دور عنصري الكالسيوم والبوتاسيوم في تحسين إنبات بذور السبانخ ونمو البادرات تحت ظروف الإجهاد الملحي

د. ثناء دبو

مدرس في قسم البساتين – كلية الهندسة الزراعية – جامعة حمص

الملخص:

أجريت تجربة مخبرية لتقييم دور إضافة كلوريد الكالسيوم أو كلوريد البوتاسيوم في تخفيف الآثار الضارة للإجهاد الملحي لكلوريد الصوديوم في إنبات بذور السبانخ (الهجين Comoros) ونمو بادراتها. اتبع في التجربة التصميم العشوائي الكامل، واستُخدمت تراكيز NaCl (150، 200، 250 mM) مع أو بدون إضافة (1، 2.5 mM) $CaCl_2$ أو (2، 5 mM) KCl، واستخدم الماء المقطر كشاهد. تضمنت المؤشرات المدروسة طاقة الإنبات (GE)، نسبة الإنبات (GP)، مؤشر الإنبات (GI)، طول الجذر، ومؤشر قوة البادرة، بالإضافة إلى تقييم قابلية البذور المعاملة على استعادة قدرتها على الإنبات بعد زوال الإجهاد.

أظهرت النتائج أن الإجهاد الملحي خفض معنوياً جميع مؤشرات الإنبات ونمو الجذر عند 150 NaCl mM، وان الإنبات كاد ينعدم عند 200 و250 mM مع تثبيط شديد لنمو الجذر. اعتمد تأثير إضافات كلوريد الكالسيوم والبوتاسيوم على تراكيزها، وتركيز NaCl، والمؤشر المدروس. فعند 150 NaCl mM، أدت الإضافة 5 mM (K^+) فقط إلى تحسُّن طفيف في GE، بينما تحسنت GP بفعل الإضافتين 2.5 mM $CaCl_2$ (70.59%) و5 mM KCl (62.75%) لتصبح الفروق غير معنوية مع الشاهد (94.12%)، في حين كانت 56.86% عند 150 NaCl mM لوحده. وفي المقابل، كانت التراكيز الأقل من الإضافات ضارة. عند التركيز 200 NaCl mM، خففت جميع الإضافات الأثر الضار لـ NaCl، وكانت التراكيز الأقل أفضل من الأعلى، لكن التأثير كان غير معنوي.

تبين من قدرة البذور على الإنبات ومتابعة النمو بشكل طبيعي بعد زوال الإجهاد، أن التثبيط الملحي عند التركيز (150 NaCl mM) كان أسموزياً بشكل أساسي، مع وجود سمية أيونية جزئية

انخفضت مع زيادة التركيز الملحي مقابل زيادة التأثير الأسموزي؛ وأنه ربما أسهمت إضافات الكالسيوم والبوتاسيوم في زيادة هذه القدرة.

الكلمات المفتاحية: إجهاد ملحي، كلوريد الصوديوم، كلوريد البوتاسيوم، كلوريد الكالسيوم، السبانخ، هجين Comoros.

The Role of Two Elements Calcium and Potassium in Improving Spinach Seed Germination and Seedling Growth under Salt Stress Conditions

Dr. Thanaa Doubbo

Department of Horticulture- Faculty of Agricultural Engineering - Homs University

Abstract:

A laboratory experiment was conducted to evaluate the role of adding calcium chloride or potassium chloride on mitigating the adverse effects of sodium chloride (NaCl) salinity stress on spinach (hybrid 'Comoros') seed germination and seedling growth. The experiment followed a completely randomized design, utilizing NaCl concentrations of 150, 200, and 250 mM, either alone or supplemented with $CaCl_2$ (1 and 2.5 mM) or KCl (2 and 5 mM); distilled water served as the control. The parameters examined included germination energy (GE), germination percentage (GP), germination index (GI), root length, and seedling vigor index, in addition to an assessment of the treated seeds' ability to regain their germination capacity after the stress was removed.

The results showed that salt stress significantly reduced all germination and root growth indices at 150 mM NaCl; germination was virtually abolished at 200 and 250 mM, accompanied by severe inhibition of root growth. The effects of calcium chloride and potassium chloride additions depended on their concentrations, the NaCl concentration, and the specific parameter being studied. At 150 mM NaCl, the addition of 5 mM K+ resulted in only a slight improvement in Germination Energy (GE), whereas Germination Percentage (GP) improved with the addition of 2.5 mM CaCl2 (70.59%) and 5 mM KCl (62.75%), rendering the differences statistically insignificant compared to the control (94.12%), whereas it was 56.86% at 150 mM NaCl alone. Conversely, lower concentrations of the additives were harmful. At 200 mM NaCl, all additives mitigated the adverse effects of

NaCl; lower concentrations performed better than higher ones, though the effect was not statistically significant.

The seeds' capacity to germinate and resume normal growth after the stress was removed indicates that salt inhibition at 150 mM NaCl was primarily osmotic—with ionic toxicity playing a partial role that diminished as salt concentration increased relative to the intensifying osmotic effect—and suggests that calcium and potassium supplementation may have contributed to enhancing this capacity.

Keywords: Salt stress, sodium chloride, potassium chloride, calcium chloride, spinach, Comoros hybrid.

المقدمة والدراسة المرجعية:

يُعد نبات السبانخ (*Spinacia oleracea*) أحد أهم الخضار الورقية التي تنتمي إلى الفصيلة Amaranthaceae، وله قيمة غذائية وصحية عالية نظراً لانخفاض سعراته الحرارية، ومحتواه العالي من المواد المغذية كالفيتامينات A وK وC، وحمض الفوليك، والفلافونويدات، وعناصر معدنية كالحديد والمغنزيوم والبوتاسيوم، ومضادات الأكسدة مثل اللوتين والزياكسانثين وغيرها [11، 52].

بلغ الإنتاج العالمي للسبانخ نحو 31 مليون طن عام 2024، نتج عن مساحة محصودة قُدّرت بحوالي 936 ألف هكتارٍ [22]. يُزرع السبانخ بنثر البذور مباشرة في التربة. يتأثر إنباته ونمو بادراته بالإجهاد الملحي كغيره من الأنواع النباتية مثل الملفوفيات والبصل والكوسا [18، 19، 54].

أظهرت بعض الأبحاث أن بذور السبانخ أكثر تحملاً للملوحة مقارنة بأنواع أخرى. فقد وجد [70] أن بذور السبانخ كانت الأكثر قدرة على الإنبات (150% مقارنة بالشاهد) عند 150 mM NaCl تلتها بذور الخس، ثم البطيخ الأصفر فالفليفلة، فالبروكلي، فالشوندر الأحمر وأخيراً البندورة التي لم تنبت عند هذا التركيز. كما لم يتأثر الوزن الرطب لبادرات السبانخ معنوياً، بينما انخفض معدل التنفس الذي ازداد لدى الأنواع الأخرى.

كما أظهرت أبحاث أخرى أنّ مدى استجابة بذور السبانخ للإنبات تحت تأثير الإجهاد الملحي يختلف تبعاً للصنف ومستوى الملوحة فقد بيّن [64] في دراسته عن تأثير تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم (0، 50، 100، 150، 200 mM) في أربعة أصناف من السبانخ (Green Cold، Larisa، Mikado، Ohio) أن الانخفاض في نسبة الإنبات لم يكن معنوياً عند التركيز 50 mM،

لكن بدءاً من التركيز 100 mM ظهرت عموماً حساسية الأصناف للملوحة وكان بعضها حساساً أكثر من بعضها الآخر وبفروق معنوية، إذ بلغت نسب إنبات الأصناف على الترتيب (83.50، 73.50، 64.50، 80.50%)، في حين كانت في الشاهد على الترتيب (99.50، 97، 97، 98%). سُجّلت أدنى القيم عند التركيز 200 mM إذ بلغت على الترتيب (64.50، 55.00، 51.00، 60.00%). كذلك لم يكن انخفاض طاقة الإنبات عند 50 mM معنوياً. أدت زيادة تركيز الملح بعد 50 mM في جميع الأصناف إلى انخفاضات كبيرة في طاقة الإنبات، ومؤشر الإنبات، ومعدل الإنبات النسبي، وزيادة زمن الإنبات وبفروق معنوية بين أغلب الأصناف والتراكيز. وقد سجل الصنف Green Cold أفضل القيم مقارنة بالأصناف الأخرى فبلغت عنده قيم تلك المؤشرات في الشاهد على الترتيب (99.50%، 38.01، 1.00، 2.79 يوماً) مقابل (49.50، 10.60، 0.64، 6.87 يوماً) عند 200 mM من NaCl.

كما وجد [65] أن نسبة إنبات صنفي السبانخ (Yaman وMatador) انخفضت معنوياً من 92% و62% على الترتيب في الشاهد إلى 72% و58% عند التركيز 100 mM NaCl. وقد ازداد الانخفاض بازدياد التركيز الملحي حتى بلغت نسبة الإنبات على الترتيب 68% و20% عند التركيز 300 mM، مع كون الفروق غير معنوية بين التركيزين 100 و200 mM، أو بين 200 و300 mM، لكنها معنوية بين 100 و300 mM في حالة الصنف Yaman، وكونها معنوية بين جميع التراكيز في حالة الصنف Matador. لم يتأثر معنوياً الوزن الرطب أو الجاف للنمو الخضري أو الجذري لبادرة الصنفين، باستثناء الوزن الجاف لجذر الصنف Matador الذي سجل 0.012 غ في الشاهد، وانخفض معنوياً إلى (0.007، 0.004، 0.003 غ) للتراكيز الملحية 100 و200 و300 mM على الترتيب لكن الفروق بين التراكيز لم تكن معنوية. كان قصر الجذر والسويقة في الصنف Yaman معنوياً فقط عند 300 mM إذ بلغ 31.74 مم و30.46 مم مقابل 44.40 مم و54.19 مم في الشاهد على الترتيب، في حين كان معنوياً عند جميع التراكيز لدى الصنف Matador، وبلغت أدنى قيمة 32.84 مم و51.56 مم عند التركيز 300 mM مقابل 71.60 مم و104.94 مم في الشاهد على الترتيب.

أظهرت نتائج [37] أن نسبة إنبات السبانخ وسرعته، وطول السويقة والجذير، وأوزان البادرات الرطبة والجافة كانت أعلى في الشاهد، وأن معدلات الإنبات انخفضت بشكل ملحوظ عند 150 mM NaCl، وخَلُصت نتائجه إلى عدم ملاءمة السبانخ للزراعة في التربة المالحة. كما بينت نتائج [47]

حدوث انخفاض تدريجي في نسبة إنبات بذور السبانخ "الصنف All Green" من 50% إلى 14% عند زيادة الناقلية الكهربائية من 4 إلى 10 dS/m، في حين كانت النسبة في الشاهد 59.6%.

بينت إحصائيات الفاو لعام 2024 م أن ما يزيد عن 1381 مليون هكتار، أي ما يعادل 10.7% من مساحة الأراضي العالمية، هي أراضٍ متملحة تنتشر في المناطق الجافة والساحلية [23]. وينتج تملح الترب عن أسباب طبيعية مثل تغير المناخ، وأخرى بشرية كممارسات الري الخاطئة، وإن تزايد الجفاف والطلب على المياه يفاقمان المشكلة [23].

يتسبب الإجهاد الملحي في بطء إنبات البذور وإعاقة نمو البادرات عبر آليات متعددة تشمل الإجهاد الأسموزي الذي يقلل قدرة البذرة على امتصاص الماء [7، 53]، والإجهاد الأيوني الذي ينتج عن تراكم أيونات الصوديوم والكلوريد السامة [36]، وما ينتج عنهما من إحداث خلل أيوني، وإجهاد تأكسدي، وخلل في التوازن الهرموني فتنخفض مستويات الجبرلينات (GAs) وتزداد مستويات حمض الأبسيسيك (ABA). ينتج عن ذلك تغييرات في الآليات الفيزيولوجية والبيوكيميائية ضمن الأنسجة النباتية وكذلك تغيير نفاذية الأغشية [42، 45، 66].

يُعد عنصرا الكالسيوم والبوتاسيوم من العناصر المعدنية الكبرى المغذية والضرورية، ويؤديان وظائف عديدة في النبات [43، 53]؛ فقد أظهرا تأثيراً فعّالاً في زيادة تحمل بعض الأنواع النباتية للملوحة في مراحل النمو المختلفة، ومنها مرحلة الإنبات ونمو البادرات. قامت أغلب الأبحاث التي تناولت دور هذين العنصرين في تحسين تحمل الإجهاد الملحي بدراسة تأثير نقع البذور ببعض أملاح الكالسيوم أو البوتاسيوم (كأملاح الكلوريد) في تعزيز تحملها للإجهاد الملحي [14، 31، 44، 48]. في حين درس عدد قليل من الأبحاث تأثير إضافة كلوريد الكالسيوم إلى وسط إنبات البذور بوجود كلوريد الصوديوم [39، 45، 71]، أما الأبحاث التي درست تأثير إضافة كلوريد البوتاسيوم فهي محدودة جداً، وركزت على دراسة تأثير الإجهاد الملحي الناتج عن كلوريد البوتاسيوم بمفرده [24، 62].

أشارت عدة أبحاث إلى أنه يمكن بإضافة كلوريد الكالسيوم إلى وسط إنبات البذور المعرضة لإجهاد ملحي التخفيف بفعالية من الآثار السلبية للإجهاد الملحي عبر تنظيم الخصائص المورفوفيزيولوجية والبيوكيميائية والجزيئية. فعند إضافة $CaCl_2$ إلى وسط إنبات بذور الفصة (*Medicago Sativa*) تحت تأثير الإجهاد الملحي لـ NaCl، ازداد معدل الإنبات، ومؤشر الحيوية،

وطول الجذر، وانخفض نشاط أنزيم البيروكسيداز، وبالتالي انخفض محتوى بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) ومالون ثنائي الألدهيد (MDA) ونشاط أنزيم الكاتالاز. كما تم تحفيز تعبير جينات تؤدي دوراً في تنظيم تراكم اللغنين وانتقال الإيثيلين وحمض الأبسيسيك وبيروكسيد الهيدروجين كآلية مقاومة للإجهاد الملحي [39]. أمّا لدى بذور الذرة البيضاء (*Sorghum bicolor*)، فعمل الكالسيوم المضاف إلى وسط الإنبات على عكس تأثير تأخير الإنبات الناجم عن NaCl وعزز نمو البادرات، كما خفض مستويات H_2O_2 ونسبة Na^+/K^+، كذلك ازداد مستوى التعبير عن الجين *vacuolar antiporter2* (*Na^+/H^+ exchanger*) الناقل المتبادل للصوديوم/الهيدروجين في الفجوة العصارية (NHX2)، وانخفض التعبير الجيني للأنزيمات المضادة للأكسدة (ascorbate peroxidase and catalase) وجينات الاستجابة للملوحة Salt Overlay Sensitive1(SOS1)، ووفّر حماية فعالة لطبقتي البشرة والخشب في الجذر من تأثير الإجهاد الملحي [45]. كما كان لإضافة كلوريد الكالسيوم تأثير إيجابي في البندورة في التركيز المنخفض (20 mM) لكل من كلوريد الكالسيوم وكلوريد الصوديوم، إذ حدثت زيادات معنوية في نسبة الإنبات، والوزن الطازج والجاف للبادرات، وطول البادرة، والمحتوى المائي، ونشاط أنزيم الكاتالاز [57]. كما وجد [71] أن $CaCl_2$ المضاف بتراكيز مناسبة يحسن بشكل ملحوظ إنبات بذور النبات العشبي (*Festuca arundinacea*) ونمو البادرات، ويسهم في حفظ نفاذية الأغشية وزيادة مستوى البوتاسيوم والكالسيوم.

وفي المقابل، خلَصت عدة أبحاث إلى وجود دور فعال للبوتاسيوم في تحمل الملوحة من خلال نقع البذور في KCl مثل بذور اللفت الزيتي (*Brassica napus*) إذ أدى ذلك إلى تخفيف الآثار الضارة للملوحة؛ فازدادت نسبة الإنبات وسرعته [5]. كما وجد [31] أن نقع بذور بعض النباتات من الفصيلة البقولية (الحمص والبازلاء والفاصولياء) في محلول كلوريد البوتاسيوم يؤدي إلى تحسن مؤشرات الإنبات (نسبة الإنبات ومتوسط زمن الإنبات)، ومؤشرات النمو (طول الجذير، وطول السويقة، والوزن الطازج للبادرة، والوزن الجاف للبادرة)، وحيوية البذور. وبين [27] أن الأثر الفعّال لمعاملة بذور الذرة البيضاء بـ KCl يعود إلى خفض محتوى MDA وتعزيز نشاط الأنزيمات مضادات الأكسدة (CAT، وPOD، وSOD) ومحتوى البرولين. وفي نباتات البندورة النامية في محلول مغذٍّ، وُجِد أن إضافة 2 mM من البوتاسيوم تخفف آثار كلوريد الصوديوم المضاف وتحسن مؤشرات النمو [7]. كما وُجِد أن الحفاظ على مستويات مرتفعة من البوتاسيوم ونسبة منخفضة بين الصوديوم والبوتاسيوم (Na^+/K^+) يرتبط بتحمل الملوحة [33، 40، 63].

هدف البحث:

نظراً لتفاقم مشكلة الملوحة في الأراضي الزراعية، وتاثيرها السلبي في الكثافة النباتية وتجانس الإنبات ونمو البادرات، وبما أن استجابة أصناف السبانخ للملوحة تختلف باختلاف التركيز والصنف، فقد هدف هذا البحث إلى:

1- دراسة تأثير مستويات متوسطة ومرتفعة من ملح كلوريد الصوديوم (150، 200، 250 mM) في بعض مؤشرات إنبات بذور هجين السبانخ Comoros والنمو الجذري للبادرات.
2- تحديد دور عنصري الكالسيوم والبوتاسيوم في تحفيز تحمل الهجين (Comoros) للإجهاد الملحي في مرحلة الإنبات ونمو البادرات؛ من خلال دراسة مؤشرات الإنبات (طاقة الإنبات، نسبة الإنبات، ومؤشر الإنبات)، إضافة إلى طول الجذر ومؤشر قوة البادرة، وقابلية البذور المعاملة على استعادة قدرتها على الإنبات بعد زوال الإجهاد.

مواد البحث وطرائقه:

المادة النباتية:

استخدمت بذور هجين السبانخ Comoros من إنتاج شركة مونسانتو (Monsanto) الهولندية؛ ويتصف هذا الهجين بتحمله لارتفاع درجات الحرارة، وهو مخصص للزراعة الصيفية والشتوية على حد سواء. النبات قائم والأوراق خضراء داكنة ذات عنق طويل، ويتميز بمقاومته لسلالات عديدة من البياض الزغبي.
/http://www.facebook.com/share/1N3dXBZUCX

مكان تنفيذ البحث:

نفذ البحث في مخبر فيزيولوجيا النبات، كلية الهندسة الزراعية، جامعة حمص.

معاملات التجربة:

تضمنت معاملات التجربة استخدام محاليل لـ NaCl، $CaCl_2$، KCl منفردة أو محاليل NaCl مضافاً إليها أحد الملحين الآخرين، بحيث كانت التراكيز النهائية للأملاح في الوسط (150، 200، 250 mM NaCl)، (1، 2.5 mM $CaCl_2$)، (2، 5 mM KCl). حُضّرت المحاليل باستخدام الأملاح النقية المخبرية والماء المقطر الذي استخدم شاهداً. مع التنويه إلى أنه رُوعي إضافة تركيز موحد من أيونات الكلوريد يعادل 2 mM عند إضافة 1 mM من $CaCl_2$ أو 2 mM من KCl، و 5 mM من أيونات الكلوريد (Cl^-) عند إضافة 2.5 mM من $CaCl_2$ أو 5 mM من KCl، وذلك لمقارنة تأثير كاتيوني الكالسيوم (Ca^{2+}) والبوتاسيوم (K^+).

التجربة الأولى: تجربة إنبات البذور في الأوساط الملحية:

أُجريت عملية إنبات البذور في علب بلاستيكية (11.5 X 9.5 X 2.5 سم)؛ وضع في كل علبة 20 بذرة على محارم ورقية رُطّبت بالماء المقطر (شاهد) أو بأحد محاليل المعاملات. أُعيد ترطيب المحارم عند الضرورة، ووضِعت العلب في الظروف المخبرية في الظلام عند درجة حرارة (13± 2) °م. كررت كل معاملة ثلاث مرات، وعُدَّت البذور النابتة يومياً بدءاً من اليوم التالي للزراعة وفي الوقت نفسه تقريباً واستمر العد 12 يوماً، وأُعتبرت البذرة نابتة بمجرد بروز الجُذير من غلافها.

التجربة الثانية: تجربة استعادة قدرة البذور على الإنبات:

أخذت صور للبادرات النامية في نهاية التجربة الأولى، ثم نُقل كامل محتوى العلب (البذور غير النابتة، والبذور النابتة، والبادرات النامية) في المعاملات التي تضمنت NaCl بالتراكيز (150، 200، 250 mM) منفرداً أو مضافاً إليه كلوريد الكالسيوم أو كلوريد البوتاسيوم حصراً، إلى علب مماثلة تحوي محارم ورقية رُطّبت بالماء المقطر. استمرت التجربة الثانية ستة أيام، وفي نهايتها عُدّت البذور النابتة الجديدة، وأُخذت صورٌ للبادرات النامية.

المؤشرات المدروسة:

1- طاقة الإنبات (Germination Energy, GE) (%) [34]:

GE = (عدد البذور النابتة في اليوم الرابع/ العدد الكلي للبذور) X 100

2- نسبة الإنبات (Germination percentage, GP) (%) [34]:

GP = (العدد الكلي للبذور النابتة /العدد الكلي للبذور) X 100

اعُتبِر العدد الكلي للبذور في التجربة الثانية هو عدد البذور التي لم تتمكن من الإنبات في التجربة الأولى.

3- مؤشر الإنبات (Germination Index, GI) [41]:

GI = مجموع (عدد البذور النابتة حديثاً في اليوم i / رقم اليوم i)

4- مؤشر قوة البادرة (Seedling Vigour Index, SVI). [2]:

استخدم في حساب مؤشر قوة البادرة في التجربة الأولى طول الجذر فقط؛ لأن البادرات النامية في الأوساط الملحية لم تعط نمواً واضحاً للسويقة، ورُمِز بـ SVI_R، أما في التجربة الثانية فحُسِب باستخدام كامل طول البادرة ورُمِز بـ SVI_L:

مؤشر قوة البادرة في التجربة الأولى: SVI_R = [نسبة الإنبات (%) X طول الجذر (سم)] X 100

مؤشر قوة البادرة في التجربة الثانية: SVI_L = [نسبة الإنبات (%) X الطول الكلي للبادرة (سم)] X 100

5- مؤشرات نمو البادرات: تم باستخدام برنامج ImageJ المتاح مجاناً على الرابط http://rsbweb.nih.gov/ij قياس المؤشرات التالية على أطول البادرات النامية بشكل طبيعي والتي صُوّرت في نهاية كل تجربة:

أ- طول الجذر الأولي للبادرة (سم). ب- طول السويقة الفلقية (سم). ج- الطول الكلي للبادرة (سم)

6- القياس الكمي لانخفاض قيمة الصفة المدروسة:

[(قيمة الصفة في الشاهد – قيمة الصفة في المعاملة)/ قيمة الصفة في الشاهد] X 100

7- مؤشر التحمل للصفة (Tolerance indices, TI) [4، 35]:

TI= (متوسط قيمة الصفة في المعاملة/ متوسط قيمة الصفة في الشاهد) X 100

تصميم التجربة والتحليل الإحصائي:

اتُبع في التجربة التصميم العشوائي الكامل (CRD). تضمنت التجربة 20 معاملة، كررت كل معاملة ثلاث مرات، وتضمن كل مكرر 20 بذرة. حلّلتُ البيانات باستخدام تحليل التباين الثنائي (Tow-Way ANOVA)، وقورنت المتوسطات باستخدام اختبار Tukey عند مستوى معنوية $p \leq 0.05$، وذلك باستخدام البرنامج الإحصائي GenStat 12.

النتائج والمناقشة:

أولاً: تأثير عنصري الكالسيوم والبوتاسيوم في مؤشرات إنبات بذور هجين السبانخ Comoros والنمو الجذري للبادرة تحت ظروف الإجهاد الملحي:

1-1: طاقة الإنبات:

تعبر طاقة الإنبات (GE)؛ وهي النسبة المئوية للبذور التي نبتت خلال الأيام الأربعة الأولى من التجربة، عن سرعة الإنبات المبكر للبذور؛ أي قدرة البذرة على تشرب الماء بسرعة، ومدى حساسيتها للملوحة. سُجّلت فروق معنوية في طاقة الإنبات (GE) بين متوسطات تراكيز NaCl بغض النظر عن معاملة الإضافة، وسجّل متوسط الأوساط الخالية من كلوريد الصوديوم أعلى قيمة بفروق معنوية (19.608%)، في حين لم تختلف طاقة الإنبات معنوياً بين متوسطات معاملات الإضافة (الجدول 1).

سجلت بذور الشاهد (الماء المقطر) أعلى قيمة لـ (GE) بلغت 29.412%، وهي لم تختلف معنوياً عن قيم (GE) المنخفضة قليلاً في معاملات الكالسيوم $CaCl_2$ (1، 2.5 mM) أو البوتاسيوم KCl (2، 5 mM) المنفردة التي سجلت على الترتيب (17.647، 19.608%) و(15.686، 15.686%) (الجدول 1). تشير هذه النتيجة إلى عدم ظهور دور للكالسيوم أو البوتاسيوم بالتراكيز المستخدمة في التبكير في الإنبات تحت الظروف العادية، بل ربما كان لهما دور سلبي في تأخير البدء بالإنبات، ربما بسبب قلة معدل امتصاص الماء الناتجة عن انخفاض جهد الماء في هذه الأوساط الملحية [53]، فتأخرت في الوصول إلى حالة الإماهة المطلوبة لتنشيط العمليات الحيوية الخلوية اللازمة للإنبات كالتنفس وتفعيل أنزيمات تحلل المدخرات الغذائية مثل ألفا أميلاز [8، 66]. ولعل حدوث الإنبات في هذه المعاملات ينفي وجود تأثير سمّي أيّوني لهذه الأملاح في إنبات البذور إنما قد تكون آلية التأثير أسموزية.

الجدول 1: تأثير عنصري الكالسيوم والبوتاسيوم في طاقة إنبات (GE%) بذور هجين السبانخ Comoros تحت ظروف الإجهاد الملحي.

معاملة الإضافة	(mM) NaCl				متوسط معاملة الإضافة
	0	150	200	250	
0	29.412 a	0.000 c	0.000 c	0.000 c	7.353 A
$CaCl_2$ mM 1	17.647 abc	0.000 c	0.000 c	0.000 c	4.412 A
$CaCl_2$ mM 2.5	19.608 ab	0.000 c	0.000 c	0.000 c	4.902 A
KCl mM 2	15.686 abc	0.000 c	1.961 c	0.000 c	4.412 A
KCl mM 5	15.686 abc	7.843 bc	0.000 c	0.000 c	5.882 A
متوسط تركيز NaCl	19.608 A	1.569 B	0.392 B	0.00 B	5.39
CV%	116.1				

تشير الأحرف المشتركة الصغيرة ضمن الجدول، أو الأحرف المشتركة الكبيرة ضمن الصف نفسه أو العمود نفسه إلى عدم وجود فروق معنوية وفقاً لاختبار Tukey عند ($p\leq0.05$).

أدى الإجهاد الملحي بـ NaCl (150، 200، 250 mM) إلى عدم حدوث إنبات في الأيام الأربعة الأولى من بدء التجربة (GE: 0.000%). أي أن بذور السبانخ حساسة جداً لتراكيز NaCl المتوسطة والمرتفعة في المراحل المبكرة من الإنبات. قد يعود سبب ذلك إلى التأثير الأسموزي للإجهاد الملحي فيحدث بطء في تشرب البذور للماء وما يترتب عليه من بطء العمليات الاستقلابية خلال الأيام الأولى اللازمة للنمو، فيتأخر بدء الإنبات أو يتوقف بشكل كلي [42]. سجلت دراسات سابقة تأثيراً سلبياً للملوحة في طاقة إنبات السبانخ [64]. السبب الآخر في عدم حدوث إنبات في ظروف الإجهاد الملحي هو حدوث سمية أيونية ناتجة عن تراكم أيونات الصوديوم والكلوريد في الأنسجة الجنينية [42]. ولكن قد يحتاج حدوث هذا الضرر إلى وقت أطول من أربعة أيام لذلك قد يعود السبب إلى غلبة التأثير الأسموزي على السُمّية الأيونية في المراحل المبكرة من الإنبات.

بقيت طاقة الإنبات معدومة في معاملتي الكالسيوم (1 أو 2.5 mM) تحت جميع المستويات الملحية (الجدول 1). ربما يعود ذلك إلى طبيعة الدور الفيزيولوجي لعنصر الكالسيوم [29]. الذي قد يحتاج إلى وقت أطول أو تركيز أعلى ليظهر، لاسيما في ظل وجود الإجهاد الأسموزي.

وفي المقابل، تحسنت طاقة الإنبات قليلاً في معاملتي البوتاسيوم 5 KCl mM عند 150 mM NaCl و2 KCl mM عند 200 NaCl mM، فبلغت القيم على الترتيب (7.843، 1.961%)

(الجدول 1). كانت الفروق معنوية بالمقارنة مع الشاهد، لكنها لم تختلف معنوياً عن معاملات البوتاسيوم المقابلة من دون ملوحة أو عن معاملة الملوحة المقابلة المنفردة. ويدل حدوث الإنبات في هذه المعاملات على أن البذور قد وصلت إلى الحد الأدنى من الإماهة المطلوبة لبدء الإنبات. وربما يعود ذلك إلى أن أيونات البوتاسيوم انتقلت إلى البذرة، وأسهمت في خفض الجهد الأسموزي الداخلي وساعدت الخلايا الجنينية على الحفاظ على ضغط امتلاء أعلى، مما حفز التدفق السريع للماء اللازم لترطيب أنسجة البذرة وبدء تنشيط العمليات الاستقلابية فيها. كما قد تكون حصلت منافسة مع أيونات الصوديوم على القنوات الأيونية، مما قلل دخولها بتراكيز سامة [21]، وبما أن التحسن محدود، فإن تأثير البوتاسيوم يعد ضعيفاً مقارنة بحدة الإجهاد الأسموزي، ولم يكن كافياً لتجاوز تأثير الملوحة العالية بفروق معنوية.

1-2: نسبة الإنبات:

يبين الجدول (2) حدوث انخفاض معنوي كبير مع كل زيادة في تركيز NaCl بغض النظر عن معاملة الإضافة. وفي المقابل، لم تُسجّل فروق معنوية بين متوسطات معاملات الإضافة بغض النظر عن تركيز NaCl.

اختلف تأثير المعاملات المشتركة في نسبة الإنبات بالمقارنة مع الشاهد باختلاف نوع الإضافة والوسط الملحي (الجدول 2). لم تظهر فروق معنوية في نسبة الإنبات ضمن الظروف العادية بين الشاهد (94.12%) ومعاملات إضافة الكالسيوم (1، 2.5 $CaCl_2$ mM) التي بلغت (86.27، 86.27%) أو البوتاسيوم (2، 5 KCl mM) التي بلغت (96.08، 80.39%) على الترتيب. ربما يعود الاختلاف في القيم عن الشاهد إلى أثر أسموزي خفيف للوسط الخارجي [62]، ماعدا في المعاملة 2 KCl mM، ربما ساهمت أيونات البوتاسيوم المنتقلة إلى أنسجة الجنين في تعديل أسموزي داخل البذرة حسن قليلاً معدل تشرب الماء [32] (الجدول 2).

أدى الإجهاد الملحي الناجم عن NaCl إلى انخفاض معنوي في نسبة الإنبات إذ بلغت 56.86% عند التركيز 150 mM من دون إضافة (39.59% من نسبة إنبات الشاهد) بمؤشر تحمل 60.41%، وكادت تنعدم (1.96%) عند التركيزين 200 و250 mM من دون إضافة، بمؤشر تحمل 2.08% (الجدول 2). يتفق انخفاض نسبة إنبات بذور السبانخ بتأثير الإجهاد الملحي مع نتائج دراسات أخرى [37، 47، 64، 65].

الجدول 2: تأثير عنصري الكالسيوم والبوتاسيوم في نسبة إنبات (GP%) بذور هجين السبانخ Comoros تحت ظروف الإجهاد الملحي.

معاملة الإضافة	(mM) NaCl				متوسط معاملة الإضافة
	0	150	200	250	
0	94.12 a	56.86 bc	1.96 e	1.96 e	38.73 A
CaCl2 mM 1	86.27 ab	19.61 de	9.80 e	0.000 e	28.92 A
CaCl2 mM 2.5	86.27 ab	70.59 abc	7.84 e	0.000 e	41.18 A
KCl mM 2	96.08 a	49.02 cd	17.65 de	3.92 e	41.67 A
KCl mM 5	80.39 abc	62.75 abc	11.76 e	0.000 e	38.73 A
متوسط تركيز NaCl	88.63 A	51.76 B	9.80 C	1.18 C	37.8
CV%	31.0				

تشير الأحرف المشتركة الصغيرة ضمن الجدول، أو الأحرف المشتركة الكبيرة ضمن الصف نفسه أو العمود نفسه إلى عدم وجود فروق معنوية وفقاً لاختبار Tukey عند ($p\leq0.05$).

أدت إضافة عنصري الـ (Ca^{2+}) و (K^{+}) إلى الأوساط الملحية لـ NaCl إلى نتائج غير مستمرة، اختلفت باختلاف تركيز NaCl، وتركيز العنصر ضمن المستوى الملحي الواحد (الجدول 2). فقد حدث انخفاض إضافي معنوي في نسبة الإنبات حتى 19.61% في الوسط الملحي 150 mM NaCl الذي أضيف إليه كلوريد الكالسيوم بالتركيز 1 mM (انخفاض معنوي 65.51% مقارنة بـ 150 mM)، وبذلك انخفض مؤشر التحمل نسبة إلى الشاهد إلى 20.8%. ربما يعود ذلك إلى أن أيونات الكلوريد المنطلقة من $CaCl_2$ المضاف إلى الوسط زادت المجموع الكلي للكلوريد السام في وسط الإنبات، مما ضاعف الإجهاد، إذ أخذت البذرة المزيد من أيونات الكلوريد فنتجت سمية أيونية كلوريدية داخل أنسجة جنين البذرة كانت أشد تأثيراً من تأثير NaCl بمفرده. سجلت بعض الدراسات زيادة في زيادة تركيز أيونات Cl^{-} في الأنسجة النباتية مع زيادة الملوحة وكلوريد الكالسيوم أكثر بكثير من زيادة الصوديوم [1]. وربما كانت أيونات الكالسيوم دون عتبة التركيز اللازم لإظهار دورها الفيزيولوجي خاصة مع منافسة أيونات الصوديوم لها. أما عند إضافة $CaCl_2$ 2.5 mM ازدادت نسبة الإنبات إلى 70.59% بنسبة زيادة غير معنوية 24.15% بالمقارنة مع 150 mM NaCl، لتصبح من دون فروق معنوية مع الشاهد (أقل بـ 25% من الشاهد)، كما تحسن مؤشر التحمل فأصبح 75%. هذا التحسن في نسبة الإنبات كان معنوياً مقارنة بمعاملة الإضافة 1 mM $CaCl_2$،

ربما يعود ذلك إلى أن هذا التركيز سمح للكالسيوم بتأدية دوره الفيزيولوجي والتخفيف من أثر الإجهاد الملحي ضمن أنسجة الجنين. ينسجم ذلك مع تأثير كلوريد الكالسيوم في تحسين نسبة إنبات بذور الأرابيدوبسيس بوجود NaCl [13]. كما ينسجم مع نتائج [45] التي أشارت إلى أن إضافة كلوريد الكالسيوم بالتركيز 5 mM كانت أكثر فعالية من التراكيز الأعلى في تحسين كفاءة إنبات الذرة البيضاء بوجود الإجهاد الملحي.

حدث أيضاً انخفاض إضافي طفيف في نسبة الإنبات في المعاملة (2 mM KCl + 150 mM NaCl)، بنسبة 13.79% مقارنة بمعاملة كلوريد الصوديوم المنفردة لتصل نسبة الإنبات إلى 49.02%، كما انخفض مؤشر التحمل إلى 52.08%. إلّا أن نسبة الإنبات كانت أعلى قليلاً من معاملة الإضافة 1 mM $CaCl_2$. وباعتبار أنه استخدم الكمية الدقيقة نفسها من أيونات الكلوريد في معاملات الإضافة (1 mM $CaCl_2$ و2 mM KCl) و (2.5 mM $CaCl_2$ و5 mM KCl) فإن النتائج تشير إلى أن التحسن الحاصل في نسبة الإنبات (49.02%) لدى إضافة 2 mM KCl إلى الوسط الملحي 150 mM NaCl، بما يعادل 108% بالمقارنة مع نسبة الإنبات لدى المعاملة (1 mM $CaCl_2$ + 150 mM NaCl)، ربما يعود إلى وجود أيونات البوتاسيوم في الوسط. إذ أصبح التحسُّن أكثر وضوحاً (زيادة معنوية 220%) في التركيز الأعلى 5 mM KCl (نسبة الإنبات 62.75% بزيادة غير معنوية 10.36% عن الوسط الملحي الخالي من الإضافات 150 mM)، وعندها غابت الفروق المعنوية مع الشاهد (الماء المقطر)، وارتفع قليلاً مؤشر التحمل إلى 66.61% على الرغم من زيادة تركيز أيونات الكلوريد والمحافظة على تركيز أيونات الصوديوم مقارنة بالوسط الملحي المنفرد. مع ملاحظة أن إضافة 2.5 mM (Ca^{2+}) كان أكثر فعالية بنسبة 12.5% لكن من دون فروق معنوية مقارنة بإضافة 5 mM (K^{+}) إلى الوسط الملحي 150 mM (الجدول 2).

اختلفت استجابة إنبات البذور لإضافة الكالسيوم أو البوتاسيوم إلى الأوساط الملحية الأعلى تركيزاً باختلاف تركيز NaCl والتراكيز المضافة من $CaCl_2$ وKCl (الجدول 2). فعند التركيز 200 mM NaCl، حدث تحسن طفيف غير معنوي في نسبة الإنبات لدى إضافة 1 أو 2.5 mM $CaCl_2$؛ إذ ارتفعت النسبة على الترتيب إلى 9.80% و7.84%، بنسبة زيادة بلغت 4%، 3% مقارنة بالوسط الملحي المنفرد (1.96%). كما ارتفع مؤشر التحمل على الترتيب إلى 10.41% و8.33% مقابل 2.08% عند 200 mM من دون إضافة. كذلك تحسنت نسبة الإنبات بدرجة أكبر قليلاً لكن بفروق غير معنوية (بنسبة 8.01%، 4.95%) لدى إضافة 2 أو 5 mM KCl، فارتفعت نسبة الإنبات إلى 17.65% و11.76%، كما ارتفع مؤشر التحمل إلى 18%، 12%على الترتيب.

ربما سمحت الكاتيونات لبعض البذور الأكثر حيوية بالإنبات. كان تأثير كاتيون البوتاسيوم أكثر فعالية هنا من الكالسيوم، والتركيز الأقل للكاتيون نفسه أكثر فعالية من التركيز الأعلى. ربما يعكس ذلك اختلاف آلية التأثير باختلاف شدة الإجهاد الملحي (أسموزياً وأيونياً) مقارنة بتركيز NaCl الأقل 150 mM. وفي المقابل، لم يحدث إنبات عند إضافة (1، 2.5 $CaCl_2$ mM) أو 5 KCl mM إلى وسط NaCl تركيز 250 mM، في حين أدت إضافة 2 KCl mM إلى زيادة طفيفة على الإنبات فسجلت نسبة الإنبات 3.92% (بزيادة 1%) ومؤشر تحمل 4.16% (مقابل 2.08% عند 250 mM من دون إضافة) (الجدول 2). لعل ذلك يعود إلى شدة الإجهاد الأسموزي أو السمية الأيونية التي نتجت عن وجود المزيد من أيونات الكلوريد في الوسط.

يُعزى انخفاض نسبة الإنبات (GP) تحت تأثير الإجهاد الملحي (NaCl) إلى آليات أسموزية، وهرمونية، وسمية أيونية، وتأكسدية متداخلة.

إذ تؤدي زيادة تركيز NaCl في الوسط الخارجي إلى رفع الضغط الأسموزي وخفض جهد الماء، فتضعف قدرة البذرة على امتصاص الماء تبعاً لزيادة التركيز الملحي، مما يدخل البذرة في حالة جفاف فيزيولوجي تعيق وصولها إلى درجة الإماهة الضرورية لبدء العمليات الحيوية [42، 53]. وعليه، يحدث تثبيط لإنتاج هرمون الجبرلين (GA) ويُحفز إنتاج حمض الأبسيسيك (ABA)، مما ينجم عنه خلل وتراجع في نسبة GA/ABA [61]، ويؤدي نقص الجبرلينات إلى تثبيط نشاط أنزيم (ألفا– أميلاز) المسؤول عن تفكيك المدخرات الغذائية المعقدة إلى مواد بسيطة منتجة للطاقة اللازمة للانقسام والاستطالة الخلوية وظهور الجذير [38]، إضافة إلى ماسبق، يؤدي تراكم أيونات الصوديوم (Na^+)والكلوريد (Cl^-) في أنسجة الجنين إلى ارتفاع نسبة (Na^+/K^+) [68، 69] داخل الخلايا، فيختل توازن العناصر الغذائية، ويفقد الغشاء الخلوي وظائفه وتزداد نفاذيته نتيجة الاختلال الأيوني [16]، وكذلك تنخفض كفاءة الأنزيمات المضادة للأكسدة في إزالة أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) مثل بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) [28]. ويتسبب تراكم (ROS) في إحداث ضرر تأكسدي وأكسدة للدهون، والبروتينات، والأحماض النووية، مما يفضي في النهاية إلى موت الخلايا [9، 26].

لم يكن التركيز المنخفض من الكالسيوم كافياً لتحفيز استجابة دفاعية ضد الإجهاد الملحي، بينما أظهر التركيز الأعلى نسبياً تأثيراً محفزاً ومخففاً للإجهاد. قد يعود ذلك إلى أدوار الكالسيوم الفيزيولوجية ضمن الخلية. فهو يسهم في بناء بكتات الجدار الخلوي، ويرتبط بالفوسفوليبيدات في

الغشاء الخلوي ليحمي الغشاء من التلف وزيادة النفاذية الناجمين عن أيونات الصوديوم السامة. يمنع هذا الارتباط تسرب محتويات الخلايا، ويحسن امتصاص العناصر الغذائية عبر الغشاء البلازمي، ويدعم نقل السكريات، ويحافظ على استقرار العضيات الخلوية كالميتوكوندريا والنواة [39، 43، 46]. يساعد الكالسيوم المُضاف إلى وسط الإنبات تحت الإجهاد الملحي في تحسين إنبات البذور عبر ضبط التوازن الأيوني وتنظيم عمل مضادات الأكسدة [20، 45، 55]. كما يخفف الكالسيوم من الإجهاد الأيوني بارتباطه مع الغشاء البلازمي لغلق قنوات الكاتيونات غير الانتقائية التي تعد الممر الأساسي لدخول الصوديوم إلى الخلايا النباتية [17، 59].

كما يُفعّل الكالسيوم، عند زيادة تركيزه في السيتوبلازم، مسار الإشارات SOS (Salt overly sensitive) عبر تنشيط بروتين استشعار الكالسيوم SOS3، والذي يرتبط ببروتين كيناز يُدعى SOS2 وينشطه [30]. فيقوم البروتين SOS2 بفسفرة وزيادة نشاط البروتين SOS1، وهو ناقل تبادلي لأيونات الصوديوم والهيدروجين (Na^+/H^+ antiporter) يتموضع في الغشاء البلازمي، ليعمل على إخراج أيونات الصوديوم (Na^+) من السيتوبلازم إلى الفراغات خارج الخلية (Apoplast) [15، 58]. كما ينشط SOS2 النواقل التبادلية للصوديوم والهيدروجين في غشاء الفجوة العصارية (مثل ناقل NHX antiporter)، مما يسمح للنباتات بعزل أيونات الصوديوم السامة داخل الفجوة [50].

تتلقى إشارات الكالسيوم في الخلايا النباتية بروتينات "الكالمودولين" (CaM)، والتي تنظم عدداً كبيراً من مسارات الإشارات الخلوية عبر استهداف بروتينات متنوعة [51]. ويُنظم منشط النسخ المرتبط بالكالمودولين (CAMTA6) استجابة البذور للإجهاد الملحي أثناء الإنبات بزيادة التعبير عن جينات معينة يحمل بعضها عنصر الاستجابة لحمض الأبسيسك (ABRE: CACGTGTC) [13، 60]. وأكدت دراسة [13] أن الكالسيوم يحسن إنبات البذور تحت الإجهاد الملحي عبر تنظيم تعبير جين الناقل عالي الألفة للبوتاسيوم (HKT1;1) –الذي يشفر ناقلاً لأيونات البوتاسيوم والصوديوم– ليقتصر تعبيره على الجذير. كما يقلل التعبير الطبيعي للجين المنظّم له (PP2C49) في مرحلة ما بعد الترجمة، الذي يقتصر عادةً على الجذير ومرتبط بضعف تحمل الملوحة. مما يحسن احتفاظ البادرات بأيونات البوتاسيوم (K^+). وبينت دراسة [14] التأثير الإيجابي للكالسيوم في رفع مستوى التعبير الجيني لبروتينات التبادل الأيوني للصوديوم (NHX2 وNHX4 وSOS1) وناقلات البوتاسيوم (AKT1 وAKT2 وHKT1 وHAK1 وKUP)؛ مما يؤدي إلى

انخفاض محتوى الصوديوم وزيادة محتوى البوتاسيوم والكالسيوم ونسبة البوتاسيوم إلى الصوديوم (K^+/Na^+) في الأنسجة.

يُعزى دور البوتاسيوم في تخفيف التأثير السلبي للملوحة على الإنبات إلى تحفيز الامتصاص السريع للماء، وتنشيط الأنزيمات، والحفاظ على بنية الخلايا [21]، وتوسّط مسار SOS عبر المكونات (SOS1 وSOS2 وSOS3) للتحكم بامتصاص أيونات البوتاسيوم (K^+) وتحمل الملوحة [72]. كما يخفف السمية الناتجة عن الصوديوم (Na^+) بتقليل امتصاصه وخفض نسبةNa^+/K^+، مع رفع نسبة K^+/Na^+ ودعم التعديل الأسموزي [12]. إضافةً إلى ذلك، يسهم البوتاسيوم في تحفيز اصطناع الذائبات العضوية النشطة أسموزياً للحفاظ على ضغط الامتلاء، وفي تنظيم جهد الغشاء، والتوازن السيتوبلازمي، ودعم اصطناع البروتينات، وتحفيز الانقسام الخلوي [32، 43، 49، 53، 67]. يعمل كل ذلك على تهيئة الظروف الفيزيولوجية الملائمة لنمو الجنين وخروج الجذير من البذرة.

1-3: مؤشر الإنبات:

يستخدم مؤشر الإنبات (GI) للدلالة على مدى سرعة وحيوية البذور [41]، وكلما زادت قيمته يعني إنباتاً أسرع وأكثر تزامناً. بيّنت نتائج التحليل الإحصائي (الجدول 3) حدوث انخفاض معنوي في قيمة GI من 2.753 في الشاهد إلى (1.063، 0.206، 0.027) عند تراكيز NaCl (150، 200، 250 mM) على الترتيب. لم تكن الفروق معنوية بين متوسطات معاملات الإضافة (بغض النظر عن التركيز الملحي) والشاهد (1.048)، إذ تراوحت قيم (GI) بين 0.814 عند 1 mM $CaCl_2$، و1.108 عند 2 mM KCl (الجدول 3).

في المعاملات المشتركة، سجل الشاهد أعلى قيمة لـ (GI) بلغت 2.969. لم تؤثر إضافات الكالسيوم أو البوتاسيوم معنوياً في مؤشر الإنبات تحت الظروف العادية، وبلغت القيم (2.696، 2.680) لإضافات (1، 2.5 mM) $CaCl_2$، و(3.043، 2.379) لإضافات (2، 5 mM) KCl على الترتيب (الجدول 3).

الجدول 3: تأثير عنصري الكالسيوم والبوتاسيوم في مؤشر إنبات (GI) بذور هجين السبانخ Comoros تحت ظروف الإجهاد الملحي.

معاملة الإضافة	(mM) NaCl				متوسط معاملة الإضافة
	0	150	200	250	
0	2.969 a	1.120 bc	0.037 e	0.067 e	1.048 A
CaCl2 mM 1	2.696 a	0.361 cde	0.201 de	0.000 e	0.814 A
CaCl2 mM 2.5	2.680 a	1.431 b	0.161 de	0.000 e	1.068 A
KCl mM 2	3.043 a	0.937 bcd	0.382 cde	0.069 e	1.108 A
KCl mM 5	2.379 a	1.463 b	0.251 de	0.000 e	1.023 A
متوسط تركيز NaCl	2.753 A	1.063 B	0.206 C	0.027 C	1.012
CV%	**27.5**				

تشير الأحرف المشتركة الصغيرة ضمن الجدول، أو الأحرف المشتركة الكبيرة ضمن الصف نفسه أو العمود نفسه إلى عدم وجود فروق معنوية وفقاً لاختبار Tukey عند ($p\leq0.05$).

أدى NaCl بمفرده من دون إضافة إلى انخفاض معنوي في قيمة (GI) في جميع التراكيز مقارنة بالشاهد؛ إذ بلغت القيم (1.120، 0.037، 0.067) عند التراكيز (150، 200، 250 mM) على الترتيب، بنسب انخفاض بلغت (62.28، 98.75، 97.47%). ينسجم هذا مع [64]، ويدل على أن البذور كانت أكثر حيوية في الماء المقطر، فأنبتت أسرع وبنسبة أكبر، ثم انخفضت حيوية البذور وسرعة الإنبات بتأثير الإجهاد الملحي (الأسموزي والأيوني) عند التركيز 150 mM، وازداد الانخفاض في حيوية البذور ونسبة الإنبات في التراكيز الأعلى من كلوريد الصوديوم (الجدول 2) [53]. لم يظهر أثر معنوي لإضافات الكالسيوم والبوتاسيوم إلى الأوساط الملحية في مؤشر الإنبات مقارنة بالتركيز الملحي المقابل من دون إضافة، واعتمد التأثير على تركيز أيونات الصوديوم والكلوريد والكالسيوم والبوتاسيوم في الوسط. إذ كانت أقل قيمة لـ (GI) (0.361) في الوسط 150 NaCl mM عند إضافة 1 mM من $CaCl_2$، ثم ازدادت معنوياً إلى 1.431 مع زيادة التركيز المضاف إلى 2.5 mM $CaCl_2$، كما ارتفعت قيمة (GI) عند الإضافة 2 KCl mM إلى 0.937 ولكن من دون فروق معنوية، ثم أصبحت الزيادة معنوية عند الإضافة 5 KCl mM، إذ وصلت قيمة (GI) إلى 1.463، مما يشير إلى تأثير إيجابي لكاتيون الكالسيوم في زيادة سرعة الإنبات عند وصوله إلى التركيز المناسب لإحداث أثر فيزيولوجي ظاهر، وكذلك الأمر بالنسبة إلى كاتيون البوتاسيوم الذي أدى في التركيز الأعلى إلى تأثير إيجابي معنوي زاد سرعة الإنبات. ربما كانت

التراكيز المضافة لعنصري الـ Ca وK كافية فقط للتغلب على التأثير السلبي لأيونات الكلوريد المضافة، وأنه ربما كان يجب زيادة التركيز قليلاً للوصول إلى تأثير إيجابي معنوي بالمقارنة مع معاملة NaCl من دون إضافة.

أدت إضافات الكالسيوم والبوتاسيوم إلى الوسط NaCl mM 200 إلى تحسين قيم مؤشر الإنبات بشكل جزئي لكنها بقيت من دون فروق معنوية مقارنة بالوسط الملحي من دون إضافة (0.037)، وكانت قيم (GI) التي بلغت (0.201، 0.382) عند التراكيز الأقل من الإضافات (1 mM $CaCl_2$، 2 mM KCl) أكبر من قيمها (0.161، 0.251) عند التراكيز الأعلى (2.5 mM CaCl2، 5 mM KCl). كانت كل الزيادات من دون فروق معنوية مقارنة بالوسط الملحي المقابل من دون إضافة. لم يوجد فرق يذكر في قيمة (GI) في أوساط NaCl mM 250 التي حدث فيها إنبات، إذ بلغت القيم 0.067 في وسط NaCl mM 250 من دون إضافة مقابل 0.069 عند إضافة KCl mM 2 إلى الوسط (الجدول 3). لعل سبب عدم وجود تأثير معنوي في مؤشر الإنبات في أوساط NaCl 200 و250 mM هو اختلاف آلية تأثير الإجهاد الملحي فتُصبح أسموزية في التراكيز الأعلى أكثر منها سمية أيونية، وعندها ربما لم تتمكن الأيونات من الانتقال إلى داخل أنسجة البذرة لإحداث التأثير الأيوني الخاص بالعنصر. أو لأن تراكيز الكالسيوم والبوتاسيوم كانت دون العتبة الفيزيولوجية لمعالجة الضرر الأسموزي والأيوني للإجهاد الملحي لـ NaCl عند هذا التركيز بشكل واضح.

1-4: طول الجذر الأولي للبادرة:

كان التأثير العام للإجهاد الملحي الناجم عن NaCl في طول الجذر معنوياً، فقد أدى إلى انخفاض طول الجذر بشكل حاد مع زيادة التركيز الملحي بغض النظر عن معاملة الإضافة من 8.098 سم في الشاهد إلى (2.661، 0.693، 0.020 سم) عند التراكيز الملحية (150، 200، 250 mM) على الترتيب. وفي المقابل، لم يكن لمعاملات الإضافة بشكل عام تأثير معنوي في طول الجذر (الجدول 4).

ظهرت فروق معنوية للتأثير المشترك لمعاملات الإضافة والتراكيز الملحية (الجدول 4)، فقد سجل الشاهد (الماء المقطر) أكبر طول للجذر الأولي للبادرة (9.273 سم)، أمّا في الأوساط التي

احتوت المعاملة المنفردة لكلوريد الكالسيوم أو كلوريد البوتاسيوم فكان الجذر فيها أقصر من الشاهد بنسب بلغت 13.19% عند المعاملة 1 mM $CaCl_2$ (8.050 سم)، و18.11% عند المعاملة 2.5 mM $CaCl_2$ (7.594 سم)، و9.13% عند المعاملة 2 mM KCl (8.426 سم)، و22.91% عند المعاملة 5 mM KCl (7.1 49 سم)، وهذه كانت عندها فقط الفروق معنوية مقارنة بالشاهد. وقد بلغت مؤشرات تحمل الجذر على الترتيب (86.81، 81.89، 90.86، 77.09%) (الجدول 4). ربما يعود سبب قصر طول الجذر في الأوساط التي احتوت ملح كلوريد الكالسيوم أو البوتاسيوم إلى التأثير الأسموزي الخفيف للملح. أشارت بعض الدراسات إلى أن تأثير الملحين $CaCl_2$ وKCl يعتمد على التركيز، فقد يكون محفزاً للنمو في التراكيز المنخفضة ثم يصبح معيقاً للنمو في تراكيزه المرتفعة نظراً لحدوث تأثير أسموزي يؤثر سلباً في طول الجذر [24]. قد تختلف الاستجابة للملحين $CaCl_2$ وKCl باختلاف النوع النباتي والصنف والتركيز المستخدم [24، 62].

الجدول 4: تأثير عنصري الكالسيوم والبوتاسيوم في طول الجذر الأولي (سم) لبادرة هجين السبانخ Comoros تحت ظروف الإجهاد الملحي.

معاملة الإضافة	(mM) NaCl				متوسط معاملة الإضافة
	0	150	200	250	
0	9.273 a	3.028 c	0.247 e	0.033 e	3.154 a
CaCl2 mM 1	8.050 ab	1.025 de	0.870 de	0.000 e	2.486 a
CaCl2 mM 2.5	7.594 ab	3.019 c	0.435 e	0.000 e	2.762 a
KCl mM 2	8.426 ab	2.498 cd	0.921de	0.067 e	2.978 a
KCl mM 5	7.149 b	3.737 c	0.992 de	0.000 e	2.970 a
متوسط تركيز NaCl	8.098 a	2.661 b	0.693 c	0.020 d	2.872
CV%	22.1				

تشير الأحرف المشتركة الصغيرة ضمن الجدول، أو الأحرف المشتركة الكبيرة ضمن الصف نفسه أو العمود نفسه إلى عدم وجود فروق معنوية وفقاً لاختبار Tukey عند ($p\leq0.05$).

كان للإجهاد الملحي الناتج عن NaCl بمفرده تأثير مثبط لنمو الجذر فقد بلغت نسب الانخفاض في طول الجذر لتراكيز كلوريد الصوديوم (150، 200، 250 mM) على الترتيب (67.35، 97.34، 99.64%) بفروق معنوية مقارنة بالشاهد (9.273 سم)، وبمؤشرات تحمل للجذر منخفضةً جداً بلغت على الترتيب (32.65، 2.66، 0.72%) (الجدول 4). ينسجم ذلك مع [37، 65]. يعود

التأثير السلبي للملوحة في تثبيط النمو الجذري إلى الإجهاد الأسموزي الذي يعيق عملية امتصاص الجذور للماء، التي تزداد حدتها مع زيادة سالبية الجهد الأسموزي للوسط الخارجي [53]. كذلك يحدث تراكم لأيونات الكلوريد والصوديوم السامة ضمن أنسجة الجذر الذي يصبح على تماس مباشر مع المحلول الملحي [36]، وانخفاض نسب الكالسيوم والبوتاسيوم إلى الصوديوم، فيحدث سمية أيونية، وإجهاد تأكسدي وما يتبعها من تلف الأغشية [6]، وإعاقة بعض المسارات الاستقلابية والنشاط الأنزيمي، فيعيق هدم المدخرات الغذائية المعقدة إلى بسيطة لتأمين المواد اللازمة للنمو [38]، مما يعيق عملية الانقسام الخلوي في القمة النامية [53]. كما تتضرر عملية الانقسام الخلوي بزيادة عدد النويات وحدوث تشوهات صبغية وتغيرات نووية وجسور كروماتينية [3]. وتقل استطالة الخلايا نتيجة انخفاض ضغط امتلاء الخلايا فيضعف نمو الجذر [53] . يلاحظ أن تأثر النمو الجذري كان أكثر حدة من نسبة الإنبات، ربما يعود ذلك إلى أن الجذور تصبح على تماس مباشر مع المحلول الملحي وتصبح آلية التأثير مختلفة عن مرحلة الإنبات.

أدت جميع الإضافات إلى وسط NaCl (150 mM) إلى تثبيط إضافي في نمو الجذر بالمقارنة مع نمو الجذر في الوسط الملحي المقابل من دون إضافة (3.028 سم)، باستثناء الإضافة 5 mM KCl إذ أدت إلى زيادة طفيفة غير معنوية في طول الجذر، وقد بلغت أطوال الجذر (1.025، 3.019، 2.498، 3.737 سم) للإضافات الآتية على الترتيب (1 mM CaCl2، 2.5 mM CaCl2، 2 mM KCl، 5 mM KCl)، وبلغت مؤشرات تحمل الجذر نسبة إلى طول الجذر عند وسط 150 mM من دون إضافة على الترتيب (33.85، 99.70، 82.50، 123.41%). كان التأثير السلبي معنوياً عند الإضافة 1 mM $CaCl_2$ فقط. ويُلاحظ أن أطوال الجذر كانت أقل عند التركيز الأقل من العنصر المضاف (الجدول 4)، ولعل ذلك يعود إلى تأثير أسموزي زائد وسمية أيونية إضافية ناتجة عن إضافة المزيد من أيونات الكلوريد إلى الوسط الملحي NaCl، فحث ذلك إجهاداً أسموزياً على الجذور النامية في هذا الوسط أشد قليلاً من الوسط الملحي بمفرده، كما تراكم المزيد من أيونات الكلوريد السامة في أنسجة الجذر بالإضافة إلى أيونات الصوديوم. يلاحظ في التركيز الأعلى للعنصر نفسه تحسن طول الجذر قليلاً، حتى أن التحسن كان معنوياً عند الإضافة 2.5 mM (Ca^{2+}) مقارنة بالإضافة 1 mM (Ca^{2+})، لعل ذلك يعود لبدء تأثير فيزيولوجي فعّال لكاتيون الكالسيوم في التخفيف من التأثير التآزري السام لأيونات الصوديوم والكلوريد التراكمية في

الوسط [39، 45، 60]، لكنه بقي دون تأثير إيجابي معنوي مقارنة بالتركيز 150 mM NaCl من دون إضافة. يتفق وجود تأثير إيجابي للكالسيوم في تخفيف أثر الإجهاد الملحي NaCl مع بعض الدراسات وإن كانت الاستجابة تختلف باختلاف التراكيز المضافة وتركيز NaCl في الوسط [39، 45].

يشير طول الجذر المسجل في المعاملة التي تضمنت إضافة 2 mM (K^+) إلى احتمال بدء تأثير فيزيولوجي للبوتاسيوم [12، 32، 43، 67] في التغلب على تأثير أيونات الصوديوم والكلور التراكمي مقارنة بعدم وجود تأثير إيجابي أو ربما تأثير سلبي للتركيز 1 mM (Ca^{2+})، قد يؤيد هذه الفرضية استمرار التأثير الإيجابي للبوتاسيوم في التركيز الأعلى 5 mM KCl حتى أنه أصبح بفروق معنوية مقارنة بـ 1 mM (Ca^{2+}). وأن طول الجذر أصبح أطول قليلاً من الشاهد الملحي (150 mM من دون إضافة) عند الإضافة 5 mM KCl (لكن من دون فروق معنوية). قابل ذلك تحسن طفيف في مؤشر تحمل الجذر نسبة إلى الشاهد إذ بلغ 40.30% (الجدول 4). الجدير بالذكر أن الملاحظة نفسها سُجلت لتأثير الإضافات في نسبة الإنبات عند التركيز الأقل من العنصرين، إلا أنه هنا في حالة طول الجذر بقي تأثير البوتاسيوم أكبر من تأثير الكالسيوم كما هو الحال في التركيز الأقل. بيّنت دراسات أخرى اختلاف تأثير المعاملة بالبوتاسيوم في طول الجذر باختلاف تركيز المعاملة وتركيز NaCl في الوسط [56].

أدت جميع معاملات الإضافة في الوسط الملحي لـ NaCl تركيز 200 mM إلى زيادة طفيفة في طول الجذر، إلا أن الفروق لم تكن معنوية، وبلغ طول الجذر في معاملات الإضافة على الترتيب (0.870، 0.435، 0.921، 0.992 سم) مقابل 0.247 سم عند الشاهد الملحي 200 mM NaCl (الجدول 4). ربما تعود عدم قدرة التراكيز المضافة من الكالسيوم والبوتاسيوم على إحداث تأثير إيجابي معنوي عند التركيز المرتفع من NaCl إلى زيادة الضغط الأسموزي الخارجي الذي قلل جداً من إمكانية امتصاص الماء، فلم ينتقل العنصران إلى داخل أنسجة الجذر لإحداث الأثر الفيزيولوجي المرغوب [39، 45، 60، 12، 67].

في حالة الوسط الملحي 250 mM، كانت نسبة الإنبات منخفضة جداً، والبذور التي نبتت كان نمو جذرها مقيد (0.033 سم) بظروف زيادة الضغط الأسموزي الخارجي، ولم يكن لمعاملة إضافة 2 mM KCl إلى الوسط الملحي تأثير معنوي في زيادة طول الجذر (0.067 سم) (الجدول 4).

1-5: مؤشر قوة البادرة:

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي أن التأثير العام للإجهاد الملحي بغض النظر عن المعاملة في خفض مؤشر قوة البادرة (SVI_R) كان معنوياً. فقد انخفض مؤشر قوة البادرة بشكل كبير من 724.3 في الشاهد إلى (159.9، 10.4، 0.2) عند تراكيز NaCl (150، 200، 150 mM) على الترتيب. في حين لم تظهر فروق معنوية بين متوسطات معاملات الإضافة في قيم SVI_R (الجدول 5).

أدت المعاملات المشتركة إلى فروق معنوية في مؤشر قوة البادرة بالمقارنة مع الشاهد (الجدول 5). انخفضت قيم مؤشر قوة البادرة للمعاملات المنفردة لكلوريد الكالسيوم والبوتاسيوم، وكانت الفروق غير معنوية باستثناء المعاملة KCl mM 5 (580.5) إذ كانت أقل معنوياً من الشاهد (876.6) بنسبة 33.78%. يتوافق ذلك مع انخفاض نسبة الإنبات وأطوال الجذور في هذه المعاملات، وربما يعكس ذلك التأثير السلبي لزيادة الضغط الأسموزي الخارجي في تقليل قدرة البذور والجذور على الحصول على الماء اللازم لتنشيط العمليات الحيوية المؤدية للإنبات ونمو الجذر (الجدولان 2 و4).

سجلت معاملات NaCl من دون إضافة (الجدول 5) انخفاضاً حاداً في مؤشر قوة البادرة فبلغ (176.6، 1.5، 0.2) بنسب انخفاض بلغت (79.85، 99.83، 99.98%) لتراكيز NaCl (150، 200، 150 mM) على الترتيب. سُجّل تأثير مشابه للإجهاد الملحي في تقليل قوة البادرة عند أنواع نباتية أخرى [19]. أدت إضافة أملاح الكالسيوم أو البوتاسيوم إلى الوسط الملحي 150 NaCl mM إلى تأثيرات اختلفت باختلاف العنصر والتركيز المضاف، وكانت جميعها غير معنوية مقارنة فيما بينها وبالشاهد الملحي. فقد انخفض مؤشر قوة البادرة بشكل حاد مقارنة بالوسط الملحي المقابل من دون إضافة حتى 20.4 (انخاض 88.85%) عند إضافة 1 mM $CaCl_2$، وانخفض إلى 146.8 (انخفاض 16.87%) عند إضافة 2 mM KCl، في حين ارتفع إلى 216.4 (زيادة 22.54%) عند إضافة 2.5 mM $CaCl_2$، وإلى 239.2 (زيادة 35.45%) عند إضافة 5 mM KCl. يتوافق ذلك مع استجابة نسبة الإنبات وطول الجذور عند هذه الإضافات (الجدولان 2 و4). ربما يعكس ذلك وصول تركيز Ca^{2+} وK^+ إلى العتبة الفيزيولوجية اللازمة لبدء حدوث التأثير الفيزيولوجي المرغوب في تخفيف أثر الإجهاد الملحي.

الجدول 5: تأثير عنصري الكالسيوم والبوتاسيوم في مؤشر قوة بادرة هجين السبانخ Comoros (SVI_R) تحت ظروف الإجهاد الملحي.

متوسط معاملة الإضافة	(mM) NaCl				معاملة الإضافة
	250	200	150	0	
263.7 a	0.2 c	1.5 c	176.6 c	876.6 a	**0**
181.4 a	0.0 c	9.3 c	20.4 c	696.0 ab	**CaCl2 mM 1**
220.0 a	0.0 c	5.1 c	216.4 c	658.5 ab	**CaCl2 mM 2.5**
243.7 a	0.8 c	17.6 c	146.8 c	809.8 ab	**KCl mM 2**
209.5 a	0.0 c	18.3 c	239.2 c	580.5 b	**KCl mM 5**
224	0.2 c	10.4 c	159.9 b	724.3 a	**متوسط تركيز NaCl**
34.8					**CV%**

تشير الأحرف المشتركة الصغيرة ضمن الجدول، أو الأحرف المشتركة الكبيرة ضمن الصف نفسه أو العمود نفسه إلى عدم وجود فروق معنوية وفقاً لاختبار Tukey عند ($p \leq 0.05$).

حدثت زيادة في مؤشر قوة البادرة عند 200 mM NaCl لمعاملات الإضافة (1، 2.5 mM $CaCl_2$) و(2، 5 mM KCl)، وبلغت النسب على الترتيب (520، 240%) و(1073.33، 1120%)، لكنها لم تكن معنوية. ربما يشير ذلك إلى الحاجة إلى إضافة تراكيز أعلى قليلاً من العنصرين لتحقيق فروق معنوي. ينسجم ذلك مع استجابة نسبة الإنبات وطول الجذور عند هذه الإضافات (الجدولان 2 و4). يختلف ذلك مع الدراسات التي سجلت تأثيراً معنوياً للكالسيوم المضاف في تحسين مؤشر الحيوية [39]، أو للمعاملة بالبوتاسيوم [56].

لم يسجل تأثير معنوي في زيادة في قيمة SVI_R للإضافات عند التركيز الأعلى 250 mM. إذ بقيت قيمة SVI_R معدومة في أغلب الإضافات، ما عدا الإضافة 2 mM KCl التي سجلت 0.8 لـ SVI_R بزيادة طفيفة على الشاهد الملحي المقابل 0.2. قد يعود عدم وجود تأثير معنوي للإضافات إلى غلبة التأثير الأسموزي على التأثير الأيوني السمي خاصة عند التراكيز المرتفعة والتي أدت إلى تقييد نمو الجذر. من جهة أخرى، ربما كانت تراكيز كاتيونات الكالسيوم والبوتاسيوم دون العتبة الفيزيولوجية اللازمة لإحداث تأثير معنوي في تخفيف الأثر السلبي للإجهاد الملحي في قيمة SVI_R عند هذا التركيز.

ثانياً: تجربة استعادة قدرة البذور على الإنبات:

يحدث التأثير السلبي للإجهاد الملحي بفعل آليتين هما الإجهاد الأسموزي والسمية الأيونية [42]. لتحديد سبب هذا التأثير لكلوريد الصوديوم بتراكيزه المختلفة في إنبات بذور هجين السبانخ (Comoros) ونمو بادراته، ودور إضافة عنصري الكالسيوم والبوتاسيوم في تخفيفه، أجريت تجربة لتحديد مدى قدرة البذور المعاملة على استعادة حيويتها بنقل البذور التي لم تنبت في التجربة الأولى والبذور التي نبتت والبادرات النامية إلى علب تحوي محارم رطبت بماء مقطر. وقد سجلت المؤشرات الآتية:

2-1: نسبة الإنبات ومؤشر قوة البادرة:

تبين بعد ستة أيام من بدء التجربة أن أغلب بذور المعاملات قد أنبتت، ولم يكن التأثير العام للتراكيز الملحية، أو لمعاملات الإضافة في نسبة الإنبات أو مؤشر قوة البادرة (SVI_L) معنوياً. كما لم يكن التداخل بين الأوساط الملحية (150، 200، 250 NaCl mM) ومعاملات إضافة كلوريد الكالسيوم أو البوتاسيوم معنوياً. وتراوحت نسب الإنبات بين 58.33% للبذور التي لم تتمكن من الإنبات في الوسط 150 NaCl mM + 2.5 $CaCl_2$ mM و93.33% للبذور التي لم تتمكن من الإنبات في الوسط 200 NaCl mM + 2.5 $CaCl_2$ mM. وتراوحت قيم SVI_L بين 586.3 عند 200 NaCl mM و1258.7 عند 150 NaCl mM + 2 KCl mM (الجدول 6).

الجدول 6: نسبة إنبات بذور هجين السبانخ Comoros التي لم تتمكن من الإنبات في التجربة الأولى بعد نقلها إلى وسط ماء مقطر ومؤشر قوة البادرة (SVI_L).

معاملة الإضافة	نسبة الإنبات%			متوسط معاملة الإضافة	مؤشر قوة البادرة (SVI_L)			متوسط معاملة الإضافة
	NaCl mM				NaCl mM			
	150	200	250		150	200	250	
0	71.39 a	68.01 a	83.95 a	74.45 A	878.8 a	586.3 a	841.9 a	769.0 A
1 mM CaCl2	88.01 a	87.08 a	92.16 a	89.08 A	1092.9 a	1027.5 a	956.9 a	1025.7 A
2.5 mM CaCl2	58.33 a	93.33 a	82.35 a	78.01 A	838.7 a	1141.9 a	870.2 a	950.3 A

mM 2 KCl	93.02 a	86.21 a	81.83 a	87.02 A	1258.7 a	1050.8 a	783.4 a	1031.0 A
mM 5 KCl	90.30 a	78.40 a	86.27 a	84.99 A	1242.3 a	925.7 a	931.5 a	1033.1 A
متوسط تركيز NaCl	85.31 A	82.61 A	80.21 A	82.7	1062.3 A	946.4 A	876.8 A	962.0
	18.8				28.0			

تشير الأحرف المشتركة الصغيرة ضمن الجدول، أو الأحرف المشتركة الكبيرة ضمن الصف نفسه أو العمود نفسه إلى عدم وجود فروق معنوية وفقاً لاختبار Tukey عند ($p\leq0.05$).

تؤكد عودة قدرة البذور على الإنبات بنسب عالية احتفاظ البذور غير النابتة في محاليل (NaCl) بحيويتها، وأن التثبيط الملحي في مرحلة الإنبات كان أسموزياً بشكل أساسي وليس بسبب سمية أيونية قاتلة للجنين. وتجدر الإشارة إلى أن جميع معاملات الإضافة عند التركيزين 150 و200 mM NaCl باستثناء معاملة إضافة 2.5 mM $CaCl_2$ أعطت نسب إنبات وقيم SVI_L أعلى مقارنة بالوسط الملحي الخالي من الإضافات (الجدول 6). يشير ذلك إلى دور وقائي محتمل لأيونات الكالسيوم والبوتاسيوم المضافة في التجربة الأولى. أمّا عند التركيز 250 mM، فلم تكن الفروق واضحة أو مستمرة؛ وربما يعود ذلك إلى أن التأثير الملحي أصبح أسموزياً بشكل كلي وقابلاً للعكس، حيث منع الضغط الأسموزي المرتفع امتصاص الماء ومايحمله من أيونات Na^+ وCl^- سامة أو أيونات الكالسيوم والبوتاسيوم المضافة للوسط الملحي، لذلك لم يلاحظ فرق واضح في إنبات البذور الناتجة عن معاملات هذا التركيز.

2-2: مؤشرات نمو البادرات:

بيّن قياس مؤشرات نمو البادرات أن الإجهاد الملحي، بغض النظر عن معاملة الإضافة، أثر معنوياً في خفض طول الجذر الأوّلي للبادرة عند تركيز NaCl الأعلى فقط، وطول السويقة الفلقية الطول الكلي للبادرة عند التركيزين 200 و250 NaCl mM. غير أنه لم تُسجّل فروق معنوية بين متوسطات معاملات الإضافة في أي من هذه المؤشرات (الجدول 7).

الجدول 7: مؤشرات نمو بادرات هجين السبانخ Comoros الناتجة عن تجربة استعادة قدرة البذور على الإنبات في وسط الماء المقطر.

مؤشر النمو	طول الجذر الأولي (سم)				طول السويقة الفلقية (سم)				الطول الكلي للبادرة (سم)			
NaCl mM / معاملة الإضافة	150	200	250	متوسط معاملة الإضافة	150	200	250	متوسط معاملة الإضافة	150	200	250	متوسط معاملة الإضافة

10.34 A	9.99 ab	8.57 b	12.46 ab	2.860 A	2.292 bcd	2.314 bcd	3.974 abc	7.482 A	7.703 a	6.252 a	8.490 a	0
11.50 A	10.32 ab	11.80 ab	12.38 ab	2.508 A	2.169 cd	2.400 bcd	2.954 abcd	8.993 A	8.155 a	9.399 a	9.424 a	mM 1 CaCl2
12.43 A	10.57 ab	12.19 ab	14.54 a	3.152 A	1.916 d	2.959 abcd	4.582 a	9.282 A	8.651 a	9.234 a	9.960 a	2.5 mM CaCl2
11.72 A	9.51 ab	12.20 ab	13.46 ab	2.658 A	2.303 bcd	2.414 bcd	3.256 abcd	9.066 A	7.206 a	9.787 a	10.206 a	mM 2 KCl
12.08 A	10.71 ab	11.75 ab	13.79 ab	3.066 A	2.230 cd	2.826 abcd	4.143 ab	9.016 A	8.477 a	8.921 a	9.649 a	mM 5 KCl
11.62	10.22 b	11.30 b	13.33 a	2.849	2.182 B	2.583 B	3.782 A	8.77	8.038 B	8.719 AB	9.546 A	متوسط تركيز NaCl
15.1				22.3				15.4				%CV

تشير الأحرف المشتركة الصغيرة ضمن الجدول، أو الأحرف المشتركة الكبيرة ضمن الصف نفسه أو العمود نفسه إلى عدم وجود فروق معنوية وفقاً لاختبار Tukey عند ($p\leq0.05$).

لم تكن الفروق معنوية بين أطوال جذور البادرات الناتجة عن المعاملات المشتركة جميعها، وقد بلغ أطولها 10.206 سم لدى المعاملة NaCl mM 150 + KCl mM 2، في حين بلغ أقصرها 6.252 سم لدى المعاملة NaCl mM 200. سجلت أطوال السويقات الفلقية فروقاً معنوية بين بعض المعاملات المشتركة، فقد بلغ أطول السويقات الفلقية 4.582 سم عند المعاملة NaCl mM 150 + $CaCl_2$ mM 2.5، في حين بلغ أقصرها 1.916 سم عند المعاملة NaCl mM 250 + $CaCl_2$ mM 2.5 وكانت الفروق معنوية فيما بينهما. أعطت المعاملة المشتركة NaCl mM 150 + $CaCl_2$ mM 2.5 أطول البادرات (14.54 سم)، بينما أعطت المعاملة المنفردة NaCl mM 200 أقصرها (8.57) وكانت الفروق معنوية فيما بينهما فقط (الجدول 7).

تجدر الإشارة إلى أن أقصر الجذور ضمن كل من المستويين 150 و200 mM كان لدى البادرات الناتجة عن البذور التي كانت في الأوساط الملحية المقابلة من دون إضافة في التجربة الأولى. قد يدعم هذا وجود دور محتمل للكاتيونات المضافة إلى الأوساط الملحية (150 و200 mM) في حماية أنسجة الجنين، أو أنسجة الجذور التي بدأت تنمو في التجربة الأولى، أو التي كانت قد نمت إلى حد ما من التأثير السمي الخفيف لأيونات الصوديوم والكلور القابل للعكس.

تختلف آلية تأثير الملوحة باختلاف النوع النباتي فعند إنبات بذور الشوندر السكري في وسط NaCl نتج التأثير المثبط بشكل أساسي عن تأثير أيوني نوعي، وبشكل ضئيل عن تأثير أسموزي [25]، بينما في الشعير نتج غالباً عن تأثير أسموزي [7]. وفي الذرة الصفراء، نتج التأثير السلبي

للملح في إنبات بذور بادرات الذرة جزئياً عن نقص في تحلل مدخرات البذور من الدهون لتوفير السكريات الذائبة لعملية التنفس في الجنين النامي [10].

بينت نتائج تجربة استعادة القدرة على الإنبات أن التأثير المثبط لـ NaCl كان بشكل أساسي أسموزي عند التركيز 150 mM، وبشكل جزئي أيوني قابل للعكس، ثم ازداد التأثير الأسموزي عند التراكيز الأعلى مع انخفاض التأثير الأيوني. يمكن القول هنا أن بذور السبانخ تملك قدرة على تحمل الجفاف الأسموزي المؤقت، وأن إضافة كاتيوني الكالسيوم والبوتاسيوم ربما يسهم في زيادة هذه القدرة على التحمل.

الاستنتاجات:

1- يقلل الإجهاد الملحي طاقة إنبات السبانخ (الهجين Comoros) بفعل الخاصية الأسموزية، ولا يحدث الكالسيوم تحسناً فيها، بينما يحدث البوتاسيوم (5 mM) تحسناً طفيفاً غير معنوي.

2- يعتمد تأثير إضافات كلوريد الكالسيوم وكلوريد البوتاسيوم على التراكيز المضافة وتركيز NaCl في الوسط، والمؤشر المدروس. فعند التركيز (150 mM NaCl)، تزيد التراكيز المنخفضة (1 mM $CaCl_2$، 2 mM KCl) من الأثر الضار للإجهاد الملحي لـ NaCl، ربما لإطلاقها المزيد من أيونات الكلوريد في الوسط، في حين تخفف التراكيز الأعلى (2.5 mM $CaCl_2$، 5 mM KCl) ذلك الضرر، خاصة في نسبة الإنبات، بحيث تصبح الفروق غير معنوية مقارنة بالشاهد. وحيث يكون الكالسيوم أكثر فعّالية من البوتاسيوم في تحسين نسبة الإنبات. أمّا عند التركيز (200 mM NaCl) فجميع الإضافات تخفف الأثر الضار لـ NaCl، والتراكيز الأقل غالباً أفضل من الأعلى، لكن تبقى الفروق معنوية بشكل كبير مقارنة بالشاهد.

4- يعود التأثير المثبط للإجهاد الملحي الناجم عن كلوريد الصوديوم في مرحلة إنبات بذور السبانخ ونمو البادرات إلى عامل أسموزي في الغالب، مع ظهور سمية أيونية قابلة للعكس عند تركيز 150 mM. ويزداد التأثير الأسموزي ويقل الأيوني مع زيادة تركيز NaCl، وإن هذا التأثير غير مميت وقابل للعكس بزوال الإجهاد الملحي، وربما يسهم إضافة كلوريد الكالسيوم أو كلوريد البوتاسيوم في زيادة قدرة البذور على استعادة حيويتها بعد زوال الإجهاد.

التوصيات:

تجنب زراعة بذور هجين السبانخ Comoros في الأراضي التي يبلغ محتوى NaCl فيها 150 mM (≈ 11.6 dS/m)، أو الري بمياه ملوحتها مماثلة لذلك. وعند عدم إمكانية تجنب ذلك يوصى بإضافة 2.5 mM $CaCl_2$، أو 5 mM KCl للتخفيف من أثر الإجهاد الملحي، ويُحذّر من إضافة تراكيز أقل من ذلك حتى لا يزيد ضرر الإجهاد الملحي في إنبات البذور ونمو البادرات.

المراجع العلمية:

1. Abd-Alla, A. M., Jones, R. A., & Abou-Hadid, A. F. (1992). Germination and early seedling growth responses of cucumber to NaCl salinity and calcium. In *Symposium on Soil and Soilless Media under Protected Cultivation in Mild Winter Climates 323* (pp. 429-442).
2. Abdul-Baki, A. A., & Anderson, J. D. (1973). Vigor determination in soybean seed by multiple criteria 1. *Crop science*, 13(6), 630-633.
3. Abo-Shanab, W. A., Elshobary, M. E., Czubacka, A., & Diab, R. H. (2025). Improvement of salt tolerance in *Vicia faba* (L.) seedlings: a comprehensive investigation of the effects of exogenous calcium chloride. *BMC Plant Biology*, *25*(1), 200.
4. Ahmad, I., Akhtar, M. J., Zahir, Z. A., & Jamil, A. (2012). Effect of cadmium on seed germination and seedling growth of four wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. Pak. J. Bot, 44(5), 1569-1574.
5. Ahmad, J., Nadeem, M., Sherazi, S. H. U. H., Shahid, A., & Ahmed, H. (2026). Influence of potassium chloride seed priming on the germination traits of canola under different salinity levels. *Bulletin of Biological and Allied Sciences Research*, (1), 120-120.
6. Alharbi, K., Al-Osaimi, A. A., & Alghamdi, B. A. (2022). Sodium chloride (NaCl)-induced physiological alteration and oxidative stress generation in *Pisum sativum* (L.): A toxicity assessment. *ACS omega*, *7*(24), 20819-20832.
7. Al-Karaki, G. N. (2000). Growth, sodium, and potassium uptake and translocation in salt stressed tomato. *Journal of plant nutrition*, *23*(3), 369-379.

8. Ali, A. S., & Elozeiri, A. A. (2017). Metabolic processes during seed germination. *Advances in seed biology*, 141-166.
9. Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, *55*(1), 373-399.
10. Ashraf, M., & Wahid, S. (2000). Time-course changes in organic metabolites and mineral nutrients in germinating maize seeds under salt (NaCl) stress. *Seed Sci. Technol*. 28 641–656.
11. Balasubramaniam, A. K., Saste, G., Kureshi, A. A., Mulay, V., & Hingorani, L. (2025). Nutritional and health beneficial properties of spinach (*Spinacia* oleracea L): A comprehensive review. *Pharmacological Research-Natural Products*, 100368.
12. Chakraborty, K., Bhaduri, D., Meena, H. N., & Kalariya, K. (2016). External potassium (K+) application improves salinity tolerance by promoting Na+-exclusion, K+-accumulation and osmotic adjustment in contrasting peanut cultivars. *Plant Physiology and Biochemistry*, *103*, 143-153.
13. Chandran, A. E., Finkler, A., Hait, T. A., Kiere, Y., David, S., Pasmanik-Chor, M., & Shkolnik, D. (2024). Calcium regulation of the Arabidopsis Na+/K+ transporter HKT1; 1 improves seed germination under salt stress. *Plant Physiology*, *194*(3), 1834-1852.
14. Chen, X., Zhang, R., Li, B., Cui, T., Liu, C., Liu, C., Chen, B. & Zhou, Y. (2022). Alleviation of oxidative damage induced by CaCl2 priming is related to osmotic and ion stress reduction rather than enhanced antioxidant capacity during germination under salt stress in sorghum. *Frontiers in Plant Science*, 13, 881039.
15. Chinnusamy, V., Jagendorf, A., & Zhu, J. K. (2005). Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop science*, *45*(2), 437-448.
16. Cuin, T. A., Bose, J., Stefano, G., Jha, D., Tester, M., Mancuso, S., & Shabala, S. (2011) Assessing the role of root plasma membrane and tonoplast Na+/H+ exchangers in salinity tolerance in wheat: in planta quantification methods. *Plant, Cell & Environment* 34, 947-961.
17. Demidchik, V., Davenport, R. J., & Tester, M. (2002). Nonselective cation channels in plants. *Annual review of plant biology*, *53*(1), 67-107.
18. Doubbo Th. (2020). Effect of Treatment with Sodium Nitroprusside on Onion Seeds Germination and Seedling Growth Under Normal and Salinity Conditions. *Journal of Homs University*, 43 (14), 41-47. [In Arabic]

19. Doubbo Th. (2026). Effect of Sodium Chloride and Copper Sulfate on Zucchini Seed Germination and Seedling Growth. *Journal of Homs University*, 48 (11). [In Arabic]
20. Fan, H., Ding, L., Xu, Y., & Du, C. (2017). Seed germination, seedling growth and antioxidant system responses in cucumber exposed to Ca (NO3) 2. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, *58*(6), 548-559.
21. Farooq, M., Basra, S. M. A., Rehman, H., & Saleem, B. A. (2008). Seed priming enhances the performance of late sown wheat (Triticum aestivum L.) by improving chilling tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science*, *194*(1), 55-60.
22. Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (2024) *FAOSTAT Statistical Database*.
23. Food and Agriculture Organization. (2024). *Global status of salt-affected soils – Main report*. Rome.
24. Ghanad, M., Nulit, R. B., Go, R., & Yien, C. Y. S. (2016). The effects of NaCl, KCl and MgCl2 on the germination of Brassica rapa var. Parachinensis seed. *International Journal of Biological Research*, *4*(1), 52-55.
25. Ghoulam, C., & Fares, K. (2001). Effect of salinity on seed germination and early seedling growth of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). 29, 357–364.
26. Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, *48*(12), 909-930.
27. Guo, X., Zhi, W., Feng, Y., Zhou, G., & Zhu, G. (2022). Seed priming improved salt-stressed sorghum growth by enhancing antioxidative defense. *Plos one*, 17(2), e0263036.
28. Gupta, B., & Huang, B. (2014). Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. *International journal of genomics*, *2014*(1), 701596.
29. Hadi, M. R., & Karimi, N. (2012). The role of calcium in plants'salt tolerance. *Journal of plant nutrition*, *35*(13), 2037-2054.
30. Halfter, U., Ishitani, M., & Zhu, J. K. (2000). The Arabidopsis SOS2 protein kinase physically interacts with and is activated by the

calcium-binding protein SOS3. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *97*(7), 3735-3740.

31. Hamad, R. B. (2023) Seed priming with potassium chloride to alleviate salinity stress of some legume plants. *Libyan Journal of Basic Sciences (LJBS)*, 20 (1), P:1-12, April.
32. Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. B., Nahar, K., Hossain, M. S., Mahmud, J. A., Hossen, M. S., Masud, A.A.C., Moumita & Fujita, M. (2018). Potassium: a vital regulator of plant responses and tolerance to abiotic stresses. *Agronomy*, 8(3), 31.
33. Hu, Y., Fricke, W., & Schmidhalter, U. (2005). Salinity and the growth of non-halophytic grass leaves: the role of mineral nutrient distribution. *Functional Plant Biology*, 32(11), 973-985.
34. International Seed Testing Association [ISTA]. (2026). International Rules for Seed Testing (2026th ed.). *Bassersdorf, Switzerland*: ISTA. doi.org.
35. Iqbal, M. Z., & Rahmati, K. (1992). Tolerance of Albizia lebbeck to Cu and Fe application. *Pak. J. Bot*., 43(1): 445-452 427-430.
36. Irik, H. A., & Bikmaz, G. (2024). Effect of different salinity on seed germination, growth parameters and biochemical contents of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds cultivars. *Scientific Reports*, *14*(1), 6929.
37. Keshavarzi, M. H. B., Rafsanjani, M. O., Moussavinik, S. M., & Abdin, M. Z. (2011). Effect of salt (NaCl) stress on germination and early seedling growth of Spinach (*Spinacia oleracea* L.). 490-497.
38. Liu, L., Xia, W., Li, H., Zeng, H., Wei, B., Han, S., & Yin, C. (2018). Salinity inhibits rice seed germination by reducing α-amylase activity via decreased bioactive gibberellin content. *Frontiers in Plant Science*, *9*, 275.
39. Liu, H., Pan, L., Ahmad, I., Bai, Y., Shen, S., Shi, R., Xu, T., Sun, Y., Gao, Y., Kang, B. and Lu, Y., & Wang, X. (2025). Study on the mechanism of exogenous CaCl2 regulating cell growth and development to alleviate salt tolerance of alfalfa (*Medicago sativa*). *Frontiers in Plant Science*, 16, 1565723.
40. Maathuis, F. J., & Amtmann, A. N. N. A. (1999). K^+ nutrition and Na^+ toxicity: the basis of cellular K^+/Na^+ ratios. *Annals of botany*, 84(2), 123-133.
41. Maguire, J. D. (1962). Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 2: 176-177.

42. Manono, B. O. (2026). Effects of Salinity on Seed Germination: Mechanisms, Impacts, and Mitigation Strategies. *Seeds*, 5(1).
43. Marschner, H. (2012) Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants, 3rd ed.; *Academic Press*: London, UK, 2012; pp. 178–189.
44. Mohanrao, K. S., Pramod, P. A., & Sopan, M. A. (2023) Calcium chloride priming reverses the effect of salinity stress on α-amylase activity during seed germination in Vigna radiate. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 11(1):169-172
45. Mulaudzi, T., Hendricks, K., Mabiya, T., Muthevhuli, M., Ajayi, R. F., Mayedwa, N., Gehring C, Iwuoha E. (2020). Calcium improves germination and growth of Sorghum bicolor seedlings under salt stress. *Plants*, *9*(6), 730.
46. Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.*, *59*, 651-681.
47. Naik, A. A., Tidke, S. D., Chambhare, M. R., Bansode, R. D., & Kabnoorkar, P. S. (2025). Impact of salinity on the morpho-biochemical traits of hydroponically cultivated *Spinacia oleracea* L. Biotechnologia, 106(1), 49.
48. Naz, F., Gul, H., Hamayun, M., Sayyed, A., Khan, H., & Sherwani, S. (2014). Effect of NaCl stress on *Pisum sativum* germination and seedling growth with the influence of seed priming with potassium (KCL and KOH). *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 14(11), 1304-1311.
49. Prajapati, K., & Modi, H. A. (2012). The importance of potassium in plant growth–a review. *Indian journal of plant sciences*, *1*(02-03), 177-186.
50. Qiu, Q. S., Guo, Y., Quintero, F. J., Pardo, J. M., Schumaker, K. S., & Zhu, J. K. (2004). Regulation of vacuolar Na+/H+ exchange in Arabidopsis thaliana by the salt-overly-sensitive (SOS) pathway. *Journal of Biological Chemistry*, *279*(1), 207-215.
51. Ranty, B., Aldon, D., & Galaud, J. P. (2006). Plant calmodulins and calmodulin-related proteins: multifaceted relays to decode calcium signals. *Plant signaling & behavior*, *1*(3), 96-104.
52. Roughani, A., & Miri, S. M. (2019). Spinach: An important green leafy vegetable and medicinal herb Proceedings of the 2nd

International Conference on Medicinal Plants. Organic Farming, Natural and Pharmaceutical Ingredients at Mashad.

53. Sahyouni, F. (2003). Basics of plant physiology (Theoretical part). *Homs University Publications*.352p. [In Arabic]
54. Sahyouni, F., and Soufan, N. (2007) A study of the salt tolerance of some types of cabbage vegetables during the germination and seedling growth stage. *Journal of Homs University*,29. [In Arabic]
55. Salahshoor, F., & Kazemi, F. (2016). Effect of calcium on reducing salt stress in seed germination and early growth stage of *Festuca ovina* L. *Plant Soil Environ*, 62, 460–466.
56. Saudi, A. H. (2017). Effect of seeds priming treatments in viability and vigour of soybean (Glycine max L.) seeds under salinity stress. *Anbar Journal of Agricultural Sciences*, *15*(1), 111-130.
57. Sivasankaramoorthy, S. (2014). Effects of NaCl, CaCl2 and their combination of salt on seed germination and seedling growth of *Lycopersicon esculentum* L. *International Letters of Natural Sciences*, *22*, 1-15.
58. Shi, H., Quintero, F. J., Pardo, J. M., & Zhu, J. K. (2002). The putative plasma membrane Na+/H+ antiporter SOS1 controls long-distance Na+ transport in plants. *The plant cell*, *14*(2), 465-477.
59. Shabala, S., Shabala, L., Van Volkenburgh, E., & Newman, I. (2005). Effect of divalent cations on ion fluxes and leaf photochemistry in salinized barley leaves. *Journal of Experimental botany*, *56*(415), 1369-1378.
60. Shkolnik, D., Finkler, A., Pasmanik-Chor, M., & Fromm, H. (2019). Calmodulin-binding transcription activator 6: a key regulator of Na+ homeostasis during germination. *Plant physiology*, *180*(2), 1101-1118.
61. Shu, K., Qi, Y., Chen, F., Meng, Y., Luo, X., Shuai, H. Zhou, W., Ding, J., Du, J., Liu, J., & Yang, W. (2017). Salt stress represses soybean seed germination by negatively regulating GA biosynthesis while positively mediating ABA biosynthesis. *Frontiers in plant science*, *8*, 1372.
62. Solangi, S. B., Solangi, Z. A., Solangi, A. B., Memon, S., Solangi, J. A., & Memon, S. (2018). Effect of potassium chloride on seed germination and early growth of three rape seed varieties. *Journal of Basic & Applied Sciences*, 14, 186-190.
63. Sun YanLing, S. Y., Kong XiangPei, K. X., Li CuiLing, L. C., Liu YongXiu, L. Y., & Ding ZhaoJun, D. Z. (2015). Potassium retention

under salt stress is associated with natural variation in salinity tolerance among Arabidopsis accessions. *PLoS One*, 10(5), e0124032.
64. Turhan, A., Kuşçu, H., & Şeniz, V. (2011). Effects of different salt concentrations (NaCl) on germination of some spinach cultivars. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 25(1), 65-77.
65. Uçar, M., Kara, E., Şahin, A., Taskin, H., & Baktemur, G. (2026). Assessment of salt tolerance in spinach under in vitro condition. *Chilean journal of agricultural research*, 86(1), 77-85.
66. Uçarlı, C. (2020). Effects of salinity on seed germination and early seedling stage. In *Abiotic stress in plants*. IntechOpen
67. Wang, M., Zheng, Q., Shen, Q., & Guo, S. (2013). The critical role of potassium in plant stress response. *International journal of molecular sciences*, *14*(4), 7370-7390.
68. Wu, G. Q., & Wang, S. M. (2012). Calcium regulates K+/Na+ homeostasis in rice (Oryza sativa L.) under saline conditions. *Plant, Soil and Environment*, *58*(3), 121-127.
69. Yermiyahu, U., Nir, S., Ben-Hayyim, G., Kafkafi, U., & Kinraide, T. B. (1997). Root elongation in saline solution related to calcium binding to root cell plasma membranes. *Plant and Soil*, *191*(1), 67-76.
70. Zapata, P. J., Serrano, M., Pretel, M. T., Amorós, A., & Botella, M. Á. (2004). Polyamines and ethylene changes during germination of different plant species under salinity. Plant Science, 167(4), 781-788.
71. Zhu Yi, Z. Y., He ChiQuan, H. C., Du Wei, D. W., Hu YiLing, H. Y., & Chen Yu, C. Y. (2007). Effects of exogenous calcium on the seed germination and seedling ions distribution of Festuca arundinacea under salt-stress. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE)* , 23(11): 133-137.
72. Zhu, J. K., Liu, J., & Xiong, L. (1998). Genetic analysis of salt tolerance in Arabidopsis: evidence for a critical role of potassium nutrition. *The Plant Cell*, 10(7), 1181-1191.