophyll content, proline and nutrient accumulation, and k/na ratio in walnut. *Pak. J. Bot.* 44 (5): 1513-1520.
- 209. Yasuta, Y., Kokubun, M. (2014).** Salinity tolerance of super nodulating soybean genotype En-b0-1. *Plant Production Science*. 17: 32–40.
- 210. Yong, S., Takayuki, N., Donghe, X., Koki, H., and Makie, K. (2017).** Genotypic variation in salinity tolerance and its association with nodulation and nitrogen uptake in soybean. *Plant Production Science*. 20(4): 490-498.
- 211. Yousefnejad, S., Poustini, K., Alizadeh, H., Tavakoli, M. (2013).** Na⁺ and K⁺ relations in shoot of early growth wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). *Elixir Agric*. 56: 13638-13640.

- 212. Zalapa, J.E., Cue Vas, H., Zhu, H., Steffan, S., Senalik, D. Zeldin, E., McCown, B., Harbut, R., Simon, P. (2012).** Using next-generation sequencing approaches to isolate simple sequence repeat (SSR) loci in the plant. *Sciences, AM. J. Bot.* 99: 193-208.
- 213. Zhang, H., Han, B., Wang, T. Chen, S. X., Li, H. Y., Zhang, Y. H. (2012).** Mechanisms of plant salt response: insights from proteomics. *J. Proteome Res.* 11:49–67.
- 214. Zheng, W., Wang, S.Y. (2001).** Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Jour. Agric. and Food Chem.* 49:5165–5170.
- 215. Zhu, J. K., (2001).** Plant salt tolerance. *Trends in Plant Science.*6: 66-71.



الملخص

إن الهدف من هذه الدراسة هو تقييم تأثير التداخل بين معاملات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة على بعض المعايير المورفولوجية وعلاقة ذلك بألية عمل الخلية على المستوى الجزيئي، و لفهم ذلك تم تصميم تجربة عاملية في القطاعات المنشقة (Split- splot) تضمنت أربعة مستويات من الملوحة على صورة NaCl ($S_0: 0$ ، $S_1: 25$ ، $S_2: 50$ ، $S_3: 150$ mMol/L) و ثلاثة معاملات من البوتاسيوم على صورة خلات البوتاسيوم (CH_3CO_2K) ($A_0: 0$ ، $A_1: 25$ ، $A_2: 50$ mMol/L) على صنفين من نبات الفول *Vicia faba L.* (Malti :var و Hista) خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية و مرحلة النمو الثمري كررت كل معاملة خمس مرات و بالتالي فالتجربة اشتملت 120 وحدة تجريبية و تم ذلك تحت ظروف مراقبة في البيت البلاستيكي، من خلال الملاحظات المورفولوجية (LG, NG ,SF , PSN , ND) و الفيزيولوجية ($SUCR_R$, $SUCR_N$, PRO_F , PRO_R , PRO_N , STI_{PV} , STI_N , TER_F , TER_N) ، K^+_N , Na^+_F , Na^+_N , ADN_F , ADN_N ، $ARNm_F$, $ARNm_N$ ، $FLAV_R$, LEG_N ، $SUCR_F$ ، K^+_F , K^+/Na^+_N , K^+/Na^+_F , N_N , N_F , Fe^{+2}_N) و التي كانت بينهم ارتباطات إيجابية و سلبية جد معنوية، تبين أن المعاملة العالية للملوحة $S_3: 150$ mMol/L أظهرت سلوكيات جد متباينة التأثير بين الصنفين مقارنة بالشاهد $I_{DS3-DS0}=481.95$ كما أن المعاملة بالبوتاسيوم بتركيز $A_2: 50$ mMol/L أزلت هذا التأثير السلبي للملوحة لكلا الصنفين أثناء مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية و مرحلة النمو الثمري مقارنة بالشاهد $I_{DA2-DA0}=25.88$ ، يشير مؤشر فصل المجموعات وفقاً لتحليل التباين لهذه المتغيرات المدروسة أثناء مرحلتي النمو أن الصنف Malti كان أكثر مقاومة للملوحة مقارنة بالصنف Hista. I_{DM} الذي كان أكثر حساسية و تم التأكد من ذلك من خلال الدراسة الجزيئية و هذا بتطبيق تقنية PCR و التي أظهرت أن الصنف Malti تفوق على الصنف Hista بإظهار حزم ADN لجينات مقاومة الملوحة عند الأفراد المعاملة بالملوحة فقط و الأفراد المعاملة بالملوحة و البوتاسيوم، بينما تفوق البادئ

INC₁ من تقنية ISSR على البادئين C₁₁ و C₁₄ من تقنية RAPD في الكشف عن حزم ADN لجينات مقاومة الملوحة، في حين البادئ INC₂ من تقنية ISSR كان الأقل كفاءة في إظهار هذه الحزم.

الكلمات المفتاحية : *Vicia faba* L. ، ملوحة، بوتاسيوم، المعايير المورفو-فيزيولوجية، تقنية - ISSR

PCR ، تقنية RAPD- PCR.

الملخص باللغة الفرنسية

Résumé

Le but de cette étude est d'évaluer l'effet de l'interaction entre les traitements de potassium sous des niveaux de salinité sur certains paramètres morpho-physiologiques et la relation avec le mécanisme de fonctionnement cellulaire au niveau moléculaire. Pour comprendre cela, une expérience factorielle a été conçue dans un dispositif en blocs complètement randomisé (Split plot) . qui a inclus quatre niveaux de salinité sous forme de NaCl (S₀ : 0, S₁ : 25, S₂ : 50, S₃ : 150) mMol/L ,et trois traitements de potassium sous forme d'acétate de potassium (CH₃CO₂K) (A₀ : 0, A₁ : 25, A₂ : 50) mMol/L sur deux cultivars de fèves *Vicia faba* L. (var : Malti et Hista) au cours du stade végétatif croissance et activité des nodules racinaires et le stade de croissance de la fructification avec cinq répétitions pour chaque traitement, le travail a été exécuté sur 120 unités expérimentales dans des conditions contrôlées sous serre L'observation morphologique (ND, PSN , SF, NG, LG) et physiologique (TER_N, TER_F, STI_N STI_{PV}, PRO_N, PRO_R , PRO_F, SUCR_N, SUCR_R, SUCR_F, LEG_N, FLAN_R, ARNm_N, ARNm_F, ADN_N , ADN_F, Na⁺_N , Na⁺_F , K⁺_N , K⁺_F , K⁺/Na⁺_N ,

K^+/Na^+ , N_N , N_F , Fe^{+2}_N), qui présentaient des corrélations positifs et négatifs hautement significatives entre eux, il se dégage aussi que les génotypes étudiés ont manifesté des comportements bien différenciés sous les hautes concentrations de NaCl S_3 :150mMol/L par rapport au témoin $I_{DS3-DS0} = 481.95$ ainsi que , le traitement au potassium à un concentration de A_2 : 50 mMol/L a supprimé les effets délétères de la salinité pour les deux cultivars pendant les deux phases de croissance par rapport au témoin, $I_{DA2-DA0} = 25.88$. L'indice de séparation des groupes selon l'analyse de variance pour ces variables étudiées au cours des deux stades de croissance indique que le cultivar Malti était plus résistant à la salinité par rapport au cultivar Histal $I_{DM-DH} = 0.99$ qui était plus sensible. Cela a été confirmé par une étude moléculaire, en appliquant la technique **PCR**, qui a montré que le cultivar Malti plus distincte comparant au cultivar Histal en montrant sur les bandes **d'ADN** des gènes de résistance à la salinité chez les individus traités avec de la salinité uniquement et chez les individus traités avec de la salinité et du potassium, cependant les amorces **INC₁** de la technique **ISSR** étaient supérieur comparant aux amorces **C₁₁** et **C₁₄** de la technique **RAPD** pour détecter les bandes **d'ADN** des gènes de résistance à la salinité, tandis que l'amorce **INC₂** de la technique **ISSR** était le moins efficace pour montrer ces bandes.

Mots clés: *Vicia faba* L, salinité, potassium, paramètres morpho - physiologiques, technique ISSR- PCR, technique RAPD- PCR.

abstract

The aim of this study is to evaluate the effect of the interaction between potassium treatments under salinity levels on certain morpho-physiological parameters and the relationship with the cellular functioning mechanism at the molecular level. To understand this, a factorial experiment was designed in a completely randomized block device (split plot). which included four salinity levels as NaCl (S_0 : 0, S_1 : 25, S_2 : 50, S_3 : 150) mMol/L And three potassium treatments as potassium acetate (CH_3CO_2K) (A_0 : 0, A_1 : 25, A_2 : 50) mMol/L on two broad bean cultivars *Vicia faba* L. (var: Malti and Hista) during the vegetative stage growth and activity of the root nodes and the stage of growth of the fruiting body with five repetitions for each treatment, the work was carried out on 120 experimental units under controlled conditions under Greenhouse Morphological observation (ND, PSN, SF, NG, LG) and physiological (TER_N , TER_F , STI_N , STI_{PV} , PRO_N , PRO_R , PRO_F , $SUCR_N$, $SUCR_R$, $SUCR_F$, LEG_N , $FLAN_R$, $ARNm_N$, $ARNm_F$, ADN_N , ADN_F , Na^+_N , Na^+_F , K^+_N , K^+_F , K^+/Na^+_N , K^+/Na^+_F , N_N , N_F , Fe^{+2}_N), Which showed very significant positive and negative correlations between them, it was found that the high salinity treatment S_3 : 150 mMol/L showed very different behaviors between the two classes compared to the control. $I_{DS3-DS0} = 481.95$ as well as the treatment with potassium at a concentration of A_2 : 50 mMol/L suppressed the deleterious effects of salinity for the two cultivars during the two stages of growth compared to the control, $I_{DA2-DA0} = 25.88$ The index

of separation of the groups according to the analysis of variance for these variables studied during the two stages of growth indicates that cultivar Malti was more resistant to salinity compared to cultivar Histal $I_{DM-DH} = 0.99$ which was more sensitive. This was confirmed by a molecular study, applying the PCR technique, which showed that the Malti cultivar more distinct compared to the Histal cultivar by showing on the **DNA** bands genes for resistance to salinity in individuals treated with salinity only and in individuals treated with both salinity and potassium, however the **INC₁** primers of the **ISSR** technique were superior to the **C₁₁** and **C₁₄** primers of the **RAPD** technique in detecting **DNA** bands genes for resistance to salinity, while the primer **INC₂** of the **ISSR** technique was the least effective in showing these bands.

Keywords: *Vicia faba* L, salinity, potassium, morpho-physiological parameters, ISSR- PCR technique, RAPD- PCR technique.



الملاحق

الملحق 2

1- تحضير كواشف تحاليل التربة

- دليل الفينول الفثالين : يأخذ 1 غ منه و يحل في 100 مل من الايثانول 70 % .
- دليل برتقالي الميثيل : يأخذ 1 غ منه و يحل في 100 مل ماء مقطر.
- حمض كبريت **N 0.01** : يضاف حجم قدره 2.8 مل من H_2SO_4 المركز (95.6 %) إلى دورق حجمي سعة 1 لتر يحتوي مسبقا على حوالي 300 مل من الماء المقطر و يمزج جيدا ثم يكمل الحجم بواسطة الماء المقطر ويجانس المحلول . ينقل من المحلول السابق 100 مل وتمدد بالماء المقطر حتى 1000 مل.
- محلول هيدروكسيد الصوديوم **2 N (NaOH)** : يذاب 80 غ من NaOH في حوالي 800 مل من الماء المقطر ثم ينقل المحلول إلى دورق حجمي سعته لتر ليبرد ويكمل الى الحجم بالماء المقطر.
- دليل الميروكسيد : يمزج 0,5 غ من بربرات الأمونيوم ($C_8H_8N_6O_6$) مع 100 غ من سلفات البوتاسيوم اللامائية (K_2SO_4).
- محلول **0,01 N (Ethylene Diamine Tetra Acetic acid) EDTA** : يذاب 2 غ من الملح ثنائي الصوديوم لـ EDTA و صيغته $(Na_2H_{14}C_{10}N_2 \cdot 2H_2O)$ مع 0,05 غ من كلوريد المغنيزيوم سداسي هيدرات ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$) في الماء المقطر و يمدد الحجم إلى لتر.
- محلول منظم **(NH₄Cl -NH₄OH)** : يذاب 67,5 غ من كلوريد الأمونيوم (NH_4Cl) في 570 مل من هيدروكسيد الأمونيوم (NH_4OH) و يمدد الحجم بالماء المقطر إلى لتر.
- كاشف **(Eriochrome black T) EBT**: يحضر بإذابة 0,5 غ من Eriochrome black T مع 4.5 غ من Hydroxylamine hydrochloride ($HONH_2 \cdot HCl$) في 100 مل من الايثانول 95 %.
- محلول خلات الأمونيوم **pH = 7 N 1**: يضاف 57 مل من حمض الخل المركز (CH_3CO_2H) إلى 800 مل ماء مقطر ثم يضاف 68 مل من ماءات الأمونيوم (NH_4OH) و يمدد الحجم بالماء المقطر إلى اللتر، يضبط pH المحلول بالرقم 7 بواسطة (NH_4OH) أو (CH_3CO_2H).

الملحق 3

1- تحضير محلول Drabkin للكشف عن بروتين Léghemoglobine في العقد الجذرية

- تم مزج 200 ملغ من (Potassium ferricyanide) مع 50 ملغ (Potassium cyanide) و 140 ملغ (Potassium dihydrogen phosphate) في 1000 مل ماء مقطر، ثم وضع المحلول في زجاجة معتمدة محكمة الغلق و حفظت في الثلاجة تحت درجة حرارة 4 م° لحين الاستعمال.

2-- تحضير المحلول المنظم (Tampon phosphate) للكشف عن البروتينات الكلية في البذور

- تم اذابة 13.9 غ من فوسفات احادي الصوديوم (NaH_2PO_4) في 1000 مل ماء ثنائي التقطير و اذابة 26.82 غ من فوسفات ثنائي الصوديوم ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) في 1000 مل ماء ثنائي التقطير، بعدها يمزج 39 مل من المحلول الاول مع 61 مل من المحلول الثاني و يخفف بالماء المقطر الى 200 مل.

3 - تحضير محلول صبغة الكاشف (صبغة الكوماسي الزرقاء) للكشف عن البروتينات الكلية في البذور

اذيب 100 ملغ من مسحوق أزرق الكوماسي (Coomassie Brilliant Blue G-250) في 50 مل من الإيثانول النقي 96 % وبعد تمام الانحلال اضيف 100 مل من حمض الفوسفور المركز النقي 85 %، ثم مدد الحجم إلى لتر باستخدام الماء ثنائي التقطير، رشح محلول صبغة الكاشف باستخدام ورق الترشيح Whatman N°1، يكون المحلول المحضر صالحا للاستخدام لمدة أسبوعين عند حفظه في وعاء معتم و عند درجة حرارة 4 م°، مع الإشارة إلى أن أي تغيير في درجة حموضة الوسط سيؤدي إلى عدم صلاحية الكاشف.

4- تحضير كاشف Diphénylamine للكشف عن الـADN في العقد الجذرية و في الاوراق

تم اذابة 500 ملغ من (Diphénylamine) في 49 مل من حمض الخليك (acide acitique) و 1 مل من HCl المركز، هذا المحلول حضر في نفس يوم القياس لأنه يفقد فعاليته في اليوم التالي.

5- تحضير كاشف Orcinol للكشف عن الـARNm في العقد الجذرية و في الاوراق

تم وزن 100 ملغ من (Orcinol) ضمن دورق معياري حجم 50 مل، ثم اضيف له 3 ملغ من كلوريد النحاس (CuCl_2) بعدها اذيب بواسطة حمض الـHCl المركز و اكمل الحجم الى 50 مل.

6- تحضير كاشف 1.10. orthophenantroline (1.5%)

يذاب 15 غ من 1.10. orthophenantroline ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2$) في 850 مل من الماء المقطر و يضبط pH الى 3 بواسطة الـHCl.

الملحق 4

1- تحضير محلول الاستخلاص CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide)

20 غ (CTAB) + 12.1 غ (Tris – HCl) + 7.44 غ (EDTA) + 81.1 غ (NaCl) + 20 غ (PVP) + 2 مل (mercaptoethanol) + 1000 مل ماء مقطر و يضبط المحلول الى pH = 8.

2- تحضير محلول TE Buffer 1X

0.12 غ (Tris – HCl) + 3.7 غ (EDTA) + 1000 مل ماء مقطر و يضبط المحلول الى pH = 7.4.

3- تحضير محلول TBE Buffer 10X

107.08 غ (Tris base) + 55 غ (acide borique) + 7.4 غ (EDTA) + 1000 مل ماء مقطر و يضبط المحلول الى pH = 8.

من محلول (TBE Buffer 10X) نسحب 100 مل و نكمل الحجم الى 1 لتر من الماء المقطر لنتحصل على محلول (TBE Buffer 1X) .

الملحق 5 : نسبة تركيز الـADN لصنفي الفول عند الطول الموجي 280/260

تركيز الـADN عند طول الموجة 280		تركيز الـADN عند طول الموجة 260		تراكيز الملوحة و البوتاسيوم
الصف Histal		الصف Malti		
2.01		1.79		S ₀ A ₀
2.00		1.83		S ₀ A ₁
1.85		1.97		S ₀ A ₂
1.94		1.90		S ₁ A ₀
1.88		2.01		S ₁ A ₁
1.97		1.84		S ₁ A ₂
2.01		1.99		S ₂ A ₀
1.94		1.96		S ₂ A ₁
1.84		1.97		S ₂ A ₂
1.91		1.98		S ₃ A ₀
1.97		1.97		S ₃ A ₁
2.01		1.94		S ₃ A ₂

الملحق 6: متوسط القياسات المورفولوجية لصنفي الفول تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية

مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم

الاصناف	المتغيرات المورفولوجية	S ₀			S ₁			S ₂			S ₃		
		A ₀	A ₁	A ₂	A ₀	A ₁	A ₂	A ₀	A ₁	A ₂	A ₀	A ₁	A ₂
Histal	ND	66.3 ± 1.71	84 ± 3.33	110 ± 4.66	60.0 ± 1.33	67.6 ± 2.01	75.33 ± 1.87	48.33 ± 1.77	57 ± 2	64.66 ± 1.95	20 ± 1.12	27 ± 1.53	39.3 ± 1.63
	PSN (mg)	0.28 ± 0.03	0.33 ± 0.02	0.41 ± 0.095	0.26 ± 0.035	0.29 ± 0.025	0.36 ± 0.041	0.21 ± 0.071	0.23 ± 0.055	0.27 ± 0.058	0.14 ± 0.047	0.16 ± 0.052	0.19 ± 0.056
	SF (cm ²)	9.17 ± 0.05	9.61 ± 0.2	11.22 ± 0.17	9.01 ± 0.1	9.14 ± 0.15	9.36 ± 0.07	8.68 ± 0.15	8.89 ± 0.1	9.11 ± 0.05	7.76 ± 0.12	8.01 ± 0.18	8.64 ± 0.2
Malti	ND	94 ± 7	126 ± 27.22	167 ± 15.50	81 ± 14.52	112.66 ± 18.17	149 ± 11	63 ± 7.02	77.33 ± 9.16	91.33 ± 16.65	40 ± 7.54	54 ± 6.55	72 ± 9
	PSN (mg)	0.35 ± 0.03	0.41 ± 0.036	0.52 ± 0.045	0.30 ± 0.031	0.39 ± 0.021	0.50 ± 0.040	0.26 ± 0.02	0.33 ± 0.025	0.43 ± 0.035	0.18 ± 0.041	0.24 ± 0.026	0.31 ± 0.046
	SF (cm ²)	9.50 ± 0.33	9.97 ± 0.15	11.31 ± 0.14	9.38 ± 0.10	9.61 ± 0.041	10.21 ± 0.035	9.26 ± 0.045	9.59 ± 0.036	10.11 ± 0.045	8.63 ± 0.094	8.97 ± 0.13	9.22 ± 0.045

الملحق 7: متوسط القياسات الفيزيولوجية للصنف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية

		مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم											
الإصناف	المتغيرات	S ₀			S ₁			S ₂			S ₃		
		A ₀	A ₁	A ₂	A ₀	A ₁	A ₂	A ₀	A ₁	A ₂	A ₀	A ₁	A ₂
Histal	TER _N %	60.23 ± 2.01	70.72 ± 1.33	80.13 ± 1.97	55.58 ± 0.90	65.51 ± 0.95	77.56 ± 1.12	47.81 ± 1.03	53.65 ± 0.96	63.93 ± 0.29	29.75 ± 0.87	34.73 ± 1.04	40.24 ± 1.03
	TER _F %	65.34 ± 0.92	73.51 ± 1.17	89.80 ± 1.37	60.33 ± 0.98	68.79 ± 0.81	82.32 ± 0.82	49.76 ± 0.87	60.24 ± 1.35	70.16 ± 1.17	35.63 ± 1.04	45.77 ± 0.92	50.34 ± 0.98
	STI _N %	100 ± 0.0	117.74 ± 0.96	128.65 ± 1.08	84.33 ± 1.13	99.78 ± 0.99	113.54 ± 0.57	70.43 ± 1.02	81.30 ± 0.79	92.55 ± 1.17	45.39 ± 1.21	49.72 ± 0.96	54.68 ± 1.09
	STI _{PV} %	100 ± 0.0	120.78 ± 0.95	131.62 ± 0.83	86.87 ± 0.85	103.54 ± 0.88	116.51 ± 1.07	72.46 ± 1.14	84.50 ± 0.58	99.36 ± 1.11	43.36 ± 0.92	47.33 ± 0.81	52.51 ± 1.04
	PRO _N (ug/mg)	8.91 ± 0.48	8.42 ± 0.97	8.11 ± 0.76	11.03 ± 0.84	10.12 ± 1.06	9.19 ± 0.68	15.53 ± 1.12	13.84 ± 0.95	11.79 ± 1.09	23.13 ± 0.53	22.59 ± 0.71	20.75 ±
	PRO _R (ug/mg)	9.22 ^{de} ± 0.83	8.52 ^{e±} 0.79	8.41 ^e ± 0.40	12.33 ^d ± 0.98	10.51 ^d ± 0.67	9.36 ^d ± 0.95	18.98 ^{b±1} .34	15.71 ^c ± 1.77	10.53 ^d ± 1.75	27.57 ^a ± 1.79	25.83 ^{a±} 2.03	21.33 ± 1.9
	PRO _F (ug/mg)	9.95 ± 0.27	9.42 ± 0.29	9.06 ± 0.16	11.90 ± 0.28	10.17 ± 0.21	8.32 ± 0.25	17.16 ± 0.44	13.75 ± 0.31	11.47 ± 0.42	26.27 ± 0.34	23.89 ± 0.18	20.90 ± 0.25
	SUCR _N (ug/mg)	11.71 ± 0.15	11.38 ± 0.93	10.98 ± 0.75	12.50 ± 1.02	11.80 ± 0.68	11.22 ± 1.09	18.26 ± 0.39	16.79 ± 0.55	13.18 ± 0.84	31.12 ± 0.72	26.31 ± 0.47	24.67 ± 0.38
	SUCR _R (ug/mg)	12.11 ^d ± 2.37	11.75 ^{d±} 2.01	11.02 ^d ± 1.83	15.28 ^{d±} 1.91	13.32 ^d ± 2.88	11.36 ^{d±} 2.45	26.07 ^b ± 2.17	19.32 ^c ± 2.00	12.67 ^{d±} 2.07	39.21 ^a ± 2.09	35.46 ^a ± 2.93	27.53 ^b ± 2.74
	SUCR _F (ug/mg)	12.73 ± 0.19	12.54 ± 0.12	12.20 ± 0.09	13.91 ± 0.18	11.53 ± 0.21	9.85 ± 0.28	17.58 ± 0.25	15.28 ± 0.17	12.08 ± 0.16	28.47 ± 0.33	26.63 ± 0.22	21.61 ± 0.26
	FLAV _R (mg QE/g MF)	12.7 ^{ab} ± 2.19	14.32 ^{ab} ± 2.13	16.79 ^a ± 2.05	11.08 ^d ± 1.12	12.58 ^d ± 1.61	13.87 ^{ab} ± 1.84	9.46 ^c ± 2.12	11.14 ^{bc} ± 1.48	12.65 ^{ab} ± 2.56	5.37 ^a ± 2.01	6.64 ^d ± 1.54	9.23 ^c ± 1.81
	LEG _N mg/ g MF	37.14 ^{ab} ± 1.83	42.85 ^a ± 2.39	47.64 ^a ± 2.31	31.78 ^{abc} ± 2.08	35.38 ^{ab} ± 1.99	39.20 ^{ab} ± 2.12	27.5 ^{bcd} ± 1.91	29.64 ^{bc} ± 2.28	34.75 ^{ab} ± 1.89	16.60 ^c ± 1.95	18.39 ^{de} ± 1.98	22.50 ^c ± 1.95
	CHLT _F (mg/g)	18.86 ± 0.32	22.61 ± 0.27	26.36 ± 0.26	16.48 ± 0.36	18.21 ± 0.14	21.89 ± 0.32	14.59 ± 0.22	17.31 ± 0.32	20.93 ± 0.42	9.92 ± 0.24	12.17 ± 0.20	15.09 ± 0.15
	ARNm _N umol/g MS	83.91 ± 1.31	111.67 ± 1.38	120.42 ± 1.68	79.74 ± 1.73	87.35 ± 1.17	117.07 ± 1.43	65.53 ± 0.94	77.91 ± 1.44	103.22 ± 1.16	40.55 ± 1.14	48.67 ± 1.45	54.52 ± 0.82
	ARNm _F umol/g MS	109.51 ± 1.16	128.46 ± 1.64	143.66 ± 1.95	97.31 ± 0.89	120.24 ± 1.66	136.62 ± 1.71	73.39 ± 1.85	98.60 ± 1.39	123.08 ± 2.77	49.50 ± 0.98	55.35 ± 1.06	60.62 ± 1.93
	ADN _N umol/g MS	92.06 ± 1.28	118.14 ± 1.10	133.41 ± 1.70	83.91 ± 1.39	98.02 ± 0.74	130.29 ± 0.93	61.56 ± 1.17	78.76 ± 1.31	90.83 ± 0.84	36.43 ± 0.97	40.87 ± 0.91	45.74 ± 1.02
ADN _F umol/g MS	107.59 ± 1.30	123.07 ± 1.60	146.77 ± 0.81	94.30 ± 0.94	125.46 ± 1.17	144.96 ± 0.53	72.22 ± 0.93	89.16 ± 1.18	106.19 ± 1.26	47.12 ± 1.58	50.73 ± 0.95	59.38 ± 0.81	

الملحق 8: متوسط القياسات الفيزيولوجية للصنف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية

مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم

الإصناف	المتغيرات	S ₀			S ₁			S ₂			S ₃		
		A ₀	A ₁	A ₂	A ₀	A ₁	A ₂	A ₀	A ₁	A ₂	A ₀	A ₁	A ₂
Malti	TER _N %	67.56 ± 1.06	75.52 ± 1.04	91.26 ± 0.89	63.47 ± 0.90	74.81 ± 0.69	86.63 ± 1.13	54.40 ± 0.95	65.68 ± 1.03	76.43 ± 1.05	34.39 ± 1.07	39.36 ± 0.74	46.42 ± 0.85
	TER _F %	70.49 ± 0.71	82.39 ± 1.11	96.58 ± 0.85	67.56 ± 0.88	76.41 ± 0.76	90.25 ± 0.95	56.26 ± 0.87	69.74 ± 0.89	80.55 ± 0.99	40.34 ± 1.06	49.59 ± 0.92	60.26 ± 1.31
	STI _N %	100 ± 0.0	122.49 ± 0.90	132.5 ± 1.17	89.36 ± 0.81	109.47 ± 1.17	121.30 ± 1.06	73.37 ± 0.99	85.58 ± 1.09	100.29 ± 0.95	47.23 ± 0.92	51.25 ± 0.76	56.33 ± 1.21
	STI _{PV} %	100 ± 0.0	124.45 ± 1.09	136.35 ± 0.74	88.51 ± 0.86	106.76 ± 1.07	119.46 ± 1.16	74.21 ± 0.85	87.51 ± 1.01	102.46 ± 0.98	48.39 ± 1.12	53.58 ± 1.05	57.52 ± 0.73
	PRO _N (ug/mg)	11.57 ± 0.59	11.04 ± 0.85	10.79 ± 1.12	12.71 ± 0.68	11.16 ± 0.64	9.22 ± 1.06	16.06 ± 0.71	14.12 ± 1.11	11.98 ± 0.50	27.11 ± 1.22	25.87 ± 0.88	23.21 ± 0.97
	PRO _R (ug/mg)	11.07 ± 0.36	10.88 ± 0.61	10.49 ± 0.20	12.36 ± 0.31	10.80 ± 0.19	8.84 ± 0.25	15.34 ± 0.28	13.63 ± 0.65	11.60 ± 0.29	25.47 ± 0.34	23.58 ± 0.33	20.6 ± 0.42
	PRO _F (ug/mg)	14.59 ± 0.27	14.36 ± 0.13	14.01 ± 0.34	16.60 ± 0.36	14.34 ± 0.30	11.75 ± 0.34	20.10 ± 0.84	17.51 ± 0.38	14.29 ± 0.42	30.06 ± 0.38	28.43 ± 0.44	25.24 ± 0.37
	SUCR _N (ug/mg)	15.52 ± 0.49	15.23 ± 1.13	15.12 ± 0.63	17.05 ± 1.04	16.29 ± 0.98	14.07 ± 0.86	20.87 ± 0.25	18.21 ± 1.19	16.13 ± 0.73	30.22 ± 0.58	28.49 ± 1.21	26.16 ± 0.77
	SUCR _R (ug/mg)	15.23 ± 0.22	15.14 ± 0.07	15.02 ± 0.14	16.93 ± 0.28	14.38 ± 0.094	12.5 ± 0.37	19.66 ± 0.32	17.07 ± 0.18	15.33 ± 0.61	29.42 ± 0.43	27.47 ± 0.89	24.08 ± 0.37
	SUCR _F (ug/mg)	17.32 ± 0.25	17.05 ± 0.16	16.75 ± 0.33	19.52 ± 0.37	16.71 ± 0.45	14.44 ± 0.41	24.38 ± 0.76	21.22 ± 0.43	15.02 ± 0.52	35.15 ± 0.47	32.46 ± 0.63	28.55 ± 0.71
	FLAV _R (mg QE /g MF)	16.65 ± 0.32	19.89 ± 0.34	23.44 ± 0.53	15.30 ± 0.47	17.72 ± 0.64	20.89 ± 0.46	12.83 ± 0.34	15.60 ± 0.38	19.42 ± 0.36	9.84 ± 0.26	13.75 ± 0.50	18.98 ± 0.43
	LEG _N mg/ g MF	41.89 ± 0.18	45.35 ± 0.31	50.51 ± 0.35	39.73 ± 0.43	43.49 ± 0.32	49.58 ± 0.53	35.39 ± 0.28	38.83 ± 0.46	42.09 ± 0.38	28.6 ± 0.57	31.69 ± 0.41	36.83 ± 0.62
	CHLT _F (mg/g)	23.81 ± 0.3	25.78 ± 0.38	29.64 ± 0.43	22.17 ± 0.47	24.26 ± 0.51	27.43 ± 0.34	20.57 ± 0.38	23.71 ± 0.44	26.79 ± 0.63	16.49 ± 0.43	19.64 ± 0.47	22.78 ± 0.29
	ARN _{mN} umol/g MS	95.04 ± 1.88	122.62 ± 1.84	144.90 ± 1.62	88.30 ± 0.86	116.79 ± 1.76	139.62 ± 1.10	66.4 ± 0.86	84.92 ± 1.62	101.12 ± 1.67	43.64 ± 1.89	51.84 ± 1.37	61.78 ± 0.92
	ARN _{mF} umol/g MS	110.42 ± 1.84	127.70 ± 1.83	150.74 ± 1.32	101.61 ± 0.62	120.03 ± 1.41	140.11 ± 0.68	81.50 ± 1.04	119.57 ± 1.74	132.34 ± 1.32	49.59 ± 1.03	56.53 ± 0.63	64.60 ± 0.73
ADN _N umol/g MS	117.97 ± 1.00	131.84 ± 2.22	159.73 ± 1.60	110.24 ± 2.23	125.66 ± 1.31	143.34 ± 0.76	80.49 ± 1.69	103.33 ± 1.78	123.07 ± 2.31	50.10 ± 2.11	57.78 ± 1.01	62.59 ± 1.82	
ADN _F umol/g MS	124.39 ± 2.23	142.24 ± 2.04	168.45 ± 1.78	117.89 ± 1.37	131.49 ± 0.74	150.23 ± 2.06	87.20 ± 1.14	119.35 ± 1.90	129.86 ± 1.08	55.21 ± 1.27	60.08 ± 1.43	68.42 ± 1.50	

الملحق 9: متوسط قياسات العناصر المعدنية لصنفي الفول تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات اليوتاسيوم خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية

		مستويات الملوحة و معاملات خلات اليوتاسيوم											
الاصناف	متغيرات العناصر المعدنية	S ₀			S ₁			S ₂			S ₃		
		A ₀	A ₁	A ₂	A ₀	A ₁	A ₂	A ₀	A ₁	A ₂	A ₀	A ₁	A ₂
Histal	Na ⁺ _N mg/kg	10.54±0.17	8.69±0.43	7.28 ±0.39	11.47±0.48	9.43 ±0.42	7.65±0.67	13.44 ±0.47	11.28 ±0.45	9.86±0.43	18.4 ±0.72	16.42 ±0.92	14.39±1.20
	Na ⁺ _F mg/kg	9.66 ±0.24	7.74±0.33	6.40±0.28	10.49±0.32	8.51±0.20	6.77±0.36	12.13±0.44	10.72±0.49	8.70±0.51	16.65±0.72	15.36±1.10	13.47±0.85
	K ⁺ _N mg/kg	40.26±1.15	46.33±0.84	50.25±0.92	37.29 ±1.12	44.42±1.24	50.28±1.11	30.35±1.06	37.52±0.9	42.36 ±1.08	21.64±0.64	26.34±0.91	30.11 ±1.04
	K ⁺ _F mg/kg	42.83 ±1.31	48.64±0.95	53.47 ±2.36	39.74±0.91	46.26±0.85	52.51±2.48	32.48±0.93	39.62±0.89	44.33±1.16	24.58±0.68	30.28±0.80	32.48±0.87
	K ⁺ /Na ⁺ _N	3.81 ±0.68	5.21 ±1.02	6.90 ±0.94	3.25 ±1.12	4.71±0.79	6.47 ±0.84	2.25 ±0.35	3.32 ±1.21	4.29 ±0.52	1.17 ±1.07	1.60 ±0.92	2.09 ±0.61
	K ⁺ /Na ⁺ _F	4.43 ±1.17	6.28 ±0.98	8.35 ±1.03	3.78 ±0.81	5.43 ±1.13	7.75 ±0.64	2.67 ±0.76	3.69 ±0.96	5.09 ±0.93	1.47 ±0.57	1.97 ±1.09	2.41 ±1.15
	N _N %	2.29±0.51	2.77±0.43	3.18±0.32	2.08±0.15	2.45±0.21	2.96±0.30	1.74±0.26	2.10±0.23	2.36±0.18	1.17±0.25	1.38±0.55	1.62 ±0.85
	N _F %	2.61±0.91	3.13±0.20	3.52±0.23	2.40±0.13	2.79±0.27	3.35±0.33	2.11 ±0.19	2.47±0.26	2.82±0.22	1.53±0.15	1.82±0.23	2.07 ±0.42
	Fe ⁺² _N (mg/g)	15.23±0.37	17.60±0.28	20.47±0.19	13.46±0.23	15.29±0.43	19.31±0.13	10.93±0.31	13.43±0.27	16.48 ±0.17	7.64 ±0.23	9.27 ±0.18	11.46 ±0.26
Malti	Na ⁺ _N mg/kg	8.5±0.73	6.7±0.59	5.63±0.89	9.15±0.81	7.76±0.41	5.98±0.47	10.75±1.17	8.42±0.95	7.22±1.19	14.26 ±0.98	13.09±1.65	11.37±0.82
	Na ⁺ _F mg/kg	8.25±0.98	6.56±0.39	5.42±0.68	8.89±1.09	7.31±0.96	5.67±1.06	10.28±1.15	8.39 ±1.11	6.87 ±1.01	13.58±1.12	12.53±0.93	10.75±1.49
	K ⁺ _N mg/kg	45.34 ±0.92	51.26±0.94	60.11±1.12	42.25±1.07	49.85±0.88	59.61±1.13	36.59±0.83	42.63 ±0.92	50.54 ±1.14	26.65 ±0.81	31.59 ±0.92	35.75 ±1.32
	K ⁺ _F mg/kg	48.19±1.19	56.18 ±0.9	64.22 ±0.87	45.55 ±1.22	53.25 ±1.25	61.85 ±1.95	38.14 ±0.62	46.19 ±1.9	52.21 ±0.93	28.27 ±1.26	33.57 ±0.93	37.24 ±2.81
	K ⁺ /Na ⁺ _N	5.33 ±0.49	7.65 ±0.86	10.67 ±0.99	4.61 ±0.18	6.42 ±0.54	9.96 ±1.21	3.04 ±0.62	5.01 ±0.57	7.0 ±0.77	1.86 ±1.11	2.41 ±0.91	3.14 ±1.24
	K ⁺ /Na ⁺ _F	5.84 ±0.97	8.56 ±1.07	11.84 ±0.65	5.12 ±0.73	7.28 ±0.67	10.90 ±1.13	3.71 ±1.23	5.50 ±0.46	7.59 ±0.39	2.08 ±0.81	2.67 ±1.16	3.46 ±1.08
	N _N %	2.41±0.28	2.96 ±0.35	3.49 ±0.30	2.35 ±0.17	2.93±0.22	3.43 ±0.26	1.88 ±0.15	2.21 ±0.21	2.70 ±0.30	1.29 ±0.43	1.51 ±0.26	1.97 ±0.17
	N _F %	2.98±0.30	3.48 ±0.13	4.11 ±0.37	2.70 ±0.25	3.38 ±0.18	3.77 ±0.21	2.24 ±0.28	2.67±0.12	3.03 ±0.19	1.75 ±0.17	1.94 ±0.25	2.21 ±0.23
	Fe ⁺² _N (mg/g)	18.42 ±0.25	21.55 ±0.22	24.74 ±0.31	16.25 ±0.27	19.20 ±0.34	23.87±0.39	13.35 ±0.18	16.52 ±0.36	20.41 ±0.45	9.49±0.76	12.29 ±0.47	15.70 ±0.80

الملحق 10: متوسط القياسات المورفولوجية لصنفي الفول تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم خلال مرحلة النمو الثمري

		مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم											
		S ₀			S ₁			S ₂			S ₃		
الاصناف	المتغيرات المورفولوجية	A ₀	A ₁	A ₂	A ₀	A ₁	A ₂	A ₀	A ₁	A ₂	A ₀	A ₁	A ₂
Histal	NG	4±1	5.66± 0.57	6.33± 1.52	3.66± 0.57	5±1	6±1	2.33± 1.15	3.66± 0.57	4.33±1	1.33± 0.57	2 ± 0.57	3 ±1
	LG (cm)	21 ± 0.81	24.33 ± 1.24	29.81 ± 0.62	19.5± 0.40	23.93± 0.49	27.47 ±0.93	15.6 ± 0.43	17.46 ± 0.67	19.2.± 0.80	12.46 ± 1.02	14.26 ± 0.74	15.15 ± 0.82
	SF (cm²)	11.23 ± 0.86	13.13 ± 0.75	15.07 ± 0.78	10.21 ± 0.81	12.72± 0.67	14.15 ±0.80	8.5 ± 0.76	10.72 ± 0.73	12.03± 0.69	6.52 ± 0.57	7.75± 0.75	9.40 ± 0.66
Malti	NG	6 ± 0.57	7.66 ± 0.57	8.66 ± 1.52	5.66. ± 1.15	7.33± 0.57	8 ± 1	4.33± 1.52	5.33± 1.15	6.33 ± 1.24	2± 0.47	3 ± 0.81	4.66± 1.24
	LG (cm)	17.6 ± 0.77	20.87 ± 0.57	25.93 ± 1.18	16.8 ± 0.61	18.36 ±0.63	20.48 ±0.78	14.33 ±0.75	16.43 ± 0.81	18.3 ± 0.77	11.56 ±0.65	12.46 ±0.61	14.4 ± 0.74
	SF (cm²)	12.14 ± 0.80	14.18 ± 0.78	16.31 ± 0.84	11.77 ± 0.90	13.41 ± 0.72	15.73 ±0.79	10.55 ± 0.65	12.53 ± 0.68	14.98 ± 0.77	7.52 ± 0.64	9.51 ± 0.91	10.57 ± 0.83

الملحق 11: متوسط القياسات الفيزيولوجية للصنف Histal تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم خلال مرحلة النمو الثمري

		مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم											
		S ₀			S ₁			S ₂			S ₃		
الاصناف	المتغيرات	A ₀	A ₁	A ₂	A ₀	A ₁	A ₂	A ₀	A ₁	A ₂	A ₀	A ₁	A ₂
Histal	TER_F%	68.41 ± 0.94	77.38 ± 0.81	90.32 ± 0.97	64.65 ±0.80	71.64 ±0.62	89.43 ± 1	45.20 ±0.72	59.27 ± 0.73	70.49 ± 0.77	27.73 ±1.02	34.39 ± 0.83	41.57 ± 0.51
	STI_{PV} %	100 ± 0.0	125.61 ± 0.93	133.55 ± 0.88	79.77 ±0.78	98.47 ±1.19	112.56 ±1.08	62.27 ±0.97	77.42 ± 1.20	91.35 ±0.82	36.45 ±1.09	41.54 ±1.15	45.77 ± 0.96
	PRO_F (ug/mg)	11.55± 1.01	10.65 ±0.93	10.15 ±1.03	14.21 ±0.96	12.55 ±1.09	9.71 ±0.92	19.44 ±1.20	16.29 ±0.82	13.14 ±0.97	30.38 ±1.19	28.83 ±0.94	26.45 ±0.45
	SUCR_F (ug/mg)	13.21 ±0.96	13.03 ±0.13	12.82 ±0.32	15.35 ±1.07	14.05 ±0.83	13.56 ±0.78	19.75 ±0.97	17.32 ±1.10	15.47 ±0.44	32.32 ±0.92	29.71 ±1.17	27.42 ±1.20
	CHLT_F (mg/g)	22.6 ±0.75	24.19 ±0.84	27.08 ±0.97	19.24 ±0.33	21.30 ±1.06	24.34 ±0.46	14.81 ±1.12	17.36 ±0.91	20.86 ±0.69	10.02 ±0.44	12.21 ±1.09	14.01 ±0.63
	PROT_G (ug/ml)	140.23 ± 0.91	159.47 ± 1.13	172.56 ± 0.86	121.13 ±0.78	136.24 ± 1.03	153.21 ±0.57	98.81 ±0.12	115.61 ± 0.97	123.19 ± 0.82	60.68 ±0.76	68.94 ± 0.91	76.13 ± 1.17
	ARNm_F umol/g MS	120.68 ± 1.03	131.59 ± 0.94	145.17 ± 0.69	101.31 ±0.51	119.84 ± 1.18	132.32 ± 0.97	83.71 ± 0.49	99.87 ± 0.78	109.12 ±1.09	42.71 ± 1.12	49.48 ± 0.92	53.64 ±0.83
	ADN_F umol/g MS	127.42 ± 0.75	138.37 ± 0.82	154.81 ± 0.64	110.52 ± 1.14	124.55 ± 0.65	139.89 ± 0.95	89.83 ± 0.36	97.69 ± 0.78	118.21± 1.16	44.13 ± 0.43	51.36 ± 1.04	58.09 ±1.16

الملحق 12: متوسط القياسات الفيزيولوجية للصنف Malti تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم خلال مرحلة النمو الثمري

مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم

الاصناف	المتغيرات	مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم											
		S ₀			S ₁			S ₂			S ₃		
		A ₀	A ₁	A ₂	A ₀	A ₁	A ₂	A ₀	A ₁	A ₂	A ₀	A ₁	A ₂
Malti	TERF %	72.46 ± 0.72	84.33 ±0.97	97.06 ±0.77	69.30 ±0.84	78.57 ±0.68	91.18 ±0.82	50.26 ±0.91	70.20 ± 0.34	80.16 ± 0.39	31.32 ±0.95	40.64 ± 1.13	50.36 ± 0.48
	STI _{PV} %	100 ± 0.0	127.07 ±1.04	138.27 ±0.91	81.47 ±0.96	101.12 ±0.98	116.67 ±1.14	65.17 ±0.89	80.76 ±1.08	99.69 ±0.82	38.16 ±0.95	43.66 ±0.80	48.35 ±1.19
	PRO _F (ug/mg)	14.73 ±0.93	14.19 ±1.07	13.93 ±1.05	18.32 ±1.01	16.24 ±0.99	12.88 ±1.09	25.03 ±0.78	20.60 ±0.91	16.56 ±0.77	35.28 ±0.72	31.23 ±1.02	28.41 ±0.66
	SUCR _F (ug/mg)	17.90 ± 1.01	17.22 ±0.83	16.84 ±0.96	21.14 ±1.23	19.30 ±0.92	16.95 ±1.10	26.89 ±0.87	23.25 ±1.18	19.45 ± 0.85	37.49 ±0.99	32.80 ±0.52	29.21 ±0.97
	CHLT _F	27.40 ±1.19	29.23 ±0.47	33.37 ±0.88	24.30 ±0.71	26.19 ±1.09	29.39 ±0.31	18.94 ±1.07	23.76 ±0.60	27.63 ±0.82	13.15 ±1.04	15.06 ±0.42	17.25 ±0.90
	PROT _G (ug/ml)	159.42 ± 1.06	174.16 ± 0.89	198.36 ± 0.92	142.39 ± 0.75	156.67 ± 0.97	178.22 ± 1.13	117.54 ±0.64	128.72 ±0.81	149.88 ±0.68	73.29 ±0.91	81.78 ±0.73	90.89 ±1.09
	ARN _{mF} umol/g MS	131.15 ± 1.13	142.43 ± 0.96	160.78± 0.81	115.29 ± 0.72	129.87 ± 1.02	149.62 ± 0.48	93.88 ± 1.19	114.32 ± 1.01	123.63 ± 0.63	48.86 ± 1.13	52.46 ± 0.61	60.11 ±0.84
	ADN (f) umol/g MS	137.58 ±1.16	146.21 ±0.92	168.76 ± 1.03	121.84 ±0.98	139.47 ± 0.76	150.26 ± 1.17	99.71 ± 0.87	118.15 ± 0.69	131.81 ± 1.08	50.78 ± 1.01	59.50 ± 0.54	65.46 ±0.79

الملحق 13: متوسط تراكيز العناصر المعدنية لصنفي الفول تحت مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم خلال مرحلة النمو الثمري

مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم

الاصناف	متغيرات العناصر المعدنية	مستويات الملوحة و معاملات خلات البوتاسيوم											
		S ₀			S ₁			S ₂			S ₃		
		A ₀	A ₁	A ₂	A ₀	A ₁	A ₂	A ₀	A ₁	A ₂	A ₀	A ₁	A ₂
Histal	Na ⁺ _F mg/kg	10.81 ±0.84	10.07 ±0.94	9.55 ±0.72	12.68 ±1.06	10.11 ±1.10	9.29 ±0.98	15.16 ±1.08	12.22 ±1.04	10.75 ±0.49	22.88 ±0.52	20.19 ±0.38	18.30 ±0.96
	K ⁺ _F mg/kg	49.40 ±1.16	56.34 ±0.47	67.26 ±0.92	40.45 ±1.26	46.81 ± 1.11	50.11 ±0.47	29.69 ±1.07	34.75 ±0.36	39.21 ±1.14	17.08 ±1.29	19.25 ±0.70	21.30 ±1.04
	K ⁺ /Na ⁺ (f)	4.56 ±0.34	5.59 ±0.59	7.04 ± 0.69	3.19 ±0.16	4.63 ±0.47	5.39 ± 0.64	1.95 ±0.16	2.84 ±0.17	3.64 ±0.24	0.74 ±0.03	0.95 ±0.01	1.16 ±0.08
	N _F %	3.44 ±0.80	4.13 ±0.22	4.62 ±0.51	2.89 ±0.97	3.31 ±0.83	4.17 ±1.07	2.08 ±0.77	2.6 ±0.45	3.02 ±0.66	1.36 ±0.43	1.58 ±0.24	1.97 ±0.30
Malti	Na ⁺ _F mg/kg	9.64 ±0.54	9.02 ±0.86	8.31 ±0.44	11.19 ±1.12	10.86 ±0.70	7.81 ±0.61	13.33 ±0.93	11.17 ±0.59	9.78 ±0.82	19.12 ±1.03	17.50 ±1.10	15.81 ±0.84
	K ⁺ _F mg/kg	52.06 ±0.61	60.34 ±1.23	71.87 ±1.43	43.37 ±0.68	48.26 ±0.92	58.32 ±0.59	32.22 ± 1.19	37.33 ±1.17	43.27 ±0.58	18.71 ±1.11	21.64 ±0.77	24.13 ±0.88
	K ⁺ /Na ⁺ _F	5.40 ±0.33	6.68 ±0.58	8.64 ±0.39	3.87 ±0.41	4.38 ± 0.40	7.46 ± 0.59	2.41 ± 0.06	3.34 ±0.13	4.42 ±0.38	0.97 ± 0.01	1.23 ±0.10	1.52 ± 0.02
	N _F %	3.92 ±0.33	4.40 ±0.70	5.31 ± 0.38	3.40 ±0.57	3.88 ±0.25	4.57 ±0.40	2.55 ± 0.88	3.17 ±0.46	3.76 ±0.80	1.67 ±0.38	2.08 ±0.93	2.28 ±0.66

تاريخ المناقشة: 08- جوان-2023	الاسم : هاجر اللقب : سعيد																																				
نوع الشهادة: دكتوراه علوم																																					
العنوان: تحديد أثر معاملات البوتاسيوم على الخصائص المورفوفيزيولوجية و الجزيئية للعقد الجذرية لنبات الفول (<i>Vicia faba</i> L.) أثناء نمو و تطور مرحلة إثمار النبات تحت الظروف الملحية.																																					
<p>الملخص:</p> <p>إن الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التداخل بين معاملات البوتاسيوم تحت مستويات الملوحة على بعض المعايير المورفوفيزيولوجية وعلاقة ذلك بألية عمل الخلية على المستوى الجزيئي، و لفهم ذلك تم تصميم تجربة عاملية في القطاعات المنشقة (Split- splot) تضمنت أربعة مستويات من الملوحة على صورة NaCl ($S_0: 0$ ، $S_1: 25$ ، $S_2: 50$ ، $S_3: 150$) mMol/L و ثلاثة معاملات من البوتاسيوم على صورة خلات البوتاسيوم (CH_3CO_2K) ($A_0: 0$ ، $A_1: 25$ ، $A_2: 50$) mMol/L على صنفين من نبات الفول <i>Vicia faba</i> L. (Malti و Histal) خلال مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية و مرحلة النمو الثمري كررت كل معاملة خمس مرات و بالتالي فالتجربة اشتملت 120 وحدة تجريبية لكل مرحلة و تم ذلك تحت ظروف مراقبة في البيت البلاستيكي، من خلال الملاحظات المورفولوجية (LG, NG ,SF , PSN , ND) و الفيزيولوجية (PRO_F, PRO_R, PRO_N , $STI_{PV}, STI_N, TER_F, TER_N$) و K^+_N, Na^+_F, Na^+_N , ADN_F, ADN_N , ARN_{mF}, ARN_{mN} , $FLAV_R$, LEG_N , $SUCR_F, SUCR_R, SUCR_N$, $K^+_F, K^+/Na^+_N, K^+_N, N_F, N_N, Fe^{+2}_N$) و التي كانت بينهم ارتباطات إيجابية و سلبية جد معنوية، تبين أن المعاملة العالية للملوحة $S_3: 150$ mMol/L أظهرت سلوكيات جد متباينة التأثير بين الصنفين مقارنة بالشاهد $IDS_3-DS_0=481.95$ كما أن المعاملة بالبوتاسيوم بتركيز $A_2: 50$ mMol/L أزالت هذا التأثير السلبي للملوحة لكلا الصنفين أثناء مرحلة النمو الخضري و نشاط العقد الجذرية و مرحلة النمو الثمري مقارنة بالشاهد $IDA_2-DA_0=25.88$ ، يشير مؤشر فصل المجموعات وبقا لتحليل التباين لهذه المتغيرات المدروسة أثناء مرحلتي النمو ان الصنف Malti كان أكثر مقاومة للملوحة مقارنة بالصنف Histal $ID_{M-DH}=0.99$ الذي كان أكثر حساسية و تم التأكد من ذلك من خلال الدراسة الجزيئية و هذا بتطبيق تقنية PCR و التي أظهرت أن الصنف Malti تفوق على الصنف Histal بإظهار حزم ADN لجينات مقاومة الملوحة عند الأفراد المعاملة بالملوحة فقط و الأفراد المعاملة بالملوحة و البوتاسيوم، بينما تفوق البادئ INC_1 من تقنية ISSR على البادئين C_{11} و C_{14} من تقنية RAPD في الكشف عن حزم ADN لجينات مقاومة الملوحة في حين البادئ INC_2 من تقنية ISSR كان الأقل كفاءة في إظهار هذه الحزم.</p>																																					
الكلمات المفتاحية: <i>Vicia faba</i> L. ، ملوحة، بوتاسيوم، المعايير المورفوفيزيولوجية، تقنية PCR- ISSR ،تقنية PCR- RAPD																																					
مخبر البحث : مخبر فيزيولوجيا النبات و مخبر علم البيئة، كلية علوم الطبيعة والحياة – جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1 مخبر البيولوجيا الجزيئية، مركز البحث في البيوتكنولوجيا- قسنطينة																																					
<p>أعضاء لجنة المناقشة</p> <table border="0"> <tr> <td>شايب غنية</td> <td>رئيسة</td> <td>جامعة الإخوة منتوري- قسنطينة 1</td> </tr> <tr> <td>شوقي سعيدة</td> <td>مشرفة</td> <td>جامعة الإخوة منتوري- قسنطينة 1</td> </tr> <tr> <td>غمام عمارة الجيلاني</td> <td>ممتحنا</td> <td>جامعة الشهيد حمة لخضر- الوادي</td> </tr> <tr> <td>بولعسل معاد</td> <td>ممتحنا</td> <td>جامعة الإخوة منتوري- قسنطينة 1</td> </tr> <tr> <td>بوحوحو مولود</td> <td>ممتحنا</td> <td>المدرسة العليا للأساتذة- قسنطينة</td> </tr> <tr> <td>صويلح نبيلة</td> <td>ممتحنة</td> <td>جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>أستاذ التعليم العالي</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>أستاذ التعليم العالي</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>أستاذ التعليم العالي</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>أستاذ محاضر أ</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>أستاذ محاضر أ</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>أستاذ محاضر أ</td> </tr> </table>		شايب غنية	رئيسة	جامعة الإخوة منتوري- قسنطينة 1	شوقي سعيدة	مشرفة	جامعة الإخوة منتوري- قسنطينة 1	غمام عمارة الجيلاني	ممتحنا	جامعة الشهيد حمة لخضر- الوادي	بولعسل معاد	ممتحنا	جامعة الإخوة منتوري- قسنطينة 1	بوحوحو مولود	ممتحنا	المدرسة العليا للأساتذة- قسنطينة	صويلح نبيلة	ممتحنة	جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة			أستاذ التعليم العالي			أستاذ التعليم العالي			أستاذ التعليم العالي			أستاذ محاضر أ			أستاذ محاضر أ			أستاذ محاضر أ
شايب غنية	رئيسة	جامعة الإخوة منتوري- قسنطينة 1																																			
شوقي سعيدة	مشرفة	جامعة الإخوة منتوري- قسنطينة 1																																			
غمام عمارة الجيلاني	ممتحنا	جامعة الشهيد حمة لخضر- الوادي																																			
بولعسل معاد	ممتحنا	جامعة الإخوة منتوري- قسنطينة 1																																			
بوحوحو مولود	ممتحنا	المدرسة العليا للأساتذة- قسنطينة																																			
صويلح نبيلة	ممتحنة	جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة																																			
		أستاذ التعليم العالي																																			
		أستاذ التعليم العالي																																			
		أستاذ التعليم العالي																																			
		أستاذ محاضر أ																																			
		أستاذ محاضر أ																																			
		أستاذ محاضر أ																																			
السنة الجامعية : 2022-2023																																					