جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة كربلاء _ كلية الزراعة

قسم المحاصيل الحقلية

تأثير التسميد الفوسفاتي والرش بالمغنيسيوم في صفات النمو والحاصل والمادة الفعالة والتعبير الجيني لنبات الداتورة

Datura Stramonium L.

رسالة مقدمة الى مجلس كلية الزراعة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في العلوم الزراعية/ المحاصيل الحقلية

من قبل

شروق خليفة محمد التميمي

باشراف

م. د. علي ناظم فرهود

ربيع الاول 1444 تشرين الاول 2022

بِسۡمِ ٱللَّهِ ٱلرَّحۡمَٰنِ ٱلرَّحِيمِ

فَتَعَٰلَى ٱللَّهُ ٱلۡمَلِكُ ٱلۡحَقُّۗ وَلَا تَعۡجَلۡ بِٱلۡقُرۡءَانِ مِن قَبۡلِ
أَن يُقۡضَىٰٓ إِلَيۡكَ وَحۡيُهُۥۖ وَقُل رَّبِّ زِدۡنِي عِلۡمٗا ١١٤

صَدَقَ الله العَظيمْ

سورة طه _ آية 114

إقرار المشرف

اشهد أن إعداد هذه الرسالة جرى تحت اشرافي في جامعة كربلاء – كلية الزراعة / قسم المحاصيل الحقلية وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في العلوم الزراعية في المحاصيل الحقلية.

المشرف

م. د. علي ناظم فرهود

بناءً على التوصيات المتوافرة، أرشح هذه الرسالة للمناقشة.

أ. د. عباس علي حسين العامري

رئيس لجنة الدراسات العليا

قسم المحاصيل الحقلية

بسم الله الرحمن الرحيم

نشهد اننا اعضاء لجنة المناقشة اطلعنا على هذه الرسالة وناقشنا الطالبة في محتوياتها وفيما له علاقة بها ، وهي جديرة بالقبول لنيل درجة الماجستير للعلوم الزراعية في المحاصيل الحقلية.

رئيساً

ا.د. عباس علي حسين العامري

جامعة كربلاء _كلية الزراعة

عضواً

ا.د. منذر خماس جبر

جامعة القاسم الخضراء- كلية الزراعة

عضواً

ا.م.د. سراب عبد الهادي محمد

جامعة كربلا ء- كلية الزراعة

عضواً ومشرفاً

م.د. علي ناظم فرهود

جامعة كربلاء - كلية الزراعة

صدقت الرسالة من قبل مجلس كلية الزراعة - جامعة كربلاء.

ا.د. ثامر كريم خضير الجنابي

العميد وكالة

الاهداء

لمن اضاء قناديل العلم والمعرفة في قلبي الى الرجل الطاهر الكريم ولرمز التضحية والعطاء والوفاء الى من امدوني بالنصح والتشجيع و اوصلوني لهذه المرحلة بفضل دعاءهم

ابي وامي حفظها الله لي

الى من سهر لراحتي وشجعني منذ بدء سفري لرحلة البحث عن المعرفة وكشف ما وراء ستارها فكان لي خير السند وخير معين بمتابعته المستمرة فكان له ابلغ الاثر في نفسي رفيق

دربي زوجي (علاء)

الى من عشت معهم احلى الاوقات عنوان المحبة والاخلاص ورودي الفواحة

اخواتي زينب **بشرى فاطمة مريم تهاني**

الى من اشد به عضدي

اخي حسين

والى جميع العقول المتلهفة للمعرفة والبحث بقصد البناء والتغيير اهدي ثمرة جهدي بكل حب

شروق

شكر وتقدير

الحمدُ للهِ الذي خلقَ الإنسانَ وعلمهُ البيانَ وكرمهُ بالعقلِ وفضّلهُ وكرّمه بقوله تعالى اقرأ ووهبه العلم والقلم وتلك اعظم النعم ، وأفضل الصلاة وأتم التسليم على محمد الامين المبعوث رحمة للعالمين وعلى آلهِ وصحبهِ الطيبين الطاهرين.

وأتقدم بالشكر الجزيل إلى عمادة كلية علوم الهندسة الزراعية ورئيس قسم المحاصيل الحقلية لإتاحتهم الفرصة لي لإكمال دراستي .

بعد توفيق الله وتيسيره يسرني وأنا انهي كتابة رسالتي ان أتقدم بجزيل شكري الى مشرفي م. د علي ناظم فرهود لإشرافه على هذا الجهد العلمي ومتابعته الميدانية وتوجيهاته القيمة الثمينة طيلة فترة الدراسة فجزاه الله عني خير الجزاء والثناء و حفظه الله و انار دربه و سهل له مقصده ويسر له امره ووفقه لكل خير .

كما أتقدم بخالص شكري و تقديري الى رئيس واعضاء لجنة المناقشة و اخص بالذكر الدكتور عباس العامري و الدكتور منذر خماس جبار و الدكتورة سراب عبد الهادي و مشرفي الدكتور علي ناظم فرهود . لتفضلهم بقبول مناقشة هذه الرسالة واغنائها بأرائهم القيمة واخراجها بأجمل وأرق صورة ، و بالتأكيد سيبقى فضل أساتذتي عليّ كبير ولا يمكن أن أنساه ما حييت فمن علمهم نهلت وبتشجيعهم ودعمهم استطعت أن أخطو خطواتي في هذا الطريق.

ووافر الشكر والتقدير الى السيد رئيس قسم المحاصيل وجميع أساتذة ومنتسبي القسم على الدعم المتواصل.

ووافر شكري وامتناني الى من شجعني على شغف الاطلاع والمعرفة وكاتفوني ونحن نشق الطريق معا نحو النجاح في مسيرتنا العلمية الأخوة زملائي طلبة الدراسات العليا فكل واحد منهم كان اكثر من صديق بل كانوا اكثر من أخوة واخوات أنار الله طريقهم ويسر أمورهم و جزاهم عني خير الجزاء والشكر الموصول لصديقات عمري الغاليات .

وكما أتقدم بجزيل الشكر والتقدير الى كل من مد لي يد العون والمساعدة في انجاز هذه الاطروحة واخص بالذكر د.حميد عبد خشان الفرطوسي و د.عقيل نزال و د.عدنان لطيف و د.عدي حامد وكل من كان له الفضل في تلقيني ولو حرفا واحدا في مسيرتي الدراسية.كما لا يسعني إلا ان اقدم شكري وامتناني لكل من مد لي يد العون وساعدني وأخص بالذكر عائلتي (جهاد و بتول و صفاء و حسين و مريم و زينب) ، فأرجو ان تتقبلوا وافر عرفاني وشكري وان يتقبلوا عذري على التقصير نحوهم.

الى كل من اضاء وانار بعلمه عقل غيره و هدى بالجواب الصحيح حيرة سائليه فأظهر بسماحته تواضع العلماء وبرحابته سماحة العارفين اقدم شكري وامتناني .

(كن عالما .فإن لم تستطع فكن متعلما، فإن لم تستطع فأحب العلماء، فإن لم تستطع، فلا تبغضهم)

المستخلص

نُفذت تجربة حقلية اثناء الموسم الزراعي 2021 في احدى حقول التجارب التابعة لاعدادية ابن البيطار المهنية الواقعة في محافظة كربلاء بهدف دراسة تاثير التسميد الفوسفاتي والرش بالمغنيسيوم النانوي في عدد من الجينات المسؤولة عن التحكم في تخليق المادة الفعالة (القلويدات) وصفات نمو وحاصل نبات الداتورة، نُفذت التجربة بثلاثة مكررات حسب تصميم القطاعات الكاملة المعشاة وبعاملين، تضمن العامل الاول اربعة مستويات للسماد الفوسفاتي هي: 0 و25 و 50 و75 كغم P هـ$^{-1}$، اما العامل الثاني تضمن رش المغنيسيوم النانوي بأربعة تراكيز هي: 0 (ماء مقطر فقط) و 60 و 120 و 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ ، اظهرت النتائج ما يلي:

1- ان اضافة السماد الفوسفاتي بالمستوى 75 كغم P.هـ$^{-1}$ سبب زيادة معنوية في ارتفاع النبات وعدد الافرع وعدد الاوراق والمساحة الورقية وتركيز كلوروفيل a و b و حاصل الاوراق لنبات الداتورة، متفوقة على بقية المعاملات.

2- ان اضافة السماد الفوسفاتي بالمستوى 50 و 75 كغم P.هـ$^{-1}$ سببت زيادة معنوية في عدد الثمار وعدد البذور وحاصل البذور الكلي لنبات الداتورة، متفوقة على بقية المعاملات .

3- سببت اضافة السماد الفوسفاتي انخفاضا معنويا في تركيز الاتروبين و الهيوسامين والسكوبولامين في البذور والاوراق لنبات الداتورة، اذ سببت المعاملة 75 كغم P.هـ$^{-1}$ اقصى انخفاض للاوراق و للبذور .

4- اعطت المعاملة 25 و 50 كغم P.هـ$^{-1}$ اعلى حاصل للقلويدات من اوراق الداتورة ، واعطت المعاملة 25 كغم P.هـ$^{-1}$ اعلى حاصل للقلويدات من البذور .

5- ان رش المغنيسيوم النانوي لم يكن له تاثيرا معنويا في ارتفاع وعدد افرع الداتورة، بينما اعطى التركيز 180 ملغم لتر$^{-1}$ اعلى متوسط لعدد الاوراق والمساحة الورقية وتركيز كلوروفيل a و b و حاصل الاوراق وعدد البذور ووزن 1000 بذرة و حاصل البذور الكلي متفوقة على بقية المعاملات .

6- سبب رش المغنيسيوم النانوي انخفاضا معنويا في تركيز الاتروبين و الهيوسامين والسكوبولامين في البذور والاوراق، اذ سببت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اقصى انخفاض للاوراق وللبذور .

7- اعطى التركيز 0 و 120 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اعلى تركيز للقلويدات من الاوراق، واعطى التركيز 120 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اعلى تركيز للقلويدات من البذور .

8- سبب اضافة الفسفور انخفاضا معنويا في تعبير جينات PMT و TR1 و H6H،بينما اقتصر تاثير رش المغنسيوم النانوي على اختزال تعبير جين H6H، كما ان استجابة تعبير جين H6H سواء للفسفور او المغنيسيوم النانوي في جذور او اوراق الداتورة كان خلال مرحلة الازهار فقط بينما لم يتاثر في مرحلة 7-8 ورقة.

قائمة المحتويات

تسلسل	المحتويات	الصفحة
1	المقدمة	1
2	مراجعة المصادر	3
	الداتورة	3
1-2	الاهمية الطبية لنبات الداتورة	3
2-2	مسار التخليق الحيوي للقلويدات في العائلة الباذنجانية	5
3-2	تشخيص الجينات المسؤولة عن بناء الانزيمات	7
1-3-2	(PCR) Polymerase Chain Reaction تفاعل البلمرة المتسلسل	8
1-1-3-2	المكونات الأساسية لتفاعل PCR	10
1-1-1-3-2	انزيم DNA Polymerase	10
2-1-1-3-2	المحلول المنظم PCR buffer	10
3-1-1-3-2	البادئ Primer	11
2-3-2	تقانة (RT qPCR) Real-time reverse transcription-PCR	12
1-2-3-2	تحليل بيانات التفاعل اللحظي الكمي-النسخ الرجعي (RT-qPCR)	13
4-2	تاثير الفسفور في النبات	14
1-4-2	تاثيرالفسفور في بعض صفات النمو الخضري للنبات	15
2-4-2	تاثير الفسفور في صفات حاصل النبات	16
3-4-2	تاثير الفسفور في الصفات النوعية للنبات	17
5-2	تاثير التسميد بالمغنيسيوم في النبات	18
1-5-2	تاثير التسميد بالمغنيسيوم في بعض صفات النمو الخضري للنبات	18
2-5-2	تاثير المغنيسوم في صفات حاصل النبات	19
3-5-2	تاثير المغنيسيوم في الصفات النوعية للنبات	19
6-2	اهمية الاسمدة النانوية	20
3	مواد وطرائق العمل	22
1-3	موقع التجربة وخصائص التربة	22
2-3	تحضير البذور	23
3-3	تحضير الأرض والتصميم التجريبي والمعاملات	23
4-3	ممارسات خدمة المحصول	23
5-3	الاجهزة والمواد الكيميائية المستعملة	24
1-5-3	الاجهزة	24
2-5-3	المواد والمحاليل الكيميائية	25
3-5-3	البوادئ	26
6-3	الصفات المدروسة	27
1-6-3	تشخيص جينات PMT وTR1 وH6H المسؤولة عن تخليق المادة الفعالة في جذور واوراق الداتورة	27

1-1-6-3	استخلاص الحمض النووي الريبوزي منقوص الاوكسجين (DNA) من النبات	27
2-1-5-3	خطوات استخلاص الـ DNA	28
2-1-6-3	قياس نقاوة وتركيز الحامض النووي DNA	29
3-1-6-3	استعمال تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) لتضخيم جينات PMT و TR1 و H6H	29
4-1-6-3	الترحيل الكهربائي لناتج PCR باستعمال هلام الاكاروز	32
2-6-3	التعبير الجيني لجينات PMT و TR1 و H6H	34
1-2-6-3	استخلاص الحامض النووي RNA	34
1-1-2-6-3	خطوات استخلاص الـ RNA	35
2-2-6-3	قياس نقاوة الحامض النووي RNA	37
3-2-6-3	تقنية التفاعل التكراري اللحظي لتحديد قيمة التعبير الجيني	37
3-6-3	صفات النمو	38
1-3-6-3	ارتفاع النبات(سم)	38
2-3-6-3	عدد الافرع نبات$^{-1}$	38
3-3-6-3	عدد الاوراق نبات$^{-1}$	38
4-3-6-3	المساحة الورقية (سم^{2})	39
4-6-3	محتوى كلوروفيل a و b في الاوراق (ملغم غم$^{-1}$)	39
5-6-3	تقدير نسبة بعض العناصر في اوراق الداتورة	39
1-5-6-3	نسبة النتروجين (%) في الأوراق	39
2-5-6-3	نسبة الفسفور (%) في الأوراق	40
3-5-6-3	نسبة البوتاسيوم (%) في الاوراق	40
4-5-6-3	نسبة المغنيسيوم (%) في الاوراق	40
6-6-3	تقدير النسبة المئوية للقلويدات في الاوراق والبذور	40
7-6-3	تشخيص المركبات الفعالة (القلويدات) بإستعمال تقانة كروماتوكرافي السائل ذات الأداء العالي High-performance Liquid Chromatography HPLC	40
7-3	صفات الحاصل ومكوناته	43
1-7-3	حاصل الأوراق كغم هـ$^{-1}$	43
2-7-3	عدد الثمار نبات$^{-1}$	43
3-7-3	عدد البذور ثمرة$^{-1}$	43
4-7-3	وزن 1000 بذرة غم	44
5-7-3	حاصل النبات غم	44
6-7-3	الحاصل الكلي للبذور كغم$^{-1}$	44
7-7-3	حاصل القلويدات من الاوراق (كغم هـ$^{-1}$)	44
8-7-3	حاصل القلويدات من البذور (كغم هـ$^{-1}$)	44
8-3	التحليل الإحصائي	44

45	النتائج و المناقشة	4
45	تشخيص الجينات PMT TR1 DaH6H المسؤولة عن بناء الانزيمات المحفزة على تراكم المواد الفعالة(القلويدات).	1-4
46	تأثير الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في التعبير النسبي لجينات PMT و TR1 و H6H في جذور واوراق الداتورة عند مرحلتي 7-8 ورقة و الازهار	2-4
46	تأثير الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في التعبير النسبي لجينات PMT و TR1 و H6H في جذور الداتورة عند مرحلتي 7-8 ورقة و الازهار.	1-2-4
55	تأثير الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في التعبير النسبي لجينات PMT و TR1 و H6H في اوراق الداتورة عند مرحلة 7-8 ورقة و الازهار.	2-2-4
62	تأثير الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في بعض صفات النمو الخضري للداتورة	3-4
62	ارتفاع النبات (سم)	1-3-4
63	عدد الافرع (فرع نبات$^{-1}$)	2-3-4
64	عدد الاوراق (ورقة نبات$^{-1}$)	3-3-4
66	المساحة الورقية (سم^{2})	4-3-4
67	تأثير الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في تركيز كلوروفيل a و b في اوراق الداتورة.	4-4
67	تركيز كلوروفيل a في الاوراق (ملغم غم$^{-1}$)	1-4-4
69	تركيز كلوروفيل b في الاوراق (ملغم غم$^{-1}$)	2-4-4
70	تأثير الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في تركيز بعض العناصر الكيميائية في اوراق الداتورة.	5-4
70	نسبة النتروجين في الاوراق (%)	1-5-4
71	نسبة الفسفور في الاوراق (%)	2-5-4
73	نسبة البوتاسيوم في الاوراق (%)	3-5-4
74	نسبة المغنيسيوم في الاوراق (%)	4-5-4
75	حاصل الاوراق (كغم هـ$^{-1}$)	6-4
77	تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في بعض صفات النمو الثمري للداتورة.	7-4
77	عدد الثمار (ثمرة نبات$^{-1}$)	1-7-4
78	عدد البذور (بذرة نبات$^{-1}$)	2-7-4
79	وزن 1000 بذرة (غم)	3-7-4
80	حاصل البذور الكلي (كغم هـ$^{-1}$)	4-7-4
82	تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في بعض الصفات النوعية للداتورة.	8-4

1-8-4	تركيز الاتروبين في الاوراق (ملغم .100 غم$^{-1}$)	82
2-8-4	تركيز الهيوسامين في الاوراق (ملغم .100غم$^{-1}$)	83
3-8-4	تركيز السكوبولامين في الاوراق (ملغم .100غم$^{-1}$)	84
4-8-4	تركيز الاتروبين في البذور (ملغم .100غم$^{-1}$)	86
5-8-4	تركيز الهيوسامين في البذور (ملغم .100غم$^{-1}$)	87
6-8-4	تركيز السكوبولامين في البذور (ملغم .100غم$^{-1}$)	89
9-4	نسبة القلويدات في الاوراق (%).	90
10-4	نسبة القلويدات في البذور (%).	92
11-4	حاصل القلويدات في الاوراق (كغم هـ$^{-1}$)	93
12-4	حاصل القلويدات في البذور (كغم هـ$^{-1}$)	94
5	الاستنتاجات والمقترحات	95
1-5	الاستنتاجات	95
2-5	الاقتراحات	96
6	المصادر	97
1-6	المصادر العربية	97
1-6	المصادر الاجنبية	98
7	الملاحق	112

قائمة الجداول

رقم الجدول	عنوان الجدول	الصفحة
1	بعض الخصائص الفيزيائية والكيميائية لتربة الحقل وللعمق 0-30 سم	22
2	الاجهزة المستعملة في البحث	24
3	المحاليل والمواد الكيميائية المستعملة في البحث	25
4	البوادئ المتخصصة بتشخيص جينات PMT و TR1 و H6H المستعملة في تفاعل البلمرة المتسلسل PCR	26
5	البوادئ المتخصصة لجينات PMT و TR1 و H6H والجين المرجعي ACTIN المستعملة في تفاعل البلمرة المتسلسل اللحظي الكمي qPCR	26
6	عدة استخلاص الحامض النووي الريبوزي منقوص الاوكسجين ZR Plant) DNA (DNA MiniPrep	29
7	مكونات عدة تفاعل البلمرة المتسلسل Maxime™ PCR PreMix (i-Taq) (Kat.No 25025)	31

8	تراكيز مكونات خليط تفاعل البلمرة المتسلسل PCR	32
9	برنامج ظروف تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لتضخيم جين PMT	31
10	برنامج ظروف تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لتضخيم جين TR1	31
11	برنامج ظروف تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لتضخيم جين H6H	32
12	مكونات عدة استخلاص الحامض النووي الريبوزي RNA المجهزة من شركة Zymo	35
13	مكونات عدة لتحضير التفاعل التكراري اللحظي (GoTaq® RT-qPCR Master Mix)	37
14	مكونات التفاعل التكراري اللحظي(RT-qPCR)	38
15	برنامج ظروف تفاعل (RT-qPCR) لجين PMT و TR1 و H6H	38
16	زمن الاحتجاز للنماذج القياسية من المركبات المشخصة باستعمال طريقة الفصل الكروماتوكرافي HPLC	42
17	تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين PMT في جذور الداتورة عند مرحلة 7-8 ورقة.	48
18	تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين TR1 في جذور الداتورة عند عند مرحلة 7-8 ورقة.	49
19	تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين H6H في جذور الداتورة عند مرحلة 7-8 ورقة.	50
20	تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين PMT في جذور الداتورة عند مرحلة الازهار.	52
21	تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين TR1 في جذور الداتورة عند مرحلة الازهار.	53
22	تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين H6H في جذور الداتورة عند مرحلة الازهار.	54
23	تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين PMT في اوراق الداتورة عند مرحلة 7-8 ورقة.	55

24	تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين TR1 في اوراق الداتورة عند مرحلة 7- 8 ورقة.	56
25	تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين H6H في اوراق الداتورة عند مرحلة 7-8 ورقة.	57
26	تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين PMT في اوراق الداتورة عند مرحلة الازهار.	58
27	تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين TR1 في اوراق الداتورة عند مرحلة الازهار.	59
28	تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين H6H في اوراق الداتورة عند مرحلة الازهار.	61
29	تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في ارتفاع نبات الداتورة (سم)	63
30	تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في عدد افرع الداتورة (فرع نبات$^{-1}$)	64
31	تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في عدد اوراق الداتورة (ورقة نبات$^{-1}$)	65
32	تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في المساحة الورقية الداتورة (سم^2)	67
33	تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في تركيز كلوروفيل a في اوراق الداتورة (ملغم غم$^{-1}$)	68
34	تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في تركيز كلوروفيل b في اوراق الداتورة (ملغم غم$^{-1}$).	69
35	تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في نسبة النتروجين في اوراق الداتورة (%)	71
36	تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في نسبة الفسفور في نبات الداتورة (%).	72
37	تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في نسبة البوتاسيوم في اوراق الداتورة (%)	74

38	تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في نسبة المغنيسيوم في اوراق الداتورة (%)	75
39	تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في حاصل الاوراق في الداتورة (كغم هـ$^{-1}$).	76
40	تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عدد الثمار في نبات الداتورة (ثمرة نبات$^{-1}$).	77
41	تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في عدد البذور لنبات الداتورة (بذرة نبات$^{-1}$).	79
42	تاثير مستويات الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في وزن 1000 بذرة لنبات الداتورة (غم).	80
43	تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في الحاصل الكلي لبذور الداتورة (كغم هـ$^{-1}$).	81
44	تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في تركيز الاتروبين في اوراق نبات الداتورة (ملغم.100 غم$^{-1}$).	83
45	تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في تركيز الهيوسامين في اوراق الداتورة (ملغم.100 غم$^{-1}$)	84
46	تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في تركيز السكوبولامين في اوراق الداتورة (ملغم.100 غم$^{-1}$)	86
47	تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في تركيز الاتروبين في بذور نبات الداتورة (ملغم .100غم$^{-1}$)	87
48	تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في تركيز الهيوسامين في بذور نبات الداتورة (ملغم .100غم$^{-1}$)	88
49	تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في تركيز السكوبولامين في بذور الداتورة (ملغم .100غم$^{-1}$).	90
50	تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في نسبة القلويدات في اوراق نبات الداتورة (%).	91
51	تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في نسبة القلويدات في بذور الداتورة (%)	93

52	تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في الحاصل القلويدي في اوراق نبات الداتورة (كغم هـ$^{-1}$)	94
53	تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في الحاصل القلويدي للبذور في نبات الداتورة (كغم هـ$^{-1}$)	95

قائمة الاشكال

رقم الشكل	عنوان الشكل	الصفحة
1	التخليق الحيوي للقلويدات في العائلة الباذنجانية	6
2	مراحل تفاعل RT-Qpcr	14
3	الدليل القياسي للحامض النووي DNA	33
4	منحنى المادة القياسية لمركب Atropine	42
5	منحنى المادة القياسية لمركب Hyosamine	42
6	منحنى المادة القياسية لمركب Scoplamine	43
7	ترحيل نواتج تفاعل PCR للبادئ لثلاث من جينات الداتورة سترامونيوم (PMT , TR1 , H6H) مع معاملة مقارنة (N.C) بدون اضافة DNA الى بقية المكونات المطلوبة لتفاعل البلمرة المتسلسل .بالاضافة الى احجام سلم الحامض النووي (DNA ladder) مثبتة على الجانب الايسر من الشكل.	46

قائمة الملاحق

رقم الملحق	عنوان الملحق	الصفحة
1	تحليل التباين وفق متوسطات المربعات (M S) لتاثير التسميد الكيمياوي الفوسفاتي والرش بالمغنسيوم النانوي و التداخل بينهما للصفات المدروسة	111
2	تحليل التباين وفق متوسطات المربعات (M S) لتاثير التسميد الكيمياوي الفوسفاتي والرش بالمغنسيوم النانوي و التداخل بينهما للصفات المدروسة	112
3	تحليل التباين وفق متوسطات المربعات (M S) لتاثير التسميد الكيمياوي الفوسفاتي والرش بالمغنسيوم النانوي و التداخل بينهما للصفات المدروسة	113
4	الجينات الداخلة في الدراسة ورمزها الدولي ووظيفتها الفسلجية	115

1- المقدمة

الداتورة نبات طبي يتبع العائلة الباذنجانية، اذ يمتلك العديد من المميزات الصيدلانية نظرا لاحتوائه على عدد كبير من المركبات الكيميائية بما في ذلك القلويات والفلافونويدات و الأحماض الأمينية والتانينات والصابونين والكربوهيدرات والتربينويدات وكلايكوسيدات والستيرويدات والفينولات و غيرها ، اذ تستعمل لعلاج بعض الحالات كاضطراب الجهاز الهضمي و الجهاز التنفسي (AL-Taweel وآخرون، 2019). عالميا تدخل قلويدات الاتروبين و الهيوسامين والسكوبولامين المستخلصة من اوراق وبذور الداتورة كمادة اولية بتحضير عدد كبير من الادوية ، اما في العراق، وفقا للشركة العامة لصناعة الأدوية والمستلزمات الطبية فان تحضير هذه الادوية يعتمد بشكل اساسي على استيراد المواد الاولية من الخارج، الا ان انتاج هذه المواد محليا يواجه عدة عقبات من ضمنها تدني وانخفاض انتاج الداتورة مقارنة بالانتاج العالمي على الرغم من توفر الظروف البيئية الملائمة لزراعتها وانتاجها. ان تدني الانتاجية مع ملائمة الظروف البيئية للزراعة يعود لعدم العناية الكافية بعمليات خدمة التربة والمحصول، ومن اهمها المغذيات. اذ يعد عنصر الفسفور الذي هو احد المغذيات الكبرى و الذي يحتاجه نبات الداتورة لدوره في عمليات ايضية و فسيولوجية كثيرة فضلا عن انه يساعد في زيادة انقسام الخلايا و تحفيز نمو و تطور الجذور التي يرتبط بها انتاج هذه القلويدات اعلى مما في حالة نقص هذا العنصر (Nasir، 2009).

ان طريقة التغذية الورقية ذات كفاءة عالية بسرعة وصول المغذيات الى انسجة الورقة مع الاخذ بنظر الاعتبار اهمية التغذية من التربة عن طريق الجذور (Kaur و Kaur، 2021)، اذ انها يمكن ان تقلل التضاد بين العناصر التي يمكن ان تعيق امتصاصها من قبل النبات. تمتاز نباتات العائلة الباذنجانية بزيادة احتياجاتها لعنصر المغنيسيوم (Cristofano واخرون، 2021)، اذ للمغنيسيوم دور رئيسي في تركيب الكلوروفيل والتي تعد اساسية في عملية التركيب الضوئي، اضافة الى عمله في بعض التفاعلات الكيميائية الحيوية كما انه ضروري لتنشيط العديد من الأنزيمات النباتية أكثر من أي عنصر مغذ آخر(Kınay و 2021,Erdem).

بذل العاملين في مجال البايلوجيا الجزيئية و الكيمياء جهودا لتحديد عدد من الجينات المسؤولة عن تراكم المواد الفعالة في الداتورة، اذ ان عدد من الدراسات ربطت بين تراكم القلويدات وبين تعبير جينات معينة في الجذور او الاوراق، فقد سجلت عدة جينات على انها المسؤولة على زيادة تخليق قلويدات الاتروبين والهيوسامين والسكوبولامين، فتعد جينات

Hyoscyamine 6b-hydroxylase و (PMT) putrescine N-methyl transferase (H6H) و TR) Tropinone reductase) على انها اكثر الجينات تحكما في تخليق القلويدات في الداتورة (Velázquez-Márquez واخرون،2021). وحديثاً درس مقدار التعبير الجيني للعديــد من الجينات عن طريق تقانة التفاعل التكراري اللحظي (quantitative polymerase chain reaction)qPCR والتي تعتبر اداة مهمة في علم ألأحياء الجزيني، اذ تعتمد على نفس مبدأ تفاعل البلمرة المتسلسل، ولكن يتم تقدير كمية الدنا المتضاعف خلال حدوث التفاعل مباشرة.

بناءا على ما تقدم تهدف الدراسة الى :

1- تحديد تاثير السماد الفوسفاتي والرش بالمغنيسوم النانوي وتداخلهما في نمو و حاصل الداتورة.

2- تحديد افضل توليفة من السماد الفوسفاتي و المغنيسيوم النانوي للحصول على اعلى عائد من قلويدات الاتروبين والهيوسامين والسكوبولامين .

3- دراسة التعبير النسبي لجينات PMT و TR1 و DaH6H المسؤولة عن التحكم بتخليق الانزيمات المحددة لتراكم القلويدات تحت مستويات مختلفة من الفسفور والرش بتراكيز مختلفة من المغنيسيوم النانوي.

2- مراجعة المصادر

الداتورة

نبات حولي ذا جذع عشبي ، متفرع ومكثف ذو شعر خفيف . يصل ارتفاعه إلى حوالي متر. سيقانه متفرعة مورقة ،قوية منتصبة ذات لون أخضر مصفر ، وتتفرع بشكل متكرر بطريقة متشعبة . الأوراق كبيرة ، مشعرة ، مسننة بيضاوية بسيطة ، ،ذات عروق متقاربة من الأوراق، طولها 15 – 20 سم ، بيضاوية وخضراء شاحبة ويكون السطح العلوي داكن وأخضر رمادي، أملس بشكل عام ، السطح السفلي شاحب ، عند الجفاف يكون متجعدًا قليلاً ذو ازهار بيضاء أو أرجوانية على شكل قمع ، لها 5 أسدية ومبيض . يبلغ متوسط طول الزهرة حوالي 6-8 سم تقريبا . الكأس طويل وأنبوبي ومنتفخ إلى حد ما في الأسفل وخمسة زوايا حادة للغاية تعلوها خمسة أسنان حادة. الساق بيضاء مخضرة. البذور سوداء ذا شكل كلوي ومسطحة . الثمار كبيرة مثل الجوز ومليئة بالأشواك تحتوي على 4-5 غرف مليئة بالبذور (soni واخرون 2012) .

Kingdom: Plantae
Division: Magnoliophyta
Class: Magnoliopsida
Order: Solanales
Family: Solanaceae
Genus: Datura
Species: Datura stromonium

2-1- الاهمية الطبية لنبات الداتورة

تعد Datura stramonium احد اهم النباتات الطبية التي تتبع العائلة الباذنجانية، لها عدة اسماء في دول العالم، اذ اطلق عليها التفاحة الشوكية وفخ الشيطان وزهرة القمر واجراس الجحيم وبوق الشيطان وعشبة الشيطان. وفقا لـ Luna و Bye (2011) فان جنس Datura يضم ثلاثة عشر نوعا من النباتات العشبية او الشجيرية التي تنتشر في المناطق الاستوائية والمناطق المعتدلة والدافئة في العالم، حديثا تم تسجيل 14 نوعا من الداتورة (Powo، 2020)، اما في العراق فقد ينتشر ثلاثة انواع منها هي : Datura stramonium L و Datura inoxia L و Datura metel L . ان الاهمية الطبية للداتورة تأتي مما تمتلكه من مواد فعالة تدخل في الصناعات الصيدلانية، اذ تحتوي على أسترات عضوية تعمل كمضادات تسمى

القلويدات، والتي تستعمل لعلاج بعض الحالات كاضطراب الجهاز الهضمي و الجهاز التنفسي (AL-Taweel وأخرون، 2019). اشارت عدة دراسات للاهمية العلاجية لنبات الداتورة اذ يستعمل مستخلص اوراق الداتورة لتخفيف الصداع و آلام الروماتيزم والنقرس ومرهم للحروق ولعلاج تساقط الشعر، وكذلك دخول بعض موادها الفعالة في علاج مرض باركنسون والصرع والاكتئاب، سابقا كان يتم استنشاق دخان ورقة الداتورة المحترقة للتخفيف من الربو والتهاب الشعب الهوائية نتيجة لإرخاء العضلات الملساء (Korkmaz واخرون,2019). تحتوي الداتورة على مواد فعالة كالسكوبولامين الذي تم استعماله لتهدئة الاشخاص الذين يعانون من مرض الفصام، كذلك ان بذور الداتورة طاردة للديدان ومضادة للالتهابات ومسكنة للالام (Kumar وأخرون ،2012) ، وتستعمل البذور مع زيوت النخيل خارجيا لعلاج لدغات الحشرات واللسعات (Al-snafi، 2017)، تعد مستخلصات او ابخرة الداتورة سامة لدرجة معينة اذا ما استعملت بشكل تقليدي وبكميات كبيرة لانها مسكرة ومهلوسة وتسبب حالة من الهذيان والاضطراب وقد يسبب الموت، فالمدة المستغرقة لظهور الاعراض السريرية للتسمم هي من 15 -30 دقيقة، فكثيره سام وقليله فعال للمرض (الطائي ، 2017). ذكر المهداوي (2004) ان كل 100 ملغم من Atropine يمكن ان يوجد في 15 -100غم من الاوراق أو 15-25 غم من البذور لنبات الداتورة تسبب حالات من التسمم ومن اعراضه الدوران وجفاف الفم واحمرار الجلد وانخفاض الضغط واخيرا غيبوبة، واوضح Alexander (2008) انه اذ ما تجاوزت الكمية المتناولة 1000 ملغم من الداتورة ، يكون قاتل نتيجة لاحتوانها على قلويدات الاتروبين والهيوسامين والسكوبولامين، اما اذا استعملت بكميات قليلة وبشكل مناسب وباشراف مختصين فيمكن استخدامها في المعالجة الطبية. تم استثمار موادها الفعالة في تركيب العديد من المستحضرات الصيدلانية التي تستعمل في معالجة أمراض الجهاز التنفسي والهضمي لعملها على زيادة سرعة التنفس وايضا تقليل الافرازات للغدد الملحقة بالجهاز الهضمي وايضا لتقلصات المعدة والامعاء، اذ تستعمل لعلاج قرحة المعدة اذ انها تقلل من الافرازات المعدية، وكذلك تدخل في علاجات النواسير والخراجات ومشاكل القلب مثل الخفقان وارتفاع ضغط الدم ومسكن لالام الكلى والمجاري البولية، وتعد احد المكونات الاساسية في تصنيع مستحضر Buscopan وهو مهدئ لحالات المغص الكلوي (Soni وأخرون،2012). تحوي الداتورة ايضا على قلويد الاتروبين، الذي يتوفر كقطرة لمعالجة التهابات العيون وتوسيع الحدقة لاجراء الفحوصات الطبية للذين يعانون من بعض أمراض العيون، ويدخل في تحضير عديد من الادوية منها المضادة للتشنج وفي ادوية السعال والاسهال وغيرها (الامين وسناريا ، 2011).

يتوفر الاتروبين بتراكيز مختلفة في الداتورة D.Stramonium والذي صيغته الجزيئة $C_{17}H_{23}NO$، كتلته الجزيئية 289.369 g/mol ، اذ يؤثر في الجهاز العصبي المركزي (System Nervous Central) ويثبط العضلات الملساء وكذلك إفرازات الغدد الذي يسنده بالاعصاب، اذ يعمل عقار الأتروبين كمهدئ في علاج مرض شلل الاعصاب ومرض باركنسون (الشلل الارتعاشي) ويعمل بشكل خاص على إفرازات الغدد التنفسية و المسالك البولية والقلب والعضلات القصبية والجهاز الهضمي المعوي (Preuss واخرون،2021).

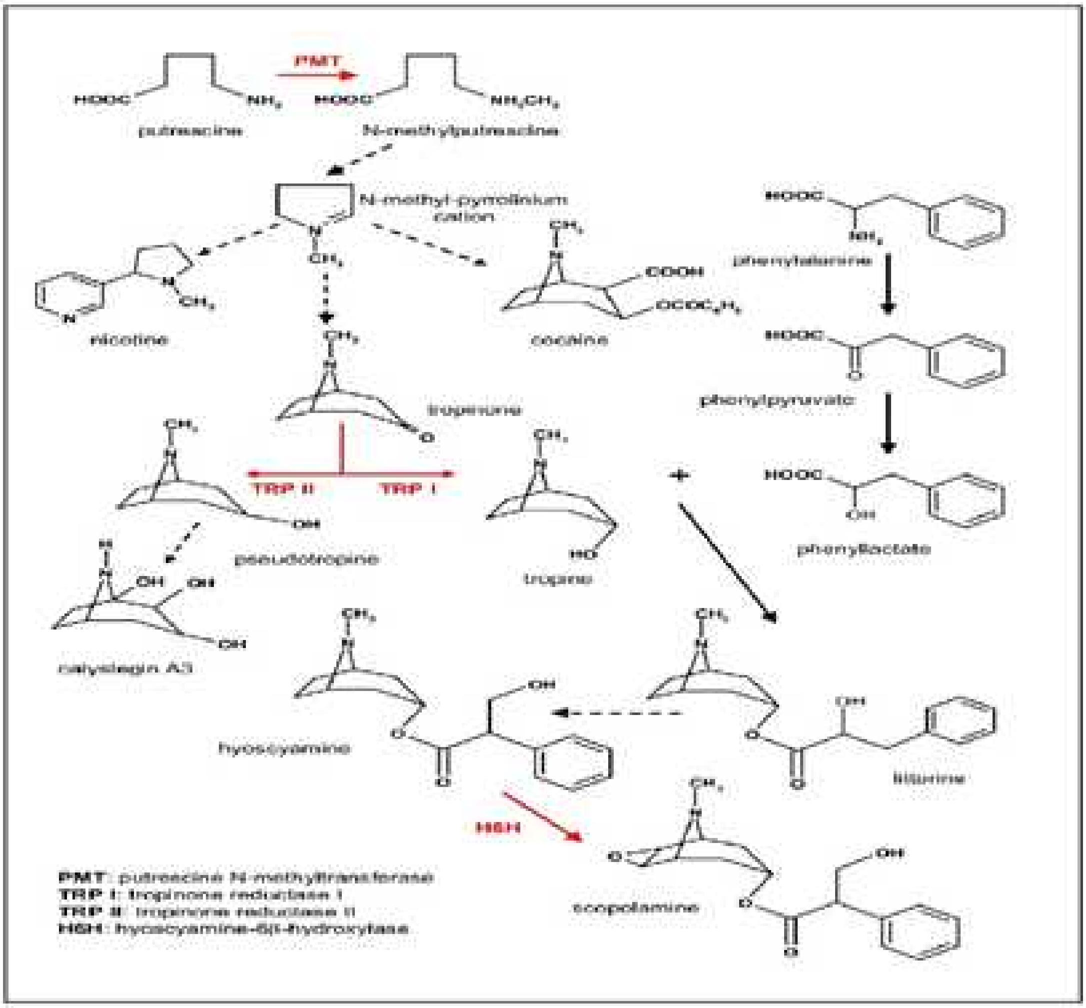
يعتبر الهيوسامين احد مكونات الايض الثانوي الموجودة في نبات الداتورة خاصة بالاوراق ويتصف بانه استر من حامض الاتروبيك مع ألاتروبين وهو كحول أميني ذو صيغة جزيئية $C_{17}H_{23}NO_3$ يستعمل في اضطرابات الجهاز الهضمي والقرحة والبنكرياس والتشنجات كما إنه يستعمل لمشاكل القلب و للسيطرة على اعراض مرض باركنسون (Carpa وأخرون ،2017). ان الموقع الرئيسي للتخليق الحيوي للقلويد هي الجذور وممكن ان تتراكم كمات كبرة من هذه المركبات في الاوراق، في الغالب يكون Hyoscyamine هو القلويد الأكثر وفرة في النباتات، بينما يتم إنتاج السكوبولامين بكميات أكبر فقط في Duboisia spp و Datura metel (Navasi واخرون،2019).

يعد السكوبولامين قلويد سام يوجد في أنواع العائلة الباذنجانية مثل نباتات الداتورة والبلادونا وغيرها له صيغة جزيئية هي $C_{17}H_{21}NO_4$، وهو مادة مهلوسة اذا تم أخذه بجرعات عالية وكبيرة نوعا ما لانها من الممكن أن تؤدي إلى غيبوبة أو موت الجسم، له خصائص علاجية في الجهاز الهضمي والجهاز العصبي المركزي وضيق التنفس ويدخل السكوبولامين في فئة الادوية المخدرة ومضادات القئ والجهاز الهضمي (Carpa وأخرون ، 2017).

2-2- مسار التخليق الحيوي للقلويدات في العائلة الباذنجانية

يبدأ مسار التخليق الحيوي لقلويدات الاتروبين (شكل 1) بحدوث نزع او حذف للمجموعة الكاربوكسيلية من خلال حذف ذرة كاربون من السلسلة الكاربونية من الاورنثين ليتكون البوتريسكين (Putrescine) الذي يمتاز برائحة نفاذة، يعاني البوتريسكين من الميثلة ليتكون مركب N-methylputrescine وبعدها يتم نزع مجموعة الامين المؤكسد بوجود جزيئة الماء ليتكون مركب وسطي يسمى بيروليدين (Pyrrolidine) الذي ينتج الحلقة الاساسية لقلويدات الاتروبان وهو مركب ذو حلقتين تكونتا عند اندماج المكون الاساسي لل Pyrlolidine

وبعد سلسلة تفاعلات كيموحيوية لينتج مركب تروبينون (Tropinone) الذي يتحول إلى قلويد الاتروبين (Tropine) والاخير يتحول إلى قلويد الهيوسامين، وهناك طريق أخر لتخليق الهيوسامين اذ يبدأ من الحامض الاميني فنيل الانين (phenylalanine) الذي يتحول الى خلات الفنيل ثم إلى حامض Tropic وعند استرة حامض Tropic مع الاتروبين تعطي مركب الهيوسامين بمساعدة الانزيم Arginine de- carboxylase (Qiu واخرون 2021).



شكل 1: التخليق الحيوي للقلويدات في العائلة الباذنجانية (Palazón واخرون، 2008)

3-2- تشخيص الجينات المسؤولة عن بناء الانزيمات

اشارت عدة دراسات لدور الجينات بالتحكم بتخليق وتراكم القلويدات في نباتات الداتورة، فقد سجلت عدة جينات على انها المسؤولة على زيادة تخليق قلويدات الاتروبين والهيوسامين والسكوبولامين، فتعد جينات putrescine N-methyl transferase (PMT) و Hyoscyamine 6b-hydroxylase (H6H) و Tropinone reductase (TR) على انها اكثر الجينات تحكما في تخليق القلويدات في الداتورة (Velázquez-Márquez واخرون،2021). بين Cinelli واخرون (2021) عن وجود مسارين رئيسين للتخليق الحيوي للقلويدات المرتبط بالجينات، تتضمن الخطوة الاولى التحفيز عن طريق انزيم putrescine N-methyl transferase والمسؤول عن تخليقه جين PMT اذ يعمل هذا الانزيم على ميثلة Putrescine ومن ثم الى Tropinone ، لذا يعد هذا الجين بمثابة المفتاح بتخليق القلويدات، ومن ثم يبدأ دور الانزيم Tropinone reductase والمسؤول عن تخليقه جين TR اذ يعمل هذا الانزيم على نزع ذرة هيدروجين من Tropinone وبالتالي تخليق Tropine. اوضح Sharma واخرون (2021) عن دور انزيم Hyoscyamine 6b-hydroxylase، (H6H) والمسؤول عن تخليقه جين H6H، اذ يعمل هذا الانزيم على تحويل Hyoscyamine الى Scopolamine. بين(a) Schlesinger واخرون (2021) بعد دراستهم لـ 14 جين (ODC,PMT,MPO, PYKS, CYP82M3, TRI ArAT, PPAR, UGT1, LS, LM, HDH و H6H) يعزى انهم مسؤولين عن التخليق الحيوي للقلويدات في الداتورة، لوحظ زيادة تعبير جين TRI في الاوراق مقارنة بانخفاض تعبير جين PMT و H6H، بينما ازداد تعبير جين H6H في الجذور متفوقا على TRI وPMT، وبصورة عامة لوحظ انخفاض تعبير جين PMT بصورة كبيرة في الجذور والاوراق مقارنة بباقي الجينات. ذكر Moradi واخرون (2020) بعد دراسته لثلاثة انواع من الجينات PMT2 , PMT1, H6H في نبات الداتورة السترامونيوم ان التعبير الجيني للجين H6H اعلى من PMT1 و PMT2، ولاحظ كذلك وجود تعبير جيني لـ H6H في النظام الخضري والجذري بينما اقتصر تعبير جين PMT2 في النظام الجذري مع عدم وجود تعبير للجين PMT1 في النظامين. اوضح(b) Li واخرون (2020) بعد دراسته لجين H6H في نبات الداتورة انوكسيا، ان هذا الجين يزداد تعبيره في خلايا الجذر اكثر مما هي عليه في الاوراق، ولكن تراكمه في الجذور اقل بكثير مما هي عليه في الاوراق والبذور. اشار Kohnen واخرون (2019) ان التعبير الجيني لـ PMT و TR في الجذور اعلى من تعبير جين H6H، بينما تفوق جين H6H في التعبير في الاوراق.

2-3-1- Polymerase Chain Reaction (PCR) تفاعل البلمرة المتسلسل

تحدث عملية التضاعف بداخل النظام الحيوي للخلية في وقت الانقسام فقط، اذ تقوم بمضاعفة كمية الحامض النووي في الخلية بصورة سريعة وتلقائية مع وجود نظام لتصحيح الاخطاء خلال عملية النسخ، إذ تبلغ سرعة عمليتي النسخ و المضاعفة في داخل الخلية الحية حوالي 1000 قاعدة نيتروجينية في الثانية الواحدة (Subbotin، 2020). بعد التطور الكبير الحاصل في مجالات التكنولوجيا الحيوية ومجال التقانات الاحيائية، بحث العلماء في تقانات او طرق تقوم بمضاعفة كمية الـــحامض النووي بشكل كبير خارج الجسم الحي للخلية، فتوصل Mullis و Faloona (1987) الى اكتشاف تقانة PCR لتنشيط الخلية وزيادة قابليتها على التضاعف الجيني بعد اضافة عوامل نمو معينة (Growth factors)، هذه التقنية احدثت قفزة نوعية كبيرة بمجال التقانات الاحيائية، فيعرف تفاعل البلمرة المتسلسل على انه تقنية علمية في البيولوجيا الجزيئية تقوم بتضخيم نسخة واحدة أو عدة نسخ قطعة من الـ DNA عبر عدة تغييرات في حجمها خارج الجسم الحي ينتج عنها الالاف إلى ملايين النسخ من الحامض النووي ذو تسلسل معين يستفاد منها في الفحوصات والتجارب المختلفة (Sreejith واخرون،2019). مبدأ عمل PCR الاساسي بسيط هو تفاعل سلسلة واحدة و يستخدم جزيء الحامض النووي لإنتاج نسختين واربعة ثم ثمانية من النسخ وهكذا، يتم تحقيق التضاعف المستمر للحامض النووي DNA عن طريق بعض الانزيمات المعينة تعرف بأسم polymerases. يتم إنشاء نسخ الحمض النووي عن طريق اقتران النيوكليوتيدات بقواعد موجودة على كل خيط من جزيء الحمض النووي الأصلي. يحدث هذا الاقتران دائمًا في مجموعات محددة، وهذه النيوكلوتيدات بحاجة الى جزء من الحامض النووي المعروف باسم البادئ ، والتي توضع لبدأ البناء فضلا عن جزيء الحامض النووي لمدة أطول بمثابة قالب لبناء شريط جديد . فبوجود هذه المكونات الثلاثة ، سوف تبني الانزيمات نسخ من القوالب بالضبط (Kadri، 2019).

توجد هناك عدة مراحل مهمة واساسية لتقانة PCR تكون في كل دورة من دورات التضاعف متكررة و لمدة زمنية محددة وهي :-

المرحلة الاولى هي المسخ (Denaturation) أو فك الحلزنة وهي المرحلة الأساسية في تحضير DNA القالب ذو السلسلة المزدوجة (dsDNA) للعمليات اللاحقة وتتم بدرجة حرارة تقارب 95م° لمدة ثلاث دقائق لتساعد هذه الحرارة على فك ارتباط شريطي الـ DNA وفصلهما الى شريطين وذلك بتكسير الأواصر الهيدروجينية التي تربط بينهما والحصول على DNA

مفرد السلسلة ويعمل كقالب لبناء تلك القطعة المكملة لها (Dronina واخرون،2020). اما المرحلة الثانية هي مرحلة التحام البادئ (Primer Annealing) تتم هذه المرحلة بدرجة حرارة تتراوح بين 55-65 مْ و لمدة دقيقة واحدة او اقل وللعديد من الدورات، ويعتمد تحديد درجة الحرارة وطول المدة الزمنية على عدة عوامل منها طول البادئ وتركيزه ونسبة احتواءه على قواعد السايتوسين والكوانين، بهذه المرحلة يتم ارتباط البادئ بتتابع معين من سلسلة الـ DNA المفردة و المقابلة لها من حيث ملائمة القواعد للبادئ ويتم الارتباط وذلك ببناء الاواصر الهيدروجينية بين نيوكلوتيدات البادئ و سلسلة الهدف (Green و Sambrook، 2021). ويمكن حساب درجة الحرارة اللازمة لمرحلة الالتحام بواسطة عمليات حسابية، لتلائم طول البادئ وذلك بمعرفة الـدرجــة الحراريـــة المحددة لتفـكك 50%منه وهذه تسـمى درجة حـرارة الالــتحام (Tm) Temperature Melting ، وفقاً للمعادلة التالية (Wu واخرون ، 2019):

حرارة الالتحام (Tm) = {(2 × عدد قواعد (A+T)} + {عدد قواعد (G+C) × 4}

(Tm) Melting Temperature

(A) Adenine

(T) Thymine

(G) Guanine

(C) Cytosine

في هذه المرحلة يتم تبريد المزيج للدرجة الحرارية اللازمة الخاصة بالبادئات للسماح لها بالتعرف على التتابع النيوكلوتيدي على سلاسل DNA المفردة والالتحام بها بوساطة تكوين روابط هيدروجينية مع اطراف خيطي الـ DNA المراد تضخيمه (الخفاجي وابو المعالي ، 2013). والمرحلة الثالثة هي مرحلة الاستطالة (Extenstion)، اذ تتم بدرجة حرارة 72م° و لمدة 1-4 دقيقة، وغالبا ما تختلف الفترة اللازمة باختلاف نوع المعلمات المستخدمة، فانزيم البلمرة (Taq DNA polymerase) له القدرة على بناء 35-100 نيوكلوتيدة في الثانية، ويعمل على بناء شريطين جديدين للحامض النووي DNA معتمداً على الشريط القالب و ذلك بارتباط النيوكلوتيدات الى سلسلة الهدف وتركيب السلسلة المكملة مبتدأ من الطرف 3 باتجاه الطرف الآخر 5. هذه الاشرطة تستخدم كقوالب أيضاً لبناء اشرطة جديدة وهكذا وذلك بالاعتماد على

عدد الدورات المعتمدة على تركيز الـــ DNA المستهدف وطول البادئ والزمن ايضا(الكبيسي ، 2019).

2-3-1-1- المكونات الأساسية لتفاعل PCR

2-3-1-1-1 انزيم DNA Polymerase

يعد إنزيم بلمرة الـ DNA احد المكونات الأساسية في تفاعلات تقنية PCR، هذه التفاعلات تعتمد على قابلية هذا الإنزيم على البناء ومضاعفة تتابعات محددة من DNA القالب المتممة لتتابعات البادئ، لقد حظي انزيم البلمرة باهتمام الكثير من الباحثين والمختصين وقد تم العمل على تطوير نوعيته وكفاءته (Ghannam واخرون،2018). سابقا كان يستعمل Klenow fragment كانزيم بلمرة والذي استخلص من بكتريا القولون E.coli لكنه يفقد القدرة على البناء عند تعرضه الى الحرارة العالية اللازمة لنسخ خيوط DNA القالب والتي تصل لـــدرجة 90م° مما يسبب توقف عمله (Zhou واخرون،2019) ، مما جعل الباحثون يتجهون إلى البحث واستنباط انواع جديدة تحل محله، الى أن قامت مجموعة بقيادة Saiki في عام 1988 والعديد من العلماء باستنباط انزيم بلمرة جديد يسمى Taq DNA polymerase ثابت حراريا ومعزول من بكتيريا محبة للحرارة تعرف باسم Thermos aquaticus والتي تعيش في الينابيع الحارة والبراكين، اذ ان لهذا الانزيم القدرة على العمل بدرجة حرارية عالية تصل لـ 95م° ولعدة دورات دون تلف، بالإضافة لبناء قطع أطول من الانزيم السابق، وله نشاط خاص في عملية البناء اذ يكون بين 35 – 100 نيوكليوتيدة في الثانية الواحدة لكل جزينة إنزيم و يضيف القواعد عند النهاية الثالثة ($\bar{3}$-OH). جزيئة هذا الانزيم تتألف من سلسلة مفردة من الببتيدات المتعددة وزنها الجزيئي تقريبا 95 كيلو دالتون، الوحدة الانزيمية الواحدة تعرف بانها كمية الانزيم المستخدمة لبناء 10 نانوغرام من التركيز الكلي للنيوكلوتيدات المفسفرة في الخليط التفاعلي وتحويلها لحامض DNA القابل للترسيب خلال مدة 30 دقيقة وبحرارة تقدر75م° تحت ظروف التفاعل المستخدمة ، وللـ Taq polymerase مميزات هامة منها فعاليته كأنزيم ذا نشاط خارجي exonuclease activity والقدرة على ربط القواعد النتروجينية المحورة و الموجودة ضمن محلول التفاعل (الكبيسي ، 2019).

2-3-1-1-2 المحلول المنظم PCR buffer

يعرف بانه المحلول الذي يحافظ على قيمة الرقم الهيدروجيني من التغيرات عند إضافة حامض أوقاعدة إليه أوعند تخفيفه، إذ يقوم محلول البفر بتنظيم عــمل إنزيم البـلمرة اضافة الى

المحافظة على نشاط الانزيم (زكريا، 2011). يحوي هذا المحلول على ايونات Mg^{+2} الذي يعمل كمرافق انزيمي لانزيم Taq polymerase كما يكوّن معقداً مع القواعد النتروجينية ليسهل التعرف عليها من قبل الانزيم (Shin واخرون،2021). المحاليل المنظمة تختلف من حيث تراكيز المكونات ورقمها الهيدروجيني وتركيز الاملاح، اما القياسية فتحتوي على المكونات الرئيسة ككلوريد المغنيسيوم $MgCl_2$ و كلوريدالبوتاسيوم KCl و Tris-HCl برقم هيدروجيني قدره 8.3 (Huang واخرون،2019). هذا المحلول يقوم بتوفير الايونات اللازمة اثناء التفاعل ومنها الاملاح فتركيز الاخير يؤثر على درجة حرارة التفكك لـ DNA وقابلية الالتحام لبوادئ DNA القالب، وطول كل دورة وعدد الدورات الحرارية المستخدمة (Panda واخرون،2018).

3-1-1-3-2 البادئ Primer

البوادئ وهي عبارة عن قطع صغيرة من شريط مفرد طوله محدد بالنيوكلوتيدات و طولها يتراوح مابين 18_30 bp (Elkins ،2022) إذ تكون ذا تتابع مكمل لقطعة الـDNA للعمل عليها ومضاعفتها، يمثل نقطة بداية للشروع في عملية بناء الـ DNA ضمن عملية المضاعفة DNA replication باستخدام DNA polymerases لاضافة نيوكلوتيدات الى شريط DNA (Shakeel واخرون،2018)، عملية التضاعف تبدا من النهاية $\bar{3}$ للبادئ اذ تحتوي على مجموعة OH اللازمة لبدأ عمل انزيم بلمرة DNA، يتم تصميم البوادئ بتتابعات عشوائية وبامكانها الارتباط بقطعة DNA تكون مكملة لها او تصمم لجين محدد وهي ترتبط بمواقع متخصصة او شبه متخصصة لهذا الجين وحسب نوع التفاعل ومعرفة التتابع للقواعد (الكبيسي، 2019). اذ تصمم على أساس عدم تكامل التتابعات فيما بينها او مع تتابع بادئ ثان لتفادي حدوث ظواهر معينة مثل أزدواج البادئ dimmer–primer، ويجب ان تكون البوادئ ذات محتوى مناسب من القاعدتين (G+C) والتي عادةً ما تتراوح من 50-60% لتمنح خصائص القوة والثبات لمناطق الارتباط (Hossain واخرون،2019). في حالة البادئات العشوائية Universal Primers يتكون البادئ من قطعة واحدة فهو يعمل على جميع انواع DNA، اما في حالة البادئات المتخصصة يكون عبارة عن قطعتين احداهما تسمى بادئ امامي (forward primer) والأخر يسمى بادئ عكسي (reverse primer) حيث يكون قطعة لكل من شريطي الـ DNA ، للبادئات أهمية كبيرة في تحديد درجات الحرارة اللازمة لتثبيتها أثناء مرحلة الالتحام تبعاً لعدد القواعد النيتروجينية المحتوية عليها (Guo واخرون،2020). لاختيار البادئ المناسب يجب معرفة التتابع للقواعد النيتروجينية في المناطق المحيطة للمنطقة المراد

مضاعفتها، اضافة الى النهاية الثانية للجزء المطلوب مضاعفته تحتاج لبادئ اخر، اذ يتركز التضاعف في المنطقة من جزئي DNA الواقعة بين بادئين حيث ان PCR يضاعف قطعة من DNA يقع بين منطقتين يكون تتابع قواعدها النيتروجينية معروف (Karunanathie واخرون،2022).

ومن متطلبات المهمة الاخرى في تفاعل الـ PCR هو الماء المقطر لمزج المكونات الاساسية للتفاعل مع بعضها وللوصول الى الحجم والتراكيز المحددة للتفاعل، وكذلك DNA القالب الذي يمثل DNA المستعمل بالدراسة والذي بالامكان الحصول عليه من مصادر عدة كالمكتبات الجينية اومن خلايا وانسجة النباتات المختلفة، مع المحافظة على الطريقة المناسبة للاستخلاص لكل نوع للمحافظة على DNA من تأثير الاكسدة او التلوث. (الكبيسي ،2019)

2-3-2- تقانة Quantitative reverse transcription PCR (RT qPCR)

لتقدير مستويات التعبير الجيني تم استعمال العديد من التقنيات، ومن أهمهاهي تقنية quantitative reverse transcription PCR (RT qPCR) وتعد الافضل في تقدير التعبير الجيني لتضخيمها اعداد قد تصل الى الاف الجينات من عدد صغير من العينات وسرعتها وفعاليتها العالية وقلة التكلفة واجرائها بشكل فوري وتوفير قياس ناتج التفاعل في كل دورة مع حساب عدد نسخ mRNA لمعرفة معدل التعبير الجيني لعدة عينات، كذلك تحتاج من الحامض النووي RNA الى كمية قليلة وتتفاعل مع أنزيم الاستنساخ الرجعي وذلك لتحويله إلى cDNA وبعدها يتم تضخيمه (Lin واخرون،2019). ان تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل اللحظي تعتمد على استعمال PCR لمعرفة تشخيص وتضخيم وتحديد الكميات لقطعة الهدف لتتابع معين في العينة بالوقت نفسه، اذ ان تحديد الكمية يقسم الى نوعين، الاول يطلق عليه بالكمية المطلقة (Absolute Quantification) وتعتمد على معرفة عدد النسخ، والثاني يسمى بالكميـة النسبيـة(Relative Quantification).

يتم التشخيص لنواتج qPCR بطريقتين كالاتي:

الطريقة الاولى: وهي الطريقة التي يستعمل بها صبغات متفلورة (Fluorescent dyes) تكون غير متخصصة التسلسل اذ تخترق الازواج القاعدية اي تعني انها تدخل في الاشرطة المزدوجة لـ DNA مثل الصبغة الخضراء (SYBR Green dye)، وهي من اكثر الصبغات استعمالا نظرا لقلة التكلفة وسهولة الاستخدام وترتبط بجميع نواتج تفاعل الـ PCR مما

بسبب تألقها فور ارتباطها فتتداخل في الناتج متأثرة بتحليل البيانات وكذلك التشخيص الدقيق لتسلسل قطعة الهدف (Luo واخرون،2018) .

الطريقة الثانية : هي طريقة استعمال المجس (Probe Primer) يكون متخصص التسلسل و يحتوي على نيوكلوتيدات (oligonucleotides)، وعند ارتباط cDNA الهدف مع المجس فانه سيتألق مثل صبغة Taq man dye (Muzhinji واخرون،2020)، وهي الصبغة التي تتخصص لتسلسل معين و من خلال المجس تبعث اشارة تألق (Dhanasekaran واخرون،2010) .

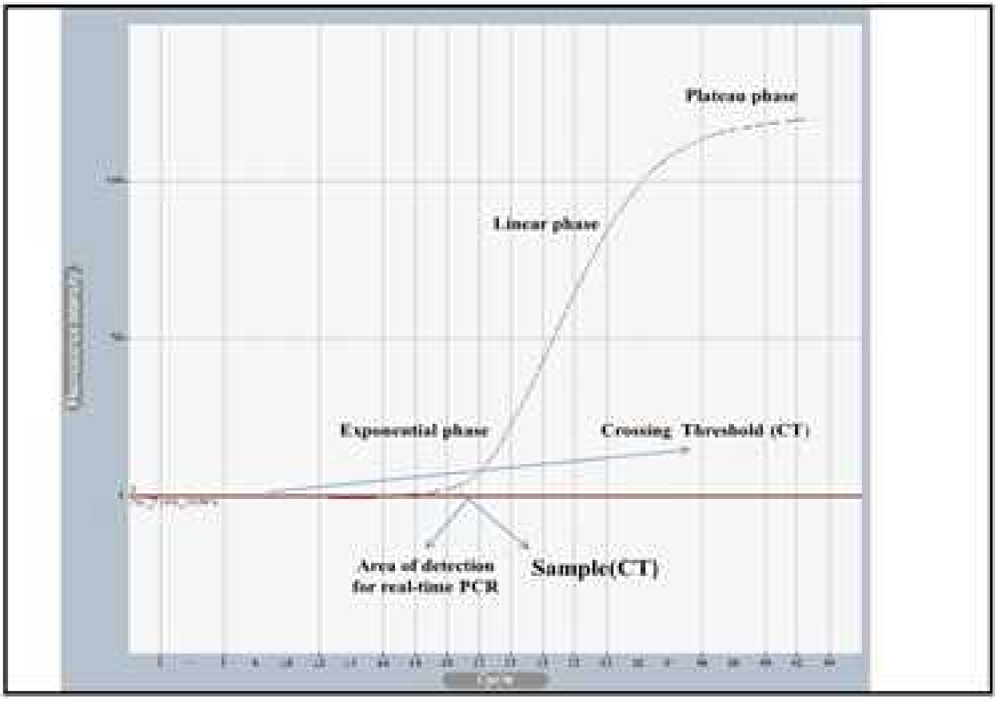
2-3-2- 1- تحليل بيانات التفاعل اللحظي الكمي-النسخ الرجعي (RT-qPCR)

يتم تحليل بيانات نواتج RT-qPCR بعدة طرق، منها تحليل الكميات المطلقة (Absolute Quantification, AQ) وهو من اهم التحاليل الذي يستخدم للتعرف على وجود تسلسل DNA الهدف، او تحلل البيانات بطريقة الكميات النسبية (Relative Quantification, RQ) التي تستعمل للدلالة على وجود تسلسل DNA الهدف وكذلك اجراء مقارنة العينات فيما بينها من دون معرفة العدد او التركيز الحقيقي لـ DNA الهدف.

تعد طـريـقة $2^{-\Delta\Delta CT}$ وتسمى ايضا Relative expression الاكثر استعمالا لتحديد الكميات النسبية (Livak و Schmittgen، 2001)، فهي تحتوي على جينات عند مستويات ثابتة يتم التعبير عنها بالعينات فمثلا جينات السيطـرة الداخلية تعد عنصر التحكم بالجينات (endogenous control) فهي تستخدم لتصحيح الاختلاف بتركيز العينة مع تهيئة الظروف المناسبة للتفاعل، ومن خلال هذا التفاعل يتم تحديد عتبة العبورCycle threshold (CT) في اقرب وقت ممكن او اقرب تقدير للدورة، اذ ان الـ CTهو عدد الدورات المطلوبة بكل تفاعل للوصول للناتج المطلوب للتألق، لمعرفة قيمة التعبير الجيني يتم تحديد قيم الـ CT للتفاعل اذ يستعمل لدراسة مستوى التعبير النسبي بالمقارنة بين CT لجين الهدف وجين المراقبة.

يتم تفاعل qPCR بثلاث مراحل رئيسية (VanGuilder واخرون،2008)، المرحلة الاولى تتمثل بالمرحلة الاسية (Exponential phase) والتي فيها تبدأ كمية ناتج التفاعل فيها بالتضاعف بكل الدورات تقريبا اذ يكون التفاعل متخصص بدقة عالية وكفاءة التفاعل تكون نسبيا اقرب لـ 100 % ، في بداية هذه المرحلة توجد هناك صعوبة في الكشف عن النتائج لحظيا بسبب تألق الصبغة الموجودة لان الناتج يكون قليلاً خلالها . والمرحلة الثانية هي الخطية (Linear phase) اذ تستمر النواتج بالتراكم او التجمع ولكن الناتج او كفاءة التفاعل يبدأ

بالانخفاض بهذه المرحلة . اما مرحلة القمة (Plateau phase) وهي المرحلة الاخيرة فيها يتوقف التفاعل ولاسباب عديدة يتحلل ناتج التفاعل . الشكل (2).



شكل (2) مراحل تفاعل qPCR

يجب اختيار جينات السيطرة الداخلية بدقة لتجنب الاخطاء بالتجربة لضمان الاستثمار الامثل لتقنية (RT-qPCR) ، يتم استخدام جينات مرجعية (Reference genes) اثناء التطبيع وهي جينات ضرورية يحتاجها الكائن الحي وذلك للحفاظ على الوظائف الخلوية الاساسية وكذلك حماية الخلايا من التدهور والموت، هذه الجينات تعبر في الظروف الطبيعية وبمستويات مستقرة وهي تختلف باختلاف الظروف التجريبية المعرضة لها، يجب ان تكون الجينات المرجعية متشابهة لجميع جينات المستخدمة للدراسة وتكون خاضعة لجميع خطوات وظروف تفاعلات qPCR وتكون مقاومة لظروف التجربة (Bustin واخرون،2020).

2-4- تاثير الفسفور في النبات

يعد الفسفور عنصر أساسي في النبات، وهو عنصر متحرك داخل النبات. يمتص النبات عنصر الفسفور بصورة أيونات الفوسفات فقط، وتوجد بإحدى الصور الاتية : PO_4^{-3} , HPO_4^{-2} ، $(H_2PO_4)^{-1}$)، تواجده بصورة H_2PO_4 تعتبر هي أكثر الصور امتصاصاً، بسبب ذوبانيتها.

ويوجد الفسفور في التربة بصورتيه العضوية وغير العضوية، من صوره العضوية هي الأحماض النووية ، والفوسفوليبيدات والـ inositol phosphates، ويعتبر الفسفور العضوي غير ميسر للنبات بسبب عدم قابليته للامتصاص ولكنه يتحلل في النهاية إلى صورته غير العضوية . يدخل الفسفور في تركيب الأحماض النووية وفي تركيب الـADP و الـ ATP المهمة في نقل الطاقة ، ويضاف له اهمية دخوله في مرافقات الإنزيمات NADP وNAD المهمة في تفاعلات عمليتي الأكسدة والاختزال والتي يعتمد عليها النبات في التفاعلات الحيوية الهامة في التنفس وفي التمثيل الضوئي، ودخوله كمكون اساسي في الـ Phospholipids التي تشكل مع البروتين جزءاً هاماً من الأغشية الخلوية (Basheer،2018). يوجد الفسفور بتراكيز عالية في المناطق المرستيمية التي يكون فيها النمو نشيطاً، ويشترك في تمثيل البروتينات النووية ، كما يبكر في النضج وبذلك فهو يسبب تأثير مضاد للتأثير الضار الناتج عن زيادة النتروجين و الذي يؤدي إلى اتجاه نمو النبات نحو النمو الخضري ، الفسفور يشجع على نمو الجذور، خصوصا العرضية والليفية ، ويلعب دوراً هاماً في زيادة حيوية وجودة البذور (أبو ضاحي واليونس، 1988).

1-4-2- تاثيرالفسفور في صفات النمو الخضري للنبات

بينت عدة دراسات قدرة السماد الفوسفاتي في تغيير بيئة الجذور وبالتالي يحسن من تجهيز العناصر والمركبات الضرورية لنمو وتشكل اعضاء النبات، بينت نتائج Nasir (2009) بعد تطبيقه تجربة حقلية على نباتات الداتورة تضمنت استعمال ثلاثة مستويات من الفسفور 50 و 100 و 150 كغم هـ$^{-1}$ مع معاملة مقارنة (بدون اضافة)، إن التسميد بالفسفور سبب زيادة معنوية في إرتفاع النبات وعدد الاوراق في النبات وعدد الافرع والمساحة الورقية ومحتوى الكلوروفيل، اذ اعطت المعاملة 150 كغم هـ$^{-1}$ اعلى متوسط بلغ 72.34سم و 82.56 ورقة نبات$^{-1}$ و 1965.36 سم^{2} و 22 مايكروغرام سم$^{-1}$ ، بالتتابع، متفوقة على معاملة المقارنة التي اعطت اقل المتوسطات. و ذكر Nasir و Khan (2012) بعد تطبيقهما تجربة اصص على نبات الوذانيا (اشواجندا) تضمنت استعمال ثلاث مستويات من الفسفور :13 و 26 و 40 ملغم P كغم$^{-1}$ تربة، مع معاملة مقارنة (بدون اضافة)، ان معاملات الفسفور سببت زيادة معنوية في ارتفاع النبات والمساحة الورقية ومحتوى الكلوروفيل (42.35 ، 46.75، 41.17) سم و (888.0 ،

1099.0 ، 858.6) سم^{2} و (1.987، 2.033 ، 1.971) ملغم . غم$^{-1}$ تربة ، على التتابع، مقارنة مع معاملة عدم الاضافة التي اعطت متوسطات بلغت 36.30 سم و 814.4 سم^{2} و 1.882 ملغم غم$^{-1}$ تربة . ذكر Manohar واخرون (2012) بعد تطبيقهم تجربة حقلية على نبات البلادونا (Atropa belladonna) تضمنت استعمال مستويين من السماد الفوسفاتي: 20 و 40 كغم هـ$^{-1}$ مع معاملة مقارنة (بلا اضافة)، ان معاملتي السماد الفوسفاتي سببتا زيادة معنوية في ارتفاع النبات و عدد الافرع في النبات والمساحة الورقية و محتوى الكلوروفيل، اذ اعطتا متوسطات بلغت (63.87 و69.87)سم و(12.96 و 14.04) فرع نبات $^{-1}$ و(200.25 و 268.86) سم^{2} و(1.612 و1.850) ملغم غم$^{-1}$ بالتتابع ، مقارنة مع معاملة عدم الاضافة التي اعطت متوسطات بلغت 43.67 سم و 9.70 و 154.41 سم^{2} و 1.188 ملغم غم$^{-1}$ بالتتابع. اشارت نتائج Tuwei (2013) بعد تطبيقه تجربة حقلية على نبات الوذانيا (Withania somnifera) ، ان اضافة سماد الفسفور بمستويات 20 و 40 و 60 كغم هـ$^{-1}$ سبب زيادة معنوية في ارتفاع النبات والمساحة الورقية وعدد الاوراق وعدد الفروع بلغت(38.8 و48.5 و46.7) سم و (15.4 و 21.3 و 25.8) سم^{2} و (119 و129 و 154) ورقة نبات$^{-1}$ و (7 و 8 و 8) فرع نبات$^{-1}$، بالتتابع ، مقارنة مع معاملة عدم الاضافة التي اعطت متوسطات بلغت 31.4 سم و 11.5 سم^{2} و 103 فرع نبات $^{-1}$ 5ورقة نبات$^{-1}$ بالتتابع. توصل Bozhinova (2016) بعد تطبيقه تجربة حقلية على نبات التبغ، ان اضافة السماد الفوسفاتي بمستويين 75 و 225 كغم P_2O_5 هـ$^{-1}$ سبب زيادة معنوية في ارتفاع النبات وعدد الاوراق بمتوسطين بلغا (96.4 و 97.9) سم و(28.2 و 28.5) ورقة نبات$^{-1}$ مقارنة مع معاملة عدم الاضافة التي بلغت 88.1 سم و 27.7 ورقة نبات$^{-1}$. ذكر Basha واخرون (2020) بعد تطبيقهم تجربة حقلية على نبات التبغ، ان اضافة السماد الفوسفاتي 70 كغمP_2O_5 هـ$^{-1}$ سبب زيادة معنوية في ارتفاع النبات بمتوسط بلغ 74.4 سم مقارنة بمعاملة عدم اضافة الفسفور التي بلغت 70.7 سم.

2-4-2- تأثير الفسفور في صفات حاصل النبات

بينت نتائج الدراسات دور الفسفور بتحسين الحاصل ومكوناته في العائلة الباذنجانية، بينت نتائج Nasir (2009) بعد تطبيقه تجربة حقلية على نباتات الداتورة تضمنت استعمال ثلاث مستويات من الفسفور 50 و 100 و150 كغم هـ$^{-1}$ مع معاملة مقارنة (بدون اضافة)، ان التسميد بالفسفور سبب زيادة معنوية في حاصل الاوراق و عدد الثمار في النبات وعدد البذور في الثمرة و وزن 1000 بذرة وحاصل البذور في النبات وحاصل البذور الكلي اذ اعطت المعاملة 100 كغم هـ$^{-1}$ اعلى المتوسطات بلغت 724.27 كغم هـ$^{-1}$ و 18.38 ثمرة نبات$^{-1}$ و 178.28

بذرة ثمرة⁻¹ و 5.19 غم و 22.46 غم و 463.87 كغم هـ⁻¹ بالتتابع، متفوقة على معاملة المقارنة التي اعطت اقل المتوسطات. اشارت نتائج Manohar واخرون (2012) بعد تطبيقهم تجربة حقلية على نبات البلادونا تضمنت استعمال مستويين من السماد الفوسفاتي: 20 و 40 كغم هـ⁻¹ مع معاملة مقارنة (بلا اضافة)، ان معاملتي السماد الفوسفاتي سببتا زيادة معنوية في حاصل البذور اذ اعطتا متوسطين بلغا 71.9 و 81.9 كغم هـ⁻¹ مقارنة بمعاملة عدم الاضافة اذ بلغ 51.3 كغم هـ⁻¹. اذ ذكر Bozhinova (2016)عند تطبيقه تجربة حقلية على نبات التبغ باستعمال مستويين من السماد الفوسفاتي 75 و 225 كغم هـ⁻¹ اذ سببتا زيادة معنوية في حاصل البذور اذ اعطتا متوسطين بلغت 1635 و 1692 كغم هـ⁻¹ مقارنة مع معاملة عدم الاضافة اذ بلغ 1460 كغم هـ⁻¹ .

2-4-3- تاثير الفسفور في الصفات النوعية للنبات

يمتلك نبات الداتورة العديد من المركبات والعناصر في اوراقه وسيقانه وبذوره، اظهرت نتائج Nasier (2009) بعد تطبيقه تجربة حقلية على نباتات الداتورة تضمنت استعمال ثلاث مستويات من الفسفور 50 و 100 و150 كغم هـ⁻¹ مع معاملة مقارنة (بدون اضافة)، ان التسميد بالفسفور سبب زيادة معنوية في النسبة المئوية للنتروجين والفسفور والبوتاسيوم والقلويدات في الاوراق والنسبة المئوية للقلويدات في البذور وتركيز Atropine و Hyosamine و Scoplamine في الاوراق وتركيز Atropine و Hyosamine و Scoplamine في البذور اذ اعطت المعاملة 100 كغم هـ⁻¹ اعلى المتوسطات بلغت 3.21% و 0.52% و1.45% و5.43% و 6.75% و 40.65 ملغم كغم⁻¹ و 112.65 ملغم كغم⁻¹ و 71.57 ملغم كغم⁻¹ و43.67 ملغم كغم⁻¹ و 112.28 ملغم كغم⁻¹ و 142.76 ملغم كغم⁻¹ ،بالتتابع، متفوقة على معاملة المقارنة التي اعطت اقل المتوسطات. بينت دراسة اجراها Kuganathan و Ganeshalingam (2011) ان نبات الداتورة يحوي تراكيز عالية من الكالسيوم والمغنيسيوم والفسفور وكذلك مجموعات عضوية كالقلويدات والفلافونيدات و والصابونين والستروريدات ، بينت نتائج Wei واخرون (2020) في دراسة مختبرية اجراها على نبات العوسج (Lycium shawii) تضمنت تطبيق ثلاث معاملات من اضافة الفسفور: 32.5 و 65 و 97.5 غم P نبات⁻¹، ان زيادة مستويات الفسفور سبب زيادة معنوية في نسبة القلويدات الكلية، من خلال تاثيره على مجموعة القلويدات الامينية ومجموعة قلويدات الاتروبين. اشار Helaly و EL- Bauome (2020) بعد تطبيقهما تجربة حقلية على نبات الفلفل الحار تضمنت استعمال 4 مستويات من الفسفور: 0 و 16 و 32 و 48 كغم P_2O_5 هـ⁻¹، ان السماد الفوسفاتي سبب

زيادة معنوية في محتوى الكلوروفيل و النسبة المئوية للنتروجين و الفسفور والبوتاسيوم في الاوراق، اذ اعطت المعاملة 48 كغم P_2O_5 هـ$^{-1}$ اعلى متوسطات بلغت 47.48 سباد و 1.741% و 0.682% و 2.666% على التتابع، متفوقة على معاملة المقارنة التي اعطت اقل المتوسطات .

2-5- تاثير التسميد بالمغنيسيوم في النبات

يعد المغنيسيوم واحد من مكونات الكلوروفيل في النباتات اذ لا يمكن لأي عنصر اخر أن يحل محل المغنيسيوم في جزيئة الكلوروفيل ، بالرغم من ان نسبته الضئيلة في الكلوروفيل إلا أن له دور رئيسي في تركيب هذه المادة كونها اساسية في عملية التركيب الضوئي، عرف وعد المغنيسيوم أيون تبادل إشارات مهم جدا ، اذ يعمل على تنشيط بعض التفاعلات الكيميائية الحيوية و التوسط فيها، اذ ان تنظيم تثبيت الكربون في البلاستيدات الخضراء في دورة كالفين لعله يكون افضل مثال لذلك (Gokul واخرون 2021)، المغنيسيوم عنصر مهم في العمليات الأيضية لـ ATP، وهو ضروري لتنشيط العديد من الأنزيمات التي تشكل محفزات عضوية في العملية الأيضية للفسفور (Kınay و 2021,Erdem). يمتلك المغنيسيوم خصائص مهمة تحقق مساعدة النبات في عمليات النمو المختلفة كالنمو الجذري والخضري وزيادة حجم الثمار بالإضافة لدوره الفعال في وتكوين الخلايا وكذلك قدرته على بناء جذور قوية وسيقان صلبة، فبكتات المغنيسيوم تشترك مع بكتات الكالسيوم في امكانية لصق ألياف السليلوز عند بناء جدران الخلايا، لذا فهو ضروري جدا في عملية انقسام الخلايا النباتية (Jin واخرون،2021).

2-5-1- تاثير المغنيسيوم في صفات النمو الخضري للنبات.

بينت عدة دراسات دور المغنسيوم في تحسين صفات النمو الخضري اذ ذكر Ilyas واخرون (2016) بعد تطبيقهم لتجربة حقلية على نبات الطماطم باستعمال ثلاث مستويات من المغنيسيوم 0.04% و 0.08% و 0.12% ، ان المعاملة ب 0.12% مغنيسيوم سبب زيادة معنوية في ارتفاع النبات وعدد الافرع وعدد الثمار بمتوسطات بلغت 72.98سم و7.94 فرع نبات$^{-1}$ و31.01 ثمرة نبات$^{-1}$ ، بالتتابع، مقارنة بمعاملة عدم الاضافة اذ اعطت 66.82 سم و6.30 فرع نبات$^{-1}$ و22.99 ثمرة نبات$^{-1}$، بالتتابع .توصل Harris واخرون (2018) بعد تطبيقهم تجربة حقلية على نبات الفلفل باستعمال ثلاث مستويات من المغنيسيوم: 50 و 100 و 150 ملغم لتر$^{-1}$، اذ سبب زيادة معنوية في عدد الافرع للنبات وعدد الاوراق وعدد الثمار اذ بلغ (15 و 16 و17) فرع نبات$^{-1}$ و(20 و 23 و 25) ورقة نبات$^{-1}$ و (17.0 و 18.3 و

21.0)ثمرة نبات-1 ، بالتتابع، بالمقارنة بمعاملة عدم الاضافة الت اعطت 10 فرع نبات-1 و15 ورقة نبات-1 و 7.0 ثمرة نبات-1،بالتتابع. وقد اشار Gokul واخرون (2019) بعد تطبيقهم لتجربة حقلية على نبات الفلفل الحار، ان التسميد بالمغنيسيوم 2% سبب زيادة معنوية في محتوى الكلوروفيل اذ اعطى متوسط بلغ 0.282 ملغم غم-1 مقارنة مع معاملة عدم اضافة التي اعطت متوسط بلغ 0.169 ملغم غم-1 .

2-5-2- تاثير المغنيسوم في صفات حاصل النبات

ان للمغنيسيوم دور مهم في تحسين الحاصل ومكوناته في نباتات العائلة الباذنجانية، اذ اشار Ilyas واخرون (2016) بعد تطبيقهم لتجربة حقلية على نبات الطماطم باستعمال ثلاث مستويات من المغنيسيوم: 0.04% و 0.08% و 0.12%، ان التسميد بالمغنيسيوم سبب زيادة معنوية في الحاصل بمتوسط بلغ 21.54 كغم هـ-1 بالاضافة الى معاملة عدم الاضافة التي اعطت متوسط 18.86كغم هـ-1. ذكر Gokul واخرون (2019) بعد تطبيقهم لتجربة حقلية على نبات الفلفل الحار ان التسميد بالمغنيسيوم سبب زيادة معنوية في حاصل الثمار ووزن 1000 بذرة وعدد البذور وعدد الثمار بالنبات اذ اعطى متوسطات بلغت 168.06 كغم .هـ-1 و 6.08 غم و 117.24 بذرة .ثمرة-1 و 89.36 ثمرة نبات-1، بالتتابع، مقارنة مع معاملة عدم الاضافة التي اعطت متوسطات 120.41 كغم .هـ-1 و4.46 غم و 81.54 بذرة . ثمرة-1 و 57.69 ثمرة نبات-1.

2-5-3- تاثير المغنيسيوم في الصفات النوعية للنبات

يلعب المغنيسيوم دورا مهما في تخليق عدد كبير من المركبات داخل النبات لاهميته في استقرارالحامض النووي الرايبوزي وكذلك مشاركته بتخليق البروتينات (Barroso واخرون،2021)، اوضح Andrzej واخرون (2002) بعد تطبيقهم لتجربة حقلية على نبات البطاطا ان الرش بالمغنيسيوم سبب زيادة معنوية قبل التزهير وبعد التزهير في زيادة نسبة القلويدات المئوية بمتوسطات بلغت 5.30% و 5.01 % بالتتابع مقارنة مع معاملة عدم الاضافة التي اعطت 2.82% و 3.40%، بالتتابع . بينت نتائج Kınay و Erdem (2021) بعد تطبيقهم تجربة حقلية على نبات التبغ، تضمنت تطبيق اربعة معاملات من اضافة المغنسيوم: 0 و 3 و6 و9 كغم دونم-1، ان المعاملة بالمغنيسيوم لم يكن لها تاثيرا معنويا في النسبة المئوية للنتروجين والفسفور، بينما سببت زيادة معنوية في النسبة المئوية للبوتاسيوم و القلويدات، اذ اعطت المعاملة 9 كغم دونم-1 اعلى متوسطات بلغت 3.52% و 4.28% على التتابع، متفوقة

على معاملة المقارنة التي اعطت اقل المتوسطات. اشارGokul واخرون (2021) بعد تطبيقهم تجربة حقلية على نبات الفلفل، ان الرش بالمغنسيوم بتركيز 2% في ثلاث مراحل 30 و 60 و 90 يوما من الزراعة، سبب زيادة معنوية في محتوى الاوراق من كلوروفيل a و كلوروفيل b و الكلوروفيل الكلي و النسبة المئوية للقلويد، اذ اعطت متوسطات بلغت 0.118 و 0.151 و 0.269 ملغم غم$^{-1}$ و 0.71% على التتابع، متفوقة على معاملة المقارنة التي اعطت اقل المتوسطات.

2-6- اهمية الاسمدة النانوية

تقنية النانو من اهم التقنيات المستعملة في مختلف المجالات والاختصاصات كالزراعة والطب والصناعة والصيدلة والنظم الغذائية وغيرها (Lowry واخرون، 2019) . يدرس علم النانو المواد على المقياس النانوي (10 - 9) من المتر (100-1 نانومتر) لانها تظهر خواص فيزيائية وكيميائية مختلفة، اذ تحدث بعض المواد تغيير في خواصها مثل المساحة السطحية وفي درجة الانصهار او الانجماد وبعض الخصائص الاخرى على المستوى النانوي بالمقارنة مع تجمع جزيئات على المستوى الاعلى منها (He واخرون، 2019) ، تلعب الأسمدة النانوية أدوارا مهمة فى تغذية النبات سواءا تم رشها على المجموع الخضرى أو تم اضافتها من خلال المعاملات الارضية مثل زيادة نشاط عمليات التخليق الضوئي، من خلال زيادة محتوى الاوراق من الكلوروفيل بالاضافة لزيادة قدرة المحاصيل على تحمل ظروف الإجهاد المختلفة و زيادة مقاومة المحاصيل للأمراض و المحافظة على الصفات الجينية المطلوبة للمحاصيل الزراعية المختلفة اضافة لزيادة المواد الفعالة في النبات (Guru وآخرون، 2015). كما تستخدم المواد النانوية لتغطية الاسمدة التقليدية لتسهيل امتصاصها وزيادة كفائتها أى أن استخدام المواد النانوية كبديل للأسمدة التقليدية أو كحوامل لمكوناتها له مميزات عديدة مثل زيادة القدرة على التحكم فى عملية التوجيه، وزيادة الإستجابة النباتية للاسمدة النانوية نظرا لسهولة دخولها الى النبات كما تعد الية مناسبة لنقل المركبات للاماكن المستهدفة في النبات سواء الاوراق او الجذور او الثمار وباقي الاجزاء النباتية الاخرى .لذا يمكن اعتبارها اداة مساعدة في حلول التحديات والمشاكل التي تواجه بعض المزارعين في ادارة تقنيات تلك المحاصيل الموجودة خلال الحصول على الانتاج العالي و التقليل من استعمال مختلف المواد الكيميائية. لوحظ ان لجزيئات السماد النانوي تاثير ايجابي في تطور و نمو النبات وان التداخل بين جسيمات النانو والخلية النباتية يقود الى تحسين او تنظيم التعبير الجيني والذي يؤدي الى نشوء مسارات ايضية او فسلجية (Usman واخرون، 2020)،اذ تؤدي الخصائص التي تنفرد بها الجسيمات

النانوية تعديل الخصائص الفيزيائية الكيميائية للخلايا النباتية وقد تعطي تأثيرا مختلفا في نمو وتطور النبات. ان الاستجابة للجسيمات النانوية المعدنية في النبات تختلف باختلاف المعدن ونوع النبات ومرحلة النمو.

تعني الـ Nanotechnology التحكم التام والدقيق في انتاج مادة ما وهذا التفاعل هو نوع يعرف بالتصنيع الجزيئي ووضع الذرات في المكان المناسب اثناء التفاعل، ان تقانة النانو لا تغير من الخواص المادة الكيميائية ولكنها تكسبها صفات طبيعية اسهل واسرع واقوى لم تكن موجودة فيها أي هو اعادة ترتيب هيكلة وجزيئات المادة على المستوى الذري او النانوي (Duhana وأخرون ، 2017 ; Ruttkay وأخرون 2017). قد يكون هناك تصورا ينبئ عن امكانية تغيير خصائص وصفات المادة والحصول على خواص متميزة تختلف عن الخواص الاصلية عن طريق اعادة ترتيب ذرات تلك المادة وهي لم تخضع للقوانين الفيزيائية الكلاسيكية، بسبب ابعادها الصغيرة ، بل قد تخضع لقوانين فيزياء الكم (White وأخرون ، 2013). حديثا عدت تقانة النانو كتقانة واعدة في تحسين مختلف العمليات الزراعية عن طريق تحسين إدارة وادامة المدخلات في الإنتاج الزراعي الحقلي وذلك لتقليل تكاليف المدخلات الزراعية من الاسمدة والمبيدات بالاضافة الى تجنب الآثار الجانبية بسبب تراكمها في التربة اضافة لصعوبة تحللها والحفاظ على البيئة، وسرعة التأثير والوصول الى الحالة التي لم تصل اليها الجزيئات العادية في الحالة غير النانوية (Khan وأخرون، 2017) . توفر تقانة النانو التغذية للنبات بشكل علمي ومن دون تلوث وهذا ما يسمى بنظام التوصيل الذكي، والذي يعني استهداف الأسمدة الى اماكن الاحتياج لها في التربة أو النبات (Nair وأخرون ،2010).

3- مواد وطرائق العمل

3-1- موقع التجربة وخصائص التربة

نُفذت تجربة حقلية اثناء الموسم الزراعي 2021 في احدى حقول التجارب التابعة لاعدادية ابن البيطار المهنية الواقعة في محافظة كربلاء في تربة مزيجة طينية بهدف دراسة تاثير التسميد الفوسفاتي والرش بالمغنيسيوم النانوي في عدد من الجينات المسؤولة عن التحكم في تخليق المادة الفعالة (القلويدات) وصفات نمو وحاصل الداتورة. قيست بعض الصفات الفيزيائية والكيميائية لتربة الحقل قبل الزراعة وفق الطرائق القياسية (Black و اخرون ،1967) بأخذ عينات وللعمق 0 - 30 سم في مختبرات مديرية زراعة كربلاء (جدول1).

جدول1: بعض الخصائص الفيزيائية والكيميائية لتربة الحقل وللعمق 0- 30 سم.

الخاصية		الوحدة	القيمة
الرمل		غم كغم$^{-1}$ تربة	300
الغرين		غم كغم$^{-1}$ تربة	320
الطين		غم كغم$^{-1}$ تربة	380
النسجة		مزيجة طينية	-
المادة العضوية		غم كغم$^{-1}$	1.345
الايونات الذائبة	NH_4^+	ملغم كغم$^{-1}$ تربة	16.9
	NO_3^-	ملغم كغم$^{-1}$ تربة	13.54
الفسفور الجاهز		ملغم كغم$^{-1}$	11.2
البوتاسيوم الجاهز		ملغم كغم$^{-1}$	28.27
المغنيسيوم الجاهز		ملغم كغم$^{-1}$	14.64
التوصيل الكهربائي (مستخلص عجينة التربة)		ديسيمنز م$^{-1}$	2.6
الأس الهايدروجيني		-	7.1

3-2- تحضير البذور

غسلت بذور الداتورة بالماء الجاري لمدة 24ساعة ومن ثم تنقيعها بالجبرلين (GA3) بتركيز 750 ملغم لتر$^{-1}$ و لمدة 12 ساعة لإزالة المواد المثبطة للإنبات كونها تعاني ضعف في الانبات وبنسب متفاوتة ودخولها مرحلة السبات (Mohammed و Al-naqeeb، 2020)، تم تحضير الجبرلين بإذابته بكحول اثيلي تركيز 50 % اذ وضع على الخلاط المغناطيسي الحراري لحين الذوبان التام وعلى درجة حرارة 75 م ثم اكمل الحجم الى 1 لتر. اذ زرعت بذور الداتورة D.Stramonium التي تم الحصول على بذورها من وحدة النباتات الطبية والعطرية - كلية علوم الهندسة الزراعية/ جامعة بغداد، في 20 اذار 2021 بأطباق بمعدل 4 بذور و من ثم تم شتلها بتربة الحقل عند مرحلة 2-3 ورقة في 9 نيسان 2021، تم الشتال على مروز بمسافة 75 سم بين مرز واخر و كانت المسافة بين الجور 60 سم، عشبت أرض التجربة وسقيت كلما دعت الحاجة لذلك، وتم الحصاد في 20 تموز 2021 .

3-3- تحضير الأرض والتصميم التجريبي والمعاملات

حرثت أرض التجربة حراثتين متعامدتين بالمحراث المطرحي القلاب ونعمت بالامشاط القرصية وبعد التسوية تم فتح السواقي ومن ثم عمل الاكتاف. نُفذت التجربة بثلاثة مكررات حسب تصميم القطاعات الكاملة المعشاة وبعاملين، تضمن العامل الاول اربعة مستويات للسماد الفوسفاتي هي: 0 و25 و 50 و75 كغم P هـ$^{-1}$ ، اضيف السماد الفوسفاتي بصورة يوريا فوسفات الصيغة الكيميائية له ($CH_7N_2O_5P$) NPK(17 44 0) دفعة واحدة عند الزراعة، اما العامل الثاني تضمن رش المغنيسيوم النانوي صيغته الكيميائية (MgO) بودرة بيضاء عديم الرائحة، بأربعة تراكيز هي: 0 (ماء مقطر فقط) و 60 و 120 و 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ ، اذ تم رش المعاملات بمرشة ظهرية سعة 20 لتر في الصباح الباكر و بمرحلتين، الاولى عند ظهور 4-5 ورقة، اما الرشة الثانية بعد 30 يوما من الرشة الاولى. كانت مساحة الوحدة التجريبية 5 x 4 م ، وتركت فواصل بين المكررات مقدارها م^{2} كما تركت فواصل بمقدار 1 م بين الوحدات التجريبية.

3-4- الاجهزة والمواد الكيميائية المستعملة

3-4-1- الاجهزة

جدول2: الاجهزة المستعملة في البحث

ت	اسم الجهاز	
1	AURA TM PCR Cabinet	حاضنه لعزل المحاليل والتفاعل التكراري
2	Biopette 0.5-1000 µl	ماصة (لسحب السوائل)
3	High performance liquid chromatography HPLC	كروماتوكرافي السائل عالي الاداء
4	Soxhlet extractor	جهاز الاستخلاص
5	Electrophoreses	جهاز الترحيل الكهربائي
6	High Speed Refrigerated Centrifuge	جهاز الطرد المركزي المبرد
7	Mini-Power Supply 300V, 2200V	مجهز الطاقة
8	Spectrophotometer	مقياس المطياف الضوئي
9	Thermo cycler real time Sa Cycler-96 one-step RT-Qpcr	جهاز التضخيم الحراري اللحظي المتكرر
10	UV.transmission	جهاز مطياف الاشعة المرئية وفوق البنفسجية
11	Vortex/Centrifuge Exispin	المازج الدوار/ الطرد المركزي

3-4-2- المواد و المحاليل الكيميائية

جدول3: المحاليل و المواد الكيمائية المستعملة في البحث

ت	المواد		رقم العدة	الشركة و المنشا
1	Agarose	الاكاروز	8100.11	Conda / USA
2	GoTaq® RT-qPCR Master Mix	خليط تفاعل RT-qPCR	A6120	Promega
3	Ladder 100bp	المعلم القياسي	KK6302	Kapa /USA
4	Loading dye	صبغة التحميل	21161	Intron / Korea
5	Pre mix pcr	مزيج خليط التفاعل	25025	Intron / Korea
6	Primer	البادئ	NC008401	Integrated DNA technologies /USA
7	Red safe staining souluion	الصبغة الحمراء الامنة	21141	Intron / Korea
8	TBE buffer	دارئ الترحيل	IBS.BT004	Conda / USA
9	ZR Plant DNA MiniPrep	عدة استخلاص الحامض النووي الريبوزي منقوص الاوكسجين	D6020	Zymo / USA
10	ZR Plant RNA MiniPrep™	عدة استخلاص الحامض النووي الريبوزي	R2024	Zymo / USA

3-4-3- البوادئ

جدول4: البوادئ المتخصصة بتشخيص جينات PMT و TR1 و H6H المستعملة في تفاعل البلمرة المتسلسل PCR

اسم الجين	البوادئ	التتابع	Tm (°C)	GC (%)	حجم التفاعل (bp)
PMT	الامامي	5' ACAACCCACGAAGAGCATC '3	65	53	400
	الخلفي	5' GAGCTAGTATGAAGACCG'3	58	50	
TR1	الامامي	5' ATGGACGAATCACAGGTGTCC '3	67	52	700
	الخلفي	5' TTCCTTATGTATCACCACCC'3	61	45	
H6H	الامامي	5' ATGGCTACTTTTGTGTCGAACTG '3	65	43	500
	الخلفي	5' TTAGACACATATGGTACGTGCTCC '3	66	46	

جدول5: البوادئ المتخصصة لجينات PMT و TR1 و H6H والجين المرجعي ACTIN المستعملة في تفاعل البلمرة المتسلسل اللحظي الكمي qPCR

اسم الجين	البوادئ	التتابع	Tm (°C)	GC (%)
PMT	الامامي	5' TTCGAGGGTGACTAAAGC '3	61	50
	الخلفي	5' TCTGGTCTCCGTAGAACA '3	62	50
TR1	الامامي	5' AGCAGAGGAAGTATCATCCC '3	63	50
	الخلفي	5' ATAGCTCAGAGCTCATCC '3	60	50
H6H	الامامي	5' GGATGCTATGGATTGCTGT '3	62	47
	الخلفي	5' AGAGTGGTGGTTGTCTTGG '3	64	53
ACTIN	الامامي	5' ATACGAGAAGATCACTCGG 3'	60	47
	الخلفي	5' CACAGTGTCGTACTTGACG 3'	63	53

3- 5- الصفات المدروسة

3-5-1-تشخيص جينات PMT و TR1 و H6H المسؤولة عن تخليق المادة الفعالة في جذور واوراق الداتورة

3-5- 1- 1- استخلاص الحمض النووي الريبوزي منقوص الاوكسجين (DNA) من النبات

تم استخلاص الحامض النووي DNA من اوراق وجذور نبات الداتورة نوع D.Stramonium باستعمال عدة منتجة من شركة Zamo Research USA المبينة مكوناتها في جدول (6).

جدول6: عدة استخلاص الحامض النووي الريبوزي منقوص الاوكسجين DNA (ZR (Plant DNA MiniPrep

ت	المكونات		الحجم
1	ZR BashingBead™ Lysis Tubes (0.1 & 0.5 mm)1	انابيب الكرات الثانوية	50
2	Lysis Solution	محلول التحليل	40 ml
3	DNA Binding Buffer2	محلول الارتباط	100 ml
4	DNA Pre-Wash Buffer3	محلول الغسيل الاولي	15 ml
5	DNA Wash Buffer	محلول الغسيل	50 ml
6	DNA Elution Buffer	محلول الاذابة	10 ml
7	Zymo-Spin™ IV Spin Filters (Orange Tops)	انابيب ترشيح	50
8	Zymo-Spin™ IIC Columns	أعمدة تصفية	50
9	Collection Tubes	انابيب جمع	150
الحجم النهائي للحامض النووي المستخلص			50 مايكروليتر

2-1-5-3 خطوات استخلاص الـ DNA

اتبع الدليل الخاص بالشركة المجهزة للعدة الخاصة باستخلاص الحامض النووي الريبوزي منقوص الاوكسجين وحسب الخطوات التالية:

1- اخذت عينات من اوراق نباتات نظيفة وخالية من المسببات المرضية وتم ترقيمها وغسلها وتعقيمها وحفظها في اكياس بلاستيكية معقمة وحفظت في المجمدة لحين اجراء الاستخلاص .

2- اخذت 2غرام من الاوراق النباتية وقطعت جيدا وسحقت باستعمال هاون خزفي معقم ، ونقلت الانسجة النباتية المطحونة الى انبوب يحتوي على الكرات النانوية (ZR Bashing Bead™) ثم يضاف اليه 750 مايكروليتر من محلول التحليل (Lysis Solution Buffer).

3- نقل الخليط الى جهاز الرج لمدة 5 دقائق.

4- اجريت عملية طرد مركزي للمزيج لمدة دقيقة واحدة وبسرعة 10.000 دورة.دقيقة$^{-1}$.

5- سحب 400 مايكروليتر من الطبقة العليا الحاوية على الحمض النووي المنقوص الاوكسجين ووضعت في انابيب الترشيح (Zymo-Spin™ IV Spin Filters) ثم اجري له طرد مركزي لمدة 1 دقيقة وبسرعة 7000 دورة.دقيقة .

6- نتخلص من الفلتر الملوث وناخذ الراسب في الانبوبة .

7- اضيف 1200 مايكروليتر من محلول الارتباط (DNA Binding Buffer) للاحتفاظ بالـ DNA والتخلص من الشوائب الغير مرغوبة .

8- سحب 800 مايكروليتر من الخليط اعلاه ووضعه في اعمدة التصفية (Zymo-Spin™ IIC Column) ثم اجري له طرد مركزي لمدة 1 دقيقة وبسرعة14.000 دورة.دقيقة$^{-1}$

9- وضعت اعمدة التصفية (Zymo-Spin™ IIC Column) في انابيب جمع (Collection Tube) جديد ويوضع في 200 مايكروليتر من محلول الغسيل الاولي (DNA Pre- Wash Buffer)، واجري له طرد مركزي لمدة 1 دقيقة وبسرعة 14.000 دورة.دقيقة$^{-1}$.

10- اضيف مرة اخرى 500 مايكروليتر من محلول الغسيل (DNA Wash Buffer) واجري له طرد مركزي لمدة 1 دقيقة وبسرعة 10.000 دورة.دقيقة$^{-1}$.

11- وضع الفلتر في انبوبة الطرد المركزي (Microcentrifuge tube) ويضاف 50 مايكروليتر من محلول الاذابة (DNA Elution Buffer) واجري له طرد مركزي لمدة 30 ثانية فقط وبسرعة 13000 دورة.دقيقة$^{-1}$

12- كان الحجم النهائي للحامض النووي هو 50 مايكروليتر، وبعد عملية الاستخلاص والحصول على كمية من الحامض النووي DNA تم حفظه في درجات حرارة منخفضة.

3-5-1-3- قياس نقاوة وتركيز الحامض النووي DNA.

تم تقييم نقاوة الحامض النووي منقوص الاوكسجين بوساطة جهاز NanoDrop ،اذ تحسب امتصاصية عينة الـ DNA عند الطول الموجي 260 نانوميتر ($O.D_{260}$) ثم تحسب الامتصاصية للعينة نفسها عند الطول الموجي 280 نانوميتر ($O.D_{280}$)، اذ إنّ النسبة بين قراءة الموجة (260 نانوميتر) الى (280 نانوميتر) تساعد على تقييم نقاوة الحامض النووي، وتتراوح هذه النسبة بين (1.8 – 2.0) للدنا النقي (Sambrook وآخرون، 1989) . و حسب المعادلة التالية:

$$\text{نقاوة الـ} DNA = \frac{O.D_{260}}{O.D_{280}} \geq 1.8$$

$$\text{تركيز} DNA = O.D\ at\ 260\ nm \times \text{عامل التخفيف} \times 50\mu g\ ml^{-1}$$

4-5-1-3- استعمال تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) لتضخيم جينات PMT و TR1 و H6H

اجري اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) باستعمال العدة Maxime™ PCR PreMix (i-Taq) المجهزة من قبل شركة iNtRoN الكورية المبينة مكوناتها في جدول 7 لنبات الداتورة.

جدول7: مكونات عدة تفاعل البلمرة المتسلسل Maxime™ PCR PreMix (i-Taq)
(Kat.No 25025)

المكونات		الحجم
i-Taq DNA Polymerase	انزيم البلمرة	**5Unit/ µl**
DNTPs (DATP, DGTP, DCTP, DTTP)	قواعد نتروجينية	**2.5Mm**
Reaction buffer (10X) ($MgCl_2$, Tris-HCl, KCl)	محلول التفاعل	**تخفف الى 1x**
Gel loading buffer	محلول جل التحميل	**تخفف الى x1**

نفذ تفاعل البلمرة المتسلسل بحجم اجمالي 25 مايكروليتر حاوية على المكونات المرفقة في جدول 8 و اكمل الحجم بالماء (Nuclease-free water) الى 25 مايكروليتر.

جدول 8: تراكيز مكونات خليط تفاعل البلمرة المتسلسل PCR

ت	المكونات		الحجم
1	Taq PCR PreMix	عدة تفاعل PCR	**10 µl**
2	Forward primer	البادئ الامامي	**1 µl**
3	Reverse primer	البادئ الخلفي	**1 µl**
4	DNA	الحامض النووي	**5µl**
5	Distill water	ماء مقطر	**8 µl**
	الحجم النهائي		**25µl**

تم تحضير خليط التفاعل في انبوبة معقمة (انبوبة لكل جين مع انبوبة خالية من الحامض النووي Negative Control) و مزجت مكوناته باستعمال ماصة دقيقة، ثم تم وضعها في جهاز البلمرة الحراري PCR ، وتم تنفيذ البرامج الموضحة في الجداول 9 و 10 و11 لغرض تضخيم جين PMT و TR1 و H6H، بالتتابع.

جدول9: برنامج ظروف تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لتضخيم جين PMT

المرحلة	درجة الحرارة (°C)	الوقت	عدد الدورات
Initial Denaturation مسخ اولي	95	3 min.	1
Denaturation مسخ ثاني	95	45 sec	35
Annealing الالتحام	62	45 sec	
Extension الاطالة الاولية	72	2 min	
Extension الاطالة النهائية	72	7 min.	1

جدول 10: برنامج ظروف تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لتضخيم جين TR1

المرحلة	درجة الحرارة (°C)	الوقت	عدد الدورات
Initial Denaturation مسخ اولي	95	3 min.	1
Denaturation مسخ ثاني	95	45 sec	35
Annealing الالتحام	65	45 sec	
Extension الاطالة الاولية	72	2 min	
Extension الاطالة النهائية	72	7 min.	1

جدول11: برنامج ظروف تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لتضخيم جين H6H

المرحلة	درجة الحرارة (°C)	الوقت	عدد الدورات
Initial Denaturation **مسخ اولي**	95	3 min.	1
Denaturation **مسخ ثاني**	95	45 sec	35
Annealing **الالتحام**	65	45 sec	
Extension **الاطالة الاولية**	72	2 min	
Extension **الاطالة الثانية**	72°C	7 min.	1

رفعت الانابيب بعد انتهاء الوقت ووضعت في الثلاجة لحين الترحيل .

3-5-1-5- الترحيل الكهربائي لناتج PCR باستعمال هلام الاكاروز

تم اجراء الترحيل الكهربائي لتحديد قطع الحامض النووي بعد عملية تفاعل البلمرة المتسلسل للعينات الناتجة و الدليل القياسي للحامض النووي الريبوزي منقوص الاوكسجين (DNA Ladder marker)، اذ تم مزج 1غم من الاكاروز و اذيب في 100مل من دارئ الترحيل الكهربائي (TBE بقوة X1) و سخن لحين الغليان و ترك لكي تنخفض درجة الحرارة الى (40-50 م) ثم يضاف له 2 مايكروليتر من الصبغة الحمراء الامنة، في هذه الاثناء حضرت عينات الحامض النووي (3 مايكروليتر) بمزجها مع دارئ التحميل loading buffer (5 مايكروليتر) و تم تحضير القالب و وضع المشط في احدى نهايتيه لعمل حفر داخل طبقة هلام الاكاروز و ثم صب الاكاروز المذاب في القالب و ترك ليتصلب في درجة حرارة الغرفة.

بعد اكمال تصلب طبقة هلام الاكاروز، رفع المشط بحذر دون احداث تشويه او تحطيم للحفر و اعيد القالب الى مكانه في جهاز الترحيل الكهربائي واضيف المحلول الدارئ (TBE

بقوة X1) الى حوض الترحيل الكهربائي لحين غمر طبقة الاكاروز بارتفاع حوالي 1ملم. اضيف 5مايكروليتر من الحامض النووي المضاعف بواسطة تفاعل البلمرة المتسلسل من كل عينة الى كل حفرة من حفر طبقة هلام الاكاروز، كما اضيف 5 مايكروليتر من الدليل القياسي للحامض النووي DNA (1Kbp DNA ladder marker) المبين في شكل 3 الى الحفرة الموجودة في الجانب الايسر من العينات المضافة للمساعدة بتحديد احجام الحامض النووي المضاعفة و ثم اوصلت اقطاب الجهاز بالتيار الكهربائي و شغل مجهز الطاقة على 120 ملي امبير لمدة ساعة و نصف.

شكل3: الدليل القياسي للحامض النووي DNA

بعد اكمال عملية ترحيل العينات، فحصت طبقة هلام الاكاروز الحاوية على نواتج الحامض النووي المضاعف و المتصبغة بالصبغة الحمراء الامنة تحت الاشعة فوق البنفسجية و اخذت لها صور.

6-3 التعبير الجيني لجينات PMT و TR1 و H6H

تم دراسة التعبير الجيني للجينات PMT و TR1 و H6H في الجذور و الاوراق عند مرحلة 7-8 ورقة و عند مرحلة 50% من الازهار، وذلك بأخذ عينات اوراق وجذور من نبات الداتورة ولكل وحدة تجريبية. اذ تم استخلاص الحامض النووي RNA للعينات (جذور واوراق) وفق المراحل المحددة، واستعملت طريقة Livak و Schmittgen (2001) لتقدير التعبير الجيني النسبي لجين PMT و TR1 و H6H و استعمل جين GAPDH كجين مرجعي من خلال المعادلات التالية:

$$\Delta ct = ct_{target\ gene} - ct_{reference\ gene}$$

$$\Delta\Delta ct = \Delta ct_{Test} - \Delta ct_{Control}$$

$$\text{التعبير النسبي للجين} = 2^{-\Delta\Delta ct}$$

اذ ان:

$ct_{target\ gene}$ هي عتبة الدورة للجين الهدف (PMT و TR1 و H6H).

$ct_{reference\ gene}$ هي عتبة الدورة للجين المرجعي (Actin)

Ct_{test} هو عتبة الدورة للعينات المختبرة للجين المستهدف (PMT او TR1 و H6H)

$CT_{Control}$ هو عتبة الدورة لعينة المراقبة للجين المستهدف (PMT او TR1 و H6H)

3-6-1- استخلاص الحامض النووي RNA

تم استعمال العدة المجهزة من قبل شركة Zymo الامريكية المرفقة مكوناتها في جدول 12، لغرض استخلاص الحامض النووي RNA من اوراق وجذور نبات الداتورة وفق معاملات التجربة.

جدول 12: مكونات عدة استخلاص الحامض النووي الريبوزي RNA المجهزة من شركة Zymo.

ت	المكونات		الحجم
1	RNA Lysis Buffer	داري التحليل	50
2	RNA Prep Buffer	الداريء الرجعي	25
3	RNA Wash Buffer1	داري الغسيل الاول	12
4	DNase/RNase-Free Water	ماء مقطر	40
5	ZR BashingBead™ Lysis Tubes	انابيب الكرات النانوية	50
6	Zymo-Spin™ IIIC Columns	اعمدة ترشيح	50
7	Zymo-Spin™ IIC Columns	اعمدة تصفية	50
8	Zymo-SpinTM IV-HRC Spin Filters	مرشح	50
9	Collection Tubes 2x	انابيب جمع	50

3-6-1-1 خطوات استخلاص الـ RNA

تم تنفيذ الخطوات الاتية:

1- تم سحق العينات النباتية بوجود محلول التحليل (RNA Lysis Buffer) ، ثم نقلت العينات الى انبوبة الكرات النانوية (ZR BashingBead™ Lysis Tubes) و يضاف لها 800 مايكروليتر من محلول (RNA Lysis Buffer) .

2- تم وضع انبوبة الكرات النانوية (ZR BashingBead™ Lysis Tubes) داخل انبوب الجمع و وضع عليه غطاء و وضع في الطرد المركزي لمدة دقيقة.

3- تنقل 400 مايكروليتر من الطبقة الطافية الى اعمدة الترشيح (Zymo-Spin™ IIIC Columns) وتوضع في انبوبة التجميع (collection tube) وتوضع بجاز الطرد المركزي لمدة 30 ثانية و ياخذ الراسب الموجود في انبوبة التجميع.

4- اضافة 1 حجم ايثانول (95-100%) الى الراسب الموجود في انبوبة التجميع و تمزج جيدا.

5- نقل المزيج الى اعمدة التصفية (Zymo-Spin™ IIC Columns) و يوضع في انبوبة التجميع و تنقل لجهاز الطرد المركزي لمدة 30 ثانية، يهمل الراشح الموجود في انبوبة التجميع.

6- اضافة 400 مايكروليتر من (RNA Prep Buffer) الى عمود التصفية (Zymo-Spin™ IIC Columns) و يوضع في انبوبة التجميع و تنقل لجهاز الطرد المركزي لمدة 30 ثانية، يهمل الراشح الموجود في انبوبة التجميع.

7- اضافة 700 مايكروليتر من محلول الغسيل (RNA Wash Buffer) الى عمود التصفية (Zymo-Spin™ IIC Columns) و يوضع في انبوبة التجميع و تنقل لجهاز الطرد المركزي لمدة 30 ثانية، يهمل الراشح الموجود في انبوبة التجميع.

8- اضافة 400 مايكروليتر من محلول الغسيل (RNA Wash Buffer) الى عمود التصفية (Zymo-Spin™ IIC Columns) و يوضع في انبوبة التجميع و تنقل لجهاز الطرد المركزي لمدة 2 دقيقة لضمان ازالة كل محلول الغسل، ثم ينقل عمود التصفية (Zymo-Spin™ IIC Columns) الى انبوبة من نوع (Rnase Free Tube) غير مجهزة مع العدة.

9- اضافة 50 مايكروليتر من ماء مقطر (Dnase/Rnase Free Water) مباشرة الى الانبوبة و يوضع في جهاز الطرد المركزي لمدة 30 ثانية. و يهمل عمود التصفية (Zymo-Spin™ IIC Columns) .

10- نقل الحامض النووي الريبوزي المستخلص Eluted RNA (خطوة السابقة) عبر مصفاة (Zymo-SpinTM IV-HRC Spin Filters) الى انبوبة Rnase (Free Tub) و توضع في جهاز الطرد المركزي 8000 دورة/دقيقة، سوف يترسب ال RNA و يمكن استعماله مباشرة او حفظه عند -70 م .

3-6-2- قياس نقاوة الحامض النووي RNA

تم تقييم نقاوة الحامض النووي الريبوزي RNA بوساطة جهازNano Drop ، اذ تحسب امتصاصية عينة الـRNA عند الطول الموجي 260 نانوميتر (O.D260) ثم تحسب الامتصاصية للعينة نفسها عند الطول الموجي 280 نانوميتر (O.D280)، إذ إنَّ النسبة بين قراءة الموجة (260 نانوميتر) الى (280 نانوميتر) تساعد على تقييم نقاوة الحامض النووي الريبوزي، وتتراوح هذه النسبة بين اكبر او يساوي 2 لـ RNA النقي (Sambrook واخرون،1989) و حسب المعادلة التالية:

$$RNA\ \text{نقاوة الـ} = \frac{O.D_{260}}{O.D_{280}} \geq 2$$

$$\text{تركيز}\ RNA = O.D\ at\ 260\ nm \times \text{عامل التخفيف} \times 40\mu g\ ml^{-1}$$

3-6-2-3- تقنية التفاعل التكراري اللحظي لتحديد قيمة التعبير الجيني

اجري اختبار التفاعل التكراي اللحظي (لمعاملات الدراسة وفق مراحل النمو المطلوبة و الاجزاء النباتية باستعمال العدة (GoTaq® Probe RT-qPCR Master Mix) المجهزة من شركة Promega المرفقة مكوناتها في جدول 13.

جدول13: مكونات عدة لتحضير التفاعل التكراري اللحظي (GoTaq® Probe RT-qPCR Master Mix)

المكونات
GoTaq® Hot Start Polymerase
MgCl2
dNTPs
proprietary reaction buffer

تم حساب الحجم المطلوب لكل مكونات التفاعل التكراري اللحظي حسب جدول 14.

جدول14: مكونات التفاعل التكراري اللحظي(RT-qPCR)

الحجم (مايكرولتر)	المكونات		ت
10	خليط التفاعل	GoTaq® RT-qPCR Master Mix	1
1	البادئ الامامي للجين الهدف	Forward primer of target gene	2
1	البادئ الخلفي للجين الهدف	Reverse primer of target gene	3
1	البادئ الامامي للجين المرجعي	Forward primer of gene reference	4
1	البادئ الخلفي للجين المرجعي	Reverse primer of gene reference	5
6	ماء خالي من الاحماض النووي	Nuclease-free water	6
5	عينة الحامض النووي الرايبوزي	RNA Sample Volume	7
25	الحجم النهائي		

تم مزج المكونات اعلاه بجهاز المازج الدوار بسرعة 3000 دورة دقيقة[-1] لمدة 10 ثانية، ثم وضعت في جهاز البلمرة الحراري اللحظي و نفذت البرامج كما في جدول 15 ولكل جين.

جدول15: برنامج ظروف تفاعل (RT-qPCR) لجين PMT و TR1 و H6H

الخطوة	درجة الحرارة (°C)	الوقت	عدد الدورات
cDNA synthesis	50	20 min	Hold
Denaturation Initial	95	min10	Hold
Denaturation	95	45 sec	40
Annealing	62	45 sec	
Extension	72	1	
Extension	72	5	Hold

بعد انتهاء التفاعل حللت البيانات.

3-6-3- صفات النمو

3-6-3-1- ارتفاع النبات(سم) : تم قياسه من مستوى سطح التربة الى قمة الساق الرئيس للنبات .

3-6-3-2- عدد الافرع نبات[-1]: لقد حسب عدد الافرع الكلي الرئيسة والثانوية لخمس نباتات لكل وحدة تجريبية.

3-6-3-3- عدد الاوراق نبات[-1] : تم حساب عدد الاوراق لخمسة نباتات ومن ثم استخرج المتوسط.

3-6-3-4- المساحة الورقية (سم ^{2}) : بطريقة الاقراص تم قياس هذه الصفة و حسب طريقة (Johanson 1967) و تتلخص بأخذ قرصين من العرق الوسطي والثاني من الجانب الاخر من الورقة للنبات الواحد اذ اخذت عينة من النبات بشكل عشوائي جففت كل من الاوراق والاقراص على درجة حرارية 70 مْ وتم حسابها حسب المعادلة

$$\text{المساحة الورقية} = \frac{\text{مساحة القرص×الوزن الجاف للاوراق}}{\text{الوزن الجاف للاقراص}}$$

3-6-4- محتوى كلوروفيل a و b في الاوراق (ملغم غم$^{-1}$) : وتم تقديرهما حسب طريقة Lichtenthaler (1987)، اذ وزنت 0.20 غم من الاوراق الطرية و اضيف لها 20 مل من الاسيتون بتركيز 80% اذ تم التقطيع والسحق بجفنة خزفية و للمحافظة على الصيغة من التحلل الضوئي يضاف لها كاربونات الصوديوم وضعت بعدها في انابيب معتمة وتمت القراءة بجهاز Spectrophotometer بطول موجي 663 نانوميتر لكلوروفيل a و الاخر ذو طول موجي 645نانوميتر لكلوروفيل b ووفق المعادلة التالية قدر محتوى الكلوروفيل

$$Chlorophyll.a = \frac{(1.25 \times D663 - 2.79 \times D645) \times V}{W \times 1000}$$

$$Chlorophyll.b = \frac{(2.15 \times D645 - 5.68 \times D663) \times V}{W \times 1000}$$

إذ ان:-

D=قراءة الكثافة الضوئية للكلوروفيل المستخلص على الأطوال الموجية 663 نانوميتر645 نانوميتر بالتتابع.

V=الحجم النهائي للأسيتون المخفف بتركيز(80%)

W=وزن العينة الطرية المأخوذة 0.20 غم

3-6-5- تقدير نسبة بعض العناصر في اوراق الداتورة

3-6-5-1- نسبة النتروجين (%) في الأوراق -:اخذت العينات الورقية من كل وحدة تجريبية، غسلت بالماء الاعتيادي ثم المقطر وجففت على درجة حرارة 65مْ لمدة 24 ساعة ثم . طحنت ونخلت بمنخل قطر فتحاته 1 ملم ، ثم اخذ 0.2 غم من كل معاملة وهُضمت العينات باستعمال

حامض الكبريتيك المركز و وحامض البيروكلوريك ذو نسبة 4 : 1 (الصحاف ، 1989) وقدر النتروجين باستعمال جهاز Micro-Kjeldahl حسب طريقة كلدال .

3-6-5-2- نسبة الفسفور (%) في الأوراق -:اخذت عينات الاوراق من الوحدات التجريبية ،اذ تم تقدير نسبة الفسفور فيها باستعمال جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer بطول موجي 882nm باستخدام حامض الاسكوربيك و موليبيدات الامونيوم (page واخرون 1982) .

3-6-5-3- نسبة البوتاسيوم (%) في الاوراق :- قدر تركيز عنصر البوتاسيوم بجهاز الـ Flame Photometerوحسب طريقة (Black، 1965).

3- 6-5- 4- نسبة المغنيسيوم (%) في الاوراق: قد تركيز عنصر المغنيسيوم بجهاز الـ Atomic وحسب طريقة (page واخرون 1982) .

3-6-6- تقدير النسبة المئوية للقلويدات في الاوراق والبذور: اخذت عينات الاوراق من كل الوحدات التجريبية عند 50% من مرحلة الازهار ، اما عينات البذور تم اخذها في مرحلة النضج التام، تم حساب القلويدات كنسبة مئوية من وزن العينة المحللة إذ تم وزن 10 غم من الاوراق المجففة والبذور استخلصت بجهاز السكسوليت مع 50 مل من ميثانول عند درجة حرارة 50 م حتى ثبات الوزن (Harborne،1973; Ijarotimi , وأخرون ، 2013) .

3-6-7- تشخيص المركبات الفعالة (القلويدات) باستعمال تقانة كروماتوكرافي السائل ذات الأداء العالي High-performance Liquid Chromatography HPLC

جمع أنموذج العينات :- اخذت عينات الاوراق من كل الوحدات التجريبية عند مرحلة 50% من الازهار، اما الحبوب فتم اخذ العينات في مرحلة النضج التام، جففت في درجة حرارة الغرفة لمدة يوم واحد وبعدها تم تجفيفها داخل الفرن الكهربائي بدرجة حرارية 75 مْ لغاية ثبات الوزن بعد ذلك طحنت الأوراق بأستعمال الخلاط الكهربائي واخذت (50 غم) من المسحوق الورقي من كل معاملة وتم وضعها في أكياس .

استخلاص المركبات الفعالة من الأنموذج :- تم أخذ 10 غم من أنموذج العينات ووضعت في دورق زجاجي وأضيف لها 50 مل من مزيج متكون من مادتي الإيثانول 25 % والأمونيا نسبة 20:1 وتركت بدرجة حرارة المختبر لمدة لا تقل عن نصف ساعة بعدها وضعت في جهاز السنترفيوج لمدة 10 دقائق بسرعة 5000 دورة دقيقة[1] .أخذت الطبقة العضوية وأضيف إليها

0.7 مل من حامض الهيدروكلوريك وتركت لمدة 3 دقائق بعدها فلترت باستعمال فلتر ذا حجم 0.45 µ بعدها أضيف اليها 0.4 مل من كاربونات الصوديوم Na_2CO_3 لمعادلة pH إلى 9.8 وأضيف إلى المزيج 3 مل من $CHCl_3$ تم رجها لمدة دقيقتين وبعدها جففت ثم تم جمع الناتج وأضيف اليه 50 مل من ميثانول 50 % وحفظت في الثلاجة لحين إجراء التحليل عليها بأستعمال جهاز HPLC . (Mohammed و Al-naqeeb، 2020).

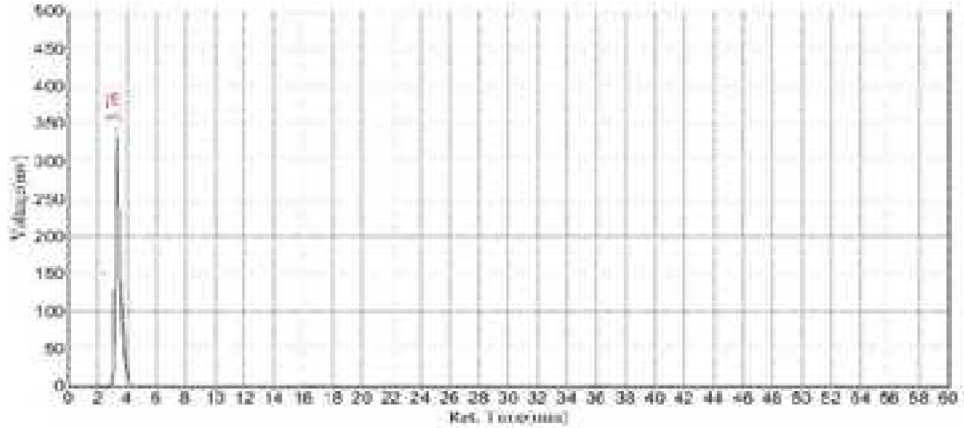
تحضير المركب القياسي :- تم أخذ 0.1 غم من المادة القياسية عالية النقاوة 99.9 % ووضعت في قنينة حجمية سعة 250 مل وأذيبت بالميثانول عالي النقاوة ورجت جيدا لحين الإذابة التامة وبعدها أكمل الحجم لحد المطلوب إذ أصبح التركيز النهائي 400 ملغم لتر$^{-1}$ وباستعمال قانون التخفيف تم تحضير المركبات القياسية التي تم حقنها في جهاز الكروموتوكرافي HPLC .

عملية حقن الأنموذج :- بعد اتمام عملية الاستخلاص ولغرض حقن الأنموذج في جهاز HPLC تم إضافة كمية محسوبة من مذيب الميثانول إلى الأنموذج المستخلص واجري بعدها فلترة الأنموذج باستعمال فلتر ذو حجم 0.45 مايكروميتر ثم اخذ 100 ميكروليتر من الأنموذج وهي نفس كمية المادة القياسية التي تم اخذها و حقنت بالجهاز . بعد إتمام عملية الحقن تم الاعتماد على زمن احتجاز المادة القياسية (جدول6، شكل 2 و3 و4) في عملية تشخيص المادة في الأنموذج وتم الاعتماد على مساحة الأنموذج لإجراء عملية حساب التركيز وفق المعادلة الاتية :-

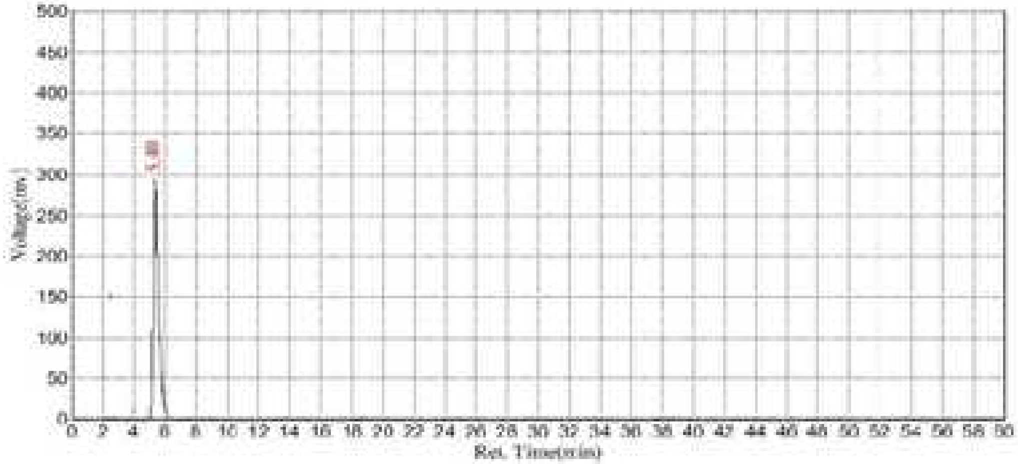
$$\textbf{تركيز الأنموذج} = \frac{\text{تركيز المادة القياسية}\times\text{مساحة الأنموذج}}{\text{مساحة المادة القياسية}} \times \frac{\text{معامل التخفيف}}{\text{وزن الأنموذج}}$$

جدول 16: يوضح زمن الاحتجاز للنماذج القياسية من المركبات المشخصة باستعمال طريقة الفصل الكروماتوغرافي HPLC

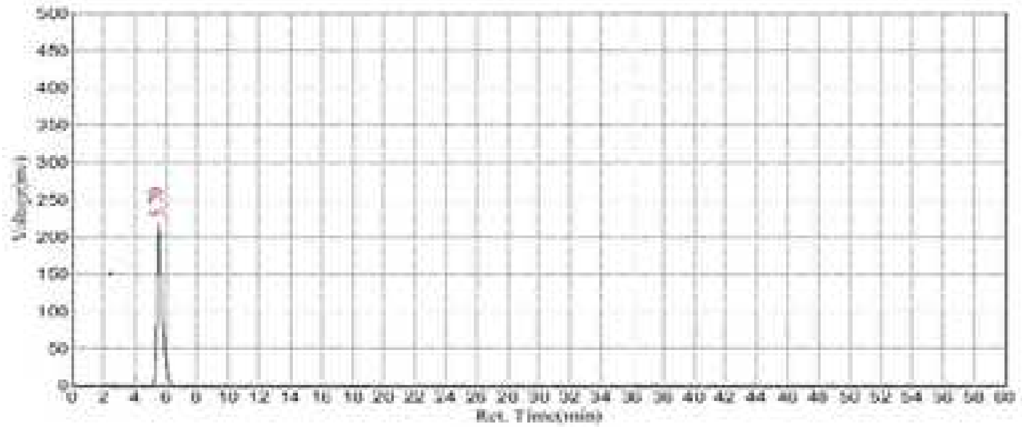
النموذج القياسي	زمن الاحتجاز (دقيقة)	مساحة المادة القياسية
Atropine	3.76	1225
Hyosamine	5.40	1011
Scoplamine	5.70	445



شكل4: منحنى المادة القياسية لمركب Atropine



شكل5: منحنى المادة القياسية لمركب Hyosamine



شكل6: منحنى المادة القياسية لمركب Scoplamine

ظروف التحليل :- أجري الفحص في مختبرات كلية الزراعة جامعة كربلاء باستخدام جهاز HPLC وحسب الطريقة المقدمة من قبل Plank و Wanger (1986) إذ أستعمل الطور الناقل المتكون من ميثانول : ماء مقطر بنسبة (80 : 20) وكان عمود الفصل (4.6 × ملم 25 سم) C18- ODS ، الكاشف المستعمل لكشف القلويات (UV) وطول موجي 254nm إذ كان معدل سرعة جريان الطور الناقل 1 مل بالدقيقة.

3-6-7- صفات الحاصل ومكوناته:

3-6-7-1- حاصل الأوراق كغم هـ-1 تم حساب حاصل الاوراق في المتر المربع وثم حول الى كغم في الهكتار.

3-6-7-2- عدد الثمار نبات-1 : أخذت خمسة نباتات بشكل عشواني من الخطوط الوسطية ومن ثم استخرج المتوسط لها.

3-6-7-3- عدد البذور ثمرة-1 . تم القياس عن طريق عدد من الثمار المأخوذة من النباتات الخمسة المقاسة وعليه فقد استخرج المعدل.

3-6-7-4- وزن 1000 بذرة غم. تم حساب الوزن لـ 1000 بذرة بالغرام.

3-6-7-5- حاصل النبات غم . تم قياس حاصل النباتات من البذور بوحدة الغرام لكل وحدة تجريبية.

3-6-7-6- الحاصل الكلي للبذور كغم$^{-1}$: تم قياس الحاصل لكل وحدة تجريبية ومن ثم تحويله الى كغم .هـ$^{-1}$

3-6-7-7- حاصل القلويدات من الاوراق (كغم هـ$^{-1}$)

وتم تقديره من خلال المعادلة التالية:

حاصل القلويدات من الاوراق = نسبة القلويدات في الاوراق × حاصل الاوراق

3-6-7-8- حاصل القلويدات من البذور (كغم هـ$^{-1}$)

وتم تقديره من خلال المعادلة التالية:

حاصل القلويدات من البذور = نسبة القلويدات في البذور × حاصل البذور

3-8- التحليل الاحصائي

اجري تحليل البيانات احصائياً ولجميع الصفات المدروسة. باستعمل اختبار اقل فرق معنوي (أ.ف.م) وعلى مستوى احتمالية 0.05 حسب طريقة تحليل التباين للمقارنة بين المتوسطات الحسابية استعمل البرنامج الاحصائي Gen stat في اجراء التحليل الاحصائي ، كما هو مبين في الملاحق 1 و2 و3. (Steel و Torrie، 1980).

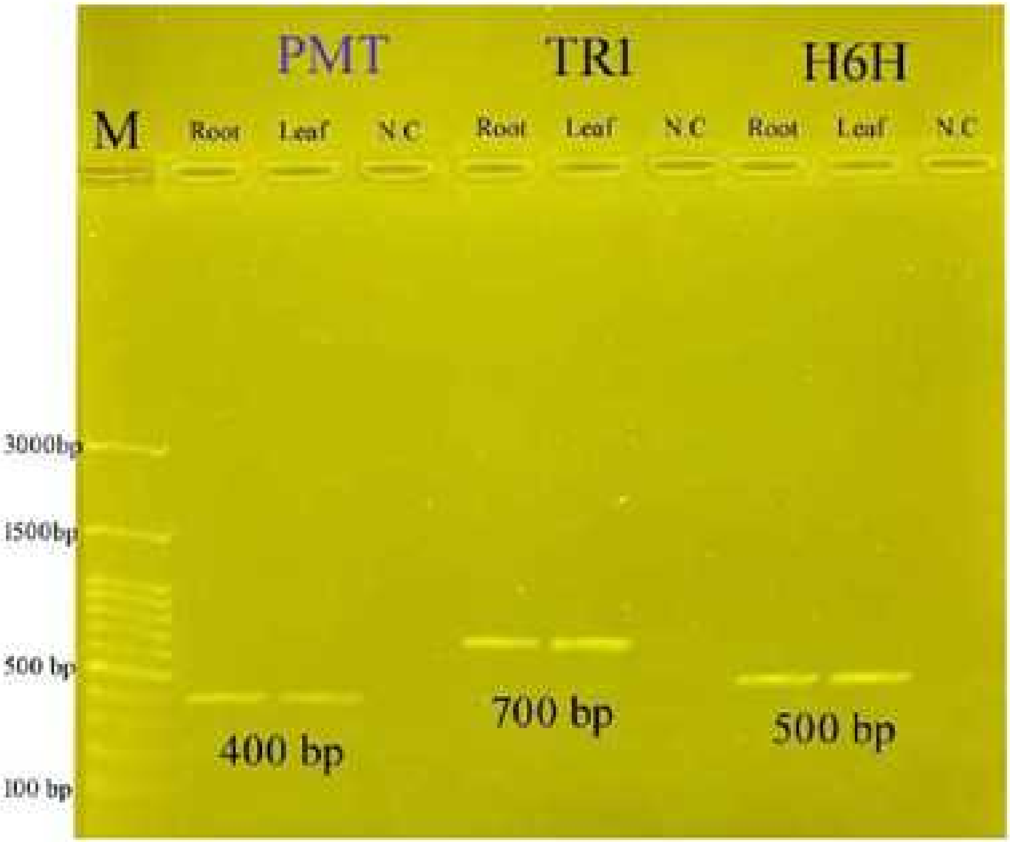
4- النتائج و المناقشة

1-4- تشخيص الجينات PMT TR1 DaH6H المسؤولة عن بناء الانزيمات المحفزة على تراكم المواد الفعالة(القلويدات).

بعد تهيئة ظروف تفاعل تقانة PCR تم ترحيل نواتج التفاعل على هلام الاكاروز اظهرت نتائج شكل 7، وجود حزمة ذات وزن جزيئي 400 bp في الجذور والاوراق تمثل الجين PMT المسؤول عن التخليق الحيوي لقلويدات الاتروبين، اذ ان مسار تخليق الاتروبين يتمثل بان ينشأ نظام حلقة التروبان من الأورنيثين أو الأرجينين عن طريق تكوين البوتريسين. ثم يتم ميثلة بوتريسين بواسطة انزيم PMT لتشكيل تروبينون اذ يمكن تصنيع الأتروبين عن طريق تفاعل التروبين مع حامض التروبيك في وجود حامض الهيدروكلوريك (Dewick، 2009).

كما اظهرت نتائج شكل 7، وجود حزمة ذات وزن جزيئي 700 bp في الجذور والاوراق تمثل الجين TR1 ، وهو المسؤول عن تحويل التروبينون إلى التروبين عن طريق اختزال التروبينون(TRI). يتفاعل التروبين وحمض التروبيك (الذي يشتق من فينيل ألانين) لإنتاج الليتورين الذي يؤدي إلى مركب الهيوسيامين في التفاعلات التي تتضمن عدة إنزيمات والتي تكون غير محددة (Facchini، 2006).

كما بين الشكل 7، وجود حزمة ذات وزن جزيئي 500 bp في الجذور والاوراق تمثل الجين H6H الذي يكون مسؤول عن تخليق السكوبولامين، اذ يحدث التحول الهام النهائي مع تكوين الإيبوكسيد داخل الجزيء بواسطة hyoscyamine 6β-hydroxylase (H6H) ليتكون مركب السكوبولامين، اذ يعتبر إنزيم ثنائي الوظيفة ، فيحول الهيوسيامين الى مركب سكوبولامين (Kramer، 2009).



شكل 7: ترحيل نواتج تفاعل PCR لبوادئ ثلاث جينات PMT , TR1 , H6H مع معاملة مقارنة (N.C) بدون اضافة DNA الى بقية المكونات المطلوبة لتفاعل البلمرة المتسلسل ,بالاضافة الى احجام سلم الحامض النووي (DNA ladder) مثبتة على الجانب الايسر من الشكل.

4-2- تأثير الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في التعبير النسبي لجينات PMT و TR1 و H6H في جذور واوراق الداتورة عند مرحلتي 7-8 ورقة و الازهار.

4-2-1- تأثير الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في التعبير النسبي لجينات PMT و TR1 و H6H في جذور الداتورة عند مرحلتي 7-8 ورقة و الازهار.

ضخمت جينات PMT و TR1 و H6H باستعمال تقانة RT-qPCR من اجل دراسة تعبيرها النسبي في جذور الداتورة تحت تاثير السماد الفوسفاتي والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما، اذ كشفت نتائج جدول تحليل التباين (ملحق1)، وجود فروقا معنوية بين معاملات الفسفور بقيم عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين PMT و TR1 في جذور الداتورة عند

7-8 ورقة، اذ بينت نتائج جدول 17 و 18، ان زيادة الفسفور سببت زيادة معنوية في قيم CT لجين PMT و TR1 اذ اعطت المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ متوسطين بلغا 34.05 و 32.08 دورة مقارنة بمعاملة عدم الاضافة التي اعطت 33.03 و 31.02 دورة، وهذا قد يؤدي الى ان يكون التعبير الجيني عند المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ اقل مما هو عليه في معاملة عدم الاضافة، وهذا ما اكدته حسابات التعبير الجيني النسبي اذ انخفض التعبير النسبي لجين PMT و TR1, في جذور الداتورة عند مرحلة 7-8 ورقة بمقدار 0.51 و 0.50 مرة عن معاملة عدم التسميد، كذلك يتضح عدم وجود فروق معنوية بين معاملتي 50 و75 كغم P هـ$^{-1}$ بقيم التعبير النسبي لهذين الجينين، وربما يعزى سبب انخفاض التعبير النسبي لجين PMT و TR1 لتاثير مستويات التسميد العالية بعوامل النسخ، اذ تلعب عوامل النسخ دورا مهما في زيادة او تثبيط التعبير الجيني (Wang واخرون،2016). كذلك وفقا Pyne واخرون (2019) فان القلويدات هي منتجات لعمليات الايض الثانوي لذا يتم انتاجها تحت ظروف الاجهادات البيئية اذ انها تساعد النبات على التكيف مع محيطه الخارجي، لذلك فإن عمليات الأيض الثانوي ممكن أن تبدأ نظراً لنقصان المغذيات، اذ تتحسس الخلايا هذه المؤشرات بواسطة جزيئات حساسة على سطوحها لتعطي إشارات إلى تغيير عمليات التأيض داخل الخلايا من خلال تغيير التعبير الجيني لبعض الجينات، لذا فان زيادة مستويات الفسفور ربما تعمل على تقليل الاشارات اللازمة لعمل جين PMT و TR1، و بالتالي استمرار النبات ببناء المادة الخلوية على حساب المنتجات الثانوية.

كما كشفت نتائج جدول تحليل التباين (ملحق1)، عدم وجود تاثيرا معنويا لمعاملات رش المغنيسيوم النانوي وكذلك عدم وجود تاثيرا معنويا لتداخل اضافة الفسفور و رش المغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين PMT و TR1 في جذور الداتورة عند مرحلة 7-8 ورقة.

كذلك بين ملحق تحليل التباين (ملحق 1) ونتائج جدول 19، عدم وجود تاثيرا معنويا لاضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في عتبة الدورة و التعبير النسبي لجين H6H في جذور الداتورة عند مرحلة 7-8 ورقة.

جدول17 : تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين PMT في جذور الداتورة عند مرحلة 7-8 ورقة.

الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$)	CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0	17.56	33.03	15.47	0.01	1.00
25	17.53	33.28	15.74	0.28	0.87
50	17.44	33.94	16.50	1.04	0.51
75	17.57	34.05	16.49	1.02	0.51
أ. ف. م 0.05	------	0.355	---------	------	0.133

المغنيسيوم النانوي (ملغم Mg لتر$^{-1}$)	CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0	17.60	33.65	16.04	0.58	0.72
60	17.65	33.70	16.05	0.58	0.72
120	17.46	33.50	16.04	0.58	0.72
180	17.39	33.46	16.07	0.61	0.72
أ. ف. م 0.05	------	غ. م	--------	-----	غ. م

تداخل الفسفور مع المغنيسيوم النانوي		CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0	0	17.69	33.16	15.46	0.00	1.00
	60	17.71	33.19	15.48	0.02	0.99
	120	17.31	32.77	15.45	-0.01	1.01
	180	17.53	33.02	15.49	0.03	0.98
25	0	17.51	33.24	15.73	0.26	0.88
	60	17.58	33.29	15.71	0.24	0.89
	120	17.44	33.17	15.73	0.27	0.85
	180	17.60	33.40	15.80	0.34	0.87
50	0	17.65	34.15	16.50	1.03	0.51
	60	17.44	33.95	16.51	1.04	0.51
	120	17.57	34.07	16.49	1.03	0.52
	180	17.09	33.60	16.51	1.05	0.51
75	0	17.55	34.03	16.48	1.02	0.51
	60	17.89	34.39	16.50	1.04	0.51
	120	17.49	33.98	16.49	1.02	0.52
	180	17.33	33.81	16.48	1.02	0.52
أ. ف. م 0.05		------	غ. م	-----	-----	غ. م

جدول 18 : تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين TR1 في جذور الداتورة عند عند مرحلة 7-8 ورقة.

الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$)	CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0	17.56	31.02	13.46	0.01-	1.03
25	17.53	31.30	13.77	0.30	0.86
50	17.44	31.97	14.54	1.07	0.50
75	17.57	32.08	14.52	1.05	0.50
أ.ف.م 0.05	-----	0.306	-----	-----	0.136

المغنيسيوم النانوي (ملغم Mg لتر$^{-1}$)	CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0	17.60	31.67	14.07	0.60	0.71
60	17.65	31.71	14.06	0.59	0.73
120	17.46	31.53	14.07	0.60	0.71
180	17.39	31.47	14.09	0.62	0.74
أ.ف.م 0.05	------	غ.م	-----	-----	غ.م

تداخل الفسفور مع المغنيسيوم النانوي		CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0	0	17.69	31.16	13.47	0.00	1.00
	60	17.71	31.12	13.41	0.06-	1.04
	120	17.31	30.79	13.47	0.00	1.00
	180	17.53	31.01	13.49	0.02	1.08
25	0	17.51	31.28	13.77	0.30	0.86
	60	17.58	31.31	13.74	0.27	0.87
	120	17.44	31.20	13.76	0.29	0.84
	180	17.60	31.41	13.82	0.35	0.86
50	0	17.65	32.18	14.53	1.06	0.49
	60	17.44	31.98	14.55	1.08	0.50
	120	17.57	32.10	14.53	1.06	0.51
	180	17.09	31.63	14.54	1.07	0.51
75	0	17.55	32.06	14.51	1.04	0.50
	60	17.89	32.42	14.54	1.07	0.50
	120	17.49	32.01	14.51	1.04	0.51
	180	17.33	31.84	14.51	1.04	0.51
أ.ف.م 0.05			غ.م	------	-----	غ.م

جدول 19: تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين H6H في جذور الداتورة عند مرحلة 7-8 ورقة.

الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$)	CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0	17.56	35.54	17.98	0.05-	1.04
25	17.53	35.54	18.01	0.02-	1.02
50	17.44	35.47	18.03	0.00	1.01
75	17.57	35.55	17.99	0.04-	1.03
أ. ف. م 0.05	------	غ. م	-----	-----	غ. م

المغنيسيوم النانوي (ملغم Mg لتر$^{-1}$)	CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0	17.60	35.56	17.96	0.07-	1.05
60	17.65	35.66	18.00	0.02-	1.03
120	17.46	35.48	18.03	0.00	1.00
180	17.39	35.40	18.01	0.02-	1.02
أ. ف. م 0.05	-----	غ. م	-----	-----	غ. م

تداخل الفسفور مع المغنيسيوم النانوي		CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0	0	17.69	35.72	18.03	0.00	1.00
	60	17.71	35.63	17.92	0.10-	1.07
	120	17.31	35.33	18.02	0.01-	1.01
	180	17.53	35.46	17.93	0.09-	1.07
25	0	17.51	35.40	17.89	0.14-	1.10
	60	17.58	35.60	18.02	0.00	1.00
	120	17.44	35.49	18.05	0.02	0.99
	180	17.60	35.67	18.07	0.05	0.99
50	0	17.65	35.64	17.99	0.04-	1.03
	60	17.44	35.50	18.06	0.03	1.01
	120	17.57	35.63	18.05	0.03	0.99
	180	17.09	35.11	18.02	0.01-	1.01
75	0	17.55	35.48	17.93	0.09-	1.07
	60	17.89	35.89	18.01	0.02-	1.01
	120	17.49	35.49	18.00	0.03-	1.02
	180	17.33	35.35	18.02	0.01-	1.01
أ. ف. م 0.05		-----	غ.م	-----	-----	غ.م

كشفت نتائج جدول تحليل التباين (ملحق1)، وجود فروقا معنوية بين معاملات الفسفور بقيم عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجينات PMT و TR1 و H6H في جذور الداتورة عند مرحلة الازهار.

اذ بينت نتائج جدول 20 و 21 و 22 ، ان زيادة الفسفور سببت زيادة معنوية في قيم CT لجينات PMT و TR1 و H6H اذ اعطت المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ متوسطات بلغت 37.08 و 36.11 و35.13 دورة مقارنة بمعاملة عدم الاضافة التي اعطت 35.54 و 34.66 و 33.75 دورة، وهذا قد يسبب انخفاضا معنويا في التعبير الجيني عند المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ اعلى مما هو عليه في معاملة عدم الاضافة، وهذا ما اكدته حسابات التعبير الجيني النسبي اذ انخفض بمقدار 0.36 و 0.38 و 0.35 مرة عن معاملة عدم التسميد، بينما لم يلاحظ وجود اختلافات معنوية بين معاملة 50 و75 كغم P هـ$^{-1}$ في قيمة التعبير النسبي، ربما يعزى سبب انخفاض التعبير النسبي لتأثير المغذيات (الفسفور) بشكل غير مباشر في عملية التعبير الجيني من خلال التغييرات في الاشارات الهرمونية والمحفزات لتغيير النشاط الحيوي، اذ ان ازدياد مستويات المغذيات تعمل على استمرار مسارات التمثيل الغذائي، بينما انخفاضها يعمل على تعديل مسارات الايض الثانوي وازدياد منتجاته فقد تعمل بعض انزيمات الايض الانتقائية ف النواة على تعديل نسخ الجينات استجابة للتغيرات في النبات (Li واخرون، 2021).

كما كشفت نتائج جدول تحليل التباين (ملحق1)، عدم وجود تاثيرا معنويا لرش المغنيسيوم النانوي وكذلك عدم وجود تاثيرا معنويا لتداخل اضافة الفسفور و رش المغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين PMT و TR1 و H6H في جذور الداتورة عند مرحلة الازهار.

جدول 20: تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين PMT في جذور الداتورة عند مرحلة الازهار.

الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$)	CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0	17.56	35.54	17.98	0.05-	1.04
25	17.53	36.28	18.74	0.72	0.61
50	17.44	36.97	19.53	1.51	0.35
75	17.57	37.08	19.51	1.49	0.36
أ. ف. م 0.05	-----	0.244	-----	-----	0.031

المغنيسيوم النانوي (ملغم Mg لتر$^{-1}$)	CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0	17.60	36.56	18.96	0.93	0.58
60	17.65	36.59	18.94	0.91	0.60
120	17.46	36.41	18.95	0.92	0.58
180	17.39	36.31	18.92	0.90	0.60
أ. ف. م 0.05	-------	غ. م	-----	-----	غ. م

تداخل الفسفور مع المغنيسيوم النانوي		CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0	0	17.69	35.72	18.03	0.00	1.00
	60	17.71	35.63	17.92	0.10-	1.07
	120	17.31	35.33	18.02	0.01-	1.01
	180	17.53	35.46	17.93	0.09-	1.07
25	0	17.51	36.27	18.76	0.73	0.60
	60	17.58	36.32	18.74	0.72	0.62
	120	17.44	36.19	18.75	0.72	0.61
	180	17.60	36.32	18.73	0.70	0.62
50	0	17.65	37.18	19.53	1.51	0.35
	60	17.44	36.99	19.55	1.53	0.35
	120	17.57	37.09	19.52	1.49	0.36
	180	17.09	36.62	19.53	1.50	0.35
75	0	17.55	37.06	19.51	1.49	0.36
	60	17.89	37.41	19.52	1.50	0.36
	120	17.49	37.01	19.52	1.49	0.36
	180	17.33	36.83	19.50	1.48	0.36
أ. ف. م 0.05		------	غ.م	-------	-----	غ.م

جدول 21: تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين TR1 في جذور الداتورة عند مرحلة الازهار.

الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$)	CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0	17.56	34.66	17.10	0.06-	1.04
25	17.53	35.30	17.77	0.61	0.66
50	17.44	36.01	18.57	1.41	0.38
75	17.57	36.11	18.55	1.39	0.38
أ. ف. م 0.05	-------	0.254	-----	-----	0.044

المغنيسيوم النانوي (ملغم Mg لتر$^{-1}$)	CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0	17.60	35.61	18.01	0.85	0.60
60	17.65	35.66	18.01	0.86	0.61
120	17.46	35.44	17.98	0.83	0.62
180	17.39	35.37	17.98	0.83	0.62
أ. ف. م 0.05	-------	غ. م	-----	-----	غ. م

تداخل الفسفور مع المغنيسيوم النانوي		CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0	0	17.69	34.85	17.16	0.00	1.00
	60	17.71	34.83	17.12	0.04-	1.03
	120	17.31	34.37	17.05	0.10-	1.08
	180	17.53	34.59	17.06	0.09-	1.07
25	0	17.51	35.29	17.78	0.62	0.65
	60	17.58	35.35	17.77	0.61	0.67
	120	17.44	35.21	17.77	0.61	0.66
	180	17.60	35.36	17.76	0.61	0.66
50	0	17.65	36.22	18.57	1.42	0.38
	60	17.44	36.03	18.60	1.44	0.37
	120	17.57	36.12	18.55	1.39	0.38
	180	17.09	35.66	18.57	1.41	0.38
75	0	17.55	36.08	18.53	1.37	0.39
	60	17.89	36.45	18.56	1.41	0.38
	120	17.49	36.06	18.56	1.41	0.38
	180	17.33	35.86	18.53	1.38	0.39
أ. ف. م 0.05		------	غ.م	------	-----	غ م

جدول 22 :تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين H6H في جذور الداتورة عند مرحلة الازهار.

الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$)	CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0	17.56	33.57	16.01	0.04-	1.03
25	17.53	34.55	17.01	0.96	0.51
50	17.44	35.01	17.58	1.53	0.35
75	17.57	35.13	17.57	1.52	0.35
أ. ف. م 0.05	-------	0.215	-----	-----	0.022

المغنيسيوم النانوي (ملغم Mg لتر$^{-1}$)	CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0	17.60	34.66	17.05	1.00	0.55
60	17.65	34.68	17.03	0.98	0.57
120	17.46	34.51	17.05	1.00	0.55
180	17.39	34.41	17.03	0.98	0.57
أ. ف. م 0.05	-------	غ. م	-----	-----	غ. م

تداخل الفسفور مع المغنيسيوم النانوي		CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0	0	17.69	33.74	16.05	0.00	1.00
	60	17.71	33.67	15.96	0.09-	1.06
	120	17.31	33.36	16.05	0.00	1.00
	180	17.53	33.49	15.96	0.09-	1.06
25	0	17.51	34.50	16.99	0.94	0.52
	60	17.58	34.60	17.03	0.98	0.51
	120	17.44	34.48	17.04	0.99	0.51
	180	17.60	34.60	17.01	0.96	0.52
50	0	17.65	35.24	17.59	1.54	0.34
	60	17.44	34.99	17.56	1.51	0.35
	120	17.57	35.14	17.57	1.52	0.35
	180	17.09	34.67	17.58	1.53	0.35
75	0	17.55	35.14	17.59	1.54	0.35
	60	17.89	35.45	17.57	1.52	0.35
	120	17.49	35.05	17.55	1.50	0.35
	180	17.33	34.89	17.56	1.51	0.35
أ. ف. م 0.05		------	غ.م	-----	-----	غ.م

4-2-2- تأثير الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في التعبير النسبي لجينات PMT و TR1 و H6H في اوراق الداتورة عند مرحلة 7-8 ورقة و الازهار.

كشفت نتائج ملحق تحليل التباين (ملحق2) وجداول 23 و 24 و 25 و 26 عدم وجود تاثيرا معنويا لمعاملات الفسفور والرش بالمغنيسوم النانوي وتداخلهما في قيم عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجينات PMT و TR1 في اوراق الداتورة عند مرحلتي 7-8 ورقة و الازهار، وايضا بينت نتائج جدول 30 عدم وجود تاثيرا معنويا لهذه المعاملات في عتبة الدورة والتعبير النسبي لجين H6H في الاوراق عند مرحلة 7-8 ورقة.

جدول 23: تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين PMT في اوراق الداتورة عند مرحلة 7-8 ورقة.

التعبير النسبي	ΔΔ CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	CT of PMT gene	CT Actin gene	الفسفور (كغم P $هـ^{-1}$)	
1.04	0.05-	19.01	36.57	17.56	0	
1.02	0.02-	19.04	36.58	17.53	25	
1.01	0.00	19.06	36.49	17.44	50	
1.02	0.02-	19.04	36.60	17.57	75	
غ.م	-----	-----	غ.م	-------	أ.ف.م 0.05	
التعبير النسبي	**ΔΔ CT of PMT gene**	**Δ CT of PMT gene**	**CT of PMT gene**	**CT Actin gene**	**المغنيسيوم النانوي (ملغم Mg $لتر^{-1}$)**	
1.03	0.04-	19.02	36.62	17.60	0	
1.03	0.03-	19.03	36.68	17.65	60	
1.00	0.00	19.06	36.52	17.46	120	
1.02	0.02-	19.04	36.43	17.39	180	
غ.م	-----	-----	غ.م	--------	أ.ف.م 0.05	
التعبير النسبي	**ΔΔ CT of PMT gene**	**Δ CT of PMT gene**	**CT of PMT gene**	**CT Actin gene**	**تداخل الفسفور مع المغنيسيوم النانوي**	
1.00	0.00	19.06	36.75	17.69	0	0
1.07	0.10-	18.96	36.67	17.71	60	
1.00	0.01	19.07	36.38	17.31	120	
1.07	0.10-	18.96	36.49	17.53	180	
1.10	0.13-	18.93	36.44	17.51	0	25
1.01	0.01-	19.05	36.63	17.58	60	
0.99	0.02	19.08	36.52	17.44	120	
0.99	0.06	19.12	36.71	17.60	180	
1.03	0.05-	19.01	36.66	17.65	0	50
1.02	0.03	19.09	36.53	17.44	60	
1.00	0.02	19.08	36.65	17.57	120	
1.01	0.01-	19.05	36.14	17.09	180	
1.00	0.01	19.07	36.62	17.55	0	75
1.02	0.03-	19.03	36.91	17.89	60	
1.03	0.04-	19.02	36.51	17.49	120	
1.02	0.02-	19.04	36.37	17.33	180	
غ.م	-----	-----	غ.م	------	أ.ف.م 0.05	

جدول 24: تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين TR1 في اوراق الداتورة عند مرحلة 7- 8 ورقة.

التعبير النسبي	ΔΔ CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	CT of PMT gene	CT Actin gene	الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$)
1.04	0.06-	16.01	33.57	17.56	0
1.02	0.02-	16.05	33.58	17.53	25
1.02	0.01-	16.06	33.50	17.44	50
1.04	0.05-	16.02	33.58	17.57	75
غ. م	-----	-----	غ. م	-------	أ. ف. م 0.05

التعبير النسبي	ΔΔ CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	CT of PMT gene	CT Actin gene	المغنيسيوم النانوي (ملغم Mg لتر$^{-1}$)
1.05	0.06-	16.01	33.61	17.60	0
1.03	0.03-	16.04	33.69	17.65	60
1.01	0.01-	16.06	33.51	17.46	120
1.03	0.03-	16.04	33.43	17.39	180
غ. م	-----	-----	غ. م	--------	أ. ف. م 0.05

التعبير النسبي	ΔΔ CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	CT of PMT gene	CT Actin gene	تداخل الفسفور مع المغنيسيوم النانوي	
1.00	0.00	16.07	33.76	17.69	0	0
1.08	0.11-	15.96	33.67	17.71	60	
1.01	0.02-	16.05	33.37	17.31	120	
1.08	0.11-	15.96	33.49	17.53	180	
1.07	0.10-	15.97	33.48	17.51	0	25
1.02	0.02-	16.05	33.63	17.58	60	
1.00	0.00	16.07	33.51	17.44	120	
1.00	0.04	16.11	33.71	17.60	180	
1.03	0.04-	16.03	33.68	17.65	0	50
1.02	0.03	16.10	33.53	17.44	60	
1.01	0.00	16.07	33.64	17.57	120	
1.01	0.02-	16.05	33.14	17.09	180	
1.08	0.11-	15.96	33.51	17.55	0	75
1.02	0.03-	16.04	33.92	17.89	60	
1.02	0.03-	16.04	33.53	17.49	120	
1.02	0.03-	16.04	33.37	17.33	180	
غ.م	-----	-----	غ.م	------	أ. ف. م 0.05	

جدول25 :تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين H6H في اوراق الداتورة عند مرحلة 7-8 ورقة.

التعبير النسبي	ΔΔ CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	CT of PMT gene	CT Actin gene	الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$)
1.03	0.04-	15.00	32.57	17.56	0
1.02	0.01-	15.04	32.57	17.53	25
1.00	0.02	15.07	32.50	17.44	50
1.02	0.03-	15.01	32.58	17.57	75
غ. م	-----	-----	غ. م	--------	أ. ف. م 0.05

التعبير النسبي	ΔΔ CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	CT of PMT gene	CT Actin gene	المغنيسيوم النانوي (ملغم Mg لتر$^{-1}$)
1.02	0.03-	15.02	32.62	17.60	0
1.01	0.01-	15.04	32.69	17.65	60
1.02	0.02-	15.03	32.48	17.46	120
1.01	0.01-	15.04	32.42	17.39	180
غ. م	-----	-----	غ. م	--------	أ. ف. م 0.05

التعبير النسبي	ΔΔ CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	CT of PMT gene	CT Actin gene	تداخل الفسفور مع المغنيسيوم النانوي	
1.00	0.00	15.05	32.74	17.69	0	0
1.05	0.08-	14.97	32.68	17.71	60	
1.00	0.00	15.04	32.36	17.31	120	
1.06	0.09-	14.96	32.49	17.53	180	
1.02	0.02-	15.02	32.54	17.51	0	25
0.99	0.01	15.06	32.63	17.58	60	
1.06	0.08-	14.97	32.41	17.44	120	
0.99	0.06	15.10	32.70	17.60	180	
1.01	0.01-	15.03	32.68	17.65	0	50
1.00	0.04	15.09	32.53	17.44	60	
0.98	0.04	15.09	32.66	17.57	120	
1.00	0.00	15.05	32.14	17.09	180	
1.05	0.07-	14.98	32.53	17.55	0	75
1.01	0.01-	15.04	32.92	17.89	60	
1.02	0.03-	15.02	32.51	17.49	120	
1.01	0.02-	15.03	32.36	17.33	180	
غ.م	-----	-----	غ.م	------	أ. ف. م 0.05	

جدول 26:تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين PMT في اوراق الداتورة عند مرحلة الازهار.

الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$)	CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0	17.56	37.60	20.04	0.05-	1.03
25	17.53	37.60	20.07	0.01-	1.02
50	17.44	37.52	20.08	0.00	1.02
75	17.57	37.63	20.07	0.02-	1.01
أ. ف. م 0.05	-------	غ. م	-----	-----	غ. م

المغنيسيوم النانوي (ملغم Mg لتر$^{-1}$)	CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0	17.60	37.65	20.04	0.04-	1.03
60	17.65	37.71	20.06	0.03-	1.03
120	17.46	37.55	20.09	0.00	1.00
180	17.39	37.46	20.07	0.01-	1.02
أ. ف. م 0.05	--------	غ. م	-----	-----	غ. م

تداخل الفسفور مع المغنيسيوم النانوي		CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0	0	17.69	37.78	20.09	0.00	1.00
	60	17.71	37.69	19.98	0.10-	1.07
	120	17.31	37.41	20.10	0.01	0.99
	180	17.53	37.52	20.00	0.09-	1.07
25	0	17.51	37.48	19.96	0.12-	1.09
	60	17.58	37.65	20.07	0.01-	1.01
	120	17.44	37.55	20.11	0.02	0.99
	180	17.60	37.74	20.14	0.06	0.99
50	0	17.65	37.68	20.03	0.06-	1.04
	60	17.44	37.55	20.11	0.03	1.02
	120	17.57	37.68	20.10	0.02	1.00
	180	17.09	37.17	20.08	0.00	1.00
75	0	17.55	37.65	20.10	0.01	0.99
	60	17.89	37.95	20.07	0.02-	1.01
	120	17.49	37.54	20.05	0.04-	1.03
	180	17.33	37.39	20.06	0.02-	1.02
أ. ف. م 0.05		------	غ.م	-----	-----	غ.م

جدول 27: تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين TR1 في اوراق الداتورة عند مرحلة الازهار.

الفسفور (كغم P هـ-1)		CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0		17.56	33.80	16.24	0.06-	1.05
25		17.53	33.81	16.28	0.03-	1.03
50		17.44	33.73	16.29	0.01-	1.02
75		17.57	33.82	16.26	0.05-	1.03
أ. ف. م 0.05		-------	غ. م	-----	-----	غ. م
المغنيسيوم النانوي (ملغم Mg لتر-1)		CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0		17.60	33.84	16.24	0.07-	1.05
60		17.65	33.92	16.27	0.03-	1.03
120		17.46	33.75	16.29	0.01-	1.01
180		17.39	33.66	16.27	0.03-	1.03
أ. ف. م 0.05		-------	غ. م	-----	-----	غ. م
تداخل الفسفور مع المغنيسيوم النانوي		CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0	0	17.69	34.00	16.30	0.00	1.00
	60	17.71	33.90	16.19	0.11-	1.08
	120	17.31	33.59	16.28	0.03-	1.02
	180	17.53	33.72	16.19	0.11-	1.08
25	0	17.51	33.71	16.19	0.11-	1.08
	60	17.58	33.86	16.28	0.02-	1.02
	120	17.44	33.74	16.30	0.01-	1.01
	180	17.60	33.94	16.34	0.04	1.00
50	0	17.65	33.90	16.25	-0.05	1.03
	60	17.44	33.77	16.33	0.03	1.02
	120	17.57	33.87	16.30	0.00	1.01
	180	17.09	33.37	16.28	0.02-	1.02
75	0	17.55	33.75	16.20	0.10-	1.07
	60	17.89	34.16	16.27	0.03-	1.02
	120	17.49	33.78	16.29	0.01-	1.01
	180	17.33	33.59	16.26	0.04-	1.03
أ. ف. م 0.05		------	غ.م	-----	-----	غ.م

بينت نتائج جدول 28 ان رش المغنيسيوم النانوي سبب زيادة معنوية في عتبة الدورة لجين H6H في اوراق الداتورة عند مرحلة الازهار، اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اعلى عدد دورات بلغ 30.95 دورة مقارنة بمعاملة عدم الرش التي اعطت عدد دورات 30.66 دورة، ان هذه الزيادة بعدد الدورات نتيجة لزيادة تركيز الرش بالمغنيسيوم النانوي سببت انخفاضا معنويا في التعبير النسبي لجين H6H في اوراق الداتورة عند مرحلة الازهار، اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اقل تعبير نسبي بلغ 0.74 مرة من معاملة المقارنة، كذلك بين جدول 31 عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات 0 و60 و120 ملغم Mg لتر$^{-1}$ في قيم التعبير النسبي لجين H6H، ان انخفاض التعبير النسبي عند زيادة مستويات المغنيسيوم النانوي ربما تعزى الى ان المغنيسيوم يحفز من بعض الانزيمات التي تنقل الاشارة للجينات وبالتالي ينخفض او يزداد تعبير وعمل هذه الجينات تبعا لاحتياج النبات (Li واخرون،2022).

وضحت نتائج جدول 28 ان اضافة الفسفور سببت انخفاضا معنويا في التعبير النسبي لجين H6H في اوراق الداتورة عند مرحلة الازهار، اذ بلغ 0.91 و 0.92 و 0.93 مرة عن معاملة عدم اضافة الفسفور، ان انخفاض التعبير النسبي نتيجة لاضافة الفسفور ربما يعزى لسيطرة الفسفور على عمل الاشارات المحفزة لعمل جين H6H وبالتالي ربما يكون سبب بتحويل اشارة لتثبيط عمل هذا الجين (Shi واخرون،2022).

كذلك وضحت نتائج جدول 28 وجود تداخلا معنويا بين معاملات اضافة الفسفور ومعاملات رش مغنيسيوم النانوي في التعبير النسبي لجين H6H في اوراق الداتورة عند مرحلة الازهار، اذ سبب تداخل معاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ مع 120 Mg لتر$^{-1}$ انخفاض بلغ 0.61 عن معاملة المقارنة.

جدول 28 : تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عتبة الدورة (CT) والتعبير النسبي لجين H6H في اوراق الداتورة عند مرحلة الازهار.

الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$)		CT Actin gene	CT of PMT gene	Δ CT of PMT gene	ΔΔ CT of PMT gene	التعبير النسبي
0		17.56	30.59	13.03	0.04-	1.03
25		17.53	30.78	13.25	0.17	0.91
50		17.44	30.68	13.24	0.16	0.92
75		17.57	30.81	13.24	0.17	0.93
أ. ف. م 0.05		------	غ. م	-----	-----	0.098
المغنيسيوم النانوي (ملغم Mg لتر$^{-1}$)		**CT Actin gene**	**CT of PMT gene**	**Δ CT of PMT gene**	**ΔΔ CT of PMT gene**	**التعبير النسبي**
0		17.60	30.66	13.05	0.02-	1.02
60		17.65	30.72	13.07	0.01-	1.02
120		17.46	30.53	13.07	0.00	1.01
180		17.39	30.95	13.57	0.49	0.74
أ. ف. م 0.05		------	0.238	-----	-----	0.098
تداخل الفسفور مع المغنيسيوم النانوي		**CT Actin gene**	**CT of PMT gene**	**Δ CT of PMT gene**	**ΔΔ CT of PMT gene**	**التعبير النسبي**
0	0	17.69	30.77	13.08	0.00	1.00
	60	17.71	30.69	12.98	0.09-	1.07
	120	17.31	30.38	13.07	0.01-	1.01
	180	17.53	30.53	13.00	0.07-	1.05
25	0	17.51	30.58	13.07	0.01-	1.01
	60	17.58	30.67	13.10	0.02	0.99
	120	17.44	30.54	13.10	0.02	0.99
	180	17.60	31.33	13.74	0.66	0.63
50	0	17.65	30.72	13.07	0.01-	1.01
	60	17.44	30.55	13.12	0.04	1.01
	120	17.57	30.68	13.10	0.03	0.99
	180	17.09	30.75	13.66	0.59	0.67
75	0	17.55	30.56	13.01	0.07-	1.05
	60	17.89	30.95	13.07	0.01-	1.01
	120	17.49	30.52	13.03	0.05-	1.03
	180	17.33	31.20	13.87	0.79	0.61
أ. ف. م 0.05		-----	0.476	-----	-----	0.195

4-3- تأثير الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في بعض صفات النمو الخضري للداتورة

4-3-1- ارتفاع النبات (سم)

بينت نتائج تحليل التباين (ملحق2) وجود تأثيرا معنويا لمعاملات اضافة الفسفور في ارتفاع الداتورة.

اظهرت نتائج جدول 29، ان اضافة الفسفور سببت زيادة معنوية في ارتفاع النبات، اذ اعطت المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ اعلى متوسط لارتفاع النبات بلغ 80.62 سم، متفوقة على معاملة عدم الاضافة التي اعطت اقل متوسط بلغ 52.31 سم، والتي لم تختلف معنويا عن المعاملة 25 و 50 كغم P هـ$^{-1}$ التي اعطت متوسطات 59.28 و66.99 سم، ان التفوق بارتفاع النبات بزيادة مستويات السماد الفوسفاتي ربما يعود الى دور الفسفور بتنشيط الانقسام الخلوي من خلال دخوله في تكوين المركبات الغنية بالطاقة (ATP ، CTP، GTP)، وكذلك دخوله في تركيب الاحماض النووية DNA و RNA والمرافقات الانزيمية وبالتالي تعمل على زيادة النمو وتطور وانقسام الخلايا النباتية (Alinijad، 2020)، بالاضافة الى زيادة نشاط العمليات الحيوية في الخلايا وتنظيم مستوى الهرمونات ودخوله بتكوين مشتقات الأمينات، التي تعمل على تنظيم تكوين حامض الجبريليك (Gibberellic acid) وتجعل النبات اكثر سمكا وذات ارتفاعات مناسبة تمنعها من الرقاد (Izadi، 2022). تتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه Bozhinova (2016) من ان السماد الفوسفاتي يعمل على زيادة ارتفاع النبات في نباتات العائلة الباذنجانية.

يوضح ايضا جدول 29 عدم وجود تاثيرا معنويا لمعاملات الرش بالمغنيسيوم النانوي في ارتفاع النبات، وكذلك عدم وجود تداخلا معنويا بين معاملات اضافة الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي.

جدول 29: تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في ارتفاع نبات الداتورة (سم)

المغنيسيوم (ملغم Mg لتر⁻¹)	الفسفور (كغم P هـ⁻¹) 0	25	50	75	متوسط المغنيسيوم
0	50.54	57.62	65.53	78.60	63.07
60	50.22	58.03	66.41	79.93	63.65
120	52.77	59.91	67.60	80.53	65.20
180	55.70	61.55	68.41	83.41	67.27
أ.ف.م 0.05		غ.م			غ.م
متوسط الفسفور	52.31	59.28	66.99	80.62	
أ.ف.م 0.05		12.534			

4-3-2- عدد الافرع (فرع نبات$^{-1}$)

بينت نتائج تحليل التباين (ملحق 2) وجود تاثيرا معنويا لمعاملات اضافة الفسفور في عدد افرع نبات الداتورة.

وضحت نتائج جدول 30، ان اضافة الفسفور سببت زيادة معنوية في عدد افرع نبات الداتورة، اذ اعطت المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ اعلى متوسط لعدد الافرع بلغ 38.59 فرع. نبات$^{-1}$ متفوقة على معاملة عدم الاضافة التي اعطت متوسط بلغ 12.64 فرع.نبات^{1}، بينما اعطت المعاملتين 25 و 50 كغم P هـ$^{-1}$ متوسطين بلغا 19.84 و 27.62 فرع نبات$^{-1}$، بالتتابع، ربما تعزى هذه الزيادة بعدد الافرع الى دور الفسفور في تحسين انتشار المجموع الجذري وبالتالي زيادة امتصاص العناصر الغذائية من مساحة اكبر وتوفير المواد الاولية اللازمة لانقسام الخلايا ونموها وتطورها و بزوغ الافرع ، اضافة لدور الفسفور في تحفيز النبات على انتاج السايتوكاينينات والتي لها دور مهم في زيادة نمو البراعم الجانبية وبالتالي زيادة عدد التفرعات نتيجة لكسر السيادة القمية . اتت هذه النتيجة متناغمة مع ما توصل اليه Tuwei (2013) من ان السماد الفوسفاتي يعمل على زيادة عدد افرع النبات في نباتات العائلة الباذنجانية.

جدول 30: تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في عدد افرع الداتورة (فرع نبات$^{-1}$)

المغنيسيوم	الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$)				متوسط المغنيسيوم
(ملغم Mg لتر$^{-1}$)	0	25	50	75	
0	12.40	19.95	27.69	38.52	24.64
60	12.68	19.59	27.37	38.69	24.58
120	12.83	19.89	27.77	38.77	24.81
180	12.66	19.92	27.64	38.37	24.65
أ.ف.م		غ.م			غ.م
متوسط الفسفور	12.64	19.84	27.62	38.59	
أ.ف.م		6.983			

اظهرت نتائج جدول 30 ، عدم وجود تاثيرا معنويا لمعاملات الرش بالمغنسيوم النانوي في عدد افرع نبات الداتورة، وكذلك عدم وجود تاثيرا معنويا لتداخل معاملات اضافة الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي.

4-3-3- عدد الاوراق (ورقة نبات$^{-1}$)

اوضحت نتائج تحليل التباين (ملحق2) وجود تاثيرا معنويا لمعاملات الفسفور و معاملات رش المغنيسيوم النانوي وتداخلهما في عدد اوراق نبات الداتورة.

بينت نتائج جدول 31، ان اضافة الفسفور سببت زيادة معنوية في عدد الاوراق اذ اعطت المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ اعلى متوسط لعدد الاوراق في نبات الداتورة بلغ 168.18 ورقة نبات$^{-1}$، متفوقة على معاملة عدم الاضافة التي اعطت متوسط بلغ 83.30 ورقة نبات$^{-1}$، بينما اعطت المعاملتين 25 و 50 كغم P هـ$^{-1}$ متوسطين بلغا 98.72 و 122.99 ورقة نبات$^{-1}$، بالتتابع، وقد يعزى سبب زيادة عدد الاوراق الى دور الفسفور بزيادة عدد الافرع في النبات (جدول30) مما ينعكس على زيادتها، او ربما لدور الفسفور من خلاله دخوله في تركيب الانزيمات اللازمة لتفاعلات الطاقة في عملية التمثيل الضوئي وكذلك اشتراكه في تمثيل البروتينات النووية مما يعمل على زيادة عدد مناشئ الاوراق (Vashaei، 2019). تتفق هذه

النتيجة مع ما توصل اليه Tuwei(2013) من ان السماد الفوسفاتي يعمل على زيادة عدد افرع النبات في نباتات العائلة الباذنجانية

جدول 31: تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في عدد اوراق الداتورة (ورقة نبات$^{-1}$)

المغنيسيوم	الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$)				متوسط المغنيسيوم
(ملغم Mg لتر$^{-1}$)	0	25	50	75	
0	81.61	92.72	110.70	132.38	104.35
60	81.52	94.45	109.49	142.91	107.09
120	83.50	100.27	124.61	157.83	116.55
180	86.58	107.45	147.14	239.59	145.19
أ.ف.م		17.626			35.251
متوسط الفسفور	83.30	98.72	122.99	168.18	
أ.ف.م		17.626			

كما بين جدول 31 ان رش المغنيسيوم النانوي سببت زيادة معنوية في عدد اوراق نبات الداتورة، اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اعلى متوسط لعدد الاوراق بلغ 145.19 ورقة نبات$^{-1}$، متفوقة على معاملة المقارنة التي اعطت متوسط بلغ 104.35 ورقة نبات$^{-1}$، بينما لم تختلف معنويا عن المعاملتين 60 و 120 ملغم Mg لتر$^{-1}$، ربما يعزى زيادة عدد الاوراق الى دور المغنيسيوم النانوي في زيادة توفر بكتات المغنيسيوم التي تشترك مع بكتات الكالسيوم في لصق ألياف السليلوز عند بناء جدر الخلايا، وبتالي زيادة عملية انقسام الخلايا مما يعمل على زيادة عدد الاوراق (Mutisya واخرون،2014). تتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه Harris واخرون ،(2018) من ان التغذية بالمغنيسيوم تعمل على زيادة عدد افرع الاوراق في نباتات العائلة الباذنجانية.

اظهرت نتائج جدول 31 وجود تداخلا معنويا بين معاملات الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي في عدد افرع الداتورة، اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متداخلة مع المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ اعلى عدد اوراق لنبات الداتورة بلغ 239.59 ورقة نبات$^{-1}$، بينما اعطت

مستويات المغنيسيوم النانوي الاربعة متداخلة مع معاملة عدم اضافة الفسفور اقل المتوسطات لعدد الاوراق.

4-3-4- المساحة الورقية (سم^2)

اوضحت نتائج تحليل التباين (ملحق 2) وجود تاثيرا معنويا لمعاملات اضافة الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي وتداخلهما في المساحة الورقية لنبات الداتورة.

بينت نتائج جدول32 ، ان اضافة الفسفور سببت زيادة معنوية في المساحة الورقية لنبات الداتورة، اذ اعطت المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ اعلى متوسط بلغ 2549.96 سم^2 ،بالتتابع، متفوقة على معاملة عدم الاضافة التي اعطت متوسط بلغ 1897.39 سم^2، والتي لم تختلف معنويا عن المعاملتين 25 و 50 كغم P هـ$^{-1}$ اذ اعطتا متوسطين بلغا 1942.18 و 1987.62 سم^2 ، يمكن ان يرجع سبب زيادة المساحة الورقية الى دور الفسفور في تكوين الاغشية الخلوية والمساهمة في نقل السكريات وبالتالي توسع الاوراق ، اضافة لزيادة عدد الاوراق في النبات (جدول 31). تتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه Manohar(2012) من ان السماد الفوسفاتي يعمل على زيادة المساحة الورقية في نباتات العائلة البادنجانية.

اظهرت نتائج جدول 32، ان رش المغنيسيوم النانوي سببت زيادة معنوية في المساحة الورقية لنبات الداتورة، اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اعلى متوسط للمساحة الورقية بلغ 2389.62 سم، متفوقة على معاملة المقارنة التي اعطت متوسط بلغ 1971.84 سم^2 ، ربما يعزى هذا التفوق الى زيادة عدد الاوراق في النبات (جدول 31)، او ربما لدخول المغنيسيوم في جزيئة الكلوروفيل مما يعمل على زيادة عملية التمثيل الضوئي مما وفر الطاقة و المواد الممثلة اللازمة لعملية الانقسام و بالتالي توسع الورقة.

اوضحت نتائج جدول 32 وجود تداخلا معنويا بين معاملات اضافة الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي في المساحة الورقية للداتورة، اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متداخلة مع 75 كغم P هـ$^{-1}$ اعلى مساحة ورقية لنبات الداتورة بلغت 3628.59 سم^2، بينما اعطت مستويات المغنيسيوم النانوي الاربعة متداخلة مع معاملة عدم اضافة الفسفور اقل المتوسطات للمساحة الورقية.

جدول 32 تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في المساحة الورقية الداتورة (سم^{2})

المغنيسيوم (ملغم Mg لتر$^{-1}$)	الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$) 0	25	50	75	متوسط المغنيسيوم
0	1894.22	1927.40	1952.37	2113.38	1971.84
60	1876.82	1934.37	1956.22	2178.52	1986.48
120	1905.58	1946.59	1985.28	2279.34	2029.20
180	1912.94	1960.37	2056.60	3628.59	2389.62
أ.ق.م	511.443				255.722
متوسط الفسفور	1897.39	1942.18	1987.62	2549.96	
أ.ق.م	255.722				

4-4- تأثير الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في تركيز كلوروفيل a و b في اوراق الداتورة.

4-4-1- تركيز كلوروفيل a في الاوراق (ملغم غم$^{-1}$)

اوضحت نتائج تحليل التباين (ملحق 2) وجود تاثيرا معنويا لمعاملات اضافة الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي وتداخلهما في تركيز كلوروفيل a في اوراق الداتورة.

بينت نتائج جدول 33، ان اضافة الفسفور سببت زيادة معنوية في تركيز كلوروفيل a في الاوراق، اذ اعطتا المعاملتين 50 و 75 كغم P هـ$^{-1}$ اعلى متوسطين بلغا 24.59 و 32.27 ملغم غم$^{-1}$، بالتتابع، متفوقة على معاملة عدم الاضافة التي اعطت متوسط بلغ 12.85 ملغم غم$^{-1}$، بينما اعطت المعاملة 25 كغم P هـ$^{-1}$ متوسطا بلغ 19.54 ملغم غم$^{-1}$. يمكن ان يعزى سبب زيادة تركيز كلوروفيل a الى ان السماد الفوسفاتي سبب زيادة في مساحة الاوراق (جدول 32) وبالتالي استلام اكبر قدر ممكن من اشعة الشمس مؤدية الى زيادة عملية البناء الضوئي وبالتالي زيادة تراكم الكلوروفيل في النبات، اضافة لدور الفسفور الذي يعمل على تنشيط بعض الانزيمات المسؤولة عن بناء الكلوروفيل (Manohar واخرون، 2012). تتفق هذه النتيجة مع ما توصل

اليه , AlBauome, Helaly (2020) من ان السماد الفوسفاتي يعمل على زيادة محتوى كلوروفيل النبات في نباتات العائلة الباذنجانية.

كما بين جدول 33 ان رش المغنيسيوم النانوي سبب زيادة معنوية في تركيز كلوروفيل a في الاوراق، اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اعلى متوسط لكلوروفيل a بلغ 29.58 ملغم غم$^{-1}$، متفوقة على معاملة المقارنة التي اعطت متوسط بلغ 16.85 ملغم غم$^{-1}$، بينما اعطت المعاملتين 60 و 120 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متوسطين بلغا 19.00 و 23.82 ملغم غم$^{-1}$، ربما يعزى هذا التفوق لكون عنصر المغنيسيوم جزء اساسي لتكوين الكلوروفيل وبالتالي زيادة توفره تعمل على زيادة تكون الكلوروفيل a. تتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه Gokul واخرون (2021). من ان رش المغنيسيوم يعمل على زيادة محتوى كلوروفيل النبات في نباتات العائلة الباذنجانية.

اظهرت نتائج جدول 33 وجود تداخلا معنويا بين معاملات اضافة الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي في تركيز كلوروفيل a في الاوراق، اذ اعطت التوليفة75 كغم P هـ$^{-1}$ متداخلة مع المعاملتين 120 و 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اعلى تركيزا لكلوروفيل a في الاوراق بلغا 34.47 و 46.28 ملغم غم$^{-1}$، بينما اعطت مستويات المغنيسيوم النانوي الاربعة متداخلة مع معاملة عدم اضافة الفسفور اقل المتوسطات لتركيز كلوروفيل a في اوراق الداتورة.

جدول 33: تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في تركيز كلوروفيل a في اوراق الداتورة (ملغم غم$^{-1}$)

المغنيسيوم (ملغم Mg لتر$^{-1}$)	الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$) 0	25	50	75	متوسط المغنيسيوم
0	12.34	15.84	18.76	20.47	16.85
60	12.45	17.86	17.85	27.85	19.00
120	12.97	20.36	27.48	34.47	23.82
180	13.64	24.11	34.28	46.28	29.58
أ.ف.م		6.683			3.341
متوسط الفسفور	12.85	19.54	24.59	32.27	
أ.ف.م		3.341			

4-4-2- تركيز كلوروفيل b في الاوراق (ملغم غم$^{-1}$)

وضحت نتائج تحليل التباين (ملحق 2) وجود تاثيرا معنويا لمعاملات الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي وتداخلهما في تركيز كلوروفيل b في اوراق الداتورة.

بينت نتائج جدول 34 ان اضافة الفسفور سببت زيادة معنوية في تركيز كلوروفيل b في اوراق الداتورة، اذ اعطتا المعاملتين 50 و 75 كغم P هـ$^{-1}$ اعلى متوسطين بلغا 17.42 و 18.71 ملغم غم$^{-1}$ بالتتابع ، متفوقة على معاملة عدم الاضافة التي اعطت متوسط بلغ 8.01 ملغم غم$^{-1}$، بينما اعطت المعاملة 25 كغم P هـ$^{-1}$ متوسط بلغ 11.35 ملغم غم$^{-1}$، يمكن ان يعزى سبب زيادة تركيز كلوروفيل b الى ان السماد الفوسفاتي سبب زيادة في مساحة الاوراق (جدول32) مما سبب زيادة تراكم الكلوروفيل في النبات (Nasir و Khan ،2012)، او يمكن ان يعزى لدور الفسفور في تطوير المجموع الجذري وبالتالي زيادة امتصاص العناصر الغذائية مما يعمل على زيادة تركيز كلوروفيل b في الاوراق (Manohar واخرون ،2012). تتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه , Helaly و AlBauome (2020) من ان السماد الفوسفاتي يعمل على زيادة محتوى كلوروفيل النبات في نباتات العائلة الباذنجانية.

جدول 34 : تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في تركيز كلوروفيل b في اوراق الداتورة (ملغم غم$^{-1}$).

المغنيسيوم (ملغم Mg لتر$^{-1}$)	الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$)				متوسط المغنيسيوم
	0	25	50	75	
0	7.56	9.17	11.85	12.67	10.31
60	7.71	10.16	14.84	15.84	12.14
120	8.13	11.85	17.67	19.64	14.32
180	8.65	14.22	25.34	26.68	18.72
أ.ف.م	5.291				2.645
متوسط الفسفور	8.01	11.35	17.42	18.71	
أ.ف.م	2.645				

كما بين جدول34 ان رش المغنيسيوم النانوي سبب زيادة معنوية في تركيز كلوروفيل b في اوراق الداتورة، اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اعلى تركيز للكلوروفيل b بلغ 18.72 ملغم غم$^{-1}$، متفوقة على معاملة المقارنة التي اعطت متوسط بلغ 10.31 ملغم غم$^{-1}$، بينما اعطت المعاملتين 60 و 120 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متوسطين بلغا 12.14 و 14.32 ملغم غم$^{-1}$، بالتتابع، قد يعزى هذا التفوق لكون عنصر المغنيسيوم جزء اساسي لتكوين الكلوروفيل وبالتالي زيادة توفره تعمل على زيادة تكون الكلوروفيل b .تتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه Gokul واخرون،(2021)، من ان رش المغنيسيوم يعمل على زيادة محتوى كلوروفيل النبات في نباتات العائلة الباذنجانية.

اظهرت نتائج جدول 34 وجود تداخلا معنويا بين اضافة الفسفور ورش بالمغنيسيوم النانوي في تركيز كلوروفيل b في اوراق الداتورة، اذ اعطت التوليفة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متداخلة مع المعاملتين 50 و75 كغم P هـ$^{-1}$ اعلى تركيز لكلوروفيل b في اوراق الداتورة بلغا 25.34 و 26.68 ملغم غم$^{-1}$ بالتتابع، بينما اعطت مستويات المغنيسيوم الاربعة متداخلة مع معاملة عدم اضافة الفسفور اقل المتوسطات لتركيز كلوروفيل b في اوراق الداتورة.

4-5 تأثير الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في نسبة بعض العناصر الكيميائية في اوراق الداتورة.

4-5-1- نسبة النتروجين في الاوراق (%)

بينت نتائج تحليل التباين (ملحق 2) وجود تأثيرا معنويا لمعاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في تركيز النتروجين في الاوراق.

اظهرت نتائج جدول 35، ان اضافة الفسفور سببت زيادة معنوية في تركيز النتروجين في اوراق الداتورة، اذ اعطت المعاملتين 50 و 75 كغم P هـ$^{-1}$ اعلى متوسطين بلغا 3.05 و 3.06 % متفوقة على معاملة عدم الاضافة التي اعطت اقل متوسط بلغ 2.19 %، بينما اعطت المعاملة 25 كغم P هـ$^{-1}$ تركيزا بلغ 2.70 %، ربما يعود هذا التفوق الى الدور المهم للفسفور في العمليات الحيوية المختلفة وانعكاس ذلك على زيادة كفاءة النباتات ومقدرته على امتصاص النتروجين فارتفاع نسبته في الاوراق تسبب زيادة مقدرة النباتات على الاستفادة من النتروجين وزيادة معدل امتصاصه (الزوبعي واخرون،2000).

اظهرت نتائج جدول 35 ان اضافة المغنيسيوم النانوي سببت زيادة معنوية في تركيز النتروجين بالاوراق اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg هـ$^{-1}$ اعلى تركيز بلغ 3.10 % متفوقة على معاملة عدم الاضافة اقل متوسط بلغ 2.53 % ، ربما يعزى هذا التفوق الى ان المغنيسيوم سبب تحسين امتصاص الجذور للعناصر الغذائية ومنها النتروجين وبالتالي زيادة تركيزه في الاوراق (Heenan و Campbell، 1981).

اظهرت نتائج جدول 35، وجود تداخلا معنويا بين معاملات الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي في تركيز النتروجين في الاوراق اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متداخلة مع المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ اعلى تركيز بلغ 3.64 % بينما اعطت معاملات رش الماء فقط اقل متوسط بلغ 2.03 %.

جدول 35: تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في نسبة النتروجين في اوراق الداتورة (%)

المغنيسيوم (ملغم Mg لتر$^{-1}$)	الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$) 0	25	50	75	متوسط المغنيسيوم
0	2.03	2.55	2.75	2.78	2.53
60	2.13	2.66	2.87	2.86	2.63
120	2.25	2.76	2.98	2.95	2.73
180	2.35	2.84	3.58	3.64	3.10
أ.ف.م		0.203			0.101
متوسط الفسفور	2.19	2.70	3.05	3.06	
أ.ف.م		0.101			

4-5-2- نسبة الفسفور في اوراق الداتورة (%)

بينت نتائج تحليل التباين (ملحق 2) وجود تأثيرا معنويا لمعاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم وتداخلهما في تركيز الفسفور في اوراق الداتورة.

اظهرت نتائج جدول 36، ان اضافة الفسفور سببت زيادة معنوية في تركيز الفسفور في الاوراق اذ اعطت المعاملتين 50 و 75 كغم P هـ$^{-1}$ اعلى تركيزين بلغا 0.69 و

0.73 % . متفوقة على معاملة عدم الاضافة التي اعطت اقل نسبة بلغت 0.32 % يعود هذا التفوق الى ان الاضافة المباشرة لهذا العنصر يزيد من جاهزيته مما يزيد من امتصاصه من قبل النبات وبالتالي زيادة نسبته في انسجة النبات (الجبوري وصحن، 2006).

اظهرت نتائج جدول 36، ان اضافة المغنيسيوم النانوي سببت زيادة معنوية في نسبة الفسفور في اوراق الداتورة اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg هـ$^{-1}$ اعلى تركيز بلغ 0,80 % ، متفوقة على معاملة عدم الرش التي اعطت نسبة بلغت 0.43 % ، ربما يعزى هذا التفوق الى دور المغنيسيوم النانوي بتحسين قابلية الجذر على امتصاص العناصر الغذائية ومنها الفسفور (Geng واخرون، 2021).

اظهرت نتائج جدول 36، وجود تداخلا معنويا بين معاملات الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي في نسبة الفسفور في الاوراق اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متداخلة مع المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ اعلى متوسط اذ بلغ 1.17 %، بينما اعطت معاملات عدم الاضافة اقل متوسط بلغ 0.26 %.

جدول 36 : تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في نسبة الفسفور في نبات الداتورة (%).

المغنيسيوم (ملغم Mg لتر$^{-1}$)	الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$) 0	25	50	75	متوسط المغنيسيوم
0	0.26	0.41	0.51	0.54	0.43
60	0.31	0.44	0.53	0.59	0.47
120	0.33	0.47	0.55	0.62	0.49
180	0.38	0.50	1.15	1.17	0.80
أ.ف.م	0.276				0.138
متوسط الفسفور	0.32	0.46	0.69	0.73	
أ.ف.م	0.138				

4-5-3- نسبة البوتاسيوم في اوراق الداتورة (%)

بينت نتائج تحليل التباين (ملحق 2) وجود تأثيرا معنويا لمعاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في نسبة البوتاسيوم في اوراق الداتورة.

اظهرت نتائج جدول 37 ، ان اضافة الفسفور سببت زيادة معنوية في تركيز البوتاسيوم في الاوراق اذ اعطتا المعاملتين 50 و 75 كغم P هـ$^{-1}$ اعلى نسب بلغت 1.82 و 1.83 %، متفوقة على معاملة عدم الاضافة التي اعطت اقل تركيز بلغ 1.32 %. ربما يعود هذا التفوق الى دور السماد الفوسفاتي بتحسين كفاءة النبات على امتصاص المغذيات ومنها البوتاسيوم من خلال زيادة انتشار المجموع الجذري ومن ثم تراكمه في الاوراق (الجبوري و صحن 2006) . تتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه Nasir(2009) من ان السماد الفوسفاتي يعمل على زيادة نسبة البوتاسيوم في نباتات العائلة الباذنجانية.

اظهرت نتائج جدول 37، ان اضافة المغنيسيوم النانوي سببت زيادة معنوية في نسبة البوتاسيوم بالاوراق اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg هـ$^{-1}$ اعلى متوسط بلغ 1.94 % متفوقة على معاملة عدم الاضافة التي اعطت متوسط بلغ 1.49 % ، ربما يعزى هذا التفوق الى دور المغنيسيوم بتحسين كفاءة النبات على امتصاص المغذيات، اذ يعمل بطريقة مباشرة او غير مباشرة على تحسين البناء الحيوي للنبات مما يساهم في زيادة امتصاص العناصر الغذائية ومنها البوتاسيوم وايونات اخرى لزيادة التركيز في الاوراق النباتية (Geng واخرون، 2019).

اظهرت نتائج جدول 37 وجود تداخلا معنويا بين معاملات الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي في تركيز البوتاسيوم في الاوراق اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متداخلة مع المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ اعلى متوسط اذ بلغ 2.33 %، بينما اعطت معاملات عدم الاضافة اقل متوسط بلغ 1.22 %.

جدول 37: تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في نسبة البوتاسيوم في اوراق الداتورة (%)

المغنيسيوم (ملغم Mg لتر$^{-1}$)	الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$)				متوسط المغنيسيوم
	0	25	50	75	
0	1.22	1.54	1.60	1.61	1.49
60	1.28	1.60	1.67	1.66	1.55
120	1.35	1.65	1.73	1.73	1.62
180	1.41	1.71	2.30	2.33	1.94
أ.ف.م	0.216				0.108
متوسط الفسفور	1.32	1.62	1.82	1.83	
أ.ف.م	0.108				

4-5-4- نسبة المغنيسيوم في اوراق الداتورة (%)

بينت نتائج تحليل التباين (ملحق 2) وجود تأثيرا معنويا لمعاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنسيوم النانوي وتداخلهما في نسبة المغنيسيوم في اوراق الداتورة.

اظهرت نتائج جدول 38، ان اضافة الفسفور سببت زيادة معنوية في نسبة المغنيسيوم في اوراق الداتورة، اذ اعطت المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ اعلى متوسط بلغ 0.78 %. متفوقة على معاملة عدم الرش التي اعطت اقل متوسط بلغ 0.55 % . ربما يعود هذا التفوق الى دور الفسفور في عمليات تكوين ATP المفيدة في النقل وتكوين المركبات الخلوية التي تحفز من زيادة تراكيز العناصر في النبات Wang، Frei (2011).

اظهرت نتائج جدول 38، ان رش المغنيسيوم النانوي سببت زيادة معنوية في تركيز المغنيسيوم بالاوراق اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg هـ$^{-1}$ اعلى متوسط بلغ 0.94 %، متفوقة على معاملة عدم الاضافة اقل متوسط بلغ 0.50 %. يعزى هذا التفوق الى رش المغنيسيوم النانوي على الاوراق بصورة مباشرة مما ادى الى امتصاصه من قبل الاوراق.

جدول 38: تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في نسبة المغنيسيوم في اوراق الداتورة (%)

المغنيسيوم (ملغم Mg لتر $^{-1}$)	الفسفور (كغم P هـ $^{-1}$) 0	25	50	75	متوسط المغنيسيوم
0	0.44	0.48	0.53	0.57	0.50
60	0.52	0.53	0.58	0.63	0.56
120	0.59	0.58	0.66	0.69	0.63
180	0.65	0.64	1.23	1.24	0.94
أ.ق.م		0.263			0.131
متوسط الفسفور	0.55	0.56	0.75	0.78	
أ.ق.م		0.131			

اظهرت نتائج جدول 38 وجود تداخلا معنويا بين معاملات الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي في تركيز المغنيسيوم في الاوراق اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر $^{-1}$ متداخلة مع المعاملة 75 كغم P هـ $^{-1}$ اعلى متوسط اذ بلغ 1.24 % بينما اعطت معاملات عدم الاضافة اقل متوسط بلغ 0.44 %.

4-6- حاصل الاوراق (كغم هـ $^{-1}$)

اوضحت نتائج تحليل التباين (ملحق 2) وجود تاثيرا معنويا لمعاملات اضافة الفسفور و رش المغنيسيوم النانوي وتداخلهما في حاصل اوراق الداتورة.

بينت نتائج جدول 39، ان اضافة الفسفور سببت زيادة معنوية في حاصل اوراق الداتورة، اذ اعطت المعاملة 75 كغم P هـ $^{-1}$ اعلى متوسط لحاصل اوراق الداتورة بلغ 974.50 كغم هـ $^{-1}$ ، متفوقة على معاملة عدم الاضافة التي اعطت متوسط بلغ 671.59 كغم هـ $^{-1}$، بينما اعطتا المعاملتين 25 و 50 كغم هـ $^{-1}$ متوسطين بلغا 797.80 و 945.76 كغم هـ $^{-1}$، بالتتابع. وربما تعزى زيادة حاصل الاوراق الى زيادة الكمية الممتصة من الفسفور في مراحل النمو المبكرة التي عملت على توفير الأسباب المؤدية لزيادة عدد الافرع و عدد الاوراق و المساحة

الورقية (الجداول 30 و31 و 32)، فضلاً عن دور الفسفور غير المباشر في امتصاص النتروجين و البوتاسيوم من خلال تطور المجموع الجذري مما يعمل على زيادة النمو الخضري (Bozhinova، 2016). تتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه Nasir (2009) من ان السماد الفوسفاتي يعمل على زيادة حاصل الاوراق في نبات الداتورة.

كما بين جدول 39 ان رش المغنيسيوم النانوي سبب زيادة معنوية في حاصل اوراق الداتورة، اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اعلى متوسط لحاصل الاوراق بلغ 903.09 كغم هـ$^{-1}$، متفوقة على معاملة المقارنة التي اعطت متوسط بلغ 815.21 كغم هـ$^{-1}$، بينما اعطت المعاملتين 60 و 120 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متوسطين بلغا 822.01 و 849.33 كغم هـ$^{-1}$، بالتتابع، قد يعزى هذا التفوق الى دور المغنيسيوم في زيادة عدد الاوراق والمساحة الورقية (الجدولين 31 ، 32) مما انعكس ايجابا في زيادة حاصل الاوراق.

اظهرت نتائج جدول 39 وجود تداخلا معنويا بين معاملات اضافة الفسفور ورش المغنيسيوم النانوي في حاصل اوراق الداتورة، اذ اعطت التوليفة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متداخلة مع المعاملتين 50 و75 كغم P هـ$^{-1}$ اعلى حاصلا للاوراق بلغا 1018.24 و 1088.66 كغم هـ$^{-1}$ بالتتابع، بينما اعطت معاملات المغنيسيوم الاربعة متداخلة مع معاملة عدم اضافة الفسفور اقل المتوسطات لحاصل اوراق الداتورة.

جدول 39: تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في حاصل الاوراق في الداتورة (كغم هـ$^{-1}$).

المغنيسيوم (ملغم Mg لتر$^{-1}$)	الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$) 0	25	50	75	متوسط المغنيسيوم
0	650.66	789.12	910.57	910.48	815.21
60	659.48	789.64	919.63	919.29	822.01
120	682.58	800.58	934.61	979.55	849.33
180	693.63	811.85	1018.24	1088.66	903.09
أ.ف.م	63.700				31.80
متوسط الفسفور	671.59	797.80	945.76	974.50	
أ.ف.م	31.850				

4-7- تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في بعض صفات النمو الثمري للداتورة.

4-7-1- عدد الثمار (ثمرة نبات$^{-1}$)

وضحت نتائج تحليل التباين (ملحق 2) وجود تاثيرا معنويا لمعاملات اضافة الفسفور في عدد ثمار الداتورة.

بين جدول 40، ان اضافة الفسفور سببت زيادة معنوية في عدد ثمار الداتورة، اذ اعطتا المعاملتين 50 و 75 كغم P هـ$^{-1}$ اعلى متوسطين لعدد الثمار بلغا 30.02 و 29.98 ثمرة نبات$^{-1}$ بالتتابع ، متفوقة على معاملة عدم الاضافة التي اعطت متوسط بلغ 20.83 ثمرة نبات$^{-1}$ ، يمكن ان تعزى هذه الزيادة الى لتفوق المعاملتين نفسيهما في اعطاء اعلى عدد افرع (جدول30) مما سبب زيادة عدد البراعم الزهرية وبالتالي زيادة عدد الثمار، كذلك يمكن ان يعزى لدور الفسفور بزيادة المساحة الورقية وتركيز كلوروفيل a و b (الجداول 32 ، 33 ،34) مما زاد كمية التمثيل الغذائي المهمة في زيادة البراعم الزهرية وتحفيزها على تكوين الثمار. تتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه Nasir (2009) من ان السماد الفوسفاتي يعمل على زيادة عدد الثمار في نباتات العائلة الباذنجانية.

كما بين جدول 40 عدم وجود تاثيرا معنويا لمعاملات رش المغنيسيوم النانوي وتداخله مع اضافة الفسفور في عدد ثمار نبات الداتورة.

جدول 40: تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في عدد الثمار في نبات الداتورة (ثمرة نبات$^{-1}$).

المغنيسيوم (ملغم Mg لتر$^{-1}$)	الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$) 0	25	50	75	متوسط المغنيسيوم
0	22.56	24.65	26.86	26.76	25.21
60	22.66	25.56	29.75	29.73	26.93
120	20.94	24.94	30.05	30.01	26.49
180	17.15	22.23	33.44	33.43	26.56
أ.ف.م		غ.م			غ.م
متوسط الفسفور	20.83	24.35	30.02	29.98	
أ.ف.م		3.957			

4-7-2- عدد البذور (بذرة نبات$^{-1}$)

وضحت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود تاثيرا معنويا لمعاملات اضافة الفسفور ورش المغنيسيوم النانوي والتداخل بينهما في عدد بذور الداتورة.

بينت نتائج جدول 41، ان اضافة الفسفور سببت زيادة معنوية في عدد بذور الداتورة، اذ اعطتا المعاملتين 50 و 75 كغم P هـ$^{-1}$ اعلى متوسطين لعدد البذور بلغا 228.14 و 224.86 بذرة نبات$^{-1}$ بالتتابع ، متفوقة على معاملة عدم الاضافة التي اعطت متوسط بلغ 163.22 بذرة نبات$^{-1}$، بينما اعطت المعاملة 25 كغم P هـ$^{-1}$ متوسطا بلغ179.64 بذرة نبات$^{-1}$، ويمكن ان يعزى سبب زيادة عدد بذور الداتورة الى ان توفر الفسفور ادى لزيادة النمو وذلك لاهميته في العمليات الحيوية للنبات بالاضافة الى مساهمته في تكوين الاحماض النووية وتكوين بعض المركبات الغنية بالطاقة لانه يلعب دورا مهما واساسيا كركيزة في البلاستيدات الخضراء لتخليق ATP Carstensenواخرون(2018)، وهذا اعطى عدد افرع (جدول30) وعدد ثمار (جدول40) ومن ثم زيادة عدد البذور. تتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه Nasir (2009) من ان السماد الفوسفاتي يعمل على زيادة عدد البذورفي نباتات العائلة الباذنجانية.

كما بين جدول 41 ان رش المغنيسيوم النانوي سببت زيادة معنوية في عدد البذور لنبات الداتورة، اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اعلى متوسط لعدد البذور بلغ 243.63 بذرة نبات$^{-1}$ ، متفوقة على معاملة المقارنة التي اعطت متوسط بلغ 174.36 بذرة نبات$^{-1}$، بينما اعطت المعاملتين 60 و 120 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متوسطين بلغا 180.09 و 197.78 بذرة نبات$^{-1}$، يمكن ان يعزى هذا التفوق الى تفوق المعاملة نفسها باعطاء اعلى عدد ثمار (جدول40) مما سبب زيادة عدد البذور. تتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه Gokul (2019) من ان المغنيسيوم يعمل على زيادة عدد البذور في نباتات العائلة الباذنجانية.

اظهرت نتائج جدول 41 وجود تداخلا معنويا بين معاملات اضافة الفسفور ورش المغنيسيوم النانوي في عدد بذور الداتورة، اذ اعطت التوليفة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متداخلة مع المعاملتين 50 و75 كغم P هـ$^{-1}$ اعلى عدد بذور لنبات الداتورة بلغا 288.63 و 330.61 بذرة نبات$^{-1}$ بالتتابع، بينما اعطى عامل المقارنة للمغنيسيوم متداخلة مع معاملة عدم اضافة الفسفور اقل متوسط بلغ 155.22 بذرة نبات$^{-1}$.

جدول 41: تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في عدد البذور لنبات الداتورة (بذرة نبات$^{-1}$).

المغنيسيوم (ملغم Mg لتر$^{-1}$)	الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$) 0	25	50	75	متوسط المغنيسيوم
0	155.22	176.32	198.41	167.47	174.36
60	159.46	177.48	206.75	176.66	180.09
120	165.61	182.05	218.75	224.70	197.78
180	172.60	182.70	288.63	330.61	243.63
أ.ف.م	44.756				22.378
متوسط الفسفور	163.22	179.64	228.14	224.86	
أ.ف.م	22.378				

4-7-3- وزن 1000 بذرة (غم)

اظهرت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود تاثيرا معنويا لمعاملات رش المغنيسيوم النانوي وتداخله مع اضافة الفسفور في وزن 1000 بذرة نبات داتورة، بينما لم يكن هناك تاثيرا معنويا لمعاملات اضافة الفسفور.

بين جدول 42 ان رش المغنيسيوم النانوي سببت زيادة معنوية في وزن 1000 بذرة لنبات الداتورة، اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اعلى متوسط بلغ 11.62 غم ، متفوقة على معاملة المقارنة التي اعطت متوسط بلغ 8.17 غم، بينما اعطت المعاملتين 60 و 120 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متوسطين بلغا 8.43 و 9.25 غم، يعزى هذا التفوق الى دور المغنيسيوم بزيادة الكلوروفيل a و b (جدول 33 و 34) مما يعمل على زيادة المواد الممثلة وتراكمها في البذور. تتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه Gokul (2019) من ان السماد الفوسفاتي يعمل على زيادة وزن البذور في نباتات العائلة الباذنجانية.

كما وضح جدول 42 وجود تداخلا معنويا بين معاملات اضافة الفسفور ورش المغنيسيوم النانوي في وزن 1000 بذرة لنبات الداتورة، اذ اعطت التوليفة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متداخلة مع المعاملتين 50 و75 كغم P هـ$^{-1}$ اعلى وزن بذور لنبات الداتورة بلغا 11.41 و

14.45غم، بالتتابع، بينما اعطت معاملة المقارنة للمغنيسيوم متداخلة مع معاملة عدم اضافة الفسفور اقل المتوسطات.

جدول 42 : تاثير مستويات الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في وزن 1000 بذرة لنبات الداتورة (غم).

المغنيسيوم	الفسفور (كغم P هـ-1)				متوسط
(ملغم Mg لتر-1)	0	25	50	75	المغنيسيوم
0	9.36	8.36	8.34	6.63	8.17
60	9.55	8.71	8.95	6.52	8.43
120	9.92	8.60	9.14	9.34	9.25
180	10.57	10.07	11.41	14.45	11.62
أ.ف.م	2.147				1.074
متوسط الفسفور	9.85	8.94	9.46	9.23	
أ.ف.م	غ.م				

4-7-4- حاصل البذور الكلي (كغم هـ-1)

وضحت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود تاثيرا معنويا لمعاملات اضافة الفسفور ورش المغنيسيوم النانوي والتداخل بينهما في حاصل بذور الداتورة الكلي.

بينت نتائج جدول43 ، ان اضافة الفسفور سببت زيادة معنوية في حاصل البذور الكلي، اذ اعطتا المعاملتين 50 و 75 كغم P هـ-1 اعلى متوسطين لحاصل البذور بلغا 501.36 و 503.49 كغم هـ-1، متفوقة على معاملة عدم الاضافة التي اعطت متوسط بلغ 320.29 كغم هـ-1، بينما اعطت المعاملة 25 كغم P هـ-1 متوسطا بلغ 384.12 كغم هـ-1، ويمكن ان يعزى هذا التفوق لدور الفسفور بزيادة عدد الافرع (جدول30) مما سبب زيادة في عدد الثمار (جدول 40)، وكذلك زيادة عدد البذور (الجدول 42) مما انعكس على زيادة حاصل البذور الكلي. تتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه Nasir (2009) من ان السماد الفوسفاتي يعمل على زيادة حاصل البذور الكلي في نباتات العائلة الباذنجانية.

كما بين جدول 43 ان رش المغنيسيوم النانوي سبب زيادة معنوية في حاصل البذور الكلي ، اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اعلى متوسط بلغ 486.17 كغم هـ$^{-1}$، متفوقة على معاملة المقارنة التي اعطت متوسط بلغ 395.49 كغم هـ$^{-1}$، ويمكن ان يعزى هذا التفوق لدور المغنيسيوم النانوي بزيادة عدد البذور و وزن البذور (الجداول41 و 42) مما انعكس على زيادة حاصل البذور الكلي.

جدول 43: تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في الحاصل الكلي لبذور الداتورة (كغم هـ$^{-1}$).

المغنيسيوم (ملغم Mg لتر$^{-1}$)	الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$) 0	25	50	75	متوسط المغنيسيوم
0	310.39	365.92	451.19	454.44	395.49
60	311.69	373.63	467.06	469.78	405.54
120	324.29	387.77	487.37	488.85	422.07
180	334.81	409.15	599.81	600.88	486.17
أ.ف.م	51.809				25.905
متوسط الفسفور	320.29	384.12	501.36	503.49	
أ.ف.م	25.905				

اظهرت نتائج جدول 43 وجود تداخلا معنويا بين معاملات اضافة الفسفور ورش المغنيسيوم النانوي في حاصل البذور الكلي، اذ اعطت التوليفة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متداخلة مع المعاملتين 50 و75 كغم P هـ$^{-1}$ اعلى حاصل بذور كلي لنبات الداتورة بلغا 599.81 و 600 كغم هـ$^{-1}$ بالتتابع، بينما اعطى عامل المقارنة في المغنيسيوم متداخل مع معاملة عدم اضافة الفسفور اقل المتوسطات لحاصل البذور الكلي بلغ 310.39 كغم هـ$^{-1}$.

4-8- تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في بعض الصفات النوعية للداتورة.

4-8-1- تركيز الاتروبين في الاوراق (ملغم .100غم$^{-1}$)

وضحت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود تاثيرا معنويا لمعاملات اضافة الفسفور ورش المغنيسيوم النانوي وتداخلهما في تركيز الاتروبين في اوراق الداتورة.

بينت نتائج جدول44، ان اضافة الفسفور سببت انخفاضا معنوية في تركيز الاتروبين في اوراق الداتورة، اذ اعطت المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ اقل متوسط بلغ 22.77 ملغم. 100غم$^{-1}$ ، بينما اعطت معاملة عدم الاضافة متوسط بلغ 48.86 ملغم .100غم$^{-1}$، في حين اعطت المعاملتين 25 و 50 كغم P هـ$^{-1}$ متوسطين بلغا 43.48 و 29.57 ملغم .100غم$^{-1}$، بالتتابع، يمكن يعزى هذا الاختزال بتركيز الاتروبين في اوراق الداتورة الى انخفاض التعبير النسبي لجين PMT في جذور الداتورة عند مرحلتي 7-8 ورقة والازهار (الجداول 17 و 20)، والذي يكون مسؤولا عن التشفير لانزيم putrescine N-methyl transferase الذي يساعد بانتاج قلويد الاتروبين.

كما بين جدول 44 ان رش المغنيسيوم النانوي سببت انخفاضا معنويا في تركيز الاتروبين في اوراق الداتورة، اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اقل تركيز الاتروبين في بذور الداتورة بلغ 29.50 ملغم.100 غم$^{-1}$، مقارنة بمعاملة المقارنة التي اعطت 41.43 ملغم .100غم$^{-1}$، بينما اعطت المعاملتين 60 و 120 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متوسطين بلغا 39.90 و 33.86 ملغم .100غم$^{-1}$، بالتتابع، قد يعزى هذا الانخفاض في تركيز الاتروبين في اوراق الداتورة الى ان المغذيات تعمل على اختزال عملية الايض الثانوي والتي احدى منتجاتها الاتروبين (Pyne واخرون،2019).

اظهرت نتائج جدول 44 وجود تداخلا معنويا بين معاملات اضافة الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي في تركيز الاتروبين في اوراق الداتورة، اذ اعطت التوليفة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متداخلة مع المعاملتين 50 و75 كغم P هـ$^{-1}$ اقل نسبة تركيز الاتروبين في اوراق الداتورة بلغتا 19.87 و 10.89 ملغم.100 غم$^{-1}$، بالتتابع، بينما اعطت معاملات رش المغنيسيوم النانوي الاربعة متداخلة مع معاملة عدم اضافة الفسفور اعلى المتوسطات.

جدول 44: تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في تركيز الاتروبين في اوراق نبات الداتورة (ملغم .100غم$^{-1}$).

المغنيسيوم	الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$)				متوسط
(ملغم Mg لتر$^{-1}$)	0	25	50	75	المغنيسيوم
0	49.84	45.14	37.62	33.11	41.43
60	49.92	45.25	34.91	29.53	39.90
120	48.97	43.00	25.88	17.57	33.86
180	46.72	40.52	19.87	10.89	29.50
أ.ف.م	8.450				4.225
متوسط الفسفور	48.86	43.48	29.57	22.77	
أ.ف.م	4.225				

4-8-2- تركيز الهيوسامين في الاوراق (ملغم.100 غم$^{-1}$)

اوضحت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود تاثيرا معنويا لمعاملات اضافة الفسفور ورش المغنيسيوم النانوي في تركيز الهيوسامين في اوراق الداتورة .

بينت نتائج جدول 45 ، ان اضافة الفسفور سببت انخفاضا معنويا في تركيز الهيوسامين في اوراق الداتورة ، اذ اعطت المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ اقل متوسط لتركيز الهيوسامين في الاوراق بلغ 81.02 ملغم .100غم$^{-1}$ ، مقارنة بمعاملة عدم الاضافة التي اعطت متوسط بلغ 129.86 ملغم .100غم$^{-1}$، بينما اعطت المعاملتين 25 و 50 كغم P هـ$^{-1}$ متوسطين بلغا 112.23 و 96.82 ملغم.100 غم$^{-1}$ بالتتابع، ربما يعزى هذا الاختزال بتركيز الهيوسامين في اوراق الداتورة نتيجة لانخفاض التعبير النسبي لجين TR1 في جذور الداتورة عند مرحلتي 7-8 ورقة والازهار (الجداول 18 و 21)، والذي يكن مسؤولا عن التشفير لانزيم Tropinone reductase الذي يعمل على زيادة انتاج الهيوسامين.

كما بين جدول 45 ان رش المغنيسيوم النانوي سببت انخفاضا معنويا في تركيز الهيوسامين في اوراق الداتورة، اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اقل تركيز للهيوسامين في اوراق الداتورة بلغ 90.25 ملغم .100غم$^{-1}$، مقارنة بمعاملة المقارنة التي اعطت 113.68

ملغم .100غم$^{-1}$، بينما اعطت المعاملتين 60 و 120 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متوسطين بلغا 111.40 و 104.61 ملغم.100 غم$^{-1}$، بالتتابع، قد يعزى هذا الاختزال بتركيز الهيوسامين في اوراق الداتورة الى ان زيادة المغنيسيوم ربما تعمل على تقليل من عملية الايض الثانوي (Kleczkowski و Igamberdiev، 2021).

اظهرت نتائج جدول 45 وجود تداخلا معنويا بين معاملات اضافة الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي في تركيز الهيوسامين في اوراق الداتورة، اذ اعطت التوليفة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متداخلة مع المعاملتين 50 و75 كغم P هـ$^{-1}$ اقل تركيز للهيوسامين في اوراق الداتورة بلغتا 78.87 و 48.89 ملغم .100غم$^{-1}$، بالتتابع، بينما اعطت معاملات رش المغنيسيوم النانوي الاربعة متداخلة مع معاملة عدم اضافة الفسفور اعلى المتوسطات.

جدول 45: تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في تركيز الهيوسامين في اوراق الداتورة (ملغم .100غم$^{-1}$)

المغنيسيوم (ملغم Mg لتر$^{-1}$)	الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$)				متوسط المغنيسيوم
	0	25	50	75	
0	130.84	115.14	107.62	101.11	113.68
60	130.92	115.25	104.91	94.53	111.40
120	129.97	113.00	95.88	79.57	104.61
180	127.72	105.52	78.87	48.89	90.25
أ.ف.م	18.092				9.046
متوسط الفسفور	129.86	112.23	96.82	81.02	
أ.ف.م	9.046				

4-8-3- تركيز السكوبولامين في الاوراق (ملغم غم$^{-1}$)

وضحت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود تاثيرا معنويا لمعاملات اضافة الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي وتداخلهما في تركيز السكوبولامين في اوراق الداتورة.

بينت نتائج جدول 64، ان اضافة الفسفور سببت انخفاضا معنويا في تركيز السكوبولامين في اوراق الداتورة ، اذ اعطت المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ اقل متوسط لتركيز

السكوبولامين في الاوراق بلغ 68.90 ملغم غم$^{-1}$، مقارنة بمعاملة عدم الاضافة التي اعطت متوسط بلغ 90.18 ملغم.100 غم$^{-1}$، بينما اعطت المعاملتين 25 و 50 كغم P هـ$^{-1}$ متوسطين بلغا 85.92 و 80.76 ملغم .100غم$^{-1}$ بالتتابع، قد يعزى هذا الانخفاض في تركيزالسكوبولامين في اوراق الداتورة الى ان الفسفور يعمل على انخفاض التعبير النسبي لجين H6H في جذور واوراق الداتورة عند مرحلة الازهار (الجدولين 22 و 28) والذي يشفر لانزيم Hyoscyamine 6b-hydroxylase والذي يساعد بانتاج قلويد السكوبولامين.

كما بين جدول 46 ان اضافة المغنيسيوم النانوي سببت انخفاضا معنويا في تركيز السكوبولامين لنبات الداتورة، اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اقل متوسط لتركيز السكوبولامين في الاوراق بلغ 71.25 ملغم.100 غم$^{-1}$، مقارنة بمعاملة المقارنة التي اعطت متوسط بلغ 97.67 ملغم.100 غم$^{-1}$، في حين اعطت المعاملتين 60 و 120 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متوسطين بلغا 82.77 و 74.08 ملغم .100غم$^{-1}$ ، بالتتابع، يمكن ان يعزى هذا الانخفاض في تركيز السكوبولامين الى ان الرش بالمغنيسيوم النانوي سبب انخفاضا معنويا في التعبير النسبي لجين H6H في اوراق الداتورة عند مرحلة الازهار (جدول 28) مما يعمل على اختزال انتاج قلويد السكوبولامين.

اظهرت نتائج جدول 46 وجود تداخلا معنويا بين معاملات اضافة الفسفور ورش المغنيسيوم النانوي، اذ اعطت المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ متداخلة مع المعاملة 120 و 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اقل تركيز للسكوبولامين في اوراق نبات الداتورة بلغا 63.93 و 65.86 ملغم .100غم$^{-1}$ بالتتابع، بينما اعطت معاملة المقارنة للعاملين اعلى متوسط لتركيز السكوبولامين في الاوراق بلغ 114.25ملغم .100غم$^{-1}$.

جدول 46 : تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في تركيز السكوبولامين في اوراق الداتورة (ملغم .100غم$^{-1}$)

المغنيسيوم	الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$)				متوسط
(ملغم Mg لتر$^{-1}$)	0	25	50	75	المغنيسيوم
0	114.25	112.45	89.52	74.46	97.67
60	90.58	85.49	83.66	71.34	82.77
120	80.46	75.39	76.52	63.93	74.08
180	75.44	70.35	73.34	65.86	71.25
أ.ف.م	12.494				6.247
متوسط الفسفور	90.18	85.92	80.76	68.90	
أ.ف.م	6.247				

4-8-4 - تركيز الاتروبين في البذور (ملغم.100 غم$^{-1}$)

وضحت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود تاثيرا معنويا لمعاملات اضافة الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي وتداخلهما في تركيز الاتروبين في بذور الداتورة.

بينت نتائج جدول47 ، ان اضافة الفسفور سببت انخفاضا معنوية في تركيز الاتروبين في بذور الداتورة، اذ اعطت المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ اقل متوسط بلغ 40.93 ملغم .100غم$^{-1}$ ، بينما اعطت معاملة عدم الاضافة متوسط بلغ 60.12 ملغم .100غم$^{-1}$، بينما اعطت المعاملتين 25 و 50 كغم P هـ$^{-1}$ متوسطين بلغا 57.28 و 53.84 ملغم .100غم$^{-1}$، بالتتابع، قد يعزى هذا الانخفاض بتركيز الاتروبين في بذور الداتورة لدور الفسفور بتقليل تركيز الاتروبين في الاوراق (جدول43) مما يعمل على تقليل تراكمه في الاوراق . لم تتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه Nasir (2009) من ان السماد الفوسفاتي يعمل على زيادة تركيز اتروبين البذور في نباتات العائلة الباذنجانية.

كما بين جدول 47 ان رش المغنيسيوم النانوي سببت انخفاضا معنويا في تركيز الاتروبين في بذور الداتورة، اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اقل تركيز الاتروبين في بذور الداتورة بلغ 46.25 ملغم.100 غم$^{-1}$، مقارنة بمعاملة المقارنة التي اعطت 64.61 ملغم

.100غم$^{-1}$، بينما اعطت المعاملتين 60 و 120 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متوسطين بلغا 53.93 و 47.38 ملغم .100غم$^{-1}$، بالتتابع، يمكن ان يعزى هذا الانخفاض الى دور المغنيسيوم النانوي بتقليل تركيز الاتروبين في الاوراق (جدول 44) وبالتالي قلة تراكمه في البذور.

اظهرت نتائج جدول 47 وجود تداخلا معنويا بين معاملات اضافة الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي في تركيز الاتروبين في بذور الداتورة، اذ اعطت التوليفة 120 و 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متداخلة مع المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ اقل نسبة تركيز الاتروبين في بذور الداتورة بلغتا 34.62 و 38.90 ملغم.100 غم$^{-1}$، بالتتابع، بينما اعطت معاملات رش المغنيسيوم النانوي الاربعة متداخلة مع معاملة عدم اضافة الفسفور اعلى المتوسطات.

جدول 47: تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في تركيز الاتروبين في بذور نبات الداتورة (ملغم .100غم$^{-1}$)

المغنيسيوم (ملغم Mg لتر$^{-1}$)	الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$) 0	25	50	75	متوسط المغنيسيوم
0	76.17	74.97	59.68	47.64	64.61
60	60.39	56.99	55.77	42.56	53.93
120	53.64	50.26	51.01	34.62	47.38
180	50.29	46.90	48.89	38.90	46.25
أ.ف.م	8.329				4.165
متوسط الفسفور	60.12	57.28	53.84	40.93	
أ.ف.م	4.165				

4-8-5- تركيز الهيوسامين في البذور (ملغم .100غم$^{-1}$)

اوضحت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود تاثيرا معنويا لمعاملات اضافة الفسفور ورش المغنيسيوم النانوي وتداخلهما في تركيز الهيوسامين في بذور الداتورة .

بينت نتائج جدول 48، ان اضافة الفسفور سببت انخفاضا معنويا في تركيز الهيوسامين في بذور الداتورة ، اذ اعطت المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ اقل متوسط لتركيز الهيوسامين في البذور بلغ 65.69 ملغم .100غم$^{-1}$ ، مقارنة بمعاملة عدم الاضافة التي اعطت متوسط بلغ 124.12

ملغم .100غم$^{-1}$، بينما اعطت المعاملتين 25 و 50 كغم P هـ$^{-1}$ متوسطين بلغا 98.49 و 75.53 ملغم .100غم$^{-1}$ بالتتابع، يمكن ان يعزى هذا الانخفاض الى دور الفسفور بتقليل انتاج قلويد الهيوسامين في الاوراق (جدول 45) و بالتالي قلة نقله وتراكمه في البذور.

كما بين جدول 48 ان رش المغنيسيوم النانوي سببت انخفاضا معنويا في تركيز الهيوسامين في بذور الداتورة، اذ اعطت المعاملة 120 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اقل تركيز الاتروبين في بذور الداتورة بلغ 81.75 ملغم .100غم$^{-1}$، مقارنة بمعاملة المقارنة التي اعطت 102.33 ملغم .100غم$^{-1}$، بينما اعطت المعاملتين 60 و 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متوسطين بلغا 97.27 و 82.49 ملغم .100غم$^{-1}$، بالتتابع، يمكن ان يعزى هذا الانخفاض بتركيز الهيوسامين في البذور الى دور المغنيسيوم النانوي بتقليل تركيز الهيوسامين في الاوراق (جدول 45).

اظهرت نتائج جدول 48 وجود تداخلا معنويا بين معاملات اضافة الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي في تركيز الهيوسامين في اوراق الداتورة، اذ اعطت التوليفة 75 كغم P هـ$^{-1}$ متداخلة مع المعاملتين 120 و 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اقل تركيز للهيوسامين في بذور الداتورة بلغا 62.46 و 60.49ملغم .100غم$^{-1}$، بالتتابع، بينما اعطت معاملات رش المغنيسيوم النانوي الاربعة متداخلة مع معاملة عدم اضافة الفسفور اعلى المتوسطات.

جدول 48: تأثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في تركيز الهيوسامين في بذور نبات الداتورة (ملغم .100غم$^{-1}$)

المغنيسيوم (ملغم Mg لتر$^{-1}$)	الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$) 0	25	50	75	متوسط المغنيسيوم
0	148.62	107.69	80.54	72.45	102.33
60	140.70	102.52	78.50	67.36	97.27
120	103.62	90.33	70.59	62.46	81.75
180	103.55	93.43	72.49	60.49	82.49
أ.ف.م	17.502				8.751
متوسط الفسفور	124.12	98.49	75.53	65.69	
أ.ف.م	8.751				

4-8-6- تركيز السكوبولامين في البذور (ملغم .100غم$^{-1}$)

وضحت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود تاثيرا معنويا لمعاملات اضافة الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي وتداخلهما في تركيز السكوبولامين في بذور الداتورة.

بينت نتائج جدول 49 ، ان اضافة الفسفور سببت انخفاضا معنويا في تركيز السكوبولامين في بذور الداتورة، اذ اعطت المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ اقل متوسط لتركيز السكوبولامين في بذور الداتورة بلغ 99.79 ملغم .100غم$^{-1}$، بالمقارنة مع معاملة عدم الاضافة التي اعطت متوسط بلغ 164.35 ملغم .100غم$^{-1}$، بينما اعطت المعاملتين 25 و 50 كغم P هـ$^{-1}$ متوسطين بلغا 144.22 و 128.09 ملغم .100غم$^{-1}$ بالتتابع، يمكن ان يعزى هذا الانخفاض الى دور الفسفور بتقليل تركيز السكوبولامين في اوراق الداتورة (جدول 46) وبالتالي قلة تراكمه في البذور.

كما بين جدول 49 ان اضافة المغنيسيوم النانوي سببت انخفاضا معنويا في تركيز السكوبولامين لبذور نبات الداتورة، اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اقل متوسط لتركيز السكوبولامين في الاوراق بلغ 121.60 ملغم .100غم$^{-1}$، مقارنة بمعاملة المقارنة التي اعطت متوسط بلغ 161.62 ملغم .100غم$^{-1}$، في حين اعطت المعاملتين 60 و 120 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متوسطين بلغا 130.50 و 122.74 ملغم.100 غم$^{-1}$ ، بالتتابع. ان هذا الاختزال بتركيز السكوبولامين في بذور الداتورة يكون نتيجة لقلة تركيزه في الاوراق (جدول 46).

اظهرت نتائج جدول 49 وجود تداخلا معنويا بين معاملات اضافة الفسفور ورش المغنيسيوم النانوي، اذ اعطت المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ متداخلة مع المعاملة 120 و 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اقل تركيز للسكوبولامين في بذور نبات الداتورة بلغا 91.55 و 93.45 ملغم .100غم$^{-1}$ بالتتابع، بينما اعطت معاملة المقارنة للعاملين اعلى متوسط لتركيز السكوبولامين في الاوراق بلغ 208.61 ملغم .100غم$^{-1}$.

جدول 49: تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في تركيز السكوبولامين في بذور الداتورة (ملغم .100غم$^{-1}$).

المغنيسيوم (ملغم Mg لتر$^{-1}$)	الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$) 0	25	50	75	متوسط المغنيسيوم
0	208.61	188.68	137.51	111.69	161.62
60	154.59	134.44	130.48	102.49	130.50
120	148.56	128.28	122.58	91.55	122.74
180	145.65	125.49	121.80	93.45	121.60
أ.ف.م	24.641				12.320
متوسط الفسفور	164.35	144.22	128.09	99.79	
أ.ف.م	12.320				

4-9- نسبة القلويدات في الاوراق (%).

وضحت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود تاثيرا معنويا لمعاملات اضافة الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي وتداخلهما في نسبة القلويدات في اوراق الداتورة .

اظهرت نتائج جدول 50، ان اضافة الفسفور سببت انخفاضا معنويا في نسبة القلويدات في اوراق الداتورة، اذ اعطت المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ اقل نسبة للقلويدات في الاوراق بلغت 11.06% ، مقارنة بمعاملة عدم الاضافة التي اعطت نسبة بلغت 20.89%، بينما اعطت المعاملتين 25 و 50 كغم P هـ$^{-1}$ نسب بلغت 18.39% و 15.61% بالتتابع، يعزى سبب انخفاض نسبة القلويدات في اوراق الداتورة عند زيادة مستويات السماد الفوسفاتي الى ان القلويدات هي منتجات لعمليات الايض الثانوي والتي تنخفض بازدياد توفر المواد الغذائية ، كذلك يمكن ان يعزى الى انخفاض تركيز الاتروبين والهيوسامين والسكوبولامين في الاوراق (جدول 44 و 45 و 46).

كما بين جدول 50 ان رش المغنيسيوم النانوي سببت انخفاضا معنويا في نسبة القلويدات في اوراق الداتورة، اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اقل نسبة للقلويدات بلغت 12.95%، مقارنة بمعاملة المقارنة التي اعطت نسبة بلغت 19.10 %، بينما اعطت المعاملتين

60 و 120 ملغم Mg لتر$^{-1}$ نسب بلغت 16.63% و 17.27 % بالتتابع، ان هذا الانخفاض بنسبة القلويدات قد يكون نتيجة لوجود العلاقة العكسية بين عمليات الايض الاولي والايض الثانوي، اذ ان توفر المغذيات يعمل على زيادة عمليات الايض الاولي وبذلك تنخفض نسبة القلويدات (Kwon واخرون،2019)، كذلك يمكن ان يعزى لدور المغنيسيوم النانوي بتخفيض تركيز الاتروبين و الهيوسامين و السكوبولامين في الاوراق (جدول 44 و 45 و 46).

اظهرت نتائج جدول 50 وجود تداخلا معنويا بين معاملات اضافة الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي في نسبة القلويدات في الاوراق، اذ اعطت التوليفة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متداخلة مع المعاملتين 50 و75 كغم P هـ$^{-1}$ اقل نسبة قلويدات في اوراق نبات الداتورة بلغتا 11.13% و 4.15%، بالتتابع، بينما اعطت معاملات رش المغنيسيوم النانوي الاربعة متداخلة مع معاملة عدم اضافة الفسفور اعلى المتوسطات لنسبة القلويدات في اوراق الداتورة .

جدول 50 : تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في نسبة القلويدات في اوراق نبات الداتورة (%).

المغنيسيوم (ملغم Mg لتر$^{-1}$)	الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$) 0	25	50	75	متوسط المغنيسيوم
0	22.66	20.70	17.42	15.63	19.10
60	20.47	18.76	15.22	12.07	16.63
120	20.24	17.77	18.66	12.40	17.27
180	20.21	16.32	11.13	4.15	12.95
أ.ف.م	3.957				1.979
متوسط الفسفور	20.89	18.39	15.61	11.06	
أ.ف.م	1.979				

4-10- نسبة القلويدات في البذور (%)

أوضحت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود تاثيرا معنويا لمعاملات اضافة الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي وتداخلهما في نسبة القلويدات في بذور الداتورة .

بينت نتائج جدول 51 ، ان اضافة الفسفور سببت انخفاضا معنويا في نسبة القلويدات في بذور الداتورة، اذ اعطت المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ اقل نسبة قلويدات في البذور بلغت 11.84% ، منخفضة على معاملة عدم الاضافة التي اعطت نسبة بلغت 20.07%، في حين اعطت المعاملتين 25 و 50 كغم P هـ$^{-1}$ نسب بلغت 19.24% و 14.71% بالتتابع، يعزى هذا الانخفاض في نسبة القلويدات في البذور نتيجة لانخفاض نسبتها في الاوراق (جدول 50) مما عمل على قلة تراكمها في البذور، اضافة لانخفاض تركيز قلويد الاتروبين والهيوسامين والسكوبولامين في البذور (جداول47 و48 و 49).

كما بين جدول 51، ان رش المغنيسيوم النانوي سبب انخفاضا معنويا في نسبة القلويدات في بذور الداتورة، اذ اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اقل نسبة قلويدات في البذور بلغت 13.07%، مقارنة بمعاملة عدم الرش التي اعطت نسبة بلغت 17.90 %، بينما اعطت المعاملتين 60 و 120 نسب بلغت 17.95% و 16.94% بالتتابع، قد يعزى هذا الانخفاض الى اختزال نسبة القلويدات في الاوراق (50) وبالتالي قلة تراكمها في الاوراق، اضافة الى دور المغنيسيوم النانوي بتقليل تركيز قلويد الاتروبين والهيوسامين والسكوبولامين في البذور (جداول 47 و 48 و 49).

اظهرت نتائج جدول 51 وجود تداخلا معنويا بين معاملات اضافة الفسفور و رش المغنيسيوم النانوي في نسبة القلويدات في بذور الداتورة، اذ اعطت التوليفة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متداخلة مع المعاملتين 50 و75 كغم P هـ$^{-1}$ اقل نسبة قلويدات في بذور الداتورة بلغتا 10.66% و6.21% بالتتابع، بينما اعطت معاملات رش المغنيسيوم النانوي الاربعة متداخلة مع معاملة عدم اضافة الفسفور اعلى المتوسطات لنسبة القلويدات في بذور الداتورة .

جدول 51 : تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في نسبة القلويدات في بذور الداتورة (%)

المغنيسيوم (ملغم Mg لتر$^{-1}$)	الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$)				متوسط المغنيسيوم
	0	25	50	75	
0	20.87	19.79	16.55	14.41	17.90
60	20.75	20.03	16.48	14.52	17.95
120	20.55	19.88	15.14	12.22	16.94
180	18.12	17.28	10.66	6.21	13.07
أ.ف.م		2.458			1.229
متوسط الفسفور	20.07	19.24	14.71	11.84	
أ.ف.م		1.229			

4-11- حاصل القلويدات في الاوراق (كغم هـ$^{-1}$)

أوضحت نتائج تحليل التباين (ملحق3) وجود تاثيرا معنويا لمعاملات اضافة الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي والتداخل بينهما في حاصل القلويدات في اوراق الداتورة.

بينت نتائج جدول 52 ، ان اضافة الفسفور بالمستوى 25 و 50 كغم P هـ$^{-1}$ سبب زيادة معنوية في حاصل القلويدات في الاوراق اذ اعطت متوسطين بلغا 149.10 و 149.12 كغم هـ$^{-1}$ مقارنة بمعاملة عدم الاضافة التي اعطت متوسط بلغ 142.63 كغم هـ$^{-1}$، بينما سببت المعاملة 75 كغم P هـ$^{-1}$ انخفاضا معنويا في حاصل قلويدات الاوراق اذ اعطت متوسط بلغ 106.68 كغم هـ$^{-1}$. ان الزيادة في حاصل القلويدات في الاوراق عند المستويين 25 و 50 كغم P هـ$^{-1}$ قد تكون نتيجة لاعطاء هذين المستويين افضل مقدار لحاصل اوراق وتركيز القلويدات في الاوراق (جدول 39)، اذ ان عند زيادة مستوى الفسفور الى 75 كغم P هـ$^{-1}$ عمل على انخفاضا كبيرا في تركيز القلويدات في الاوراق (جدول 50) مما انعكس سلبا على حاصل القلويدات.

كما بين جدول 52 ان رش المغنيسيوم النانوي سبب زيادة معنوية في حاصل القلويدات في الاوراق، اذ اعطت معاملة عدم الرش و المعاملة 120 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اعلى حاصل القلويدات في الاوراق اذ اعطيا متوسطين بلغا 152.30 و 152.81 كغم هـ$^{-1}$، بالتتابع، بينما

سببت المعاملتين 60 و 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ انخفاضا معنويا في حاصل القلويدات في الاوراق اذ اعطيا متوسطين بلغا 134.14 و 108.27 كغم هـ$^{-1}$. ان الزيادة في حاصل القلويدات عند معاملة المقارنة يعزى الى اختزال حاصل الاوراق (جدول 39) بينما عمل على زيادة تركيز القلويدات في الاوراق (جدول50)

جدول 52: تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي وتداخلهما في الحاصل القلويدي في اوراق نبات الداتورة (كغم هـ$^{-1}$)

المغنيسيوم (ملغم Mg لتر$^{-1}$)	الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$) 0	25	50	75	متوسط المغنيسيوم
0	145.77	163.16	158.33	141.96	152.30
60	135.72	149.01	140.46	111.39	134.14
120	148.19	151.45	183.93	127.67	152.81
180	140.84	132.77	113.78	45.70	108.27
أ.ف.م	8.734				4.367
متوسط الفسفور	142.63	149.10	149.12	106.68	
أ.ف.م	4.367				

اظهرت نتائج جدول 52 وجود تداخلا معنويا بين معاملات اضافة الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي في حاصل القلويدات في الاوراق، اذ اعطت المعاملة 120 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متداخلة مع المعاملة 50 كغم P هـ$^{-1}$ اعلى حاصل قلويدات من اوراق الداتورة بلغا 183.93 كغم هـ$^{-1}$.بينما اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ متداخلة مع 75 كغم P هـ$^{-1}$ اقل متوسط بلغ 45.70 كغم.هـ$^{-1}$.

4-12-حاصل القلويدات من البذور (كغم هـ$^{-1}$)

بينت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود تاثيرا معنويا لمعاملات اضافة الفسفور ورش المغنيسيوم النانوي وتداخلهما في حاصل القلويدات من بذور الداتورة .

يلاحظ من نتائج جدول 53، ان اضافة الفسفور بالمستوى 25 كغم P هـ$^{-1}$ اعطى اعلى حاصل قلويدات من البذور اذ اعطت متوسط بلغ 76.45 كغم هـ$^{-1}$، متفوقة على معاملة عدم

الاضافة التي اعطت متوسط 66.72 كغم هـ$^{-1}$، بينما اعطت المعاملتين 50 و 75 كغم P هـ$^{-1}$ متوسطين بلغا 73.55 و 58.86 كغم هـ$^{-1}$، بالتتابع. قد يعزى هذا الارتفاع بحاصل القلويدات من البذور الى ان مستوى 25 كغم P هـ$^{-1}$ قد حقق حاصل بذور ملائم (جدول 43) و نسبة قلويدات في البذور ملائمة (جدول 51)، وبالتالي قد حقق اعلى حاصل قلويدات من البذور، بنما عند زيادة مستوى الاضافة الى 50 و 75 كغم P هـ$^{-1}$ سيعمل على انخفاض حاصل القلويدات نتيجة لانخفاض نسبة القلويدات في البذور (جدول 51).

كما بين جدول 53 ان رش المغنيسيوم النانوي بالتركيز 60 و 120 ملغم Mg لتر$^{-1}$ سبب زيادة معنوية في حاصل القلويدات من البذور، اذ اعطتا متوسطين بلغا 71.08 و 78.65كغم هـ$^{-1}$، متفوقة على معاملة عدم الرش التي اعطت متوسط بلغ 67.94 كغم هـ$^{-1}$، بينما اعطت المعاملة 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$ اقل متوسط لحاصل القلويدات بلغ 57.92 كغم هـ$^{-1}$. ان هذا الازدياد بحاصل القلويدات عند تركيز 60 و 120 ملغم Mg لتر$^{-1}$ لكونهما حققا حاصل البذور الامثل (جدول 43) و نسبة قلويدات مثلى في البذور (جدول 51) مما انعكس على زيادة حاصل القلويدات في البذور، في حين ان زيادة المغنيسيوم عن هذا المستوى سيعمل على تخفيض حاصل القلويدات في البذور نتيجة لانخفاض نسبة القلويدات في البذور (جدول 51).

اظهرت نتائج جدول 53 عدم وجود تداخلا معنويا بين معاملات اضافة الفسفور ومعاملات رش المغنيسيوم النانوي في حاصل القلويدات لبذور الداتورة

جدول 53: تاثير معاملات اضافة الفسفور والرش بالمغنيسيوم النانوي في الحاصل القلويدي للبذور في نبات الداتورة (كغم هـ$^{-1}$)

المغنيسيوم	الفسفور (كغم P هـ$^{-1}$)				متوسط
(ملغم Mg لتر$^{-1}$)	0	25	50	75	المغنيسيوم
0	63.73	71.40	72.60	64.03	67.94
60	65.39	74.80	75.91	68.20	71.08
120	78.06	88.79	81.86	65.88	78.65
180	59.70	70.84	63.81	37.31	57.92
أ.ف.م		N.S			8.216
متوسط الفسفور	66.72	76.45	73.55	58.86	
أ.ف.م		8.216			

5. الاستنتاجات والمقترحات

5-1- الاستنتاجات

من خلال الدراسة الحالية يمكن استنتاج ما هو اتٍ :

1- أفضل إنتاج لحاصل نبات الداتورة من الأوراق كان عند مستوى اضافة الفسفور الى التربة (75 كغم P هـ$^{-1}$) ورش المغنيسوم النانوي على المجموع الخضري (180 غم Mg لتر$^{-1}$)

2- ان المستوى الاعلى من الاضافة للفسفور (75 كغم P هـ$^{-1}$) قد حققت اعلى مؤشرات لنمو الداتورة، بينما في المؤشرات الحاصل ومكوناته لم تختلف معنويا عن المستويات المتوسطة (50 كغم P هـ$^{-1}$). كما ان التركيز الاعلى للمغنيسيوم النانوي (180 غم Mg لتر$^{-1}$) قد حققت اعلى حاصل لبذور الداتورة.

3- ان وفرة اضافة الفسفور سببت انخفاضا في التعبير النسبي لجينات PMT و TR1 و H6H،بينما اقتصر تاثير رش المغنسيوم النانوي على اختزال تعبير جين H6H، وان هذا الانخفاض انعكس على انخفاض تركيز قلويدات الاتروبين والهيوسامين والسكوبولامين في اوراق وبذور الداتورة.

4- لوحظ استجابة تعبير جين H6H سواء للفسفور او المغنيسيوم النانوي في جذور او اوراق الداتورة خلال مرحلة الازهار فقط، بينما لم يتاثر في مرحلة 7-8 ورقة.

5- ان افضل حاصل للقلويدات من اوراق او بذور الداتورة قد تحقق عند مستويات منخفضة من الفسفور (25 كغم P هـ$^{-1}$)، اما رش المغنيسيوم النانوي قد حقق اعلى حاصل قلويدات من البذور عند التركيز المنخفض (60 ملغم Mg لتر$^{-1}$)، بينما افضل حاصل قلويدات من الاوراق فقد تحقق عند عدم رش المغنيسيوم النانوي و رشه بتركز 120 ملغم Mg لتر$^{-1}$.

5-2- المقترحات

1- لزيادة الحاصل الكلي لقلويدات الاتروبين والهيوسامين والسكوبولامين من الاوراق و البذور نقترح إضافة السماد الفوسفاتي بمستوى 25 كغم P هـ$^{-1}$ وكذلك رش المغنيسيوم النانوي على الاوراق بتركيز 120 ملغم Mg لتر$^{-1}$.تحت ظروف التجربة الحالية .

2- لتحقيق اعلى حاصل بذور داتورة نقترح باضافة السماد الفوسفاتي بمستوى 50 كغم P هـ$^{-1}$ وكذلك رش المغنيسيوم النانوي على الاوراق بتركيز 180 ملغم Mg لتر$^{-1}$.تحت الظروف المشابهة للدراسة .

3- اجراء المزيد من الدراسات على مراحل نمو الداتورة وتقسيمها ضمن مقياس موحد.

4- تنفيذ المزيد من الدراسات على جينات اخرى يعتقد بانها مسؤولة عن بناء الانزيمات اللازمة لانتاج وتراكم القلويدات ووفق مراحل نمو مختلفة لنبات الداتورة.

5- تفعيل تعاون مشترك بين اختصاصات الصيدلة والكيمياء والزراعة لانشاء نهج واحد متكامل للبحث عن المواد الفعالة في الداتورة ودراسة فعاليتها ، وتسجيلها كقيمة مضافة في المنتجات الطبية للاستفادة من موادها الفعالة سواء في الاستهلاك المحلي أو للتصدير. وكذلك لاستنباط طرق جديدة بعزل وفصل وتنقية المواد الفعالة من نباتات الداتورة.

6- المصادر

6- 1- المصادر العربية

الامين ،ناديا عماد وسناريا عباس العلاق . 2011. دراسة تأثير مسحوق أوراق نبات الداتورة srtamonium Datura L. على افراد الجنس .Porcelliosp . مجلة علوم ذي قار ، 2 (4): 84-90.

الجبوري، كاظم ديلي حسن و احمد كريم صحن. 2006. تأثير الرش ببعض العناصر المغذية في نمو البطاطا ومحتوى الاوراق منها. مجلة العلوم الزراعية العراقية، 37 (6) : 57 - 66.

الخفاجي، زهرة محمود وحسن محمود ابو المعالي. 2013. تفاعلات الكوثرة وتصميم البوادئ .وزارة التعليم العالي والبحث العلمي, جامعة بغداد, معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الحيوية للدراسات العليا.

الزوبعي ، سلام زكم علي . 2000. تحديد اتزان النتروجين و الفسفور و البوتاسيوم للبطاطا (Solanum tuberosum L.) في تربة رسوبية. اطروحة دكتوراه ، قسم التربة ، كلية الزراعة ، جامعة بغداد.

الصحاف ،فاضل حسين .1989. تغذية النبات التطبيقي .وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ,جامعة بغداد .ع.ص.: 224 .

الطائي، حسين خضير .2017. أزهار الداتورة . وزارة الزراعة العراقية. مجلة زراعية إرشادية . العدد الثاني . ع .ص . 1 -64.

المهداوي، أحمد ياسين حسن . 2004. تأثير مستويات النتروجين في نمو وحاصل وقلويدات ثلاثة انواع من الداتورة Datura metel L. و Datura innoxia M و Datura stramonium L. رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة الأنبار .

الكبيسي ، مجاهد اسماعيل حمدان . 2019 . كتاب الوراثة الجزيئية وتطبيقاتها .

زكريا ،بالل فاضل 2011. دراسة بعض التغايرات الفسلجية والوراثية لصفة تحمل الملوحة في بعض التراكيب الوراثية المنتخبةمن الحنطة (Triticum spp) . رسالة ماجستير، كلية التربية الرازي- جامعة ديالى

6-2- المصادر الاجنبية

Al- snafi, A. E. 2017. Medical importance of Datura fastuosa (syn : Datura metel) and Datura stramonium- Areview. Journal of Pharmacy. 7 (2) : 43- 58.

Al Taweel, S. K., H. A. Almrani and T. K. Al- Rawi .2019. Inducation and flow cytometry, GC-MS identification of tetraploids throuch colchicines treatment in Datura stramonium L. Plant Archives. 19 (1): 241- 250.

Alinejad, S., V. Sarabi, A. R. S. Bakhtvari and H. Hashempour. 2020. Variation in physiological traits, yield and secondary metabolites of jimsonweed (Datura stramonium L.) under different irrigation regimes and nutrition systems. Industrial Crops and Products, 143: 1-22.

Anderzej,Z. C., Ciecko, Z and M. Wyszkowski.2002. Glycoalkaloids content in potato tubers as affected by fertlilization during vegetation and storage.Olsztyn,122:27-30.

Barroso, F. D. L., C. D. C. Milagres, P. C. R. Fontes and P. R. Cecon. 2021. Magnesium-influenced seed potato development and yield. Journal of Plant Nutrition, 44(2):296-308.

Basha, S. J., P. Pulli, k. Prabhakar, J Manjunaths, K. Krishna and C. C . Rao . 2020. Management of phosphorus and potassium in bidi tobacco (Nicotiana tabacum L.) under rainfed conditions. Annals of Plant and Soil Research, 22(4): 420-424.

Black, C. A. (1965). Method of soil analysis part 2. Chemical and microbiological properties, 9, 1387-1388.

Bozhinova, R. 2016. Heavy metal concentrations in soil and tobacco plants following long-term phosphorus fertilization. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 22(1): 16-20.

Carpa, R., D. V. Dumitru, R. F. Burtescu, M. C. Maior, C. Dobrotă and N. K. Olah. 2017. Bio-chemical analysis of Datura stramonium extract. Studia Universitatis Babes-Bolyai Biologia, 62(2):5-19..

Carstensen A., A. Herdean, S. B. Schmidt, A. Sharma, C. Spetea, M. Pribil.2018. The Impacts of phosphorus deficiency on the photosynthetic electron transport chain. Plant Physiol, 177:271–284.

Cinelli, M. A and A.D. Jones. 2021. Alkaloids of the genus datura: Review of a rich resource for natural product discovery. Molecules, 26(9):1-29.

Cristofano, F., C. El-Nakhel and Y. Rouphael. 2021. Biostimulant substances for sustainable agriculture: Origin, operating mechanisms and effects on cucurbits, leafy greens, and nightshade vegetables species. Biomolecules, 11(8):1-16.

Dewick, P. M.2009. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach (3rd ed.).Angewandte Chemie-International Edition:2277-2277.

Dhanasekaran, S., T. M. Doherty, J. Kenneth and T. B. T. Group. 2010. Comparison of different standards for real-time PCR-based absolute quantification. Journal of Immunological Methods, 354(2): 34–39.

Duhan, J. S., R. Kumar, N. Kumar, P. Kaur, K. Nehra and S. Duhan.2017. Nanotechnology: The new perspective in precision agriculture. Biotechnology Reports, 15 (1):11-23.

Elkins, K. M. 2022. Pyrosequencing Primer Design for Forensic Biology Applications. Springer,2(1):1-17.

Facchini, P. J.2006. Regulation of alkalid biosynthesis in plants. From: The alkaloidschemistry and biology. Cordell GA editor. 63 (1):9-11.

Geng, G., I. Cakmak, T. Ren, Z. Lu and J. Lu.2021. Effect of magnesium fertilization on seed yield, seed quality, carbon assimilation and nutrient uptake of rapeseed plants. Crops Research, 264:1-37.

Ghannam, M. G.and M. Varacallo, M.2018. Biochemistry, Polymerase Chain Reaction.

Gokul, D., P. Poonkodi and A. Angayarkanni.2021 . Effects of inorganic fertilizers, organic manures, biofertilizers and magnesium sulfate on yield attributes, yield and quality of chilli. Int. J. Anal. Exp. Modal Anal, 13:779-783.

Green, M. R and J. Sambrook. 2021 . A Guide To Cloning The Products Of Polymerase Chain Reactions. Cold Spring Harbor Protocols, pp:319-328.

Guo, J., D. Starr and H. Guo. 2020. Classification and review of free PCR primer design software. Bioinformatics, 36(22): 5263-5268 .

Guru, T., V. N. ; R. T. and N. R. S. (2015). Crop nutrition management with nano fertilizers. Int. J. Environ. Sci. Technol, 1(1):4-6

Harborne, J. B. 1973 . Phytochemical Methods: A guide to Modern Techniques of Plant Analysis. Chapman and Hall Ltd, London. P. 279.

Harris, K. D., T. Vanajahl and S. Puvanitha. 2018. Effect of foliar application of Boron and Magnesium on growth and yield of green chilli (Capsicum annum L.). Foliar Application of Nutrients, 12(1): 26-33.

He, X., H. Deng .and H. M. Hwang.2019. The current application of nanotechnology in food and agriculture. Journal of food and drug analysis, 27(1):1-21.

Heenan, D. P and L. C. Campbell. 1981. Influence of potassium and manganese on growth and uptake of magnesium by soybeans (Glycine max L.) Merr. cv Bragg. Plant and Soil ،61 (3): 447–456.

Helaly, A. A. E and Hemat. A. A. EL-Bauome . 2020 . Phosphorus Fertilizer Level Related with Nano-Chitosan Concentration and their Influence on Growth, Yield and Chemical Constituents of Hot pepper. Journal of Plant Production, 11(12):1311-1317.

Hossain, M., R. Ahmed, M. Haque, M. Alam and M. Islam.2019. Identification and validation of reference genes for real-time quantitative RT-PCR analysis in jute. BMC molecular biology, 20(1): 1-13.

Huang, H., Y. Zhou, J. Zhang, W. Yao and G. Zhang. 2019. Prenatal diagnosis of genetic diseases directly using paper-dried cord blood as the starting material for PCR. Analytical and Bioanalytical Chemistry , 411(26), 6825-6835.

Ijarotimi, O. S., T. N. Fagbemi and O. F. Osundahunsi. 2013. Comparative study of nutritional profiles and phytochemical components of raw, blanched and fermented flour from the leaves of Moringa oleifera Lam. Malays . J. Nutr. 19 (3) : 371 – 382 .

Ilyas, M. 2016. Interactive effect of calcium and magnesium on the growth and yield of tomato (Lycopersicon esculentum L.). Pure and Applied Biology (PAB), 5(4): 876-882

Ilyas, M. G., F. Ayub, M. Begum, A. Ahmad and A. A. Awan.2018. Yield and Quality of Tomato (Lycopersicon Esculentum) As Influenced by Different Calcium and Magnesium Concentrations. World Applied Sciences Journal, 31 (9): 1560-1564.

Izadi, Z., A. Biabani, H. Sabouri and B. Bahreininejad 2022. The effect of different levels of urea and planting density on the phytochemical characteristics, alkaloids, and yield of the medicinal plant jimsonweed (Datura stramonium L.). Crop Science, 62(3): 1264-1276.

Jin, S., J. Liu, Y. Jia, T. Han, X. Zhao, C Sun and L. Na. 2021. The association of dietary flavonoids, magnesium and their interactions with the metabolic syndrome in Chinese adults: a prospective cohort study. British Journal of Nutrition, 126(6): 892-902.

Johanson, R. E. 1967. Comparison of methods for estimating cotton leaf area . Agron. J., 59. : 493 – 494 .

Kadri, K.2019. Polymerase Chain Reaction (PCR): Principle and Applications. Synthetic Biology-New Interdisciplinary Science. IntechOpen, chapter13.

Karunanathie, H., P. S. Kee, S. F. Ng, M.A. Kennedy and E.W.Chua. 2022. PCR enhancers: Types, mechanisms, and applications in long-range PCR Biochimie, 197:130-143.

Kaur, A and S. Kaur. 2021. Effect of foliar application of macro and micro-nutrients on growth, yield and economics of tomato (Lycopersicon esculentum) cv. NS-524. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 10(1):2772-2775.

Khan, I., K. Saeed and I. Khan. 2017. Nanoparticles : properties, applications and toxicities. Arabian journal of chemistry, 12(7): 908-931.

Kınay, A and H. Erdem. 2020. the effect of increasing doses of magnesium sulphate applications on leaf yield and quality of Tobacco plant. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology, 9(3): 601-606.

Kleczkowski, L. A and A. U. Igamberdiev. 2021. Magnesium signaling in plants. International Journal of Molecular Sciences, 22(3):1-18.

Kohnen, K. L and O. Kayser. 2019. Tropane alkaloids: chemistry, pharmacology, biosynthesis and production. Molecules, 24(4): 2-23.

Korkmaz, M. F., M. BOSTANCI, O. N. U. R. Hatice and E. Çağan. 2019. (Datura stramonium L.) poisoning: a case report and review of the literature. The European Research Journal, 5(1), 186-188.

Kramer, L. 2009. Identification of PMT, TR1, and H6h Gene Polymorphism and Tropane Alkaloid Chemotypes in Hyoscyamus Niger L.(Black henbane). PhD Thesis.University of Massachusetts Amherst.

Kuganathan, N and S. Ganeshalingam. 2011. Chemical analysis of Datura metel leaves and investigation of the acute toxicity on grasshoppers and red ants. Journal of Chemistry, 8(1): 107-112.

Kwon, M. C., Y. X. Kim, S. Lee, E. S. Jung, D. Singh, J. Sung and C. H. Lee.2019. Comparative metabolomics unravel the effect of magnesium oversupply on tomato fruit quality and associated plant metabolism. Metabolites, 9(10):1-31.

Li, L., K. H. Liu and J. Sheen. 2021. Dynamic nutrient signaling networks in plants. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 37:341-367.

Li, Q., T. Zhua, R. Zhanga , Q. Bub , J. Yin and L. Zhang .2020. Wansheng Chen Molecular cloning and functional analysis of hyoscyamine 6β-hydroxylase (H6H) in the poisonous and medicinal plant Datura innoxia mill. Plant physiology and biochemistry, 153: 11-19

Lichtenthaler, H. K.1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In Methods in enzymology .Academic Press, 148:350-382.

Lin, J., D. L. Smith, K. Esteves and S. Drury.2019. Telomere length measurement by qPCR–Summary of critical factors and recommendations for assay design. Psychoneuroendocrinology, 99: 271-278 .

Livak, K. J. and T. D. Schmittgen. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2− ΔΔCT method. methods, 25(4): 402-408.

Lowry, G. V., A. Avellan and L. M. Gilbertson. 2019. Opportunities and challenges for nanotechnology in the agri-tech revolution. Nature nanotechnology, 14(6): 517-522.

Luna, C. M and R. Bye. 2011. Phytogeographic analysis of the genus Datura (Solanaceae) in continental Mexico. Revista mexicana de biodiversidad, 82(3): 977-988.

Luo, Q., B. Chen, J. Xu, W. Ma, C. Lao, Y. Li and Z. Chen.2018. Development of a SYBR green II real-time polymerase chain reaction for the clinical detection of the duck-origin goose parvovirus in China. Intervirology, 61(5): 230-236.

Mutisya, M. D., Okello, V. S., Anyango, S. P., & Masila, M. J. (2014). Effects of fresh leaf materials of Sesbania sesban (L.) Merrill on the growth and photosynthetic pigments of nightshade (Solanum nigrum L. var. popolo).International Journal of Agronomy and Agricultural Research, 4(5): 10-21

Manohar, S., M. R. Choudhary, B. L. Yadav, S. Dadheech and S. Singh. 2012. Analyzing the efficacy of organic and inorganic sources of nitrogen and phosphorus on growth of ashwagandha (Withania somnifera). Journal of Horticultural Sciences, 7(2): 161-165.

Mohammed, H. A. and M. A. Al-naqeeb.2020. Response of datura plant grown on different spacing to mineral, organic and nano-fertilizers. plant archives, 20(1): 2753-2761.

Moradi , A ., M. Sharifia and A. Mousavi .2020 . Induced production of tropane alkaloids, and expression of hyoscyamine 6b-hydroxylase (h6h) and putrescine N-methyl transferase (pmt2) genes in hairy

roots and propagated plantlets of Atropa belladonna L. elicited by methyl jasmonate. South African Journal of Botany, 131: 328-334.

Mullis, K. B. and F. A. Faloona.1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. In Methods in enzymology .Academic Press, 1555: 335-350.

Muzhinji , N., Dube, J. P., De Haan, E. G., Woodhall, J. W. Van der Waals, J. E. 2020 . Development of a TaqMan PCR assay for specific detection and quantification of Pectobacterium brasiliense in potato tubers and soil. European Journal of Plant Pathology, 158(2), 521-532.

Nair, R., S. H. Varghese, B. G. Nair, T. Maekawa, Y. Yoshida and D. S. Kumar.2010. Nanoparticulate material delivery to plants. Plant science, 179(3), 154-163.

Nasir, S. 2009. Influence of Triacontanol and Macronutrient Elements on the Growth, Yield and Alkaloid Content of Withania somnifera Dunal L. and Datura innoxia (Doctoral dissertation, Aligarh Muslim University).

Nasir, S and M. M. A. Khan. 2012. Critical dose of nitrogen and phosphorus enhanced growth, yield and alkaloid content in Withania somnifera L. Journal of plant nutrition, 35(11):1705-1724.

Navasi, F., B. H. Naghdi Badi, A. Mehrafarin, S. Rezazadeh, S. Mustafavi and M. Ghorbanpour. 2019. A comprehensive overview on valuable tropane alkaloids: scopolamine, atropine, and hyoscyamine. Journal of Medicinal Plants, 18(70):21-44 .

Page, A. I. ; H. Miller and D. R. Keeneg . 1982 . Methods of Soil Analysis part2 . Chemical and Microbiological Properties. American Soc. Agron. Midison. Wisconsin. USA. P: 732.

Palazón, J., O. A. H. Navarro, L. Vazquez and M. H. Mirjalili. 2008. Application of metabolic engineering to the production of scopolamine. Molecules, 13(8):1722-1742.

Panda, A. C and M. Gorospe. 2018. Detection and analysis of circular RNAs by RT-PCR. Bio-protocol, 8(6): 22-48.

Plank, K. H and K. G. Wagner. 1986. Determination of hyocyamine and scopolamine in Datura innoxia Plants by high performance liquid chromatography. Zeitschrift für Naturforschung. 41 : 391 – 395 .

Powo. 2020 . Plants of the World Online http://www .plantsoft heworldonline. org/ Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet.

Preuss, C. V. and McLendon. K 2021. Atropine. StatPearls Publishing. pp: 218.

Pyne, M. E., L. Narcross and V. J. Martin. 2019. Engineering plant secondary metabolism in microbial systems. Plant physiology, 179(3): 844-861

Qiu, F., Y. Yan, J. Zeng, J. P. Huang, L. Zeng, W. Zhong and Z.Liao. 2021.Biochemical and metabolic insights into hyoscyamine dehydrogenase. ACS Catalysis, 11(5):2912-2924.

Ruttkay, B., O. Krystofova, L. Nejdl and V. Adam.2017. Nanoparticles based on essential metals and their phytotoxicity. Journal of Nanobiotechnology, 15(1):1-19.

Schlesinger, F., R. D. Salama , R. Rikanati, O. Sertchook. M.Tal, A. Yahyaa, M. Faigenboim, M. Ibdah, E. Inbar and S. Lewinsohn. 2021. Further Insights on the Datura innoxia Hyoscyamine 6β-Hydroxylase (DiH6H) Based on Biochemical Characterization and Molecular Modeling. American Journal of Plant Sciences, 12(01): 53-72.

Shakeel, M., A. Rodriguez, U. B. Tahir and F. Jin, F.2018. Gene expression studies of reference genes for quantitative real-time PCR: an overview in insects. Biotechnology Letters, 40(2):227-236.

Sharma, M., I. Dhaliwal, K. Rana, A. K. Delta and P. Kaushik. 2021. Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology of Datura Species. Antioxidants, 10(8):1291.

Shi, Z., W. Zou, Z. Zhu, Z. Xiong, S. Li, P. Dong and Z. Zhu.2022. Tropane alkaloids (hyoscyamine, scopolamine and atropine) from genus Datura: extractions, contents, syntheses and effects. Industrial Crops and Products, 186:115-128.

Shin, S. K., Y. Lee, H. Kwon, J.S.Rhee and J. K. Kim. 2021. Validation of direct boiling method for simple and efficient genomic DNA extraction and PCR- based macroalgal species determination. Journal of Phycology, 57(4):1368-1372 .

Soni, P. A., A. Siddiqui, J. Dwivedi and V. Soni.2012. Pharmacological properties of Datura stramonium L. as a potential medicinal tree : an overview . Asian Pac J Trop Biomed, 2 (12) : 1002 – 1008 .

Sreejith, K. R., L. Gorgannezhad, J. Jin, C. H. Ooi, H. Stratton, D. V. Dao and N. T. Nguyen.2019. Liquid marbles as biochemical

reactors for the polymerase chain reaction. Lab on a Chip, 19(19): 3220-3227.

Steel, R. G. D. and J. H. Torrie . 1980 . Principles and Procedures of Statistics . 2 nd ed Mc- Graw Hill Book Co., Inc. New York. pp : 481 .

Subbotin, S. A. 2020. Molecular Identification of Nematodes Using Polymerase Chain Reaction (PCR). Techniques for Work with Plant and Soil Nematodes, 218 .

Tuwei, C. C.2013. Effect of phosphate fertilizer rates on growth and leaf yield of african nightshade genotypes in uasin gishu county. PhD Thesis. University of Eldoret.

Usman, M., M. Farooq, A. Wakeel, A. Nawaz, S. A. Cheema, H. Rehman and M. Sanaullah. 2020. Nanotechnology in agriculture: Current status, challenges and future opportunities. Science of the Total Environment, 7(21):1-16.

VanGuilder, H. D. , K. E. Vrana and W. M. Freeman. 2008. Twenty-five years of quantitative PCR for gene expression analysis. Biotechniques, 44(5):619–626.

Vashvaei, R. M., A. Ghanbari, M. R. Asgharipour, M. Ramroudi and M. Dahmardeh. 2019. Impact of different nutritional systems on vegetative and biochemical characteristics, yield, and yield components of thorn apple (Datura stramonium L.). Journal of Crops Improvement, 20(4):1-22.

Velázquez-Márquez, S., I. M. De-la-Cruz, R. Tapia-López and J. Núñez-Farfán. 2021. Tropane alkaloids and terpenes synthase genes of Datura stramonium (Solanaceae). PeerJ, 9 (12): 1-16.

Wang Y., M. Frei M.2011. Stressed food – the impact of abiotic environmental stresses on crop quality. Agric. Ecosyst. Environ, 141:271–286.

Wang, H., H. Wang, H. Shao and X. Tang. 2016. Recent advances in utilizing transcription factors to improve plant abiotic stress tolerance by transgenic technology. Frontiers in Plant Science, 7: 67-80.

Wei, F., Z. Shi , R. Wan , Y. li, F. Wei, Z. Shi ,Y. Li , Y. Wang , W .An ,K. Qin , Y. Cao , X. Chen , X.Wang , L. Yang , G. Dai and J. Feng . 2020. Impact of phosphorus fertilizer level on the yield and metabolome of goji fruit. Scientific reports, 10(1):1-11.

White, J. C., B. Ying, L. A. Newman and X. Ma.2013. Nanoparticle contamination of Agricultural crop species. Nanoscale Science and Engineering Grantees Conference,1 (2): 4 – 6 .

Wu, N., D. Jian, M. Xiang, M. Chen, X. Lan, Z. Liao and X. Liu. 2019. Biochemical characterization reveals the functional divergence of two tropinone reductases from Przewalskia tangutica. Biotechnology and Applied Biochemistry, 66(4):597-606.

Yaseen, S. E and E. M. Mutwali. 2021. Allelopathic Effect of Datura stramonium on Germination and Some Growth Parameters of Swiss Chard (Beta vulgaris var). GSC Advanced Research and Reviews, 10(1): 90-95.

Zhou, Z., X. Liu, K. Sun, C.Lin, J. Ma, M. He and W. Ouyang.2019. Persulfate-based advanced oxidation processes (AOPs) for organic-

contaminated soil remediation: A review. Chemical Engineering Journal, 372:836-851.

Page, A. I. ; H. Miller and D. R. Keeneg . 1982 . Methods of Soil Analysis part2 . Chemical and Microbiological Properties. American Soc. Agron. Midison. Wisconsin. USA. P: 732.

Steel , R. G. D. and J. H. Torrie . 1980 . Principles and Procedures of Statistics . 2 nd ed Mc- Graw Hill Book Co., Inc. New York. pp : 481 .

7- الملاحق

ملحق 1: تحليل التباين وفق متوسطات المربعات (M S) لتاثير التسميد الكيمياوي الفوسفاتي والرش بالمغنسيوم النانوي و التداخل بينهما للصفات المدروسة

مصادر التغاير	درجات الحرية	CT PMT gene لجذور الداتورة عند 7-8 ورقة	التعبير النسبي لجين PMT لجذور الداتورة عند مرحلة 7-8 ورقة	CT TR1 gene لجذور الداتورة عند 7-8 ورقة	التعبير النسبي لجين TR1 لجذور الداتورة عند مرحلة 7-8 ورقة
القطاعات	2	65.2600	0.50311	63.6996	0.78616
التسميد الفوسفاتي	3	*2.9776	*0.73859	*3.1887	*0.84428
رش المغنيسوم النانوي	3	0.1638	0.00003	0.1555	0.00204
التسميد الفوسفاتي X رش المغنسيوم النانوي	9	0.1083	0.00044	0.1046	0.00128
الخطأ التجريبي	30	0.1817	0.02537	0.1350	0.02672
مصادر التغاير	درجات الحرية	CT H6H gene لجذور الداتورة عند 7-8 ورقة	التعبير النسبي لجين H6H لجذور الداتورة عند مرحلة 7-8 ورقة	CT PMT gene لجذور الداتورة عند الازهار	التعبير النسبي لجين PMT لجذور الداتورة عند مرحلة الازهار
القطاعات	2	66.37163	0.03469	64.64128	0.008976
التسميد الفوسفاتي	3	0.01797	0.00155	*6.12971	*1.242572
رش المغنيسوم النانوي	3	*0.14674	0.00456	*0.20737	0.001515
التسميد الفوسفاتي X رش المغنسيوم النانوي	9	*0.11311	0.00392	0.08438	0.001101
الخطأ التجريبي	30	0.06007	0.01379	0.08530	0.001392
مصادر التغاير	درجات الحرية	CT TR1 gene لجذور الداتورة عند الازهار	التعبير النسبي لجين TR1 لجذور الداتورة عند مرحلة الازهار	CT H6H gene لجذور الداتورة عند الازهار	التعبير النسبي لجين H6H لجذور الداتورة عند مرحلة الازهار
القطاعات	2	65.54240	0.022700	68.22717	0.0016302
التسميد الفوسفاتي	3	*5.51575	*1.183926	*6.07270	*1.2568348
رش المغنيسوم النانوي	3	*0.23549	0.001029	*0.19290	0.0010093
التسميد الفوسفاتي X رش المغنسيوم النانوي	9	0.09845	0.001017	0.08934	0.0009780
الخطأ التجريبي	30	0.09284	0.002737	0.06662	0.0006679
مصادر التغاير	درجات الحرية	CT PMT gene لاوراق الداتورة عند 7-8 ورقة	التعبير النسبي لجين PMT لاوراق الداتورة عند مرحلة 7-8 ورقة	CT TR1 gene لاوراق الداتورة عند 7-8 ورقة	التعبير النسبي لجين TR1 لاوراق الداتورة عند مرحلة 7-8 ورقة
القطاعات	2	66.79145	0.02062	66.05403	0.04678
التسميد الفوسفاتي	3	0.02599	0.00109	0.02036	0.00152
رش المغنيسوم النانوي	3	*0.15366	0.00197	*0.15501	0.00234
التسميد الفوسفاتي X رش المغنسيوم النانوي	9	0.10502	0.00445	0.10666	0.00316
الخطأ التجريبي	30	0.06319	0.01443	0.06599	0.01315

ملحق 2: تحليل التباين وفق متوسطات المربعات (M S) لتاثير التسميد الكيمياوي الفوسفاتي والرش بالمغنسيوم النانوي و التداخل بينهما للصفات المدروسة

مصادر التغاير	درجات الحرية	CT H6H gene لاوراق الداتورة عند 7-8 ورقة	التعبير النسبي لجين H6H لاوراق الداتورة عند مرحلة 7-8 ورقة	CT PMT gene لاوراق الداتورة عند الازهار	التعبير النسبي لجين PMT لاوراق الداتورة عند مرحلة الازهار
القطاعات	2	65.33600	0.03940	66.71213	0.03533
التسميد الفوسفاتي	3	0.01445	0.00234	0.02875	0.00096
رش المغنيسوم النانوي	3	*0.18276	0.00007	*0.15001	0.00226
التسميد الفوسفاتي X رش المغنيسوم النانوي	9	0.10767	0.00275	0.10410	0.00402
الخطأ التجريبي	30	0.06691	0.01270	0.06300	0.01418

مصادر التغاير	درجات الحرية	CT TR1 gene لاوراق الداتورة عند الازهار	التعبير النسبي لجين TR1 لاوراق الداتورة عند مرحلة الازهار	CT H6H gene لاوراق الداتورة عند الازهار	التعبير النسبي لجين H6H لاوراق الداتورة عند مرحلة الازهار
القطاعات	2	65.94317	0.03676	69.59419	0.00312
التسميد الفوسفاتي	3	0.02104	0.00131	0.11761	*0.04075
رش المغنيسوم النانوي	3	*0.16004	0.00240	*0.37900	*0.22237
التسميد الفوسفاتي X رش المغنيسوم النانوي	9	0.10931	0.00312	*0.15541	*0.03218
الخطأ التجريبي	30	0.06574	0.01376	0.08132	0.01374

مصادر التغاير	درجات الحرية	ارتفاع النبات (سم)	عدد الافرع (فرع نبات$^{-1}$)	عدد الاوراق (ورقة نبات$^{-1}$)	المساحة الورقية (سم^{2})
القطاعات	2	3.3	0.24	22849.0	4697915
التسميد الفوسفاتي	3	*1766.1	*1481.63	*16471.9	*1123671
رش المغنيسوم النانوي	3	42.2	0.12	*4185.1	*472304
التسميد الفوسفاتي X رش المغنيسوم النانوي	9	1.3	0.08	*1336.5	*367103
الخطأ التجريبي	30	226.0	70.14	446.9	94072

مصادر التغاير	درجات الحرية	كلوروفيل a (ملغم غم$^{-1}$)	كلوروفيل b (ملغم غم$^{-1}$)	النتروجين في الاوراق (%)	الفسفور في الاوراق (%)
القطاعات	2	777.58	394.38	3.57031	0.50767
التسميد الفوسفاتي	3	*806.11	*306.96	*1.99536	*0.45030
رش المغنيسوم النانوي	3	*383.20	*157.52	*0.75598	*0.34567
التسميد الفوسفاتي X رش المغنيسوم النانوي	9	*65.80	*22.44	*0.07609	*0.07148
الخطأ التجريبي	30	16.06	10.07	0.01475	0.02740

مصادر التغاير	درجات الحرية	البوتاسيوم في الاوراق (%)	المغنيسيوم في الاوراق (%)	حاصل الاوراق (كغم هـ$^{-1}$)	عدد الثمار (ثمرة نبات$^{-1}$)
القطاعات	2	3.60119	0.48130	7	0.01
التسميد الفوسفاتي	3	*0.69963	*0.18487	*236794	*244.75
رش المغنيسوم النانوي	3	*0.47427	*0.45274	*19146	6.74
التسميد الفوسفاتي X رش المغنيسوم النانوي	9	*0.06977	*0.06454	*3298	21.20
الخطأ التجريبي	30	0.01676	0.02484	1459	22.53

ملحق 3: تحليل التباين وفق متوسطات المربعات (M S) لتاثير التسميد الكيمياوي الفوسفاتي والرش بالمغنسيوم النانوي و التداخل بينهما للصفات المدروسة

مصادر التغاير	درجات الحرية	عدد البذور (بذرة نبات $^{-1}$)	وزن 1000 بذرة (غم)	حاصل البذور الكلي (غم هـ $^{-1}$)	تركيز الاتروبين في الاوراق (ملغم غم $^{-1}$)
القطاعات	2	565.7	0.266	14096.3	350.20
التسميد الفوسفاتي	3	*12690.5	1.779	*98418.0	*1750.19
رش المغنيسوم النانوي	3	*11834.6	*29.670	*19912.6	*365.61
التسميد الفوسفاتي X رش المغنسيوم النانوي	9	*3418.7	*6.584	*2797.0	*59.21
الخطأ التجريبي	30	720.4	1.658	965.3	25.68

مصادر التغاير	درجات الحرية	تركيز الهيوسامين في الاوراق (ملغم غم $^{-1}$)	تركيز السكوبولامين في الاوراق (ملغم غم $^{-1}$)	تركيز الاتروبين في البذور (ملغم غم $^{-1}$)	تركيز الهيوسامين في البذور (ملغم غم $^{-1}$)
القطاعات	2	10737.4	2069.79	919.91	4685.8
التسميد الفوسفاتي	3	*5248.9	*1017.37	*861.67	*8133.1
رش المغنيسوم النانوي	3	*1335.9	*1693.23	*851.42	*1302.2
التسميد الفوسفاتي X رش المغنسيوم النانوي	9	*286.5	*161.50	* 58.86	*254.3
الخطأ التجريبي	30	117.7	56.14	24.95	110.2

مصادر التغاير	درجات الحرية	تركيز السكوبولامين في البذور (ملغم غم $^{-1}$)	نسبة القلويدات في الاوراق (%)	نسبة القلويدات في البذور (%)	حاصل القلويدات في الاوراق (كغم هـ $^{-1}$)
القطاعات	2	566.1	108.417	199.837	8.17
التسميد الفوسفاتي	3	*8922.9	*212.919	*180.841	*4977.35
رش المغنيسوم النانوي	3	*4223.1	*79.884	*64.164	*5269.61
التسميد الفوسفاتي X رش المغنسيوم النانوي	9	*509.7	*12.912	*4.973	*1112.47
الخطأ التجريبي	30	218.4	5.632	2.172	27.43

مصادر التغاير	درجات الحرية	حاصل القلويدات في البذور (كغم هـ $^{-1}$)
القطاعات	2	1823.79
التسميد الفوسفاتي	3	*737.14
رش المغنيسوم النانوي	3	*885.42
التسميد الفوسفاتي X رش المغنسيوم النانوي	9	104.40
الخطأ التجريبي	30	97.10

ملحق (4) الجينات الداخلة في الدراسة ورمزها الدولي ووظيفتها الفسلجية

رمز الجين	Gene ID	اسم الجين	الوظيفة
PMT	AJ583514.1	putrescine N-methyltransferase	بناء انزيم المسؤول putrescine N-methyltransferase عن التخليق الحيوي للاتروبين
TR1	L20475.1	Tropinone reductase	بناء انزيم Tropinone reductase المسؤول عن التخليق الحيوي للهيوسامين
H6H	JX258921.1	hyoscyamine 6 beta-hydroxylase	بناء انزيم hyoscyamine 6 beta-hydroxylase المسؤول عن التخليق الحيوي للسكوبولامين

صور التجربة

زهرة الداتورة

انبات الداتورة مرحلة 2-3 ورقة

شتل نبات الداتورة

الجزء الخضري للداتورة

استخلاص المادة الفعالة

المواد الفعالة للداتورة

شكل يوضح استخلاص وتنقية المواد الفعالة للداتورة

اوراق الداتورة

Summary

A field experiment was carried out during the 2021 agricultural season in one of the experimental fields Ibn Al-Bitar Vocational High School located in Kerbala Governorate, in order to study the effects of phosphate fertilizers and spraying with Nano-magnesium on a number of genes responsible for controlling the synthesis of the active substance (Alkaloids), growth and yield traits of Datura plant. The experiment was carried out with three replications according to randomized complete block design with two factors. The first factor included four levels of phosphate fertilizers: 0, 25, 50 and 75 kg P ha^{-1}, while the second factor included the spraying of Nano-magnesium with four concentrations: 0 (water distilled only), 60, 120 and 180 mg Mg L^{-1}. The results showed the following:

1- Phosphate fertilizer at the level 75 kg.P ha^{-1} caused a significant increase in plant height, number of branches, number of leaves, leaf area, chlorophyll a and b concentrate and leaf yield of Datura plant, superior to the control treatment (no addition) which gave the lowest averages.

2- Phosphate fertilizer at the level 50 and 75 kg P ha^{-1} caused a significant increase in the number of fruits, the number of seeds, and the total seed yield of Datura plants, outperformed the control treatment (no phosphate addition), which produced the lowest averages.

3- Phosphate fertilizer caused a significant decrease in the concentration of Atropine, Hyosamine and Scopolamine in seeds and leaves of Datura plant. The treatment of 75 kg p.ha^{-1} caused the maximum decrease, as it gave averages for leaves and for seeds

4- Treatment 25 and 50 kg P ha^{-1} gave the highest yield of alkaloids from Datura leaves, and treatment 25 kg P ha^{-1} gave the highest yield of alkaloids from seeds .

5- The spraying of Nano-magnesium had no significant effect on the height and number of Datura branches, while the concentration of 180 mg L^{-1} gave the highest average number of leaves, leaf area, chlorophyll a and b concentration, and leaf yield, superior to the control treatment (no spray) that gave the lowest averages.

6- The spraying of Nano-magnesium at a concentration of 180 mg Mg L^{-1} caused a significant increase in the number of seeds, the weight of 1000 seeds and the total seed yield of Datura , superior to the control treatment (no spraying), which gave the lowest averages.

7- The spraying of Nano-magnesium caused a significant decrease in the concentration of Atropine, Hyosamine, and Scopolamine in seeds and leaves. As the treatment caused 180 mg Mg L^{-1}, the maximum decrease, and for seeds

8- The concentrations of 0 and 120 mg Mg L^{-1} gave the highest yield of alkaloids from the leaves, and the concentration of 120 mg Mg L^{-1} gave the highest yield of alkaloids from the seeds

9- Phosphate fertilizer caused a significant decrease in the expression of PMT, TR1, and H6H genes, while the effect of spraying Nano-magnesium was limited to reducing the expression of the H6H gene. The response of H6H gene expression either to phosphorous or Nano magnesium in the roots or leaves of Datura was only during the flowering stage, while no changes were observed at the stage of 7-8 leaves.

10- Phosphate fertilizer at a level 50 kg P ha^{-1} interaction with spraying Nano-magnesium at a concentration of 120 mg Mg L^{-1} achieved the highest yield of alkaloids, while the two treatments 50 and 75 kg P ha^{-1} interaction with spraying Nano-magnesium at a concentration of 180 gave The highest yield of total Datura seeds .

University of Kerbala

The Republic of Iraq

Ministry of Higher Education and Scientific Research

University of Kerbala _ Faculty of Agriculture

Field Crops Department

Effect of Phosphate Fertilizers and Spraying with Magnesium on Growth Characteristics, Yield, Active Substance, and Gene Expression of Datura stramonium L.

A thesis submitted to the Council of the Faculty of Agriculture / University of Kerbala, which is part of the requirements for obtaining a master's degree in agricultural sciences / field crops

By

Shrooq Khalifa Mohammed Al-Tamimi

Supervised by

Lect. Dr. Ali Nadhim Farhood

Rabia Alawwal 1444 Sep.2022