



جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة كربلاء

كلية الزراعة

قسم المحاصيل الحقلية

**أستجابة تركيبين وراثيين من الكجرات *Hibiscus sabdariffa* L.
لتوليفات NPK وتشخيص جيني CHS و F3H المسؤولة عن تخليق
المركبات الفعالة طبيياً**

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

من قبل

مريم ميثم علي البيك

باشراف

أ.د. عباس علي حسين العامري

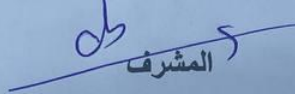
﴿ بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ ﴾

﴿ أَمَّنْ خَلَقَ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضَ وَأَنْزَلَ لَكُمْ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا
بِهِ حَدَائِقَ ذَاتَ بَهْجَةٍ مَا كَانَ لَكُمْ أَنْ تُنْبِتُوا شَجَرَهَا ۗ أَلَيْسَ اللَّهُ بِ
هُم قَوْمٌ يَعْدِلُونَ ﴾

(سورة النمل- آية ٦٠)

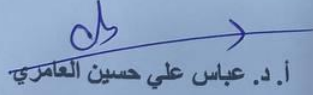
إقرار المشرف

اشهد أنّ إعداد هذه الرسالة جرى تحت اشرافي في جامعة كربلاء - كلية الزراعة /
قسم المحاصيل الحقلية، وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير علوم في الزراعة -
المحاصيل الحقلية.


المشرف

أ.د. عباس علي حسين العامري

بناءً على الشروط والتوصيات المتوافرة : نرشد هذه الرسالة للمناقشة



أ.د. عباس علي حسين العامري

رئيس لجنة الدراسات العليا

قسم المحاصيل الحقلية

أقرار لجنة المناقشة

نشهد نحن اعضاء لجنة المناقشة، اطلعنا على هذه الرسالة وقد ناقشنا الطالبة في محتوياتها وفيما له علاقة بها ، ووجدنا بأنها جديرة بالقبول لنيل شهادة الماجستير في العلوم الزراعية / المحاصيل الحقلية.


رئيس اللجنة

أ.د. أحمد نجم عبد الله

كلية الزراعة جامعة- كربلاء


عضواً

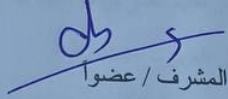
أ.م.د. علي ناظم فرهود

كلية الزراعة جامعة- كربلاء


عضواً

أ.م.د. أسامة حسين مهدي

كلية الزراعة جامعة- الانبار


المشرف / عضواً

أ.د. عباس علي حسين

كلية الزراعة- جامعة كربلاء


أ.د. صباح غازي شريف

العميد وكالة

2024/2/27

2024/2/27

صدققت الرسالة من قبل مجلس كلية الزراعة جامعة كربلاء

أهداء

قال تعالى: (قُلْ هَلْ يَسْتَوِي الَّذِينَ يَعْلَمُونَ وَالَّذِينَ لَا يَعْلَمُونَ إِنَّمَا يَتَذَكَّرُ أُولُوا الْأَلْبَابِ) (الزمر: 9)

إلهي لا يطيب الليل الا بشكرك ولا يطيب النهار الا بطاعتك ولا تطيب اللحظات الا بذكرك .. ولا تطيب الجنة الا
برؤيتك

الله جل جلاله

إلى من أدى الرسالة وادى الأمانة... ونصح الأمة .. الى نبي الرحمة ونور العالمين

سيدنا محمد (صلى الله عليه وآله وسلم)

إلى من رافقتي الطريق ومد لي يد العون ولم يقصر بتشجيعي ودعوتي لأحقق كل اماله .. الى من كلله الله بالهيبه والوقار
وعلمني العطاء بدون انتظار .. الى من احمل اسمه بكل افتخار..

والذي العزيز .. حفظك الله

الى من كانت دعواتها لي بالتوفيق تتبعني خطوة خطوة .. الى بسمه الحياة وسر الوجود التي استمدت منها قوتي واعترازي
بذاتي .. الى الكفاح الذي لا يتوقف التي علمتني معنى الاصرار.. ولم تقصر برعاية ابنتي ..

أمي العزيزة .. حفظك الله

إلى من تقاسم معي عبء الحياة.. الذي كلما أظلم الطريق أمامي لجأت اليه: فأنا له لي .. وكلما دب اليأس في نفسي: زرع
في الأمل لأسير قدما .. الى من تحمل تعب العمل وزيادة الجهد ليدعمني ماديا ومعنويا ...

زوجي العزيز .. حفظك الله

إلى فلذة كبدي وقطعة من قلبي .. التي رافقتني مسيرتي منذ أن كانت في احشائي.. الى من تجعلني استمر وقد استقطعت
من وقتي معها.. وجعلتني اشكر الله كل يوم لوجودها في حياتي ..

أبنتي الغالية .. حفظك الله

إلى الذين كانوا يشدون عضدي حين يلمحني التعب ويشاركوني همي وتعبتي..

اخوتي واخواني .. حفظكم الله

إلى منارة العلم والعلماء .. مشرفي الذي كان يتابعني خطوه خطوه ويرشدني نحو الصواب .. دكتور عباس العامري .. ودكتور
علي .. وكل من قدم لي المساعدة.

شكر وتقدير

الحمد لله الذي خلق الإنسان وعلمه البيان وكرمه بالعقل وفضلته بأحسن تقويم، وأفضل الصلاة وأتم التسليم على

محمد الامين المبعوث رحمة للعالمين وعلى آله الطيبين الطاهرين.

أتقدم بالشكر الجزيل إلى عمادة كلية الزراعة ورئيس قسم المحاصيل الحقلية لإتاحتهم الفرصة لي لإكمال دراستي.

بعد توفيق الله وتيسيره يسرني وأنا انهي كتابة رسالتي ان أتقدم بجزيل شكري وامتناني الى استاذي الفاضل الدكتور عباس

علي حسين العامري لإشرافه على هذا الجهد العلمي ولتوجيهاته القيمة طيلة فترة الدراسة فجزاه الله عني خير الجزاء.

كما أتقدم بخالص شكري وتقديري الى رئيس واعضاء لجنة المناقشة كل من أ.د محمد نجم عبد الله و أ.م.د أسامة حسين

مهدي و أ.م.د علي ناظم فرهود و أ.د عباس علي حسين العامري

لتفضلهم بقبول مناقشة هذه الرسالة المتواضعة وإغنائها بأرائهم القيمة وإخراجها بأجمل وأرق صورة ، وبالتأكيد سيبقى

فضل أساتذتي عليّ كبير ولا يمكن أن أنساه ما حييت فمن علمهم نخلت وبتشجيعهم ودعمهم استطعت أن أخطو

خطواتي في هذا الطريق، فكل الشكر والتقدير الى رئيس وأساتذة ومنتسي قسم المحاصيل الحقلية.

ووافر شكري وامتناني الى الأخوة زملائي طلبة الدراسات العليا من الدورة فكل واحد منهم كان أكثر من صديق، بل كانوا

أكثر من أخوة أثار الله طريقهم ويسر أمورهم وجزاهم عني خير الجزاء.

كما لا يسعني إلا ان اقدم شكري وامتناني لكل من مد لي يد العون والمساعدة، وأخص بالذكر عائلتي، فأرجو ان تتقبل

وافر عرفاني وشكري وان يتقبلوا عذري على التقصير نحوهم.

((كن عالماً.. فإن لم تستطع فكن متعلماً، فإن لم تستطع فأحب العلماء، فإن لم تستطع، فلا تبغضهم))

مريخ ميسر علمي البيت

الخلاصة

نُفذت تجربة حقلية في أثناء الموسم الزراعي 2022 في إحدى حقول التجارب التابعة لإعدادية ابن البيطار المهنية الواقعة في محافظة كربلاء بهدف دراسة تأثير توليفات NPK في النمو والحاصل والمادة الفعالة لصنفيين من نبات الكجرات، نفذت التجربة بترتيب التجارب العاملية وبثلاثة مكررات وبواقع 42 وحدة تجريبية مساحة الوحدة التجريبية الواحد 12 م² حسب تصميم القطاعات الكاملة المعشاة (RCBD) بعاملين الأول تضمن توليفات من أسمدة NPK وحسب الرموز كما يلي C0 = 50-25-25 من NPK كغم هـ⁻¹، C1 = 75-50-50 كغم هـ⁻¹، C2 = 100-75-75 كغم هـ⁻¹، C3 = 125-100-100 كغم هـ⁻¹، C4 = 150-125-125 كغم هـ⁻¹، C5 = 175 كغم هـ⁻¹. والعامل الثاني تركيبين وراثيين من نبات الكجرات الأبيض (W) و الأحمر (R)، وظهرت النتائج مايلي:

تم تشخيص عدة طفرات مغلوبة في جين CHS وذلك في تتابع الصنف الأبيض، في الكودونات 23 و 61 (CCA ← CCC و ATT ← ATC بالتتابع) التي تشفر للأحماض الأمينية (Pro ← Leu و Ile ← Ser). أما في جين F3H تم تشخيص طفرات مغلوبة للصنف نفسه أيضا في الكودونات 80 و 100 (TTC ← TTG و CCA ← TCA بالتتابع) التي تشفر للأحماض الأمينية (Leu ← Phe و Pro ← Ser)، إذ لوحظ أنّ هذه الطفرات ربما سببت محتوى الصنف الأبيض من المواد الفعالة، كما سجلت طفرات صامتة Silent mutation في الصنف الأحمر للكودونات (23 و 61 و 80 و 85 و 99) التي تشفر للأحماض الأمينية (Pro و Ile و Cys و Pro و Ser)، وذلك في جين CHS، أما في جين F3H في الكودونات (25 و 62 و 70 و 82 و 85 و 119) التي تشفر للأحماض الأمينية (Val و Ala و Glu و Lys و Val و Leu).

تفوق الصنف الأحمر في معظم الصفات قيد الدراسة كصفات النمو (أرتفاع النبات، عدد الأفرع، وعدد الأوراق، والمساحة الورقية، ومحتوى الأوراق من الكلوروفيل، وزن المجموع الخضري الرطب والجاف) وصفات الحاصل (عدد الجوز، والوزن الطري للجوز، والحاصل الكلي للجوز، والوزن الرطب والجاف للأوراق الكأسية، والحاصل الكلي للأوراق الكأسية) وتفوق الصنف ذاته في تركيز المغذيات في نبات الكجرات (النتروجين، والفسفور، والبوتاسيوم) و البروتين وكذلك

تفوق الصنف نفسه في محتوى الاوراق الكأسية من المواد الفعالة (Vitamin C و Quercetin و Hibiscetin و Gossypetine).

تفوقت التوليفتان C5 و C6 في اغلب الصفات مثل إرتفاع النبات وعدد الافرع وعدد الاوراق ومحتوى الكلوروفيل الكلي وعدد الجوز والحاصل الكلي للجوز والوزن الرطب والجاف للأوراق الكأسية و الحاصل الرطب والجاف للأوراق الكأسية و تركيز عنصر النتروجين والبروتين والفسفور والبوتاسيوم ومحتوى الاوراق الكأسية من المواد الفعالة Vitamin C و Quercetin و Hibiscetin و Gossypetine ، اما التوليفتان C3 و C4 فقد تفوقتا في صفة الوزن الطري والجاف للجوز و المساحة الورقية للنبات.

كما بينت النتائج وجود تداخل معنوي بين التراكيب الوراثية لنبات الكجرات والتوليفات السمادية، اذ تفوقت التوليفتان C5 و C6 في معظم الصفات قيد الدراسة.

قائمة المحتويات

رقم الصفحة	المقدمة	التسلسل
1	المقدمة	1
29-3	مراجعة المصادر	2
3	نبات الكجرات	1-2
6	الأهمية الغذائية والطبية لنبات الكجرات	2-2
16	أهمية العناصر الغذائية (NPK)	3-2
18	استجابة صفات النمو والحاصل لنبات الكجرات للتغذية بالتوليفات السمادية NPK	4-2
19	التراكيب الوراثية في نبات الكجرات	5-2
20	تقدير المركبات الفعالة طبيياً بوساطة جهاز كروماتوغرافيا السائل ذو الأداء العالي (HPLC)	6-2
20	الجينات المسؤولة عن تخليق المادة الفعالة لنبات الكجرات	7-2
21	جين (CHS) Chalcone synthase	1-7-2
21	جين (F3H) Flavonone 3-hydroxylase	2-7-2
23	تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR)	8-2
25	المكونات الأساسية لتفاعل PCR	1-8-2
25	انزيم DNA Polymerase	1-1-8-2
26	المحلول المنظم PCR buffer	2-1-8-2
26	البادئ Primer	3-1-8-2
27	تقانة تحديد تتابع النيوكلوئيدات : Sequencing	9-2
27	طريقة ماكسام وجيلبرت: Maxam and Gilbert	1-9-2
28	طريقة سنجر وكولسون: Sanger and Coulson	2-9-2
46-30	المواد وطرائق العمل	3
30	موقع التجربة وخصائص التربة	1-3
30	تحضير الارض والتصميم التجريبي والمعاملات	2-3
32	الأجهزة والأدوات والمواد الكيميائية المستعملة في الدراسة	3-3
32	الأجهزة والأدوات	1-3-3
33	المواد والمحاليل الكيميائية	2-3-3
33	الصفات المدروسة	4-3
33	صفات النمو الخضري	1-4-3
33	ارتفاع النبات (سم)	1-1-4-3
34	عدد الأفرع (فرع نبات ⁻¹)	2-1-4-3

34	عدد الأوراق (ورقة نبات ¹)	3-1-4-3
34	المساحة الورقية للنبات (سم ²)	4-1-4-3
34	الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري (غم نبات ¹)	5-1-4-3
34	محتوى الكلوروفيل في الأوراق	6-1-4-3
35	صفات الحاصل ومكوناته	2-4-3
35	عدد الجوز (جوزة نبات ¹)	1-2-4-3
35	الوزن الطري للجوز (غم نبات ¹)	2-2-4-3
35	الوزن الجاف للجوز (غم نبات ¹)	3-2-4-3
35	الحاصل الكلي للجوز (كغم هـ ¹)	4-2-4-3
35	الوزن الطري للأوراق الكأسية (غم نبات ¹)	5-2-4-3
35	الوزن الجاف للأوراق الكأسية (غم نبات ¹)	6-2-4-3
35	الحاصل الكلي للأوراق الكأسية (كغم هـ ¹)	7-2-4-3
35	الصفات الكيميائية	3-4-3
35	تقدير العناصر الغذائية	1-3-4-3
36	تقدير عنصر النتروجين (ملغم غم ¹)	1-1-3-4-3
36	تقدير عنصر البوتاسيوم (ملغم غم ¹)	2-1-3-4-3
36	تقدير عنصر الفسفور (ملغم غم ¹)	3-1-3-4-3
36	تقدير البروتين (%)	4-1-3-4-3
37	تقدير المركبات الفعالة	4-4-3
37	قياس تركيز فيتامين C (Ascorbic acid) (ملغم غم ¹)	1-4-4-3
38	تقدير بعض المواد الفعالة	2-4-4-3
40	استخلاص الحامض النووي RNA من الأوراق الخضراء لنبات الكجرات	5-3
42	قياس نقاوة وتركيز الحامض النووي RNA	1-5-3
43	البوداي	2-5-3
43	تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل للنسخ العكسي RT-PCR	3-5-3
44	الترحيل الكهربائي لنواتج RT-PCR باستعمال هلام الأكاروز	4-5-3
45	تحليل تسلسل القواعد النتروجينية للحامض النووي المكمل (cDNA)	5-5-3
46	التحليل الإحصائي	6-3
90-47	النتائج والمناقشة	4
47	تشخيص وتحليل جين CHS والمسؤول عن تخليق بعض المواد الفعالة في نبات الكجرات	1-4
49	نسبة التطابق الوراثي وشجرة القرابة بين تراكيب وراثية لنبات الكجرات قيد الدراسة في تتابع جين CHS	1-1-4

50	تشخيص الطفرات الوراثية على مستوى جين CHS	2-1-4
52	تشخيص وتحليل جين F3H والمسؤول عن تخليق بعض المواد الفعالة في نبات الكجرات	2-4
53	نسبة التطابق الوراثي وشجرة القرابة بين تراكيب وراثية لنبات الكجرات قيد الدراسة في تتابع جين F3H	1-2-4
55	تشخيص الطفرات الوراثية على مستوى جين F3H	2-2-4
56	صفات النمو	3-4
56	تأثير توليفات NPK في تركيبين وراثيين من الكجرات	1-3-4
56	ارتفاع النبات (سم)	1-1-3-4
58	عدد الأفرع للنبات (فرع نبات ¹⁻)	2-1-3-4
59	عدد الأوراق (ورقة نبات ¹⁻)	3-1-3-4
61	دليل المساحة الورقية (سم ²)	4-1-3-4
63	محتوى الأوراق من الكلوروفيل الكلي ملغم غم ¹⁻	5-1-3-4
65	وزن المجموع الخضري الرطب (غم نبات ¹⁻)	6-1-3-4
67	وزن المجموع الخضري الجاف (غم نبات ¹⁻)	7-1-3-4
68	صفات الحاصل	4-4
68	تأثير توليفات NPK في تركيبين وراثيين من الكجرات	1-4-4
68	عدد الجوز (جوز نبات ¹⁻)	1-4-4
70	الوزن الطري للجوز (غم نبات ¹⁻)	2-4-4
71	الحاصل الكلي للجوز (كغم هـ ¹⁻)	3-4-4
73	الوزن الرطب للأوراق الكأسية (غم نبات ¹⁻)	4-4-4
74	الوزن الجاف للأوراق الكأسية (غم نبات ¹⁻)	5-4-4
76	الحاصل الكلي للأوراق الكأسية (كغم هـ ¹⁻)	6-4-4
77	تركيز العناصر في الأوراق الكأسية	5-4
77	محتوى الأوراق الكأسية من عنصر النتروجين (ملغم غم ¹⁻)	1-5-4
79	محتوى الأوراق الكأسية من البروتين (%)	2-5-4
80	محتوى الأوراق الكأسية من عنصر الفسفور (ملغم غم ¹⁻)	3-5-4
82	محتوى الأوراق الكأسية من عنصر البوتاسيوم (ملغم غم ¹⁻)	4-5-4
83	محتوى الأوراق الكأسية من المواد الفعالة	6-4
83	محتوى الأوراق الكأسية من Vitamin C (ملغم غم ¹⁻)	1-6-4
85	محتوى الأوراق الكأسية من Quercetin (ملغم غم ¹⁻)	2-6-4
86	محتوى الأوراق الكأسية من Hibiscetin (ملغم غم ¹⁻)	3-6-4
88	محتوى الأوراق الكأسية من Gossypetine (ملغم غم ¹⁻)	4-6-4

91	الاستنتاجات والتوصيات	5
91	الاستنتاجات	1-7
91	التوصيات	2-7
92	المصادر	6
92	المصادر العربية	6
95	المصادر الأجنبية	6
116	الملاحق	7
116	تتابع جين CHS للتراكيب وراثية قيد الدراسة	1
119	تتابع جين F3H للتراكيب وراثية قيد الدراسة	2
125	تحليل التباين على وفق متوسطات المربعات (MS) لصفات نبات الكجرات	3

قائمة الجداول

الصفحة	المواضيع	رقم الجدول
4	التصنيف العالمي لنبات الكجرات	1
30	بعض الخصائص الفيزيائية والكيميائية لتربة الحقل قبل الزراعة	2
31	توليفات الأسمدة المستعملة في التجربة	3
32	الأجهزة والأدوات المستعملة في التجربة	4
33	المواد والمحاليل الكيميائية المستعملة في الدراسة	5
39	زمن الاحتجاز ومساحة الحزم لبعض المواد الفعالة	6
40	ظروف الفصل الكروماتوغرافي بأستعمال جهاز HPLC لبعض المواد الفعالة	7
41	مكونات عدة استخلاص الحامض النووي الريبوزي RNA	8
43	البودائ المتخصصة بتشخيص جينات CH3 و F3H المستعملة في تفاعل البلمرة المتسلسل للنسخ العكسي RT PCR	9
43	تراكيز مكونات خليط تفاعل البلمرة العكسي المتسلسل RT-PCR	10
44	برنامج ظروف تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لتضخيم جين CHS و F3H	11
49	مقدار التطابق بين التراكيب وراثية قيد الدراسة والعالمية في تتابع جين CHS	12
51	تشخيص الطفرات الوراثية في جين CHS للتراكيب وراثية قيد الدراسة	13
54	مقدار التطابق بين التراكيب وراثية قيد الدراسة والعالمية في تتابع جين F3H	14
55	تشخيص الطفرات الوراثية في جين F3H للتراكيب وراثية قيد الدراسة	15
57	تأثيرات توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في صفة إرتفاع النبات (سم)	16
59	تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في صفة عدد الأفرع للنبات (فرع نبات ⁻¹)	17

61	تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في صفة عدد الأوراق في النبات	18
63	تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في صفة المساحة الورقية سم ²	19
65	تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في صفة محتوى الكلوروفيل الكلي	20
66	تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في وزن المجموع الخضري الرطب للنبات (غم نبات ¹⁻)	21
68	تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في صفة وزن المجموع الخضري الجاف (غم نبات ¹⁻)	22
69	تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في صفة عدد الجوز في النبات (جوزة نبات ¹⁻)	23
71	تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في صفة وزن الجوز الرطب (غم نبات ¹⁻)	24
72	تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في الحاصل الكلي للجوز كغم هـ ¹⁻	25
74	تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في صفة الوزن الرطب للأوراق الكأسية في النبات (غم نبات ¹⁻)	26
75	تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في صفة وزن الجاف للأوراق الكأسية (غم نبات ¹⁻)	27
77	تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في صفة الحاصل الكلي للأوراق الكأسية (كغم هـ ¹⁻)	28
78	تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في محتوى الأوراق الكأسية من عنصر النتروجين (ملغم غم ¹⁻)	29
80	تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في محتوى الأوراق الكأسية من البروتين (%)	30
81	تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في محتوى الاوراق الكأسية من عنصر الفسفور (ملغم غم ¹⁻)	31
83	تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في محتوى الاوراق الكأسية عنصر البوتاسيوم (ملغم غم ¹⁻)	32
84	تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في محتوى الاوراق الكأسية من Vitamin C (ملغم غم ¹⁻)	33
86	تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في محتوى الاوراق	34

	الكأسية من Quercetin	
88	تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في محتوى الاوراق الكأسية من Hibiscetin (ملغم غم ⁻¹)	35
90	تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في محتوى الأوراق الكأسية من Gossypetine (غم غم ⁻¹)	36

قائمة الاشكال

الصفحة	الموضوع	رقم الشكل
5	نبات الكجرات التركيب الوراثي الأحمر	1
5	نبات الكجرات التركيب الوراثي الأبيض	2
7	التركيب الكيميائي لـ Vitamin C	3
7	التركيب الكيميائي لـ Thiamine	4
8	التركيب الكيميائي لفيتامين B2	5
10	التركيب الكيميائي لصبغة الانثوسيانين	6
10	التركيب الكيميائي لـ Hibiscetine	7
11	التركيب الكيميائي لـ Protocatechunic acid	8
12	التركيب الكيميائي لـ Gossypetin	9
13	التركيب الكيميائي لـ Quercetin	10
14	لتركيب الكيميائي لحمض الستريك	11
22	عمل جينات CHS و F3H في تخليق بعض الأحماض الأمينية المسؤولة عن انتاج المواد الفعالة	12
36	المنحني القياسي لتقدير الفسفور بأستعمال ملح K2HPO4	13
38	المنحني القياسي لفيتامين C	14
45	الدليل القياسي للحامض النووي DNA	15
47	موقع جين CHS	16
48	ترحيل نواتج PCR لنواتج تضخيم جين CHS لتركيبين وراثيين من نبات الكجرات مع معاملة المقارنة (N.C) بالإضافة الى سلم أحجام الحامض النووي (DNA Ladder) مثبتة على الجانب الايسر من الشكل.	17
50	شجرة القرابة الوراثية بين التراكيب وراثية المدروسة والتراكيب وراثية العالمية إعتماًداً على تطابق القواعد النتروجينية في جين CHS.	18
52	موقع جين F3H	19
53	ترحيل نواتج PCR لنواتج تضخيم جين F3H لتركيبين وراثيين من نبات الكجرات مع معاملة المقارنة (N.C) بالإضافة الى سلم أحجام الحامض النووي (DNA Ladder) مثبتة على الجانب الايسر من الشكل.	20
54	شجرة القرابة الوراثية بين التراكيب وراثية المدروسة والتراكيب وراثية العالمية إعتماًداً على تطابق القواعد النتروجينية في جين F3H	21

1- المقدمة Introduction

يعد نبات الكجرات *Hibiscus sabdariffa* L. احد النباتات المهمة طبييا واقتصاديا ويزرع بشكل واسع في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية اذ تنتشر زراعته بشكل كبير في الهند، واستراليا، واندونيسيا، وأفريقيا (DÃaz وآخرون ، 2020). تتمثل الأهمية الطبية لنبات الكجرات في احتواء أوراقه الكأسية على عدة مركبات منها كلايكوسيد الـ Hibiscin ، وفيتامين C، إضافة الى حامض المالك والستريك وكذلك مركب Protocatechonic acid التي تعد من اهم مضادات الأكسدة نظرا لدورها في علاج الكثير من الأمراض منها بعض الأمراض السرطانية، كما يستعمل نبات الكجرات في علاج مختلف الأمراض العضوية والميكروبية وذلك لتأثيره الفعال وانخفاض التكلفة، إضافة الى الاستخدام الآمن له اذا ما قورن بالأدوية المصنعة من المواد الكيميائية (Ahirwar و Ahirwar, 2020). كما أنّ لنبات الكجرات استعمالات ثانوية إذ تستعمل صبغته الحمراء المنتجة صناعيا كملونات غذائية طبيعية، كذلك استعماله كمشروب منعش او دخوله في صناعة المرببات، وحفظ الاغذية وصناعة الحلوى وغيرها من هذه الاستعمالات (Villalobos- Vega وآخرون، 2023).

تعد عناصر النتروجين والفسفور والبوتاسيوم عناصر رئيسة ولها أهمية كبيرة في نمو وتطور النبات، وان أضافتها بصورة متوازنة وليس بصورة فردية تعد ضرورة ملحة لتجنب حصول التلوث بالعناصر الغذائية وكذلك الكلفة الاقتصادية من جراء زيادة اضافتها، فالنتروجين (N) يعزز نمو الأوراق والسيقان، فهو من أكثر العناصر التي تحتاجها المحاصيل، أما عنصر الفوسفور (P) فهو يدعم تكوين الجذور والتطور الزهري والثمري، ويعمل الفسفور على التسريع من عملية النضج للنباتات فهو عنصر اساسي للنمو، بينما يلعب البوتاسيوم (K) دورًا في تعزيز قوة النبات ومقاومته للظروف البيئية القاسية، وهو عنصر اساسي للعديد من الفعاليات والعمليات الفسيولوجية المهمة ، (Hassan و Fahmy، 2019).

إنّ دراسة التراكيب الوراثية بهدف تحديد الأفضل من بينها يعد ذا أهمية قصوى في برامج زراعة وإنتاج نبات الكجرات، فهي تختلف في محتواها من المركبات الفعالة اضافة الى اختلاف البيئة لنموها وانتاجيتها، اذ تعتمد أهمية التركيب الوراثي على ما يحتويه من مواد فعالة طبيياً (Sarwar، 2023) كما ان دراسة الجينات المسؤولة عن تخليق المواد الفعالة جاء لتوضيح حقائق مهمة حول العوامل الوراثية الأساسية التي تؤثر على الصفات موضع الاهتمام لذلك تعد دراسة

محتوى الصنف من هذه المواد الفعالة واحدة من الوسائل التي يمكن أن تساعد على اختيار الأنماط الجينية المتفوقة وتحسينها مع تحسين الأداء الزراعي والصفات المرغوبة لمختلف البيئات لذلك برزت الحاجة إلى إعادة النظر في دراسة تتابعات القواعد النروجينية في الجينات المشفرة للإنزيمات المسؤولة عن تخليق المواد الفعالة، الذي سيكون له دور فاعل في تحديد أهمية التركيب الوراثي المزروع لذا كان الهدف من هذه الدراسة هو:

1. دراسة وتشخيص جينات CHS و F3H المسؤولة عن تخليق المواد الفعالة في تركيبين وراثيين من الكجرات.
2. اختبار كفاءة عدة توليفات سمادية NPK في نمو وحاصل والمادة الفعالة لتركيبين وراثيين من نبات الكجرات واختيار التوليفة المناسبة لغرض تحقيق التوازن الغذائي واثره في النمو والحاصل والتقليل من آثار التلوث بالأسمدة.
3. تحديد التركيب الوراثي الافضل في محتوى المواد الفعالة.

2- مراجعة المصادر Literature Review

1-1- نبات الكجرات *Hibiscus sabdariffa* L.

يعدّ نبات الكجرات من النباتات الاقتصادية فهو يعود على مستثمره بالمرودود المالي والدخل الجيد، كما تقوم المناطق المنتجة للكجرات بكميات كبيرة بتسويقها داخل أسواقها المحلية وتصدير جزء منها إلى مناطق العالم الأخرى، ويتميز محصول نبات الكجرات عن باقي المحاصيل بتنوع منتجاته وهذا ما يزيد من الأهمية الاقتصادية لنبات الكجرات، وتعدّ سبلات نبات الكجرات هي الجزء المستخدم في تحضير عصير الكجرات، ويعتمد ناتج محصول نبات الكجرات على التركيب الوراثي، والظروف الجوية، ونوع التربة والخدمة الزراعية (El Naim وآخرون، 2017).

ينمو نبات الكجرات بشكل جيد في الترب الطينية والطينية الخفيفة الجيدة الصرف، ويمكن زراعته في الأراضي الصحراوية حديثة الاستصلاح، وهو من المحاصيل الصيفية، إذ تتم زراعة بذوره في فصل الصيف من أواخر شهر آذار وحتى نهاية شهر نيسان، فبذور هذا المحصول تحتاج إلى درجة حرارة عالية لإنباتها إذ يحتاج الدونم الواحد إلى كمية بذور تتراوح من (6-7) كغم، ويعد الكجرات من النباتات الطبية التي تحتل مكانه كبيرة في الإنتاج الزراعي والصناعي والطبي فهو يعد احد اهم مصادر الادوية والعلاج ويحتوي على الكثير من المواد الفعالة المهمة التي تستخدم في المجال الطبي والصناعي (Galauda, 2006). لنبات الكجرات أسماء مختلفة ففي كثير من البلدان العربية يسمى بالكركية وايضا يسمى بالقرقديب، واما في العراق يسمى بشاي الكجرات نسبة الى منطقة كجرات في الهند (نصرالله، 2012).

يعد الكجرات احد النباتات المزهرة ينتمي الى العائلة الخبازية (جدول 1) وهو نبات حولي شجيري ذات جذور وتدية، وساقه قائمة اسطوانية ذات تفرعات قليلة وملمس ناعم ذات لون أخضر ومائل الى الأحمر، يبلغ ارتفاعه تقريباً من (1-2.5) م، والأوراق بسيطة جالسة مفصصة تشبه الكف يبلغ طولها حوالي (15) سم، وعرضها حوالي (7) سم، الأوراق كأسية متشحمة سميكة ذات طبيعة عصيرية، كأس الزهرة والأوراق والسيقان حامضية تشبه في طعمها التوت البري، حواف الأوراق مسننة ذات لون أخضر الى أخضر محمر مرتبة بالتبادل على الساق وتكون زاهية، أما الأزهار فتوجد في أبط الأوراق، ويكون عنقها قصير ولونها بين الأحمر والأحمر الداكن، أما الثمرة (الجوزة) عبارة عن كبسولة (شكل 2، 1) تحوي داخلها عدد من البذور شكلها كلوي، تكون مجمعة ذات لون بني غامق (Ali و Abbas, 2011، نصر الله، 2012).

يعتقد بأن الموطن الاصلي لنبات الكجرات هو شمال وشرق افريقيا، الا أنه يمكن ان يتواجد في المناطق ذات المناخ الدافئ وفي عدة دول مثل: الهند، وماليزيا، وتايلاندا، وفيتنام، والفلبين، ومالي، والمكسيك، (Toukara وآخرون، 2011). بينما يُعتقد أنّ الموطن الأصلي لنبات الكجرات هو الوطن العربي مثل مصر، والمملكة العربية السعودية (Ismail وآخرون، 2008) أما في العراق تعود زراعة نبات الكجرات الى بداية القرن العشرين في مناطق عديدة منها ناحية السنية في محافظة الديوانية وجنوب محافظة بغداد وغيرها من المناطق، إذ بدأت زراعة هذا المحصول تتطور شيئاً فشيئاً وذلك لأقبال العديد على استعماله في مختلف المجالات مثل اوراقه الكأسية (Eslaminejad و Zakaria, 2011 ؛ محسن، 2019).

جدول 1: تصنيف نبات الكجرات عالميا, حسب ماذكر Hill (2014) ضمن المملكة النباتية كما موضح في أدناه

التصنيف العالمي	
<i>Hibiscus bdariffa</i> L.	الاسم العلمي:
Roselle	الاسم الانكليزي:
Kingdom Plant	المملكة: النبات
Gender Marshmallo	الجنس: الخطمي
Malvales	الرتبة: الخبازيات
Flowering Plant	الشعبة: النباتات المزهرة
Dicotyledonae	الطائفة: ثنائية الفلقة
Malvaceae	العائلة: الخبازية
Angiosperms	النوع: كأسيات البذور



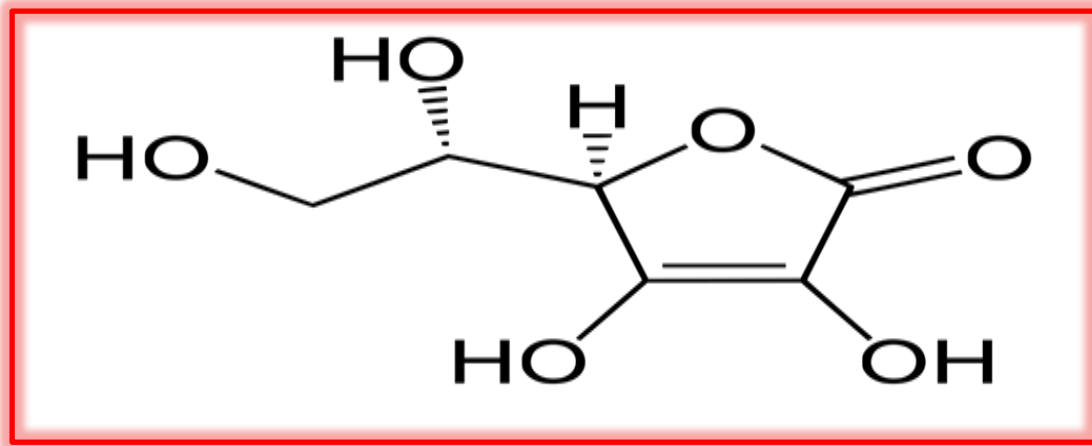
شكل 1: نبات الكجرات التركيب الوراثي الأحمر



شكل 2: نبات الكجرات التركيب الوراثي الأبيض

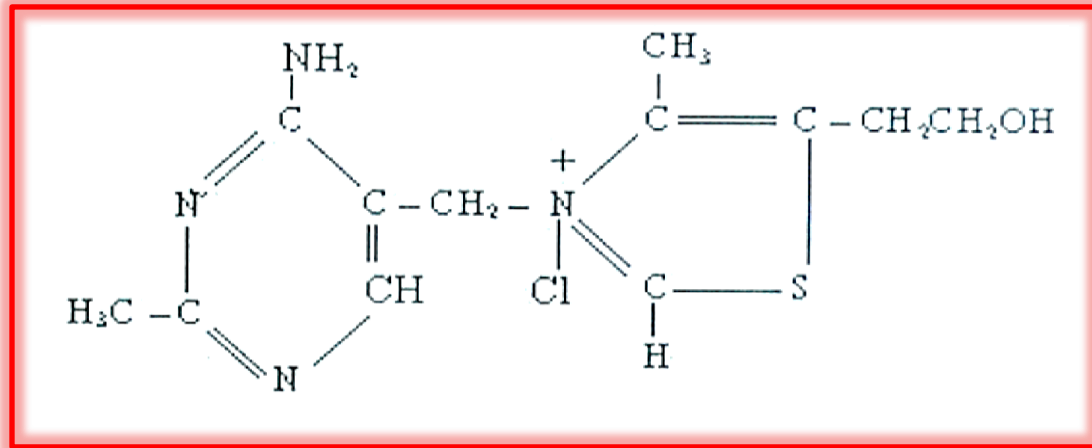
2-2- الأهمية الطبية والغذائية لنبات الكجرات

تكمن أهمية نبات الكجرات في احتواء جميع اجزائه على المواد الكيميائية الفعالة، فالجذور تحتوي على التارتريك Tartaric acid والصابونيات Saponins (Mahadevan وآخرون, 2009). أما البذور تعدّ من الأجزاء الغنية بالعناصر الغذائية مثل الكالسيوم، والفسفور، والصوديوم، والبوتاسيوم، والمغنسيوم وايضا تحتوي على عنصر الكبريت (Nzikou وآخرون, 2011)، كما تحتوي ايضاً على نسبة من الزيت تقدر بحدود (17%) الذي يشبه في خصائصه زيت بذور القطن (Metwally وآخرون, 2002)، وللبذور اهمية طبية عالية يمكن استخدامها لعدة أغراض علاجية، والبذور حاوية ايضاً على الكربوهيدرات، والنشأ، والسليلوز، والكوليسترول والياف غذائية، وأحماض أمينية وأخرى دهنية منها: الستريك Citric acid، وحامض الاولييك Oleic acid، وحامض الفورميك Formic acid، وحامض الفيوماريك Fumaric acid وغيرها من الاحماض التي تكون مسؤولة عن الطعم الحامضي في مشروب نبات الكجرات (Frimpong, 2008). أما الأوراق تحتوي على العديد من المواد الكيميائية المهمة من الناحية الصيدلانية، إذ تحتوي على بعض من الأحماض العضوية وأيضا على بعض الكلايكوسيدات، والألياف، والدهون وكذلك على نسبة من الرماد، الأوراق الكأسية تحتوي على المواد الفعالة وتعدّ أهم اجزاء النبات وذلك لاحتوائها على المواد الفعالة، وتحتوي على كميات لابأس بها من الكربوهيدرات تصل تقريبا الى 25%، وبروتينات، ورماد، ودهون، والياف، وماء، وكاروتين، وفيتامين C (شكل 3)، الذي يوجد في عدد من الأطعمة المتنوعة، ويتم استعماله كمكمل غذائي ويسمى أيضاً بحامض الاسكوربيك ascorbic acid ويستخدم لمنع وعلاج مرض الأسقربوط. يعدّ أيضاً أحد أنواع الفيتامينات المهمة لصحة الإنسان إذ يساعد على إعادة نمو أنسجة وإنتاج إنزيمات النواقل العصبية، وهو مهم في أداء العديد من الإنزيمات اللازمة لوظائف الجهاز المناعي، وكذلك يمكن أن يعمل كمضاد أكسدة (Boretta و Banik , 2020).



شكل 3: التركيب الكيميائي لـ Vitamin C (Klein و Dasgupta, 2014)

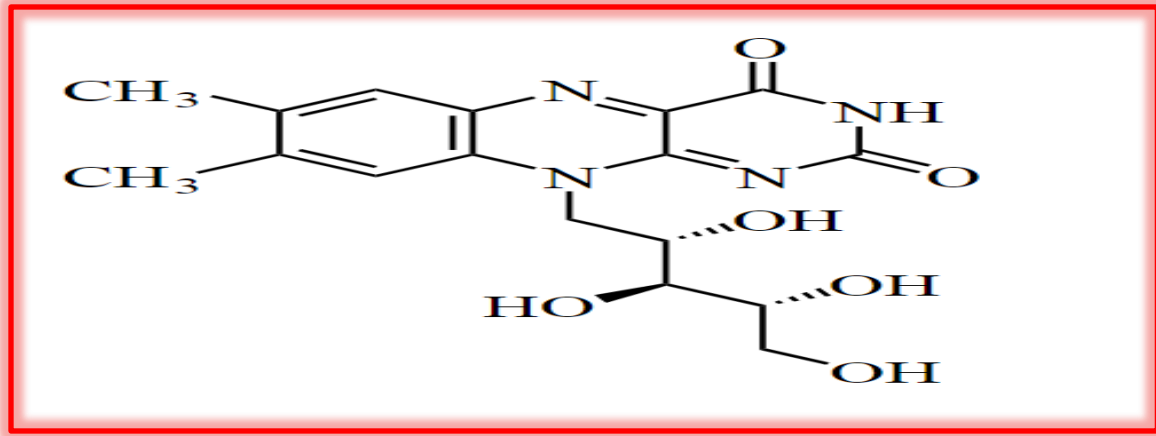
كما يحتوي نبات الكجرات على مواد فعالة أخرى مثل الثيامين (Thiamine) (شكل 4) والمعروف أيضا باسم فيتامين B1 وهو مركب غذائي أساسي، لا يمكن صنعه في الجسم إذ يوجد في الطعام، ويتم تصنيعه تجارياً ليكون مكماً غذائياً (Yoo وآخرون 2020).



شكل 4: التركيب الكيميائي لـ Thiamine (Yoo وآخرون 2020)

وكذلك يحتوي هذا النبات على الريبوفلافين Riboflavin والمعروف باسم فيتامين B2 (شكل 5) هو من الفيتامينات المتوفرة في الأنظمة الغذائية، ويعدّ ضرورياً لتكوين اثنين من الإنزيمات المساعدة الرئيسية هما أحادي نوكلوتيد الفلافين، وفلافين أدينين ثنائي نوكلوتيد التي التنفس الخلوي كذلك إنتاج الأجسام المضادة، فضلا عن توازن النمو والتطور الطبيعيين، يوصف

الريبوفلافين لعلاج ترقق القرنية، ويؤخذ عن طريق الفم، ويقلل من حدوث الصداع النصفي خصوصاً لدى البالغين (Witten و Aulrich ، 2019). كما أنّ نقص الريبوفلافين نادر الحدوث وعادة ما يكون مصحوباً بنقص الفيتامينات والمواد المغذية الأخرى، ويمكن الوقاية منه أو علاجه عن طريق المكملات الغذائية عن طريق الفم أو عن طريق الحقن كفيتامين قابل للذوبان في الماء. تشمل المصادر الطبيعية للريبوفلافين للحوم والأسماك والطيور والبيض ومنتجات الألبان والخضروات الخضراء والفطر واللوز (Anel وآخرون ، 2016).



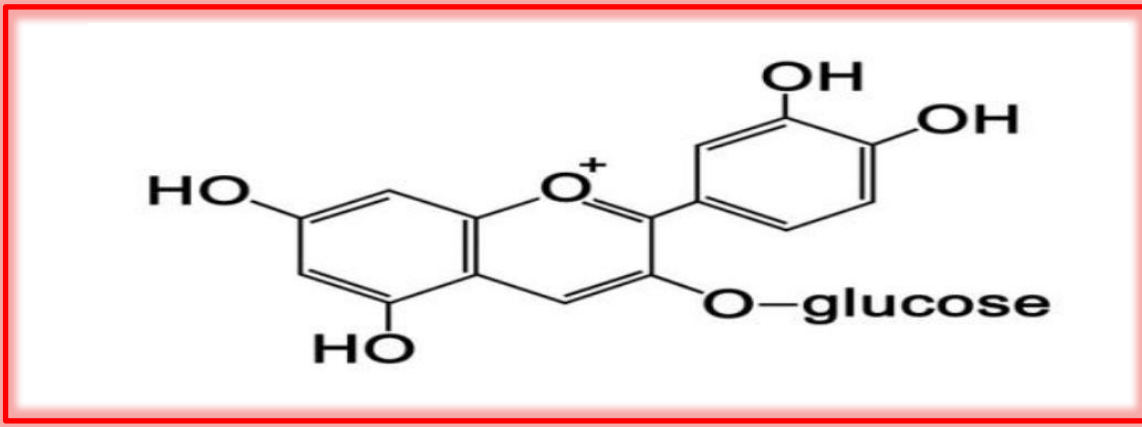
شكل 5: التركيب الكيميائي لفيتامين B2 (Anel وآخرون , 2016)

ومن المواد الأخرى التي يحتوي عليها هذا النبات هي مادة النياسين Niacin التي تعرف بإسم حمض النيكوتينيك Nicotinic Acid ، وهو مركب عضوي ويمثل شكل من أشكال فيتامين B3، الذي يعد عنصراً غذائياً ضرورياً، الذي يمكن تصنيعه من قبل النباتات والحيوانات بواسطة حامض التربتوفان Tryptophan ، يستخدم النياسين كمكمل غذائي لعلاج البلاغرا، هو مرض ناجم عن نقص النياسين، تشمل علامات وأعراض البلاغرا آفات الجلد، والفم، والإسهال، والضعف البدني، والصداع (Zain alabidin وآخرون, 2016). كذلك يحتوي الكجرات على العناصر المعدنية مثل الفسفور والمنغنيز والحديد والكالسيوم والصوديوم (Mahadevan وآخرون, 2009). كما تحتوي الأوراق الكأسية على كميات كبيرة من املاح الكالسيوم ومواد ملونة، وتحتوي أيضا على أحماض أمينية أهمها حامض الاسبارتك (Aspartic acid) كما أنّ الأوراق الكأسية تحتوي على صبغات الفينولات، والفلافونات، والتانينات وهي من المركبات المسؤولة عن الصبغات النباتية مثل لون السبلات الأحمر والأزرق والأصفر لها استعمالات طبية، كذلك صبغة الانثوسيانين التي تكون

مسؤولة عن إعطاء اللون الأحمر للنبات، وتعمل كمضاد أكسدة وكذلك تقلل من توتر الاعصاب، وتحسن الرؤية وتحمي الأوعية الدموية، وتعدّ هذه المركبات قابلة للتحلل والإرتباط بالسكريات في سلسلة الكربون (Raei وMilani, 2014).

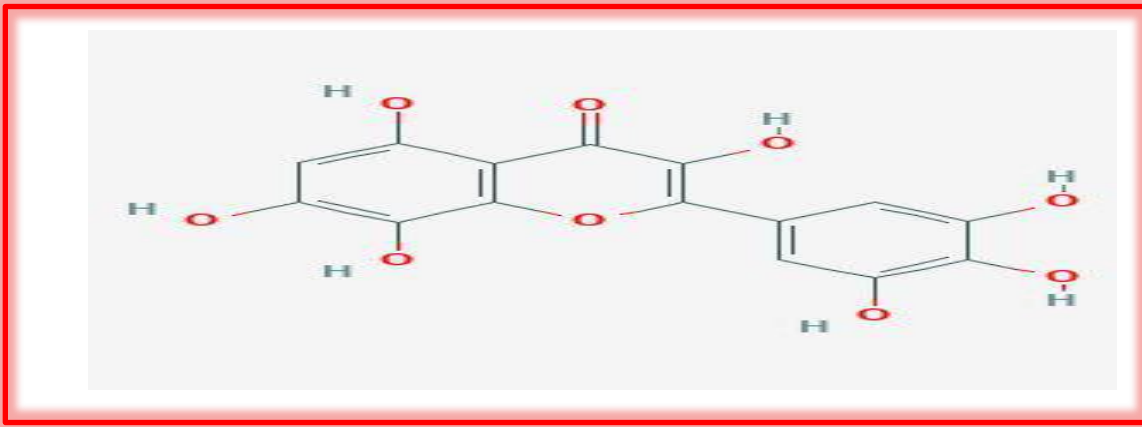
كما يتميز نبات الكجرات بإحتوائه على مركبات دفاعية منها كلايكوسيدات السيانوجينيك (Cyanogenic Glycoside) وهي منتجات نباتية نشطة مشتقة من الأحماض الأمينية يتم تثبيتها عن طريق الارتباط بجزيئة الكلوكوز، وهي مواد لها خاصية دفاعية في منع الحيوانات من تناول هذا النبات، إذ تتحول كلايكوسيدات السيانوجينيك إلى سيانيد الهيدروجين وهو مادة شديدة السمية؛ وذلك نظراً لقدرتها على تثبيط نظام انتقال الالكترونات اللازمة لعملية التنفس؛ وذلك عن طريق ارتباطها بمركبات تدعى الساييتوكرومات (Abdullahi وآخرون، 2020). أشار Smirnoff (2011) الى دور الفيتامينات كعامل مضاد للاكسدة إذ توصف بأنها مصدر لتشكيل الأحماض العضوية، ومرافق انزيمي لبعض الانزيمات النباتية وذلك للوظائف الحيوية الكثيرة التي تقوم بها داخل الجسم، كما أنّ للفيتامينات دورها الخاص في منع الإصابة بذات الرئة إذ أنّها تقلل من الالتهاب الذي ينتج من الاوكسجين الحر في منطقة الرئة، ولها ايضاً أهمية في صحة الجلد (Rahal وآخرون، 2014). كذلك لها القدرة على معادلة نوع الاوكسجين النشط كما توفر الحماية ضد التلف التأكسدي الذي ينتج عن الجذور الحرة، إضافة إلى تنظيم نسبة السكر بالدم (Asgari وآخرون، 2017).

صبغة الانثوسيانين من الصبغات الطبيعية وتوجد في الأوراق الكأسية، وتوجد في كثير من النباتات والخضروات والأزهار، ولكن تختلف في صبغتها التركيبية بين النباتات وهذا ينعكس على لون الصبغة إذ تتدرج من الأحمر الى البنفسجي والأزرق، وتوجد على هيئة كلايكوسيدات glycosides في النباتات ومكونة من جزء عضوي aglycone وجزء سكري على شكل وحدة أو وحدتين من الكلوكوز او اللاكتوز وفي أحيان أخرى الفركتوز، ويمكن فصل الجزء العضوي عن الجزء السكري بواسطة التحلل المائي لمحلول هذه الصبغة، وفي المحيط الحامضي يتكون الشكل العضوي من حلقتين البنزوبايران benzopyran ومجموعة فنيل (شكل 7) Yuniati وآخرون (2021).



شكل 6: التركيب الكيميائي لصبغة الانثوسيانين (Nassour وآخرون، 2020)

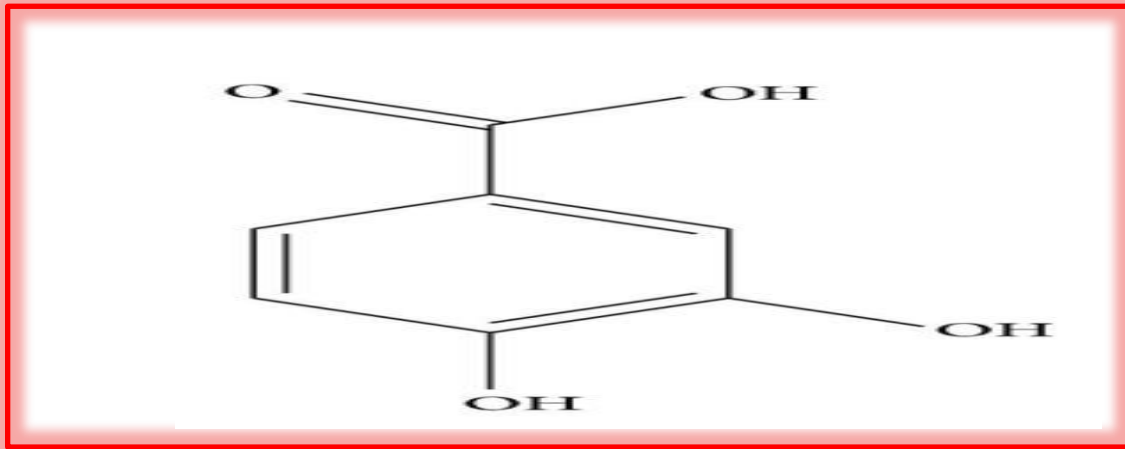
من المواد الفعالة الأخرى في نبات الكجرات هي مادة الهيبستين Hibiscetine (شكل 7) هي إحدى أنواع الفلافونويدات التي تعمل كمضاد للأكسدة، ولها فعالية في حالات الاضطرابات المختلفة، وفي تقوية الجهاز المناعي (Ronald و آخرون، 2014).



شكل 7: التركيب الكيميائي لـ Hibiscetine (Ronald وآخرون، 2014)

كذلك يحتوي نبات الكجرات على مركب الـ **Protocatechonic acid**، الذي يتواجد في الأوراق الكاسية للنبات، ويعتبر من أهم مضادات الأكسدة لدوره في علاج بعض الأمراض السرطانية، فهو يعدّ واحداً من الأحماض الفينولية الذي يكسب نبات الكجرات أهمية طبية (Kakkar و Bais، 2014). أثبتت عدة تجارب إن مركب Protocatechonic acid يحتوي على مجموعة

متنوعة من الأنشطة البيولوجية إذ يعد من احد المركبات المضادة للبكتيريا والأكسدة ومضاد للالتهابات وغيرها. وبالإضافة إلى ذلك له تأثير محتمل للحماية الكيميائية، التي يمكن أن تمنع المواد المسببة للسرطان الكيميائية في المختبر وتنتج موت الخلايا المبرمج ومكافحة آثار الانتشار في جوانب مختلفة، حامض Protocatechonic (شكل 8) هو مكون قابل للذوبان في الماء والمادة الفعالة تسهم في الكثير من الحالات العلاجية مثل تحفيز تراكم مضادات الصفائح الدموية، وتقليل استهلاك الأوكسجين في عضلة القلب، وزيادة قدرة مقاومة الأوكسجين لعضلة القلب، تنظيم معدل ضربات القلب ومضادات الميكروبات، والنشاط الدوائي المسكن، بالإضافة إلى التأثيرات المضادة للورم والوقاية العصبية، له أيضا دور مهم في مضادات فيروس التهاب الكبد الوبائي (Alegbe وآخرون 2019).



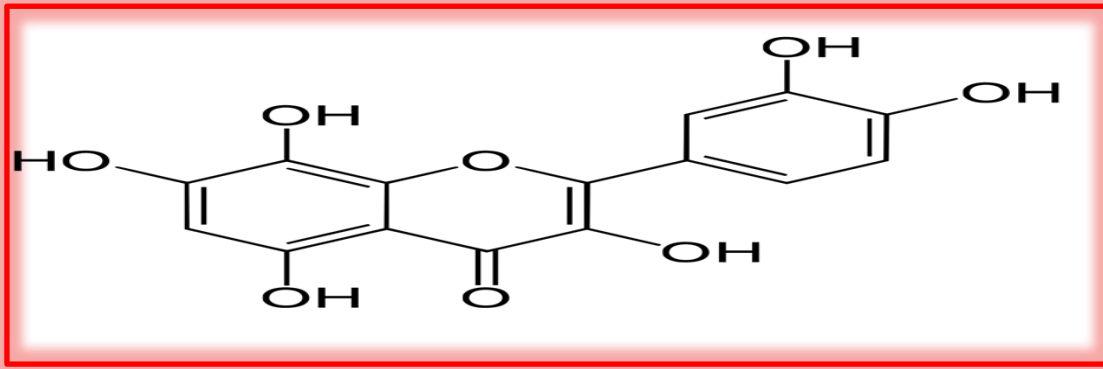
شكل 8: التركيب الكيميائي لProtocatechonic acid (Alegbe وآخرون، 2019)

من المركبات الأخرى والمهمة طبياً في نبات الكجرات هو مركب الجوسبتين Gossypetin (شكل 9) الذي يتركيب وراثي كأحد انواع الفلافونويدات التي تكون مسؤولة على اعطاء اللون للازهار والثمار وتظهرها بألوان مختلفة، وتعزز مقاومة الجسم للأمراض لأستعمالها في علاج وحماية الاوعية الدموية، وكذلك تثبيط أكسدة حامض الأسكوربيك اسد (Amitava وآخرون ، 2013).

إنّ لمركب Gossypetin دوراً في نشاط الخلية الدبقية الصغيرة، وهي الخلية المناعية الموجودة في الدماغ، كما أشارت بعض الدراسات أن هذه الخلية تزيل أميلويد بيتا ($A\beta$) الموجود

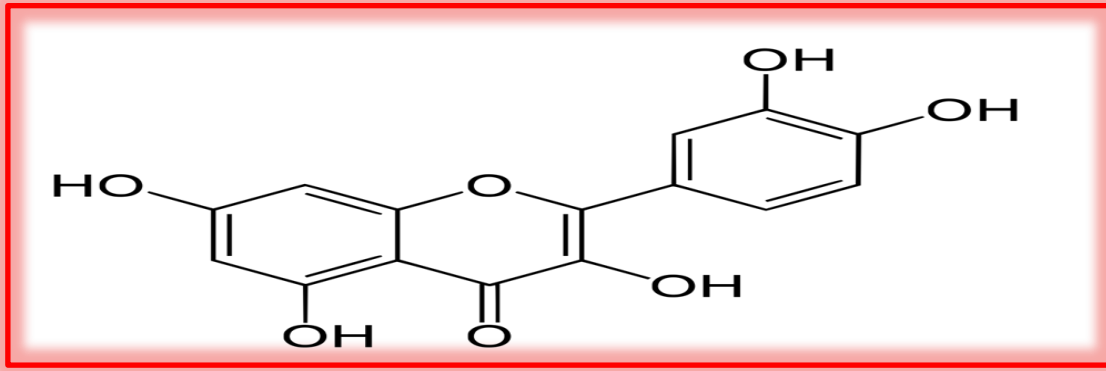
في الدماغ للتخفيف من الإعاقات الإدراكية الناتجة عن مرض الزهايمر (Gulsheen وآخرون, 2014).

عمل الباحثون على دراسة تسلسل الحمض النووي الريبي، وتوصلوا الى أن الجوسبيتين يمنع التعبير عن الجينات المرتبطة بحدوث الدباق (الانتشار الليفي للخلايا الدبقية الصغيرة) الذي يحفز التفاعلات الالتهابية المزمنة حيث إنه يزيد من تعبير الجينات المسؤولة عن بلعمة أميلويد بيتا. بعبارة أخرى، يسهل الجوسبيتين إزالة خلايا أميلويد بيتا الدبقية الصغيرة (Zhao وآخرون, 2016).



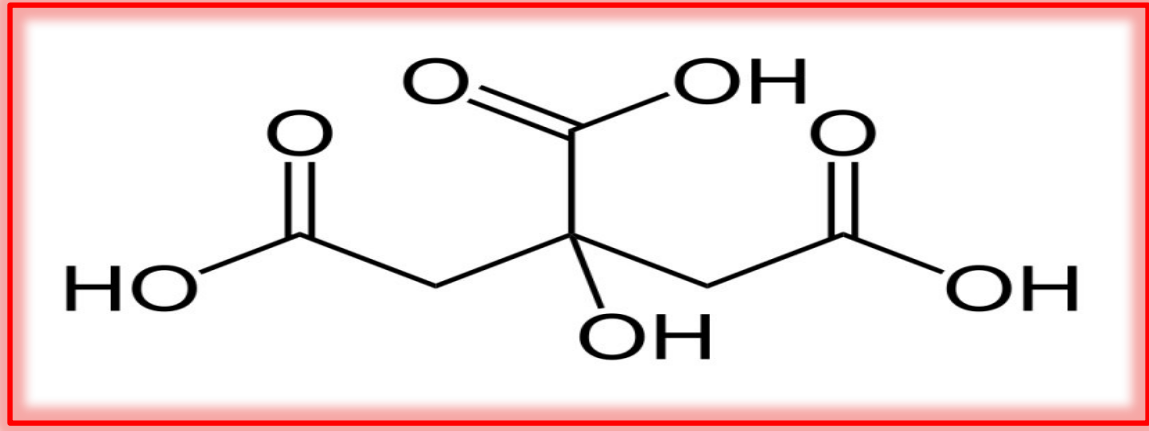
شكل 9: التركيب الكيميائي لـ Gossypetin (Zapesochnaya وآخرون, 1985)

من المواد الفعالة طبيياً في نبات الكجرات هي مركبات الكيرسيتين Quercetin (شكل 10) التي تلعب دوراً مهماً في الحماية من الأمراض القلبية (Ballmann وآخرون, 2015). فهو مركب مضاد للأكسدة وأحد المركبات المسؤولة عن النشاط المضاد للأمراض السرطانية وكذلك حماية الكبد من التسمم (Ali وآخرون, 2016). إن الكيرسيتين هي مادة لونية نباتية من مجموعة البوليفينول، وينتمي الى مجموعة بنتاهيدروكسيفلافون، التي تعود إلى المجموعة التحنوية للفلافونول، الكيرسيتين هو ناتج من أكسدة سيانيدين المنتمة إلى مجموعة المواد اللونية (الأنثوسيانين)، وهو المسؤول عن اللون الأصفر في أجزاء النبات، ويعمل على دعم عمل المعدة والطحال؛ إذ يسهم على هضم وابطال فاعلية الجذور الكيميائية، كما تعمل هذه المادة على وقاية جسم الإنسان من الألتهابات البيئية التي تنتج من التلوث بالعناصر الثقيلة كالرصاص، الذي يسبب انحلال كريات الدم الحمراء -Herranz-López وآخرون, 2020).



شكل 10: التركيب الكيميائي لـ Quercetin (Herranz-López وآخرون, 2020)

حامض الستريك (شكل 11) يعد من أحد المواد الفعالة والمتركيب وراثية طبيياً في نبات الكجرات، فهو يساعد على إنتاج الطاقة الخلوية التي تعمل على تحسين عملية التمثيل الغذائي، وتعزيز التفاعلات الكيميائية المسؤولة عن تحويل الطعام إلى طاقة قابلة للاستخدام في الجسم، كما يعزز امتصاص العناصر الغذائية وله دور في زيادة امتصاص المعادن الموجودة على شكل مكملات بما في ذلك الكالسيوم، والمغنيسيوم، والزنك في جسم الإنسان، ايضاً يعمل على ازالة السموم، مما يقلل من ضرر الجذور الحرة ومن ثمّ قد يكون له تأثير في حماية الكبد والدماع، كذلك يسهم في الوقاية من حصى الكلى عن طريق جعل البول أقل ملائمة لتكوين الحصى نظرًا لكونه من المواد القلوية، كما يعزز من صحة البشرة، إذ يضاف إلى بعض منتجات العناية بالبشرة لضبط الحموضة أو تعزيز تقشير البشرة وإعادة نموها وتجدد خلاياها، كما يساعد في حمايتها من الشيخوخة (Izquierdo-Vega وآخرون, 2020). حامض الستريك هو العنصر الأساس لدورة كريبس التي تحصل في الماييتوكونديريا، ويعدّ من احد الأحماض العضوية المهمة في هذه الدورة، التي تتكون فيها مركبات الطاقة والقوة الأختزالية وكذلك المركبات المهمة كافة في الخلية وسلسلة نقل الألكترونات، ايضاً لها دور في تكوين المركبات المساهمة في بناء النبات، وتكون مركباته كالدون والبروتينات وانواع مختلفة من الكربوهيدرات فضلا عن الفاتوكروم والساييتوكروم وهرمونات النمو وصبغات الكلوروفيل تسمى دورة كريبس بدورة حامض الستريك وايضا تسمى (Osikii) Trcarboxyli acid (2019).



شكل 11: التركيب الكيميائي لحمض الستريك (Osikii, 2019)

إنّ الفوائد الطبية للكجرات تكمن في الأجزاء المختلفة (كالأوراق، والجذور، والبذور، والأزهار، والثمار، والاوراق الكأسية)، ويستعمل النبات بصورة عامة كمادة مجهزة وخافض للحرارة ومضادة للبكتريا، ومرض الاسقربوط، ومادة مطهرة، ومضادة للتشنج، وقاتحة للشهية، وقابضة، وهاضمه، وملينة، ومسكنة، ومسهلة، ومقشعة، ومدررة، ومسكنة، وطاردة للديدان ، ومسكنة الام العضلات والرحم والمفاصل ومدررة للصفراء (Duke وآخرون, 2002).

بيّن (Ghislain) وآخرون (2011) بأنّ عصير الكجرات له نشاطات مختلفة على الخصائص البايوكيميائية في جسم الانسان، إذ بيّنت الدراسات بأن تناول المستخلص يكون أكثر امانا لاستخدامه في منع وعلاج أمراض الأوعية القلبية، وأمراض القلب كتصلب الشرايين والاضطراب العصبي، وتهدئة الاعصاب، وفقر الدم. كما وجد الدسوقي (2008) وMckay وآخرون (2010) إنّ تناول شراب الكجرات بشكل يومي، وبكمية معتدلة يخفض ضغط الدم للاشخاص البالغين ذوي الدم المعتدل والمرتفع، وقد ثبتت كفاءة هذا المشروب في التغييرات الغذائية.

وبيّنت التجارب التي توصل إليها Olaley (2007) المستخلص الميثانولي للكجرات له مركبات كيميائية فعالة مثل (alkaloids و flavonoids و saponins و cardiac glycosides)، إذ لاحظ أنّ لهذه المركبات فعالية مضادة لسمية الخلية، كما وبيّنت التجارب بأن للمستخلص أهمية في علاج الأمراض المختلفة كالسرطان (cancer) والصفراء (bilious) والدمامل (abscesses) ، ويستخدم في علاج السعال (coughs)، كما بيّنت إمكانية عزل مركبات مضادة لنمو البكتريا (antibacterial) ومضادة لنمو الخلايا السرطانية (anticancer) باستعمال الكجرات. إنّ هذا

المركب فعال في تثبيط عمل الجينات المسرطنة (مضاد للسرطان)، مثل تقليل لزوجة الدم، واللوكميما رمضان وجميل (2010). وبسبب المركبات الفينولية يكون مانع للأكسدة وبذوره مصدر غني بالبروتينين Abbas و Ali (2011).

وبيّنت نتائج الدراسات إنّ مستخلص نبات الكجرات له دور مهم في خفض مستوى الكوليسترول في الدم للأشخاص الذين يعانون من ارتفاع مستوى الكوليسترول وله مستويات عالية من مضادات الاكسدة مثل Flavonoids تشمل مجموعة من المركبات، التي تكون مسؤولة عن اللون الأحمر للنبذ، و Flavonoids المهمة لصحة الانسان والقلب، مضادات الاكسدة تقاوم الجزيئات المؤذية المعروفة بالجزور الحرة (free radicals)، التي تسبب ضررا لخلايا الجسم وتتركه في حالة مرضية (Chin وآخرون، 2006، Lilin وآخرون، 2007).

لنبات الكجرات أهمية غذائية واقتصادية وكذلك صناعية لإمتلاك بعض أجزائه كالجزور والأوراق والبدور والأزهار والثمار وكذلك الأوراق الكأسية استعمالات غذائية متنوعة عديدة ومن اكثرها استخداما وشيوعا الأوراق الكأسية اذ يتم استخدامها في المجالات الإقتصادية وتعدّ مصدراً للمواد الملونة الطبيعية وفي المجالات الغذائية أيضاً، فهي تدخل في صناعة المربى والجلي (الهلام) (Raifa وآخرون 2005). كما يتم استخدام الانثوسيانين المستخلص من الأوراق الكأسية للكجرات في منتجات غذائية متنوعة كالملونات الغذائية، التي تدخل في صناعة و انتاج الحلويات، والوجبات الخفيفة، والجلاتين، والكيك، والأيس كريم، والحلوى، والمشروبات وغيرها (Abou- Arab وآخرون، 2011). يمكن أن يستخدم زيت بذور الكجرات بعد تنقيته كزيت مائه ويستخدم في قلي الأطعمة ومن خصائصه أنه زيت ذو مذاق خالٍ من الرائحة وذو لون مميز إنّ هذه الخصائص جعلت نبات الكجرات واحداً من أهم النباتات الأقتصادية والدوائية وكذلك الغذائية (الدسوقي، 2008).

كما يعد نبات الكجرات من المصادر الرئيسية الطبيعية لإنتاج الألياف النباتية اللازمة لصناعة الورق، والسليولوز النقي، والحبال، ويستخدم نبات الكجرات في صناعة العصير، والنبذ، والنكهات (المطيبات) والشراب، الأوراق الكأسية تجفف لعمل الشاي وكذلك صناعة التوابل وتستخدم الاوراق الكأسية مع الصلصات والزبد والفطائر والحلويات الأخرى والأوراق الكأسية تمتلك مادة البكتين، لهذا فهي تدخل في صناعة الهلام الصلب وتحتوي على فيتامين (C) و flavonoids و niacin و Calcium و ascorbic acid) والحديد بكميات كبيرة، وتكون مصدراً غذائياً مهماً للانسان، الأوراق الفتية والسيقان الطرية للنبات تؤكل بشكل طازج مع السلطات او

خضار او مطبوخة او تمزج مع اللحم والخضروات ,ويمكن أن تضاف إلى الكاري كماده مطيبة (Mohamed وآخرون, 2012).

2-3- أهمية العناصر الغذائية (NPK)

تمثل التوليفات السمادية NPK أهمية كبيرة في نمو وتطور النبات، لأنها تشمل اهم العناصر الرئيسية في التي يحتاجها النبات لتكوين مجموع خضري وجذري لكن يفضل اضافتها معاً وبصورة متوازنة لكي لاتسبب تلوب وتسمم للنبات (Hassa و Fahmy ، 2019). يعد النتروجين أحد العناصر الاساسية في جميع العمليات الحيوية التي تحدث داخل النبات لما له من دور في حياة النبات الفسيولوجية, فهو يشجع نمو الجذور ويزيد من كفاءة النبات في امتصاص الماء والعناصر المغذية من التربة وكذلك يشجع نمو الجذور, لذلك يزداد معدل نمو المحصول والنمو الخضري وتحسين انتاجية ونوعية المحاصيل الزراعية ويؤثر ذلك بشكل كبير في انقسام الخلايا فيزداد النشاط المرستيمي للخلايا وكذلك يؤثر في زيادة المساحة السطحية للأوراق فتزداد نسبة الكلوروفيل في الأوراق ويدخل في تركيب البيروفيينات (Porphyrins) التي تشارك في تشكيل جزيئات الكلوروفيل التي لها اهمية كبيرة في عملية التركيب الكربوني، إذ إنها تعمل على اقتناص الضوء وتحويله الى طاقة كيميائية, ومن ثم تزيد كفاءة عملية التمثيل الكربوني مما ينعكس ايجابيا على المساحة الورقية للنبات, ويدخل في تركيب البروتين والانزيمات لهذا يعد النتروجين من العناصر المغذية والمحددة لانتاج المحاصيل الزراعية كافة (علي وآخرون, 2014).

اما من حيث الكمية التي يحتاجها النبات يأتي النتروجين في المرتبة الاولى, لهذا فإن جاهزيته في التربة خلال مراحل نمو النبات، لا سيما مراحل النمو السريعة والحرجة فهو ضروري للحصول على متوازن لدخوله في بناء المواد البروتينية، وهو من اهم مكونات البروتوبلازم والكلوروفيل لذا فهو مهم للحصول على انتاجية جيدة (Jan وآخرون, 2010).

يعد سماد اليوريا $CO(NH_2)_2$ أحد أنواع الأسمدة الصلبة الأكثر استعمالاً كمصدر للنتروجين، ويكون ذا شحنة متعادلة مما يجعله الأثبت في التربة، وتتميز أسمدة اليوريا عن باقي الأسمدة النتروجينية بأنها لا تتسبب في تملح التربة، وهي ذات تفاعل قاعدي في البداية الا أن تفاعلها النهائي ذو تأثير حامضي بعد حدوث عملية النترجة وتحول الأمونيوم الى النترات كذلك يتميز بذوبانه العالي في الماء، واليوريا من الأسمدة المفضلة لدى المزارعين واثبتت نجاحها وتفوقها في ترب العراق (علي, 2012).

كما يعد الفسفور ايضاً ذو أهمية كبيرة للنبات فهو من المغذيات الضرورية التي يحتاجها النبات في التربة لكي ينمو بشكل سليم وجيد كما يعمل عنصر الفسفور على التسريع من عملية النضج للنباتات، يعدّ الفسفور عنصر اساس للنبات، وهو عنصر متحرك داخل النبات ويمتص بصورة أيونات الفوسفات التي توجد بأحدى الصور الأتية (HPO_4^{-2} و PO_4^{-3} و $\text{H}_2\text{PO}_4^{-1}$) ويعتمد توفر اي من الصور السابقة على درجة حموضة التربة (Richardson ، 2001).

يوجد الفسفور في التربة بصورتين العضوية وغير العضوية، من صور الفسفور العضوية، الفوسفولبيدات، والاحماض العضوية، وفوسفات الإينوزيتول (inositol phosphates)، وبسبب عدم قابلية الفسفور للامتصاص يعدّ الفسفور العضوي غير ميسر للنبات لكنه يتحلل في النهاية الى صورته غير العضوية، ويدخل الفسفور في تركيب الـ ATP والـ ADP المهمة في نقل الطاقة، وكذلك يدخل في تركيب الأحماض النووية، وله أهمية لدخوله في مرافقات الانزيمات NAD و NADP المهمة في تفاعلات عمليتي الاكسدة والاختزال، التي يعتمد عليها النبات في التفاعلات الحيوية المهمة في التمثيل الضوئي والتنفس، ويدخل كمكون اساس في الفوسفولبيدات (Phospholipids)، والتي تشكل مع البروتين جزءاً هاماً من الأغشية الخلوية (Baker, 2015).

اما عنصر البوتاسيوم يعتبر من العناصر المهمة لتغذية النبات، ولا تقل أهميته عن النتروجين والفسفور، إنّ أهم مصادر البوتاسيوم هي الصخور الحاوية على معادنه الأولية، وهو عنصر مهم في اتمام العديد من العمليات الكيميائية والفسلوجية، ويمتص بكميات كبيرة بطريقة الامتصاص النشط، ويعد من العناصر المتحركة داخل النبات، ويتركز في الاماكن النشطة كالانسجة المرستيمية وتتجلى أهمية البوتاسيوم في علاقته بتكوين البروتين وكذلك تجهيز منظمات النمو كالسايتوكاينينات وغيرها، فضلاً عن ذلك الى علاقته بمعدل وسرعة النمو (ياسين، 2001). ويعدّ البوتاسيوم واحد من العناصر المغذية الكبرى (NPK) ويمتص من قبل النبات بكميات كبيرة مقارنة بأي عنصر من العناصر المعدنية الأخرى عدا عنصر النتروجين، يوجد البوتاسيوم بكثرة بمناطق واسعة من سطح الكرة الأرضية، إنّ عنصر البوتاسيوم لا يوجد بحالته العنصرية في الطبيعة لكنه يكون متحداً بالمعادن الأولية كالمايكا والفلدسبار، او في معادن الطين الثانوية، من المعادن التي تعتبر المصادر الاصلية للبوتاسيوم هي الفلدسبار البوتاسي الارثوكليز والميكروكلين ويرمز لها بالرمز KAlSi_3O_8 ، والمسكوفيت $(\text{KAl}_3\text{Si}_3\text{O}_{10}(\text{OH})_2)$ ، والبيوتيت $(\text{K}_2(\text{MgFe})_2\text{Al}_2\text{O})$

(10), (نسيم, 2005). وإنّ معدل البوتاسيوم في الكرة الأرضية (23) غم كغم⁻¹ (Barker, Pilbeam, 2015).

2-4- أستيجابة صفات النمو والحاصل لنبات الكجرات للتغذية بالتوليفات السمادية من NPK

وجد Rabo (2015) في دراسته لنبات الكجرات واستخدامه عدة توليفات من NPK (0 و 90 و 120 و 150 كغم هـ⁻¹) تفوق المستوى 150 كغم هـ⁻¹ في صفة ارتفاع النبات وعدد الأوراق وعدد الأفرع والمساحة الورقية والحاصل الكلي للأوراق الكأسية بأعطائه متوسطات بلغت 51.32 سم و 27.38 ورقة نبات⁻¹ و 13.37 فرع نبات⁻¹ و 33.34 سم² و 27391.67 كغم هـ⁻¹ بالتتابع، مقارنة بمعاملة المقارنة التي اعطت اقل متوسطات بلغت 26.27 سم و 13.45 ورقة نبات⁻¹ و 6.79 فرع نبات⁻¹ و 14.48 سم² و 36.85 كغم هـ⁻¹.

في تجربة نفذت من قبل Hassan و Fahmy (2019) ولموسمين 2017 و 2018 عند دراستهما توليفات من NPK (0 و 50 و 75 و 100 كغم هـ⁻¹) اذ لوحظ تفوق التوليفة 100 كغم هـ⁻¹ في الموسم الاول في صفة ارتفاع النبات وعدد الاوراق والوزن الخضري الجاف وعدد الجوز ومحتوى النتروجين والفسفور والبوتاسيوم بمتوسطات بلغت 141.89 سم و 12.89 فرع نبات⁻¹ و 363.90 غم نبات⁻¹ و 136.67 جوزه نبات⁻¹ و 3.070% و 0.371% و 2.830% بالتتابع، بينما اعطت معاملة المقارنة متوسطات بلغت 133.44 سم و 9.33 فرع نبات⁻¹ و 307.84 غم نبات⁻¹ و 83.11 جوزه نبات⁻¹ و 2.668% و 0.336% و 2.502% بالتتابع، اما في الموسم الثاني فقد أعطت التوليفة نفسها (100) كغم هـ⁻¹ وللصفات ذاتها متوسطات بلغت 146.44 سم و 12.89 فرع نبات⁻¹ و 365.09 غم نبات⁻¹ و 146.67 جوزه نبات⁻¹ و 3.066% و 0.366% و 2.757% بالتتابع، مقارنة بالمعاملة (0) التي اعطت متوسطات بلغت 136.22 سم و 9.44 فرع نبات⁻¹ و 314.98 غم نبات⁻¹ و 86.78 جوزه نبات⁻¹ و 2.690% و 0.334% و 2.520% بالتتابع.

وفي تجربة ل El-Dissoky وآخرون (2020) خلال موسمي النمو 2017 و 2018 لتقييم استجابة نبات الكجرات لمعدلات الأسمدة NPK (50 و 75 و 100% من NPK) اذ تفوقت التوليفة NPK1 (NPK%100) NPK في ارتفاع النبات (215.2 سم) وعدد الأفرع (41.0 فرع نبات⁻¹) والوزن الرطب (386.7 غم) والوزن الجاف (115.0 غم)، في حين اعطت التوليفة NPK3 (NPK%50) اقل متوسطات بلغت 199.8 سم 37.8 فرع نبات⁻¹ على التتابع وللصفات نفسها.

بين Salih (2020) في دراسته لثلاث مستويات من NPK (0 و 100 و 150 كغم هـ⁻¹) تفوق المستوى 100 في بعض الصفات مثل ارتفاع النبات وعدد الاوراق بمتوسطات بلغت 3.35 سم و 250.10 ورقة نبات⁻¹ بالتتابع، بينما اعطت معاملة المقارنة متوسطات بلغت 3.23 سم و 157.83 ورقة نبات⁻¹ بالتتابع.

2-5- التراكيب الوراثية في نبات الكجرات

ان دراسة التراكيب الوراثية في نبات الكجرات من ناحية محتواها من المواد الفعالة طبيياً لها أهمية كبيرة لعدة أسباب منها تحديد التركيب الكيميائي، اذ تختلف التراكيب الوراثية في تركيبها الكيميائي، ومحتواها من المواد الفعالة مثل الفلافونويدات والأحماض العضوية والمركبات الأخرى التي تمتلك خصائص طبية مختلفة، وكذلك في تحديد الفوائد الصحية، ومن خلال دراسة التركيب الوراثي للصنف يمكن معرفة ما يحتويه من مواد فعالة، مما يشجع على التوسع في زراعته، ان التراكيب الوراثية متنوعة في نبات الكجرات، فمنها الاحمر هو الاكثر شيوعا والمستخدم في انتاج مشروب الكجرات ويتميز بزهوره الحمراء المحتوية على السيبالين والفلافونيدات، اما التركيب الوراثي الابيض فيتميز بزهوره الكبيرة ذات اللون الأبيض الجذاب ، حيث يمكن استخدامها في تنسيق الحدائق والمناظر الطبيعية وفي صناعة الباقات الزهرية (Hapsari و Setyaningsih ، 2021).

وفي تجربة نفذت من قبل Pal (2018) عند دراسته لعشرة تراكيب وراثية (1 و 2 و 3 و 4 و 5 و 6 و 7 و 8 و 9 و 10)، حيث اظهرت نتائج التجربة تفوق الصنف 9 في صفة ارتفاع النبات وعدد الافرع وعدد الاوراق وعدد الجوز في النبات بمتوسطات بلغت 230.70 سم و 30.05 فرع نبات⁻¹ و 31.95 ورقة نبات⁻¹ و 30.5 جوزة نبات⁻¹ على التتابع.

كما وجد (Sanders وآخرون، 2020) في دراستهم للتراكيب الوراثية (Green, African, Indian Red, Indian Variegated, and Thai Red) اذ اعطى التركيب الوراثي African Green أعلى وزن جاف بلغ 81.89 غم نبات⁻¹ يليه Indian Variegated 79.94 غم نبات⁻¹، و Indian Red 74.23 غم نبات⁻¹، و Red Thai 55.70 غم نبات⁻¹.

وفي دراسة اجراها Salih (2022) لتركيبين وراثيين (4383 و 4202) اذ أعطى التركيب الوراثي (4383) اعلى متوسط لارتفاع النبات وعدد الاوراق وعدد الافرع (3.15 م و 223.07

ورقة نبات¹ و19.08 فرع نبات¹، في حين اعطى الصنف الثاني (4202) متوسطات (3.09 م و171.11 ورقة نبات¹ و17.22 فرع نبات¹) وللصفات ذاتها.

6-2- تقدير المركبات الفعالة طبيياً بواسطة جهاز كروماتوغرافيا السائل ذو الاداء العالي (HPLC)

تعدّ هذه التقنية من افضل التقنيات المنتشرة والمستعملة في تقدير مختلف المواد الفعالة وهي على عدة انواع، منها كروماتوغرافيا الغاز وكروماتوغرافيا السائل وغيرها ، أن هذه الطريقة تتميز في كفاءتها ودقتها العالية في تقدير كمية ونوعية المركبات الفعالة المراد فحصها وتشخيصها في مختلف النباتات (stead, 2018). وبين Jolanta وآخرون (2012) إنّ استخدام تقانة الـ HPLC بدأ على نطاق واسع في فحص وتشخيص المواد الفعالة الموجودة في الاعلاف و خلائط الاعلاف المقدمة للحيوانات مثل: الفيتامينات، وملونات الاعلاف، ومضادات الأكسدة، والأحماض الأمينية؛ وهذا اسهم بشكل كبير في تحديد نوعية العلف الجيدة والمفيدة التي تقدم للحيوان. كان استعمال تقنية الـ (HPLC) في فصل وتشخيص المركبات الفعالة طبييا كان أكثر كفاءة ودقة من الطرق الكيميائية الأخرى المستخدمة للغرض نفسه (Yang وآخرون، 2003). تمتلك هذه التقنية كفاءة عالية في فصل وتشخيص الكثير من المركبات الفينولية الحرة من ازهار نبات الكجرات إضافة الى بعض الحوامض الأخرى كحامض المالك (سلطان وخورشيد، 2018). أكد حسين وآخرون (2018).

إنّ استخدام تقانة الـ HPLC لا يقتصر على فصل وتشخيص المركبات الفعالة في النبات والمخلفات النباتية فقط بل وتستخدم في مجالات اخرى مثلا في الصناعة خلال عملية انتاج المنتجات الصيدلانية والبيولوجية وكذلك تستخدم في المجال القانوني والرياضي والجنائي، وفي المجال البحثي و المجال الطبي (Gerber وآخرون، 2004).

7-2- الجينات المسؤولة عن تخليق المواد الفعالة في نبات الكجرات

يمكن ان يعد نبات الكجرات من اهم النباتات الطبية لما يحتويه من مواد فعالة من اهمها (Hibiscetine و Gossypetin و Quercetin) ، التي تلعب دوراً هاماً في حماية النبات عن طريق عملها كمضادات للاكسدة مما يعني أنها تساعد في حماية النبات من التأكسد الذي يسببه التعرض للجذور الحرة والإجهادات الحيوية واللاحيوية، كذلك تشير الأبحاث إلى أن المواد الفعالة تلعب دوراً في تعزيز النظام المناعي لدى النبات مما يعزز قدرته على التصدي للآفات ومواجهة

التحديات البيئية (Hassoon وآخرون، 2022). ان من ابرز الجينات المسؤولة عن تخليق هذه المواد الفعالة هي:

1-7-2- جين Chalcone synthase (CHS)

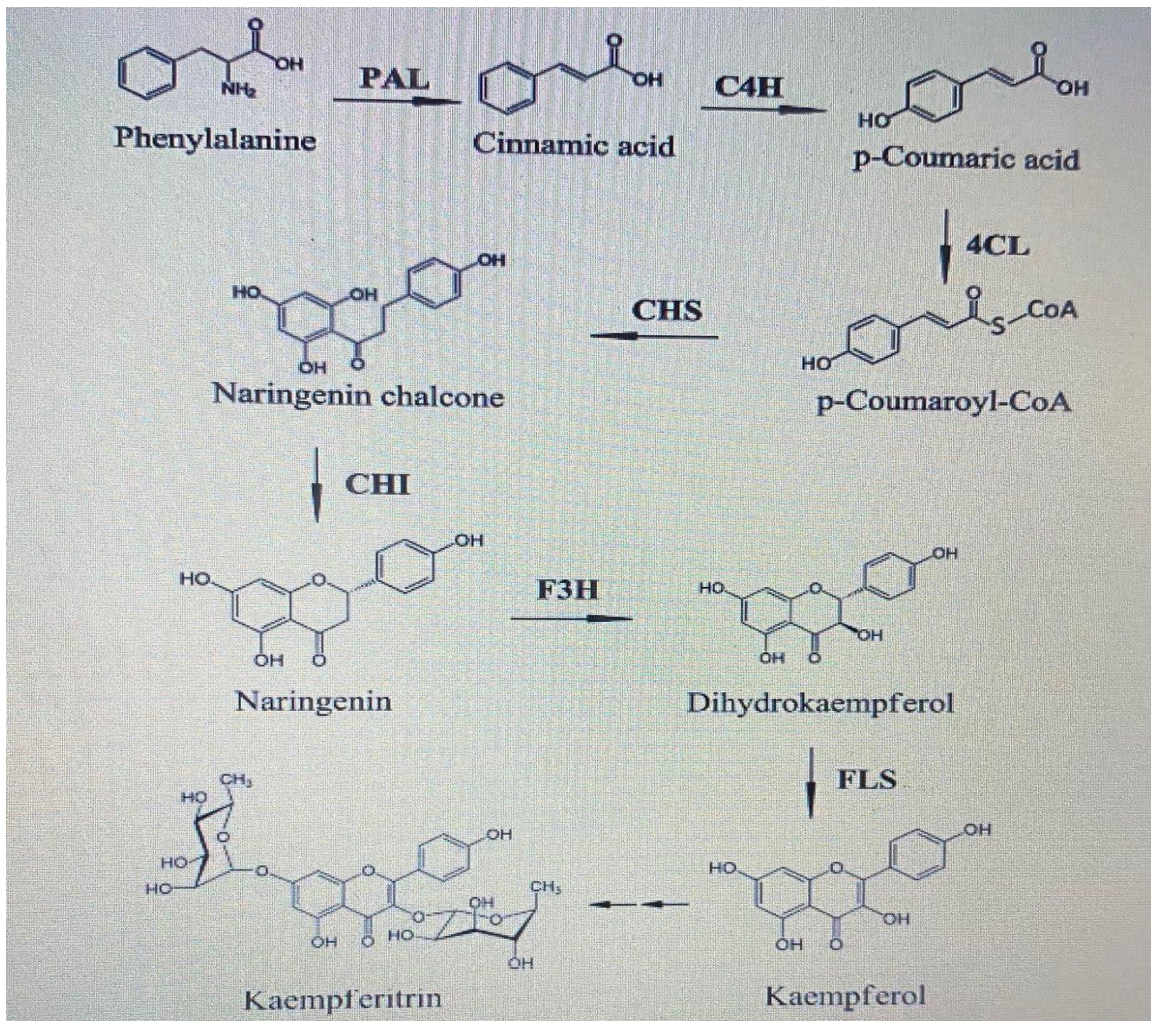
هو جين يتم تواجده في العديد من الكائنات الحية، بما في ذلك النباتات، الذي يلعب دوراً حاسماً في مسار تصنيع الفلافونويدات، وهذا المسار يعتمد على وجود إنزيم CHS ، الذي يحفز على العمليات الحيوية التي تؤدي الى تحويل المركبات العضوية البسيطة مثل Malonyl quinone، إلى المركبات الفلافونية الأكثر تعقيداً مثل Cloanoin (Hayat وآخرون، 2017). إن انزيم CHS يخلق تفاعلاً وسيطاً مهماً يسمى Calchon، الذي يعد الخطوة الأولى في تكوين الفلافونويدات (Deroles , 2009).

الفلافونويدات هي مجموعة واسعة من المركبات الكيميائية التي تحدد اللون والطعم والرائحة للنباتات وهي تلعب دوراً هاماً في الحماية من الآفات والأمراض، وحماية النبات من الأشعة فوق البنفسجية، إضافة الى دورها في جذب الحشرات التي يمكن أن تعدّ العامل المساعد في عملية التلقيح، يمكن تعديل جين CHS في النباتات باستخدام تقنيات الهندسة الوراثية والمتمثلة في زيادة أو تقليل إنتاج تخليق الفلافونويدات وذلك لتحسين خصائص النباتات مثل: المناعة، والجودة الغذائية، والمقاومة للآفات (Nassour وآخرون، 2020).

2-7-2- جين Flavonone 3-hydroxylase (F3H)

هو جين يلعب دوراً هاماً في تخليق الفلافونويدات في النباتات هذا الجين ينتج إنزيم Flavonone 3-hydroxylase التي تلعب دوراً رئيسياً في تحويل مرحلة مهمة من تخليق الفلافونويدات. تتمثل وظيفة جين F3H في تحويل المركبات المعروفة باسم flavanones إلى flavonols، وهي فئة من الفلافونويدات (flavanones) هي مركبات لونية تتكون من ثنائي هيدروكسيل بنزويك، اذ يأتي دور جين F3H في إضافة مجموعة الهيدروكسيل إلى الجزء المركزي من الجزء البروتيني المكون للجزء C3 لتخليق مركبات flavonols، تعزز وظيفة هذا الجين تنوع الفلافونويدات وتسهم في تأثيراتها المتعددة على النباتات والكائنات الحية الأخرى، إنّ لجين F3H دوراً في تحويل المركبات الفلافونية المعروفة باسم flavanones إلى الفلافونويدات الأخرى مثل flavonols وهي مركبات فعالة توجد في العديد من النباتات وتعتبر مضادات أكسدة قوية يُعتقد أنها

ذو تأثيرات مثبّطة للأورام الخبيثة، إضافة الى تنشيط صحة القلب وتقوية الجهاز المناعي (Roshani , 2015). بالإضافة إلى ذلك، يعدّ جين F3H جزءاً من سلسلة تصنيع تسمى مسار تخليق الفلافونويدات، إذ تتفاعل العديد من الأنزيمات (شكل12) معاً لإنتاج مجموعة متنوعة من المركبات الفلافونية، وتعدّ بعض هذه المركبات مثل الفلافونويدات الإيزوفلافونية، والفلافونويدات الإستيولية والإستروجينية، ذات قيمة تطبيقية واسعة في الطب والعلاج النباتي، ومن ثمّ يمكن القول بأن جين F3H يلعب دوراً حاسماً في تخليق المواد الفعالة في النباتات إذ يمكنه أن يؤثر على تركيب المركبات الفلافونية وتنوعها وتأثيراتها الفيزيولوجية والصحية (Li وآخرون، 2022).



شكل 12: عمل أنزيمات CHS و F3H في تخليق بعض الأحماض الأمينية المسؤولة عن إنتاج المواد الفعالة

8-2- تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR)

إنّ عملية التضاعف تتم داخل النظام الحيوي للخلية في وقت الأقسام فقط، وتقوم بمضاعفة كمية الحامض النووي بصورة سريعة وتلقائية داخل الخلية ومع وجود نظام لتصحيح الأخطاء في أثناء عملية النسخ وتبلغ سرعة عمليتي المضاعفة والنسخ داخل الخلية الحية تقريبا 1000 قاعدة نثروجينية بالثانية الواحدة (Subbotin, 2021). بحث الكثير من العلماء في تقانات أو طرق لمضاعفة كمية الحامض النووي بشكل كبير خارج جسم الخلية هذا بعد التطور الكبير الحاصل في مجالات التكنولوجيا الحيوية ومجال التقانات الأحيائية، حتى توصل (Faloona و Mullis, 1987) الى اكتشاف تقانة الـ PCR لتنشيط الخلية وكذلك زيادة قابليتها على التضاعف الجيني بعد إضافة عوامل معينة، وتعد هذه التقنية احدث قفزة نوعية كبيرة في مجال التقانات الاحيائية؛ لذلك يعرف تفاعل البلمرة المتسلسل بأنه تقنية علمية في البيولوجيا الجزيئية وتقوم بتضخيم نسخة واحدة او اكثر من نسخة قطعة من الـ DNA عن طريق عدة تغييرات في حجمها خارج الجسم الحي؛ فينتج عنها آلاف الى ملايين النسخ من الحامض النووي ذو تسلسل معين فيستفاد منها في التجارب والفحوصات المختلفة (Sreejith وآخرون، 2019).

إنّ مبدأ عمل الـ PCR الأساس يكون عبارة عن تفاعل سلسلة مفردة، ويستخدم جزيء الحامض النووي لكي يتم إنتاج نسختين وأربعة وثمانية من النسخ وهكذا، ويتم تحقيق التضاعف المستمر للحامض النووي الـ DNA عن طريق بعض الأنزيمات المعينة التي تعرف باسم (Polymerases) عن طريق ارتباط النيوكلوتهيدات بقواعد موجودة على خيط من جزيء الحامض النووي الأصلي يتم انشاء نسخ الحمض النووي، ويحدث هذا الارتباط كل مرة في مجموعات محددة، وأن هذه النيوكلوتهيدات تحتاج الى جزء من الحامض النووي الذي يعرف بأسم البادىء، الذي يوضع لأجل بدأ البناء فضلا عن جزيء الحامض النووي لمدة اطول بمكانة قالب لبناء جديد اخر. فسوف تبني الأنزيمات نسخ جديدة تشبه الحامض الأصلي (Kadri, 2019).

إن لتقانة PCR عدة مراحل مهمة واساسية تكون في كل دورة من مدة التضاعف متكررة ولمدة زمنية محددة هي :

المرحلة الأولى: المسخ (Denaturation) أو فك الحلزنة: وتعد المرحلة الأساسية في تحضير DNA القالب ذو السلسلة المزدوجة (dsDNA) للعمليات التي تليها، وتتم بدرجة حرارة تقارب 95م° ولمدة ثلاث دقائق لكي تساعد هذه الحرارة على فك ارتباط شريطي الـ DNA وتفصلها الى

شريطين بتكسير الأواصر الهيدروجينية التي تربط بينها والحصول على ال DNA الذي يكون مفرد السلسلة الذي يعمل كقالب لبناء القطعة المكمل لها.

المرحلة الثانية: هي مرحلة التهام البادئ (Primer Annealing) وتتم هذه المرحلة بدرجة حرارة تتراوح بين 55-65 م لمدة دقيقة واحدة او اقل من دقيقة للعديد من الدورات, بين Green و Sambrook (2021) أن تحديد درجة الحرارة وطول المدة الزمنية تعتمد على عدة عوامل منها طول البادئ وتركيزه وكذلك نسبة احتوائه على قواعد الكوانين والسايروسين, وبهذه المرحلة يتم أقتران البادئ بتتابع معين من سلسلة ال DNA، المفردة والمقابلة لها من حيث ملائمة القواعد للبادئ, ويتم الارتباط لبناء الأواصر الهيدروجينية بين سلسلة الهدف ونيوكليوتيدات البادئ. وأشار Wu وآخرون (2019) بأنه يمكن حساب درجة الحرارة اللازمة لمرحلة الألتحام عن طريق عمليات حسابية لكي تلائم طول البادئ, ذلك بمعرفة الدرجة الحرارية المحددة لتفكك 50% منه وحسب المعادلة التالية (Wu وآخرون, 2019).

$$\text{حرارة الألتحام (Tm)} = \{ 2 \times \text{عدد قواعد (A+T)} \} + \{ \text{عدد قواعد (C+G)} \times 4 \}$$

(A) Adenine, (C) Cytosine, (T) Thymine, (Tm) melting Temperature

(G) Guanine

في هذه المرحلة يتم تبريد المزيج في هذه المرحلة للدرجة الحرارية اللازمة الخاصة بالبادئات لتسمح لها بالتعرف على التتابع النيوكليوتيدي على سلاسل ال DNA المفردة والألتحام بها يتم عن طريق تكوين روابط هيدروجينية مع اطراف خيطي ال DNA المراد تضخيمه (الخفاجي وابو المعالي، 2013).

المرحلة الثالثة: هي مرحلة الأستطالة (Extenshion) وتتم بدرجة حرارة 72 م لمدة 1-4 دقيقة وفي أكثر الأحيان تختلف الفترة اللازمة باختلاف نوع المعاملات المستخدمة، فأنزيم البلمرة (Taq DNA polymerase) لديه القدرة على بناء 35-100 نيوكليوتيدة في الثانية الواحدة ويعمل على بناء شريطين جديدين للحامض النووي cDNA باعتماده على شريط القالب وذلك بإرتباط النيوكليوتيدات الى سلسلة الهدف وتركيب السلسلة المكملة مبتدأ من الطرف 3 وباتجاه الطرف 5, وتستخدم هذه الأشرطة كقوالب ايضا لبناء قوالب جديدة وهكذا هذا بالاعتماد على عدد الدورات التي تعتمد على تركيز ال DNA المستهدف وكذلك الزمن وطول البادئ ايضا (الكبيسي, 2019).

1-8-2- المكونات الأساسية لتفاعل PCR

1-1-8-2- أنزيم DNA Polymerase

أن هذا الأنزيم يعدّ احد المكونات الأساسية في تفاعلات تقنية PCR ، وتعتمد هذه التفاعلات على قابلية أنزيم (DNA Polymerase) على البناء وكذلك متابعة تتابعات محددة من DNA القالب التي تتم تتابعات القالب، وحظي أنزيم البلمرة بأهتمام عدد كبير من الباحثين والمختصين؛ لذلك تم العمل على كفائته ونوعيته (Ghannam وآخرون، 2018). في السابق كان يستعمل (Klenow fragment) كأنزيم بلمرة، الذي يستخلص من بكتريا القولون E.coli، ولكنه يفقد القدرة على البناء عندما يتعرض الى درجة الحرارة العالية التي تلزم لنسخ خيوط DNA القالب التي تصل لدرجة حراره 90 م° تقريباً مما يتسبب في توقف عمله (Zhou وآخرون، 2019). إلتجأ الباحثون الى البحث واستنباط تراكيب وراثية جديدة تحل محل هذا الأنزيم الى أن قامت مجموعة بقيادة Saiki في عام 1988 إضافة الى العديد من العلماء باستنباط أنزيم بلمرة جديد يسمى أنزيم (Taq DNA Polymerase) ،الذي يكون ثابت حرارياً ومعزول من البكتريا المحبة للحرارة التي تعرف باسم (Thermos aquaticus) وتعيش في البراكين والينابيع الحارة، ولهذا الأنزيم القدرة على العمل بدرجة حرارية عالية تصل الى 95 م° لعدة دورات من غير تلف أو تحلل، إضافة لبناء قطع جديدة من النيوكلويتيدات تحت ظروف الحرارة العالية واللازمة لفك ارتباط الشريطين، ويحتوي نشاط خاص في عملية البناء ويكون بين 35-100 نيوكليوتيدة في الثانية لكل جزيئة أنزيم وهو يضيف القواعد عند النهاية الثالثة (-3-OH) وتتألف جزيئة هذا الأنزيم من سلسلة مفردة من الببتيدات المعتددة الذي يكون وزنها الجزيئي تقريبا 95 كيلو دالتون. وتعرف الوحدة الأنزيمية بأنها كمية الأنزيم التي تستخدم لبناء 10 نانو غرام من التركيز الكلي للنيوكلويتيدات المفسفرة في الخليط التفاعلي ويحولها لحمض ال DNA القابل للترسيب بمدة 30 دقيقة وحراره تقريبا 75 م° وتحت ظروف التفاعل المستخدمة، وأن للـ Taq Polymerase مميزات هامة مثل فعاليته كأنزيم له نشاط خارجي وقدرة على ربط القواعد النتروجينية التي تكون محورة وتوجد ضمن محلول التفاعل (الكبيسي وآخرون، 2019).

2-1-8-2- PCR buffer المنظم

هو المحلول الذي يحافظ على قيمة الرقم الهيدروجيني من التغييرات عند اضافة حامض أو قاعدة اليه أو عند تخفيفه, ويقوم هذا المحلول بتنظيم عمل انزيم البلمرة h اضافة الى محافظته على نشاط الأنزيم (زكريا, 2011). يحتوي هذا المحلول المنظم على ايونات Mg^{+2} الذي يكون عمله كمرافق انزيمي لأنزيم (Taq Polemerase) ولأجل ان يسهل تعرف القواعد النتروجينية على الأنزيم يكون معقدا معها (Shin وآخرون, 2021). وتختلف المحاليل المنظمة من ناحية تراكيز المكونات ورقمها الهيدروجيني وتركيز الاملاح ايضا, اما المحاليل القياسية فتحتوي على المكونات الرئيسية مثل كلوريد البوتاسيوم (KCl) وكلوريد المغنيسيوم ($MgCl_2$ و Tris-HCl), وبرقم هيدروجيني يبلغ 8.3 (Huang وآخرون, 2019).

ويقوم هذا المحلول بتوفير الأيونات اللازمة للتفاعل منها الأملاح فتركيز الاملاح يؤثر على درجة حرارة التفكك لل DNA القالب, وكذلك طول كل دورة وعدد الدورات الحرارية المستخدمة (Panda وآخرون, 2018).

2-1-8-3- البادئ Primer

البوادئ عبارة عن قطع صغيرة من تتابعات شريط مفرد طولها محدد بعدد معين من النيوكليوتيدات; اذ يتراوح ما بين 18-30 bp (Elkins, 2022) اذ تكون بتتابع مكمل لقطع الـ cDNA لغرض العمل عليها ومضاعفتها, وهو يمثل نقطة البداية في عملية بناء الـ cDNA خلال عملية التضاعف (DNA replication) بواسطة انزيم DNA polymerases لاضافة نيوكليوتيدات جديدة الى شريط الحامض النووي (Shakeel وآخرون, 2018). ان عملية التضاعف تبدأ من النهاية 3 للبادئ التي تحتوي على مجموعة OH اللازمة لبدا عمل انزيم (DNA polymerases), يتم تصميم البوادئ بتتابعات عشوائية وبامكانها الارتباط بقطعة الحامض النووي المتممة لها, او تصمم لجين محدد وهي ترتبط بمواقع متخصصة او شبه متخصصة لهذا الجين وحسب نوع التفاعل وترتيب القواعد النتروجينية, يصمم البادئ على اساس عدم تكامل التتابعات فيما بينها او مع تتابع بادئ ثانٍ لتجنب حدوث ظاهرة تعرف بظاهرة ازدواج البوادئ (primer dimmer) ويجب ان تحتوي البوادئ على عدد مناسب من القاعدتين (G+C), التي من المفترض ان تصل 50-60% لتمنح خصائص اضافية مثل القوة والثبات لمناطق الارتباط (Hossain وآخرون, 2019). يتكون البادئ في الحالة العشوائية من قطعة واحدة وهي تعمل على جميع انواع الـ DNA, اما في الحالة

المتخصصة يتكون البادئ من قطعتين احدهما تسمى بادئ امامي (forward primer) والأخرى تسمى بادئ عكسي (reverse primer)، للبادئات دور مهم في تحديد درجة الحرارة في تفاعل البلمرة المتسلسل في مرحلة الالتحام وتبعاً لعدد القواعد النروجينية المحتوية عليها، إن اختيار البادئ يعتمد على معرفة التتابع للقواعد النروجينية في المنطقة المراد مضاعفتها، إضافة الى النهاية الثانية لنفس المنطقة اذ تحتاج لبادئ اخر، يتركز التضاعف في الجزء الواقع بين بادئين (Karunanathie وآخرون , 2022).

9-2- تقانة تحديد تتابع النيوكليوتيدات Sequencing

باتت القدرة على تحديد تسلسل النيوكليوتيدات بدقة عالية لقطعة معينة من الحمض النووي تحديد تسلسل الحمض النووي احد اكثر تقنيات الهندسة الوراثية اهمية، وليس هناك شك في ان هذه التكنولوجيا اضافة بعدا جديداً الى الهندسة الوراثية، كما ويمكن عن طريق تحديد طبيعة العديد من الجينات المكونة المكونات وخصائصها، وتوجد طريقتان رئيسيتان لتحديد تتابع النيوكليوتيدات تعرف الاولى بطريقة التحلل الكيماوي (Chemical degradation)، وتعرف الطريقة الثانية بطريقة سنجر وكولسون وكذلك تعرف ايضا بطريقة ايقاف السلسلة (Chain termination)، التي تقترض كلونة الـ DNA للحصول عليها بشكل خيوط مفردة وهي اكثر استعمالا من الطريقة الثانية، وإن الطرائق الحديثة التي اكتشفت في العقود الاخيرة تعتمد على اجهزة متطورة وذات مواصفات عالية، وهي لاتزال في الاساس تعتمد على هاتين الطريقتين.

2-9-1- طريقة ماكسام وجلبرت Maxam and Gilbert

وتعرف ايضا باسم طريقة التسلسل الكيماوي (Chemical degradation)، هي من احدى التقنيات التي تم تطويرها لتحديد ترتيب النيوكليوتيدات في الحامض النووي، واكتشفت هذه الطريقة من قبل (Maxam و Gilbert) في عام 1976، أن المبدأ الاساس لهذه الطريقة يعتمد على تكسير خيط الـ DNA بدلا من تكوين خيط جديد كما هو الحال في الطريقة الثانية، وتتم هذه العملية عن طريق استعمال مواد كيميائية تعمل بصورة متخصصة على نيوكليوتيدات معينة، فكل مجموعة من هذه المواد الكيماوية تعمل على تكسير شريط الـ DNA عند نوع محدد من النيوكليوتيدات مكونة بذلك مزيجا من الخيوط المختلفة باطوالها بمقدار نيوكليوتيد واحد وبعد فصل هذه الخيوط يمكن تحديد تتابع النيوكليوتيدات بصورة دقيقة وواضحة، وتتم عملية تكسير الشريط بمرحلتين: المرحلة الاولى

تضاف فيها مواد كيميائية تعمل على تحويل نوع معين من النيوكليوتيدات وعند اضافة مادة كيميائية ثانية ستعمل على قطع شريط الـ DNA في مواقع تلك النيوكليوتيدات المحورة، وأن من شروط استعمال هذه التقنية هي ان تعلم قطعة الـ DNA المزدوجة قيد الدراسة بإضافة مجموعة فوسفات معلمة (P^{32}) الى الطرف (5) لكل خيط من خيطي الحلزون، أما الخطوة الثانية هي فك الارتباط بين شريطي الحلزون عن بعضهما باضافة Dimethyl Sulphoxide (DMSO) وتسخين الخليط الى (90) م، فتؤدي هذه العملية الى تحطيم الاواصر الهيدروجينية التي تربط بين خيطي الحلزون، وبعد ذلك تتم عملية الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز لفصل خيطي الحلزون والحصول على احدهما بصورة نقية، فعلى الرغم من ان شريطا الحامض النووي متماثلان في الطول إلا أنّهما مختلفين بالوزن الجزيئي وذلك لان احدهما غنيا بالبيورينات A ، G بينما يكون الآخر غنيا بالبريميدينات C ، T وبما أنّ البيورينات هي اقل وزنا من البريميدينات لذا فإنّ الشريط الاول سيكون اقل من الشريط الثاني ومن ثمّ سيتحرك بمسافة اقل على هلام الاكاروز، بعدها يتم استخلاص حزمة الشريط الاثقل وزنا (المعلم اشعاعيا في الطرف 5)، ويجزأ الى اربعة اجزاء يستعمل كل واحد منها لتحديد موقع نوع معين من النيوكليوتيدات، ويستعمل احد الاجزاء مثلا لتحديد القاعدة A وهكذا لبقية الأجزاء الأخرى، وذلك باستعمال مواد كيميائية تعمل على تحرير هذه النيوكليوتيدة ومن ثم كسر الشريط عند الموضع المحور، علما ان ظروف برنامج التفاعل يجب ضبطها على اساس عدد الكسور في الشريط بحيث لا تزيد عن واحد او اثنين ومن ثمّ فإنّ ناتج هذه العملية (تكسير الشريط) مجموعة من الخيوط المختلفة الاطوال تنتهي جميعها بالنيوكليوتيدة G في الطرف 3 تكرر العملية مع الأجزاء الثلاثة الأخرى، بعد اكمال برنامج لبقية الأجزاء تنتج مجموعة من خيوط الـ DNA ذات الاطوال المختلفة المشتركة جميعها بنفس النيوكليوتيد في الطرف 5 (المعلم اشعاعيا) لكنها تختلف في الطرف 3 فقسم منها ينتهي بالقاعدة G وقسم منها ينتهي بالقاعدة A.

2-9-2- طريقة سنجر وكولسون Sanger and Coulson

وتعرف احيانا بطريقة ايقاف السلسلة (Chain Termination)، تم اكتشاف هذه الطريقة في نهاية عام 1970 على يد (Sanger و Coulson) ، وان مبدا هذه الطريقة قائم على قطع الـ DNA المراد دراسة تتابعاتها على شكل شريط مفرد لكي تستعمل بمثابة القالب لبناء الشريط المتمم بواسطة انزيم DNA Polymerase ، تشتط هذه الطريقة على استثمار ميزات او خصائص انزيم DNA Polymerase والمتمثلة في ميزتين، الاولى هي قابلية هذا الانزيم على بناء شريط جديد

مكمل للشريط القالب; وذلك عن طريق إضافة النيوكليوتيدات الجديدة واحدة تلو الأخرى حسب ماتنص عليه قاعدة واتسن وكريك. اما الميزة الثانية هي قدرة هذا الانزيم (DNA Polymerase) على استعمال Dideoxy nucleotides كمادة اساس في بناء الشريط المتمم، التي من شأنها ان تخلق نيوكليوتيدات اضافية تستعمل في عملية بناء الشريط الجديد، وان هذه العملية تتوقف عندما يتم ارتباط اي نيوكليوتيدة في الموقع 3 من السكر الخماسي لأنه يفتقر الى مجموعة الهيدروكسيل لذا فإن عملية نمو واستطالة الشريط تتوقف عند هذا الحد (Smith و Pao, 2023).

3-المواد وطرائق العمل Materials and Methods

3-1- موقع التجربة وخصائص التربة

نفذت تجربة حقلية خلال الموسم الزراعي 2022 في إحدى حقول التجارب الزراعية في اعدادية ابن البيطار المهنية الواقعة في قضاء الحسينية / محافظة كربلاء المقدسة، وذلك بهدف دراسة تأثير توليفات أسمدة NPK في مؤشرات النمو والحاصل والمادة الفعالة لتربتين وراثيين من نبات الكجرات *Hibiscus sabdariffa* L. بعد ما تم قياس بعض الصفات الفيزيائية والكيميائية لتربة الحقل وذلك بأخذ عينات عشوائية وللعمق (0-30) سم على وفق الطرائق القياسية المتبعة لكل منها (جدول2).

جدول 2: بعض الخصائص الفيزيائية والكيميائية لتربة الحقل قبل الزراعة

الخاصية	القيمة	الوحدة
الرمل	300	غم كغم ⁻¹
الغرين	320	غم كغم ⁻¹
الطين	380	غم كغم ⁻¹
النسجة	-	مزيجة طينية
المادة العضوية	1.183	غم كغم ⁻¹
النتروجين الجاهز	30.44	ملغم كغم ⁻¹
الفسفور الجاهز	11.2	ملغم كغم ⁻¹
البوتاسيوم الجاهز	28.27	ملغم كغم ⁻¹
1:1 EC	2.7	ديسيمنز م ⁻¹
1:1 PH	7.1	---

3-2- تحضير الارض والتصميم التجريبي والمعاملات

تم حراثة حقل التجربة بالمحراث المطرحي القلاب ونعمت بالأمشاط القرصية وبعد التسوية تم تقسيم الحقل الى وحدات تجريبية بأبعاد (3×4) م إذ كانت مساحة الوحدة التجريبية (12) م، نفذت التجربة بثلاثة مكررات حسب تصميم التجارب العاملية (RCBD) بثلاثة مكررات وبقوع (42)

وحدة تجريبية اذ شملت التجربة عاملين العامل الاول تضمن تولىفات من NPK (جدول 3)، والعامل الثاني تضمن تركيبين وراثيين من نبات الكجرات (الأحمر والأبيض).

زرعت البذور بتاريخ 2-4-2022 على مروز المسافة بين مرز وآخر 75 سم والمسافة بين الجور 50 سم (الحسن والعوادي، 2011)، اذ وضعت 5 بذرات في كل جورة ثم خفت إلى نبات واحد عند اكتمال الإنبات ووصول النبات الى ارتفاع 10-15 سم وبنسبة كثافة بلغت 26666 نبات هـ⁻¹، تم تسميد أرض التجربة حسب التولىفات وذلك بإضافة سماد اليوريا (46% N) كمصدر للنتروجين على دفعتين، الاولى بعد الإنبات والثانية قبل وصول النبات الى مرحلة التزهير، كما تم تسميد الحقل بالسماد الفوسفاتي بهيأة سوبر فوسفات الكالسيوم (20% P) على دفعتين، الاولى قبل الزراعة والدفعة الثانية مع الدفعة الثانية للنتروجين، اما سماد البوتاسيوم فقد اضيف على دفعتين الاولى قبل الزراعة والثانية مع الدفعة الثانية للنتروجين (Dahmardeh, 2012)، تم إجراء عملية التعشيب ثلاث مرات خلال فترة نمو المحصول.

جدول 3: تولىفات الأسمدة المستعملة في التجربة

رمز المعاملة	التولىفة	KPN
C0	0-0-0	NPK كغم هـ ⁻¹
C1	50-25-25	NPK كغم هـ ⁻¹
C2	75-50-50	NPK كغم هـ ⁻¹
C3	100-75-75	NPK كغم هـ ⁻¹
C4	125-100-100	NPK كغم هـ ⁻¹
C5	150-125-125	NPK كغم هـ ⁻¹
C6	175-150-150	NPK كغم هـ ⁻¹

3-3- الأجهزة والادوات والمواد الكيميائية المستعملة في الدراسة

3-3-1- الأجهزة والادوات المستعملة

جدول 4: الاجهزة والادوات المستعملة في التجربة

ت	اسم الجهاز	
1	AURA TM PCR Cabinet	حاضنه لعزل المحاليل والتفاعل التكراري
2	Biopette 0.5-1000 µl	ماصة (لسحب السوائل)
5	Electrophoreses	جهاز الترحيل الكهربائي
6	High Speed Refrigerated Centrifuge	جهاز الطرد المركزي المبرد
7	Mini-Power Supply 300V, 2200V	مجهاز الطاقة
8	Spectrophotometer	مقياس الأمتصاص 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	المزج الدوار/ الطرد المركزي
12	Electric oven	الفرن الكهربائي
13	Microkjeldahl	جهاز كلدال
14	Heater	مصدر للحرارة
15	Flame photometer	جهاز اللهب الضوئي

3-3-2- المواد والمحاليل الكيميائية

جدول 5 : المواد والمحاليل الكيميائية المستعملة في الدراسة

ت	المواد	رقم العدة	الشركة والمنشأ
1	Agarose	8100.11	Conda / USA
2	GoTaq® RT-PCR Master	A6220	Promega
3	Ladder 300bp	KK6302	Kapa /USA
4	Primer	NC008401	Integrated DNA /USA
5	Red safe staining souluion	21141	Intron / Korea
6	TBE buffer	IBS.BT004	Conda / USA
7	2 X AddScript RT-PCR SYBR Master	R2024	Bioneer/USA
8	Acetic acid		
9	Sulfuric acid		
10	acetone		
11	Distilled water		
12	Oxalic acid		
13	Molybdate Ammonium		
14	Metaphosphorus		
15	Ascorbic acid		

3-4-4- الصفات المدروسة

تم دراسة صفات النمو الخضري والحاصل وبعض المركبات الفعالة وكالاتي:

3-4-4-1- صفات النمو الخضري

أخذت خمسة نباتات من منتصف خطوط كل وحدة تجريبية بشكل عشوائي في مرحلة التزهير لدراسة الصفات التالية:

3-4-4-1-1- ارتفاع النبات (سم): حُسِب كمتوسط لخمس نباتات أختيرت عشوائيا من الخطوط

الوسطية لكل وحدة تجريبية، وقيس الارتفاع من قاعدة النبات عند مستوى سطح التربة الى قمة النبات وذلك بإستعمال شريط قياس.

3-1-4-2- عدد الأفرع (فرع نبات¹): تم حساب عدد الأفرع للنباتات المحددة لجميع الوحدات التجريبية ثم أخذ موسطها.

3-1-4-3- عدد الأوراق (ورقة نبات¹): تم حساب عدد الأوراق للنباتات المحددة بشكل عشوائي لجميع الوحدات التجريبية.

3-1-4-4- المساحة الورقية للنبات (م²): تم حساب المساحة الورقية مرحلة ما قبل الحصاد للنباتات المحددة بواسطة جهاز (Digital Planimeter) عن طريق وضع الورقة النباتية على ورقة بيضاء بعدها مررت عدسة الجهاز على حدود الورقة ولثلاث مرات ثم حسب معدل المساحة الورقية لكل نبات.

3-1-4-5- الوزن الطري والجاف للمجموع الخصري (غم نبات¹): تم قطع خمس نباتات من سطح التربة لكل وحدة تجريبية وسجل الوزن الطري لها باستعمال ميزان حساس ثم استخرجت المعدلات لكل معاملة، بعد ذلك جُففت العينات هوائياً بتركها في درجة حرارة الغرفة (حتى ثبوت الوزن) ثم قدر الوزن الجاف بواسطة الميزان الحساس وتم اخذ المتوسط.

3-1-4-6- محتوى كلوروفيل a و b في الأوراق (ملغم غم¹): تم تقدير محتوى الأوراق الطرية من الكلوروفيل a ، b والكلي في مرحلة ما قبل الحصاد، وذلك بأخذ 100 ملغم من أوراق نباتات الدراسة الطرية، وقطعت الى عدة قطع صغيرة وطحنت في هاون خزفي بوجود 6 مل من الاستون تركيز 80% حتى اصبح لون الراسب خاليا من الصبغة الخضراء، ثم فصل الراشح عن الراسب باستعمال جهاز الطرد المركزي (Centrifuge) بسرعة 1600 ومدة 10 دقائق، ثم جمع المستخلص في انابيب حجميه مغطاة بورق معتم معين؛ وذلك لحجب الضوء عن الكلوروفيل منعا لتأكسد الصبغة ضوئياً واكمل الحجم بإضافة الاستون، وحضرت عينه (Blank) حيث تحتوي على المواد المستخدمة كافة في التجربة ماعدا العينة النباتية، ثم قيست الكثافة الضوئية (Absorbance) للراشح بواسطة قياس الطيف الضوئي (Spectrophotometer نوع Shimadzo.UV_1700) عند الطولين الموجيين 645 و663 نانوميتر، ثم تقدير الكلوروفيل a و b الكلي في أوراق النباتات المحسوبة على أساس ملغم. غم نسيج نباتي طري (Mckinney, 1941) وحسب المعادلات:

$$\text{Chlorophyll a} = \{12.7 (D663) - 2.69 (D645)\} \times V \div 1000 \times W$$

$$\text{Chlorophyll b} = \{22.9 (D645) - 4.68 (D663)\} \times V \div 1000 \times W$$

$$\text{Total Chlorophyll} = \{20.2 (D645) + 8.02 (D663)\} \times V \div 1000 \times W$$

V: الحجم النهائي للراشح.

D: قراءة الكثافة الضوئية للكلوروفيل المستخلص.

W: الوزن الطري (غم) إن وحدة قياس الكلوروفيل هي ملغم غم نسيج نباتي طري¹.

3-4-2- صفات الحاصل ومكوناته

تم حساب صفات الحاصل للنبات بأخذ خمسة نباتات لكل وحدة تجريبية، ومن ثم حسب المتوسط لكل وحدة تجريبية وذلك بعد ظهور علامات النضج على النبات.

3-4-2-1- عدد الجوز (جوزة نبات¹): تم حساب عدد الجوز لكل خمسة نباتات بصورة عشوائية، ولجميع الوحدات التجريبية، ومن ثم اخذ متوسطها في كل وحدة تجريبية.

3-4-2-2- الوزن الطري للجوز (غم نبات¹): تم حساب الوزن الطري للجوز من خمسة نباتات أختيرت عشوائياً، ثم وزنت باستعمال ميزان حساس ثم اخذ متوسط زنها.

3-4-2-3- الحاصل الكلي للجوز (كغم هـ¹): تم حساب الحاصل الكلي للجوز، وذلك عن طريق تقدير حاصل النبات الواحد، ومن ثم ايجاد الحاصل الكلي في الهكتار على اساس الكثافة النباتية والبالغة 26666 نبات هـ¹.

3-4-2-4- الوزن الطري للأوراق الكأسية (غم نبات¹): تم حساب الوزن الطري للأوراق الكأسية لخمسة نباتات تم اختيارها عشوائياً ولكل وحدة تجريبية، ثم وزنت باستعمال ميزان حساس، ثم اخذ المتوسط.

3-4-2-5- الوزن الجاف للأوراق الكأسية (غم نبات¹): تم اخذ معدل الوزن الجاف للأوراق الكأسية ولخمسة نباتات في كل وحدة تجريبية بواسطة ميزان حساس وذلك بعد تجفيفها في فرن كهربائي وعلى درجة حرارة (35) م ولحين ثبوت الوزن.

3-4-2-6- الحاصل الكلي للأوراق الكأسية (كغم هـ¹): تم حساب الحاصل الكلي للأوراق الكأسية بعد تجفيفها حتى ثبوت الوزن وذلك عن طريق إيجاد الحاصل الكلي للنبات الواحد ومن ثم ايجاد الحاصل الكلي بالهكتار اعتماداً على الكثافة النباتية.

3-4-3- الصفات الكيميائية

3-4-3-1- تقدير العناصر الغذائية

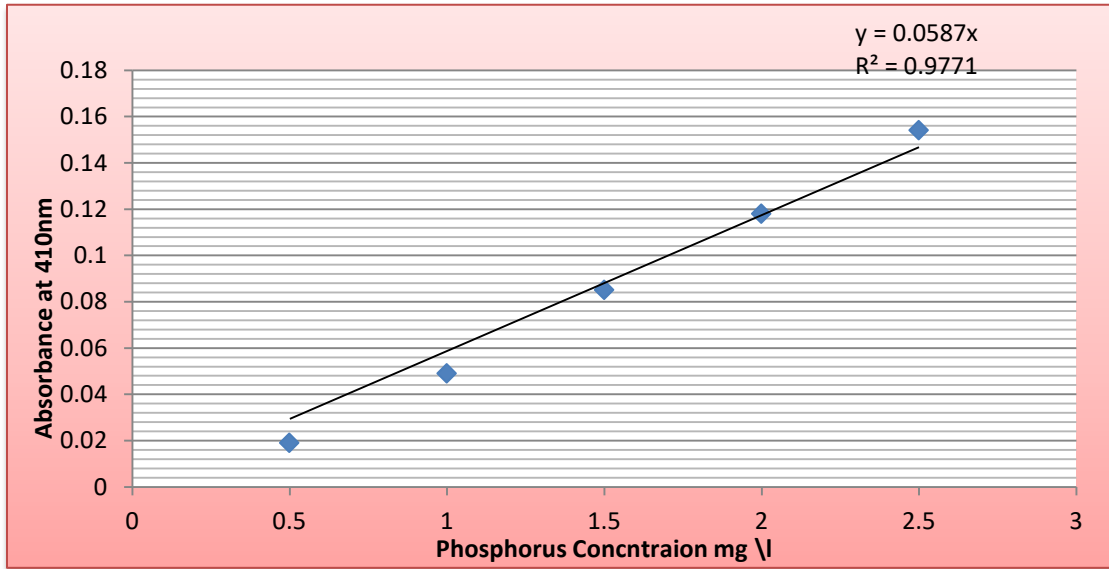
تم تقدير تركيز العناصر الغذائية في الأوراق الكأسية بعد تجفيفها في فرن كهربائي بدرجة (35) مئوية حتى الجفاف التام، ثم طحنت باستعمال مطحنة كهربائية بعدها اخذ (200) ملغم من

العينة المطحونة وتم هضمها بإضافة (3) مل من حامض الكبريتيك، و(1) مل من حامض البيروكلوريك، ثم وضعت على مصدر للحرارة لحين اكتمال عملية الهضم وتحول العينة المهضومة الى محلول رائق شفاف، ثم اضيف الماء المقطر واكمل الحجم الى (50) مل وحفظ العينات في عبوات بلاستيكية مسجل عليها اسم المعاملة (Cresser و parsons, 1979) وتم تقدير العناصر كما يلي:

3-4-3-1-1-1- تقدير عنصر النتروجين (ملغم غم⁻¹): قدر تركيز النتروجين في العينات المهضومة باستعمال جهاز مايكرو كلدال (Microkjeldahl) (A.O.A.C, 1980).

3-4-3-1-2- تقدير عنصر البوتاسيوم (ملغم غم⁻¹): قدرت نسبة البوتاسيوم في العينات المهضومة بواسطة جهاز اللهب الضوئي (Flame photometer) (Hanson و Horneck, 1998).

3-4-3-1-3- تقدير عنصر الفسفور (ملغم غم⁻¹): قدرت نسبة الفسفور المثوية في الأوراق الكأسية في مختبر كلية الزراعة جامعة كربلاء بواسطة جهاز Spectrophotomete وبطول موجي (410) نانوميتر باستخدام فوندات الامونيوم و مولبيدات الامونيوم ، وحسب ما جاء في طريقة الصحاف (1989).



شكل 13: المنحني القياسي لتقدير الفسفور باستعمال ملح K_2HPO_4

3-4-3-4-1- تقدير البروتين (%): قدر البروتين في العينات عن طريق المعادلة الآتية: (تركيز النتروجين $\times 6.25$) كما ذكر في (A.O.A.C, 1980).

3-4-4-4- تقدير المركبات الفعالة:

3-4-4-1- قياس تركيز فيتامين C (Ascorbic acid) (ملغم غم⁻¹): تم قياس تركيز فيتامين C في الاوراق الكأسية لنبات الكجرات لتركيبين وراثيين (الأحمر والأبيض) باعتماد طريقة العمل الموصوفة من قبل Hussain وآخرون (2010) وكما يلي:
تحضير المحاليل:

- مولبيدات الامونيوم: تم تحضيرها بإذابة خمسة غرام منها في 100 مل من الماء المقطر.
- حامض الأوكزالات (M0.05): تم أخذ 6.3 غرام من (Oxalic acid) مع 5.845 غرام من EDTA (0.02M) و اكمل الحجم الى 100 مل من الماء المقطر.
- حامض الكبريتيك (5%): تم اخذ 5 مل من حامض Sulphuric acid و اكمل الحجم الى 100 مل ماء مقطر.
- خليط من حامض الخليك الثلجي والميتافوسفريك: تم تحضيره بإذابة 80 مل من حامض الخليك مع 30 مل من حامض الميتا فوسفريك و اكمل الحجم الى 500 مل ماء مقطر.

هضم العينات النباتية

تم اخذ واحد غرام من الأوراق الكأسية لنبات الكجرات ووضعت في دورق سعة 25 مل و اضيف لها 10 مل من حامض الاوكزالات (C₂H₂O₄) بعدها تم حفظ العينات في الظل لمدة 24 ساعة، ثم الاحتفاظ فيما بعد بالراشح بعد ترشيحه عبر ورق ترشيح.

تحضير المنحنى القياسي

اذيب 0.1 غم من حامض الاسكوريك (Ascorbic acid) ثم اذيب في 100 مل من محلول الاوكزالات بعدها اخذ (0.5 و 1 و 2 و 3 و 4 و 4.5) مل من المنحنى القياسي و اضيف اليه 4.5 و 4 و 3 و 2 و 1 و 0.5 مل من محلول من الاوكزالات (Oxalic acid) في دورق زجاجي سعته 25 مل. وتمت اضافة 0.5 مل من محلول حامض الخليك والميتا فوسفريك و 2 مل من محلول مولبيدات الامونيوم (Ammonium molybdate) و اكمل الحجم إلى 25 مل بالماء المقطر تمت قراءات العينات على الطول الموجي 760 نانوميتر في جهاز المطياف الضوئي.

طريقة العمل

تم اخذ (2.5) مل من العينة النباتية المهضومة و اضيف اليها (2.5) مل من محلول حامض الاوكزالات (Oxalic aci) و (0.5) مل من خليط حامض الميتا فوسفريك Metaphosphonic

(acid) و حامض الخليك الثلجي (Acetic acid) و 1 مل من محلول موليبيدات المونيوم (Ammonium molybdate) بعدها اكمل الحجم إلى 25 مل بالماء المقطر، اخذت قراءة العينات باستعمال جهاز المطياف الضوئي وعلى طول موجي 760 نانوميتر.

تعيين المنحنى القياسي:

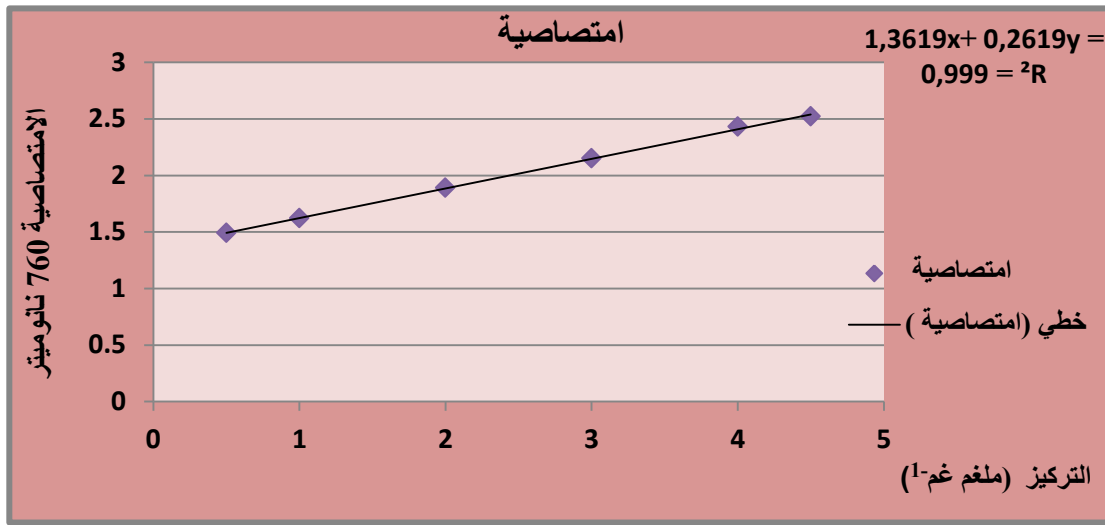
تم رسم العلاقة بين تركيز فيتامين C و قيم الامتصاصية (Absorbance values) لكل تركيز وعمل المنحنى القياسي باخذ تراكيز (0.5 و 1 و 1.5 و 2 و 2.5 و 3) من حامض الاسكوربك (شكل 2) ولحساب تركيز فيتامين C في العينات ادخلت القيم الناتجة في المعادلة الآتية:

$$1.3619 + X 0.2619 = Y$$

حيث:

Y : فيتامين C.

X : قراءة جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer عند الطول الموجي 760 نانوميتر.



شكل 14: المنحنى القياسي لفيتامين C

3-4-4-2- تقدير بعض المواد الفعالة (Gossypetin , Hibiscetin , Quercetin)

بعد إتمام عملية تحضير المحلول وتجهيز العينات المراد تقدير محتواها تم استعمال جهاز كروماتوغرافيا السائل ذو الأداء العالي High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) لتقدير وتشخيص المركبات الفعالة في الأوراق الكأسية لنبات الكجرات، تم حقن (25) ملي مايكرو من العينة داخل الجهاز المصنوع من قبل شركة Shimadzu اليابانية من نوع (LC-

(10A) ، وتمت عملية الفصل للمركبات وتحديد نوعها بالمقارنة مع المواد القياسية على عمود الفصل تحت نفس الظروف (الجدول 5) وبنفس تركيز المواد المفصولة في العينة المفحوصة باستعمال معادلة خاصة ، واجري تقدير المواد الفعالة في وزارة العلوم والتكنولوجيا – دائرة بحوث وتكنولوجيا البيئة والمياه .

$$\text{تركيز العينة} = \text{تركيز النموذج القياسي} \times \frac{\text{المفحوصة العينة حزمة مساحة}}{\text{القياسي النموذج حزمة مساحة}} \times \text{عدد مرات التخفيف} .$$

وحصل على النماذج القياسية من شركة سيكما للتجارة العامة (International Trading Sigma)، وتم قياس زمن الاحتجاز ومساحات الحزم للنماذج القياسية كما موضح (الجدول 4).

جدول 6: زمن الاحتجاز ومساحة الحزم لبعض المواد الفعالة للأوراق الكأسية لنبات الكجرات.

رقم النموذج	النموذج القياسية	زمن الاحتجاز (الدقيقه)	مساحة المحلول (Area)
1	Sabdaretine	3.96	11347
2	Gossypetine	3.12	29427
3	Hibiscetine	5.82	21679
4	Vitamin C	1.23	34146
5	Quercetin	1.87	17664
6	PCA	6.98	9010

جدول 7: ظروف الفصل الكروماتوغرافي باستعمال جهاز HPLC لبعض المواد الفعالة

المواد الفعالة الداخلة في الدراسة	Vitamin C	الحالة
عمود الطور المعكوس (50 X 2.6 mml.d) C-18 بحجم 3 مايكرو لتر	عمود الطور المعكوس (50 X 2.6 mml.d) C-18 بحجم 3 مايكرو لتر	طول العمود
محلول منظم فوسفاتي : الميثانول (V/V 30:70)4-PH	CAN= B * HCL 0.01= a	الطور المتحرك
1.2 مليلتر. دقيقة ⁻¹	1.2 مليلتر. دقيقة ⁻¹	سرعة التدفق
الأشعة فوق البنفسجية عند الطول الموجي 280 nm	الأشعة فوق البنفسجية عند الطول الموجي 280nm	نوع الكاشف
25 م°	25 م°	درجة حرارة الفصل
1.4 سم / دقيقة	1.4 سم / دقيقة	سرعة التسجيل

3-5- استخراج الحامض النووي RNA من الاوراق الخضراء لنبات الكجرات

تم استعمال العدة المجهزة من قبل شركة ADD Bio الكورية والمرفقة مكوناتها في جدول 6 لغرض إستخلاص الحامض النووي RNA من الأوراق الخضراء لنبات الكجرات لتרכيبين وراثيين (الأحمر والأبيض).

جدول 8: مكونات عدة استخلاص الحامض النووي الريبوزي RNA

Solution & Material	Size
Spin column 1 (White ring)	50 es
Spin column2 (Green ring)	50 es
Lysis	25 ml
Binding	20 ml
Washing1	30 ml (add Ethanol 22.5 ml)
Washing 2	10 ml (add Ethanol 40 ml)
Elution	25ml
DNase 1 Reaction Buffer	1ml *3 tubes
Proteinase K (20 mg/ ml)	1.2 ml *1 tubes
DNase 1 (1 U/ml)	0.5 ml *1 tubes

بعد تجهيز عدة الاستخلاص تم تنفيذ الخطوات الآتية

1. اخذت عينات من الأوراق الخضراء لتركيبين وراثيين نبات الكجرات وتم غسلها وتنظيفها من الاتربة والايوساخ وكذلك المسببات المرضية وتم تعقيمها وحفظها في اكياس بلاستيكية وترقيمها وحفظت في المجمدة لحين اجراء الاستخلاص.
2. اخذ 0.02 غم من العينات التي تم تنظيفها، وتعقيمها، وحفظها، وقطعت بمقص معقم الى قطع صغيرة، وسحقت جيدا، ونقلت الأنسجة المطحونة إلى انبوب يحوي على الكرات النانوية، ثم يضاف إليه 750 مايكروليتر من محلول التحليل (Lysis Solution Buffer).
3. ينقل الخليط الى جهاز لرج ولمدة 5 دقائق.
4. أجريت عملية طرد مركزي للمزيج لمدة دقيقة واحدة وبسرعة 10.000 دورة دقيقة¹.
5. سحب 400 مايكروليتر من الطبقة العليا الحاوية على الحمض النووي المنقوص الاوكسجين، وضعت 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 ونأخذ الراسب في الانبوبة.

7. اضيف 1200 مايكروليتر من محلول الارتباط (DNA Binding Buffer) للاحتفاظ بال DNA والتخلص من الشوائب غير المرغوبة.
8. سحب 800 مايكروليتر من الخليط اعلاه ووضعه في اعمدة التصفية (Zymo-SpinTM IIC Column) ثم اجري له طرد مركزي لمدة 1 دقيقة وبسرعة دورة دقيقة¹.
9. وضعت اعمدة التصفية (Zymo-SpinTM IIC Column) في انبوب جمع (Column 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 دقيقة¹.
10. اضيف مرة اخرى 500 مايكروليتر من محلول الغسيل (DNA Wash Buffer) واجري له طرد مركزي لمدة 1 دقيقة وبسرعة 10.000 دورة دقيقة¹.
11. وضع الفلتر في انبوبة الطرد المركزي (Microcentrifuge tube)، ويضاف 50 مايكروليتر من محلول الازابة (DNA Elution Buffer) واجري له طرد مركزي لمدة 30 ثانية فقط وبسرعة 13000 دورة دقيقة¹.
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- قياس نقاوة وتركيز الحامض النووي RNA:

يتم تقييم نقاوة الحامض النووي منقوص الاوكسجين بواسطة جهاز NanoDrop اذ تحسب امتصاصية عينة الـ RNA عند الطول الموجي 260 نانوميتر ($O.D_{260}$) ثم تحسب الامتصاصية للعينة نفسها عند الطول الموجي 280 نانوميتر ($O.D_{280}$)، إذ إنَّ النسبة بين قراءة الموجة (260 نانوميتر) الى (280 نانوميتر) تساعد على تقييم نقاوة الحامض النووي، وتتراوح هذه النسبة بين (1.8 - 2.0) للـ RNA النقي (Sambrook وآخرون، 1989) وحسب المعادلة الآتية:

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

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

3-5-2- البوادي

جدول 9: البوادي المتخصصة بتشخيص جينات CH3 و F3H المستعملة في تفاعل البلمرة

المتسلسل للنسخ العكسي RT PCR

إسم الجين	رمز البادئ	التتابع	Tm °C	GC%	bp
CHS	CHS	F5' AGAAATCCGCAAGGCACAAC '3	59.9	55	656
		R5' CAATGCTTGGCCAACAAGAC '3	59.5	50	
F3H	F3H	F5' CTTGCGGAATCCGGTACTCT '3	59.5	50	888
		R5' GCATTGGGGTCTGTATGTCC '3	59.4	55	

3-5-3- تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل للنسخ العكسي RT-PCR

تُفذ تفاعل البلمرة المتسلسل للنسخ العكسي (RT-PCR) لعينات RNA المستخلصة من الأوراق وللتركيبين الوراثيين، بواسطة العدة 2 X AddScript RT-PCR SYBR Master المرفقة في جدول (10)، وتم إكمال الحجم النهائي للعينة بـ Distill water الى 20 مايكرو يتر.

جدول 10: تراكيز مكونات خليط تفاعل البلمرة العكسي المتسلسل RT-PCR

الحجم	المكونات		ت
10µl	عدة تفاعل RT-PCR	2 X AddScript RT-PCR SYBR Master	1
2µl	البادئ الأمامي	Forward primer	2
2µl	البادئ الخلفي	Reverse primer	3
5µl	الحامض النووي	RNA	4
1µl	ماء منزوع الايونات	Distill water	5
20µl	الحجم النهائي		

تم تحضير خليط التفاعل في انبوبة معقمة (انبوبة لكل جين مع انبوبة خالية من الحامض النووي (Negative Control)، ومزجت مكوناته باستعمال ماصة دقيقة ثم وضعت في جهاز الطرد

المركزي للحفاظ على الحجم النهائي لخليط التفاعل, ثم تم وضعها في جهاز البلمرة الحراري PCR, وتم تنفيذ البرنامج كما في جدول 9 لغرض تضخيم الجينات.

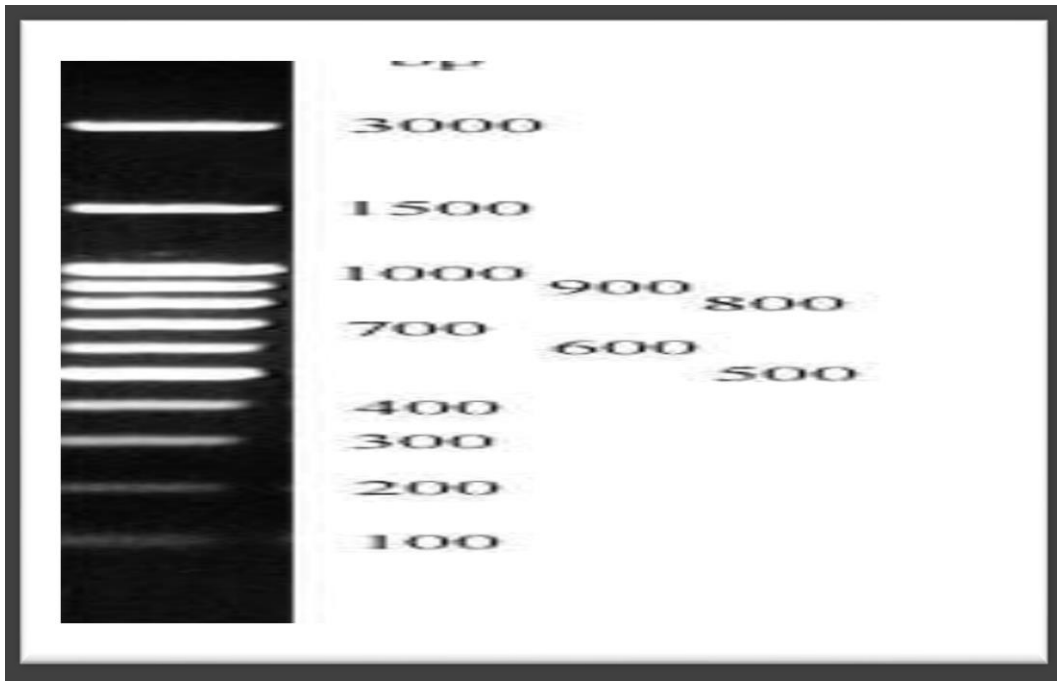
جدول 11 : برنامج ظروف تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لتضخيم جين CHS وF3H

المرحلة	درجة الحرارة (°C)	الوقت	عدد الدورات
Initial Denaturation مسخ اولي	95	3 min.	1
Denaturation -2 مسخ ثاني	95	45 sec	35
Annealing الالتحام	59	45 sec	
Extension-1 الاطالة الأولية	72	2 min	
Extension -2 الاطالة الثانية	72	7 min.	1

3-5-4- الترحيل الكهربائي لنواتج RT-PCR باستعمال هلام الأكاروز

تم إجراء الترحيل الكهربائي لتحديد قطع الحامض النووي بعد عملية تفاعل البلمرة المتسلسل للنسخ العكسي للعينات الناتجة و الدليل القياسي للحامض النووي الريبوزي منقوص الاوكسجين (DNA Ladder marker), اذ تم مزج 1غم من الاكاروز واذيب في 100مل من دارئ الترحيل الكهربائي (TBE بقوة X1) وسخن لحين الغليان وترك لكي تنخفض درجة الحرارة الى (40-50 م) ثم يضاف له 2 مايكروليتر من الصبغة الحمراء الامنة, في هذه الأثناء حضرت عينات الحامض النووي (3 مايكروليتر) بمزجها مع دارئ التحميل (loading buffer 5) مايكروليتر) وتم تحضير القالب ووضع المشط في احدى نهايته لعمل حفر داخل طبقة هلام الاكاروز و ثم صب الاكاروز المذاب في القالب و ترك ليتصلب في درجة حرارة الغرفة بعد تصلب طبقة هلام الاكاروز, رفع المشط بحذر دون إحداث تشويه او تحطيم للحفر واعيد القالب الى مكانه في جهاز الترحيل الكهربائي و اضيف 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 (3Kbp DNA ladder) marker) المبين في شكل (15) الى الحفرة الموجودة في الجانب الايسر من العينات المضافة للمساعدة بتحديد احجام الحامض النووي المضاعفة و ثم اوصلت اقطاب الجهاز بالتيار الكهربائي و شغل مجهر الطاقة على (120) ملي امبير لمدة (90) دقيقة. بعد اكمال عملية ترحيل العينات, فحصت طبقة هلام الاكاروز الحاوية على نواتج الحامض النووي المضاعف والمتصبغة بالصبغة الحمراء الآمنة تحت الاشعة فوق البنفسجية واخذت لها صور.



شكل 15: الدليل القياسي للحامض النووي DNA

3-5-5- تحليل تسلسل القواعد النتروجينية للحامض النووي المكمل (cDNA)

لغرض معرفة تتابع القواعد النتروجينية لنواتج الحامض النووي (cDNA) المكمل المضاعفة بواسطة تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) لتركيبين وراثيين من نبات الكجرات وللجينات المشخصة, تم ارسال نواتج الحامض النووي المكمل الى شركة Macrogen الكورية مع البادئ الامامي الذي استعمل في عملية مضاعفة الحامض النووي (جدول 7) ثم تم ادخال تسلسل القواعد النتروجينية لنواتج الحامض النووي المضاعف في قاعدة البيانات المتوفرة في المركز الوطني

لمعلومات التقنية الحيوية (NCBI)، وكذلك تم مطابقة تسلسل القواعد النروجينية فيما بينها بواسطة برنامج Bio Edit، وتم رسم الشجرة الوراثية بالاستعانة بـ NCBI PLAS.

3-6- التحليل الإحصائي

تم تحليل البيانات إحصائياً لجميع الصفات المدروسة على وفق تصميم القطاعات الكاملة المعشاة (RCBD) للتجارب العاملية، ثم قُورنت المتوسطات باستعمال اختبار أقل فرقاً معنوياً LSD عند مستوى احتمالية 0.05 (الساهاوكي ووهيب، 1990). باستعمال برنامج التحليل الإحصائي GenStat.

4- النتائج والمناقشة Results and Discussion

1-4- تشخيص وتحليل جين CHS والمسؤول عن تخليق بعض المواد الفعالة في نبات الكجرات

يقع هذا الجين في الكروموسوم الثاني ويبلغ حجمه (19935) زوج قاعدي (شكل 16)، الذي يشفر جزيئة (mRNA) ذات طول (1452) bp زوج قاعدي تترجم الى بروتين وله (aa 389).

(LOC114173396)

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=CHS+Hibiscus>

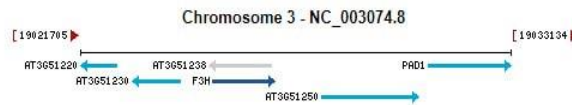
ويعرف هذا الجين ايضا باسم (CHS) Chalcone synthase الذي يشفر الى انزيم CHS المسؤول عن التخليق الحيوي للأحماض الأمينية (isoleucine, valine, leucine)، التي تعد الوحدات الاساسية للبروتين، ويعد البروتين سلسلة متتابعة من الأحماض الأمينية، ويوجد جين CHS في العديد من الكائنات الحية والنباتات، وله دورًا حاسمًا في مسار تصنيع الفلافونويدات، وهذا المسار يعتمد على وجود إنزيم CHS ، الذي يحفز على العمليات الحيوية التي تؤدي الى تحويل المركبات العضوية البسيطة مثل Malonyl quinone، إلى المركبات الفلافونية الأكثر تعقيدًا مثل Cloanonin (Hayat وآخرون, 2017). إن انزيم CHS يخلق تفاعلاً وسيطاً مهماً يسمى Calchon، الذي يعد الخطوة الأولى في تكوين الفلافونويدات (Deroles , 2009).

Location: chromosome: 3

See F3H in [Genome Data Viewer](#)

Exon count: 3

Sequence: Chromosome: 3; NC_003074.8 (19025192..19026872)



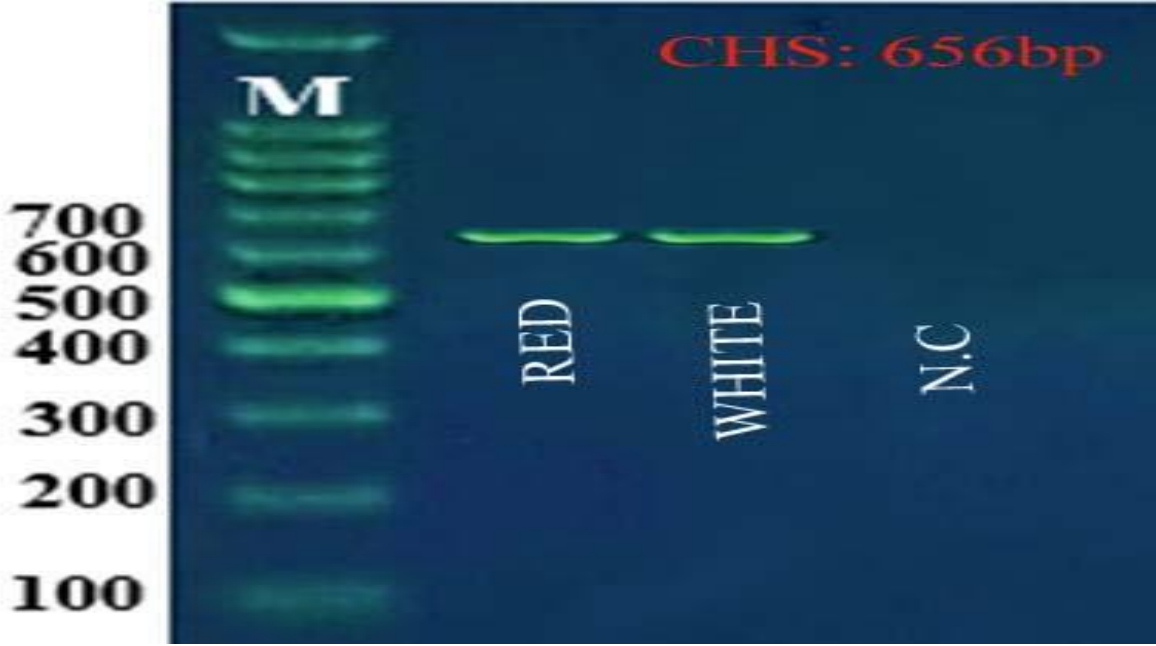
Genomic regions, transcripts, and products

Genomic Sequence: NC_003074.8

Go to [reference sequence details](#)Go to nucleotide: [Graphics](#) [FASTA](#) [GenBank](#)

شكل 16: موقع جين CHS

بعد تهيئة ظروف تفاعل تقانة (RT-PCR) تم ترحيل نواتج التفاعل لجين CHS للصنف الأحمر والأبيض لنبات الكجرات على هلام الاكاروز، وتبينت النتائج شكل (17) وجود حزم ذات وزن جزيئي (656) لعينات النبات قيد الدراسة لغرض دراسة وتشخيص جين CHS في نبات الكجرات.



شكل 17: ترحيل نواتج PCR لنواتج تضخيم جين CHS لتركيبين وراثيين من نبات الكجرات مع معاملة المقارنة (N.C) بالإضافة الى سلم أحجام الحامض النووي (DNA Ladder) مثبتة على الجانب الايسر من الشكل.

4-1-1- نسبة التطابق وشجرة القرابة الوراثية بين التراكيب الوراثية في تتابع جين CHS

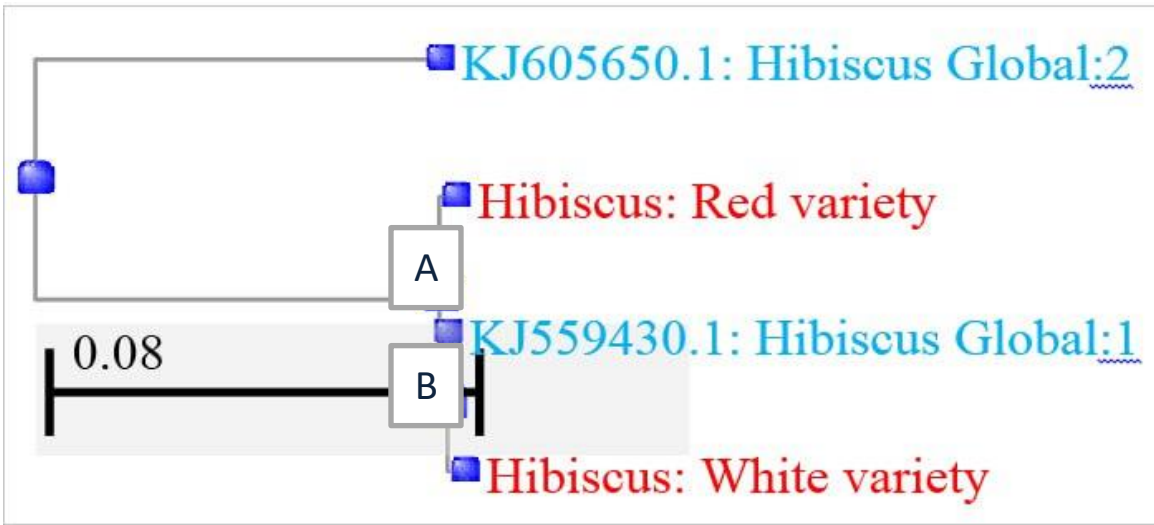
إنّ دراسة التطابق الوراثي بين تراكيب وراثية نبات الكجرات مهم لمعرفة طبيعة الاختلافات في تتابع الجينات قيد الدراسة ومدى تأثيراتها على تخليق المواد الفعالة قياساً مع الصنف التراكيب وراثية العالمية، لهذا تم دراسة التطابق الوراثي على اساس نسبة التشابه والاختلاف في تتابع القواعد النتروجينية بين تراكيب وراثية نباتات الكجرات ومقارنتها مع تتابعات التراكيب وراثية العالمية مسجلة في المركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية (NCBI). وظهرت نتائج ملحق 1 ان cDNA لجين (CHS) في نبات الكجرات للتراكيب وراثية الداخلة في الدراسة يبلغ من الحجم (656 bp) زوج قاعدي ويشفر بروتين قاعدي افتراضي يبلغ (223) حامض اميني.

أظهرت نتائج جدول 10 (ملحق 1) أن التراكيب وراثية قيد الدراسة قد اختلفت فيما بينها بنسب متفاوتة، اذ تطابق الصنف الاحمر مع الصنف العالمي والمسجل في (NCBI) تحت الرقم المرجعي (KJ559430.1)، بنسبة 99.55% نتيجة للتغير الحاصل في القواعد النتروجينية الكودونات 80 و 85 و 99، اما في بالنسبة للتركيب الوراثي الابيض فقد تطابق مع نظيره التركيب الوراثي الابيض والمسجل في (NCBI) تحت الرقم المرجعي (KJ6056) بنسبة 85.99% نتيجة للتغير الحاصل في الكودونات 23 و 61 و 80، اما عند مطابقة التركيبين الوراثيين محل الدراسة لوحظ بأنهما تطابقا بنسبة بلغت 99.25% نتيجة للتغير الحاصل في الكودونات 23 و 61 و 80 و 85 و 99.

جدول 12: مقدار التطابق بين التراكيب الوراثية قيد الدراسة والعالمية في تتابع جين CHS

White variety	Red variety	Global: White	Global: Red	
			100	Global: Red
		100	86.29	Global: White
	100	86.14	99.55	Red variety
100	99.25	85.99	99.70	White variety

فعلى أساس هذه المتغيرات تم رسم شجرة القرابة الوراثية (شكل 18) بين التراكيب وراثية قيد الدراسة والتراكيب وراثية العالمية وذلك اعتماداً على مقدار التطابق في القواعد النروجينية لتتابع جين CHS، إذ تنقسم الشجرة الى فرعين، فرع A، الذي يشمل الصنف العالمي الثاني ويلاحظ أنه قد ابتعد وراثياً عن الصنف العالمي الأول والتراكيب وراثية المدروسة التي تشابهت وراثياً، أما فرع B الذي يمثل صلة القرابة بين التراكيب وراثية قيد الدراسة مع الصنف العالمي الأول إذ يلحظ أنها ابتعدت بنسب متفاوتة وكل حسب الاختلافات في تتابع القواعد النروجينية التي ذكرت انفاً.



شكل 18: شجرة القرابة الوراثية بين التراكيب وراثية المدروسة والتراكيب وراثية العالمية اعتماداً على تطابق القواعد النروجينية في جين CHS.

4-1-2- تشخيص الطفرات الوراثية على مستوى جين CHS

بيّنت نتائج جدول 11 (ملحق 1) وجود طفرات وراثية في جين (CHS) تعمل على تغيير الأحماض الأمينية المشفرة وذلك للتغيير الحاصل في تتابع القواعد النروجينية والمتمثلة في الغالب بثلاثة حالات، الأولى هي طفرات الإستبدال (Substitution mutations) والحالة الثانية هي طفرات الإضافة (Insertion mutations). أما الحالة الثالثة فهي طفرات الحذف (Deletion mutation) والتي تسبب اختلافات جزئية أو كلية في تتابعات الأحماض الأمينية مما تؤدي الى

تغييرات كلية او جزئية في تركيب الانزيمات المسؤولة عن تخليق المواد الفعالة (Saari وآخرون, 2018).

أظهرت نتائج الجدول (11) وجود طفرات في التراكييب الوراثية محل الدروسة، اذ تم الكشف عن طفرات صامتة (Silent mutation) في الصنف الأحمر في الكودونات 80 و85 و99 (TGC ← TGT و CCT ← CCC و TCC ← TCA على التوالي) التي تشفر للأحماض الأمينية (Cys و Pro و Ser على التوالي) مقارنة بالصنف العالمي الاحمر الذي لم يظهر وجود طفرات وراثية، اما في الصنف الأبيض فقد تم تشخيص طفرات مغلطة (Missense mutation) في الكودونات 23 و61 (CTA ← CCA و ATT ← AGT على التوالي) التي تشفر للأحماض الأمينية (Pro ← Leu و Ile ← Ser على التوالي) مقارنة مع الصنف العالمي الابيض الذي يبين وجود طفرات صامتة فقط في الكودونات 23 و61 و80 (CCA ← CCC و ATT ← ATC و TGT ← TGC على التوالي) التي تشفر للأحماض الأمينية (Pro و Ile و Cys).

جدول 13: تشخيص الطفرات الوراثية في جين CHS للتراكيب الوراثية قيد الدراسة

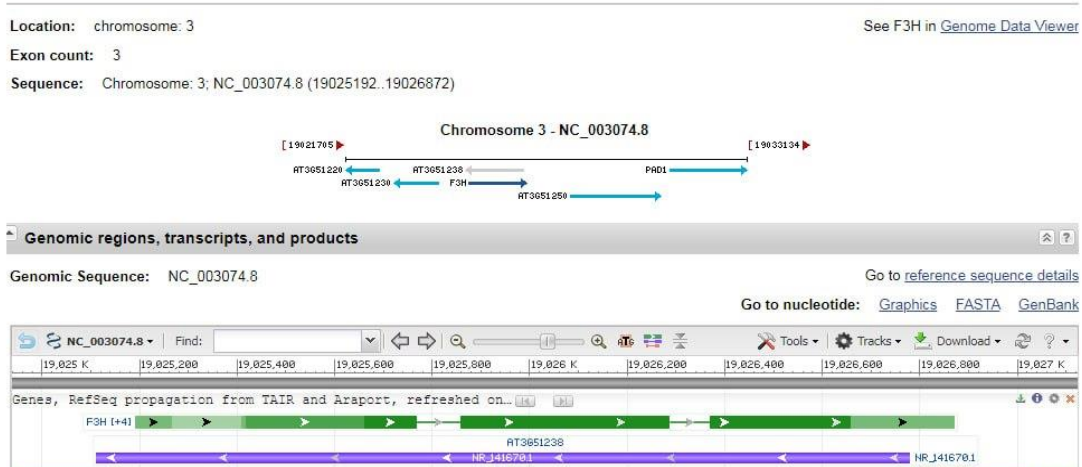
Position	23		61		80		85		99	
	Codon	Amino Acid	Codon	Amino Acid	Codon	Amino Acid	Codon	Amino Acid	Codon	Amino Acid
KJ559430.1: Hibiscus Global: Red	CCA	Pro	ATT	Ile	TGT	Cys	CCT	Pro	TCC	Ser
KJ605650.1: Hibiscus Global: White	CCC	Pro Silent mutation	ATC	Ile Silent mutation	TGC	Cys Silent mutation	CCT	Pro	TCC	Ser
Hibiscus: Red variety	CCA	Pro	ATT	Ile	TGC	Cys Silent mutation	CCC	Pro Silent mutation	TCA	Ser Silent mutation
Hibiscus: White variety	CTA	Leu Missense mutation	AGT	Ser Missense mutation	TGT	Cys	CCT	Pro	TCC	Ser

2-4- تشخيص وتحليل جين F3H

يقع هذا الجين في الكروموسوم الثالث ويبلغ حجمه (11429) زوج قاعدي (شكل 19)، الذي يشفر جزيئة mRNA ذات طول (955) زوج قاعدي تترجم الى بروتين وله aa167 . (KJ605651.1)

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=F3H+Hibiscus>

ويعرف هذا الجين ايضا بإسم (F3H) (Flavonone 3-hydroxylase)، الذي يشفر للانزيم (F3H) فهو يعد الجين الهيكلية الرئيس الذي يعمل في تشعب مسار التخليق الحيوي للفلافونويد، ويأتي دور جين (F3H) في إضافة مجموعة الهيدروكسيل إلى الجزء المركزي من الجزء البروتيني المكون للجزء C3 لتخليق مركبات (flavonols)، تعزز وظيفة هذا الجين تنوع الفلافونويدات وتسهم في تأثيراتها المتعددة على النباتات والكائنات الحية الأخرى، يعدّ جين F3H جزءاً من سلسلة تصنيع تسمى مسار تخليق الفلافونويدات إذ تتفاعل العديد من الأنزيمات معاً لإنتاج مجموعة متنوعة من المركبات الفلافونية (Li وآخرون، 2022).



شكل 19: موقع جين F3H

بعد تهيئة ظروف تفاعل تقانة RT-PCR تم ترحيل نواتج التفاعل لجين F3H للسنف الأحمر والأبيض لنبات الكجرات على هلام الاكاروز، وبيّنت النتائج شكل (20) وجود حزم ذات وزن

جزئي (888) لعينات التراكيب وراثية قيد الدراسة لغرض دراسة تشخيص جين CHS في نبات الكجرات.



شكل 20: ترحيل نواتج PCR لنواتج تضخيم جين F3H لتركيبين وراثيين من نبات الكجرات مع معاملة المقارنة (N.C) بالإضافة الى سلم أحجام الحامض النووي (DNA Ladder) مثبتة على الجانب الايسر من الشكل.

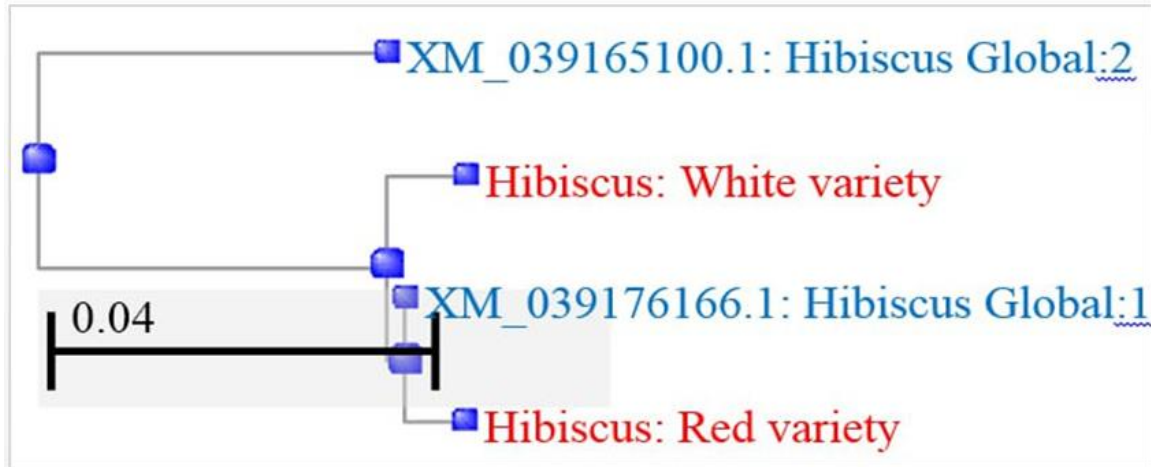
4-2-1- نسبة التطابق وشجرة القرابة الوراثية بين التراكيب الوراثية في تتابع جين F3H

بيّنت نتائج جدول 12 (ملحق 2) أن التراكيب وراثية قيد الدراسة قد اختلفت فيما بينها بنسب متفاوتة، اذ تطابق الصنف الاحمر مع الصنف العالمي والمسجل في (NCBI) تحت الرقم المرجعي (>XM_039176166.1)، بنسبة 99.40% نتيجة للتغير الحاصل في القواعد النروجينية الكودونات 25 و70 و119، اما بالنسبة للتركيب الوراثي الابيض فقد تطابق مع نظيره التركيب الوراثي الابيض والمسجل في (NCBI) تحت الرقم المرجعي (>XM_039165100.1) بنسبة 92.57% نتيجة للتغير الحاصل في الكودونات 62 و80 و82 و85 و100، اما عند مطابقة التركيبين الوراثيين محل الدراسة لوحظ بأنهما تطابقا بنسبة بلغت 98.40% نتيجة للتغير الحاصل في الكودونات 25 و62 و70 و80 و82 و85 و100 و119.

جدول 14: مقدار التطابق بين التراكيب وراثية قيد الدراسة والعالمية في تتابع جين F3H

White variety	Red variety	Global: White	Global: Red	
			100	Global: Red
		100	92.96	Global: White
	100	92.35	99.40	Red variety
100	98.40	92.57	99.00	White variety

فعلى أساس هذه المتغيرات تم رسم شجرة القرابة الوراثية (شكل 21) بين التراكيب وراثية قيد الدراسة والتراكيب وراثية العالمية وذلك اعتماداً على مقدار التطابق في القواعد النروجينية لتتابع جين F3H إذ تنقسم الشجرة الى فرعين، فرع A، الذي يشمل الصنف العالمي الثاني ويلحظ أنه قد ابتعد وراثياً عن الصنف العالمي الأول والتراكيب وراثية المدروسة التي تشابهت وراثياً، أما فرع B الذي يمثل صلة القرابة بين التراكيب وراثية قيد الدراسة مع الصنف العالمي الأول إذ يلحظ أنها ابتعدت بنسب متفاوتة وكل حسب الاختلافات في تتابع القواعد النروجينية التي تم ذكرها انفاً.



شكل 21: شجرة القرابة الوراثية بين التراكيب الوراثية المدروسة والتراكيب الوراثية العالمية اعتماداً على تطابق القواعد النروجينية في جين F3H.

2-2-4- تشخيص الطفرات الوراثية على مستوى جين F3H

أظهرت نتائج جدول 13 (ملحق 2) وجود طفرات وراثية في جين F3H في التراكيب الوراثية المدروسة إذ تم تشخيص طفرات صامتة في الصنف الأحمر في الكودونات 25 و70 و119 (GTA ← GTG و GAA ← GAG و CTA ← TTA على التوالي) التي تشفر للأحماض الأمينية (Val و Glu و Leu) مقارنة مع الصنف العالمي الأحمر الذي لم يحدث فيه طفرات وراثية ، أما في الصنف الأبيض تم الكشف عن طفرات صامتة في الكودونات 62 و82 و85 (GCG ← GCA و AAA ← AAG و GTT ← GTG على التوالي) التي تشفر للأحماض الأمينية (Ala و Lys و Val على التوالي) وطفرات أخرى مغلطة (Missense mutation) تم تشخيصها في الكودونات 80 و100 (TTC ← TTG و TCA ← CCA على التوالي) التي تشفر للأحماض (Leu ← Phe و Pro ← Ser على التوالي) مقارنة مع الصنف العالمي الأبيض الذي يبين وجود طفرة صامتة (Silent mutation) في الكودون 62 (GCA ← GCG) التي تشفر للحامض الأميني (Ala).

جدول 15: تشخيص الطفرات الوراثية في جين F3H للتراكيب الوراثية قيد الدراسة

Position	25		62		70		80	
	Codon	Amino Acid	Codon	Amino Acid	Codon	Amino Acid	Codon	Amino Acid
KJ559430.1: Hibiscus Global: Red	GTG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	TTG	Leu
KJ605650.1: Hibiscus Global: White	GTG	Val	GCA	Ala Silent mutation	GAG	Glu	TTG	Leu
Hibiscus: Red variety	GTA	Val Silent mutation	GCG	Ala	GAA	Glu Silent mutation	TTG	Leu
Hibiscus: White variety	GTG	Val	GCA	Ala Silent mutation	GAG	Glu	TTC	Phe Missense mutation

Position	82		85		100		119	
	Codon	Amino Acid	Codon	Amino Acid	Codon	Amino Acid	Codon	Amino Acid
KJ559430.1: Hibiscus Global: Red	AAG	Lys	GTG	Val	CCA	Pro	CTA	Leu
KJ605650.1: Hibiscus Global: White	AAG	Lys	CTG	Leu	CCA	Pro	CTA	Leu
Hibiscus: Red variety	AAG	Lys	GTG	Val	CCA	Pro	TTA	Leu Silent mutation
Hibiscus: White variety	AAA	Lys Silent mutation	GTT	Val Silent mutation	TCA	Ser Missense mutation	CTA	Leu

3-4- صفات النمو

1-3-4- تأثير تولىفات NPK في صنفين من الكجرات

1-1-3-4 ارتفاع النبات (سم)

أظهرت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود اختلاف معنوي بين التراكيب وراثية (الصنف الأحمر والأبيض) والتولىفات السمادية المضافة (NPK) والتداخل فيما بينهما في ارتفاع النبات. بيّنت نتائج جدول (14) وجود اختلاف معنوي بين صنفين نبات الكجرات (الأحمر والأبيض) إذ تفوق الصنف الأحمر في صفة ارتفاع النبات بمتوسط بلغ 173.27 سم، في حين أعطى الصنف الأبيض متوسط بلغ 159.76 سم، وبنسبة زيادة بلغت 8.45%، وقد يرجع سبب تفوق الصنف الأحمر الى الاختلافات الوراثية ومدى ملائمتة للظروف البيئية والمتطلبات الغذائية لنمو الصنف (Ali و Abbas ، 2011).

أوضحت نتائج الجدول نفسه إنّ التولىفات السمادية سببت تأثيراً معنوياً في صفة ارتفاع النبات، إذ أعطت التولىفة C6 أعلى متوسطاً لإرتفاع النبات بلغ 195.05 سم، ولم تختلف معنوياً عن متوسط التولىفة C5 الذي بلغ 189.05 سم، مقارنة بمعاملة C0 (عدم الإضافة) التي أعطت

متوسطاً بلغ 138.45 سم، وبنسبة زيادة بلغت 40.88%، بينما اعطت التوليفات C1 وC2 وC3 و C4 متوسطات بلغت 148.45 و153.65 و165.2 و175.75 سم على التوالي. ربما يعزى هذا التفوق لدور التوليفات السمادية NPK في زيادة كفاءة عملية التمثيل الكربوني من خلال دورها في زيادة نشاط انقسام واستطالة الخلايا مما انعكس ذلك بشكل ايجابي على ارتفاع النبات (Rabo, 2015).

أظهرت نتائج الجدول ذاته وجود تداخل معنوي بين التراكيب وراثية المدروسة والتوليفات السمادية إذ بلغ اعلى ارتفاعاً للنبات عند تداخل التوليفة C6 للصف الأحمر بمتوسط بلغ 203.10 سم ولم تختلف معنويًا عن متوسط التوليفة C5 وC4 للصف نفسه و C5 وC6 للصف الأبيض، بينما كان اقل تداخل في الصف الأبيض عند التوليفة (C0) بمتوسط بلغ 132.30 سم.

جدول 16: تأثيرات توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في صفة ارتفاع النبات (سم)

المتوسط	الصف		التوليفات
	W	R	
138.45	132.30	0144.6	C0
148.45	0140.4	6.5051	C1
153.65	0149.3	1158.0	C2
0165.2	0160.7	0169.7	C3
175.75	1167.3	0184.2	C4
189.05	0181.3	0196.8	C5
195.05	1187.0	0203.1	C6
	.76 159	173.27	المتوسط
التداخل	التوليفات	التراكيب وراثية	L.S.D 0.05
25.13	17.77	9.50	

4-3-1-2 عدد الأفرع للنبات (فرع نبات¹⁻)

أظهرت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود اختلاف معنوي بين التراكيب وراثية (الصنف الأحمر والأبيض) والتوليفات السمادية المضافة (NPK) في عدد الأفرع لنبات الكجرات.

بينت نتائج جدول (15) وجود اختلاف معنوي بين صنفين نبات الكجرات (الأحمر والأبيض) إذ تفوق الصنف الأحمر في صفة عدد الأفرع بمتوسط بلغ 17.35 فرع نبات¹⁻، في حين أعطى الصنف الأبيض متوسطاً بلغ 13.81 فرع نبات¹⁻ وبنسبة زيادة بلغت 25.63% قد يعزى السبب في زيادة عدد الأفرع الى طبيعة الصنف الوراثية في الاستجابة للمتطلبات التغذوية والظروف البيئية الخاصة بنمو النبات (Atta وآخرون, 2011).

أوضحت نتائج الجدول ذاته إن التوليفات السمادية سببت اختلافاً معنوياً، إذ أعطت التوليفة (C6) أعلى متوسطاً لعدد الأفرع للنبات بلغ 20.01 فرع نبات¹⁻، ولم تختلف معنوياً عن متوسطاً التوليفة C5 الذي بلغ 19.74 فرع نبات¹⁻، مقارنة بمعاملة C0 (عدم إضافة سماد)، التي أعطت أقل متوسط بلغ 10.66 فرع نبات¹⁻، وبنسبة زيادة بلغت 87.71% بينما أعطت التوليفات C1 وC2 وC3 وC4 متوسطات بلغت 12.50 و14.07 و15.45 و16.63 فرع نبات¹⁻ على التوالي. ربما تعزى الزيادة في عدد الأفرع للتوليفات السمادية وحالة التوازن بين المغذيات NPK وزيادة دورها الفسيولوجي إذ انها تدخل في تركيب بعض المركبات المهمة للكلوروفيل والسايتوكرومات الضرورية في عملية التركيب الضوئي وهذا يؤدي إلى زيادة النمو الخضري ومن ثمّ زيادة عدد الأفرع في نبات الكجرات (Ottai, 2006)، بالإضافة إلى أنّ زيادة تركيز التوليفة المضافة أدى الى زيادة الكمية الممتصة من العناصر التي تؤثر في عدد الأفرع للنبات مما انعكس ايجاباً على صنع الكاربوهيدرات والبروتين (Dahmardeh, 2012).

أظهرت نتائج الجدول نفسه عدم وجود تداخل معنوي بين التراكيب وراثية المدروسة والتوليفات السمادية.

جدول 17: تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في صفة عدد الأفرع للنبات (فرع نبات¹)

المتوسط	الصنف		التوليفات
	W	R	
10.66	9.83	11.49	C0
12.50	11.00	14.00	C1
14.07	12.49	15.66	C2
15.45	12.58	18.33	C3
16.63	14.83	18.44	C4
19.74	17.83	.6612	C5
20.01	18.14	.8812	C6
	13.81	17.35	المتوسط
التداخل	التوليفات	التراكيب وراثية	L.S.D 0.05
غ.م	2.99	1.60	

4-3-1-3 عدد الأوراق (ورقة نبات¹)

أظهرت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود اختلاف معنوي بين التراكيب وراثية (الصنف الأحمر والأبيض) والتوليفات السمادية المضافة (NPK) والتداخل فيما بينهما في عدد أوراق نبات الكجرات.

بيّنت نتائج جدول (16) وجود اختلاف معنوي بين صنفين نبات الكجرات (الأحمر والأبيض) إذ تفوق الصنف الأحمر في صفة عدد الأوراق بمتوسط بلغ 295.65 ورقة نبات¹، في حين أعطى الصنف الأبيض متوسط بلغ 241.02 ورقة نبات¹ وبنسبة زيادة بلغت 7.72%، قد يعود سبب زيادة عدد الأوراق الى زيادة عدد الأفرع في هذا الصنف (جدول 15)، والذي يرتبط بالقابلية الوراثية للتراكيب وراثية.

أظهرت نتائج الجدول ذاته ان التوليفات السمادية سببت اختلافا معنويا، إذ تفوقت بأعطائها اعلى متوسطاً لعدد الأوراق بلغ 348.0 ورقة نبات¹⁻، والتي لم تختلف معنويا عن متوسط التوليفة C5، الذي بلغ 331.0 ورقة نبات¹⁻، مقارنة بمعاملة C0 التي أعطت اقل متوسطاً بلغ 187.0 ورقة نبات¹⁻، وبنسبة زيادة بلغت 86.09%، في حين أعطت التوليفات C1 و C2 و C3 و C4 متوسطات بلغت 216.7 و 241.4 و 262.7 و 291.6 ورقة نبات¹⁻ على التوالي وقد تعزى الزيادة في عدد الأوراق لدور التوليفات السمادية من NPK وحالة التوازن المناسبة فيما بينها ودورها الحيوي إذ تدخل في تركيب الانزيمات اللازمة لتفاعلات الطاقة في عملية التمثيل الضوئي وهذا يزيد من التمثيل الكربوني مما يؤثر بشكل واضح وإيجابي في نمو النبات الخضري وإرتفاعه ومن ثمّ زيادة عدد الأوراق في الأفرع والنبات الواحد (جدول 17)، او ربما يعزى تفوق التوليفة C6 بأعطائها اعلى معدلاً اوراق الى تقدم النبات بالنمو، وزيادة عدد الأفرع الرئيسية، او ربما تعود الزيادة في عدد الأوراق الى أنه بزيادة التوليفات السمادية يتقدم النبات بالنمو وزيادة عدد الافرع الرئيسية (جدول 17) وكذلك الثانوية وكل منهما يحمل عدد لا بأس به من الاوراق وكذلك تكون استجابة النبات اكثر من بقية التوليفات السمادية فينعكس ذلك على المجموع الخضري الكلي لعدد الأوراق للنبات وهذا يتفق مع ماتوصل إليه (Fahmy و Hassan ، 2019).

أظهرت نتائج الجدول ذاته وجود تداخلاً معنوي بين التراكيب وراثية المدروسة والتوليفات السمادية، إذ بلغ اعلى تداخل عند التوليفة C6 للصنف الأحمر بمتوسط بلغ 382.0 ورقة نبات¹⁻، التي لم تختلف معنويا عن متوسط التوليفة C5 للصنف نفسه، بينما كان اقل تداخلاً في الصنف الأبيض عند التوليفة C0 بمتوسط بلغ 176.7 ورقة نبات¹⁻.

جدول 18: تأثير تولىفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في صفة عدد الأوراق في النبات (ورقة نبات¹)

المتوسط	الصنف		التولىفات
	W	R	
187.0	176.7	197.3	C0
216.7	191.7	241.7	C1
241.4	219.0	263.8	C2
262.7	235.0	290.4	C3
291.6	259.5	323.7	C4
0.331	291.3	370.7	C5
348.0	314.0	382.0	C6
	241.02	295.65	المتوسط
التداخل	التولىفات	التركييب وراثية	L.S.D 0.05
54.17	38.30	4.20	

4-1-3-4 المساحة الورقية (م²)

أظهرت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود اختلاف معنوي بين التركييب وراثية (الصنف الأحمر والأبيض) والتولىفات السمادية المضافة (NPK) في المساحة الورقية لنبات الكجرات. بيّنت نتائج جدول (17) وجود اختلاف معنوي بين صنفى نبات الكجرات (الأحمر والأبيض) إذ تفوق الصنف الأحمر في صفة المساحة الورقية بمتوسطاً بلغ 3.48 م²، في حين أعطى الصنف الأبيض متوسط بلغ 3.03 م²، وبنسبة زيادة بلغت 14.85%. ممكن ان يعزى تفوق الصنف الاحمر الى طبيعة عمل الجينات المسؤولة عن هذه الصفة، او قد يرجع ذلك الى قدرة هذا الصنف على استخدام الموارد بشكل أفضل أو تكيفه مع ظروف البيئة المحيطة بشكل أكثر فعالية (Ahmed و El Naim, 2010).

أوضحت نتائج الجدول ذاته ان التوليفات السمادية سببت تأثيراً معنوياً، إذ تفوقت التوليفة C3 بأعلى متوسطاً بلغ 4.90 م²، ولم تختلف معنوياً عن متوسط التوليفة C4، الذي بلغ 4.29 م² مقارنة بمعاملة C0 (عدم الأضافة) التي أعطت متوسط بلغ 1.58 م²، وبنسبة زيادة بلغت 3.9%، بينما أعطت التوليفات C1 وC2 وC5 وC6 متوسطات بلغت 1.86 و2.96 و3.63 و3.57 م² على التوالي قد يعزى السبب الى توفر عنصر النتروجين بشكل متوازن مع عنصري P وK وبشكل كافي ومناسب للنبات مما يؤدي الى زيادة محتوى الكلوروفيل (جدول 18) في الاوراق النباتية ومن ثم امتصاص وتمثيل الضوء وتكوين العامل المختزل NADPH، الذي يعدّ ضروري لعملية اختزال CO₂ ودخوله في صنع وتكوين المواد والمركبات العضوية، والتي تسهم بشكل مباشر في نمو النبات وانعكاس ذلك في زيادة المساحة الورقية (Darren وآخرون, 2000). او ربما يعود سبب زيادة المساحة الورقية الى توازن عناصر NPK ودورها في تكوين الاغشية الخلوية والمساهمة في نقل السكريات وبالتالي توسع الأوراق (Manohar، 2010).

أظهرت نتائج الجدول نفسه عدم وجود تداخل معنوي بين التراكيب وراثية المدروسة والتوليفات السمادية.

جدول 19: تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في صفة المساحة الورقية (م²)

المتوسط	الصنف		التوليفات
	W	R	
1.58	1.31	1.86	C0
1.86	1.62	2.10	C1
692.	2.30	3.62	C2
4.90	4.85	4.96	C3
4.29	4.23	4.35	C4
3.63	3.11	4.16	C5
3.57	3.83	3.32	C6
	3.03	483.	المتوسط
التداخل	التوليفات	التراكيب وراثية	L.S.D 0.05
غ.م	0.73	0.39	

4-3-1-5 الكلوروفيل الكلي (ملغم غم⁻¹)

أكدت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود اختلاف معنوي بين التراكيب وراثية (الصنف الأحمر والأبيض) والتوليفات السمادية المضافة (NPK) والتداخل فيما بينهما في محتوى أوراق الكجرات من الكلوروفيل الكلي.

بيّنت نتائج جدول 20 وجود اختلاف معنوي بين صنفين نبات الكجرات (الأحمر والأبيض) في محتوى الكلوروفيل الكلي إذ تفوق الصنف الأحمر بمتوسط بلغ 6.61 ملغم غم⁻¹، بينما أعطى الصنف الأبيض متوسطاً بلغ 4.69 ملغم غم⁻¹ وبنسبة زيادة بلغت 40.93%. ربما عود السبب الى طبيعة التركيب الوراثي في أمتصاص الضوء نتيجة الاختلافات المورفولوجية في شكل النبات الخارجي من حيث المساحة الورقية (جدول 17)، التي تسهم في زيادة المساحة المعترضة للضوء ومن ثم زيادة نشاط عملية البناء الضوئي وزيادة محتوى الكلوروفيل (Torres-Morán وآخرون، 2011).

أوضحت نتائج الجدول (20) إنّ التوليفات السمادية سببت تأثيراً معنوياً في محتوى الأوراق من كلوروفيل الكلي إذ تحقق أعلى متوسطاً عند التوليفة C6 بمتوسط بلغ 10.96 ملغم غم⁻¹، مقارنة بمعاملة C0، التي أعطت متوسطاً بلغ 1.10 ملغم غم⁻¹، وبنسبة زيادة بلغت 9.96% بينما أعطت التوليفات C1 وC2 وC3 وC4 وC5 متوسطات بلغت 1.87 و3.32 و4.88 و7.05 و10.36 ملغم غم⁻¹. التفاوت بين التوليفات السمادية في محتوى الكلوروفيل قد يعود إلى كمية التوليفات السمادية المضافة لما تحتويه من عناصر مهمة في عملية التمثيل الكربوني ومن أهمها عنصر النتروجين يعد أحد المكونات الداخلة في حلقة البيروفيرون وهي أحد المركبات المهمة في بناء جزيئة الكلوروفيل، كذلك أهميته في تركيب الكلوروفيل والانزيمات وهذا يتفق مع ما وجدته (الحلبي وآخرون، 1261) على نبات الكجرات، إضافة إلى الدور المهم للفسفور في العمليات الحيوية وانعكاس ذلك على كفاءة النبات وزيادة مقدرة على امتصاص النتروجين فزيادة عدد الأوراق (جدول 16) تسبب زيادة مقدرة النبات على الاستفادة من النتروجين، وزيادة معدل امتصاصه، كما أنّ لزيادة في مساحة الأوراق (جدول 17)، إذ تلعب دوراً في زيادة المساحة المعرضة من أشعة الشمس ومن ثمّ زيادة نشاط عملية البناء الضوئي مما ينعكس على زيادة نسبة الكلوروفيل في النبات

(Ahmed وآخرون، 1266).

أظهرت نتائج الجدول ذاته وجود تداخل معنوي بين التراكيب وراثية والتوليفات السمادية؛ إذ بلغ أعلى تداخلاً في الصنف الأحمر عند التوليفة C6 بمتوسط بلغ 12.00 ملغم غم⁻¹، في حين كان أقل تداخلاً عند التوليفة C0 بمتوسط بلغ 1.00 ملغم غم⁻¹ للصنف الأبيض.

جدول 20: تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في محتوى الأوراق من الكلوروفيل الكلي (ملغم غم⁻¹)

المتوسط	الصنف		التوليفات
	W	R	
1.10	1.00	1.21	C0
1.87	1.67	2.08	C1
3.32	2.52	4.13	C2
4.88	3.60	6.17	C3
7.05	5.16	8.95	C4
10.36	8.98	11.75	C5
10.96	9.93	12.00	C6
	4.69	6.61	المتوسط
التداخل	التوليفات	التراكيب وراثية	L.S.D _{0.05}
0.179	0.126	0.067	

4-3-1-6 وزن المجموع الخضري الرطب (غم نبات⁻¹)

أظهرت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود اختلاف معنوي بين التراكيب وراثية (الصنف الأحمر والأبيض) والتوليفات السمادية المضافة (NPK) في وزن المجموع الخضري الرطب.

بيّنت نتائج جدول (21) وجود اختلاف معنوي بين تراكيب وراثية الكجرات الاحمر والأبيض إذ تفوق الصنف الأحمر بتسجيل اعلى متوسطاً في صفة المجموع الخضري الرطب للنبات بلغ 2188.57 غم نبات⁻¹ بينما اعطى الصنف الأبيض متوسطاً بلغ 2014.85 غم نبات⁻¹، وبنسبة زيادة بلغت 8.62%. ربما يعود ذلك الى طبيعة التراكيب الوراثية للصنف وتفوقه في بعض الصفات مثل الارتفاع وعدد الافرع وعدد الأوراق (جدول 14 و 15 و 16) ومن ثمّ زاد المجموع الخضري للنبات (Lire Wachamo ، 2021).

كذلك بينت نتائج الجدول ذاته إنّ التوليفات السمادية اثرت معنوياً في صفة الوزن الرطب للمجموع الخضري للنبات، إذ اعطت التوليفة C6 اعلى متوسطاً في صفة وزن المجموع الخضري الرطب بلغ 2969 غم نبات¹، ولم تختلف معنوياً عن متوسط التوليفة C5، الذي بلغ 2845 غم نبات¹ مقارنة بمعاملة C0 (عدم الإضافة) التي أعطت متوسطاً بلغ 1189 غم نبات¹ وبنسبة زيادة بلغت 149.70%، بينما اعطت التوليفات C1 وC2 وC3 وC4 متوسطات بلغت 1389 و1787 و2092 و2440 غم نبات¹ على التوالي. ربما يرجع الى حالة التوازن بين العناصر الغذائية وأهميتها في إدامة عمليات النمو الخضري وزيادتها فضلاً عن دورها في تكوين البروتينات والكلوروفيل ومنظمات النمو، وهذا ينعكس على زيادة النمو الخضري ومن ثمّ زيادة الوزن الطري للنبات (Ayub وآخرون , 2011).

جدول 21 : تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في وزن المجموع الخضري الرطب للنبات (غم نبات¹)

المتوسط	الصنف		التوليفات
	W	R	
1189	1167	1211	C0
1389	1355	1423	C1
1787	1710	1865	C2
2092	1939	2245	C3
2440	2265	2616	C4
2845	2769	2921	C5
2969	2899	3039	C6
	2014.85	2188.57	المتوسط
التداخل	التوليفات	التركيب وراثية	L.S.D 0.05
89.71	63.44	33.91	

أظهرت نتائج الجدول ذاته وجود تداخل معنوي بين التراكيب وراثية المدروسة والتوليفات السمادية، إذ بلغ أعلى تداخلاً عند التوليفة C6 بمتوسط بلغ 3039 غم نبات¹- للصنف الأحمر، بينما كان أقل تداخلاً في الصنف الأبيض عند التوليفة C0 بمتوسط بلغ 1167 غم نبات¹.

4-3-1-7 وزن المجموع الخضري الجاف (غم نبات¹)

أظهرت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) عدم وجود اختلاف معنوي بين التراكيب وراثية قيد الدراسة (الصنف الأحمر والأبيض). بينما كان للتوليفات السمادية المضافة (NPK) والتداخل بين العاملين تأثير معنوي.

أكدت نتائج الجدول 22 وجود اختلاف معنوي بين صنفين نبات الكجرات (الأحمر والأبيض) إذ تفوق الصنف الأحمر في وزن المجموع الخضري الجاف بمتوسط بلغ 498.37 غم نبات¹، بينما أعطى الصنف الأبيض متوسط بلغ 427.71 غم نبات¹، بنسبة زيادة بلغت 49.73%. ان تباين الأصناف في صفة الوزن الجاف يعني أن هناك اختلافات في كمية المادة الجافة المتراكمة في أجزاء النبات بين التراكيب الوراثية المختلفة، أو ربما يكون هذا التباين ناتجاً عن عوامل جينية مختلفة بين التراكيب الوراثية، أو نتيجة لتكيف أحدهما بشكل أمثل مع الظروف البيئية المختلفة والتي تؤثر على نمو النبات (Salinas-Moreno وآخرون، 2023).

أوضحت نتائج جدول (22) إنّ التوليفات السمادية سببت تأثيراً معنوياً في صفة الوزن الجاف للمجموع الخضري للنبات إذ أعطت التوليفة C6 أعلى متوسط بلغ 650.20 غم نبات¹، ولم تختلف معنوياً عن متوسط التوليفة C5 الذي بلغ 629.90 غم نبات¹، مقارنة بمعاملة C0 (عدم الأضافة) التي أعطت متوسطاً بلغ 234.30 غم نبات¹، وبنسبة زيادة بلغت 64.92%، بينما أعطت التوليفات C1 وC2 وC3 وC4 متوسطات بلغت (345.92 و405.59 و468.37 و537.02) غم نبات¹ على التوالي. ربما يعود تفوق هاتين التوليفتين نتيجة لتفوقهما في ارتفاع النبات وعدد الافرع وعدد الاوراق والمجموع الخضري الرطب (جدول 16 و17 و18 و21) بالتتابع، أو قد يعزى تفوق التوليفة C6 الى احتوائها كمية مناسبة من عناصر (NPK) بكمية متوازنة وزيادة معدلات النمو وتراكم المادة الجافة وخاصة في فترة ما قبل التزهير ومن ثمّ وزن المجموع الخضري الجاف (Janmohammad وآخرون، 2016).

وأظهرت نتائج الجدول ذاته وجود تداخل معنوي بين التراكيب وراثية المدروسة والتوليفات السمادية، إذ بلغ أعلى تداخلاً عند التوليفة C6 بمتوسط بلغ 683.40 غم نبات¹- للصنف الأحمر، بينما كان أقل تداخلاً في الصنف الأبيض عند التوليفة C0 بمتوسط بلغ 207.61 غم نبات¹.

جدول 22 : تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في صفة وزن المجموع الخضري الجاف (غم نبات¹)

المتوسط	الصنف		التوليفات
	W	R	
234.30	207.61	261.00	C0
345.92	297.19	394.65	C1
405.59	374.08	437.11	C2
468.37	423.86	512.89	C3
537.02	502.99	571.06	C4
629.90	1.2960	8.5256	C5
650.20	617.00	683.40	C6
	427.71	498.37	المتوسط
التداخل	التوليفات	التراكيب وراثية	L.S.D 0.05
32.30	22.84	12.21	

4-4- صفات الحاصل

4-4-1 تأثير توليفات NPK في تركيبين وراثيين من الكجرات

4-4-1-1 عدد الجوز (جوزة نبات¹)

أظهرت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود اختلاف معنوي بين التراكيب وراثية (الصنف الأحمر والأبيض) والتوليفات السمادية المضافة (NPK) والتداخل فيما بينهما. بينت نتائج الجدول (23) وجود اختلاف معنوي بين صنفين نبات الكجرات (الأحمر والأبيض) إذ تفوق الصنف الأحمر في صفة عدد الجوز بمتوسط بلغ 137.65 جوز نبات¹، بينما

أعطى الصنف الأبيض متوسطاً بلغ 101.28 جوز نبات¹ وبنسبة زيادة بلغت 35.91% قد يعود سبب التفوق للصنف الأحمر إلى تفوقه في عدد الأفرع (جدول 15) ومن ثم زيادة عدد الجوز للنبات الواحد.

أظهرت نتائج الجدول نفسه إن التوليفات السمادية سببت تأثيراً معنوياً، إذ أعطت التوليفة C6 أعلى متوسطاً بلغ 143.30 جوزة نبات¹، ولم يختلف معنوياً عن متوسط التوليفات C5، التي بلغت 141.90 جوزة نبات¹، مقارنة بمعاملة C0، التي أعطت متوسطاً بلغ 89.25 جوزة نبات¹ وبنسبة زيادة بلغت 60.56%، بينما أعطت التوليفات (C1 و C2 و C3 و C4) متوسطات بلغت 101.25 و 105.50 و 121.85 و 127.25 جوزة نبات¹ على التوالي قد تعزى زيادة عدد الجوز للنبات الواحد إلى دور التسميد بالتوليفات السمادية (NPK) في تحفيز النبات على تكوين عدد من الأفرع الجديدة لتلبية احتياجات النبات من العناصر الضرورية للنمو وبالتالي زيادة عدد الجوزات المحمولة على الأفرع (رمضان وجميل، 2010).

جدول 23: تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في صفة عدد الجوز في

النبات (جوزة نبات¹)

المتوسط	الصنف		التوليفات
	W	R	
.2589	76.2	.3102	C0
101.25	79.3	123.2	C1
0105.5	83.5	127.5	C2
121.85	106.9	136.8	C3
127.25	112.0	142.5	C4
0141.9	125.8	158.0	C5
0143.3	125.3	161.3	C6
	101.28	137.65	المتوسط
التداخل	التوليفات	التركيبة وراثية	L.S.D 0.05
3.588	2.537	1.356	

أظهرت نتائج الجدول ذاته وجود تداخل معنوي بين التراكيب وراثية المدروسة والتوليفات السمادية، إذ بلغ أعلى تداخلاً في الصنف الأحمر عند التوليفة C6 بمتوسط بلغ 161.3 جوزة نبات¹⁻ ولم تختلف معنوياً عن متوسط التوليفات C5 للصنف نفسه، بينما كان أقل تداخلاً في الصنف الأبيض عند التوليفة C0 بمتوسط بلغ 76.2 جوز نبات¹⁻.

4-4-1-2 الوزن الطري للجوز (غم نبات¹⁻)

أظهرت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود اختلاف معنوي بين التراكيب وراثية (الصنف الأحمر والأبيض) والتوليفات السمادية المضافة (NPK) والتداخل فيما بينهما في الوزن الطري للجوز. بيّنت نتائج الجدول (24) وجود اختلاف معنوي بين صنفين نبات الكجرات (الأحمر والأبيض) إذ تفوق الصنف الأحمر في صفة وزن الجوز الطري بمتوسط بلغ 591.71 غم نبات¹⁻، بينما أعطى الصنف الأبيض متوسطاً بلغ 404.95 غم نبات¹⁻ وبنسبة زيادة بلغت 46.11% وقد يعود السبب إلى تباين التراكيب الوراثية في قابلية الاستجابة (Torres-Morán وآخرون، 2011). بيّنت نتائج الجدول ذاته أن التوليفات السمادية سببت تأثيراً معنوياً، إذ تفوقت التوليفة C3 بأعطائها أعلى متوسط بلغ 635.16 غم نبات¹⁻، ولم تختلف معنوياً عن C2 وC4 وC5 باستثناء معاملة C0 (عدم إضافة سماد)، التي أعطت أقل متوسطاً بلغ 359.20 غم نبات¹⁻ وبنسبة زيادة بلغت 76.82%. وقد يرجع التفوق إلى دور التوليفات السمادية وما تحتويها من مغذيات KPN التي تعمل على زيادة نشاط النبات عن طريق زيادة مستوى المغذيات في الأنسجة الورقية وهذا سوف ينعكس على النمو الخضري وكثرة تفرعاته التي تحمل الجوز ومن ثمّ زيادة الوزن الرطب للجوزات بالنبات (Atta وآخرون، 2010).

أوضحت نتائج الجدول ذاته وجود تداخل معنوي بين التراكيب وراثية المدروسة والتوليفات السمادية، إذ بلغ أعلى تداخلاً في الصنف الأحمر عند التوليفة C3 بمتوسط بلغ 723.11 غم نبات¹⁻، ولم تختلف معنوياً عن معاملات C1 وC2 وC4 وC5 وC6 للصنف نفسه ومعاملات C3 وC4 وC5 وC6 للصنف الأبيض، في حين كان أقل تداخلاً في الصنف الأبيض عند التوليفة C0 بمتوسط بلغ 251.10 غم نبات¹⁻.

جدول 24: تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في صفة وزن الجوز الطري (غم نبات¹⁻)

المتوسط	الصنف		التوليفات
	W	R	
359.20	251.10	3067.4	C0
437.60	.00314	61.205	C1
528.12	452.03	604.22	C2
635.16	547.21	23.117	C3
575.15	498.00	52.306	C4
493.49	392.53	94.455	C5
459.60	379.80	539.40	C6
	404.95	591.71	المتوسط
التداخل	التوليفات	التراكيب وراثية	L.S.D_{0.05}
246.00	174.00	93.00	

4-4-1-3 الحاصل الكلي للجوز (كغم هـ¹⁻)

أظهرت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود اختلاف معنوي بين التراكيب وراثية (الصنف الأحمر والأبيض) والتوليفات السمادية المضافة (NPK) والتداخل فيما بينهما.

بيّنت نتائج الجدول (25) وجود اختلاف معنوي بين صنفين نبات الكجرات (الأحمر والأبيض)، إذ تفوق الصنف الأحمر في صفة الحاصل الكلي للجوز بمتوسط بلغ 6298.44 كغم هـ¹⁻، بينما أعطى الصنف الأبيض متوسطاً بلغ 4592.41 كغم هـ¹⁻ وبنسبة زيادة بلغت 37.14% وقد يرجع ذلك التفوق الى تفوق هذا الصنف في أكثر مكونات الحاصل مثل عدد الجوز والوزن الرطب والجاف للاوراق الكأسية الحصل الكلي للاوراق الكأسية (جدول 26 و 27 و 28) بالتتابع ومن ثمّ انعكس ايجابياً على زيادة حاصل الجوز الكلي (الحلبي وآخرون، 2017)، كما أنّ الصنف الأبيض سجل اقل متوسطات في أكثر الصفات قد يعود سبب ذلك لقلة مساحته الورقية التي اثرت على عملية

عملية التركيب الضوئي والنموات الخضرية وقلة انتقال المادة الجافة الى الحاصل، ومن ثم قلة حاصل الجوز (Richardson و Arlotta, 2021).

أوضحت نتائج الجدول نفسه ان التوليفات السمادية سببت تأثيراً معنوياً، إذ تفوقت التوليفة C6 بأعلى متوسطاً بلغ 7090.42 كغم ه⁻¹، مقارنة بمعاملة C0 التي أعطت متوسط بلغ 3217.38 كغم ه⁻¹ وبنسبة زيادة بلغت 708.92%، بينما أعطت التوليفات C1 و C2 و C3 و C4 و C5 متوسطات بلغت 4186.02 و 5431.72 و 5582.52 و 5794.11 و 6815.82 كغم ه⁻¹ على التوالي. قد يرجع سبب هذه الزيادة الى دور التوليفات السمادية في زيادة نشاط نمو النبات وانعكاس ذلك في زيادة عدد الافرع للنبات الواحد (جدول 15)، وكذلك الى تفوق هذه التوليفة في صفة عدد ووزن الجوز الرطب (جدول 23 و 24) وهذا مايفسر تفوقها في صفة الحاصل الكلي للجوز. أوضحت نتائج الجدول ذاته وجود تداخل معنوي بين التراكيب وراثية المدروسة والتوليفات السمادية إذ بلغ اعلى تداخلاً في الصنف الأحمر عند التوليفة C6 بمتوسط بلغ 8372.99 كغم ه⁻¹، بينما كان أقل تداخل في الصنف الأبيض عند التوليفة C0 بمتوسط بلغ 2728.19 كغم ه⁻¹.

جدول 25: تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في الحاصل الكلي للجوز (كغم ه⁻¹)

المتوسط	الصنف		التوليفات
	W	R	
3217.38	2728.19	3706.57	C0
4186.02	3653.24	4718.81	C1
5431.72	4916.94	5946.51	C2
5582.52	4570.55	6594.50	C3
5794.11	4895.07	6693.16	C4
6815.82	5575.06	8056.59	C5
7090.42	5807.85	8372.99	C6
	4592.41	6298.44	المتوسط
التداخل	التوليفات	التراكيب وراثية	L.S.D 0.05
99.58	70.41	37.64	

4-1-4-4 الوزن الرطب للأوراق الكأسية في النبات (غم نبات⁻¹)

أظهرت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود اختلاف معنوي بين التراكيب وراثية (الصف الأحمر والأبيض) والتوليفات السمادية المضافة (NPK) والتداخل فيما بينهما.

بيّنت نتائج الجدول (26) وجود اختلاف معنوي بين صنف نبات الكجرات (الأحمر والأبيض) إذ تفوق الصنف الأحمر في صفة الوزن الرطب للأوراق الكأسية بمتوسط بلغ 225.38 غم نبات⁻¹، في حين أعطى الصنف الأبيض متوسطاً بلغ 208.03 غم نبات⁻¹، وبنسبة زيادة بلغت 8.34 %، ان تفوق الصنف الأحمر في الوزن الرطب للأوراق الكأسية ربما يعود الى تفوقه في صفة عدد الافرع (جدول) وهذا ما يوفر مساحة اضافية للأوراق، وبالتالي زيادة عدد الأوراق الكأسية للنبات الواحد، ومن ثم انعكاس ذلك في زيادة وزنها الرطب. او ربما يعود الى طبيعة الصنف الوراثية من حيث كفاءته في استغلال الموارد المتاحة بشكل افضل، مما انعكس في زيادة الوزن الرطب للأوراق الكأسية (Khattak وآخرون, 2016).

أوضحت نتائج الجدول نفسه إنّ التوليفات السمادية سببت تأثيراً معنوياً في صفة الوزن الرطب للأوراق الكأسية، إذ اعطت التوليفة C6 اعلى متوسط بلغ 280.52 غم نبات⁻¹، ولم تختلف معنوياً عن متوسط التوليفة C5 الذي بلغ 276.57 غم نبات⁻¹، مقارنة بمعاملة C0 (عدم الأضافة) التي أعطت متوسطاً بلغ 145.84 غم نبات⁻¹، وبنسبة زيادة بلغت 92.34 %، بينما اعطت التوليفات C1 وC2 وC3 وC4 متوسطات بلغت 164.24 و 180.12 و 203.55 و 239.10 غم نبات⁻¹ على التوالي قد يرجع السبب إلى ماتحتويه التوليفات السمادية من توازن بين العناصر الغذائية والتي تساعد في تكوين مجموع جذري قوي قادر على امتصاص المغذيات والماء من التربة بكفاءة عالية تحت ظروف التربة الخالية من PH اكثر من 7 ومستويات العناصر المنخفضة NPK وبذلك سبب زيادة في كفاءة عملية التمثيل الكربوني ثم زيادة نمو النبات (البيديري, 2001).

وأظهرت نتائج الجدول ذاته وجود تداخل معنوي بين التراكيب وراثية المدروسة والتوليفات السمادية إذ بلغ اعلى تداخلاً عند التوليفة C5 بمتوسط بلغ 314.05 غم نبات⁻¹ للصف الأحمر، بينما كان اقل تداخلاً في الصنف الأبيض عند التوليفة C0 بمتوسط بلغ 138.55 غم نبات⁻¹.

جدول 26: تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في صفة الوزن الرطب للأوراق الكأسية في النبات (غم نبات¹)

المتوسط	الصف		التوليفات
	W	R	
145.84	138.55	153.13	C0
164.24	154.21	174.28	C1
180.12	170.90	189.34	C2
203.55	198.01	209.10	C3
239.10	236.88	241.33	C4
276.57	293.09	314.05	5C
280.52	264.57	296.47	6C
	208.03	225.38	المتوسط
التداخل	التوليفات	التراكيب وراثية	L.S.D _{0.05}
6.280	4.440	2.374	

4-4-1-5 الوزن الجاف للأوراق الكأسية (غم نبات¹)

أظهرت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود اختلاف معنوي بين التراكيب وراثية (الصف الأحمر والأبيض) والتوليفات السمادية المضافة (NPK) والتداخل فيما بينهما.

بيّنت نتائج الجدول (27) وجود اختلاف معنوي بين صنفين نبات الكجرات (الأحمر والأبيض) إذ تفوق الصف الأحمر في الوزن الجاف للأوراق الكأسية بمتوسط بلغ 58.71 غم نبات¹، في حين أعطى الصف الأبيض متوسط بلغ 49.48 غم نبات¹، وبنسبة زيادة بلغت 18.65%. تفوق الصف الأحمر في صفة الوزن الرطب للأوراق الكأسية (جدول 26)، الذي يعود إلى دور الطبيعة الوراثية في الصف (Okosun وآخرون ، 2006).

أوضحت نتائج الجدول نفسه بأنّ التوليفات السمادية سببت تأثيراً معنوياً في صفة الوزن الجاف للأوراق الكأسية، إذ أعطت التوليفة C6 أعلى متوسط بلغ 73.79 غم نبات¹، ولم تختلف

معنويًا عن متوسط التوليفة C5 الذي بلغ 66.36 غم نبات¹ وكذلك C4 التي أعطت 58.95 غم نبات¹، مقارنة بمعاملة C0 (عدم الأضافة) التي أعطت متوسطاً بلغ 37.02 غم نبات¹ وبنسبة زيادة بلغت 99.32%، بينما أعطت التوليفات C1 وC2 وC3 وC4 متوسطات بلغت 42.39 و 46.36 و 52.78 و 58.95 غم نبات¹ على التوالي قد يعزى هذا التفوق إلى حالة التوازن في بين العناصر الغذائية أدى إلى زيادة بنمو النبات وتنشيط مختلف العمليات داخل النبات ومن ثمّ زيادة النمو الخضري للنبات مما انعكس على زيادة تراكم المادة الجافة وبالتالي زيادة الوزن الجاف للاوراق الكاسية (البديري، 2001).

جدول 27: تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في صفة وزن الجاف للاوراق

الكاسية (غم نبات¹)

المتوسط	الصنف		التوليفات
	W	R	
37.02	.7233	.3304	C0
42.39	39.08	45.71	C1
46.36	41.33	51.39	C2
52.78	46.67	58.90	C3
58.95	54.80	63.10	C4
66.36	61.21	71.52	C5
73.79	69.55	78.04	C6
	4849.	58.71	المتوسط
التداخل	التوليفات	التراكيب وراثية	5L.S.D 0.0
21.93	15.51	8.29	

6-1-4-4 الحاصل الكلي للأوراق الكأسية (كغم ه⁻¹)

أظهرت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود اختلاف معنوي بين التراكيب وراثية (الصف الأحمر والأبيض) والتوليفات السمادية المضافة (NPK) والتداخل فيما بينهما في الحاصل الكلي للأوراق الكأسية.

بيّنت نتائج جدول (28) وجود اختلاف معنوي بين صنفين نبات الكجرات (الأحمر والأبيض)، إذ تفوق الصف الأحمر في صفة الحاصل الكلي للأوراق الكأسية بمتوسط بلغ 1558.01 كغم ه⁻¹، في حين أعطى الصف الأبيض متوسطاً بلغ 1319.42 كغم ه⁻¹، وبنسبة زيادة بلغت 18.08% قد يعود لتفوق الصف الأحمر في صفة الوزن الرطب والوزن الجاف للأوراق الكأسية (جدول 26، 27).

أوضحت نتائج الجدول نفسه بأنّ التوليفات السمادية سببت تأثيراً معنوياً في صفة الحاصل الجاف للأوراق الكأسية، إذ أعطت التوليفة C6 أعلى متوسط بلغ 1967.81 كغم ه⁻¹، مقارنة بمعاملة C0 (عدم الأضافة) التي أعطت متوسطاً بلغ 987.3 كغم ه⁻¹، وبنسبة زيادة بلغت 99.31%، بينما أعطت التوليفات C1 وC2 وC3 وC4 وC5 متوسطات بلغت 1130.5 و1236.23 و1407.56 و1571.95 و1769.68 كغم ه⁻¹ على التوالي. ربما يعزى ذلك إلى دور التوليفات السمادية وخصوصاً التوليفة المتفوقة (C6) في زيادة المجموع الخضري مثل إرتفاع النبات (جدول 14) كذلك دورها في زيادة المساحة الورقية (جدول 17)، التي أسهمت في زيادة المساحة المعترضة للضوء ومن ثمّ زيادة تراكم المادة الجافة وكذلك إلى تفوق هذه التوليفة في عدد الأفرع وعدد الأوراق (جدول 15 و16) مما انعكس بشكل ايجابي على زيادة الحاصل الكلي للأوراق الكأسية.

أظهرت نتائج الجدول ذاته وجود تداخل معنوي بين التراكيب وراثية المدروسة والتوليفات السمادية، إذ بلغ أعلى تداخلاً عند التوليفة C6 بمتوسط بلغ 2081.01 كغم ه⁻¹ للصف الأحمر، بينما كان أقل تداخلاً في الصف الأبيض عند التوليفة C0 بمتوسط بلغ 899.17 كغم ه⁻¹.

جدول 28: تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في صفة الحاصل الكلي للأوراق الكأسية (كغم هـ⁻¹)

المتوسط	الصنف		التوليفات
	W	R	
987.3	899.17	1075.43	C0
1130.5	1042.10	.901218	C1
1236.23	1102.10	1370.36	C2
1407.56	1244.50	1570.62	C3
1571.95	1461.29	1682.62	C4
1769.68	1632.22	1907.15	C5
1967.81	1854.62	2081.01	C6
	1319.42	1558.01	المتوسط
التداخل	التوليفات	التراكيب وراثية	L.S.D _{0.05}
94.20	66.61	35.60	

4-5- تركيز العناصر في الاوراق الكأسية

4-5-1- عنصر النتروجين (ملغم غرام⁻¹)

أظهرت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) عدم وجود اختلاف معنوي بين التراكيب وراثية (الصنف الأحمر والأبيض) فيما أعطت التوليفات السمادية المضافة (NPK) والتداخل بين العاملين تأثيراً معنوياً.

بيّنت نتائج جدول (29) وجود تأثير معنوي بين تراكيب وراثية الكجرات (الأحمر والأبيض)، حيث تفوق الصنف الأحمر في اعطائه اعلى متوسطاً لنسبة عنصر النتروجين في الأوراق الكأسية بلغ 24.54 ملغم غرام⁻¹، بينما اعطى الصنف الابيض متوسطاً بلغ 23.55 ملغم غرام⁻¹، وبنسبة زيادة بلغت 4.20%، ربما يعود ذلك الى طبيعة التركيب الوراثي للصنف والى كفاءته في امتصاص العناصر الغذائية مما انعكس ذلك في زيادة محتواه من عنصر النتروجين.

أوضحت نتائج الجدول نفسه ان التوليفات السمادية سببت تأثيراً معنوياً في محتوى الأوراق الكأسية من عنصر النتروجين، إذ اعطت التوليفة C6 اعلى متوسطاً لمحتوى الأوراق الكأسية من النتروجين بلغ 36.95 ملغم غرام⁻¹، مقارنة بمعاملة C0 (عدم الأضافة) التي أعطت متوسطاً بلغ 11.55 ملغم غم⁻¹، وبنسبة زيادة بلغت 219.91%، بينما اعطت التوليفات C1 وC2 وC3 وC4 وC5 متوسطات بلغت 16.8 و19.7 و23.0 و27.7 و32.65 ملغم غم⁻¹، على التوالي. قد تعود الزيادة في النسبة المئوية للنتروجين الى زيادة نشاط المجموع الخضري وذلك لأن هذا العنصر يعد من اهم العناصر التي تدخل بناء البلاستيدات; ومن ثم زيادة كفاءة عملية التمثيل الضوئي مما انعكس بشكل إيجابي على زيادة امتصاص المغذيات ومنها عنصر النتروجين (Rabo, 2015).

أظهرت نتائج الجدول ذاته وجود تداخل معنوي بين التراكيب وراثية المدروسة والتوليفات السمادية حيث بلغ اعلى تداخلاً عند التوليفة C6 بمتوسط بلغ 41.8 ملغم غم⁻¹ للصف الأحمر، بينما كان اقل تداخل في الصف الأحمر عند التوليفة C0 بمتوسط بلغ 10.9 ملغم غم⁻¹.

جدول 29: تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في محتوى الأوراق الكأسية من

عنصر النتروجين (ملغم غم⁻¹)

المتوسط	الصف		التوليفات
	W	R	
11.55	12.2	10.9	C0
16.8	17.6	16.0	C1
19.7	0.21	18.4	C2
23.0	24.8	21.2	C3
27.7	28.3	27.1	C4
32.65	28.9	36.4	C5
36.95	32.1	41.8	C6
	23.55	24.54	المتوسط
	التوليفات	التراكيب وراثية	L.S.D 0.05
التداخل	0.634	0.339	
0.897			

4-5-2- البروتين (%)

أظهرت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود اختلاف معنوي بين التراكيب وراثية (الصف الأحمر والأبيض) والتوليفات السمادية المضافة (NPK) والتداخل بين العاملين.

بيّنت نتائج الجدول (30) وجود اختلاف معنوي بين صنفين نبات الكجرات (الأحمر والأبيض) إذ تفوق الصف الأحمر في محتوى الأوراق الكأسية من البروتين بمتوسط بلغ 15.33% ، في حين أعطى الصف الأبيض متوسطاً بلغ 14.72% وبنسبة زيادة بلغت 4.14%. يعود تفوق الصف الأحمر إلى تفوقه في محتوى الأوراق الكأسية من عنصر النتروجين (جدول 29) حيث إنّ نسبة البروتين مرتبطة بنسبة النتروجين (Sánchez-Feria وآخرون ، 2017).

أوضحت نتائج الجدول نفسه بأنّ التوليفات السمادية سببت تأثيراً معنوياً في محتوى الأوراق الكأسية من البروتين، إذ أعطت التوليفة C6 أعلى متوسطاً بلغ 23.09% ، مقارنة بمعاملة C0 (عدم الإضافة)، التي أعطت متوسط بلغ 7.21%، وبنسبة زيادة بلغت 2.20%، بينما أعطت التوليفات C1 وC2 وC3 وC4 وC5 متوسطات بلغت 10.5% و12.31% و14.37% و17.30% و20.40% على التوالي. قد يعود السبب في زيادة البروتين لوجود النيتروجين الذي يعد أهم المكونات الداخلة في تركيب البروتين كونه يعتبر مكون رئيسي في صنع الأحماض الأمينية والتي تعد الوحدات البنائية الأساسية في بناء البروتين ولأن التوليفات السمادية المستخدمة وخاصة في التوليفة C6 تحوي على نسبة عالية ومناسبة من النيتروجين فإنه من الطبيعي سيؤثر في زيادة قدر النبات على صنع وتخليق البروتين وزيادة تركيزه في الأنسجة النباتية (Manikandan و Subramanian، 2016)، أو قد يعود السبب في زيادة البروتين في الأوراق الكأسية في هذه التوليفة إلى تفوق التوليفة نفسها في نسبة النتروجين؛ ومن ثمّ انعكس ذلك على زيادة تركيز البروتين نتيجة وجود علاقة طردية بين الصفتين.

أظهرت نتائج الجدول ذاته وجود تداخل معنوي بين التراكيب وراثية المدروسة والتوليفات السمادية، إذ بلغ أعلى تداخلاً عند التوليفة C6 بمتوسط بلغ 26.12% للصف الأحمر، بينما كان أقل تداخلاً في الصف الأحمر عند التوليفة C0 بمتوسط بلغ 6.81%.

جدول 30: تأثيرات توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في محتوى الأوراق الكأسية من البروتين (%)

المتوسط	الصنف		التوليفات
	W	R	
7.21	7.62	.816	C0
10.5	11.00	10.00	C1
12.31	13.12	11.50	C2
14.37	15.50	13.25	C3
17.30	17.68	16.93	C4
20.40	18.06	22.75	C5
23.09	20.06	26.12	C6
	14.72	15.33	المتوسط
التداخل	التوليفات	التراكيب وراثية	L.S.D _{0.05}
1.794	1.269	0.678	

4-5-3- عنصر الفسفور (ملغم غم⁻¹)

بينت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود اختلاف معنوي بين التراكيب وراثية (الصنف الأحمر والأبيض) والتوليفات السمادية المضافة (NPK) والتداخل بينهما.

أظهرت نتائج الجدول (31) وجود اختلاف معنوي بين صنفين نبات الكجرات (الأحمر والأبيض) إذ تفوق الصنف الأحمر في محتوى الأوراق الكأسية من عنصر الفسفور بمتوسط بلغ 11.15 ملغم غم⁻¹، في حين أعطى الصنف الأبيض متوسطاً بلغ 8.22 ملغم غم⁻¹، وبنسبة زيادة بلغت 35.64%. ربما يعزى ذلك إلى أن بعض التراكيب وراثية تتصف بكفاءة مجموعها الجذري مما يؤدي ذلك إلى زيادة قابلية الجذور على امتصاص العناصر الغذائية المتوافرة في التربة ومنها الفسفور ومن ثم زيادة محتوى هذا العنصر في الأوراق الكأسية (Sukkheng وآخرون، 2018). وهذه الآلية ترتبط بالموروثات الجينية الخاصة بالتركيب الوراثي للصنف صالح وآخرون (2013) و Lynch وآخرون (2021).

أشارت نتائج الجدول نفسه بأن التوليفات السمادية سببت تأثيراً معنوياً في محتوى الأوراق الكأسية من عنصر الفسفور إذ اعطت التوليفة C6 اعلى متوسطاً لمحتوى الأوراق الكأسية من الفسفور بلغ 15.3 ملغم غم⁻¹، مقارنة بمعاملة C0 (عدم الأضافة) التي أعطت متوسطاً بلغ 2.3 ملغم غم⁻¹، وبنسبة زيادة بلغت 1.43%، بينما اعطت التوليفات C1 وC2 وC3 وC4 وC5 متوسطات بلغت 6.85 و9.6 و9.55 و10.75 و13.5 ملغم غم⁻¹ على التوالي. تشير هذه الزيادة الى ماتحتويه التوليفات السمادية من توازن في العناصر الغذائية إذ تؤدي اضافتها إلى زيادة جاهزية العناصر مما يؤدي الى زيادة امتصاصها من قبل النبات وارتفاع نسبتها في أوراق النبات الكأسية الحلي وآخرون (2017).

جدول 31: تأثيرات توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في محتوى الأوراق الكأسية من عنصر الفسفور (ملغم غم⁻¹)

المتوسط	الصنف		التوليفات
	W	R	
2.3	2.1	2.5	C0
6.85	.25	8.5	C1
9.6	8.3	10.9	C2
9.55	8.7	10.4	C3
10.75	9.2	12.3	C4
13.5	10.2	16.8	C5
15.3	13.9	16.7	C6
	8.22	11.15	المتوسط
التداخل	التوليفات	التركيب وراثية	L.S.D 0.05
0.717	0.507	0.271	

أظهرت نتائج الجدول ذاته وجود تداخل معنوي بين التراكيب وراثية المدروسة والتوليفات السمادية، إذ بلغ أعلى تداخل عند التوليفة C5 بمتوسط بلغ 16.8 ملغم غم-1 للصف الأحمر ولم تختلف معنويًا عن متوسط التوليفة C6 للصف نفسه، بينما كان أقل تداخل في الصف الأبيض عند التوليفة C0 بمتوسط بلغ 2.1 ملغم غم-1.

4-5-4- عنصر البوتاسيوم (ملغم غم⁻¹)

أظهرت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود اختلاف معنوي بين التراكيب وراثية (الصف الأحمر والأبيض) والتوليفات السمادية المضافة (NPK) والتداخل بينهما.

بينت نتائج الجدول (32) وجود اختلاف معنوي بين التركيبين الوراثيين لنبات الكجرات (الأحمر والأبيض) إذ تفوق الصف الأحمر في محتوى الأوراق الكاسية من عنصر البوتاسيوم بمتوسط بلغ 19.92 ملغم غم⁻¹، في حين أعطى الصف الأبيض متوسطاً بلغ 17.09 ملغم غم⁻¹، وبنسبة زيادة بلغت 1.89%. إنَّ قابلية سحب وتجميع البوتاسيوم تعتمد على طبيعة التركيب الوراثي وسرعة استجابته للتغذية، وامتصاص العناصر المضافة والمتوفرة في التربة (Hussain و آخرون، 2007).

أكدت نتائج الجدول نفسه بأنَّ التوليفات السمادية سببت تأثيراً معنوياً في عنصر البوتاسيوم، إذ أعطت التوليفة C6 أعلى متوسطاً من عنصر البوتاسيوم بلغ 23.92 ملغم غم⁻¹، مقارنةً بمعاملة C0 (عدم الأضافة) التي أعطت متوسط بلغ 11.21 ملغم غم⁻¹، وبنسبة زيادة بلغت 2.29%. بينما أعطت التوليفات C1 وC2 وC3 وC4 وC5 متوسطات بلغت 15.8 و17.35 و18.4 و19.4 و23.45 ملغم غم⁻¹ على التوالي. إنَّ زيادة تركيز البوتاسيوم المضاف أدت إلى زيادة في تركيزه الجاهز في التربة، وقدرة النبات على امتصاصه بكميات أكبر إضافة إلى دوره المهم في تشجيع امتصاص النتروجين من التربة وزيادة كمية النتروجين الجاهز، إضافة إلى تركيز النتروجين في النبات أدى إلى زيادة النمو الخضري وتطوير المجموع الجذري ومن ثمَّ زيادة امتصاص كميات أكبر من البوتاسيوم والعناصر الغذائية الأخرى (ابوضاحي واليونس، 1988).

أظهرت نتائج الجدول ذاته وجود تداخل معنوي بين التراكيب وراثية المدروسة والتوليفات السمادية، إذ بلغ أعلى تداخل عند التوليفة C6 بمتوسط بلغ 26.00 ملغم غم⁻¹ للصف الأحمر، بينما كان أقل تداخل عند التوليفة C0 بمتوسط بلغ 10.30 ملغم غم⁻¹ للصف نفسه.

جدول 32: تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في محتوى الأوراق الكأسية
عنصر البوتاسيوم
(ملغم غم⁻¹)

المتوسط	الصف		التوليفات
	W	R	
11.21	010.3	0.112	C0
15.85	015.0	016.7	C1
17.35	016.7	018.0	C2
18.40	017.2	019.6	C3
19.40	017.6	021.2	C4
23.45	021.0	025.9	C5
23.92	84.21	00.62	C6
	17.09	19.92	المتوسط
التداخل	التوليفات	التراكيب وراثية	L.S.D _{0.05}
0.538	0.380	0.203	

4-6-6- محتوى الأوراق الكأسية من المواد الفعالة

4-6-4- Vitamin C (ملغم غم⁻¹)

أظهرت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود اختلاف معنوي بين التراكيب وراثية (الصف الأحمر والأبيض) والتوليفات السمادية المضافة (NPK) والتداخل فيما بينهما.

بيّنت نتائج الجدول (33) وجود اختلاف معنوي بين صنفى نبات الكجرات (الأحمر والأبيض) إذ تفوق الصف الأحمر في محتوى الأوراق الكأسية Vitamin C بمتوسط بلغ 37.87 ملغم غم⁻¹، في حين أعطى الصف الأبيض متوسطاً بلغ 33.17 ملغم غم⁻¹، وبنسبة زيادة بلغت 14.16%، ربما يعود تفوق التركيب الوراثي الأحمر الى تفوقه في المساحة الورقيه (جدول 19)

التي ادت الى زيادة المساحة المعرضة للاشعاع الشمسي مما ادى الى زيادة تخليق الكربوهيدرات التي تعتبر من المكونات الاساسية لفيتامين C (Ademiluyi و Oboh, 2013).

أكدت نتائج الجدول نفسه بأنّ التوليفات السمادية سببت تأثيراً معنوياً في محتوى الأوراق الكأسية من Vitamin C، إذ اعطت التوليفة C6 اعلى متوسط لمحتوى الاوراق الكأسية من Vitamin C بلغ 44.42 ملغم غم⁻¹ والتي لم تختلف معنوياً عن متوسط التوليفه C5 و C4 التي بلغت 41.15 و 41.33 ملغم غرام⁻¹ على التوالي، مقارنة بمعاملة C0 (عدم الأضافة)، التي أعطت متوسط بلغ 25.85 ملغم غم⁻¹، وبنسبة زيادة بلغت 71.83 %، بينما اعطت التوليفات C1 و C2 و C3 متوسطات بلغت 27.66 و 31.88 و 36.38 ملغم غم⁻¹ على التوالي. قد يعود تفوق التوليفة C6 لما تحتويه من عناصر ال NPK المهمة في النمو الخضري للنبات ومن ثمّ كفاءة عملية التمثيل الكربوني التي بدورها تعمل على تكوين العديد من المركبات المهمة مثل الأحماض الأمينية والسكريات ونواتج الأيض الثانوية، بالإضافة للفيتامينات (Gomaa وآخرون, 2018)

جدول 33: تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في محتوى الأوراق الكأسية من Vitamin C (ملغم غم⁻¹)

المتوسط	الصنف		التوليفات
	W	R	
25.85	25.04	26.67	C0
27.66	26.04	28.29	C1
31.88	29.47	34.30	C2
36.38	35.47	37.30	C3
41.33	39.67	42.99	C4
41.15	34.70	47.60	C5
44.42	41.86	46.99	C6
	33.17	37.87	المتوسط
التداخل	التوليفات	التراكيب وراثية	L.S.D_{0.05}
6.736	4.763	2.546	

أظهرت نتائج الجدول ذاته وجود تداخل معنوي بين التراكيب وراثية المدروسة والتوليفات السمادية، إذ بلغ أعلى تداخل عند التوليفة C5 بمتوسط بلغ 47.60 ملغم غم⁻¹ للصف الأحمر ولم يختلف معنوياً عن C4 وC6 للصف نفسه وC6 للصف الأبيض، بينما كان أقل تداخلاً في الصف الأبيض عند التوليفة C0 بمتوسط بلغ 25.04 ملغم غرام⁻¹.

4-6-2- محتوى الأوراق الكاسية من Quercetin (ملغم غم⁻¹)

أظهرت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود اختلاف معنوي بين التراكيب وراثية (الصف الأحمر والأبيض) والتوليفات السمادية المضافة (NPK) والتداخل فيما بينهما.

أوضحت نتائج الجدول (34) وجود اختلاف معنوي بين صنف نبات الكجرات (الأحمر والأبيض) إذ تفوق الصف الأحمر في محتوى الأوراق الكاسية بمتوسط بلغ 0.387 ملغم غم⁻¹، في حين أعطى الصف الأبيض متوسط بلغ 0.356 ملغم غم⁻¹، وبنسبة زيادة بلغت 8.70%. إن انخفاض محتوى الصف الأبيض من المواد الفعالة Quercetin قد يعود إلى تثبيط عمل الأنزيمات المسؤولة عن تخليق المواد الفعالة نتيجة التغيرات الوراثية في جينات F3H و CHS (جدول 11 و13).

أكدت نتائج الجدول نفسه بأن التوليفات السمادية سببت تأثيراً معنوياً في محتوى الأوراق الكاسية من Quercetin إذ أعطت التوليفة C6 أعلى متوسطاً لمحتوى الأوراق الكاسية من Quercetin بلغ 0.410 ملغم غم⁻¹، ولم تختلف معنوياً عن متوسط التوليفة C5 الذي بلغ 0.398 ملغم غم⁻¹، مقارنة بمعاملة C0 (عدم الأضافة)، التي أعطت متوسط بلغ 0.331 ملغم غم⁻¹، وبنسبة زيادة بلغت 33.86% بينما أعطت التوليفات C1 وC2 وC3 وC4 متوسطات بلغت 0.360 و0.379 و0.388 و0.334 ملغم غم⁻¹ على التوالي قد يعود السبب في الزيادة لفعالية التوليفات السمادية والتي تؤدي إلى زيادة المساحة الورقية لاحتوائها على النتروجين ومن ثم زاد اعتراض الأوراق لضوء الشمس وهذا يساعد في كفاءة عملية التمثيل الكربوني التي عن طريقها تنتج العديد من المركبات والنواتج الثانوية في الأوراق الكاسية، والتي تحتوي على المواد الفعالة في نبات الكجرات ومنها الـ Quercetin وهذا يتفق مع مذكره كريم واحسان (2015).

جدول 34: تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في محتوى الأوراق الكأسية من Quercetin (ملغم غم⁻¹)

المتوسط	الصنف		التوليفات
	W	R	
0.331	0.324	0.339	C0
0.334	0.301	0.368	C1
0.360	0.352	0.369	C2
0.379	0.358	0.400	C3
0.388	0.371	0.406	C4
0.398	0.382	0.414	C5
00.41	0.405	0.415	C6
	0.356	0.387	المتوسط
التداخل	التوليفات	التراكيب وراثية	L.S.D 0.05
0.017	0.012	0.006	

أظهرت نتائج الجدول ذاته وجود تداخل معنوي بين التراكيب وراثية المدروسة والتوليفات السمادية، إذ بلغ أعلى تداخل عند التوليفة C6 بمتوسط بلغ 0.415 ملغم غم⁻¹ للصنف الأحمر ولم تختلف معنويًا عن متوسط التوليفات C3 و C4 و C5 و C6 للصنف الأبيض، بينما كان أقل تداخل في الصنف الأبيض عند التوليفة C2 بمتوسط بلغ 0.301 ملغم غم⁻¹.

3-6-4- محتوى الأوراق الكأسية من Hibiscetin (ملغم غم⁻¹)

أظهرت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود اختلاف معنوي بين التراكيب وراثية (الصنف الأحمر والأبيض) والتوليفات السمادية المضافة (NPK) والتداخل فيما بينهما.

بيّنت نتائج الجدول (35) وجود اختلاف معنوي بين صنفى نبات الكجرات (الأحمر والأبيض) إذ تفوق الصنف الأحمر في محتوى الأوراق الكأسية من Hibiscetin بمتوسط بلغ 0.386 ملغم غرام⁻¹، في حين أعطى الصنف الأبيض متوسطاً بلغ 0.326 ملغم غم⁻¹ وبنسبة زيادة

بلغت 18.40% . إن حدوث الطفرات الوراثية في تتابع الصنف الأبيض مقارنة بالصنف الأحمر والتي تم تشخيصها في كودون 23 (CTA ← CCA)، التي تشفر للحمض الأميني (Leu ← Pro) والكودون 61 (AGT ← ATT) التي تشفر للحمض الأميني (Ser ← Ile)، من المحتمل أنها عملت بشكل أو بآخر على انخفاض التعبير الجيني لجينات F3H و CHS المسؤولة عن تخليق المواد الفعالة ومنها Hibiscetin ، على العكس من ذلك لم يلحظ وجود طفرات مؤثرة في تتابع الصنف الأحمر وهذا ما يفسر تفوقه في محتواه من المواد الفعالة (جدول 11 و 13).

أوضحت نتائج الجدول نفسه بأن التوليفات السمادية اثرت معنوياً في محتوى الأوراق الكأسية من Quercetin إذ اعطت التوليفة C6 أعلى متوسطاً لمحتوى الأوراق الكأسية من Hibiscetin بلغ 0.451 ملغم غم⁻¹ مقارنة بمعاملة C0 (عدم الإضافة) التي أعطت متوسطاً بلغ 0.273 ملغم غم⁻¹، زبنسبة زيادة بلغت 65.20%، بينما اعطت التوليفات C1 و C2 و C3 و C4 و C5 متوسطات بلغت 0.286 و 0.320 و 0.357 و 0.383 و 0.426 ملغم غم⁻¹ على التوالي قد يرجع السبب في زيادة محتوى الصنف من الـ Hibiscetin الى ماتحويه التوليفات السمادية من عناصر مهمة لنمو النبات، التي تعمل على زيادة نمو الخلية النباتية عن طريق التأثير على بعض العمليات الفسلجية وانقسام الخلايا وفعالية عملية التمثيل الكربوني ومن ثمّ زيادة نواتج الايض ومنها الـ Hibiscetin ، وهذا يتفق مع ما ذكره ابو زيد (1986) من أنّ السماد النتروجيني له دور كبير في زيادة نمو النبات و تراكيز المواد الفعالة التي تتواجد فيه مثل كلايكوسيد الهبسين، والفلافونيدات، والمركبات الفعالة الأخرى .

أظهرت نتائج الجدول ذاته وجود تداخل معنوي بين التراكيب وراثية المدروسة والتوليفات السمادية، إذ بلغ أعلى تداخلاً عند التوليفة C6 بمتوسط بلغ 0.490 ملغم غم⁻¹ للصنف الأحمر ولم تختلف معنوياً عن متوسط التوليفة C5 للصنف نفسه، بينما كان اقل تداخل في الصنف الأبيض عند التوليفة C0 بمتوسط بلغ 0.259 ملغم غم⁻¹ .

جدول 35: تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في محتوى الأوراق الكأسية من Hibiscetin (ملغم غم⁻¹)

المتوسط	الصف		التوليفات
	W	R	
0.273	0.259	0.287	C0
0.286	0.273	0.300	C1
0.320	0.305	0.336	C2
0.357	0.322	0.392	C3
0.383	0.338	0.429	C4
0.426	0.379	0.473	C5
0.451	0.412	0.490	C6
	0.326	0.386	المتوسط
التداخل	التوليفات	التراكيب وراثية	L.S.D _{0.05}
0.026	0.019	100.0	

4-6-4- محتوى الأوراق الكأسية من Gossypetine (ملغم غم⁻¹)

أظهرت نتائج تحليل التباين (ملحق 3) وجود اختلاف معنوي بين التراكيب وراثية (الصف الأحمر والأبيض) والتوليفات السمادية المضافة (NPK) والتداخل فيما بينهما.

بيّنت نتائج الجدول (36) وجود اختلاف معنوي بين صنفين نبات الكجرات (الأحمر والأبيض) إذ تفوق الصف الأحمر في محتوى الأوراق الكأسية من Gossypetine بمتوسط بلغ 0.186 ملغم غم⁻¹، في حين أعطى الصف الأبيض متوسطاً بلغ 0.175 ملغم غم⁻¹ وبنسبة زيادة بلغت 6.28%. قد تكون الطفرات الوراثية ذات تأثير سلبي واحياناً إيجابي، وعن طريق التشخيص المختبري للجينات المسؤولة عن تخليق الانزيمات اللازمة لتخليق المواد الفعالة ومنها Gossypetine. وجد أنّ الصف الأبيض يحتوي على عدة طفرات مغلوبة في الكودونات 23 و61

(CCA ← CCC و ATT ← ATC بالتتابع) التي تشفر للأحماض الأمينية (Pro ← Leu و ATT ← AGT على التوالي) فمن المحتمل أنها سببت انخفاض محتوى هذا الصنف من المواد الفعالة، بينما تم الكشف عن طفرات صامتة في تتابع الصنف الأحمر في الكودونات 25 و 62 و 70 و 80 و 85 و 99 (جدول 11 و 13) وهذا النوع من الطفرات الوراثية لا يؤثر على طبيعة تخليق الانزيمات المسؤلة F3H و CHS عن تخليق المواد الفعالة وهذا ما يفسر تفوق الصنف الأحمر في محتواه من المواد الفعالة ومنها Gossypetine.

أظهرت نتائج الجدول نفسه بأنّ التوليفات السمادية سببت تأثيراً معنوياً في محتوى الأوراق الكأسية من Gossypetin ، إذ اعطت التوليفة C6 اعلى متوسطاً بلغ 0.250 ملغم غم⁻¹، مقارنة بمعاملة C0 (عدم الإضافة) التي أعطت متوسطاً بلغ 0.088 ملغم غم⁻¹، وبنسبة زيادة بلغت 184.09%، بينما اعطت التوليفات C1 و C2 و C3 و C4 و C5 متوسطات بلغت 0.115 و 0.154 و 0.187 و 0.234 و 0.236 ملغم غم⁻¹ وقد يعود السبب إلى ماتحويه التوليفات السمادية من عناصر مهمة لنمو النبات من ثمّ كفاءة العمليات الفسلجية وانقسام الخلايا وفعالية عملية التمثيل الكربوني ومن ثمّ زيادة نواتج الأيض ابو زيد (1986).

أكدت نتائج الجدول ذاته وجود تداخل معنوي بين التراكيب وراثية المدروسة والتوليفات السمادية إذ بلغ اعلى تداخلاً عند التوليفة C6 بمتوسط بلغ 0.263 ملغم غم⁻¹ للصنف الأحمر، بينما كان اقل تداخلاً في الصنف الأبيض عند التوليفة C0 بمتوسط بلغ 0.082 ملغم غم⁻¹ للصنف الأحمر.

جدول 36: تأثير توليفات NPK وتركيبين وراثيين من الكجرات في محتوى الأوراق الكأسية من Gossypetine (ملغم غم⁻¹)

المتوسط	الصف		التوليفات
	W	R	
0.088	0.094	0.082	C0
0.115	0.133	0.097	C1
0.154	0.142	0.166	C2
0.187	0.165	0.210	C3
0.234	0.236	0.232	C4
0.236	0.219	0.254	C5
0.250	0.238	0.263	C6
	0.175	0.186	المتوسط
التداخل	التوليفات	التركيب وراثية	L.S.D 0.05
0.008	0.006	0.003	

5- الإستنتاجات والمقترحات

1-5- الاستنتاجات

- 1- أن انخفاض محتوى التركيب الوراثي الابيض من المواد الفعالة ربما يرتبط بالطفرات في جينات CHS وF3H المسؤولة عن تخليق الأنزيمات الضرورية للمادة الفعالة.
- 2- اختلاف تتابعات التركيبين الوراثيين (الأبيض والأحمر) عن تتابعات الأصناف العالمية قيد الدراسة نتيجة لحدوث طفرات وراثية مغلوطة وأخرى صامتة في كودونات مختلفة.
- 3- لوحظ ان تركيبي الكجرات قد أستجابا للمستويات العالية من NPK بزيادة مؤشرات النمو والحاصل.
- 4- ان تفوق التركيب الوراثي الأحمر في صفات النمو سببت تفوقه في صفات الحاصل والمادة الفعالة.

2-5- المقترحات

- 1- لتحقيق اعلى حاصلًا للبذور والأوراق الكأسية لنبات الكجرات يقترح اضافة التوليفة السمادية C6 او C5 اعتمادا على محتوى التربة من NPK الجاهز.
- 2- بغية زيادة تركيز المادة الفعالة (Vitamin C وQuercetin وHibiscetin وGossypetine) يقترح اضافة توليفة متوازنة من KPN C3 او C4 او C5 او C6 اعتمادا على محتوى التربة من KPN الجاهز.
- 3- اجراء وتنفيذ المزيد من الدراسات على جينات أخرى والمسؤولة عن تشفير الانزيمات اللازمة لإنتاج المواد الفعالة في نبات الكجرات ودراسة التعبير الجيني لها.
- 4- بالنظر لتفوق صنف الكجرات الأحمر في أكثر الصفات قيد الدراسة يقترح التوسع بزراعته في محافظة كربلاء المقدسة والمناطق المشابة لها.
- 5- إجراء المزيد من الدراسات المتعلقة بحالة التوازن بين العناصر الغذائية لاسيما الاساسية منها (NPK) على نبات الكجرات والنباتات الأخرى.

المصادر العربية

- أبو زيد، الشحات نصر(1986) النباتات والاعشاب الطبية، مكتبة مدبولي- القاهرة.
- أبو ضاحي ، يوسف محمد ومؤيد احمد اليونس (1988) دليل تغذية النبات – وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – جامعة بغداد-كلية الزراعة.
- البديري، عماد عيال مطر (2001) استجابة نمو وانتاج المواد الفعالة في نبات الكجرات *Hibiscus sabdariffa L.* لفترات الري والنتروجين و الجبرلين والسايكوسيل. اطروحة دكتوراه. كلية التربية. جامعة القادسية. العراق.
- الحسن، علي صباح علي وحسام فاهم نجيب العوادي (2011) استجابة أصناف من نبات الكركديه (*Hibiscus sabdariffa L.*) إلى التسميد النتروجيني وتأثيره على الحاصل ومكوناته. مجلة القادسية للعلوم الزراعية. المجلد / 1 العدد / 1
- حسين، وسن صالح وجنان عبد الخالق سعيد و عامر محسن المعاضيدي (2018) الكشف عن المركبات الفعالة في مخلفات بعض الانواع النباتية وعزل وتشخيص المركبات الاليلوباثية باستخدام تقانة HPLC.مجلة علوم الرافيدين. 4(27)32-41.
- الحلفي، انتصار هادي و عادل يوسف نصر الله و هادي محمد العبودي (2017) تأثير الاسمدة النيتروجينية والفوسفاتية . في نمو وحاصل الكجرات (*Hibiscus sabdariffa L.*). مجلة الانبار للعلوم الزراعية. 15 (عدد خاص): 199-207. العراق.
- الخفاجي، زهرة محمود وحسن محمود أبو المعالي (2013) تفاعلات الكوثرية وتصميم البودى . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . جامعة بغداد. معهد الهندسة الوراثية والتقانات الحيوية للدراسات العليا. دار الحكمة للطباعة والنشر. بغداد . العراق . 381 ص.
- الدبين، معتز عبد الكاظم (2022) دراسة استجابة نبات الكجرات للتسميد النتروجيني واليوتاسي والتداخل بينهما في صفات النمو والحاصل والمادة الفعالة طبييا. رسالة ماجستير. كلية الزراعة – جامعة كربلاء. 31-48 ص.
- الدسوقي، حشمت سليمان (2008) اساسيات فسيولوجيا النبات . جامعة المنصورة . جمهورية مصر العربية.

- رمضان، احمد فرحان وصباح محمد جميل (2010) تأثير الرش ببعض المغذيات في النمو والحاصل لنبات الكجرات *Hibiscus sabdariffa* L. مجلة الانبار للعلوم الزراعية:8(4).
- زكريا، بلال فاضل (2011) دراسة بعض التغيرات الفسلجية والوراثية لصفة تحمل الملوحة في بعض التراكيب الوراثية المنتخبة من الحنطة (*Triticum aestivum* L.) . رسالة ماجستير. كلية التربية الرازي - جامعة ديالى.
- الساھوكي، مدحت مجيد وكريمة محمد وهيب (1990) تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . دار الحكمة للطباعة والنشر . الموصل . العراق . 488 ص .
- سلطان، فاطمة ابراهيم وايد جلعان خورشيد (2018) فصل وتشخيص بعض المركبات الفينولية وحامض الماليك من ازهار الكجرات *Hibiscud sabdariffa* L. ودراسة تأثيرها على بعض انواع البكتريا. مجلة علوم الرافدين . 5(27):169-180.
- الشافعي ، صلاح الدين عبدالسلام ، متولي مسعد مزروع عبدالله عرافي وصباح عبدالمجيد سغان (1994) دراسات فسيولوجية على نبات الكركدية . مجلة الزقازيق للبحوث الزراعية . مصر: 220 – 226.
- الشكري إيمان فيصل حسن (2002) استجابة نبات الكزبرة المحلي *Coriandrum sativum* L. لموعد الزراعة والتسميد النتروجيني وتأثيرهما في النمو و إنتاج الزيت الطيار . رسالة ماجستير. كلية الزراعة – جامعة بغداد . العراق .
- الصحاف، فاضل حسين (1989) أنظمة الزراعة بدون استخدام التربة، مطبعة بيت الحكمة، جامعة بغداد، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي العراق. ص 216.
- الصراف، عبد الحسين محمد (1991) النشرة الارشادية في زراعة الكجرات. الهيئة العامة للخدمات الزراعية. قسم الارشاد الزراعي. بغداد - جمهورية العراق.
- العاني، علاء عبد الغني حسين (2019) تأثير تنشيط البذور بحامض السالسليك ورش النيات بالنيتروجين النانوي في نمو وحاصل ثلاثة اصناف من الذرة الصفراء. اطروحة دكتوراه . كلية الزراعة . جامعة الانبار.
- على، نور الدين شوقي (2012) تقانات الاسمدة واستعمالاتها. قسم علوم التربة والموارد المائية ,كلية الزراعة . جامعة بغداد .وزارة التعليم العالي والبحث العلمي العراق.

- علي ، نور الدين شوقي، حمدالله سليمان راهي وعبد الوهاب عبد الرزاق شاکر (2014) خصوبة التربة مطبعة دار الحكمة لطبع والنشر والتوزيع. كلية الزراعة ,جامعة بغداد, وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . جمهورية العراق.
- الكبيسي، مجاهد اسماعيل حمدان (2019) الوراثة الجزيئية وتطبيقاتها. الفصل الخامس . وزارة الزراعة دائرة البحوث الزراعية . 235- 303.
- كريم ، هيام غانم وسعد علي احسان (2015) تأثير الاصناف والرش بالسماذ المركب (NPK) في نمو حاصل ومحتوى بعض المواد الفعالة في الكجرات (*Hibiscus sabdariffa* L). مجلة الفرات للعلوم الزراعية _7(4) : 30-37.
- محسن، انعام عبد الصاحب (2019) المتطلبات المناخية لزراعة نبات شاي الكجرات في قضاء الديوانية ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي-جامعة القادسية-كلية الاداب-قسم الجغرافية.
- نسيم ،ماهر جورجي (2005) خصوبة الأراضي والأسمدة . منشأة المعارف. كلية الزراعة جامعة الإسكندرية . مصر .
- نصرالله، عادل يوسف (2012) النباتات الطبية . مطبعة دار الحكمة للطبع والنشر والتوزيع . كلية الزراعة ، جامعة بغداد ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . جمهورية العراق.
- ياسين، بسام طه (2001) أساسيات فسيولوجية النبات. قسم العلوم البايولوجية . كلية العلوم – جامعة قطر الكبيسي، مجاهد اسماعيل حمدان. 2019. الوراثة الجزيئية وتطبيقاتها. الفصل الخامس . وزارة الزراعة .دائرة البحوث الزراعية . 235- 303 .

- A.O.A.C (1980) Official Methods Of analysis . 13 th.Ed Association.of official chemists Washington, D.C.
- Abbas, M. K., and , A. S. Ali (2011) Effect of foliar application of NPK on some growth characters of two cultivars of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). American Journal of Plant Physiology, 6(4), 220-227.
- Abdullahi, G., Y. Yahaya, H. A. Sani, and I. Kalle (2020) Comparative Evaluation Of Nutrients And Anti-Nutrients Contents Of Three Varieties Of *Hibiscus Sabdariffa* Linn Calyces, 2(9), 13-28.
- Abou-Arab, A.A., F.M Abu-Salem and E. Abou- Arab (2011) Physicochemical properties of natural pigments (anthocyanin) extracted from Roselle calyces (*Hibiscus sabdariffa* L.). J. of Amer. Sci., 7(7): 445-456.
- Ademiluyi, A. O., & Oboh, G (2013) Aqueous extracts of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) varieties inhibit α -amylase and α -glucosidase activities in vitro. Journal of medicinal food, 16(1), 88-93.
- Ahirwar, B., and D. Ahirwar (2020) In vivo and in vitro investigation of cytotoxic and antitumor activities of polyphenolic leaf extract of *Hibiscus sabdariffa* against breast cancer cell lines. Res. J. Phar. Tech. 13(2): 615-620.
- Ahmed, Y.M., E.A. Shalaby, N.T. Shanan (2011) The use of organic and inorganic cultures in improving vegetative growth, yield characters and antioxidant activity of roselle plants (*Hibiscus sabdariffa* L.). African Journal of Biotechnology, 10(11), 1988-1996.

- Akanbi, W.B., A. B. Olaniyan, A.O Togun, A.E.O Ilupeju, O.A. Olaniran (2009) The effect of organic and inorganic fertilizer on growth, calyx yield and quality of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture, 3(4), 652-657.
- Alassafi, Z. M., and A.N Almosawy, A. N (2020) Effect of optimus plus nanopartics Ien some charac-teristics of the growth and yield of corn (*Zea mays* L.). Plant Archives, 20(3), 746-752.
- Alegbe, E. O., K. Teralı, K. A. Olofinsan, S. Surgun, C. C. Ogbaga, and T. O. Ajiboye, (2019) Antidiabetic activity-guided isolation of gallic and protocatechuic acids from Hibiscus sabdariffa calyxes. Journal of food biochemistry, 43(7): 12-27.
- Ali, F. T., N. S. Hassan, and R. R. Abdrabou (2016) Hepatoprotective and antiproliferative activity of moringinine, chlorogenic acid and quercetin. International Journal of Research in Medical Sciences, 4(4), 1147-1153.
- Al-Rawi, K. M. and A. A. M. Khalafallah (1980) Design and analysis of Stability analysis of Roselle cultivars (*Hibiscus sabdariffa* L.) Under different nitrogen fertilizer environments. World Journal of Agriculture sciences. 2(3):333-339.
- AL-Zurfi, M. T., and H. N. Al-kaaby (2016) Effect of spraying orgaing fertilizers Optimus Plus AND Azotobacter on growth and flowers of plant *Mathiola incana* L. Euphrates Journal of Agriculture Science, 8(1).
- Amitava, K, M. Krishnendu, M. S. Chinchubose, K. Dipesh, B. K. Swaraj, C. Anindita, B. Asoke, and Sanjit Dey (2013) Gossypetin, a naturally occurring hexahydroxy flavones ameliorates gamma radiation mediated DNA damage International Journal of Radiation Biology 89(11): 965-975.

- Anel, T. C., R. Thokchom, M. S. Subapriya, J. Thokchom, and S. S. Singh (2016) (*Hibiscus sabdariffa* L.)—A natural micro nutrient source. Int. J. Adv. Res. Biol. Sci, 3(4), 243-248.
- Asgari, A.W., A.D. Werner, J. Lara, N.D. Willis, J.C. Mathers, and M. Siervo, (2017) Effects of vitamin C supplementation on glycaemic control: a systematic review and meta-analysis of.
- Atta, S., B. Sarr, Y. Bakasso, A. B. Diallo, I. Lona, M. Saadon and R. H. Glew (2010) Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) yield and yield components in response to nitrogen fertilization in Niger .Indian. J. Agric. Res., 44 (2) :96-103.
- Ayub M. , Naeem M. , Nadeem M. , Tanveer1 A., Tahir M. and Alam R (2011) Effect of nitrogen application on growth, yield and oil contents of Fennel. Journal of Medicinal Plants Research Vol. 5(11), pp. 2274-2277, 4 June, 2011.
- Baker, A., S. A. Ceasar, A. J. Palmer, Qi, W. Paterson, S. P. Muench, and S. A. Baldwin (2015) Replace, reuse, recycle: improving the sustainable use of phosphorus by plants. Journal of experimental botany, 66(12), 3523-3540.
- Ballmann, C., K. Hollinger, J. T. Selsby, R. Amin, and J. C. Quindry (2015) Histological and biochemical outcomes of cardiac pathology in mdx mice with dietary quercetin enrichment. Experimental physiology, 100(1), 12-22.
- Bamishaiye, E. I., F. F. Olayemi, and O. M. Bamishaiye (2011) Effects of boiling time on mineral and vitamin C content of three varieties of (*Hibiscus sabdriffa* L.) drink in Nigeria. World Journal of Agricultural Sciences, 7(1), 62-67.

- Barker, A. V., and D. J. Pilbeam (2015) *Handbook of plant nutrition*. CRC press.
- Belous, N. M., E. V. Smol'skii, S. F. Chesalin, and V. F. Shapovalov (2016) Potassium fertilizers to reduce ¹³⁷Cs accumulation and increase fodder crop harvesting on the radionuclide-polluted floodplain pastures. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya ,Agricultural Biology*, 51(4), 543-552.
- Boretti, A., and B. K. Banik (2020) Intravenous vitamin C for reduction of cytokines storm in acute respiratory distress syndrome. *PharmaNutrition*, 12, 100-190.
- Chen, Y. H., X. W. Wen, B. Wang, and P. Y. Nie (2017) Agricultural pollution and regulation: How to subsidize agriculture?. *Journal of cleaner production*, 164, 258-264.
- Chin, K.L., F. Malekian, O. Bandele, and M. Berhane (2006) Food value of Roselle Hibiscus Sabdariffa – tea. *CIRCULAR – Sustainable Plant and Animal Production System No. 303. cultivated in Mali. Afri. J. of Biotech.*,10(79):18160 –18166.
- Cresser, M.S. and Parsons , J.W. (1979) Sulphuric perchloric acid digestion of plantmaterialforthedeterminationofNitrogen,Phosphorus,Potassium,Calcium andM angesium.*Analytical Chemical Acta.*,109:431436 .
- DÃaz, K. A. B., Jara, M. G. R., Castro, N. L. M., CarriÃ³n, J. V. C., Cuesta-Rubio, O., Ingrid, M. Ã., & Jaramillo, C. G. J. (2020). DiseÃ±o de infusiÃ³n de Moringa oleifera Lam.(moringa) e Hibiscus sabdariffa L.(flor de Jamaica). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 25(3).

- Dahmardeh, M. (2012) Effect of mineral and organic fertilizers on the growth and calyx yield of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). African Journal of Biotechnology, 11(48), 10899-10902.
- Dahmardeh, M. (2012) Effects of sowing date on the growth and yield of maize cultivars (*Zea mays* L.) and the growth temperature requirements. African Journal of Biotechnology, 11(61), 12450-12453.
- Darren L. Binder, Donald H. Sander and Daniel T. Walters (2000) Maize response to time of nitrogen application as affected by level of deficiency .Agron. J. 92:1228-1236.
- Dasgupta, A. and K. Klein (2014) Antioxidant Vitamins and Minerals. Chapter 15. In Antioxidants in Food, Vitamins and Supplements Prevention and Treatment of Disease. Elsevier. USA, 277-294.
- Deroles, S (2009) Anthocyanin biosynthesis in plant cell cultures: A potential source of natural colourants. Anthocyanins: biosynthesis, functions, and applications, 108-167.
- Dochukwu, U., O. Udinyiwe, O. Adeghe, and F. Omeje (2014) Comparative effects of mashed mushroom and NPK Fertilizer on the bioremediation of crude oil polluted soil. Int J Curr Microbiol App Sci, 3(10), 65-70.
- Duke, J. A., M. Jo Bogenschutz-Godwin, J. du Cellier and P.A.K. Duke (2002) Handbook of medicinal herbs. 2nd ed. C R D Press. Boca Raton .London .New York. Washington, D.C. Edition. Government of Tamil Nadu Textbook Corporation College Road. Chennai
- El-Dissoky, R., Attia, A. M., & Awad, A. M. (2020). Managing Roselle Plant (*Hibiscus sabdariffa* L.) Requirements of Fertilizers and Irrigation Grown

- under Upper Egypt Conditions. Journal of Soil Sciences and Agricultural Engineering, 11(12), 693-700.
- El Naim, A. M., A. I. Ahmed, K. A. Ibrahim, A. M. Suliman, and E. S. Babikir (2017) Effects of nitrogen and bio-fertilizers on growth and yield of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). International Journal of Agriculture and Forestry, 7(6), 145-150.
- El-Tantawy, A., D.M. Abraham and A. El Maddawy (1993) Effect of sowing dates and nitrogen on growth and chemical constituents of Roselle, (*Hibiscus sabdariffa* L). J. Agric. Sci. Mansoura Univ, 18 (12) 3651-3659.
- Eslaminejad, T., and M. Zakaria (2011) Morphological characteristics and pathogenicity of fungi associated with Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) diseases in Penang, Malaysia. Microbial pathogenesis, 51(5): 325- 337.
- Fahmy, A. A., and Hassan, H. M. S (2019) Influence of different NPK fertilization levels and humic acid rates on growth, yield and chemical constituents of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). Middle East Journal of Agriculture Research, 8(4), 1182-1189.
- Frimpong, G (2008) Investigating the suitability of (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyx extract as colouring agent for paediatric syrup. M.Sc. Thesis. Department of Pharmaceutic. Kwame Nkrumah University of Science and Technology . Kumasi. Ghana.
- Fuller, R., P. J. Landrigan, K. Balakrishnan, G. Bathan, S. Bose-O'Reilly, M. Brauer, and C. Yan (2022) Pollution and health: a progress update. The Lancet Planetary Health, 6(6), 535-547.
- Ghabour, S. S. I., Mohammed, S. A., and El-Yazal, S. A. S. (2019) Impact of bio and mineral fertilizers on growth, yield and its components of roselle

- plant (*Hibiscus sabdariffa*, L) grown under different types of soil. Horticulture Int J, 3(5), 240-250.
- Galaudu, M.S (2006) Effect of moisture on the germination rate of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) plant. Proceedings of the 23rd Annual Conference of the Horticultural Society of Nigeria, Port Harcourt. 30-32.
- Gerber, F., M. Krummen, H. Potgeter, A. Roth, C. Siffrin, C. Spöndlin (2004) Practical aspects of fast reversed-phase high-performance liquid chromatography using 3µm particle packed columns and monolithic columns in pharmaceutical development and production working under current good manufacturing practice. Journal of Chromatography A. 1036 (2): 127-133
- Ghannam, M. G. and M. Varacallo, M (2018) Biochemistry, Polymerase Chain Reaction. Chemosphere. 12(8): 4-11.
- Ghislain, M.T., E.L Gisèle, P.M.J Bertrand, Mathieu, F.K onoré, T. Félicité, G. Mand Inocent (2011) Effect of “Foléré” juice calyx of (*Hibiscus sabdariffa* L.) on some biochemical parameters in humans. Pak. J. of Nut, 10 (8): 755-759.
- Green, M. R. and J. Sambrook (2021) A Guide To Cloning The Products Of Polymerase Chain Reactions. Cold Spring Harbor Protocols, 319-325.
- Gomaa, A. O., Youssef, A. S. M., Mohamed, Y. F. Y., and AbdAllah, M. S. (2018) Effect of some fertilization treatments on growth, productivity and chemical constituents of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). plants. Scientific Journal of Flowers and Ornamental Plants, 5(2), 171-193.
- Gulsheen, K. A., and A. Sharma (2019) Antianxiety and antidepressant activity guided isolation and characterization of gossypetin from (*Hibiscus*

- sabdariffa* L.) calyces. Journal of Biologically Active Products from Nature, 9(3), 205-214.
- Haruna, I. M, H.Y, Ibrahim and S. A. Rahman, (2011) The yield and profitability of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) at varying poultry manure and nitrogenfertilizer rates in the southern guinea savanna of Nigeria. J. Agric. Tech.7(3): 605 – 609.
- Hassoon, A. S., J. J. Jader and A. A. Kadhim (2022) Effect of bio-inoculation and variety in phenolic compounds content of rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Sepals.20-31
- Hayat, M., M. Abbas, F. Munir, M. Q. Hayat, R. Keyani, and R. Amir (2017) Potential of plant flavonoids in pharmaceuticals and nutraceuticals. J. Biomol. Biochem, 1(1), 12-17
- Herranz-López, M., M. Olivares-Vicente, E. R. Gallego, J. A. Encinar, A. Pérez-Sánchez, V. Ruiz-Torres, and V. Micol (2020) Quercetin metabolites from *Hibiscus sabdariffa* contribute to alleviate glucolipototoxicity-induced metabolic stress in vitro. Food and Chemical Toxicology, 144, 11-60.
- Hussain, N., Khan, A. Z., Akbar, H., Bangash, N. G., Hayat, Z., & Idrees, M. (2007) Response of maize varieties to phosphorus and potassium levels. Sarhad Journal of Agriculture, 23(4), 881.
- Hill, B (2014) Roselle plant at wave, New York , Showing leaf , flower , bud and dark red calyces.
- Horneck, D.A, and hanson,D (1998) Determenation of potassium and sodium by flame Emission spectrophotometer .Pp.153-155 . In : Kalra .Y.P.(ed). Handbook Of Reference Mathods for plant analysi. Soil and plant Analysis Council, Inc , CRC press .FL,USA.Pp.287.

- 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: 6825-6835.
- Ismail, A., E. K. Ikram and H. M. Narzi (2008) Roselle (*Hibiscus Sabdariffa* L.) seeds nutritional composition, protein quality and health benefit food *Global Science Books* ., 2(1) :1-16 .
- Izquierdo-Vega, J. A., D. A. Arteaga-Badillo, M. Sánchez-Gutiérrez, J. A. Morales-González, N. Vargas-Mendoza, C. A. Gómez-Aldapa, and E. Madrigal-Santillán (2020) Organic acids from Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.)—A brief review of its pharmacological effects. *Biomedicines*, 8(5), 100-113.
- Jamini, T. S., Islam, A. K. M. A., Mohi-ud-Din, M., and Saikat, M. M. H. (2019) Phytochemical composition of calyx extract of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) genotypes. *J Food Tech Food Chem*, 2(102), 2.
- Jamal, M., S. Raza, S. M. A Bukhari, S. Andleeb, M. A. Nawaz, S. Pervez (2021) First Generation—The Sanger Shotgun Approach. In *Sequencing Technologies in Microbial Food Safety and Quality*: 287-296.
- Jan , M. T., J. M. Knan, A. Knan, M. Arif, M. Shafi and N. Nullah (2010) Weate nitrogen indices response to nitrogen source and application time. *Pak. J. Bot*, 42(6):4267-4279.

- Janmohammadi, M., Azra, N., Asghar, E. S. and Naser, S (2016) Impact of nano-chelated micronutrients and biological fertilizers on growth performance and grain yield of maize under deficit irrigation condition. *biologija*. 62 (2): 224-227.
- Jolanta, R., Waldemer, K and Grazyna B. (2012) Using High performance Liquid Chromatography (HPLC) for Analyzing Feed Additives. *5:772 / 477*.
- Khattak, A. M., Sajid, M., Sarwar, H. Z., Rab, A., Ahmad, M., & Khan, M. A (2016) Effect of sowing time and plant density on the growth and production of roselle (*Hibiscus sabdariffa*). *Int. J. Agric. Biol*, 18, 1219-1224.
- Kadirimangalam, S. R., Jadhav, Y., Nagamadhuri, K. V., Putta, L., Murugesan, T., Variath, M. T., ... & Pasupuleti, J (2022) Genetic approaches for assessment of phosphorus use efficiency in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Scientific Reports*, 12(1), 21552.
- Kadri, K (2019) Polymerase chain reaction (PCR): Principle and applications. *Synthetic Biology-New Interdisciplinary Science*: 147-194
- Kakkar, S., and S Bais (2014) A review on protocatechuic acid and its pharmacological potential. *International Scholarly Research Notices*, 12-23.
- 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.
- Li, J., Y. Li, M. Li, L. Lin, J. Qi, J. Xu, and A. Tao (2022) Novel insights into anthocyanin synthesis in the calyx of roselle using integrated

- transcriptomic and metabolomic analyses. International Journal of Molecular Sciences, 23(22), 13908.
- Lin, T. L., H. H. Lin, C. C. Chen, M. C. Lin, M. C. Chou, and C. J. Wang (2007) (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract reduces serum cholesterol in men and women. Nutrition research, 27(3), 140-145.
- Lire Wachamo, H. (2021) Growth and yield response to different level of nitrogen and genetic diversity of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) varieties (Doctoral dissertation, Jimma University).
- Lire, W. H (2021) Growth and yield response to different level of nitrogen and genetic diversity of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) varieties. Doctoral dissertation, Jimma University 1-50.
- Mahadevan, N., H. Shivali and K. Pradeep (2009) (*Hibiscus sadariffa* L.) inn- An overview natural product radiance, vol., 8(1) : 77-83.
- Manikandan, A. and K. S. Subramanian (2016) Evaluation of zeolite based nitrogen nano-fertilizers on maize growth, yield and quality on inceptisols and alfisols. Inter. J. of Plant & Soil Sci. 9(4): 1-9.
- Matongera, N., Ndhlela, T., van Biljon, A., and Labuschagne, M (2023) Genotype x environment interaction and yield stability of normal and biofortified maize inbred lines in stress and non-stress environments. Cogent Food & Agriculture, 9(1), 2163868.
- Mckay ,D.L., O. Chen, E. Saltzman and J.B. Blumberg, (2010) *Hibiscus Sabdariffa* L .tea (Tisane) lowers blood pressure iprehypertensive and mildly hypertensive adults. The J. of Nut. and Disease.140:298–303.
- Meftahizadeh, H., Ebadi, M. T., Baath, G. S., & Ghorbanpour, M (2022) Variation of morphological and phytochemical traits in Roselle (*Hibiscus*

- sabdariffa* L.) genotypes under different planting dates. *Acta Ecologica Sinica*, 42(6), 616-623.
- Mckinney, H. H. (1941) Virus-antagonism tests and their limitations for establishing relationship between mutants, and non-relationship between distinct viruses. *American Journal of Botany*, 770-778.
- Metwally, M.M., M.M. Afify, H.E Wahba, A.M. Makarem, A. Mohamed, A. E. Mohamed and S. Makarem (2002) Effect of irrigation and vapor gard on growth, yield and chemical composition of Roselle plant. *Bull. NRC, Egypt.*, 27(4):533-548.
- Mohamed, B. B., A. A. Sulaiman, and A. A. Dahab (2012) Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) in Sudan, cultivation and their uses. *Bull. Environ. Pharmacol. Life Sci*, 1(6), 48-54.
- Mullis, K.B.and F.A. Faloon (1987) Specific Synthesis of DNA in vitro via apolymerase-catalyzed chain reaction. In *methods in enzymology*. Academic press, 1555: 335-350
- Nassour, R., A. Ayash, and Al-Tameemi K (2020) Anthocyanin pigments: Structure and biological importance. *J. Chem. Pharm. Sci*, 13, 45-57.
- Nassour, R., A. Ayash, and K. Al-Tameemi (2020) Anthocyanin pigments: Structure and biological importance. *J. Chem. Pharm. Sci*, 13, 45-57.
- Niño-Savala, A. G., Z. Zhuang, X. Ma, A. Fangmeier, H. Li, A. Tang, and X. Liu (2019) Cadmium pollution from phosphate fertilizers in arable soils and crops: An overview. *Front. Agric. Sci. Eng*, 6, 419-430.
- Nzikou, J. M., G. B. Kalou, L. Matos, F. B. GanongoPo, M. Mboussi, F. E. Moutoula, E. P. Akdowa, T. H. Silou and S. Desobry (2011) Characteristic and Nutritional Evaluation of seed oil from Roselle

- (*Hibiscus sabdariffa* L.) in Gongo .Brazzaville . Current Research . J. of Biol. Sci., 3(2): 141-146.
- Ovando-Cruz, M. E., Salinas-Moreno, Y., Gálvez-Marroquín, L. A., Ortiz-Curiel, S., and Martínez-Bolaños, M. (2020) Evaluation and selection of genotypes of jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) under rainfed conditions in Tututepec, Oaxaca, Mexico.
- Olaleye ,T.M. (2007) Cytotoxicity and antimicrobial activity of methanolic extract of (*Hibiscus sabdariffa* L .) J. of Med. Plants Res.Vol.,1(1): 9-013. Plants Res.,. 6(7):1106-1118.
- Osiki, P. O. (2019) The effect of beta-oxidation or TCA cycle inhibition on mitochondrial function and the sensitivity of high resolution respiratory detection (Master's thesis, Faculty of Health Sciences.
- Okosun, L. A., Magaji, M. D., and Yakubu, A. I. (2006) Effect of sowing date and planting distance on growth and yield of two cultivars of roselle (*Hibiscus sabdariffa* var. *sabdariffa*).
- Ottai, M. E. S., A. S. H. Abdel-Moniem , and R. A. El-Mergawi (2004) Effect of variety and location on growth and yield components of Roselle, (*Hibiscus sabdariffa* L.) and its infestation with the spiny bollworm *Earias insulana* (BOISD.). Archives of phytopathology and plant protection, 37(3), 215-231.
- Panda, A. C and M. Gorospe (2018) Detection and analysis of circular RNAs by RT-PCR. Bio-protocol, 8(6): 22-48.
- Rabo, S.A., B.S. Mustapha, A.B. Simon and I.L. Hamma (2015) Influence of NP fertilizer on the performance of Roselle (*Hibiscus Sabdariffa* L.) insamaru Zaria. Niger. J. Agric. Food Environ. 11(3): 61 – 64.

- Raei, Y., M. A. Milani (2014) Organic cultivation of medicinal plants :a review
Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES).4(4):6-18.
- Rahal, A., A. Kumar, V. Singh, B. Yadav, R. Tiwari, S. Chakraborty, and K. Dhama (2014) Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. BioMed research international, 2014.7-11.
- Raifa ,A.H., K.I Hemmat, M.S Hala , and M.S Sadak (2005) Increasing the active constituents of sepals of Roselle (*Hibiscus subdariffa* L.) plant applying Gibberellic acid and Benzyladenine. J. of Appl. Sci. Res.,1(2):137-146.
- Ren, K., M. Xu, R. Li, L. Zheng, S. Liu, S. Reis, and B. Gu (2022) Optimizing nitrogen fertilizer use for more grain and less pollution. Journal of Cleaner Production, 360, 132-180.
- Richardson, M. L., and Arlotta, C.G (2021) Differential yield and nutrients of *Hibiscus sabdariffa* L. genotypes when grown in urban production systems. Scientia Horticulturae, 288, 110349.
- Richardson, A.E (2001) Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. Functional Plant Biology, 28(9), 897-906.
- Ronald, R. W, R. P Victor, and Z. Sherma .2014. polyphenols in Human Health and Disease. Academic Press, 665-679.
- Roshani, M (2015) Isolation and in silico characterization of two anthocyanin transcripts chs and f3h from calyx of (*Hibiscus sabdariffa* L.) Var. Umkl.
- Saari, L. L., J. C. Cotterman, , and D. C. Thill (2018) Resistance to acetolactate synthase inhibiting herbicides. In Herbicide resistance in plants. CRC Press : 83-140.

- Sambrook, J., E.F. Fritsch, and T. Maniatis (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 11(2): 6-13.
- Sánchez-Feria, C., V. A., González-Hernández, Y., Salinas-Moreno, and N. Cruz-Huerta (2017) Genotype and environmental effects on physical and chemical qualities of Mexican varieties of (*Hibiscus sabdariffa* L.) flowers. *Agrociencia*, 51(5), 525-541.
- Sanders, M., Ayeni, A. O., and Simon, J. E (2020) Comparison of yield and nutrition of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) genotypes in central New Jersey. *Journal of Medicinally Active Plants*, 9(4), 242-252.
- Sarwar, A. G (2023) 9 Medicinal Plant *Hibiscus sabdariffa* L. and Its. Medicinal Plant Responses to Stressful Conditions. 21-33.
- Savci, S (2012) Investigation of effect of chemical fertilizers on environment. *Apcebe Procedia*, 1, 287-292.
- Sukkhaeng, S., Promdang, S., and Doung-ngern, U (2018) Fruit characters and physico-chemical properties of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) in Thailand—A screening of 13 new genotypes. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 11, 47-53.
- Shakeel, M., A. Rodriguez, U. B. Tahir and F. Jin (2018) Gene expression studies of reference genes for quantitative real-time PCR: an overview in insects. *Biotechnology Letters*, 40(2): 227-236.
- 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.

- Smirnoff, N (2011) Vitamin C: The metabolism and functions of ascorbic acid in plants *Advances in Botanical Res.*, 59:107–177.
- Smith, C. E., and C. H. Pao (2023) Sanger Sequencing by Hand: Using Paper Clips to Demonstrate Chain Termination.
- 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.
- Stead, P (2018) Isolation by preparative HPLC . *Natural Products Isolation* , edited by Richard J. P. Cannell.(4): 165 – 208.
- Subbotin, S. A (2021) Molecular identification of nematodes using polymerase chain reaction (PCR). In *Techniques for work with plant and soil nematodes* .Wallingford UK. CABI. 218-239.
- Tisdale, S.L; W.L. Nelson, J.D. Beaton and J.L. Havlin (1997) *Soil Fertility and Fertilizers*. Prentice–Hall of India, New Delhi.
- Torres-Morán, M. I., M. Escoto-Delgadillo, J. Ron-Parra, G. Parra-Tovar, S. Mena-Munguía, A. Rodríguez-García, and A. Rodríguez-Sahagún (2011) Relationships among twelve genotypes of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) cultivated in western Mexico. *Industrial Crops and Products*, 34(1), 1079-1083.
- Toukara, F., I. Amadou, G. Wei Le and Y. Hui hi (2011) Effect of boiling on the physicochemical properties of Roselle seeds (*Hibiscus sabdariffa* L.) cultivated in Mali. *Afri. J. of Biotech.*,10 (79):18160 -18166.
- Vashvaei, R.M., A. Ghanbari, B.A. Fakheri (2015) Effect of combined feeding system on N, P and K concentration, biochemical characteristics and

- calyxes yield of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). Iranian Journal of Field Crop Science, 46(3).
- Villalobos-Vega, M. J., G. Rodríguez-Rodríguez, O. Armijo-Montes, P. Jiménez-Bonilla, and V. Álvarez-Valverde (2023) Optimization of the Extraction of Antioxidant Compounds from Roselle Hibiscus Calyxes (*Hibiscus sabdariffa* L.), as a Source of Nutraceutical Beverages. *Molecules*, 28(6): 2628.
- Witten, S., and Aulrich, K (2019) Exemplary calculations of native thiamine (vitamin B1) and riboflavin (vitamin B2) contents in common cereal-based diets for monogastric animals. *Organic Agriculture*, 9(2): 155-164.
- Wu, N., D. Jian, M. Xiang, M. chen, X. Lan, Z. Liao and X. Liu (2019) Biochemical characterization reveals the function divergence of two tropinone reductases from *przewalskia tangutica*. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 66(4): 597-606.
- Yadav, B. K., and A. S Sidhu (2016) Dynamics of potassium and their bioavailability for plant nutrition. Potassium solubilizing microorganisms for sustainable agriculture, 187-201.
- Yang, D. J, T. J. LU and S. Hwang (2003) Simultaneous Determination of Furostanol and Spirostanol Glycosides in Taiwanese Yam (*Dioscorea* spp.) Cultivars by high performanese Liquid, 21-29.
- Yoo, J. W., R. B. Kim, S. Ju, S. J. Lee, Y. J. Cho, Y. Y. Jeong and H. C. Kim (2020) Clinical impact of supplementation of vitamins B1 and C on patients with sepsis-related acute respiratory distress syndrome. *Tuberculosis and Respiratory Diseases*, 83(3), 248-252.

- Yuniati, Y., P. E. Elim, R. Alfanaar, and H. S. Kusuma (2021) Extraction of anthocyanin pigment from (*Hibiscus sabdariffa* L.) by ultrasonic-assisted extraction. In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering . 22-31.
- Zainalabidin, S., S. N. F. S. N. Shahidin, and S. B. Budin (2016) (*Hibiscus sabdariffa* L.) (Roselle) protects against nicotine-induced heart damage in rats. *Sains Malaysiana*, 45(2), 207-214.
- Zapesochayaya, G. G., V. A. Kurkin, and A. N. Shchavlinskii (1985) Flavonoids of the epigeal part of *Rhodiola rosea*. II. Structures of new glycosides of herbacetin and of gossypetin. *Chemistry of Natural Compounds*, 21(4), 464-473.
- Zhao, Q. F., L. Tan, H. F. Wang, T. Jiang, M. S. Tan, L. Tan, and J. T. Yu (2016) The prevalence of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease: systematic review and meta-analysis. *Journal of affective disorders*, 190, 264-271.
- 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

ملحق 1: تتابع جين CHS للاصناف قيد الدراسة

>KJ559430.1: Hibiscus Global:1

1 GAG GAA GTT CGT AAG GCA CAA CGT GCT GAA GGG CCA GCC ACC ATT
 45
 1 Glu Glu Val Arg Lys Ala Gln Arg Ala Glu Gly Pro Ala Thr Ile
 15
 46 CTG GCG ATC GGC ACA TCC ACT CCA CCA AAT TGT GTT GAT CAG AGC
 90
 16 Leu Ala Ile Gly Thr Ser Thr Pro Pro Asn Cys Val Asp Gln Ser
 30
 91 ACA TAC CCT GAT TAC TAT TTC CGT ATC ACA AAT AGT GAG CAC ATG
 135
 31 Thr Tyr Pro Asp Tyr Tyr Phe Arg Ile Thr Asn Ser Glu His Met
 45
 136 ACT GAG CTC AAA GAG AAA TTC AAG CGA ATG TGT GAA AAA TCC ATG
 180
 46 Thr Glu Leu Lys Glu Lys Phe Lys Arg Met Cys Glu Lys Ser Met
 60
 181 ATT AAG AAG CGG TAC ATG TAC CTA ACA GAA GAG ATT CTG AAA GAG
 225
 61 Ile Lys Lys Arg Tyr Met Tyr Leu Thr Glu Glu Ile Leu Lys Glu
 75
 226 AAC CCC AAT GTA TGT GCA TAC ATG GCT CCT TCA CTA GAT GCT AGG
 270
 76 Asn Pro Asn Val Cys Ala Tyr Met Ala Pro Ser Leu Asp Ala Arg
 90
 271 CAA AAC ATG GTG GTG GTT GAG GTG TCC AAG CTA GGC AAA GAA GCA
 315
 91 Gln Asn Met Val Val Val Glu Val Ser Lys Leu Gly Lys Glu Ala
 105
 316 GCT ACC AAG GCC ATT AAA GAA TGG GGC CAG CCC AAG TCT AAG ATC
 360
 106 Ala Thr Lys Ala Ile Lys Glu Trp Gly Gln Pro Lys Ser Lys Ile
 120
 361 ACT CAC CTT GTC TTT TGC ACC ACC AGT GGC GTC GAC ATG CCC GGG
 405
 121 Thr His Leu Val Phe Cys Thr Thr Ser Gly Val Asp Met Pro Gly
 135
 406 GCC GAC TAC CAA CTC ACC AAG CTC TTG GGC CTC CGC CCC TCC GTT
 450

136 Ala Asp Tyr Gln Leu Thr Lys Leu Leu Gly Leu Arg Pro Ser Val
150

451 AAA CGC CTC ATG ATG TAC CAA CAA GGT TGC TTC GCC GGA GGC ACC
495

151 Lys Arg Leu Met Met Tyr Gln Gln Gly Cys Phe Ala Gly Gly Thr
165

496 GTG CTT CGA GTT GCC AAG GAC TTG GCT GAG AAC AAC AAA GGT GCC
540

166 Val Leu Arg Val Ala Lys Asp Leu Ala Glu Asn Asn Lys Gly Ala
180

541 CGT GTC CTC GTC GTG TGC TCG GAG ATT ACC GCT GTT ACC TTC CGT
585

181 Arg Val Leu Val Val Cys Ser Glu Ile Thr Ala Val Thr Phe Arg
195

586 GGG CCT ACC GAC ACC CAC CTA GAC AGT CTT GTG GGC CAA GCA TTG
630

196 Gly Pro Thr Asp Thr His Leu Asp Ser Leu Val Gly Gln Ala Leu
210

631 TTT GGT GAT GGT GCT GCT GCT GTT ATA ATC GGT GCA GAC CC- 672
211 Phe Gly Asp Gly Ala Ala Ala Val Ile Ile Gly Ala Asp XXX 223

>KJ605650.1: Hibiscus Global:2

1 GAA GAA ATC CGC AAG GCA CAA CGT GCG GAA GGG CCG GCC ACT GTG
45

1 Glu Glu Ile Arg Lys Ala Gln Arg Ala Glu Gly Pro Ala Thr Val
15

46 TTG GCG ATC GGC ACA TCA ACT CCC CCG AAT TGC GTT GAT CAA AGC
90

16 Leu Ala Ile Gly Thr Ser Thr Pro Pro Asn Cys Val Asp Gln Ser
30

91 ACC TAT CCT GAC TTT TAT TTC CGT GTT ACA AAG AGC GAG CAT AAG
135

31 Thr Tyr Pro Asp Phe Tyr Phe Arg Val Thr Lys Ser Glu His Lys
45

136 GCT GAG CTG AAA GAG AAA TTC AAA CGC ATG TGC GAA AAA TCC ATG
180

46 Ala Glu Leu Lys Glu Lys Phe Lys Arg Met Cys Glu Lys Ser Met
60

181 ATC AAG AAG CGA TAC ATG TAC TTA ACC GAA GAT ATT CTG AAG GAG
225

61 Ile Lys Lys Arg Tyr Met Tyr Leu Thr Glu Asp Ile Leu Lys Glu
75

226	AAT CCT AAT GTA TGC GAA TAC AAG GCA CCT TCA CTG GAT GCT AGG	
270		
76	Asn Pro Asn Val Cys Glu Tyr Lys Ala Pro Ser Leu Asp Ala Arg	
90		
271	CAA GAC ATG GTG GTG GTT GAG GTC TCC AAG CTC GGC AAA GAA GCC	
315		
91	Gln Asp Met Val Val Val Glu Val Ser Lys Leu Gly Lys Glu Ala	
105		
316	GCC ACT AGA GCC ATT AAA GAA TGG GGC CAG CCC AAG TCC AAG ATC	
360		
106	Ala Thr Arg Ala Ile Lys Glu Trp Gly Gln Pro Lys Ser Lys Ile	
120		
361	ACC CAC CTC GTC TTC TGC ACC ACC AGT GGC GTC GAC ATG CCC GGT	
405		
121	Thr His Leu Val Phe Cys Thr Thr Ser Gly Val Asp Met Pro Gly	
135		
406	GCT GAC TAC CAG CTC ACC AAG CTC TTG GGT CTC CGC CCT TCC GTT	
450		
136	Ala Asp Tyr Gln Leu Thr Lys Leu Leu Gly Leu Arg Pro Ser Val	
150		
451	AAG CGC CTC ATG ATG TAC CAA CAA GGC TGC TTC GCC GGC GGC ACG	
495		
151	Lys Arg Leu Met Met Tyr Gln Gln Gly Cys Phe Ala Gly Gly Thr	
165		
496	GTG CTG CGG GTG GCC AAG GAC TTG GCT GAG AAC AAC AAA GGC GCT	
540		
166	Val Leu Arg Val Ala Lys Asp Leu Ala Glu Asn Asn Lys Gly Ala	
180		
541	CGA GTT CTC GTT GTT TGT TCC GAA ATC ACC GCC GTC ACC TTC CGT	
585		
181	Arg Val Leu Val Val Cys Ser Glu Ile Thr Ala Val Thr Phe Arg	
195		
586	GGA CCT AGT GAC ACT CAC CTA GAT AGT CTT GTT GGC CAA GCA TTG	
630		
196	Gly Pro Ser Asp Thr His Leu Asp Ser Leu Val Gly Gln Ala Leu	
210		
631	TTT GGC GAT GGC GCG GCT GCT GTC ATA ATT GGT TCA GAC CC-	672
211	Phe Gly Asp Gly Ala Ala Ala Val Ile Ile Gly Ser Asp XXX	223

>Hibiscus: Red variety

1 GAG GAA GTT CGT AAG GCA CAA CGT GCT GAA GGG CCA GCC ACC ATT
 45
 1 Glu Glu Val Arg Lys Ala Gln Arg Ala Glu Gly Pro Ala Thr Ile
 15
 46 CTG GCG ATC GGC ACA TCC ACT CCA CCA AAT TGT GTT GAT CAG AGC
 90
 16 Leu Ala Ile Gly Thr Ser Thr Pro Pro Asn Cys Val Asp Gln Ser
 30
 91 ACA TAC CCT GAT TAC TAT TTC CGT ATC ACA AAT AGT GAG CAC ATG
 135
 31 Thr Tyr Pro Asp Tyr Tyr Phe Arg Ile Thr Asn Ser Glu His Met
 45
 136 ACT GAG CTC AAA GAG AAA TTC AAG CGA ATG TGT GAA AAA TCC ATG
 180
 46 Thr Glu Leu Lys Glu Lys Phe Lys Arg Met Cys Glu Lys Ser Met
 60
 181 ATT AAG AAG CGG TAC ATG TAC CTA ACA GAA GAG ATT CTG AAA GAG
 225
 61 Ile Lys Lys Arg Tyr Met Tyr Leu Thr Glu Glu Ile Leu Lys Glu
 75
 226 AAC CCC AAT GTA TGC GCA TAC ATG GCT CCC TCA CTA GAT GCT AGG
 270
 76 Asn Pro Asn Val Cys Ala Tyr Met Ala Pro Ser Leu Asp Ala Arg
 90
 271 CAA AAC ATG GTG GTG GTT GAG GTG TCA AAG CTA GGC AAA GAA GCA
 315
 91 Gln Asn Met Val Val Val Glu Val Ser Lys Leu Gly Lys Glu Ala
 105
 316 GCT ACC AAG GCC ATT AAA GAA TGG GGC CAG CCC AAG TCT AAG ATC
 360
 106 Ala Thr Lys Ala Ile Lys Glu Trp Gly Gln Pro Lys Ser Lys Ile
 120
 361 ACT CAC CTT GTC TTT TGC ACC ACC AGT GGC GTC GAC ATG CCC GGG
 405
 121 Thr His Leu Val Phe Cys Thr Thr Ser Gly Val Asp Met Pro Gly
 135
 406 GCC GAC TAC CAA CTC ACC AAG CTC TTG GGC CTC CGC CCC TCC GTT
 450
 136 Ala Asp Tyr Gln Leu Thr Lys Leu Leu Gly Leu Arg Pro Ser Val
 150
 451 AAA CGC CTC ATG ATG TAC CAA CAA GGT TGC TTC GCC GGA GGC ACC
 495

151 Lys Arg Leu Met Met Tyr Gln Gln Gly Cys Phe Ala Gly Gly Thr
165

496 GTG CTT CGA GTT GCC AAG GAC TTG GCT GAG AAC AAC AAA GGT GCC
540

166 Val Leu Arg Val Ala Lys Asp Leu Ala Glu Asn Asn Lys Gly Ala
180

541 CGT GTC CTC GTC GTG TGC TCG GAG ATT ACC GCT GTT ACC TTC CGT
585

181 Arg Val Leu Val Val Cys Ser Glu Ile Thr Ala Val Thr Phe Arg
195

586 GGG CCT ACC GAC ACC CAC CTA GAC AGT CTT GTG GGC CAA GCA TTG
630

196 Gly Pro Thr Asp Thr His Leu Asp Ser Leu Val Gly Gln Ala Leu
210

631 TTT GGT GAT GGT GCT GCT GCT GTT ATA ATC GGT GCA GAC CC- 672
211 Phe Gly Asp Gly Ala Ala Ala Val Ile Ile Gly Ala Asp XXX 223

>Hibiscus: White variety

1 GAG GAA GTT CGT AAG GCA CAA CGT GCT GAA GGG CCA GCC ACC ATT
45

1 Glu Glu Val Arg Lys Ala Gln Arg Ala Glu Gly Pro Ala Thr Ile
15

46 CTG GCG ATC GGC ACA TCC ACT CTA CCA AAT TGT GTT GAT CAG AGC
90

16 Leu Ala Ile Gly Thr Ser Thr Leu Pro Asn Cys Val Asp Gln Ser
30

91 ACA TAC CCT GAT TAC TAT TTC CGT ATC ACA AAT AGT GAG CAC ATG
135

31 Thr Tyr Pro Asp Tyr Tyr Phe Arg Ile Thr Asn Ser Glu His Met
45

136 ACT GAG CTC AAA GAG AAA TTC AAG CGA ATG TGT GAA AAA TCC ATG
180

46 Thr Glu Leu Lys Glu Lys Phe Lys Arg Met Cys Glu Lys Ser Met
60

181 AGT AAG AAG CGG TAC ATG TAC CTA ACA GAA GAG ATT CTG AAA GAG
225

61 Ser Lys Lys Arg Tyr Met Tyr Leu Thr Glu Glu Ile Leu Lys Glu
75

226 AAC CCC AAT GTA TGT GCA TAC ATG GCT CCT TCA CTA GAT GCT AGG
 270
 76 Asn Pro Asn Val Cys Ala Tyr Met Ala Pro Ser Leu Asp Ala Arg
 90

271 CAA AAC ATG GTG GTG GTT GAG GTG CCA AAG CTA GGC AAA GAA GCA
 315
 91 Gln Asn Met Val Val Val Glu Val Pro Lys Leu Gly Lys Glu Ala
 105

316 GCT ACC AAG GCC ATT AAA GAA TGG GGC CAG CCC AAG TCT AAG ATC
 360
 106 Ala Thr Lys Ala Ile Lys Glu Trp Gly Gln Pro Lys Ser Lys Ile
 120

361 ACT CAC CTT GTC TTT TGC ACC ACC AGT GGC GTC GAC ATG CCC GGG
 405
 121 Thr His Leu Val Phe Cys Thr Thr Ser Gly Val Asp Met Pro Gly
 135

406 GCC GAC TAC CAA CTC ACC AAG CTC TTG GGC CTC CGC CCC TCC GTT
 450
 136 Ala Asp Tyr Gln Leu Thr Lys Leu Leu Gly Leu Arg Pro Ser Val
 150

451 AAA CGC CTC ATG ATG TAC CAA CAA GGT TGC TTC GCC GGA GGC ACC
 495
 151 Lys Arg Leu Met Met Tyr Gln Gln Gly Cys Phe Ala Gly Gly Thr
 165

496 GTG CTT CGA GTT GCC AAG GAC TTG GCT GAG AAC AAC AAA GGT GCC
 540
 166 Val Leu Arg Val Ala Lys Asp Leu Ala Glu Asn Asn Lys Gly Ala
 180

541 CGT GTC CTC GTC GTG TGC TCG GAG ATT ACC GCT GTT ACC TTC CGT
 585
 181 Arg Val Leu Val Val Cys Ser Glu Ile Thr Ala Val Thr Phe Arg
 195

586 GGG CCT ACC GAC ACC CAC CTA GAC AGT CTT GTG GGC CAA GCA TTG
 630
 196 Gly Pro Thr Asp Thr His Leu Asp Ser Leu Val Gly Gln Ala Leu
 210

631 TTT GGT GAT GGT GCT GCT GCT GTT ATA ATC GGT GCA GAC CC- 672
 211 Phe Gly Asp Gly Ala Ala Ala Val Ile Ile Gly Ala Asp XXX 223

ملحق 2: تتابع جين F3H للاصناف قيد الدراسة

>XM_039176166.1: Hibiscus Global: Red

1 GGG GGC AAA AAA GGA GGC TTC ATC GTC TCC AGC CAC CTT CAG GGA
 45
 1 Gly Gly Lys Lys Gly Gly Phe Ile Val Ser Ser His Leu Gln Gly
 15
 46 GAA GCG GTG CAA GAT TGG CGG GAG ATT GTG ACC TAC TTT TCA TAT
 90
 16 Glu Ala Val Gln Asp Trp Arg Glu Ile Val Thr Tyr Phe Ser Tyr
 30
 91 CCA TTG AAG AAC AGG GAC TAT TCA CGG TGG CCT AAT AAG CCG GAG
 135
 31 Pro Leu Lys Asn Arg Asp Tyr Ser Arg Trp Pro Asn Lys Pro Glu
 45
 136 GGT TGG ATT GAT GTG ACG AAG GAG TAC AGC GAG AAG CTG ATG GGG
 180
 46 Gly Trp Ile Asp Val Thr Lys Glu Tyr Ser Glu Lys Leu Met Gly
 60
 181 TTA GCG TGC AAG CTT CTC GAG GTG TTG TCG GAG GCC ATG GGT TTA
 225
 61 Leu Ala Cys Lys Leu Leu Glu Val Leu Ser Glu Ala Met Gly Leu
 75
 226 GAG AAG GAG GCT TTG ACC AAG GCG TGT GTG GAC ATG GAT CAG AAA
 270
 76 Glu Lys Glu Ala Leu Thr Lys Ala Cys Val Asp Met Asp Gln Lys
 90
 271 GTG GTG GTT AAT TTC TAC CCC AAA TGT CCA CAA CCG GAC CTC ACT
 315
 91 Val Val Val Asn Phe Tyr Pro Lys Cys Pro Gln Pro Asp Leu Thr
 105
 316 CTC GGA CTC AAG CGC CAC ACC GAC CCG GGG ACG ATC ACT CTA TTG
 360
 106 Leu Gly Leu Lys Arg His Thr Asp Pro Gly Thr Ile Thr Leu Leu
 120
 361 CTT CAG GAC CAA GTC GGA GGG CTT CAG GCC ACC AGG GAC GAT GGC
 405
 121 Leu Gln Asp Gln Val Gly Gly Leu Gln Ala Thr Arg Asp Asp Gly
 135
 406 AAG ACT TGG ATC ACC GTT CAA CCT GTT GAA GGC GCC TTT GTG GTC
 450
 136 Lys Thr Trp Ile Thr Val Gln Pro Val Glu Gly Ala Phe Val Val
 150

451 AAC CTT GGA GAT CAC GGC CAT TAT TTG AGC AAT GGC AGG TTC AAG
 495
 151 Asn Leu Gly Asp His Gly His Tyr Leu Ser Asn Gly Arg Phe Lys
 165
 496 AAT GC- 501
 166 Asn XXX 166

>XM_039165100.1: Hibiscus Global: White

1 GGT GGT AAG AAA GGG GGT TTC ATT GTC TCC AGC CAC CTC CAG GGA
 45
 1 Gly Gly Lys Lys Gly Gly Phe Ile Val Ser Ser His Leu Gln Gly
 15
 46 GAA GTG GTG CAA GAT TGG CGG GAG ATT GTG ACG TAC TTT TCA TAC
 90
 16 Glu Val Val Gln Asp Trp Arg Glu Ile Val Thr Tyr Phe Ser Tyr
 30
 91 CCA TTG AAG AAC AGG GAC TAT TCA AGG TGG CCT GAT AAG CCA GAG
 135
 31 Pro Leu Lys Asn Arg Asp Tyr Ser Arg Trp Pro Asp Lys Pro Glu
 45
 136 GGT TGG ATT GAG GTG ACA AAG GAG TAC AGC GAG AAG CTG ATG GGT
 180
 46 Gly Trp Ile Glu Val Thr Lys Glu Tyr Ser Glu Lys Leu Met Gly
 60
 181 CTA GCA TGC AAG CTT CTT GAG GTG CTG TCG GAG GCC ATG GGT TTA
 225
 61 Leu Ala Cys Lys Leu Leu Glu Val Leu Ser Glu Ala Met Gly Leu
 75
 226 GAG AAG GAG GCT TTG ACA AAG ACG TGT CTG GAC ATG GAC CAG AAA
 270
 76 Glu Lys Glu Ala Leu Thr Lys Thr Cys Leu Asp Met Asp Gln Lys
 90
 271 GTG GTG GTT AAT TTC TAC CCG AAA TGT CCA CAA CCA GAC CTC ACT
 315
 91 Val Val Val Asn Phe Tyr Pro Lys Cys Pro Gln Pro Asp Leu Thr
 105
 316 CTC GGA CTC AAG CGC CAC ACC GAC CCG GGG ACG ATC ACC CTA TTG
 360
 106 Leu Gly Leu Lys Arg His Thr Asp Pro Gly Thr Ile Thr Leu Leu
 120
 361 CTT CAG GAC CAA GTC GGT GGA CTT CAG GCC ACC AGG GAC AAT GGC
 405

121 Leu Gln Asp Gln Val Gly Gly Leu Gln Ala Thr Arg Asp Asn Gly
135
406 AAG ACT TGG ATC ACA GTT AAA CCT GTT GAA GGC GCC TTT GTG GTC
450
136 Lys Thr Trp Ile Thr Val Lys Pro Val Glu Gly Ala Phe Val Val
150
451 AAC CTT GGA GAT CAC GGC CAT TAT CTG AGC AAT GGG AGG TTT AAG
495
151 Asn Leu Gly Asp His Gly His Tyr Leu Ser Asn Gly Arg Phe Lys
165

>Hibiscus: Red variety

1 GGG GGC AAA AAA GGA GGC TTC ATC GTC TCC AGC CAC CTT CAG GGA
45
1 Gly Gly Lys Lys Gly Gly Phe Ile Val Ser Ser His Leu Gln Gly
15
46 GAA GCG GTG CAA GAT TGG CGG GAG ATT **GTA** ACC TAC TTT TCA TAT
90
16 Glu Ala Val Gln Asp Trp Arg Glu Ile Val Thr Tyr Phe Ser Tyr
30
91 CCA TTG AAG AAC AGG GAC TAT TCA CGG TGG CCT AAT AAG CCG GAG
135
31 Pro Leu Lys Asn Arg Asp Tyr Ser Arg Trp Pro Asn Lys Pro Glu
45
136 GGT TGG ATT GAT GTG ACG AAG GAG TAC AGC GAG AAG CTG ATG GGG
180
46 Gly Trp Ile Asp Val Thr Lys Glu Tyr Ser Glu Lys Leu Met Gly
60
181 TTA GCG TGC AAG CTT CTC GAG GTG TTG TCG **GAA** GCC ATG GGT TTA
225
61 Leu Ala Cys Lys Leu Leu Glu Val Leu Ser Glu Ala Met Gly Leu
75
226 GAG AAG GAG GCT TTG ACC AAG GCG TGT GTG GAC ATG GAT CAG AAA
270
76 Glu Lys Glu Ala Leu Thr Lys Ala Cys Val Asp Met Asp Gln Lys
90
271 GTG GTG GTT AAT TTC TAC CCC AAA TGT CCA CAA CCG GAC CTC ACT
315
91 Val Val Val Asn Phe Tyr Pro Lys Cys Pro Gln Pro Asp Leu Thr
105
316 CTC GGA CTC AAG CGC CAC ACC GAC CCG GGG ACG ATC ACT **TTA** TTG
360

106 Leu Gly Leu Lys Arg His Thr Asp Pro Gly Thr Ile Thr Leu Leu
120

361 CTT CAG GAC CAA GTC GGA GGG CTT CAG GCC ACC AGG GAC GAT GGC
405

121 Leu Gln Asp Gln Val Gly Gly Leu Gln Ala Thr Arg Asp Asp Gly
135

406 AAG ACT TGG ATC ACC GTT CAA CCT GTT GAA GGC GCC TTT GTG GTC
450

136 Lys Thr Trp Ile Thr Val Gln Pro Val Glu Gly Ala Phe Val Val
150

451 AAC CTT GGA GAT CAC GGC CAT TAT TTG AGC AAT GGC AGG TTC AAG
495

151 Asn Leu Gly Asp His Gly His Tyr Leu Ser Asn Gly Arg Phe Lys
165

496 AAT GC- 501
166 Asn XXX 166

>Hibiscus: White variety

1 GGG GGC AAA AAA GGA GGC TTC ATC GTC TCC AGC CAC CTT CAG GGA
45

1 Gly Gly Lys Lys Gly Gly Phe Ile Val Ser Ser His Leu Gln Gly
15

46 GAA GCG GTG CAA GAT TGG CGG GAG ATT GTG ACC TAC TTT TCA TAT
90

16 Glu Ala Val Gln Asp Trp Arg Glu Ile Val Thr Tyr Phe Ser Tyr
30

91 CCA TTG AAG AAC AGG GAC TAT TCA CGG TGG CCT AAT AAG CCG GAG
135

31 Pro Leu Lys Asn Arg Asp Tyr Ser Arg Trp Pro Asn Lys Pro Glu
45

136 GGT TGG ATT GAT GTG ACG AAG GAG TAC AGC GAG AAG CTG ATG GGG
180

46 Gly Trp Ile Asp Val Thr Lys Glu Tyr Ser Glu Lys Leu Met Gly
60

181 TTA GCA TGC AAG CTT CTC GAG GTG TTG TCG GAG GCC ATG GGT TTA
225

61 Leu Ala Cys Lys Leu Leu Glu Val Leu Ser Glu Ala Met Gly Leu
75

226 GAG AAG GAG GCT TTC ACC AAA GCG TGT GTT GAC ATG GAT CAG AAA
270

76 Glu Lys Glu Ala Phe Thr Lys Ala Cys Val Asp Met Asp Gln Lys
90

271 GTG GTG GTT AAT TTC TAC CCC AAA TGT TCA CAA CCG GAC CTC ACT
 315
 91 Val Val Val Asn Phe Tyr Pro Lys Cys Ser Gln Pro Asp Leu Thr
 105

316 CTC GGA CTC AAG CGC CAC ACC GAC CCG GGG ACG ATC ACT CTA TTG
 360
 106 Leu Gly Leu Lys Arg His Thr Asp Pro Gly Thr Ile Thr Leu Leu
 120

361 CTT CAG GAC CAA GTC GGA GGG CTT CAG GCC ACC AGG GAC GAT GGC
 405
 121 Leu Gln Asp Gln Val Gly Gly Leu Gln Ala Thr Arg Asp Asp Gly
 135

406 AAG ACT TGG ATC ACC GTT CAA CCT GTT GAA GGC GCC TTT GTG GTC
 450
 136 Lys Thr Trp Ile Thr Val Gln Pro Val Glu Gly Ala Phe Val Val
 150

451 AAC CTT GGA GAT CAC GGC CAT TAT TTG AGC AAT GGC AGG TTC AAG
 495
 151 Asn Leu Gly Asp His Gly His Tyr Leu Ser Asn Gly Arg Phe Lys
 165

496 AAT GC- 501
 166 Asn XXX 166

ملحق 3: تحليل التباين وفق متوسطات المربعات (MS) لصفات نبات الكجرات.

محتوى الكلوروفيل (b)	محتوى الكلوروفيل (a)	دليل المساحة الورقية (سم ²)	عدد الاوراق (ورقه نبات ¹)	عدد الافرع (فرع نبات ¹)	أرتفاع النبات (سم)	درجات الحرية DF	مصادر الاختلاف S.O.V
0.000436	0.003874	1.3261	3514.	8.978	242.0	2	المكررات
*0.034286	0.000238	*2.2218	*35308.	*168.681	*56613.4	1	الاصناف
*0.005916	*0.037038	*3.4955	*24696.	*67.122	*861.0	6	التوليفات
*0.011575	*0.010983	0.2239	*4342.	7.451	*946.0	6	التداخل
0.001036	0.004117	0.3872	1042.	6.368	224.2	26	الخطأ التجريبي

الوزن الجاف للجوز (غم نبات ¹)	وزن الجوز الرطب (غم نبات ¹)	عدد الجوز (جوز نبات ¹)	الجموع الخضري الجاف للنبات (غم نبات ¹)	الجموع الخضري الرطب للنبات (غم نبات ¹)	محتوى الكلوروفيل (T)	درجات الحرية DF	مصادر الاختلاف S.O.V
942.	17046.	164.571	13330.3	102857.	0.41143	2	المكررات
*525281.	*1188098.	*27405.442	*103389.2	*316855.	*38.64962	1	الاصناف
*35896.	*77146.	*2579.582	*148661.6	*2859268.	*93.35289	6	التوليفات
*24666.	*116375.	*1645.166	*8212.9	*19722.	*2.49117	6	التداخل
2571.	21490.	4.571	370.3	2857.	0.01143	26	الخطأ التجريبي

الحاصل الرطب للاوراق الكأسية (كغم نبات ¹⁻)	الوزن الجاف للاوراق الكأسية (غم نبات ¹⁻)	الوزن الرطب للاوراق الكأسية (غم نبات ¹⁻)	الحاصل الكلي للجوز (ميكا غرام هـ ¹⁻)	درجات الحرية DF	مصادر الاختلاف S.O.V
126730.	4.5	504.00	126730.	2	المكررات
*257921.	*1292.6	*22147.68	*30560755.	1	الاصناف
*3637505.	*2122.8	*19948.93	*11274846.	6	التوليفات
*1056652.	*2116.3	*3917.50	*711570.	6	التداخل
3520.	170.8	14.00	3520.	26	الخطأ التجريبي

محتوى الاوراق الكأسية عنصر البوتاسيوم (ملغم غرام ¹⁻)	محتوى الاوراق الكأسية من عنصر الفسفور (ملغم غرام ¹⁻)	محتوى الاوراق الكأسية من البروتين (%)	محتوى الاوراق الكأسية من عنصر النتروجين (ملغم غرام ¹⁻)	الحاصل الجاف للاوراق الكأسية (كغم نبات ¹⁻)	درجات الحرية DF	مصادر الاختلاف S.O.V
3.7029	6.5829	74.983	10.2857	113400.	2	المكررات
*270.0536	*270.0536	*270.054	*191.5736	*103145.	1	الاصناف
*91.4443	*77.4243	*91.444	*458.4371	*521995.	6	التوليفات
*28.1386	*27.1686	*28.139	*110.8586	*179373.	6	التداخل
0.1029	0.1829	1.143	0.2857	3150.	26	الخطأ التجريبي

محتوى الأوراق الكاسية من Gossypetine (ملغم غرام ⁻¹)	محتوى الأوراق الكاسية من Hibiscetin (ملغم غرام ⁻¹)	محتوى الأوراق الكاسية من Quercetin (ملغم غرام ⁻¹)	محتوى الاوراق الكاسية من Vitamin C (ملغم غرام ⁻¹)	درجات الحرية DF	مصادر الاختلاف S.O.V
0.00102857	0.0092571	0.0041143	274.57	2	المكررات
*0.00671336	*0.0821059	*0.1433837	*847.26	1	الاصناف
*0.02931686	*0.0434860	*0.0296409	*421.58	6	التوليفات
*0.00405786	*0.0070594	*0.0274317	*109.58	6	التداخل
0.00002857	0.0002571	0.0001143	16.11	26	الخطأ التجريبي

ملحق: صور للتجربة





المراحل الاولى للزراعة



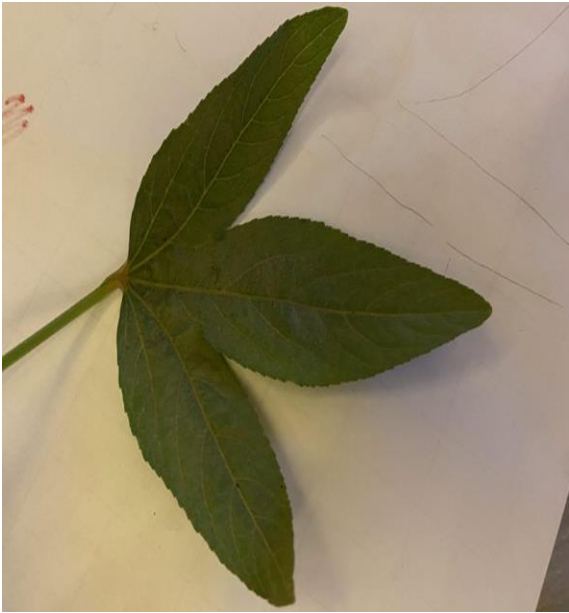
مرحلة بدء التزهير



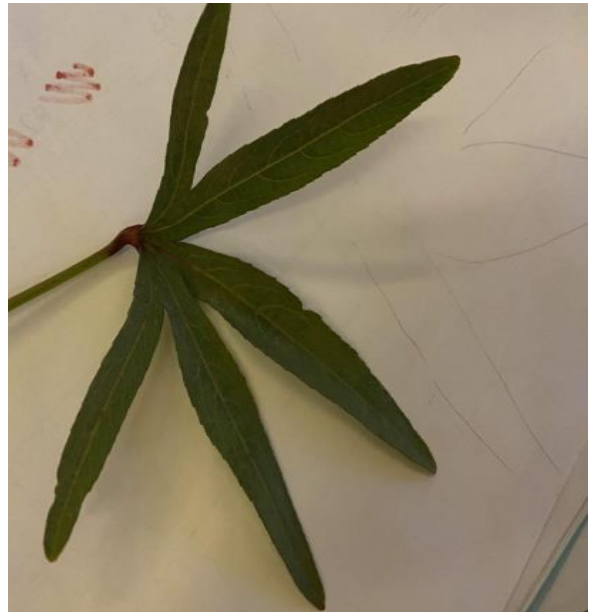
الزهرة في الصنف الأحمر



الزهرة في الصنف الأبيض



شكل الورقة في الصنف الأبيض



شكل الورقة في الصنف الأحمر



الجوز في الصنف الأبيض



الجوز في الصنف الأحمر



صور لعملية الهضم وبعض التحليلات المختبرية

Abstract

A field experiment was carried out during the 2022 agricultural season in one of the experimental fields of Ibn Al-Bitar Vocational Preparatory School located in Kerbala Governorate, with the aim of studying the effect of NPK combinations on the growth, yield and active ingredient of two varieties of Roselle plant. The experiment was carried out in the order of factorial experiments, with three replicates, and with 42 experimental units, the area of the experimental unit. per 12 m² according to a randomized complete block design (R.C.B.D) with two factors. The first included combinations of NPK fertilizers according to the codes as follows: C0, C1= 25-25-50 of NPK kg ha⁻¹, C2 = 50-50-75 kg ha⁻¹, C3 = 75-75-100 kg ha⁻¹, C4 = 100-100-125 kg ha⁻¹, C5 = 125-125-150 kg ha⁻¹, C6 = 150-150-175-kg ha⁻¹. The second factor is the two types of Roselle plant: white (W) and red (R). The results showed the following: Several missense mutations have been identified in the CHS gene in the sequence of the white variety, in codons 23 and 61 (CCA → CCC and ATT → ATC, respectively) which encode the amino acids Pro → Leu and Ile → Ser. As for the [F3H] gene, missense mutations of the same variety were also diagnosed in codons 80 and 100 (TTC → TTG and CCA → TCA, respectively), which encode for the amino acids (Leu → Phe and (Pro → Ser), as it was noted that these mutations may have caused the content of the variety white is one of the active substances. Silent mutations have also been recorded in the red variety for codons (23, 61, 80, 85, and 99) that encode amino acids (Pro, Ile, Cys, Pro, and Ser), in the [CHS] gene, as for the F3H gene in Codons (25, 62, 70, 82, 85, and 119) that code for amino acids (Val, Ala, Glu, Lys, Val, Leu).

The red variety excelled in most of the traits under study, such as growth traits (plant height, number of branches, number of leaves, leaf area, chlorophyll content of leaves, weight of wet and dry shoots) and yield traits (number of nuts, fresh weight of nuts, total nut yield, and weight wet and dry calyces leaves, and the total yield of calyces leaves) and the superiority of the same variety in the concentration of nutrients in the Roselle plant (nitrogen, phosphorus, potassium and protein), as well as the superiority of the same variety in the content of calyces leaves of active substances (Vitamin C, Quercetin, Hibiscetin and Gossypetine).

The C5 and C6 combinations were superior in plant height, number of branches, number of leaves, total chlorophyll content, number of nuts, total nut yield, wet and dry weight of Roselle leaves, wet and dry yield of Roselle leaves, concentration of nitrogen, protein, phosphorus, and potassium, and content of Roselle leaves of the active substances Vitamin C, Quercetin, Hibiscetin, and Gossypetine. Combinations C3 and C4 were superior in terms of fresh and dry weight of nuts and leaf area of the plant.

The results also showed that there was a significant interaction between the genotypes of the Roselle plant and the fertilizer combinations, as the C5 and C6 combinations excelled in most of the traits under study.



Republic of Iraq

Ministry of Higher Education and Scientific Research

Kerbala University

of Agriculture

Field Crops Department

**Response of two genotypes of *Hibiscus sabdariffa* L. to
NPK combinations and identification of the CHS and
F3H genes responsible for the synthesis of medically
active compounds.**

**A Thesis Submitted to The Council of the College of
Agriculture / University of Kerbala, which is part of the requirements
for obtaining a master's degree
Science in Agriculture / Field Crops**

By

Maryam Maitham Ali Al-Baik

Supervised By

Pro. Dr. Abbas Ali Hussein Al-Amery

2024 AD

1445 AH