

مجلة جامعة حمص

سلسلة العلوم الزراعية والتقانة الحيوية



مجلة علمية محكمة دورية

المجلد 47 . العدد 15

1447 هـ - 2025 م

الأستاذ الدكتور طارق حسام الدين رئيس جامعة حمص

المدير المسؤول عن المجلة

رئيس تحرير مجلة جامعة حمص للعلوم الإنسانية	أ. د. وليد حمادة
رئيس تحرير مجلة جامعة حمص للعلوم الطبية والهندسية والأساسية والتطبيقية	د.نعيمة عجيب

عضو هيئة التحرير	د.محمد فراس رمضان
عضو هيئة التحرير	د. مضر سعود
عضو هيئة التحرير	د. ممدوح عبارة
عضو هيئة التحرير	د. موفق تلاوي
عضو هيئة التحرير	د. طلال رزوق
عضو هيئة التحرير	د. أحمد الجاعور
عضو هيئة التحرير	د. الياس خلف
عضو هيئة التحرير	د. روعة الفقس
عضو هيئة التحرير	د. محمد الجاسم
عضو هيئة التحرير	د. خليل الحسن
عضو هيئة التحرير	د. هيثم حسن
عضو هيئة التحرير	د. أحمد حاج موسى

تهدف المجلة إلى نشر البحوث العلمية الأصيلة، ويمكن للراغبين في طلبها

الاتصال بالعنوان التالي:

رئيس تحرير مجلة جامعة حمص

سورية . حمص . جامعة حمص . الإدارة المركزية . ص . ب (77)

. هاتف / فاكس : ++ 963 31 2138071

. موقع الإنترنت : www.homs-univ.edu.sy

. البريد الإلكتروني : journal.homs-univ.edu.sy

ISSN: 1022-467X

شروط النشر في مجلة جامعة حمص

الأوراق المطلوبة:

- 2 نسخة ورقية من البحث بدون اسم الباحث / الكلية / الجامعة) + CD / word من البحث منسق حسب شروط المجلة.
 - طابع بحث علمي + طابع نقابة معلمين.
 - إذا كان الباحث طالب دراسات عليا:
يجب إرفاق قرار تسجيل الدكتوراه / ماجستير + كتاب من الدكتور المشرف بموافقة على النشر في المجلة.
 - إذا كان الباحث عضو هيئة تدريسية:
يجب إرفاق قرار المجلس المختص بإنجاز البحث أو قرار قسم بالموافقة على اعتماده حسب الحال.
 - إذا كان الباحث عضو هيئة تدريسية من خارج جامعة البعث :
يجب إحضار كتاب من عمادة كليته تثبت أنه عضو بالهيئة التدريسية و على رأس عمله حتى تاريخه.
 - إذا كان الباحث عضواً في الهيئة الفنية :
يجب إرفاق كتاب يحدد فيه مكان و زمان إجراء البحث ، وما يثبت صفته وأنه على رأس عمله.
 - يتم ترتيب البحث على النحو الآتي بالنسبة لكليات (العلوم الطبية والهندسية والأساسية والتطبيقية):
عنوان البحث .. ملخص عربي و إنكليزي (كلمات مفتاحية في نهاية الملخصين).
- 1- مقدمة
 - 2- هدف البحث
 - 3- مواد وطرق البحث
 - 4- النتائج ومناقشتها .
 - 5- الاستنتاجات والتوصيات .
 - 6- المراجع.

- يتم ترتيب البحث على النحو الآتي بالنسبة لكليات (الآداب - الاقتصاد - التربية - الحقوق - السياحة - التربية الموسيقية وجميع العلوم الإنسانية):
- عنوان البحث .. ملخص عربي و إنكليزي (كلمات مفتاحية في نهاية الملخصين).

1. مقدمة.
2. مشكلة البحث وأهميته والجديد فيه.
3. أهداف البحث و أسئلته.
4. فرضيات البحث و حدوده.
5. مصطلحات البحث و تعريفاته الإجرائية.
6. الإطار النظري و الدراسات السابقة.
7. منهج البحث و إجراءاته.
8. عرض البحث و المناقشة والتحليل
9. نتائج البحث.
10. مقترحات البحث إن وجدت.
11. قائمة المصادر والمراجع.

7- يجب اعتماد الإعدادات الآتية أثناء طباعة البحث على الكمبيوتر:

- أ- قياس الورق 25×17.5 B5.
- ب- هوامش الصفحة: أعلى 2.54- أسفل 2.54 - يمين 2.5- يسار 2.5 سم
- ت- رأس الصفحة 1.6 / تذييل الصفحة 1.8
- ث- نوع الخط وقياسه: العنوان . Monotype Koufi قياس 20
- كتابة النص Simplified Arabic قياس 13 عادي - العناوين الفرعية Simplified Arabic قياس 13 عريض.

- ج. يجب مراعاة أن يكون قياس الصور والجداول المدرجة في البحث لا يتعدى 12سم.
- 8- في حال عدم إجراء البحث وفقاً لما ورد أعلاه من إشارات فإن البحث سيهمل ولا يرد البحث إلى صاحبه.
- 9- تقديم أي بحث للنشر في المجلة يدل ضمناً على عدم نشره في أي مكان آخر، وفي حال قبول البحث للنشر في مجلة جامعة البعث يجب عدم نشره في أي مجلة أخرى.

10- الناشر غير مسؤول عن محتوى ما ينشر من مادة الموضوعات التي تنشر في المجلة
11- تكتب المراجع ضمن النص على الشكل التالي: [1] ثم رقم الصفحة ويفضل استخدام التهميش الإلكتروني المعمول به في نظام وورد WORD حيث يشير الرقم إلى رقم المرجع الوارد في قائمة المراجع.

تكتب جميع المراجع باللغة الانكليزية (الأحرف الرومانية) وفق التالي:

آ . إذا كان المرجع أجنبياً:

الكنية بالأحرف الكبيرة - الحرف الأول من الاسم تتبعه فاصلة - سنة النشر - وتتبعها معترضة (-) عنوان الكتاب ويوضع تحته خط وتتبعه نقطة - دار النشر وتتبعها فاصلة - الطبعة (ثانية . ثالثة) . بلد النشر وتتبعها فاصلة . عدد صفحات الكتاب وتتبعها نقطة .
وفيما يلي مثال على ذلك:

-MAVRODEANUS, R1986- **Flame Spectroscopy**. Willy, New York, 373p.

ب . إذا كان المرجع بحثاً منشوراً في مجلة باللغة الأجنبية:

— بعد الكنية والاسم وسنة النشر يضاف عنوان البحث وتتبعه فاصلة، اسم المجلد ويوضع تحته خط وتتبعه فاصلة — المجلد والعدد (كتابة مختزلة) وبعدها فاصلة — أرقام الصفحات الخاصة بالبحث ضمن المجلة.
مثال على ذلك:

BUSSE,E 1980 Organic Brain Diseases **Clinical Psychiatry News** , Vol. 4. 20 – 60

ج . إذا كان المرجع أو البحث منشوراً باللغة العربية فيجب تحويله إلى اللغة الإنكليزية و التقيد بالبنود (أ و ب) ويكتب في نهاية المراجع العربية: (المراجع In Arabic)

رسوم النشر في مجلة جامعة حمص

1. دفع رسم نشر (50000) ل.س أربعون ألف ليرة سورية عن كل بحث لكل باحث يريد نشره في مجلة جامعة البعث.
2. دفع رسم نشر (200000) ل.س مئة ألف ليرة سورية عن كل بحث للباحثين من الجامعة الخاصة والافتراضية .
3. دفع رسم نشر (200) مننًا دولار أمريكي فقط للباحثين من خارج القطر العربي السوري .
4. دفع مبلغ (15000) ل.س ستة آلاف ليرة سورية رسم موافقة على النشر من كافة الباحثين.

المحتوى

الصفحة	اسم الباحث	اسم البحث
34-11	د. علا ادريس	التطرف في درجات الحرارة (العظمى والصغرى) لمدينة حماة وإمكانية التنبؤ بها
54-35	د. محسن عبود	دراسة التفاعل بين خلاط ثنائية من المركب الطبيعي 3-butylidene phthalide مع مبيدي ديفينوكونازول و ثيوفانات ميتيل ضد الفطر الممرض <i>Macrophomina</i> sp.
82-55	ايهاب احمد عبيدو + حسان عباس + عبد الناصر العمر +سراج ريا +فرح عبيدو +خالد قاسم + نور قاص بولات	تأثير السيلينيوم النانوي في بعض المؤشرات الدموية لكباش أعنام العواس
111-83	باسمه محمود الخباز أ.د محمد نبيل الأيوبي د. أسامة العبد الله	دراسة تأثير المطفرات في إنبات بذور صنف الخس البلدي الحموي وانتخاب نباتات طافرة متفوقة

دراسة التفاعل بين خلائط ثنائية من المركب الطبيعي *3-butyridene* *phthalide* مع مبيدي ديفينوكونازول و ثيوفانات ميتيل ضد الفطر *Macrophomina sp.* الممرض

د. محسن عبود*

* مدرس، قسم وقاية النبات، كلية الهندسة الزراعية، جامعة حمص.

الملخص

إن الجمع بين مبيدات الفطريات التقليدية الصناعية والمركبات الطبيعية المنشأ يساعد على إنتاج خلائط أكثر فعالية ضد الفطريات، و باستخدام تراكيز مخفضة من المبيدات الصناعية، مما يساهم في تأخير تشكل السلالات الفطرية الممرضة المقاومة للمبيدات. في هذه البحث تمت دراسة الفعالية الإبادية للمخاليط الثنائية المكونة من الزيت العطري الطبيعي بوتيليدين فتاليد (3-butyridene phthalide) مع كل من المبيدين ديفينوكونازول (Difenoconazole) و ثيوفانات ميتيل (Thiophanate-methyl) ضد الفطر الممرض *Macrophomina sp.* أظهر الزيت العطري تفاعلاً تأزرياً في معظم خلائطه مع المبيدين المستخدمين في الدراسة و خاصة مع مبيد ديفينوكونازول حيث تراوحت قيم معامل انحراف النموذج (MDR) Model Deviation Ratio بين 3.97 و 7.92، و أظهر الخليط المكون من $0.5 \times EC_{50}$ من بوتيليدين فتاليد مع مقدار كامل من EC_{50} للديفينوكونازول أعلى فعالية تأزرية. كما أظهرت خلائط مركب بوتيليدين فتاليد تفاعلات تأزرية مع مبيد ثيوفانات الميتيل و تراوحت قيم MDR بين 1.25 حتى 3.39. لم يبد الزيت العطري لمركب بوتيليدين فتاليد أي نوع من التضاد (Antagonist) تجاه المبيدين المدروسين. تشير النتائج المتحصل عليها على أهمية مركب بوتيليدين فتاليد كمادة واعدة للاستخدام في خلائط المبيدات الفطرية وخاصة مع المركبات الأزولية كمبيد ديفينوكونازول. كما

دراسة التفاعل بين خلانط ثنائية من المركب الطبيعي 3-butylidene phthalide مع مبيدي
ديفينوكونازول و ثيوفانات ميتيل ضد الفطر الممرض *Macrophomina sp.*

تبين هذه الدراسة الحاجة إلى التحقق من فعالية الزيوت العطرية والمنتجات الطبيعية كمبيدات
فطرية بصورة منفردة أو في خلانط مع المبيدات الصناعية.

الكلمات المفتاحية: الفطريات، التآزر، التضاد، النموذج التجميعي، *Macrophomina sp.*،
المبيدات الآزولية، سورية.

Investigating the Interaction of Natural 3-butylidenephthalide in Binary Mixtures with Difenoconazole and Thiophanate-methyl Against *Macrophomina sp.*

Mohsen Abbod *

Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Homs University,
Homs, Syria.

Abstract

The combination of synthetic conventional fungicides and natural origin compounds facilitates the development of mixtures with enhanced antifungal efficacy while reducing the required dosage of synthetic pesticides. This approach contributes to delaying the emergence of resistant pathogenic fungal strains. In this study, the fungicidal efficacy of binary mixtures comprising the natural compound 3-butylidene phthalide with both difenoconazole and thiophanate-methyl was evaluated against the pathogenic fungus *Macrophomina sp.* The essential oil demonstrated synergistic interactions in most mixtures with both fungicides, particularly with difenoconazole, where the Model Deviation Ratio (MDR) values

ranged from 3.97 to 7.92. The mixture composed of 0.5xEC₅₀ of 3-butyridene phthalide and a full EC₅₀ dose of difenoconazole exhibited the highest synergistic efficacy. The mixtures of 3-butyridene phthalide with thiophanate-methyl showed synergistic and additive interactions, with MDR values ranging from 1.25 to 3.39. No antagonistic interactions were observed between 3-butyridene phthalide essential oil and either fungicide. These findings highlight the potential of 3-butyridene phthalide as a promising component for use in fungicidal mixtures, particularly with azole compounds such as difenoconazole. Furthermore, this study underscores the need for additional research to explore the efficacy of essential oils and natural products either as standalone fungicides or as components in fungicidal mixtures.

Keywords: Phthalides, Synergism, Antagonism, Concentration Addition, Azole Fungicides. *Macrophomina* sp., Syria.

1- المقدمة والدراسة المرجعية:

إن الاستخدام المستمر والمتزايد للمبيدات المصنعة أدى إلى ظهور سلالات جديدة من مسببات الأمراض المقاومة للمبيدات، مما يجعل مكافحتها تحدياً صعباً [1]، وخلال العقود الأخيرة، بُذلت جهود مكثفة ومنظمة لاستكشاف بدائل للمواد الكيميائية المصنعة أينما وردت لتخفيف من مشكلة مقاومة الممرضات النباتية للمبيدات [1]. في الوقت الحالي، هناك اهتمام متزايد باستخدام المستخلصات النباتية والزيوت العطرية كمصدر قيم للمركبات النشطة حيويًا في تطوير المبيدات [2، 3] حيث تتميز المواد الكيميائية ذات المنشأ الطبيعي بآثار جانبية أقل نسبيًا، وقد تُعتبر بدائل مُفضّلة للمبيدات المصنعة، خاصة فيما يتعلق بحماية المحاصيل والبيئة والكائنات غير المستهدفة من أخطار المخلفات الكيميائية [4] كما تظهر الزيوت العطرية والمنتجات الطبيعية قدرة فعالة على منع ظهور الأمراض الفطرية و البكتيرية سواءً عند استخدامها منفردة [5، 6]، أو عند خلطها

مع مركبات كيميائية أخرى [7، 8]. على سبيل المثال، أظهر مركب 3-butylidene phthalide وهو أحد المكونات الرئيسية للزيت العطري لنبات الكرفس الجبلي (*Apium graveolens*)-المنتمي لمجموعة مركبات (3H)-isobenzofuranone-فعالية ملحوظة ضد نمو الفطر *Macrophomina phaseolina*، حيث حقق تثبيطاً كاملاً لتشكيل الأجسام الحجرية (microsclerotia) للفطر المستهدف. ويعزى هذا التأثير إلى تثبيطه المسار الحيوي لتخليق الميلانين عبر تثبيط نشاط إنزيم Trihydroxy naphthalene reductase (3HNR)، متفوقاً بذلك على المبيد الفطري التجاري Tricyclazole من حيث الكفاءة [5].

يعد استخدام خلانط المبيدات الفطرية من الطرق المفيدة في تأخير ظهور السلالات المقاومة للمبيدات [9]، و يرجع ذلك إلى حقيقة أن الفطريات المسببة للأمراض النباتية تمتلك العديد من المواقع النشطة التي يمكن استهدافها بمبيدات الفطريات من مختلف الفئات الكيميائية. ومن الجدير بالذكر أن استخدام خليط من عدة مبيدات ذات آليات عمل متفاوتة (Multi-mode of Action Mixtures) يمكن أن يضمن فعالية المكافحة من خلال استهداف مواقع نشطة متعددة، وهو أمر ذو أهمية كبيرة عندما يكون العامل الممرض قد طور مستوى مقاومة تجاه أحد تلك المبيدات الفطرية، مما يقلل من الضغط الانتخابي المصاحب للاستخدام المنفرد للمبيدات [9، 10].

من الناحية الكيميائية، يمكن أن يؤدي دمج المركبات في الخليط إلى تعزيز الفعالية البيولوجية (Bioactivity) للمكونات الفردية، وهي ظاهرة تعرف بالتأثير التآزري (Synergistic Effect) على العكس من ذلك، قد تتفاعل بعض المركبات بشكل تضادي (Antagonistic Interaction)، مما يؤدي إلى تقليل الفعالية الكلية للخليط [10، 11].

يعتبر فطر الماكروفومينا *Macrophomina phaseolina* من الفطريات واسعة الانتشار في التربة، و يعرف بقدرته على إصابة عدد كبير من النباتات يتجاوز 500 نوع حول العالم.

يسبب هذا الفطر أمراضاً خطيرة مثل تعفن الساق و الجذور، بالإضافة الى العفن الفحمي. تعد الاجسام الحجرية (ميكروسكليروتيا) من أهم سمات هذا الفطر، حيث تمكنه من البقاء حياً في التربة و مخلفات النباتات لفترات طويلة قد تصل الى ١٥ عاماً، مما يجعله تحدياً كبيراً في إدارة الأمراض النباتية [12]. تزداد خطورة الأمراض التي يسببها هذا الفطر في الظروف البيئية الحارة و الجافة، تحديداً عند درجات حرارة تتراوح بين 30 و 35 درجة مئوية، و انخفاض في مستوى الرطوبة. حيث يقوم الفطر بمهاجمة الجهاز الوعائي للنبات، مما يعيق عملية نقل الماء و المواد الغذائية الأساسية، و ينتج عن ذلك ذبول النبات و موته المبكر. و لمكافحة هذا الفطر، تستخدم استراتيجيات متعددة تشمل مكافحة الحيوية و ذلك بالاستعانة بكائنات حية نافعة مثل فطريات التريكوديرما، و الممارسات الزراعية الجيدة مثل عملية تناوب المحاصيل و تحسين تصريف التربة و استخدام خلطات المبيدات و المستخلصات النباتية [12، 13].

في هذا البحث تم اختبار الفعالية الإبادية لمبيد دفنوكونازول المنتمي لمجموعة Triazoles و مبيد ثيوفانات ميتيل من مجموعة Methyl Benzimidazole Carbamate، و كذلك المركب الطبيعي بوتيليدين فتاليد 3-butylidene phthalide بشكل فردي و بشكل مخاليط ثنائية مكونة من المركب الطبيعي مع كل من المبيدين الآخرين ضد الفطر الممرض *Macrophomina sp.* و تمت دراسة التفاعلات الحاصلة بين مكونات الخلطات باستخدام النماذج المستخدمة عالمياً و ذلك بهدف الوقوف على تأثير استخدام الخلطات الثنائية من المركبات الصناعية مع الزيوت العطرية لخفض الجرعة المستخدمة من المبيدات التجارية عن طريق التآزر بين مكونات الخلطات وبالتالي المساهمة في تأخير ظهور السلالات المقاومة للمبيدات و خاصة المنتمية لمجموعة الأزولات (مثبطات الإرجوستيرول).

2- مبررات و أهداف البحث:

2-1- مبررات البحث:

إن الإستهام المفرط للمبيدات الفطرية وخاصة الجهازية يؤدي بشكل مستمر لتشكيل سلالات من الفطريات الممرضة مقاومة لها ، و التي يصعب مكافحتها باستخدام المبيدات التقليدية، كما أن الكلفة المرتفعة لتطوير مبيدات جهازية جديدة والتي قد تفقد فعاليتها بشكل سريع بسبب نشوء السلالات المقاومة. كل هذا يفرض علينا اللجوء لاستراتيجيات مختلفة للتغلب على مشكلة مقاومة المبيدات الفطرية، ويعد استخدام الخلانط أحد أبرز الطرائق التي أثبتت فعاليتها في هذا المجال. من ناحية أخرى فإن استخدام المركبات الطبيعية المنشأ في هذه الخلانط يضاعف من نجاعة هذه الطريقة في الحد من مشكلة مقاومة الممرضات الفطرية للمبيدات الجهازية.

2-2- هدف البحث: دراسة التأثير التآزري في الخلانط الثنائية المكونة من المركب الطبيعي 3-butylidene phthalide و المبيدات الصناعية ديفينوكونازول و ثيوفانات ميتيل و المستخدمة الفطر الممرض *Macrophomina sp.*

3- مواد وطرائق العمل:

3-1- المركبات الكيميائية و الفطر الممرض المستخدم في الدراسة:

تم الحصول على مبيد ديفينوكونازول (Difenoconazole) بنقاوة 98% الرقم الكيميائي 119446-68-3 ومبيد ثيوفانات ميتيل (Thiophanate-methyl) بنقاوة 97% الرقم الكيميائي 23564-05-8 من شركة أجريكور (Agricore) للصناعات الكيميائية (A.C.I) في الصين. بينما تم الحصول على الزيت العطري لمركب بوتيليدين فتاليد (3-butylidene phthalide) بنقاوة 96% من شركة Sigma-Aldrich (ألمانيا). اختبرت فعالية المركبات و الخلانط على الفطر الممرض *Macrophomina sp.* الذي تم عزله من جذور نبات الذرة الصفراء من محافظة حمص في وسط سورية خلال عام 2024، و التي ظهرت عليها أعراض

الذبول إضافة لملاحظة بعض الأعراض المميزة على الجذور باللون البني و الأسود حسب الخطوات المتبعة في الأبحاث السابقة [13، 14]. تم غسل عينات السيقان والجذور المصابة التي ظهرت عليها بقع بنية إلى سوداء مميزة و غسلت جيداً بماء الصنبور الجاري، وجففت بالهواء، ثم قطعت الى قطع صغيرة. عقت هذه الأقسام سطحياً بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم 2% لمدة دقيقتين، وشطفنت ثلاث مرات بالماء المقطر المعقم، ثم جففت على ورق ترشيع معقم. زرعت القطع المعقمة في أطباق بيتري تحتوي على وسط PDA مضاف له كبريتات ستربتومايسين (50-75 ملغ/لتر) لتثبيط النمو البكتيري. حضنت الأطباق عند درجة حرارة $25 \pm 2^\circ\text{C}$ في الظلام لمدة 3-5 أيام. بعد نمو المستعمرات الفطرية، نقلت أطراف الخيوط الفطرية النامية إلى أطباق PDA جديدة محمضة للحصول على مزارع نقية. شخض الفطر المعزول مورفولوجياً فقط من قبل الباحث باستخدام المفاتيح التصنيفية المورفولوجية المستخدمة من قبل Mahdizadeh وآخرين (2011) و أبحاث أخرى [13، 14]، حيث تمت دراسة الصفات الشكلية التالية: لون المستعمرة، ونمطها، وتشكل الأجسام الحجرية (Microsclerotia) السوداء، بالإضافة إلى الصفات المجهرية مثل شكل الهيفات، وطبيعة تفرعها، ووجود الحواجز العرضية. حيث أظهرت المستعمرات نمواً سريعاً غطى طبق الزراعة خلال 3 أيام، مع تحول لوني مميز من الأبيض إلى الرمادي الداكن و من ثم الأسود نتيجة للتكوين الكثيف والعشوائي لأجسام حجرية (Microsclerotia) بنية إلى سوداء اللون كروية أو بيضاوية الشكل و هي صفة أساسية لهذا الجنس. كشفت الدراسة المجهرية عن هيفات شفافة في الأجزاء النامية حديثاً ثم تحولت إلى اللون الداكن مع تكوين الحواجز العرضية، كما اتضحت البنية الدقيقة للأجسام الحجرية المكونة من كتل خلوية ذات جدران سميقة وداكنة [13، 14].

3-2- اختبار فعالية الخلائط و المركبات الإفرادية ضد الفطر الممرض المستهدف

تم استخدام تقنية الطعام المسموم (Poisoned Food Technique) لتقييم فعالية كل مبيد فطري ضد نمو الميسيليوم للفطر *Macrophomina sp.* [15]. حيث تم خلط تراكيز متزايدة من المبيد الإفرادي أو من الخلائط المختبرة مع 20-25 مل من وسط PDA في طبق بتري. تم نقل قرص أغار قطره 6 مم يتضمن نمو ميسيلومي بعمر 5 أيام من الفطر المستهدف و وضع وسط طبق بتري. تم تكرار كل معاملة ثلاث مرات لكل تركيز. تم استخدام طبق بتري يضم وسط PDA بدون وجود مبيد كشاهد. تم تحضين الأطباق عند درجة حرارة قدرها 25 درجة مئوية، وتم قياس قطر النمو الميسيلومي وتسجيله بعد 3-5 أيام. تم تحديد نسبة تثبيط نمو الميسيلوم باستخدام المعادلة التالية:

$$(1) \quad 100 * \frac{C - T}{C} = (\%) \text{ نسبة تثبيط النمو الميسيلومي}$$

حيث C هو قطر النمو الميسيلومي (متوسط) في مجموعة الشاهد، و T هو قطر النمو الميسيلومي (متوسط) في وجود المبيد. بعد الحصول على نسب التثبيط المرتبطة بكل تركيز من التراكيز المختبرة يتم حساب قيمة التأثير المثبط النصفية (EC_{50}) بعد استبدال قيم التراكيز بلوغاريتيمات التراكيز باستخدام برنامج 9 Graphpad prism و المعادلات الرياضية الملحقة به.

3-3- تصميم الخلائط الثنائية:

تم تقييم فعالية خلانط المبيدات والزيوت العطرية باستخدام تصميم ($n \times n$)، حيث تم اعتماد تركيز ثابت من مركب الزيت العطري يعادل قيمة التأثير المثبط النصفية ($1 \times EC_{50}$) مع تركيزات متدرجة من المبيدات الصناعية (مقدار التأثير المثبط النصفية ($1 \times EC_{50}$) و نصف مقدار التأثير المثبط النصفية ($0.5 \times EC_{50}$) والعكس صحيح [16]. تم توضيح النسبة المئوية لكل مكون في الخليط في الجدول 2. تم استخدام تراكيز متدرجة من كل خليط بحيث تبقى

النسبة المئوية للخلط ثابتة بين مكوني الخليط، و تم الحصول على هذه التراكيز المتدرجة بطريقة التخفيفات المتتالية بحيث يكون كل تركيز مساوياً نصف قيمة التركيز السابق له وفقاً للبروتوكولات الموضحة في اختبار الفعالية المضادة للفطريات. تم إنشاء منحنيات الاستجابة للجرعة باستخدام برنامج Prism 7.

3-4- تقييم التأثيرات المشتركة للخلائط الثانية

تم تحديد نوع التفاعلات الحاصلة بين مكونات الخلائط الثنائية المدروسة باستخدام نموذج التركيز التجميعي (Concentration Addition - CA) كما في المعادلة (2) [11]:

$$ECX_{mix} = \left(\sum_{i=1}^n \frac{p_i}{ECX_i} \right)^{-1} \quad (2)$$

حيث ECX_{mix} هو قيمة التأثير المثبط النصفى للخليط، p_i هو نسبة المكون i في الخليط، و ECX_i هو مقدار التأثير المثبط النصفى للمكون i .

و لقياس مدى انحراف القيم التقديرية عن القيم التجريبية لفعالية الخلائط المدروسة تم استخدام معامل انحراف النموذج Model Deviation Ratio (MDR) [10]:

$$MDR = \frac{Expected}{Observed} \quad (3)$$

حيث أن "Expected" تمثل قيمة التأثير القاتل النصفى المتوقعة عبر نموذج التركيز التجميعي بينما تمثل "Observed" قيمة التأثير القاتل النصفى الناتجة عن طريق التجربة المخبرية. و استناداً إلى قيمة MDR، تنقسم أنواع التفاعلات بين مكونات الخلائط إلى ثلاث أنواع كمايلي:

- تفاعل تآزري إذا كانت قيمة $MDR < 2$
- تفاعل إضافة إذا كانت قيمة $0.5 \leq MDR \leq 2$

دراسة التفاعل بين خلانط ثنائية من المركب الطبيعي 3-butylidene phthalide مع ميدي
ديفينوكونازول و ثيوفانات ميتيل ضد الفطر الممرض *Macrophomina sp.*

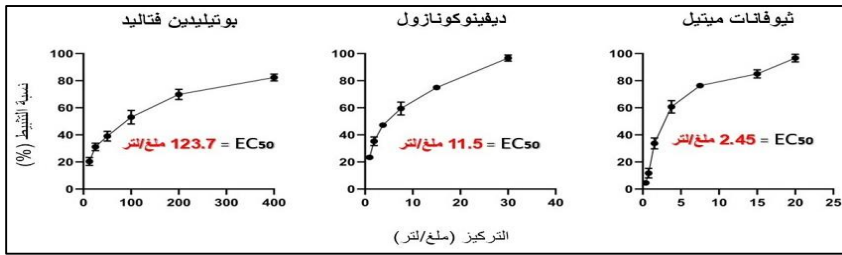
- تفاعل تضاد إذا كانت قيمة $MDR > 0.5$ [10، 17].

4- النتائج و المناقشة

4-1- فعالية المركبات التثبيطية ضد الفطر المستهدف بشكل إفرادي

اختبرت المركبات الثلاثة ديفينوكونازول (D) و ثيوفانات الميتيل (T) و الزيت العطري بوتيليدين فتاليد (P) ضد الفطر الممرض مخبرياً بطريقة الغذاء المسمم كما ورد في مواد وطرق العمل. أظهر المبيد ثيوفانات ميتيل (T) فعالية مرتفعة مقارنة بالمركبين الباقيين بجرعة قاتلة نصفية مقدارها 2.45 ملغ/لتر، تلاه مبيد ديفينوكونازول (D) بجرعة قاتلة نصفية $EC_{50} = 11.5$ ملغ/لتر.

كان مقدار التركيز المثبط النصف في حالة الزيت العطري لمركب بوتيليدين فتاليد (P) مساوية 123.7 ملغ/لتر بفعالية منخفضة نسبياً مقارنة بالمركبات المصنعة المستخدمة. و مع ذلك لوحظ غياب تشكل الأجسام الحجرية في التجارب المعاملة بالزيت العطري مقارنة بالشاهد و خاصة عند التراكيز المرتفعة (الشكل 1) وهذا ما قد يعزى لاستهداف المركب لمسار التخليق الحيوي للملائين في الفطر، ما يتوافق مع دراسات سابقة أشارت لقدرة الفطر هذا المركب على تثبيط الأنزيمات المرتبطة بالتخليق الحيوي للملائين في الفطر [5].



شكل 1. منحنى جرعة-استجابة وقيم التأثير المثبط النصفى للمركبات المختبرة بشكل إفرادي

4-2- فعالية الخلطات الثنائية

وفقاً لقيم EC_{50} التي تم الحصول عليها للمركبات المختبرة، تم تقييم فعالية الخلطات الثنائية المكونة من المركب الطبيعي بوتيليدين فتاليد و المبيدين دفنوكونازول و ثيوفانات ميتيلضد الفطر الممرض *Macrophomina sp.* و بيان نوع التفاعل الحاصل بين مكونات الخلطات باستخدام نموذج التركيز التجميعي و معامل MDR كما ورد في مواد وطرق العمل.

حسب تصميم $n \times n$ تم تشكيل ستة خلطات ثنائية من الزيت العطري مع كل من مبيدي دفنوكونازول و ثيوفانات ميتيل و اختبرت جميعها بتركيز متدرجة ضد الفطر الممرض. يظهر الجدول 1 جميع الخلطات الستة المستخدمة و نسبة كل مركب في الخليط الثنائي.

جدول 1. تركيب و نسب مكونات الخلطات الثنائية المدروسة

رقم الخليط	تركيز مكونات الخليط (ملغ/لتر)	نسبة مكونات الخليط $n \times n$	نسبة كل مركب في الخليط (p_i)
الخليط 1	123.7 (P): 11.5 (D)	$1 \times EC_{50}(P)$: $1 \times EC_{50}(D)$	0.91 (P): 0.09 (D)
الخليط 2	123.7 (P): 5.75 (D)	$1 \times EC_{50}(P)$: $0.5 \times EC_{50}(D)$	0.96 (P): 0.04 (D)
الخليط 3	61.85 (P): 11.5 (D)	$0.5 \times EC_{50}(P)$: $1 \times EC_{50}(D)$	0.84 (P): 0.16 (D)
الخليط 4	123.7 (P): 2.45 (T)	$1 \times EC_{50}(P)$: $1 \times EC_{50}(T)$	0.98 (P): 0.02 (T)

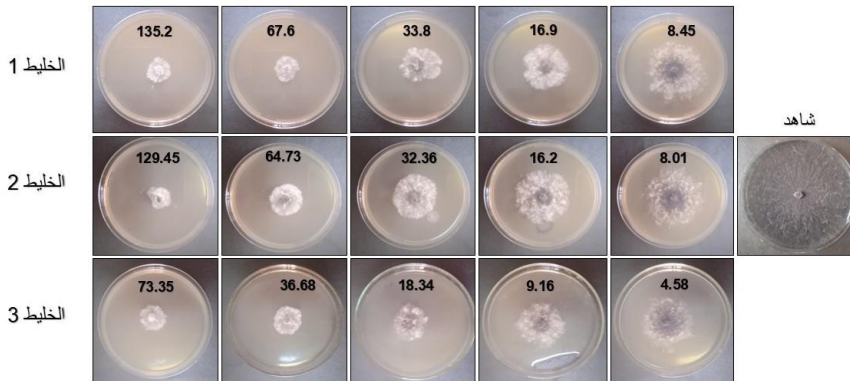
دراسة التفاعل بين خلانط ثنائية من المركب الطبيعي 3-butylidene phthalide مع مبيد
ديفينوكونازول و ثيوفانات ميتيل ضد الفطر الممرض *Macrophomina sp.*

0.99 (P): 0.01 (T)	1xEC ₅₀ (P): 0.5xEC ₅₀ (T)	123.7 (P): 1.23 (T)	الخليط 5
0.96 (P): 0.04 (T)	0.5xEC ₅₀ (P): 1xEC ₅₀ (T)	61.85 (P): 2.45 (T)	الخليط 6

أظهرت الخلانط الثنائية فعالية متفاوتة في تثبيط النمو الميسيليومي للفطر المستهدف كما هو واضح في الجدول (2) و الأشكال (2-4). أظهر الزيت العطري تفاعلاً تأزرياً في جميع خلانطه مع مبيد ديفينوكونازول و تراوحت قيم معامل انحراف النموذج MDR بين 3.97 و 7.92، و أظهر الخليط الثالث الذي يتكون من 0.5xEC₅₀ من بوتيليدين فتاليد مع مقدار كامل من EC₅₀ للديفينوكونازول أعلى فعالية تأزرية بمعامل MDR مقداره 7.92 ما يشير إلى قدرة مركب بوتيليدين فتاليد على رفع كفاءة الخليط بشكل أكبر عند استخدام بمقدار أقل مقارنة بباقي الخلانط التي ضمت مقدار كاملاً من EC₅₀. و يمكن تفسير ذلك بأن مركب بوتيليدين فتاليد له القدرة على تثبط الأنزيمات المسؤولة عن التخليق الحيوي للملائين حسب Abbod و زملائه (2020) [5]، ولكن كون المركب قد يمتلك آليات عمل أخرى غير معروفة قد تتداخل مع عمل المبيدات الأخرى في الخلانط في حال رفع تركيزه في الخليط ما قد يقلل من قدرته التأزرية. من ناحية أخرى كان الخليط الثاني الذي يضم نصف التركيز القاتل النصفى لمبيد ديفينوكونازول أقل الخلانط من حيث الفعالية التأزرية بمعامل MDR قيمته 3.97 ما يشير إلى أهميه استخدام مبيد الدفنوكونازول بكامل الجرعة الموصى بها في حالة خلانطه مع مركب بوتيليدين فتاليد الذي يفضل استخدامه بمقدار نصف التركيز القاتل النصفى كما هو واضح في الخليط الثالث (جدول 2).

جدول 2. قيم EC_{50} التجريبية و المحسوبة و نوع التفاعل بين مكونات الخلائط المدروسة

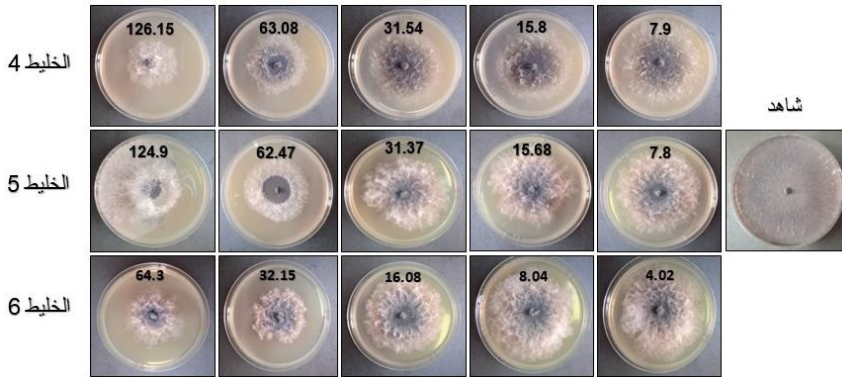
نوع التفاعل	قيمة MDR	EC_{50} حسب نموذج التركيز التجميعي (ملغ/لتر)	EC_{50} التجريبية (ملغ/لتر)	الخليط
تأزري	4.18	65.86	15.76	الخليط 1
تأزري	3.97	88.98	22.45	الخليط 2
تأزري	7.92	48.3	6.1	الخليط 3
إضافة	1.76	62.12	35.34	الخليط 4
تأزري	3.39	82.75	24.41	الخليط 5
إضافة	1.25	41.52	33.27	الخليط 6



شكل 2. فعالية الخلائط (1-3) ضد الفطر المستهدف مخبرياً. استخدمت تراكيز متدرجة من كل خليط (التراكيز جميعها ملغ/لتر)

دراسة التفاعل بين خلائط ثنائية من المركب الطبيعي 3-butylidene phthalide مع مبيد
ديفينوكونازول و ثيوفانات ميتيل ضد الفطر الممرض *Macrophomina sp.*

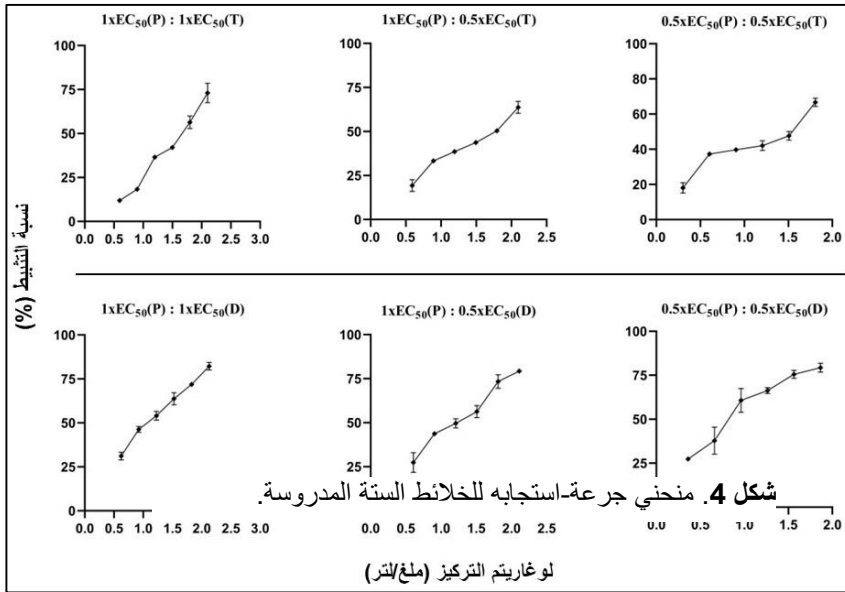
في حالة الخلائط المكونة من مركب بوتيليدين فتاليد مع مبيد ثيوفانات ميتيل (خلائط 4-6) كان التفاعل التآزري منخفضاً مقارنةً بالخلائط المكونة من مركب بوتيليدين فتاليد مع مبيد ديفنوكونازول. تراوحت قيم معامل انحراف النموذج MDR بين 1.25 حتى 3.39.



شكل 3. فعالية الخلائط (4-6) ضد الفطر المستهدف مخبرياً، (جميع التراكيز ملغ/لتر).

أظهر الخليط 5 المكون من $1 \times EC_{50}$ من بوتيليدين فتاليد مع $0.5 \times EC_{50}$ من ثيوفانات ميتيل تفاعلاً تآزرياً بقيمة $EC_{50} = 24.41$ ملغ/لتر. في حين أظهرت باقي الخلائط (4 و 6) تفاعلاً من نوع الإضافة بين مكونات الخليط ما يشير إلى عدم قدرة الزيت العطري على رفع فعالية مبيد ثيوفانات ميتيل في الخلائط المذكورة، وهذا قد يعزى إلى أن مبيد ثيوفانات ميتيل يعد ذو خطر

مقاومة مرتفع (High Risk)، إضافة لاستخدامه بشكل موسع محلياً وعالمياً ما خفف من فعاليته بسبب تشكل سلالات مقاومة له (جدول 2 وشكل 3 و 4).



من خلال قيم MDR المرتفعة و خاصة للخلائط 1-3 نلاحظ أن نموذج التأثير التجميعي (Concentration addition) يميل إلى التقليل نسبياً من سمية الخلائط المدروسة، ومع ذلك فقد كان النموذج دقيقاً في التنبؤ بفعالية الخلائط 4-6 و هذا ما يتفق مع عدة دراسات سابقة استخدمت هذا النموذج في التنبؤ بفعالية خلائط ثنائية من المبيدات [8، 10].

لم يظهر الزيت العطري لمركب بوتيليدين فتاليد أي نوع من تفاعلات التضاد (Antagonist) تجاه المبيد المدروسين، وكان الأثر التآزري هو الغالب في معظم الخلائط الثنائية المدروسة، ما يشير إلى أهمية هذا الزيت العطري الطبيعي في رفع كفاءة المبيدات مخبرياً و خاصة المركبات

دراسة التفاعل بين خلاط ثنائية من المركب الطبيعي 3-butylidene phthalide مع مبيد
ديفينوكونازول و ثيوفانات ميتيل ضد الفطر الممرض *Macrophomina sp.*

الأزولية كمبيد ديفنوكونازول، وهذا يتطلب إجراء المزيد من الأبحاث للوقوف على قدرته التآزيرية حقلياً لاحقاً.

إن استخدام المبيدات الفطرية بصورة خلاط ثنائية يعد طريقة مثالية لخفض الجرعات المستخدمة من المبيدات عالية الخطورة من حيث تشكيل السلالات المقاومة للمبيدات الفطرية وخاصة المركبات الأزولية [1، 18، 19]، و بالتالي فإن استخدام مركب بوتيليدين فتاليد في خلاط المبيدات الفطرية قد يساهم بشكل كبير بخفض سرعة تشكل السلالات المقاومة للمبيدات الفطرية مع الأخذ بعين الاعتبار قدرته العاليه على تثبيط الأجسام الحجرية للفطريات الممرضة و كسر دورة حياتها [5].

عادة ما تمتلك الزيوت الأساسية الطبيعية نواة عطرية ومجموعة هيدروكسيل أو كربوكسيل، ومركبات فينولية يمكن أن يكون لها تأثير على التفاعلات مع المسارات الحيوية الأساسية للفطريات، مما يعزز نشاطها الإبادي للفطريات [20، 21]. إن وجود النواة العطرية إضافة للحلقة غير المتجانسة المرتبطة بذرة الأوكسيجين في مركب بوتيليدين فتاليد من الممكن أن يكون عاملاً لحدوث الفعل التآزيري مع المبيدات المستخدمة في الخلاط وخاصة مبيد ديفينوكونازول.

أثبت مركب بوتيليدين فتاليد المستخرج من النبات العطرية فعالية ملحوظة ضد الفطريات الممرضة للنبات كما في فطر *Sclerotium rolfsii* [22، 23]، مايتوافق مع نتائج هذه الدراسة التي أظهر فيها المركب فعالية ملحوظة ضد الفطر المستهدف و خاصة عند استخدامة في الخلاط الثنائية مع مبيد فنوكونازول.

الاستنتاجات

1. أظهرت المركبات الثلاثة المستخدمة فعالية ملحوظة ضد فطر *Macrophomina sp.* عند استخدامها بحالتها الإفرادية، كما أظهر مركب بوتيليدين فتاليد تفاعلاً تآزرياً واضحاً عند استخدامه في الخلطات الثنائية مع المبيدات ديفينوكونازول و ثيوفانات ميتيل.
2. أظهرت الخلطات المكونة من الزيت العطري لمركب بوتيليدين فتاليد و مبيد ديفينوكونازول أعلى درجة من الفعالية التآزرية مع قيم معامل انحراف النموذج MDR بين 3.97 و 7.92.
3. لم يظهر الزيت العطري لمركب بوتيليدين فتاليد أي نوع من تفاعلات التضاد (Antagonist) تجاه المبيدات المدروسة، وكان الأثر التآزري هو الغالب في معظم الخلطات الثنائية المدروسة.

التوصيات

1. يوصى بإجراء المزيد من الأبحاث حول الفعالية التآزرية لمركب بوتيليدين فتاليد حقلياً لتأكيد النتائج التي تم الحصول عليها مخبرياً مع إجراء اختبارات متقدمة مخبرياً و حاسوبياً لبيان آلية تفاعل هذا المركب مع مكونات الخلطات الأخرى.
2. إجراء أبحاث للوقوف على التأثيرات السلبية المحتملة لهذه الخلطات على الكائنات غير المستهدفة وفي مقدمتها الإنسان.

المراجع

1. Corkley, I., Fraaije, B., & Hawkins, N. (2022). Fungicide resistance management: Maximizing the effective life of plant protection products. **Plant Pathology**, 71(1), 150–169.
2. Deresa, E. M., & Diriba, T. F. (2023). Phytochemicals as alternative fungicides for controlling plant diseases: A comprehensive review of their efficacy, commercial representatives, advantages, challenges for adoption, and possible solutions. **Heliyon**, 9(3), e13847.
3. Ahmed, H. F., Seleiman, M. F., Mohamed, I. A., Taha, R. S., Wasonga, D. O., & Battaglia, M. L. (2023). Activity of essential oils and plant extracts as biofungicides for suppression of soil-borne fungi associated with root rot and wilt of marigold (*Calendula officinalis* L.). **Horticulturae**, 9(2), 222.
4. Santra, H. K., & Banerjee, D. (2020). Natural products as fungicide and their role in crop protection. In Natural bioactive products in sustainable agriculture (pp. 131–219).
5. Abbod, M., Safaie, N., Gholivand, K., Mehrabadi, M., & Bonsaii, M. (2020). Mode of action of 3-butylidene phthalide as a competent natural pesticide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 164, 228–236.
6. Gupta, V., Mittal, P., Bansal, P., Khokra, S. L., & Kaushik, D. (2010). Pharmacological potential of *Matricaria recutita* - A review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research**, 2(1), 12–16.
7. Karaca, N., Demirci, B., Gavahian, M., & Demirci, F. (2023). Enhanced bioactivity of rosemary, sage, lavender, and chamomile essential oils by fractionation, combination, and emulsification. **ACS Omega**, 8(12), 10941–10953.
8. Abbod, M., & Khallouf, E. (2024). Investigating the combined effects of binary mixtures comprising essential oils and Azole fungicides on some plant pathogenic fungi. *Journal of Crop Protection*, 13(2), 115–124.
9. van den Bosch, F., Oliver, R., van den Berg, F., & Paveley, N. (2014). Governing principles can guide fungicide-resistance management tactics. **Annual Review of Phytopathology**, 52, 175–195.

10. Belden, J. B., Gilliom, R. J., & Lydy, M. J. (2007). How well can we predict the toxicity of pesticide mixtures to aquatic life? *Integrated Environmental Assessment and Management*, 3(3), 364–372.
11. Altenburger, R., Walter, H., & Grote, M. (2004). What contributes to the combined effect of a complex mixture? **Environmental Science & Technology**, 38(23), 6353–6362.
12. Marquez, N., Giachero, M. L., Declerck, S., & Ducasse, D. A. (2021). *Macrophomina phaseolina*: General characteristics of pathogenicity and methods of control. **Frontiers in Plant Science**, 12, 634397.
13. Mahdizadeh, V., Safaie, N., & Goltapeh, E. M. (2011). Diversity of *Macrophomina phaseolina* based on morphological and genotypic characteristics in Iran. **The Plant Pathology Journal**, 27(2), 128–137.
14. Aboshosha, S. S., Attaalla, S. I., El-Korany, A. E., & El-Argawy, E. (2007). Characterization of *Macrophomina phaseolina* isolates affecting sunflower growth in El-Behera Governorate, Egypt. **International Journal of Agriculture and Biology**, 9(6), 807–815.
15. Schmitz, H. (1930). Poisoned food technique. **Ind. Eng. Chem. Analyst Ed**, 2, 361.
16. Fai, P. B. A., Tsobgny Kinack, J. S., & Tala Towa, Y. J. (2017). Acute effects of binary mixtures of Type II pyrethroids and organophosphate insecticides on *Oreochromis niloticus*. **Ecotoxicology**, 26, 889–901.
17. Cedergreen, N. (2014). Quantifying synergy: A systematic review of mixture toxicity studies within environmental toxicology. **PLOS ONE**, 9(5), e96580.
18. Maria, Naz, I., Khan, R., Alam, S. S., Iqbal, O., Akram, S., Rajput, N. A., Younas, M. U., Qasim, M., Ali, I., & Elsalahy, H. H. (2024). Unleashing the synergistic effect of promising fungicides: A breakthrough solution for combating powdery mildew in pea plants. **Frontiers in Microbiology**, 15, 1448033.
19. Zhou, F., Li, G., Li, J., Zhang, S., Liang, Y., Gui, Y., Li, W., & Liu, R. (2025). Combined application of fluazinam with triazole fungicides results in synergistic activity against *Fusarium crown rot*. **Plant Pathology**, 74(6), 1560–1569.
20. Chitiva-Chitiva, L. C., Ladino-Vargas, C., Cuca-Suárez, L. E., Prieto-Rodríguez, J. A., & Patiño-Ladino, O. J. (2021). Antifungal activity of chemical constituents from *Piper pesaresanum* C. DC. and derivatives against phytopathogen fungi of cocoa. **Molecules**, 26(11), 3256.

21. Hassan, H. A., Genaidy, M. M., Kamel, M. S., & Abdelwahab, S. F. (2020). Synergistic antifungal activity of mixtures of clove, cumin and caraway essential oils and their major active components. **Journal of Herbal Medicine**, 24, 100399.
22. Cui, K., He, Y., Wang, M., Li, M., Jiang, C., Wang, M., He, L., Zhang, F., & Zhou, L. (2023). Antifungal activity of *Ligusticum chuanxiong* essential oil and its active composition butylidenephthalide against *Sclerotium rolfsii*. **Pest Management Science**, 79(12), 5374–5386.
23. Luo, Z., Deng, Y., Luo, B., Li, Y., Lan, Q., Fan, J., Xue, W., Tang, L., & Fan, L. (2021). Design and synthesis of novel n-butylphthalide derivatives as promising botanical fungicides. **Zeitschrift für Naturforschung C**, 76(3–4), 117–127.

دراسة التفاعل بين خلائط ثنائية من المركب الطبيعي *3-butyridene* *phthalide* مع مبيدي ديفينوكونازول و ثيوفانات ميتيل ضد الفطر *Macrophomina sp.* الممرض

د. محسن عبود*

* مدرس، قسم وقاية النبات، كلية الهندسة الزراعية، جامعة حمص.

الملخص

إن الجمع بين مبيدات الفطريات التقليدية الصناعية والمركبات الطبيعية المنشأ يساعد على إنتاج خلائط أكثر فعالية ضد الفطريات، و باستخدام تراكيز مخفضة من المبيدات الصناعية، مما يساهم في تأخير تشكل السلالات الفطرية الممرضة المقاومة للمبيدات. في هذه البحث تمت دراسة الفعالية الإبادية للمخاليط الثنائية المكونة من الزيت العطري الطبيعي بوتيليدين فتاليد (3-butyridene phthalide) مع كل من المبيدين ديفينوكونازول (Difenoconazole) و ثيوفانات ميتيل (Thiophanate-methyl) ضد الفطر الممرض *Macrophomina sp.* أظهر الزيت العطري تفاعلاً تأزرياً في معظم خلائطه مع المبيدين المستخدمين في الدراسة و خاصة مع مبيد ديفينوكونازول حيث تراوحت قيم معامل انحراف النموذج (MDR) Model Deviation Ratio بين 3.97 و 7.92، و أظهر الخليط المكون من $0.5 \times EC_{50}$ من بوتيليدين فتاليد مع مقدار كامل من EC_{50} للديفينوكونازول أعلى فعالية تأزرية. كما أظهرت خلائط مركب بوتيليدين فتاليد تفاعلات تأزرية مع مبيد ثيوفانات الميتيل و تراوحت قيم MDR بين 1.25 حتى 3.39. لم يبد الزيت العطري لمركب بوتيليدين فتاليد أي نوع من التضاد (Antagonist) تجاه المبيدين المدروسين. تشير النتائج المتحصل عليها على أهمية مركب بوتيليدين فتاليد كمادة واعدة للاستخدام في خلائط المبيدات الفطرية وخاصة مع المركبات الأزولية كمبيد ديفينوكونازول. كما

دراسة التفاعل بين خلانط ثنائية من المركب الطبيعي 3-butylidene phthalide مع مبيدي
ديفينوكونازول و ثيوفانات ميتيل ضد الفطر الممرض *Macrophomina sp.*

تبين هذه الدراسة الحاجة إلى التحقق من فعالية الزيوت العطرية والمنتجات الطبيعية كمبيدات
فطرية بصورة منفردة أو في خلانط مع المبيدات الصناعية.

الكلمات المفتاحية: الفطاليدات، التآزر، التضاد، النموذج التجميعي، *Macrophomina sp.*،
المبيدات الآزولية، سورية.

Investigating the Interaction of Natural 3-butylidene phthalide in Binary Mixtures with Difenoconazole and Thiophanate-methyl Against *Macrophomina sp.*

Mohsen Abbod *

Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Homs University,
Homs, Syria.

Abstract

The combination of synthetic conventional fungicides and natural origin compounds facilitates the development of mixtures with enhanced antifungal efficacy while reducing the required dosage of synthetic pesticides. This approach contributes to delaying the emergence of resistant pathogenic fungal strains. In this study, the fungicidal efficacy of binary mixtures comprising the natural compound 3-butylidene phthalide with both difenoconazole and thiophanate-methyl was evaluated against the pathogenic fungus *Macrophomina sp.* The essential oil demonstrated synergistic interactions in most mixtures with both fungicides, particularly with difenoconazole, where the Model Deviation Ratio (MDR) values

ranged from 3.97 to 7.92. The mixture composed of 0.5xEC₅₀ of 3-butyridene phthalide and a full EC₅₀ dose of difenoconazole exhibited the highest synergistic efficacy. The mixtures of 3-butyridene phthalide with thiophanate-methyl showed synergistic and additive interactions, with MDR values ranging from 1.25 to 3.39. No antagonistic interactions were observed between 3-butyridene phthalide essential oil and either fungicide. These findings highlight the potential of 3-butyridene phthalide as a promising component for use in fungicidal mixtures, particularly with azole compounds such as difenoconazole. Furthermore, this study underscores the need for additional research to explore the efficacy of essential oils and natural products either as standalone fungicides or as components in fungicidal mixtures.

Keywords: Phthalides, Synergism, Antagonism, Concentration Addition, Azole Fungicides. *Macrophomina* sp., Syria.

1- المقدمة والدراسة المرجعية:

إن الاستخدام المستمر والمتزايد للمبيدات المصنعة أدى إلى ظهور سلالات جديدة من مسببات الأمراض المقاومة للمبيدات، مما يجعل مكافحتها تحدياً صعباً [1]، وخلال العقود الأخيرة، بُذلت جهود مكثفة ومنظمة لاستكشاف بدائل للمواد الكيميائية المصنعة أينما وردت لتخفيف من مشكلة مقاومة الممرضات النباتية للمبيدات [1]. في الوقت الحالي، هناك اهتمام متزايد باستخدام المستخلصات النباتية والزيوت العطرية كمصدر قيم للمركبات النشطة حيويًا في تطوير المبيدات [2، 3] حيث تتميز المواد الكيميائية ذات المنشأ الطبيعي بآثار جانبية أقل نسبيًا، وقد تُعتبر بدائل مُفضّلة للمبيدات المصنعة، خاصة فيما يتعلق بحماية المحاصيل والبيئة والكائنات غير المستهدفة من أخطار المخلفات الكيميائية [4] كما تظهر الزيوت العطرية والمنتجات الطبيعية قدرة فعالة على منع ظهور الأمراض الفطرية و البكتيرية سواءً عند استخدامها منفردة [5، 6]، أو عند خلطها

مع مركبات كيميائية أخرى [7، 8]. على سبيل المثال، أظهر مركب 3-butylidene phthalide وهو أحد المكونات الرئيسية للزيت العطري لنبات الكرفس الجبلي (*Apium graveolens*)-المنتمي لمجموعة مركبات (3H)-isobenzofuranone-فعالية ملحوظة ضد نمو الفطر *Macrophomina phaseolina*، حيث حقق تثبيطاً كاملاً لتشكيل الأجسام الحجرية (microsclerotia) للفطر المستهدف. ويعزى هذا التأثير إلى تثبيطه المسار الحيوي لتخليق الميلانين عبر تثبيط نشاط إنزيم Trihydroxy naphthalene reductase (3HNR)، متفوقاً بذلك على المبيد الفطري التجاري Tricyclazole من حيث الكفاءة [5].

يعد استخدام خلانط المبيدات الفطرية من الطرق المفيدة في تأخير ظهور السلالات المقاومة للمبيدات [9]، و يرجع ذلك إلى حقيقة أن الفطريات المسببة للأمراض النباتية تمتلك العديد من المواقع النشطة التي يمكن استهدافها بمبيدات الفطريات من مختلف الفئات الكيميائية. ومن الجدير بالذكر أن استخدام خليط من عدة مبيدات ذات آليات عمل متفاوتة (Multi-mode of Action Mixtures) يمكن أن يضمن فعالية المكافحة من خلال استهداف مواقع نشطة متعددة، وهو أمر ذو أهمية كبيرة عندما يكون العامل الممرض قد طور مستوى مقاومة تجاه أحد تلك المبيدات الفطرية، مما يقلل من الضغط الانتخابي المصاحب للاستخدام المنفرد للمبيدات [9، 10].

من الناحية الكيميائية، يمكن أن يؤدي دمج المركبات في الخليط إلى تعزيز الفعالية البيولوجية (Bioactivity) للمكونات الفردية، وهي ظاهرة تعرف بالتأثير التآزري (Synergistic Effect) على العكس من ذلك، قد تتفاعل بعض المركبات بشكل تضادي (Antagonistic Interaction)، مما يؤدي إلى تقليل الفعالية الكلية للخليط [10، 11].

يعتبر فطر الماكروفومينا *Macrophomina phaseolina* من الفطريات واسعة الانتشار في التربة، و يعرف بقدرته على إصابة عدد كبير من النباتات يتجاوز 500 نوع حول العالم.

يسبب هذا الفطر أمراضاً خطيرة مثل تعفن الساق و الجذور، بالإضافة الى العفن الفحمي. تعد الاجسام الحجرية (ميكروسكليروتيا) من أهم سمات هذا الفطر، حيث تمكنه من البقاء حياً في التربة و مخلفات النباتات لفترات طويلة قد تصل الى ١٥ عاماً، مما يجعله تحدياً كبيراً في إدارة الأمراض النباتية [12]. تزداد خطورة الأمراض التي يسببها هذا الفطر في الظروف البيئية الحارة و الجافة، تحديداً عند درجات حرارة تتراوح بين 30 و 35 درجة مئوية، و انخفاض في مستوى الرطوبة. حيث يقوم الفطر بمهاجمة الجهاز الوعائي للنبات، مما يعيق عملية نقل الماء و المواد الغذائية الأساسية، و ينتج عن ذلك ذبول النبات و موته المبكر. و لمكافحة هذا الفطر، تستخدم استراتيجيات متعددة تشمل مكافحة الحيوية و ذلك بالاستعانة بكائنات حية نافعة مثل فطريات التريكوديرما، و الممارسات الزراعية الجيدة مثل عملية تناوب المحاصيل و تحسين تصريف التربة و استخدام خلطات المبيدات و المستخلصات النباتية [12، 13].

في هذا البحث تم اختبار الفعالية الإبادية لمبيد دفنوكونازول المنتمي لمجموعة Triazoles و مبيد ثيوفانات ميتيل من مجموعة Methyl Benzimidazole Carbamate، و كذلك المركب الطبيعي بوتيليدين فتاليد 3-butylidene phthalide بشكل فردي و بشكل مخاليط ثنائية مكونة من المركب الطبيعي مع كل من المبيدين الآخرين ضد الفطر الممرض *Macrophomina sp.* و تمت دراسة التفاعلات الحاصلة بين مكونات الخلطات باستخدام النماذج المستخدمة عالمياً و ذلك بهدف الوقوف على تأثير استخدام الخلطات الثنائية من المركبات الصناعية مع الزيوت العطرية لخفض الجرعة المستخدمة من المبيدات التجارية عن طريق التآزر بين مكونات الخلطات وبالتالي المساهمة في تأخير ظهور السلالات المقاومة للمبيدات و خاصة المنتمية لمجموعة الأزولات (مثبطات الإرغوستيرول).

2- مبررات و أهداف البحث:

2-1- مبررات البحث:

إن الإستهام المفرط للمبيدات الفطرية وخاصة الجهازية يؤدي بشكل مستمر لتشكيل سلالات من الفطريات الممرضة مقاومة لها ، و التي يصعب مكافحتها باستخدام المبيدات التقليدية، كما أن الكلفة المرتفعة لتطوير مبيدات جهازية جديدة والتي قد تفقد فعاليتها بشكل سريع بسبب نشوء السلالات المقاومة. كل هذا يفرض علينا اللجوء لاستراتيجيات مختلفة للتغلب على مشكلة مقاومة المبيدات الفطرية، ويعد استخدام الخلانط أحد أبرز الطرائق التي أثبتت فعاليتها في هذا المجال. من ناحية أخرى فإن استخدام المركبات الطبيعية المنشأ في هذه الخلانط يضاعف من نجاعة هذه الطريقة في الحد من مشكلة مقاومة الممرضات الفطرية للمبيدات الجهازية.

2-2- هدف البحث: دراسة التأثير التآزري في الخلانط الثنائية المكونة من المركب الطبيعي 3-butylidene phthalide و المبيدات الصناعية ديفينوكونازول و ثيوفانات ميتيل و المستخدمة الفطر الممرض *Macrophomina sp.*

3- مواد وطرائق العمل:

3-1- المركبات الكيميائية و الفطر الممرض المستخدم في الدراسة:

تم الحصول على مبيد ديفينوكونازول (Difenoconazole) بنقاوة 98% الرقم الكيميائي 119446-68-3 ومبيد ثيوفانات ميتيل (Thiophanate-methyl) بنقاوة 97% الرقم الكيميائي 23564-05-8 من شركة أجريكور (Agricore) للصناعات الكيميائية (A.C.I) في الصين. بينما تم الحصول على الزيت العطري لمركب بوتيليدين فتاليد (3-butylidene phthalide) بنقاوة 96% من شركة Sigma-Aldrich (ألمانيا). اختبرت فعالية المركبات و الخلانط على الفطر الممرض *Macrophomina sp.* الذي تم عزله من جذور نبات الذرة الصفراء من محافظة حمص في وسط سورية خلال عام 2024، و التي ظهرت عليها أعراض

الذبول إضافة لملاحظة بعض الأعراض المميزة على الجذور باللون البني و الأسود حسب الخطوات المتبعة في الأبحاث السابقة [13، 14]. تم غسل عينات السيقان والجذور المصابة التي ظهرت عليها بقع بنية إلى سوداء مميزة و غسلت جيداً بماء الصنبور الجاري، وجففت بالهواء، ثم قطعت الى قطع صغيرة. عقت هذه الأقسام سطحياً بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم 2% لمدة دقيقتين، وشطفنت ثلاث مرات بالماء المقطر المعقم، ثم جففت على ورق ترشيع معقم. زرعت القطع المعقمة في أطباق بيتري تحتوي على وسط PDA مضاف له كبريتات ستربتومايسين (50-75 ملغ/لتر) لتثبيط النمو البكتيري. حضنت الأطباق عند درجة حرارة $25 \pm 2^\circ\text{C}$ في الظلام لمدة 3-5 أيام. بعد نمو المستعمرات الفطرية، نقلت أطراف الخيوط الفطرية النامية إلى أطباق PDA جديدة محمضة للحصول على مزارع نقية. شخض الفطر المعزول مورفولوجياً فقط من قبل الباحث باستخدام المفاتيح التصنيفية المورفولوجية المستخدمة من قبل Mahdizadeh وآخرين (2011) و أبحاث أخرى [13، 14]، حيث تمت دراسة الصفات الشكلية التالية: لون المستعمرة، ونمطها، وتشكل الأجسام الحجرية (Microsclerotia) السوداء، بالإضافة إلى الصفات المجهرية مثل شكل الهيفات، وطبيعة تفرعها، ووجود الحواجز العرضية. حيث أظهرت المستعمرات نمواً سريعاً غطى طبق الزراعة خلال 3 أيام، مع تحول لوني مميز من الأبيض إلى الرمادي الداكن و من ثم الأسود نتيجة للتكوين الكثيف والعشوائي لأجسام حجرية (Microsclerotia) بنية إلى سوداء اللون كروية أو بيضاوية الشكل و هي صفة أساسية لهذا الجنس. كشفت الدراسة المجهرية عن هيفات شفافة في الأجزاء النامية حديثاً ثم تحولت إلى اللون الداكن مع تكوين الحواجز العرضية، كما اتضحت البنية الدقيقة للأجسام الحجرية المكونة من كتل خلوية ذات جدران سميكة وداكنة [13، 14].

3-2- اختبار فعالية الخلائط و المركبات الإفرادية ضد الفطر الممرض المستهدف

تم استخدام تقنية الطعام المسموم (Poisoned Food Technique) لتقييم فعالية كل مبيد فطري ضد نمو الميسيليوم للفطر *Macrophomina sp.* [15]. حيث تم خلط تراكيز متزايدة من المبيد الإفرادي أو من الخلائط المختبرة مع 20-25 مل من وسط PDA في طبق بتري. تم نقل قرص أغار قطره 6 مم يتضمن نمو ميسيلومي بعمر 5 أيام من الفطر المستهدف و وضع وسط طبق بتري. تم تكرار كل معاملة ثلاث مرات لكل تركيز. تم استخدام طبق بتري يضم وسط PDA بدون وجود مبيد كشاهد. تم تحضين الأطباق عند درجة حرارة قدرها 25 درجة مئوية، وتم قياس قطر النمو الميسيلومي وتسجيله بعد 3-5 أيام. تم تحديد نسبة تثبيط نمو الميسيلوم باستخدام المعادلة التالية:

$$(1) \quad 100 * \frac{C - T}{C} = (\%) \text{ نسبة تثبيط النمو الميسيلومي}$$

حيث C هو قطر النمو الميسيلومي (متوسط) في مجموعة الشاهد، و T هو قطر النمو الميسيلومي (متوسط) في وجود المبيد. بعد الحصول على نسب التثبيط المرتبطة بكل تركيز من التراكيز المختبرة يتم حساب قيمة التأثير المثبط النصفية (EC_{50}) بعد استبدال قيم التراكيز بلوغاريتيمات التراكيز باستخدام برنامج 9 Graphpad prism و المعادلات الرياضية الملحقة به.

3-3- تصميم الخلائط الثنائية:

تم تقييم فعالية خلانط المبيدات والزيوت العطرية باستخدام تصميم ($n \times n$)، حيث تم اعتماد تركيز ثابت من مركب الزيت العطري يعادل قيمة التأثير المثبط النصفية ($1 \times EC_{50}$) مع تركيزات متدرجة من المبيدات الصناعية (مقدار التأثير المثبط النصفية ($1 \times EC_{50}$) و نصف مقدار التأثير المثبط النصفية ($0.5 \times EC_{50}$) والعكس صحيح [16]. تم توضيح النسبة المئوية لكل مكون في الخليط في الجدول 2. تم استخدام تراكيز متدرجة من كل خليط بحيث تبقى

النسبة المئوية للخلط ثابتة بين مكوني الخليط، و تم الحصول على هذه التراكيز المتدرجة بطريقة التخفيفات المتتالية بحيث يكون كل تركيز مساوياً نصف قيمة التركيز السابق له وفقاً للبروتوكولات الموضحة في اختبار الفعالية المضادة للفطريات. تم إنشاء منحنيات الاستجابة للجرعة باستخدام برنامج Prism 7.

3-4- تقييم التأثيرات المشتركة للخلائط الثانية

تم تحديد نوع التفاعلات الحاصلة بين مكونات الخلائط الثنائية المدروسة باستخدام نموذج التركيز التجميعي (Concentration Addition - CA) كما في المعادلة (2) [11]:

$$ECX_{mix} = \left(\sum_{i=1}^n \frac{p_i}{ECX_i} \right)^{-1} \quad (2)$$

حيث ECX_{mix} هو قيمة التأثير المثبط النصفى للخليط، p_i هو نسبة المكون i في الخليط، و ECX_i هو مقدار التأثير المثبط النصفى للمكون i .

و لقياس مدى انحراف القيم التقديرية عن القيم التجريبية لفعالية الخلائط المدروسة تم استخدام معامل انحراف النموذج Model Deviation Ratio (MDR) [10]:

$$MDR = \frac{Expected}{Observed} \quad (3)$$

حيث أن "Expected" تمثل قيمة التأثير القاتل النصفى المتوقعة عبر نموذج التركيز التجميعي بينما تمثل "Observed" قيمة التأثير القاتل النصفى الناتجة عن طريق التجربة المخبرية. و استناداً إلى قيمة MDR، تنقسم أنواع التفاعلات بين مكونات الخلائط إلى ثلاث أنواع كمايلي:

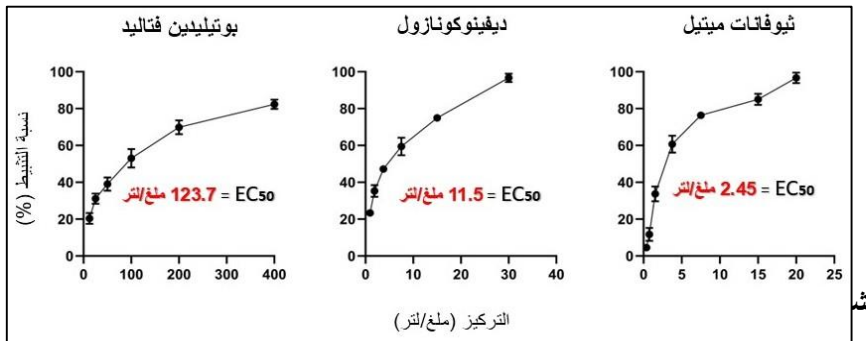
- تفاعل تآزري إذا كانت قيمة $MDR < 2$
- تفاعل إضافة إذا كانت قيمة $0.5 \leq MDR \leq 2$

- تفاعل تضاد إذا كانت قيمة $MDR > 0.5$ [10، 17].

4- النتائج و المناقشة

4-1- فعالية المركبات التثبيطية ضد الفطر المستهدف بشكل إفرادي

اختبرت المركبات الثلاثة ديفينوكونازول (D) و ثيوفانات الميتيل (T) و الزيت العطري بوتيليدين فتاليد (P) ضد الفطر المرض مخبرياً بطريقة الغذاء المسمم كما ورد في مواد وطرق العمل. أظهر المبيد ثيوفانات ميتيل (T) فعالية مرتفعة مقارنة بالمركبين الباقيين بجرعة قاتلة نصفية مقدارها 2.45 ملغ/لتر، تلاه مبيد ديفينوكونازول (D) بجرعة قاتلة نصفية $EC_{50} = 11.5$ ملغ/لتر. كان مقدار التركيز المثبط النصفى في حالة الزيت العطري لمركب بوتيليدين فتاليد (P) مساوية 123.7 ملغ/لتر بفعالية منخفضة نسبياً مقارنة بالمركبات المصنعة المستخدمة. و مع ذلك لوحظ غياب تشكل الأجسام الحجرية في التجارب المعاملة بالزيت العطري مقارنة بالشاهد و خاصة عند التراكيز المرتفعة (الشكل 1) وهذا ما قد يعزى لاستهداف المركب لمسار التخليق الحيوي للملائين في الفطر، ما يتوافق مع دراسات سابقة أشارت لقدرة الفطر هذا المركب على تثبيط الأنزيمات المرتبطة بالتخليق الحيوي للملائين في الفطر [5].



4-2- فعالية الخلائط الثنائية

وفقاً لقيم EC_{50} التي تم الحصول عليها للمركبات المختبرة، تم تقييم فعالية الخلائط الثنائية المكونة من المركب الطبيعي بوتيليدين فتاليد و المبيدين دفنوكونازول و ثيوفانات ميتيل ضد الفطر الممرض *Macrophomina sp.* و بيان نوع التفاعل الحاصل بين مكونات الخلائط باستخدام نموذج التركيز التجميعي و معامل MDR كما ورد في مواد وطرق العمل.

حسب تصميم $n \times n$ تم تشكيل ستة خلائط ثنائية من الزيت العطري مع كل من مبيدي دفنوكونازول و ثيوفانات ميتيل و اختبرت جميعها بتركيز متدرجة ضد الفطر الممرض. يظهر الجدول 1 جميع الخلائط الستة المستخدمة و نسبة كل مركب في الخليط الثنائي.

جدول 1. تركيب و نسب مكونات الخلائط الثنائية المدروسة

رقم الخليط	تركيز مكونات الخليط (ملغ/لتر)	نسبة مكونات الخليط $n \times n$	نسبة كل مركب في الخليط (P)
الخليط 1	123.7 (P): 11.5 (D)	$1 \times EC_{50}(P)$: $1 \times EC_{50}(D)$	0.91 (P): 0.09 (D)
الخليط 2	123.7 (P): 5.75 (D)	$1 \times EC_{50}(P)$: $0.5 \times EC_{50}(D)$	0.96 (P): 0.04 (D)
الخليط 3	61.85 (P): 11.5 (D)	$0.5 \times EC_{50}(P)$: $1 \times EC_{50}(D)$	0.84 (P): 0.16 (D)
الخليط 4	123.7 (P): 2.45 (T)	$1 \times EC_{50}(P)$: $1 \times EC_{50}(T)$	0.98 (P): 0.02 (T)

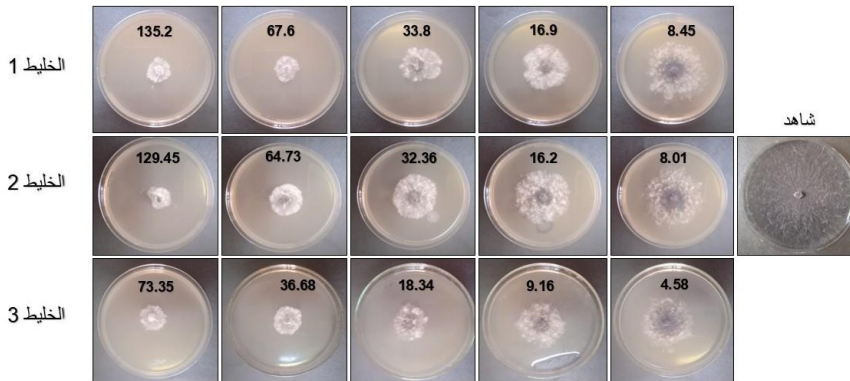
دراسة التفاعل بين خلانط ثنائية من المركب الطبيعي 3-butylidene phthalide مع مبيد
ديفينوكونازول و ثيوفانات ميتيل ضد الفطر الممرض *Macrophomina sp.*

0.99 (P): 0.01 (T)	1xEC ₅₀ (P): 0.5xEC ₅₀ (T)	123.7 (P): 1.23 (T)	الخليط 5
0.96 (P): 0.04 (T)	0.5xEC ₅₀ (P): 1xEC ₅₀ (T)	61.85 (P): 2.45 (T)	الخليط 6

أظهرت الخلانط الثنائية فعالية متفاوتة في تثبيط النمو الميسيليومي للفطر المستهدف كما هو واضح في الجدول (2) و الأشكال (2-4). أظهر الزيت العطري تفاعلاً تأزرياً في جميع خلانطه مع مبيد ديفينوكونازول و تراوحت قيم معامل انحراف النموذج MDR بين 3.97 و 7.92، و أظهر الخليط الثالث الذي يتكون من 0.5xEC₅₀ من بوتيليدين فتاليد مع مقدار كامل من EC₅₀ للديفينوكونازول أعلى فعالية تأزرية بمعامل MDR مقداره 7.92 ما يشير إلى قدرة مركب بوتيليدين فتاليد على رفع كفاءة الخليط بشكل أكبر عند استخدام بمقدار أقل مقارنة بباقي الخلانط التي ضمت مقدار كاملاً من EC₅₀. و يمكن تفسير ذلك بأن مركب بوتيليدين فتاليد له القدرة على تثبط الأنزيمات المسؤولة عن التخليق الحيوي للملائين حسب Abbod و زملائه (2020) [5]، ولكن كون المركب قد يمتلك آليات عمل أخرى غير معروفة قد تتداخل مع عمل المبيدات الأخرى في الخلانط في حال رفع تركيزه في الخليط ما قد يقلل من قدرته التأزرية. من ناحية أخرى كان الخليط الثاني الذي يضم نصف التركيز القاتل النصفي لمبيد ديفينوكونازول أقل الخلانط من حيث الفعالية التأزرية بمعامل MDR قيمته 3.97 ما يشير إلى أهميه استخدام مبيد الدفنوكونازول بكامل الجرعة الموصى بها في حالة خلانطه مع مركب بوتيليدين فتاليد الذي يفضل استخدامه بمقدار نصف التركيز القاتل النصفي كما هو واضح في الخليط الثالث (جدول 2).

جدول 2. قيم EC_{50} التجريبية و المحسوبة و نوع التفاعل بين مكونات الخلائط المدروسة

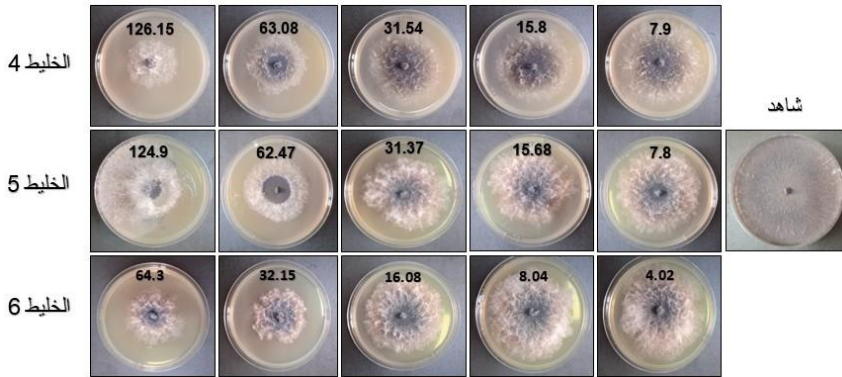
نوع التفاعل	قيمة MDR	EC_{50} حسب نموذج التركيز التجميعي (ملغ/لتر)	EC_{50} التجريبية (ملغ/لتر)	الخليط
تأزري	4.18	65.86	15.76	الخليط 1
تأزري	3.97	88.98	22.45	الخليط 2
تأزري	7.92	48.3	6.1	الخليط 3
إضافة	1.76	62.12	35.34	الخليط 4
تأزري	3.39	82.75	24.41	الخليط 5
إضافة	1.25	41.52	33.27	الخليط 6



شكل 2. فعالية الخلائط (1-3) ضد الفطر المستهدف مخبرياً. استخدمت تراكيز متدرجة من كل خليط (التراكيز جميعها ملغ/لتر)

دراسة التفاعل بين خلانط ثنائية من المركب الطبيعي 3-butylidene phthalide مع مبيد
ديفينوكونازول و ثيوفانات ميتيل ضد الفطر الممرض *Macrophomina sp.*

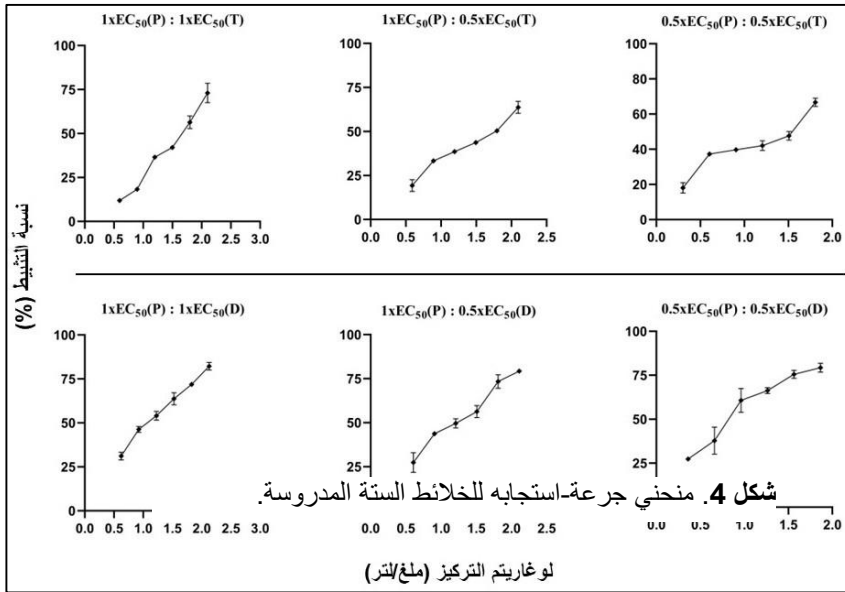
في حالة الخلانط المكونة من مركب بوتيليدين فتاليد مع مبيد ثيوفانات ميتيل (خلانط 4-6) كان التفاعل التآزري منخفضاً مقارنة بالخلانط المكونة من مركب بوتيليدين فتاليد مع مبيد ديفنوكونازول. تراوحت قيم معامل انحراف النموذج MDR بين 1.25 حتى 3.39.



شكل 3. فعالية الخلانط (4-6) ضد الفطر المستهدف مخبرياً، (جميع التراكيز ملغ/لتر).

أظهر الخليط 5 المكون من $1 \times EC_{50}$ من بوتيليدين فتاليد مع $0.5 \times EC_{50}$ من ثيوفانات ميتيل تفاعلاً تآزرياً بقيمة $EC_{50} = 24.41$ ملغ/لتر. في حين أظهرت باقي الخلانط (4 و 6) تفاعلاً من نوع الإضافة بين مكونات الخليط ما يشير إلى عدم قدرة الزيت العطري على رفع فعالية مبيد ثيوفانات ميتيل في الخلانط المذكورة، وهذا قد يعزى إلى أن مبيد ثيوفانات ميتيل يعد ذو خطر

مقاومة مرتفع (High Risk)، إضافة لاستخدامه بشكل موسع محلياً وعالمياً ما خفف من فعاليته بسبب تشكل سلالات مقاومة له (جدول 2 وشكل 3 و 4).



من خلال قيم MDR المرتفعة و خاصة للخلائط 1-3 نلاحظ أن نموذج التأثير التجميعي (Concentration addition) يميل إلى التقليل نسبياً من سمية الخلائط المدروسة، ومع ذلك فقد كان النموذج دقيقاً في التنبؤ بفعالية الخلائط 4-6 و هذا ما يتفق مع عدة دراسات سابقة استخدمت هذا النموذج في التنبؤ بفعالية خلطات ثنائية من المبيدات [8، 10].

لم يظهر الزيت العطري لمركب بوتيليدين فتاليد أي نوع من تفاعلات التضاد (Antagonist) تجاه المبيد المدروسين، وكان الأثر التآزري هو الغالب في معظم الخلائط الثنائية المدروسة، ما يشير إلى أهمية هذا الزيت العطري الطبيعي في رفع كفاءة المبيدات مخبرياً و خاصة المركبات

الأزولية كمبيد ديفنوكونازول، وهذا يتطلب إجراء المزيد من الأبحاث للوقوف على قدرته التآزيرية حقلياً لاحقاً.

إن استخدام المبيدات الفطرية بصورة خلاط ثنائية يعد طريقة مثالية لخفض الجرعات المستخدمة من المبيدات عالية الخطورة من حيث تشكيل السلالات المقاومة للمبيدات الفطرية وخاصة المركبات الأزولية [1، 18، 19]، و بالتالي فإن استخدام مركب بوتيليدين فتاليد في خلاط المبيدات الفطرية قد يساهم بشكل كبير بخفض سرعة تشكل السلالات المقاومة للمبيدات الفطرية مع الأخذ بعين الاعتبار قدرته العاليه على تثبيط الأجسام الحجرية للفطريات الممرضة و كسر دورة حياتها [5].

عادة ما تمتلك الزيوت الأساسية الطبيعية نواة عطرية ومجموعة هيدروكسيل أو كربوكسيل، ومركبات فينولية يمكن أن يكون لها تأثير على التفاعلات مع المسارات الحيوية الأساسية للفطريات، مما يعزز نشاطها الإبادي للفطريات [20، 21]. إن وجود النواة العطرية إضافة للحلقة غير المتجانسة المرتبطة بذرة الأوكسيجين في مركب بوتيليدين فتاليد من الممكن أن يكون عاملاً لحدوث الفعل التآزيري مع المبيدات المستخدمة في الخلاط وخاصة مبيد ديفينوكونازول.

أثبت مركب بوتيليدين فتاليد المستخرج من النبات العطرية فعالية ملحوظة ضد الفطريات الممرضة للنبات كما في فطر *Sclerotium rolfsii* [22، 23]، مايتوافق مع نتائج هذه الدراسة التي أظهر فيها المركب فعالية ملحوظة ضد الفطر المستهدف و خاصة عند استخدامة في الخلاط الثنائية مع مبيد فنوكونازول.

الاستنتاجات

1. أظهرت المركبات الثلاثة المستخدمة فعالية ملحوظة ضد فطر *Macrophomina sp.* عند استخدامها بحالتها الإفرادية، كما أظهر مركب بوتيليدين فتاليد تفاعلاً تآزرياً واضحاً عند استخدامه في الخلائط الثنائية مع المبيدين ديفينوكونازول و ثيوفانات ميتيل.
2. أظهرت الخلائط المكونة من الزيت العطري لمركب بوتيليدين فتاليد و مبيد ديفينوكونازول أعلى درجة من الفعالية التآزرية مع قيم معامل انحراف النموذج MDR بين 3.97 و 7.92.
3. لم يظهر الزيت العطري لمركب بوتيليدين فتاليد أي نوع من تفاعلات التضاد (Antagonist) تجاه المبيدين المدروسين، وكان الأثر التآزري هو الغالب في معظم الخلائط الثنائية المدروسة.

التوصيات

1. يوصى بإجراء المزيد من الأبحاث حول الفعالية التآزرية لمركب بوتيليدين فتاليد حقلياً لتأكيد النتائج التي تم الحصول عليها مخبرياً مع إجراء اختبارات متقدمة مخبرياً و حاسوبياً لبيان آلية تفاعل هذا المركب مع مكونات الخلائط الأخرى.
2. إجراء أبحاث للوقوف على التأثيرات السلبية المحتملة لهذه الخلائط على الكائنات غير المستهدفة وفي مقدمتها الإنسان.

المراجع

1. Corkley, I., Fraaije, B., & Hawkins, N. (2022). Fungicide resistance management: Maximizing the effective life of plant protection products. **Plant Pathology**, 71(1), 150–169.
2. Deresa, E. M., & Diriba, T. F. (2023). Phytochemicals as alternative fungicides for controlling plant diseases: A comprehensive review of their efficacy, commercial representatives, advantages, challenges for adoption, and possible solutions. **Heliyon**, 9(3), e13847.
3. Ahmed, H. F., Seleiman, M. F., Mohamed, I. A., Taha, R. S., Wasonga, D. O., & Battaglia, M. L. (2023). Activity of essential oils and plant extracts as biofungicides for suppression of soil-borne fungi associated with root rot and wilt of marigold (*Calendula officinalis* L.). **Horticulturae**, 9(2), 222.
4. Santra, H. K., & Banerjee, D. (2020). Natural products as fungicide and their role in crop protection. In *Natural bioactive products in sustainable agriculture* (pp. 131–219).
5. Abbod, M., Safaie, N., Gholivand, K., Mehrabadi, M., & Bonsaii, M. (2020). Mode of action of 3-butylidene phthalide as a competent natural pesticide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 164, 228–236.
6. Gupta, V., Mittal, P., Bansal, P., Khokra, S. L., & Kaushik, D. (2010). Pharmacological potential of *Matricaria recutita* - A review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research**, 2(1), 12–16.
7. Karaca, N., Demirci, B., Gavahian, M., & Demirci, F. (2023). Enhanced bioactivity of rosemary, sage, lavender, and chamomile essential oils by fractionation, combination, and emulsification. **ACS Omega**, 8(12), 10941–10953.
8. Abbod, M., & Khallouf, E. (2024). Investigating the combined effects of binary mixtures comprising essential oils and Azole fungicides on some plant pathogenic fungi. *Journal of Crop Protection*, 13(2), 115–124.
9. van den Bosch, F., Oliver, R., van den Berg, F., & Paveley, N. (2014). Governing principles can guide fungicide-resistance management tactics. **Annual Review of Phytopathology**, 52, 175–195.

10. Belden, J. B., Gilliom, R. J., & Lydy, M. J. (2007). How well can we predict the toxicity of pesticide mixtures to aquatic life? *Integrated Environmental Assessment and Management*, 3(3), 364–372.
11. Altenburger, R., Walter, H., & Grote, M. (2004). What contributes to the combined effect of a complex mixture? **Environmental Science & Technology**, 38(23), 6353–6362.
12. Marquez, N., Giachero, M. L., Declerck, S., & Ducasse, D. A. (2021). *Macrophomina phaseolina*: General characteristics of pathogenicity and methods of control. **Frontiers in Plant Science**, 12, 634397.
13. Mahdizadeh, V., Safaie, N., & Goltapeh, E. M. (2011). Diversity of *Macrophomina phaseolina* based on morphological and genotypic characteristics in Iran. **The Plant Pathology Journal**, 27(2), 128–137.
14. Aboshosha, S. S., Attaalla, S. I., El-Korany, A. E., & El-Argawy, E. (2007). Characterization of *Macrophomina phaseolina* isolates affecting sunflower growth in El-Behera Governorate, Egypt. **International Journal of Agriculture and Biology**, 9(6), 807–815.
15. Schmitz, H. (1930). Poisoned food technique. **Ind. Eng. Chem. Analyst Ed**, 2, 361.
16. Fai, P. B. A., Tsobgny Kinack, J. S., & Tala Towa, Y. J. (2017). Acute effects of binary mixtures of Type II pyrethroids and organophosphate insecticides on *Oreochromis niloticus*. **Ecotoxicology**, 26, 889–901.
17. Cedergreen, N. (2014). Quantifying synergy: A systematic review of mixture toxicity studies within environmental toxicology. **PLOS ONE**, 9(5), e96580.
18. Maria, Naz, I., Khan, R., Alam, S. S., Iqbal, O., Akram, S., Rajput, N. A., Younas, M. U., Qasim, M., Ali, I., & Elsalahy, H. H. (2024). Unleashing the synergistic effect of promising fungicides: A breakthrough solution for combating powdery mildew in pea plants. **Frontiers in Microbiology**, 15, 1448033.
19. Zhou, F., Li, G., Li, J., Zhang, S., Liang, Y., Gui, Y., Li, W., & Liu, R. (2025). Combined application of fluazinam with triazole fungicides results in synergistic activity against *Fusarium crown rot*. **Plant Pathology**, 74(6), 1560–1569.
20. Chitiva-Chitiva, L. C., Ladino-Vargas, C., Cuca-Suárez, L. E., Prieto-Rodríguez, J. A., & Patiño-Ladino, O. J. (2021). Antifungal activity of chemical constituents from *Piper pesaresanum* C. DC. and derivatives against phytopathogen fungi of cocoa. **Molecules**, 26(11), 3256.

21. Hassan, H. A., Genaidy, M. M., Kamel, M. S., & Abdelwahab, S. F. (2020). Synergistic antifungal activity of mixtures of clove, cumin and caraway essential oils and their major active components. **Journal of Herbal Medicine**, 24, 100399.
22. Cui, K., He, Y., Wang, M., Li, M., Jiang, C., Wang, M., He, L., Zhang, F., & Zhou, L. (2023). Antifungal activity of *Ligusticum chuanxiong* essential oil and its active composition butylidenephthalide against *Sclerotium rolfsii*. **Pest Management Science**, 79(12), 5374–5386.
23. Luo, Z., Deng, Y., Luo, B., Li, Y., Lan, Q., Fan, J., Xue, W., Tang, L., & Fan, L. (2021). Design and synthesis of novel n-butylphthalide derivatives as promising botanical fungicides. **Zeitschrift für Naturforschung C**, 76(3–4), 117–127.

تأثير السيلينيوم النانوي في بعض المؤشرات الدموية لكباش أغنام العواس

The effect of nano-selenium on some blood indices of Awassi rams

ايهاب احمد عبيدو¹ حسان عباس² عبد الناصر العمر³ سراج ريا⁴ فرح عبيدو⁵ خالد قاسم⁶ نور قاص بولات⁷

الملخص

أجريت هذه الدراسة في محطة بحوث مرج الكريم التابعة لوزارة الزراعة بريف منطقة سلمية في محافظة حماه لمدة ثلاثة أشهر في الفترة الممتدة بين 2023/8/29 و 2023/11/28، بهدف دراسة تأثير إضافة مستويات مختلفة من السيلينيوم النانوي إلى علائق كباش أغنام العواس في بعض المؤشرات الدموية (CBC، البروتين الكلي والألبومين والغلوبيولين، وظائف الكبد ALT، AST، الكرياتينين والبولية، نسبة السيلينيوم في الدم، وتركيز هرمون التستسترون). استخدم في التجربة 12 كبش من أغنام العواس بعمر 3 سنوات، وزعت إلى أربع مجموعات، ضم كل منها 3 كباش. عوملت جميع المجموعات معاملة واحدة من حيث التغذية وظروف الرعاية، باستثناء نوع وكمية السيلينيوم المضافة لخلطتها العلفية، إذ أعطيت المجموعة الاولى (مجموعة الشاهد) سيلينيوم معدني، أما المجموعات الثلاثة المتبقية (مجموعات التجربة) أعطيت سيلينيوم نانوي وفق النسب التالي: المجموعة الثانية (0.3 ملغ /كغ علف جاف)، المجموعة الثالثة (0.4 ملغ /كغ علف جاف)، المجموعة الرابعة (0.5 ملغ /كغ علف جاف). بيّنت النتائج أنّ إضافة السيلينيوم النانوي بنسب مختلف بديلاً عن السيلينيوم المعدني أدت إلى وجود زيادة معنوية ($P \leq 0.05$) في

¹طالب دكتوراه في قسم الإنتاج الحيواني كلية الهندسة الزراعية، جامعة حمص، حمص، سوريا.

²أستاذ في قسم الإنتاج الحيواني كلية الهندسة الزراعية، جامعة حمص، حمص، سوريا.

³دكتور في مركز بحوث حماه، وزارة الزراعة، حماه، سوريا.

⁴دكتور في الإنتاج الحيواني، خبير الثروة الحيوانية، منظمة الفاو، دمشق، سوريا.

⁵طبيب بشري إحصائي أمراض نسائية وتناسلية، دمشق، سوريا.

⁶دكتور مهندس في كلية الهندسة الزراعية، جامعة حماه، حماه، سوريا.

⁷طالب ماجستير في قسم وقاية النبات كلية الهندسة الزراعية، جامعة حمص، حمص، سوريا.

كل من قيمة خضاب الدم، النسبة المئوية للكسر الحجمي، تعداد الكريات الحمراء والبيضاء، محتوى الدم من البروتينات الكلية والألبومين والغلوبولين، تركيز هرمون التستسترون وتركيز السيلينيوم في الدم، كما أدت إلى تحسن معنوي في قيمة وظائف الكبد ALT وAST، وانخفاض معنوي في نسبة العدلات قابلته زيادة معنوية في نسبة اللمفاويات.

كلمات مفتاحية: تقانة النانو، أغنام العواس، سيلينيوم نانوي، كباش، مؤشرات دموية.

Abstract

This study was conducted at the Marj Al-Karim Research Station of the Ministry of Agriculture in the countryside of Salamiyah district in Hama Governorate for a period of three months, from 29/8/2023 to 28/11/2023. The aim was to study the effect of adding different doses of nano-selenium to the rations of Awassi rams on some blood indicators (CBC, Total protein, albumin, globulin, liver function ALT, AST, creatinine, urea, concentration of selenium, and testosterone concentration) in Awassi rams. The experiment used 12 Awassi rams, 3 years old, and distributed into four groups, each of which included 3 rams. All groups were treated identically in terms of nutrition and care conditions, except for the type and quantity of selenium added to their rations. The first group (Control group) was given mineral selenium, while the remaining three groups (the experimental groups) were given nano-selenium at the following ratios: Group 2 (0.3 mg/kg DMD, Group 3 (0.4 mg/kg DM), Group 4 (0.5 mg/kg DM). The results showed that adding nano-selenium in different proportions instead of metallic selenium led to a statistically significant increase ($P \leq 0.05$) in both the value of the blood hemoglobin, the percentage of volumetric fracture, the census of red and white cells, the blood content of the total proteins, albumin and globulin, the concentration of the hormone tiston and the concentration of selenium in the blood, as it led to a moral improvement in the value of the value ALT and AST liver function, and a morale in the percentage of neutrophils met a moral increase in the percentage of lymphocytes.

Keywords: Nanotechnology, Awassi sheep, Nano selenium, Rams, Blood indicators.

1- المقدمة

تُعدّ أغنام العواس من أقدم وأشهر السلالات المنتشرة في بلاد الشام والعراق، وتمتاز بقدرتها العالية على التكيف مع البيئات الجافة وشبه الجافة، إضافة إلى مردودها الاقتصادي المهم في إنتاج اللحوم والصوف والحليب، مما جعلها الركيزة الأساسية لتربية الأغنام في المنطقة (Epstein, 1980; Gul & Oflaz, 2021). كما أنّ كباش العواس تمثل المورد الوراثي الرئيس لبرامج التحسين التناسلي، إذ تعتمد عليها المزارع التقليدية والبحثية في عمليات الإخصاب الطبيعي والاصطناعي، ما يجعل رفع كفاءتها التناسلية هدفاً ذا أولوية في برامج التغذية والإدارة (Al-Janabi et al., 2023). ويُعدّ النظام الغذائي من أهم العوامل التي تؤثر في الحالة الصحية والقدرة التناسلية للكباش، إذ يؤدي نقص العناصر المعدنية إلى اضطراب الوظائف الحيوية وضعف جودة السائل المنوي وانخفاض معدلات الخصوبة (Vaswani & Kumar, 2023). من بين هذه العناصر يأتي السيلينيوم في مقدمة الملغذيات الدقيقة التي تلعب دوراً رئيسياً في دعم الخصوبة وصحة النطاف ووظائف الغدد التناسلية، فضلاً عن كونه مكوناً أساسياً في إنزيمات مضادة للأكسدة مثل الجلوتاثيون بيروكسيداز، التي تحمي الخلايا من الضرر التأكسدي الناتج عن الجذور الحرة (Surai, 2024)). وقد بينت دراسات عديدة أن إعطاء السيلينيوم بجرعات ملائمة يسهم في تحسين مؤشرات الدم العامة مثل عدد كريات الدم الحمراء والهيموغلوبين، مما يعكس تحسّن كفاءة نقل الأوكسجين والعمليات الأيضية المرتبطة بالنشاط التناسلي (Panev et al., 2013). غير أنّ الامتصاص المحدود للسيلينيوم في شكله المعدني التقليدي (كالسليينات والسلينايت) وقابليته للتأكسد السريع قلّل من فعاليته الحيوية، الأمر الذي دفع الباحثين إلى السعي لاستكشاف أشكال بديلة أكثر استقراراً وأماناً (Sadeghian et al., 2012). أظهرت تقنية النانو، خلال العقد الأخيرين، آفاقاً واعدة في هذا المجال، إذ أتاحت تحويل السيلينيوم إلى جسيمات نانوية تحسّن التوافر الحيوي وزيادة الامتصاص وتقليل السمية، ما جعله خياراً مفضلاً في بحوث تغذية المجترات (Rabee et al., 2023; Liu et al., 2023) وتشير دراسات عديدة إلى أنّ السيلينيوم النانوي يتمتع بقدرة أكبر على تعزيز الحالة التأكسدية والمناعية مقارنةً بالشكل المعدني، كما أنّ تأثيره الإيجابي يمتد إلى تحسين مؤشرات الدم ووظائف الأعضاء الحيوية المرتبطة بالكفاءة التناسلية للذكور (Al-Janabi et al., 2023). وفي هذا السياق، بينت دراسات أُجريت على الكباش أنّ

إضافة السيلينيوم النانوي أدت إلى ارتفاع معنوي في عدد كريات الدم الحمراء (RBC) وتركيز الهيموغلوبين (Hb) ونسبة الهيماتوكريت (HCT) مقارنةً بالمجموعات التي تلقت السيلينيوم المعدني، مما يدل على تحسّن قدرة الدم على نقل الأوكسجين ودعم الأيض الخلوي في الخصيتين (Sadeghian *et al.*, 2012; Panev *et al.*, 2013) كما لوحظ أنّ مكملات السيلينيوم النانوي أدت إلى زيادة عدد كريات الدم البيضاء (WBC) وتحسين التوازن في العدّ التفريقي للخلايا المناعية، الأمر الذي يعزز الاستجابة المناعية الضرورية للحفاظ على الأداء التناسلي للحيوانات (Rabee *et al.*, 2023). أما فيما يخصّ مؤشرات وظائف الكبد، فقد بيّنت الأبحاث أن تغذية الكباش بالسيلينيوم النانوي ساعدت على خفض نشاط إنزيمات الكبد ALT وAST مقارنةً بالشكل المعدني، وهو ما يعكس انخفاض العبء التأكسدي وتحسن سلامة خلايا الكبد (Liu *et al.*, 2023). كذلك لوحظ انخفاض نسبي في تركيز الكرياتينين في المصل عند استخدام السيلينيوم النانوي، مما يشير إلى سلامة الأداء الكلوي وعدم وجود إجهاد أيضي مفرط (Rabee *et al.*, 2023). من جهة أخرى، أظهرت عدة تجارب أنّ مكملات السيلينيوم، وبخاصة النانوي منه، تسهم في رفع مستويات البروتين الكلي والألبومين والغلوبولين في مصل الدم، مما يدل على تحسّن التمثيل البروتيني ودعم الحالة المناعية للكباش (Al-Janabi *et al.*, 2023). أما تركيز السيلينيوم في المصل فقد ارتفع بصورة ملحوظة في المجموعات التي تلقت الصيغة النانوية مقارنةً بالمعدنية، مؤكداً تفوق النانو في الامتصاص والتوزيع الحيوي (Sadeghian *et al.*, 2012). هذه النتائج مجتمعة تعكس قدرة السيلينيوم النانوي على تعزيز صحة الدم ووظائف الكبد والكلية والبروتينات البلازمية، مما يسهم في تحسين الكفاءة التناسلية للكباش ويدعم قدرتها على الإخصاب في نظم التربية التقليدية والبحثية. وقد خلصت هذه النتائج أيضاً إلى أن الزيادة في المؤشرات الدموية المختلفة الناتجة عن السيلينيوم النانوي كانت ضمن الحدود الطبيعية لهذه المؤشرات. ويوضح الجدول (1) الحدود الطبيعية الدنيا والعظمى للمؤشرات المدروسة في دم الأغنام. من ناحية أخرى، اختلفت الدراسات السابقة مع ما توصل إليه عدد من الباحثين الذين لم يسجلوا فروقاً معنوية ($P>0.05$) بين الأشكال المختلفة للسيلينيوم، في عدد من المؤشرات الدموية كتعداد الكريات الحمر والبيض، تركيز بروتينات الدم، ووظائف الكبد والكلية (Khalili *et al.*, 2020; Sadeghian Chaleshtori *et al.*, 2017; Al-Lataifeh *et al.*, 2024; Bai *et al.*, 2022).

بناءً على ما تقدم، تبرز الحاجة إلى مزيد من الدراسات التطبيقية حول تأثير التغذية بالسيلينيوم النانوي كبديل عن السيلينيوم المعدني في كباش أغنام العواس، بهدف توضيح الآليات الفسيولوجية الكامنة خلف التحسينات الدموية والإنزيمية وربطها بمؤشرات الخصوبة والأداء التناسلي، بما يسهم في تطوير استراتيجيات تغذية متقدمة تعتمد على التقانات النانوية لتحسين صحة القطيع وكفاءته الوراثية والإنتاجية.

جدول (1): الحدود الطبيعية الدنيا والعظمى للمؤشرات الدموية عند الأغنام

المؤشر الدموي	الحدود الدنيا - الحدود العليا	المرجع العلمي
RBC ($\times 10^6$ /ul)	9 – 15	Merck Veterinary Manual
WBC ($\times 10^3$ /ul)	4 – 12	Merck Veterinary Manual
العدلات (%)	40 – 20	Jackson & Cockcroft, 2002 (Appendix 2)
اللمفاويات (%)	75 – 50	Jackson & Cockcroft, 2002 (Appendix 2)
الهيموغلوبين (g/dl)	9 – 15	Merck Veterinary Manual
الهيماتوكريت (%)	45 – 27	Merck Veterinary Manual
الصفائح ($\times 10^3$ /mm ³)	100 – 800	Jackson & Cockcroft, 2002 (Appendix 2)
البولة (mg/dl)	10 – 30	Jackson & Cockcroft, 2002 (Appendix 3)
الكرياتينين (mg/dl)	0.6 – 1.6	Jackson & Cockcroft, 2002 (Appendix 3)
ALT (u/l)	6 – 19	Merck Veterinary Manual
AST (u/l)	60 – 280	Merck Veterinary Manual

Jackson & Cockcroft, 2002 (Appendix 3)	6 – 7.5	البروتين كلي (g/dl)
Jackson & Cockcroft, 2002 (Appendix 3)	2.4 – 3	الألبومين (g/dl)
Jackson & Cockcroft, 2002 (Appendix 3)	3.5 – 4.5	الغلوبولين (g/dl)
NRC (2007) Nutrient Requirements of Small Ruminants	80 – 250	سيلينيوم الدم (ug/l)

2- هدف البحث

يهدف البحث إلى دراسة تأثير تراكيز مختلفة من السيلينيوم النانوي (0.3 - 0.4 - 0.5 ملغ/كغ علف جاف) المضافة إلى علائق كباش أغنام العواس في بعض المؤشرات الدموية (CBC، البروتين الكلي والألبومين والغلوبولين، وظائف الكبد ALT AST، الكرياتينين والبولية، نسبة السيلينيوم في الدم، وتركيز هرمون التستسترون).

3- مواد البحث وطرقه

3-1 موقع التجربة: أجري هذا البحث في محطة بحوث مرج الكريم التابعة لوزارة الزراعة بريف منطقة سلمية في محافظة حماه لمدة ثلاثة أشهر في الفترة الممتدة بين 2023/8/29 و2023/11/28.

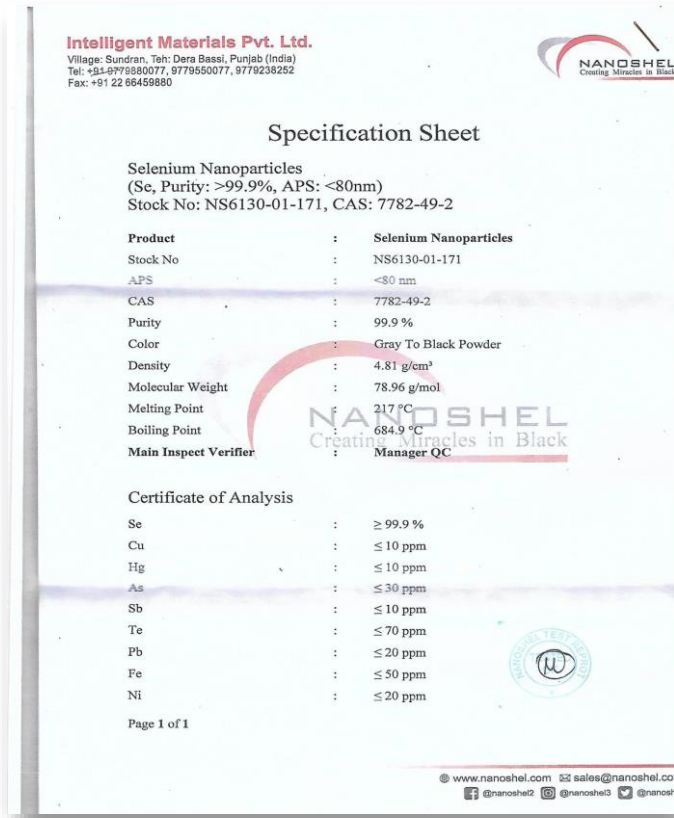
3-2 حيوانات ومجموعات التجربة: استخدم في هذه التجربة 12 كبشاً من أغنام العواس بعمر 3 سنوات، وزعت إلى أربع مجموعات وضمت كل مجموعة 3 كباش، وعوملت جميع الكباش معاملة واحدة من حيث ظروف الرعاية والتغذية، باستثناء نوع وكمية السيلينيوم في التغذية التي اختلفت وفق خطة البحث، والتي شملت أربع معاملات، وفق مايلي:

- المجموعة الاولى (مج1): وهي مجموعة الشاهد أعطيت سيلينيوم معدني.
- المجموعة الثانية (مج2): أعطيت سيلينيوم نانوي بنسبة 0.3 ملغ/كغ علف جاف.
- المجموعة الثالثة (مج3): أعطيت سيلينيوم نانوي بنسبة 0.4 ملغ/كغ علف جاف.
- المجموعة الرابعة (مج4): أعطيت سيلينيوم نانوي بنسبة 0.5 ملغ/كغ علف جاف.

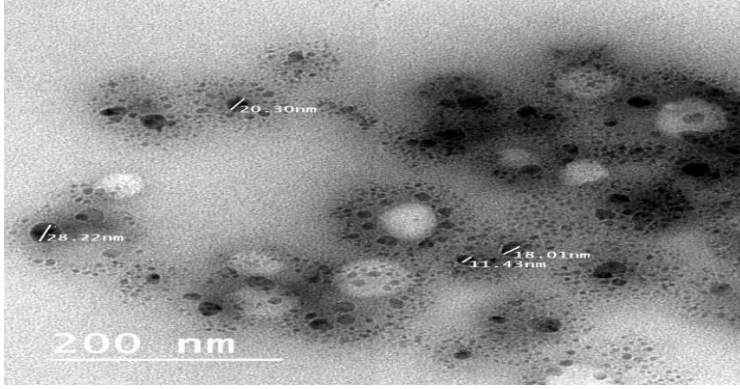
3-3 مصدر السيلينيوم النانوي وتحليله

تم الحصول على مادة السيلينيوم النانوي ذات اللون الرمادي المسود بدرجة نقاوة 99.9% وحجم جزيئاتها أصغر من 80 نانومتر من شركة NANOSHEL الهندية، ويوضح الشكل (1) صورة تحليل الشركة الهندية للمادة.

وقد تم التأكد من أقطار السيلينيوم النانوي بأخذ عينة وفحصها على المجهر الإلكتروني في هيئة الطاقة الذرية في دمشق ويبين الشكل (2) صورة المجهر الإلكتروني للسيلينيوم النانوي المستخدم في التجربة موضحاً عليها الأبعاد.



شكل (1): تحليل الشركة الهندية NANOSHEL لمادة السيلينيوم النانوي



شكل (2): قياس أبعاد جزيئات السيلينيوم النانوي تحت المجهر الإلكتروني

3-4 توزيع حيوانات التجربة على المعاملات

تمهيداً لتنفيذ التجربة، وخلال مرحلتها التحضيرية، أُجريت تحاليل دم وفحوص للسائل المنوي لعشرين كبشاً من سلالة العواس. وبناءً على النتائج، استُبعد ثمانية كباش لانحراف قيمها التحليلية بشكل واضح عن المتوسط العام لباقي الكباش، لأسباب يُرجح ارتباطها بالحالة الصحية أو التغذية أو الوراثة. بعد ذلك، وُزعت الكباش المتبقية (اثنا عشر كبشاً) بالتساوي على المجموعات التجريبية الأربع، مع مراعاة تحقيق أعلى درجة ممكنة من التجانس في متوسطات المؤشرات المدروسة بين المجموعات.

3-5 التغذية

تم إعطاء كباش التجربة خلطة علفية مشتركة نسبة البروتين الخام فيها 15%، وطاقتها 6.93 ميغا جول، مكونة من كسبة صويا، ذرة، شعير، نخالة القمح، ملح طعام، دي كالسيوم، وبريمكس لا يحتوي على سيلينيوم. تماثلت الخلطة العلفية المقدمة لمجموعات التجربة في جميع مكوناتها باستثناء نوع وكمية السيلينيوم فقد اختلفت بين المعاملات وفقاً لخطة البحث أنفة الذكر، فتم إضافة السيلينيوم المعدني إلى خلطة مجموعة الشاهد بشكل مباشر، بينما تم تجريع السيلينيوم النانوي لحيوانات مجموعات التجربة بواسطة محقن عن طريق الفم بعد تمديد الماء المقطر بنسب معينة بحيث تصل الجرعة اليومية اللازمة لكل معاملة ممددة بـ 2.5 مل ماء مقطر. تم حساب الجرعة اليومية اللازمة لكل حيوان بناءً على وزنه، حيث يستهلك كل حيوان بالمتوسط علف جاف مقداره 3.5% من وزنه، ومن معرفة كمية العلف الجاف المعطى للحيوان يمكننا حساب كمية الجرعة

اليومية من السيلينيوم النانوي الواجب إيصالها للحيوان (وفقاً للمجموعة التي ينتمي إليها) بعد تمديدها بـ 2.5 مل ماء مقطر. ويوضح الجدول (2) تركيب الخلطة العلفية المستخدمة في التجربة ومحتواها من الطاقة والبروتين الخام، وقد تم حساب نسبة البروتين والطاقة الموجودة في الخلطة بناءً على كمية الطاقة والبروتين الموجودة في مكوناتها.

جدول (2): مكونات الخلطة العلفية

المادة العلفية	نسبتها (%)	الطاقة الصافية (ميغا جول)	البروتين الخام (%)
كسبة صويا	12	7.3	44
نخالة	23	5.7	14
ذرة صفراء	10	8.4	8.5
شعير	52	7.5	11
ملح طعام	1	-	-
بريميكس (بدون سيلينيوم)	1	-	-
ديكالسيوم ثنائي الفوسفات	1	-	-
المجموع	100		
محتوى 1 كغ		6.93 ميغا جول	150.7 غ

3-6 المؤشرات الدموية المدروسة

أجري فحص العينات الدموية للكباش في مختبر للتحاليل الطبية في مدينة سلمية بمحافظة حماة، حيث تم تحليل الدم ثلاث مرات، الأولى قبل البدء بالتجربة والثانية بعد مضي شهر ونصف (في منتصف التجربة) والثالثة في نهاية التجربة، باستخدام جهازين من إنتاج شركة Mindray الصينية الأول هو جهاز BC-30s لعدّ خلايا الدم (شكل 3)، والثاني هو جهاز BS-240 لتحليل المؤشرات الكيميائية في المصل (شكل 4). وفي مختبر خصوبة التربة بكلية الهندسة الزراعية في جامعة حمص، باستخدام جهاز مقياس الطيف الذري الأفوميك لقياس تركيز السيلينيوم في الدم (شكل 5).

تم سحب الدم من الوريد الوداجي للكباش في الصباح الباكر (قبل تقديم العلف للحيوانات)، لتقليل التأثير المحتمل للعلف في المؤشرات الكيميائية مثل البروتين أو الكرياتينين أو الإنزيمات الكبدية. وُضِعَ الدم بعد سحبه فوراً بأنابيب سعة 2.5 مل استخدم منها نوعين، أنبوب يحتوي على مضاد

التخثر (EDTA) لتحليل المكونات الخلوية، وأنبوب خالٍ من مضاد التخثر لتحليل المصل بعد التجلط. نُقلت الأنابيب بسرعة إلى المختبر بعد سحب العينات. وفُحصت بشكل بصري أولاً عند وصولها إليه للتأكد من عدم وجود شوائب أو عكارة أو شحوم قد تؤثر في القياس.

خضعت عينات الدم المُخصصة للعدّ الخلوي لخلط لطيف لتجانس توزيع الخلايا، ثم أُدخلت إلى جهاز BC-30s أما عينات المصل فخضعت لعملية الطرد المركزي لفصل المصل ومن ثم نُقلت إلى داخل جهاز BS-240.

تم قياس تركيز السيلينيوم في الدم في مخبر التربة بكلية الزراعة جامعة حمص، بجهاز مقياس الطيف الذري الأفوميك (Atomic Absorption Spectrophotometer) من نوع Shimadzu AA-6800، وهو جهاز ياباني الصنع تنتجه شركة Shimadzu ويستخدم على نطاق واسع في المختبرات.



شكل (4): صورة جهاز BS-



شكل (3): صورة جهاز BC-30s

240

خضعت العينات قبل تحليل السيلينيوم لعملية هضم كيميائي بحمض الكبريت المركز باستخدام جهاز كداهل، الذي يقوم بتفكيك البروتينات والمركبات العضوية وتحرير السيلينيوم في صورة قابلة

للقياس. بعد اكتمال الهضم، خففت العينة بالماء المقطر للحصول على رشاخة صافية وخالية من المواد العالقة، تصلح للتحليل في جهاز مقياس الطيف الذري.



شكل (5): صورة جهاز مقياس الطيف الذري اثناء تحليل عينة الدم

3-7 التحليل الاحصائي

تم تحليل النتائج إحصائياً باستخدام برنامج Minitab 22.2 وفق طريقة تحليل التباين لمتغير واحد (One-way ANOVA) لدراسة تأثير إضافة السيلينيوم في المؤشرات المدروسة، ولإجراء المقارنة بين المتوسطات تم استخدام اختبار Fisher عند مستوى معنوية 0.05 (Gomez, 1984).

4- النتائج والمناقشة

4-1 عد الدم الكامل (CBC) وهرمون التسترون

يبين الجدول (4) تحاليل (CBC) وهرمون التسترون في بداية ووسط ونهاية التجربة.

جدول (4): تحاليل CBC وهرمون التسترون لكباش العواس في بداية ووسط ونهاية التجربة.

P	مج 4	مج 3	مج 2	مج 1	المؤشرات	
					المؤشرات	المؤشرات
0.926	9.2±0.5 ^{NS}	9.33±0.45 ^{NS}	9.07±0.55 ^{NS}	9.23±0.45 ^{NS}	بداية	RBC (×10 ⁶ /ul)
0.158	10.77±0.46 ^{NS}	10.53±0.6 ^{NS}	10.13±0.55 ^{NS}	9.83±0.41 ^{NS}	وسط	
0.006	12.37±0.6 ^a	11.87±0.31 ^a	11.13±0.4 ^{ab}	10.47±0.55 ^b	نهاية	
0.828	6.53±0.25 ^{NS}	6.57±0.2 ^{NS}	6.37±0.35 ^{NS}	6.43±0.31 ^{NS}	بداية	WBC (×10 ³ /ul)
0.123	8.07±0.4 ^{NS}	7.83±0.45 ^{NS}	7.47±0.45 ^{NS}	7.23±0.25 ^{NS}	وسط	
0.026	8.97±0.2 ^a	8.5±0.25 ^{ab}	8.23±0.36 ^{ab}	7.8±0.55 ^b	نهاية	
0.790	52±2 ^{NS}	50.67±1.53 ^{NS}	53±3 ^{NS}	52±4 ^{NS}	بداية	العدلات (%)
0.117	41.67±2.52 ^{NS}	42.83±3.25 ^{NS}	45±2 ^{NS}	47±2 ^{NS}	وسط	
0.008	35.5±2.29 ^b	36.33±2.52 ^b	39.67±0.58 ^{ab}	41.67±0.58 ^a	نهاية	
0.651	42±2 ^{NS}	43.33±1.5 ^{NS}	41±2 ^{NS}	42±3 ^{NS}	بداية	اللمفاويات (%)
0.206	51.67±2.52 ^{NS}	50.87±2.8 ^{NS}	48.83±2.02 ^{NS}	47.17±2.75 ^{NS}	وسط	
0.009	57.33±2.52 ^a	57±2 ^a	53.33±1.16 ^{ab}	51.67±0.58 ^b	نهاية	
0.993	8.9±0.36 ^{NS}	9±0.46 ^{NS}	8.93±0.45 ^{NS}	8.97±0.45 ^{NS}	بداية	الخصاب (g/dl)
0.054	10.9±0.53 ^a	10.57±0.38 ^{ab}	10.47±0.5 ^{ab}	9.73±0.25 ^b	وسط	
0.059	12.37±0.6 ^a	11.77±0.75 ^{ab}	11.23±0.75 ^{ab}	10.4±0.85 ^b	نهاية	
0.460	27.66±1.15 ^{NS}	28±1 ^{NS}	26.67±1.16 ^{NS}	27±1 ^{NS}	بداية	الهيماتوكريت (%)
0.384	32.33±3.51 ^{NS}	31.33±2.52 ^{NS}	30.33±2.52 ^{NS}	28.67±0.58 ^{NS}	وسط	
0.037	38.33±2.52 ^a	36.33±0.58 ^{ab}	34±3 ^{ab}	32±2 ^b	نهاية	
0.466	347.7±4.93 ^{NS}	353.7±4.73 ^{NS}	350.3±2.52 ^{NS}	350±5 ^{NS}	بداية	الصفائح (×10 ³ /m ³)
0.011	370.7±5 ^a	365.3±5.5 ^{ab}	357.7±2.5 ^b	355.3±4.5 ^b	وسط	
0.002	385.3±5.51 ^a	378.7±5.03 ^{ab}	369.3±5.13 ^{bc}	359.3±6 ^c	نهاية	
0.982	2.51±0.09 ^{NS}	2.51±0.3 ^{NS}	2.5±0.08 ^{NS}	2.48±0.13 ^{NS}	بداية	ك

تأثير السيلينيوم النانوي في بعض المؤشرات الدموية لكباش أغنام العواس

0.051	3.83±0.35 ^a	3.53±0.15 ^{ab}	3.17±0.65 ^{ab}	2.77±0.25 ^b	وسط
0.002	5.9±0.46 ^a	5.3±0.46 ^{ab}	4.53±0.45 ^{bc}	3.83±0.35 ^c	نهاية

* a, b, c : وجود الأحرف المختلفة ضمن السطر الواحد يعني وجود فروق معنوية ($P \leq 0.05$).

* NS: تعني عدم وجود فروق معنوية في العمود.

تُظهر نتائج الجدول (4) عدم وجود فروق معنوية ($P > 0.05$) بين المجموعات في جميع المؤشرات الدموية والهرمونية، مما يشير إلى تجانس الحيوانات قبل بدء المعاملة، كما لم تسجل معظم المؤشرات في منتصف التجربة فروقاً معنوية واضحة، وهو ما يعكس استقرار الحالة الفسيولوجية للكباش خلال المرحلة الأولى من التطبيق.

غير أن النتائج في نهاية التجربة بيّنت وجود فروق معنوية ($P \leq 0.05$) في عدد كريات الدم الحمراء والهيموغلوبين والهيماتوكريت، إذ سُجل ارتفاع واضح في هذه القيم لدى المجموعتين الثالثة والرابعة مقارنةً بمجموعة الشاهد، إذ بلغت قيم عد الحمر 11.87 و $12.37 \times 10^6/\mu\text{l}$ على التوالي، مقابل $10.47 \times 10^6/\mu\text{l}$ في مجموعة الشاهد. يُعزى هذا الارتفاع إلى الدور المحفز للسيلينيوم النانوي في إنتاج الإريثروبويتين وحماية خلايا نخاع العظم من الإجهاد التأكسدي، مما يؤدي إلى تعزيز تكوين كريات الدم الحمراء وتحسين كفاءتها الحيوية (Shen *et al.*, 2021; Sadeghian *et al.*, 2021). تتفق هذه النتائج مع ما وجد Malyugina وزملاؤه (2021) الذين سجلوا زيادات مشابهة.

كما ظهر ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في قيم الهيموغلوبين في منتصف التجربة لدى المجموعة الرابعة (10.9 غ/دل) مقارنةً بالشاهد (9.73 غ/دل)، واستمر هذا الارتفاع بنهاية التجربة بالتوازي مع زيادة معنوية ($P \leq 0.05$) في نسبة الهيماتوكريت، الأمر الذي يعكس تحفيز السيلينيوم للإريثروبويتين وزيادة كفاءة التمثيل الغذائي لكريات الدم الحمراء (Sadeghian *et al.*, 2012; Zhou *et al.*, 2025; Halawa *et al.*, 2023). وقد جاءت هذه النتائج منسجمة مع ما ورد لدى Bashar وآخرون (2022) و Panev وآخرون (2013)، الذين سجلوا ارتفاعاً معنوياً في عدد الكريات الحمر وتركيز الهيموغلوبين ونسبة الهيماتوكريت في الدم، في حين اختلفت مع Li وزملائه (2021)، اللذين لم يسجلوا فروقاً واضحة عند الجرعات العالية.

أما بالنسبة لعدد كريات الدم البيضاء، فقد لوحظ ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في نهاية التجربة لدى المجموعة الرابعة ($8.97 \times 10^6/\mu\text{l}$) مقارنةً بالشاهد ($7.8 \times 10^6/\mu\text{l}$)، مما يدل على الدور الحيوي للسيلينيوم في تعزيز النشاط المناعي وزيادة تكاثر الخلايا البلعمية واللمفاوية (Ibrahim et al., 2012; Sadeghian et al., 2012; Pecoraro et al., 2022; et al., 2025). تتوافق هذه النتيجة مع ما أورده Dehkordi وآخرون (2017) وXiao وآخرون (2024). كما أظهرت النتائج زيادة معنوية في نسبة الخلايا اللمفاوية مع انخفاض في نسبة العدلات لدى المجموعتين الثالثة والرابعة مقارنةً بالشاهد، وهو ما يُفسر كاستجابة مناعية متقدمة وتحسن في الحالة الدموية والمناعية للكباش نتيجة قدرة السيلينيوم على تعديل التوازن التأكسدي داخل الخلايا اللمفاوية مما يعزز تكاثرها النوعي ويقلل الحاجة لإنتاج العدلات (Shen et al., 2021; LYONS & Surai, 2007; Abdelnour et al., 2021). وقد جاءت هذه النتائج متفقة مع Shen وزملاؤه (2019) وHeidari وزملاؤه (2019).

كما بينت النتائج وجود فروق معنوية ($P \leq 0.05$) في تعداد الصفائح الدموية في منتصف ونهاية التجربة، إذ سجلت المجموعة الرابعة أعلى قيمة ($370.7 \times 10^3/\text{mm}^3$) في منتصف التجربة و($385.3 \times 10^3/\text{mm}^3$) في نهايتها، تلتها المجموعة الثالثة ($365.3 \times 10^3/\text{mm}^3$) في منتصف التجربة و($378.7 \times 10^3/\text{mm}^3$) في نهايتها، بينما بلغت قيمة الصفائح في الشاهد ($355.3 \times 10^3/\text{mm}^3$) في منتصف التجربة و($359.3 \times 10^3/\text{mm}^3$) في نهايتها. يعزى هذا الارتفاع إلى تأثير السيلينيوم النانوي في تقليل الإجهاد التأكسدي على الخلايا المكوّنة للصفائح الدموية وتحسين إنتاجها ضمن الحدود الفسيولوجية (Pecoraro et al., 2022; Abdelnour et al., 2021). وفيما يتعلق بتركيز هرمون التستوسترون، لم تُلاحظ فروق معنوية ($P > 0.05$) في بداية التجربة، في حين سُجلت فروق معنوية ($P \leq 0.05$) في منتصفها لدى المجموعة الرابعة (3.83 نغ/مل) مقارنةً بالشاهد (2.77 نغ/مل)، واستمر هذا الاتجاه التصاعدي حتى نهاية التجربة، إذ بلغت القيم 5.3 و 5.9 نغ/مل في المجموعتين الثالثة والرابعة على التوالي مقابل 3.83 نغ/مل في الشاهد. يُعزى هذا الارتفاع إلى دور السيلينيوم في تعزيز التعبير الجيني لبروتين STAR وتنشيط الخلايا الليبديجية في الخصية مع تخفيف الإجهاد التأكسدي، مما يؤدي إلى تحفيز تخليق الستيرويدات (Crespo et al., 1995; Hernández-Carrillo et al., 2022).

(Kachuee *et al.*, 2019). تُظهر هذه النتائج مجتمعةً أن السيلينيوم النانوي، وخصوصاً عند التراكيز الأعلى (0.4 و 0.5 ملغ/كغ علف جاف)، يمتلك تأثيراً إيجابياً واضحاً في تحسين المؤشرات الدموية والهرمونية لكباش العواس من خلال تعزيز إنتاج خلايا الدم الحمراء والبيضاء والصفائح، ورفع مستوى هرمون التستوسترون.

4-2 التحاليل الكيميائية الحيوية للدم

يبين الجدول (5) التحاليل الكيميائية الحيوية للدم في بداية ووسط ونهاية التجربة.

جدول (5): التحاليل الكيميائية الحيوية لدم كباش العواس في بداية ووسط ونهاية التجربة.

P	مج4	مج3	مج2	مج1	المؤشرات	
0.528	44.67±0.16 ^{NS}	45.66±0.16 ^{NS}	45.33±0.58 ^{NS}	45.67±0.58 ^{NS}	بداية	البولة (mg/dl)
0.163	36±3 ^{NS}	37.33±4.04 ^{NS}	39.33±3.06 ^{NS}	42.33±2.52 ^{NS}	وسط	
0.065	29.67±4.51 ^{NS}	31.66±3.51 ^{NS}	34.67±3.5	38.33±1.53 ^{NS}	نهاية	
0.719	1.23±0.06 ^{NS}	1.27±0.06 ^{NS}	1.2±0.1 ^{NS}	1.2±0.1 ^{NS}	بداية	الكرياتينين (mg/dl)
0.095	1.07±0.06 ^{NS}	1.03±0.05 ^{NS}	1.07±0.06 ^{NS}	1.17±0.06 ^{NS}	وسط	
0.170	0.9±0.1 ^{NS}	1±0.1 ^{NS}	0.97±0.06 ^{NS}	1.07±0.06 ^{NS}	نهاية	
0.507	38.33±1.53 ^{NS}	39±2 ^{NS}	36.67±2.52 ^{NS}	38±1 ^{NS}	بداية	ALT (u/l)
0.048	26.67±2.52 ^a	28±2 ^{ab}	29.33±2.08 ^{ab}	32.33±1.53 ^b	وسط	
0.019	17.33±3.06 ^a	20±3 ^{ab}	23.33±2.52 ^{ab}	26±2 ^b	نهاية	
0.278	140.6±0.5 ^{NS}	139.7±2.5 ^{NS}	137.7±1.5 ^{NS}	140±2 ^{NS}	بداية	AST (u/l)
0.000	91.3±2.1 ^a	97.7±3.5 ^{ab}	105.3±4.5 ^{bc}	114.7±4.5 ^c	وسط	
0.000	67±3.61 ^a	74.67±2.52 ^a	84.67±3.51 ^b	94.33±3.06 ^c	نهاية	
0.643	6±2 ^{NS}	6.13±0.15 ^{NS}	5.87±0.35 ^{NS}	6.03±0.25 ^{NS}	بداية	البروتين الكلي (g/dl)
0.025	7±0.3 ^a	6.8±0.54 ^{ab}	6.6±0.2 ^{ab}	6.4±0.1 ^b	وسط	
0.002	7.87±0.31 ^a	7.67±0.12 ^a	7.33±0.15 ^{ab}	6.9±2 ^b	نهاية	
0.485	2.9±0.1 ^{NS}	2.97±0.06 ^{NS}	2.8±0.2 ^{NS}	2.9±0.11 ^{NS}	بداية	الألبومين (g/dl)
0.023	3.43±0.15 ^a	3.3±0.01 ^{ab}	3.2±0.1 ^{ab}	3.13±0.06 ^b	وسط	
0.004	3.73±0.15 ^a	3.63±0.06 ^a	3.53±0.06 ^{ab}	3.3±0.1 ^b	نهاية	
0.813	3.1±0.1 ^{NS}	3.17±0.12 ^{NS}	3.07±0.15 ^{NS}	3.13±0.15 ^{NS}	بداية	الغلوبيولين (g/dl)
0.035	3.57±0.15 ^a	3.47±0.06 ^{ab}	3.4±0.1 ^{ab}	3.27±0.06 ^b	وسط	
0.001	4.13±0.15 ^a	4.03±0.06 ^{ab}	3.8±0.1 ^{bc}	3.6±0.1 ^c	نهاية	

تأثير السيلينيوم النانوي في بعض المؤشرات الدموية لكباش أغنام العواس

	سيلينيوم الدم (µg/l)				
0.990	110±7 ^{NS}	109.3±5.51 ^{NS}	111±8.54 ^{NS}	110.3±2.52 ^{NS}	بداية
0.002	222.67±17.16 ^a	191.7±17.6 ^{ab}	169.33±14.01 ^{bc}	145±12 ^c	وسط
0.001	283.3±28.7 ^a	231±22.1 ^{ab}	200.67±17.04 ^{bc}	159.33±15.04 ^c	نهاية

* a, b, c : وجود الأحرف المختلفة ضمن السطر الواحد يعني وجود فروق معنوية ($P \leq 0.05$).

* NS: تعني عدم وجود فروق معنوية في العمود.

تُظهر نتائج التحاليل الدموية في الجدول (5) عدم وجود فروق معنوية في بداية التجربة ($P > 0.05$) بين المجموعات في جميع المؤشرات المقاسة، في حين بدأت التغيرات المعنوية ($P \leq 0.05$) بالظهور بشكل واضح مع تقدم فترة التجربة، ولا سيما في نهايتها، مما يعكس التأثير التراكمي للسيلينيوم النانوي على المؤشرات الحيوية المدروسة.

سجلت البولة انخفاض غير معنوي ($P > 0.05$) في المجموعات المعاملة بالسيلينيوم النانوي مقارنةً بالشاهد، إذ بلغت قيمتها في نهاية التجربة (38.33 mg/dl) في مجموعة الشاهد مقابل (29.67 mg/dl) في المجموعة الرابعة. أما الكرياتينين فقد تراوحت قيمه في نهاية التجربة بين (1.07 mg/dl) في الشاهد و(0.9 mg/dl) في المجموعة الرابعة، مسجلةً انخفاضاً غير معنوي أيضاً ($P > 0.05$). يُعزى التراجع في مستويات كل من البولة والكرياتينين إلى الدور الوقائي للسيلينيوم في حماية خلايا الأنابيب الكلوية من الإجهاد التأكسدي وتقليل تلف النسيج الكلوي (Ibrahim et al., 2025؛ Tan et al., 2025). وذلك عبر تعزيز منظومة مضادات الأكسدة وتقليل تراكم الجذور الحرة، مما يحد من تلف البروتينات والدهون والحمض النووي. كما يقلل من الالتهاب، ويمنع مسارات موت الخلايا والفقدان الوظيفي للأنابيب الكلوية، وبالتالي يخفف من تلف النسيج الكلوي.

أما بالنسبة لإنزيمات الكبد ALT وAST، فقد سجل إنزيم ALT في منتصف التجربة انخفاضاً معنوياً ($P \leq 0.05$) لدى المجموعة الرابعة (U/L26.67) مقارنةً بالشاهد (U/L32.33)، وهو ما يعكس تحسناً في كفاءة الكبد نتيجة انخفاض تسرب الإنزيمات من الخلايا الكبدية إلى الدم بفضل النشاط المضاد للأكسدة للسيلينيوم النانوي (Salam et al., 2021؛ Shi et al., 2011). كما لوحظ انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في إنزيم AST لدى المجموعة الرابعة (U/L91.3) مقارنةً بمجموعة الشاهد (U/L114.7)، مما يدل على تحسن وظيفة الكبد وتقليل تلف أنسجته نتيجة

التأثير الوقائي للسيلينيوم النانوي (Salam *et al.*, 2021؛ Qin *et al.*, 2016). وفي نهاية التجربة، استمر الانخفاض في كل من ALT وAST، إذ بلغت قيم ALT (U/L17.33) في المجموعة الرابعة، مقابل (U/L26) في الشاهد، كما بلغت قيم AST (U/L67) في المجموعة الرابعة، مقابل (U/L94.33) في الشاهد، مما يؤكد استمرار تحسن وظائف الكبد وتعزيز الدفاعات المضادة للأكسدة وتقليل تسرب الإنزيمات من الأنسجة الكبدية (Ibrahim *et al.*, 2025). وفيما يتعلق بالبروتينات، أظهرت القيم في منتصف التجربة ارتفاعاً معنوياً ($P \leq 0.05$) في البروتين الكلي، إذ سجلت المجموعة الرابعة أعلى قيمة بلغت (g/dl7.0) مقارنةً بالشاهد (g/dl6.4). استمرت الفروق المعنوية ($P \leq 0.05$) حتى نهاية التجربة، فبلغت قيمة بروتين المجموعتين الثالثة (g/dl7.67) والرابعة (g/dl7.87) مقارنةً ببروتين الشاهد (g/dl6.9)، يُعزى هذا التحسن إلى تحفيز السيلينيوم للنشاط التخمر الكبدية وزيادة قدرة الكبد على استخدام الأحماض الأمينية في تخليق البروتين (Ibrahim *et al.*, 2025؛ Ji *et al.*, 2025). كما ارتفعت قيم الألبومين معنوياً ($P \leq 0.05$)، إذ بلغت في منتصف التجربة في المجموعة الرابعة (g/dl3.43) مقابل (g/dl3.13) في الشاهد، وبلغت في نهاية التجربة في المجموعتين الثالثة (g/dl3.63) والرابعة (g/dl3.73) مقارنةً بالشاهد (g/dl3.3)، ويُفسر هذا الارتفاع بتحسين السيلينيوم لوظيفة الكبد وانتظام نفاذية أغشية خلاياه مما يقلل فقد الألبومين في الدوران الدموي (Ibrahim *et al.*, 2025؛ Salam *et al.*, 2021). كذلك ارتفع تركيز الغلوبولين معنوياً ($P \leq 0.05$) في وسط التجربة في المجموعة الرابعة (g/dl3.57) مقارنةً بالشاهد (g/dl3.27)، واستمر هذا التفوق مع تقدم التجربة إذ بلغ في نهايتها في المجموعتين الثالثة (g/dl4.03) والرابعة (g/dl4.13) مقارنةً بالشاهد (g/dl3.6). يعزى هذا الارتفاع إلى تحفيز السيلينيوم لإنتاج الغلوبولين المناعي وتعزيز استجابة الخلايا البائية عبر تعديل التوازن التأكسدي (Xiao *et al.*, 2024; Kieliszek *et al.*, 2022).

أما بالنسبة لتركيز السيلينيوم في الدم، فلم يكن هناك فروق معنوية ($P > 0.05$) بين المجموعات في بداية التجربة. بدأ هذا الفرق ($P \leq 0.05$) بالظهور بشكل واضح في منتصف التجربة، وزاد مع تقدمها، فتراوحت القيم في منتصف التجربة بين (µg/L145) في الشاهد و(µg/L190)، (µg/L200) في المجموعتين الثالثة والرابعة على التوالي، وفي نهاية التجربة، ارتفع تركيز

السيلينيوم في الدم إلى ($\mu\text{g/L}230$)، ($\mu\text{g/L}280$) في المجموعتين الثالثة والرابعة مقارنةً بتركيز مقداره ($\mu\text{g/L}160$) في الشاهد. يُعد هذا الارتفاع مؤشراً على كفاءة امتصاص وتوزيع السيلينيوم النانوي في الأنسجة الحيوية وتعزيزه لنشاط السيلينيوبروتينات مثل غلوتاثيون بيروكسيداز (Xiao *et al.*, 2024; Abdelnour *et al.*, 2021). وقد توافقت هذه النتيجة مع Ibrahim وزملاؤه (2025).

5- الاستنتاجات والتوصيات

تبين من خلال هذه الدراسة أن للسيلينيوم النانوي تأثير إيجابي في أغلب المؤشرات الدموية المدروسة وقد تناسب هذا التأثير طرداً مع كمية السيلينيوم النانوي المضافة وطول فترة التجريب، فقد حققت المعاملة الرابعة التي أعطي كباشها سيلينيوم نانوي مقداره 0.5 ملغ / كغ علف جاف أفضل قيمة لتعداد كريات الدم الحمراء والبيضاء والصفائح الدموية، وأعلى تركيز للهيموغلوبين والهيماتوكريت وللسيلينيوم في الدم، إضافة لتفوقها على مجموعة الشاهد في قيم هرمون التستسترون ونسبة البروتين الكلي والألبومين والغلوبيولين في الدم، وقد حققت أيضاً أفضل مؤشر لوظائف الكبد والكلى.

بناءً على ما سبق نوصي بالاعتماد على السيلينيوم النانوي بتركيز 0.5 ملغ/كغ علف جاف في برامج تغذية كباش أغنام العواس لتحسين مؤشرات الدم والأداء المناعي والوظائف الأيضية والتناسلية، كما نوصي الباحثين بمتابعة ما توصلنا إليه في هذه الدراسة، والتوسع في تجارب تقييم الأثر الإنتاجي (نمو، تكوين لحم) للسيلينيوم النانوي لضمان تطبيق عملي متكامل في مزارع الأغنام.

6- المراجع

- 1- Abdelnour, S. A., Alagawany, M., Hashem, N. M., Farag, M. R., Alghamdi, E. S., Hassan, F. U., Bilal, R. M., Elnesr, S. S., Dawood, M. A. O., Nagadi, S. A., Elwan, H. A. M., ALmasoudi, A. G., & Attia, Y. A. (2021). Nanominerals: Fabrication Methods, Benefits and Hazards, and Their Applications in Ruminants with Special Reference to Selenium and Zinc Nanoparticles. *Animals: an open access journal from MDPI*, 11(7), 1916.
- 2- Al-Janabi, A. K. A. F., Asker, A. S., Tawfeeq, A. A., & Alhamdani, H. A. A. (2023). The effect of using nano-selenium and vitamin D3 on some blood parameters in male Awassi lambs. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1158, 052016.
- 3- Al-Lataifeh, F. A., Obeidat, B. S., Awawdeh, M. S., & Ata, M. A. (2024). Selenium supplementation to Awassi lambs did not improve their growth performance. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 30(5), 870-874
- 4- Bai, X., Li, F., Li, F., & Guo, L. (2022). Different dietary sources of selenium alter meat quality, shelf life, selenium deposition, and antioxidant status in Hu lambs. *Meat Science*, 194, 108961.
- 5- Bashar, A. M., Abdelnour, S. A., El-Darawany, A. A., & Sheiha, A. M. (2022). Effect of selenium nanoparticles and/or *Spirulina platensis* on growth, hematobiochemical, antioxidant status, hormonal profile, immunity, and apoptosis of growing rabbits exposed to thermal stress. *Egyptian Journal of Rabbit Science*, 32(1), 77–103.
- 6- Crespo, A. M., Lança, M. J., Vasconcelos, S., Andrade, V., Rodrigues, H., & Santos, M. C. (1995). Effect of selenium supplementation on some blood biochemical parameters in male rats. *Biological trace element research*, 47(1-3), 343–347.

- 7- Dehkordi, A. J., Mohebbi, A. N., Aslani, M. R., & Ghoreyshi, S. M. (2017). Evaluation of nanoselenium (Nano-Se) effect on hematological and serum biochemical parameters of rat in experimentally lead poisoning. *Human & experimental toxicology*, 36(4), 421–427.
- 8- Epstein, H. (1980). Awassi sheep. *FAO/UNEP Consultation on Animal Genetic Resources Conservation and Management*.
- 9- Gomez, K. A., & Gomez, A. A. (1984). *Statistical procedures for agricultural research*. John wiley & sons.
- 10- Gul, S., & Oflaz, N. Z. (2021). Comparison of some morphological and physiological characteristics of Awassi sheep grown in Gaziantep and Kilis provinces. *Namik Kemal University Open Access*.
- 11- Halawa, E. H., Imbabi, T. A., Radwan, A. A., El-sayed, A. I., & Ahmed-Farid, O. (2023). Ameliorating effect of selenium nanoparticles and L-carnitine on some haemato-biochemical parameters and oxidative stress status during pregnancy periods in Ossimi ewes. *Arab Society for Stem Cells and Molecular Biology Journal*.
- 12- Heidari J, Jamal Seifdavati J, Mohebeddini H, Seyed Sharifi R, Abdi Benemar H: (2019). Effect of nano zinc oxide on post-thaw variables and oxidative status of Moghani ram semen. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 25 (1): 71-76,.
- 13- Hernández-Carrillo, E., Sánchez-Pineda, H., Tórtora-Pérez, J., Cigarroa-Vázquez, F. A., Reyes-García, M., Peralta-Lailson, M., & HernándezMarín, J. A. (2022). Effect of selenium on semen quality and fertility of rams. *Agro Productividad*.
- 14- Ibrahim, E. M., Alrauji, Y., Elnesr, S. S., & Shehab-El-Deen, M. (2025). Productive Performance and Some Biochemical Indices of Ossimi Ewes and Their Lambs to Dietary Inclusion of Selenium, Zinc Nanoparticles, or Their Combination. *Animals: an open access journal from MDPI*, 15(18), 2694.

- 15- Jackson, P. G. G., & Cockcroft, P. D. (2002). Appendix 2: Laboratory reference values: Haematology. In *Clinical Examination of Farm Animals*. Blackwell Science.
- 16- Jackson, P. G. G., & Cockcroft, P. D. (2002). Appendix 3: Laboratory reference values: Biochemistry. In *Clinical Examination of Farm Animals*. Blackwell Science.
- 17- Ji, X., Deng, X., Liu, N., & Wang, J. (2025). Milk profiles of selenoamino acids, selenoenzymes, and selenoproteins of peripartal dairy cows fed with different selenium sources. *Animal Bioscience*, 38(6), 1175.
- 18- Kachuee, R., Abdi-Benemar, H., Mansoori, Y., Sánchez-Aparicio, P., Seifdavati, J., Elghandour, M. M., ... & Salem, A. Z. (2019). Effects of sodium selenite, L-selenomethionine, and selenium nanoparticles during late pregnancy on selenium, zinc, copper, and iron concentrations in Khalkhali goats and their kids. *Biological trace element research*, 191(2), 389-402.
- 19- Khalili, M., Chamani, M., Amanlou, H., Nikkhah, A., Sadeghi, A. A., Dehkordi, F. K., ... & Shirani, V. (2020). The effect of feeding inorganic and organic selenium sources on the hematological blood parameters, reproduction and health of dairy cows in the transition period. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 42, e45371.
- 20- Kieliszek, M., Bano, I., & Zare, H. (2022). A comprehensive review on selenium and its effects on human health and distribution in middle eastern countries. *Biological Trace Element Research*, 200(3), 971-987.
- 21- Liu, H., Mao, K., Peng, W., Degen, A., Zuo, G., Yang, Y., Han, J., Wu, Q., Wang, K., Jiang, Q., & Zhou, H. (2023). Nano-selenium reduces concentrations of fecal minerals by altering bacteria composition in feedlot goats. *Agriculture*, 14(12), 2233.

- 22- Li, Y., He, J., & Shen, X. (2021). Effects of Nano-selenium Poisoning on Immune Function in the Wumeng Semi-fine Wool Sheep. *Biological trace element research*, 199(8), 2919–2924.
- 23- LYONS MP, P. T., & Surai, P. F. (2007). Selenium in food chain and animal nutrition: Lessons from Nature. *Asian Australian Journal of Animal Science*, 20(7), 1135-1155.
- 24- Malyugina, S., Skalickova, S., Skladanka, J., Slama, P., & Horky, P. (2021). Biogenic selenium nanoparticles in animal nutrition: a review. *Agriculture*, 11(12), 1244.
- 25- Merck Veterinary Manual. (n.d.). Hematology (Complete Blood Count) Reference Ranges.
- 26- Merck Veterinary Manual. (n.d.). Serum Biochemical Analysis Reference Ranges.
- 27- National Research Council (NRC). (2007). *Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids*. National Academies Press.
- 28- Panev, A., Hauptmanová, K., Pavlata, L., Pechová, A., Filípek, J., & Dvořák, R. (2013). Effect of supplementation of various selenium forms and doses on selected parameters of ruminal fluid and blood in sheep. *Czech Journal of Animal Science*, 58(1), 37–46.
- 29- Pecoraro, B. M., Leal, D. F., Frias-De-Diego, A., Browning, M., Odle, J., & Crisci, E. (2022). The health benefits of selenium in food animals: a review. *Journal of animal science and biotechnology*, 13(1), 58.
- 30- Qin, S., Chen, F., Zhao, F., Jin, T., & Ma, J. (2016, July). Effects of Nano-selenium on blood biochemistry, liver antioxidant activity and GPX-1 mRNA expression in rabbits. In *International Conference on Biomedical and Biological Engineering* (pp. 166-171). Atlantis Press.

- 31-Rabee, A. E., Khalil, M. M. H., Abou Khadiga, G., Elmahdy, A., Sabra, E. A., Zommara, M. A., & Khattab, I. M. (2023). Response of rumen fermentation and microbiota to dietary supplementation of sodium selenite and bio-nanostructured selenium in lactating Barki sheep. *BMC Veterinary Research*, 19, 247.
- 32-Sadeghian, S., Kojouri, G. A., & Mohebbi, A. (2012). Nanoparticles of selenium as species with stronger physiological effects in sheep in comparison with sodium selenite. *Biological Trace Element Research*, 144(1–3), 1–9.
- 33-Sadeghian Chaleshtori, S., Kojouri, G. A., Mohebbi, A., & Tavanaeimaneh, H. (2017). The survey of comparison the effects of selenium nanoparticles and selenit sodium on hematological factors of sheep. *Experimental animal Biology*, 6(1), 11-22.
- 34-Salam, A. Y., El-Shamaa, I. S., Metwally, A. M., El Hewaty, A. Y., Mahmoud, T. A., & Zommara, M. A. (2021). Effect of selenium administration on reproductive outcome and biochemical parameters to ewes and their lambs. *Journal of Animal and Poultry Production*, 12(12), 379-386.
- 35-Shen, X., Huo, B., & Gan, S. (2021). Effects of Nano-Selenium on Antioxidant Capacity in Se-Deprived Tibetan Gazelle (*Procapra picticaudata*) in the Qinghai-Tibet Plateau. *Biological trace element research*, 199(3), 981–988.
- 36-Shi, L., Xun, W., Yue, W., Zhang, C., Ren, Y., Shi, L., ... & Lei, F. (2011). Effect of sodium selenite, Se-yeast and nano-elemental selenium on growth performance, Se concentration and antioxidant status in growing male goats. *Small Ruminant Research*, 96(1), 49-52.
- 37-Surai, P. (2024). *Selenium in ruminant nutrition and health*. BRILL.

- 38- Tan, L., Zhao, Y., Sun, J., Bai, C., Du, H., Yan, X., ... & Huo, W. (2025). Effects of Coated Sodium Selenite Supplementation on the Milk Yield, Apparent Digestibility, Rumen Fermentation, Blood Biochemical Parameters and Antioxidant Parameters in Dairy Buffaloes. *Animals*, 15(19), 2767.
- 39- Vaswani, S., & Kumar, S. (2023). Role of selenium in ruminants' health and reproduction. *Asian Journal of Research in Animal and Veterinary Sciences*.
- 40- Xiao, M., Wang, Y., Wei, M., Peng, W., Wang, Y., Zhang, R., ... & Bao, M. (2024). Effects of nanoselenium on the performance, blood indices, and milk metabolites of dairy cows during the peak lactation period. *Frontiers in Veterinary Science*, 11, 1418165.
- 41- Zhou, C., Xu, Z., & Zhou, D. (2025). Therapeutic mechanism of nano-selenium in hexavalent chromium poisoning in laying hens. *Animal Diseases*, 5(18).

دراسة تأثير المطفرات في إنبات بذور صنف الخس البلدي الحموي وانتخاب نباتات طافرة متفوقة

إعداد:

باسمه محمود الخباز

إشراف:

المشرف المشارك

د. أسامة العبد الله

المشرف العلمي

أ.د محمد نبيل الأيوبي

الملخص

أجري البحث في مركز البحوث العلمية الزراعية بحماة خلال الموسمين (2020-2021، 2021-2022 م)، بغية دراسة تأثير جرعات عديدة من أشعة غاما (25، 50، 75، 100 غراي)، وتراكيز عديدة من أزيد الصوديوم SA (0.2، 0.3، 0.4، 0.5 ملغ/ل) في مؤشرات الإنبات لبذور صنف الخس البلدي الحموي، وانتخاب نباتات طافرة متفوقة منه. استخدم في البحث تصميم القطاعات العشوائية الكاملة، وبينت النتائج التأثير المحفز لكل من أشعة غاما بالجرعتين (50، 75 غراي) على نسبة الإنبات المخبرية للبذور على الترتيب (75.95، 75.46 %)، وأزيد الصوديوم بالتركيز (0.3 ملغ/ل) وبلغت (75.98%)، في حين بلغت نسبة الإنبات المخبرية للبذور عند الشاهد (68.63%). لوحظ أيضاً عدم وجود فروق معنوية في نسبة الإنبات الحقلية بين الجرعات (50، 75، 100 غراي) والشاهد على الترتيب (95.54، 94.16، 92، 40، 91.05 %)، وتفوقت جميعها على الجرعة (25 غراي) وبلغت (88.19 %). كما تفوقت معاملة الشاهد في نسبة الإنبات الحقلية على جميع تراكيز أزيد الصوديوم المدروسة. ويمكن اعتبار الجرعتين (50، 75 غراي) من أشعة غاما والتركيز (0.2 ملغ/ل) الأفضل في الحصول على أعلى نسبة ممكنة من نباتات الخس المطفرة الباقية على قيد الحياة. تعد الجرعة (100 غراي) من أشعة غاما والتركيز (0.3 ملغ/ل) من أزيد الصوديوم أقرب ما يكون إلى معد القتل (50%) (LD₅₀)، الأمر الذي يفسح المجال أمام استخدامهما في الحصول

على الطفرات. وقد أمكن انتخاب (10) نباتات طافرة متفوقة مباشرة، وتم إجراء توصيف أولي لها لمتابعة نسلها في الجيل التالي.
الكلمات المفتاحية: الخس، الطفرات، أشعة غاما، أزيد الصوديوم SA، نسبة الإنبات المخبرية للبذور، نسبة الإنبات الحقلية للبذور، الانتخاب، النسبة المئوية للموت.

The effect of mutagens on germination of local Hama lettuce variety seeds and selection of superior mutant plants

Abstract

This research was conducted in the scientific research center– Hama, in (2020–2021, 2021–2022). Seeds of Hamwi lettuce variety were used. To study the effect of various doses of gamma rays (25, 50, 75, 100 Gray) and various concentrations of sodium azide (0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mg/L) on the germination indicators of Hama local lettuce variety seeds and the selection of superior mutant plants.

A complete plot random design with three replications for each treatment and control. The results showed the stimulatory effect of both gamma rays at doses (50, 75 Gray) on the laboratory germination percentage of seeds at (75.95, 75.46%), respectively, and sodium azide at the concentration (0.3 mg/L) with (75.98%), while the laboratory germination rate for the control was (68.63%). It was also observed that there were no significant differences in the field germination rate between the doses (50, 75, 100 Gray) and the control at (95.54, 94.16, 92.40,

91.05%), with all doses outperforming the (25 Gray) dose at (88.19%). The control treatment also excelled in field germination rate over all the studied concentrations of sodium azide.

The two doses (50, 75 Gray) of gamma rays and the concentration (0.2 mg/L) can be considered the best for achieving the highest possible percentage of surviving mutated lettuce plants. The dose (100 Gray) of gamma rays and the concentration (0.3 mg/L) of sodium azide is closest to (LD50). Ten superior mutated plants were selected, and a preliminary characterization was conducted to follow their progeny in the next generation.

Keywords: lettuce, mutations, gamma rays, sodium azide, laboratory germination rate of seeds, field germination rate of seeds, selection, percentage of mortality.

مقدمة:

ينتمي الخس المزروع *Lactuca sativa* L. إلى الفصيلة المركبة Compositae، ويتطلب جواً معتدلاً مائلاً للبرودة، وهو من الخضار الشتوية التي يستفاد من كامل محتواها الغذائي نظراً لاستهلاكه طازجاً [7] الزهرة عند نبات الخس خنثى ذات لون أصفر أو أبيض مائل للأصفر، والتلقيح الذاتي هو السائد، وقد تحدث نسبة من التلقيح الخلطي بواسطة الهواء تصل لنحو 5-10% [5] يعتقد أن منطقة حوض البحر الأبيض المتوسط هي الموطن الأصلي للخس، وأغلب الظن أنه نشأ في مصر [6].

تعد الطفرات تبدلات مفاجئة تطرأ على المادة الوراثية، فتغير في خصائصها وصفات الكائن الحي، وتعد وسيلة فعالة وسريعة في عمليات التحسين الوراثي للنباتات، لكونها تحدث تبايناً وراثياً يتيح للمحسن الوراثي فرصة انتخاب التراكيب الوراثية المفيدة. ويمكن أن تحدث الطفرات بشكل طبيعي تلقائي، إلا أنها نادرة جداً، وغالباً ما تكون ضارة وغير مفيدة ولا يعول عليها كثيراً في عملية التربية والتحسين الوراثي، أو تكون اصطناعية تحدث نتيجة لتعريض النباتات لتأثير المطفرات الفيزيائية أو الكيميائية [4].

أشار العديد من الباحثين [13]، [15]، [16]، [20] إلى أهمية استخدام أشعة غاما والمطفرات الكيميائية في إحداث التغيرات الوراثية في نباتات الخضار، لما تحدثه من تأثيرات إيجابية في النمو الخضري والمؤشرات الإنتاجية، إضافة أيضاً إلى الشذوذ في النمو (تقرم النباتات، نقص الكلوروفيل، موت النباتات... الخ)، والذي يظهر نتيجة لاستخدام بعض الجرعات أو التراكيز غير الملائمة.

بين [18] الدور الهام للطفرات عند نبات الخس في إحداث الاختلافات الوراثية والاستفادة من الطفرات الطبيعية مثل: التقزم، الإزهار المبكر، العقم الذكري، نقص الكلوروفيل في برامج التحسين الوراثي.

طبق [9] التطفير بأشعة غاما بخمس جرعات (25، 50، 75، 150، 300 غراي) على بذور الخس، تفوقت الجرعتان (25، 50 غراي) على الترتيب في كل من طول الشتول (4.26، 4.67 سم)، والوزن الرطب (825.34، 857.26 غ)، الوزن الجاف (137.53، 260.60 غ) مقارنة مع الشاهد على الترتيب (4.33 سم، 638.93 غ، 143.84 غ). ولا يوجد اختلاف كبير

عند الجرعة (75 غراي) في المؤشرات السابقة الذكر على الترتيب (4.32 سم، 741.20 غ، 226.7 غ)، في حين حدث تثبيط للنمو الخضري عند الجرعات (150 و 300 غراي)، فقد بلغ طول الشتول على الترتيب (3.77، 1.78 سم)، والوزن الرطب على الترتيب (707.13، 515.78 غ)، والوزن الجاف على الترتيب (153.62، 140.21 غ).

درس [17] تأثير المعاملة بأشعة غاما على نمو نبات الخس، ومحتوى الأوراق من صبغات التمثيل الضوئي عند الجرعات ما بين (0-70 غراي). ووجد أن الجرعات بين (2 - 30 غراي) أدت إلى تعزيز معايير النمو، فقد ازدادت نسبة الإنبات مقارنة بالشاهد بنسبة (8.33، 8.33، 10، 25، 8.34 %) على الترتيب عند الجرعات على الترتيب (2، 5، 15، 30، 70 غراي)، كما ازداد طول الجذر على الترتيب (33، 47، 61، 83، 21)، وازداد أيضاً طول الشتول بنسبة (34%) عند الجرعات (2، 5، 15 غراي) و (57، 35%) على الترتيب عند الجرعتين (30، 70 غراي) مقارنة بالشاهد. لوحظ أيضاً ارتفاع في محتوى صبغات التمثيل الضوئي (الكلوروفيل a، الكلوروفيل b، الكاروتينات) عند الجرعات بين (2-30 غراي) مقارنة مع الجرعة (70 غراي).

قارن [19] تأثير استخدام 8 جرعات من أشعة غاما على بذور الخس (0، 50، 100، 200، 300، 400، 500، 600 غراي)، وتبين أن الجرعة (50 غراي) أعطت أفضل نسبة للإنبات (90%) مقارنة بالشاهد (80%). كما أن أفضل النتائج في كل من طول الجذر (3.72 سم)، طول الشتول (13.29 سم)، الوزن الرطب (9.23 غرام)، والجاف (0.35 غ) كانت عند الجرعة (100 غراي)، في حين انخفض معدل الإنبات كثيراً ومعدلات النمو عند الجرعات 400 غراي وأكثر.

بين [10] أن الجرعات الكبيرة من أشعة غاما تؤدي إلى اضطرابات عديدة في انقسام الخلايا، ويعد اختبار النمط الظاهري المجهري، وحساب مؤشر الانقسام الخيطي من الطرائق المناسبة لتقييم التأثيرات البيولوجية للإشعاع لكونه يسمح بمراقبة انحرافات الكروموسومات واضطرابات دورة الخلية.

تمكن [13] من استنباط 6 كلونات طافرة في الجيل الثاني نتيجة لنقع بذور صنفين من الفول بالتركيز (0.2 %) من ميتل إيتيل سلفونات (EMS)، وبالتركيز (0.02 %) من أزيد الصوديوم (SA)، لمدة (6 سا)، ومن ثم تعريضها لجرعة (20 كيلوراد) من أشعة غاما.

استنتج [8] نتيجة لمعاملة بذور البامياء قبل زراعتها بجرعتين من أشعة غاما (20، 80 كيلوراد)، وبتركيزين من المطفر SA (0.05، 0.20 %)، أن زيادة الجرعة أو التركيز من كلا المطفرين أدى إلى انخفاض في نسبة الإنبات، ونسبة النباتات الحية المتبقية. كما أثرت معاملات التظهير على نحو سلبي في ارتفاع النبات وعدد الفروع، في حين أثرت على نحو إيجابي في كل من المساحة الورقية وعدد الأزهار وعدد الثمار المتشكلة على النبات. كما استنتج أيضاً أن أشعة غاما أكثر كفاءة وفعالية في زيادة الإنتاجية، وقد أمكن تحديد معدل القتل (LD_{50}) للمطفر SA وأشعة غاما وكان على الترتيب عند (التركيز 0.10 %، الجرعة 80 كيلوراد).

استنتج [11] نتيجة لنقع بذور الذرة الصفراء قبل زراعتها بتراكيز عديدة (10، 20، 30، 40، 50، 60، 70، 80، 90، 100 ميلي مولار) من المطفرات الكيميائية (EMS، DES، SA)، ولمدة (6 سا)، أن زيادة التركيز في كل المطفرات ترافق مع انخفاض في العديد من المؤشرات: بلغت نسبة الإنبات عند التركيز (60 ميلي مولار) عند المطفرات (EMS، DES، SA) على الترتيب (42.88، 33.60، 42.66 %) في حين بلغت عند الشاهد (83.33 %)، الوزن الرطب على الترتيب (446.76، 368.24، 388.46 غ) في حين بلغت عند الشاهد (826.28 غ)، الوزن الجاف على الترتيب (88.58، 88.86، 88.28 غ) في حين بلغت عند الشاهد (140.88 غ). واعتماداً على حساب معدل قتل (50 %) من النباتات (LD_{50}) تم تحديد التركيز الفعال للمطفرات المستخدمة (EMS، DES، SA) على الترتيب (50، 40، 40 ميلي مولار).

بين [3] عند معاملة ثلاثة أصناف من الثوم (الكسوني والبيرودي والبلديان، والصيني المدخل)، بجرعات عديدة من أشعة غاما C060 (0، 1، 2.5، 5، 10 غراي)، وتراكيز عديدة من المطفرين الكيميائيين إيتيل ميتيل سلفونات (EMS) (0.025، 0.05، 0.10 %)، وأزيد الصوديوم (SA) (0.1، 0.2، 0.3 ملغ/ل)، أن للجرعتين (1، 2.5 غراي) والتركيزين SA (0.1، 0.2 ملغ/ل) والتركيز EMS (0.025 %) تأثير محفز في إنبات الفصوص، مقارنة مع الجرعات الأخرى والشاهد. كما بين تأخر إنبات فصوص أصناف الثوم المدروسة على نحو طردي مع زيادة الجرعة. كما بين أيضاً أن الجرعتان (2.5، 5) غراي والتركيز EMS (0.10 %) و SA (0.3 ملغ/ل) أقرب ما تكون إلى (LD_{50})، الأمر الذي يفسح المجال أمام إمكانية استخدامهما في الحصول على

نسبة جيدة من الطفرات المحتملة من جميع أصناف الثوم المدروسة. تبين أيضاً أن أشعة غاما هي الأكثر فعالية في إحداث الطفرات المتفوقة عند أصناف الثوم المدروسة، يليها المطفر الكيميائي SA، ثم المطفر الكيميائي EMS. وقد انتخب 11 كلون طافر مبشر من أصناف الثوم المدروسة (4 كلونات من الصنف الكسواني، 3 كلونات من الصنف البيرودي، 4 كلونات من الصنف الصيني)، اعتماداً على التفوق في صفتي وزن البصلة ووزن الفص.

مبررات البحث وأهدافه:

تعد طرائق التحسين الوراثي التقليدية (الانتخاب الفردي) صعبة للغاية وتتطلب سنوات عديدة، وخاصة عند النباتات ذاتية التلقيح كنبات الخس البلدي الحموي، والتي تتصف بندرة الاختلافات الوراثية في تركيبها الوراثي، ومن هنا تأتي ضرورة استحداث هذه الاختلافات باستخدام الطفرات الفيزيائية والكيميائية لانتخاب الطفرات المرغوبة (الباكورية بالنضج، الإنتاجية المرتفعة،... إلخ) لاستخدامها في برامج التحسين الوراثي لاحقاً. لذا هدف هذا البحث إلى الآتي:

1- دراسة تأثير جرعات عديدة من أشعة غاما وتراكيز عديدة من أزيد الصوديوم في إنبات بذور صنف الخس الحموي البلدي، وتحديد المطفر الأفضل، والجرعة أو التركيز الأفضل، إضافة إلى تحديد الجرعة القاتلة (LD_{50}).

2- انتخاب نباتات طافرة متفوقة.

مواد البحث وطرائقه:

المادة النباتية: أجري البحث على بذور صنف الخس الحموي البلدي، ويتصف بالرأس المندمج، الطعم الحلو واللون الأحمر للعرق الوسطي، الأوراق الخارجية ذات اللون الأخضر الداكن المجددة الدهنية الملمس، والأوراق الداخلية تتلون بألوان (أخضر، أصفر، أخضر مصفر، أخضر قاعدته صفراء اللون)، والساق مغزلية الشكل ذات اللون الوردي إلى الأحمر، والأزهار الصفراء اللون، والبذور ذات اللون البني إلى الأسود [1].

مكان إجراء البحث: نفذ البحث خلال الموسمين (2020-2021، 2021-2022) في مركز البحوث العلمية الزراعية في حماة التابع للهيئة العامة للبحوث الزراعية.

تربة موقع البحث طينية ثقيلة، ويظهر التحليل الكيميائي لتربة إجراء البحث عدم حاجتها لإضافة الأسمدة الفوسفورية والبوتاسية قبل الزراعة، في حين أنها فقيرة بالآزوت (الجدول 1).

الجدول (1): التحليل الكيميائي لتربة موقع إجراء البحث.

المادة العضوية (%)	Ca CO ₃ (%)	Ec (مليمولز/سم)	pH	K (ppm)	P (ppm)	N (ppm)
1.7	18.9	0.05	8.4	410	21.2	5

مخابر مركز البحوث العلمية الزراعية

بحمارة

طريقة الزراعة:

أ- زراعة البذور: زرعت البذور ضمن أطباق بتري لحساب نسبة الإنبات المخبرية، ولحساب نسبة الإنبات الحقلية زرعت ضمن أكياس من البولي إيثيلين قياس (20 × 40 سم)، تحوي خلطة مكونة من (تربة: سماد عضوي: تورب) بنسبة (1:1:1) بمعدل 100 بذرة في كل كيس وبثلاثة مكررات لكل معاملة والشاهد، وتم التشتيل عند وصول الشتول لطول (10-15 سم)، ويقطر قلم الرصاص. ب- الزراعة في الأرض الدائمة: زرعت الشتول في الأرض الدائمة، بتباعد (40 سم)، بين النبات والآخر، وبمسافة بين الخط والآخر (75 سم). وكثافة نباتية 3 نباتات/م².

العمليات الزراعية: نفذت جميع عمليات الخدمة الزراعية (الري، العزق، التحضين، المكافحة) في مواعيدها كما هو موصى به من قبل وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، ووفقاً لاحتياج النباتات والظروف الجوية السائدة. كما تمت إضافة السماد الأزوتي (نترات الأمونيوم) بمعدل 50 كغ/دونم على ثلاث دفعات (الدفعة الأولى بعد ثلاثة أسابيع من التشتيل، ثم بفواصل ثلاثة أسابيع بين الدفعة والأخرى).

تم عزل النباتات الطافرة المنتخبة عند بداية ظهور النورات الزهرية بأكياس من قماش الغريول الناعم، وجمعت بذورها لزراعتها في الموسم التالي بطريقة (نبات/خط).

معاملات التجربة:

- 1- التطهير بأشعة غاما: عوملت البذور بأربع جرعات من أشعة غاما (25، 50، 75، 100 غراي) في محطة التشعيع في قسم تكنولوجيا الإشعاع في الهيئة العامة للطاقة الذرية بدمشق.
- 2- التطهير الكيميائي: نقعت البذور بأربعة تراكيز من المطفر الكيميائي أزيد الصوديوم (NaN₃) SA، (0.2، 0.3، 0.4، 0.5 ملغ/ل) قبل الزراعة مباشرة لمدة (6 سا)، وبدرجة حرارة الغرفة، ومن ثم غسلها بالماء المقطر لإزالة المطفر الكيميائي. أما بذور الشاهد فنقعت بالماء المقطر لمدة (6 سا).

المؤشرات المدروسة:

نسبة الإنبات المخبرية: تم وضع 100 بذرة/ في كل طبق بتري لكل معاملة، وبثلاثة مكررات لكل معاملة، وحسبت نسبة الإنبات المخبرية من العلاقة الآتية:

$$\text{نسبة الإنبات المخبرية (\%)} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{العدد الكلي للبذور}} \times 100$$

نسبة الإنبات الحقلية (%): تم حسابها بزراعة 100 بذرة/ في كيس البولي إيثيلين الواحد، وبثلاثة مكررات لكل معاملة، وحسبت نسبة الإنبات الحقلية من العلاقة الآتية:

$$\text{نسبة الإنبات الحقلية (\%)} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{العدد الكلي للبذور}} \times 100$$

النسبة المئوية للموت (%): حسبت وفق العلاقة التالية:

$$LD = \frac{\text{عدد النباتات الميتة}}{\text{العدد الكلي للبذور}} \times 100$$

النسبة المئوية للنباتات المتبقية بعد (30، 60 يوم من الزراعة)، (%).

مؤشرات التوصيف الأولي للنباتات الطافرة المدروسة: تم أخذ القراءات والقياسات الآتية بالاعتماد على [14]:

طول الرأس (سم): قيس بواسطة مسطرة من قاعدة الرأس وحتى قمته.

طبيعة الرأس: مندمج، نصف مندمج، غير مندمج.

قطر الرأس (سم): صغير: 5-6 سم، متوسط: 7-12 سم، كبير: 15-18 سم أو أكثر.

لون الرأس:

لون الأوراق المحيطية: أخضر، أخضر فاتح.

لون الأوراق الداخلية: أصفر، أصفر فاتح، أبيض مصفر، أخضر فاتح، أصفر مخضر.

صلابة الرأس:

مخلخل: يتقوس بشكل واضح عند الضغط على قمته.

نصف صلب: يتقوس قليلاً عند الضغط على قمته.

صلب: لا يتقوس عند الضغط على قمته.

شكل الرأس: مفلطح، مستدير، بيضاوي، بيضاوي متطاوّل.

وزن الرأس (غ).

صفات الساق: شكل الساق، طبيعة الساق، لون الساق.

صفات الورقة: طبيعة الورقة، طبيعة العرق الوسطي، لون العرق الوسطي (يتلون بالأحمر، أو

القرمزي، أو البنفسجي نتيجة لوجود الأصبغة الأنثوسيانية، أو بالأخضر)، حافة الورقة، طبيعة

سطح الورقة، ملمس الورقة، طعم العرق الوسطي، طول الورقة (سم)، عرض الورقة (سم).

تصميم التجربة والتحليل الإحصائي: استخدم تصميم القطاعات العشوائية الكاملة في التجربة،

بثلاثة مكررات لكل معاملة (8 معاملات + الشاهد)، وتم تحليل النتائج باستخدام برنامج التحليل

الإحصائي GenStat 12.1 للحصول على قيمة أقل فرق معنوي (L.S.D) عند مستوى معنوية

(5%) للقراءات الحقلية، وعند مستوى معنوية (1%) للقراءات المخبرية، وقيمة معامل التباين

(CV) بين المعاملات.

طول الخط 3.2 م، عدد النباتات في الخط الواحد 8، عدد الخطوط في القطعة التجريبية 3،

عدد المكررات 3، مساحة القطعة التجريبية 7.2 م².

النتائج والمناقشة:

أولاً: تأثير جرعات عديدة من أشعة غاما في مؤشرات إنبات بذور صنف الخس الحموي البلدي:

1- نسبة الإنبات المخبرية (%):

يظهر الجدول (2) التأثير المحفز لأشعة غاما على إنبات بذور الخس عند الجرعتين (50،

75 غراي) على الترتيب (75.95، 75.46%)، مقارنة مع الجرعتين (25، 100 غراي) والشاهد

على الترتيب (71.43، 72.22، 68.63%)، ويتوافق ذلك مع نتائج [19] الذي أظهر تفوق

الجرعة (50 غراي) بنسبة الإنبات (90%) على الشاهد (80%).

يظهر الجدول (2) عدم وجود فرق معنوي في نسبة الإنبات المخبرية بين الجرعتين (25، 100 غراي)، واللذان بدورهما تفوقا على الشاهد.

2- نسبة الإنبات الحقلية (%):

يظهر من الجدول (2) عدم وجود فروق معنوية في نسبة الإنبات الحقلية بين الجرعات (50، 75، 100 غراي) والشاهد على الترتيب (95.54، 94.16، 92.40، 91.05 %)، وتفوقت جميعها على الجرعة (25 غراي)، (88.19 %).

3- نسبة النباتات المتبقية بعد 30 يوم من الزراعة (%):

يلاحظ من الجدول (2) تفوق الجرعة (50 غراي) بنسبة النباتات المتبقية بعد 30 يوم (93.53%) على بقية الجرعات المدروسة والشاهد، تلتها الجرعة (75 غراي) بنسبة (92.4%)، وتأرجحت نسبة النباتات المتبقية بعد 30 يوم عند الجرعات المتبقية والشاهد بين (80.88-88.54%).

يعزى تأثير الجرعات المنخفضة من أشعة غاما في تحفيز الإنبات إلى أن التحريض الإشعاعي يسرع معدل تحول المدخرات الغذائية من الحالة المعقدة إلى الحالة البسيطة، الأمر الذي يسهل استخدامها من قبل الجنين النامي، نتيجة تنشيطه للإنزيمات الحالة (Lipase، α -Amylase، Protease)، أو إلى زيادة تركيب محفزات النمو (حمض الجبريليك، الأوكسينات)، فيحدث نمو وتطور الجنين بسبب زيادة نسبة محفزات النمو إلى مثبطاته (ABA، المركبات الفينولية). إضافة لتنشيط العمليات الفيزيولوجية والبيوكيميائية التي تلعب دوراً هاماً في تنشيط الإنبات وسرعة ظهور البادرات فوق سطح التربة [2].

4- نسبة النباتات المتبقية بعد 60 يوم من الزراعة (%):

يبين الجدول (2) انخفاض نسبة النباتات المتبقية بعد 60 يوم لجميع الجرعات (25، 50، 75، 100 غراي) على الترتيب (53.92، 59.95، 61.99، 56.83%) مقارنة بالشاهد (81.25%). يعزى هذا الانخفاض إلى التأثير غير المباشر لأشعة غاما الذي يحدث ضرراً في أجزاء الخلية بفعل الجذور الحرة التي تنشأ من تأين جزيئات الماء، وتؤدي لنشوء أيونات وجزيئات

دراسة تأثير المطفرات في إنبات بذور صنف الخس البلدي الحموي وانتخاب نباتات طافرة متفوقة

مختلفة (H_2O_2 ، H^+ ، OH^-)، التي تتفاعل مع نواة الخلية والسيتوبلازم مؤدية إلى تفكك الرابطة الكيميائية لذرات الكربون بسهولة [21].

يظهر الجدول (2) أيضاً أنه يمكن اعتبار الجرعة (75 غراي) من أشعة غاما مناسبة للحصول على أعلى نسبة ممكنة من نباتات الخس المطفرة التي تبقى على قيد الحياة، في حين أن الجرعة (100 غراي) أقرب ما تكون إلى (LD_{50}) الأمر الذي يفسح المجال أمام استخدامهما في الحصول على نباتات طافرة.

الجدول (2): تأثير جرعات عديدة من أشعة غاما في مؤشرات إنبات بذور صنف الخس الحموي البلدي.

النسبة المئوية للموت بعد 60 يوم من الزراعة (LD) (%)	نسبة النباتات المتبقية بعد 60 يوم من الزراعة (%)	نسبة النباتات المتبقية بعد 30 يوم من الزراعة (%)	نسبة الإنبات الحقلية (%)	نسبة الإنبات المخبرية (%)	الجرعة	المطفر
46.1	53.92 e	80.88 e	88.19 b	71.43 b	25	أشعة غاما (غراي)
40.1	59.95 c	93.53 a	95.54 a	75.95 a	50	
38.77	61.99 b	92.4 b	94.16 a	75.46 a	75	
43.2	56.83 d	87.43 d	92.40 a	72.22 b	100	
18.66	81.25 a	88.54 c	91.05 a	68.63 c	الشاهد	
	0.7	0.4	1.2	1.9	CV%	
	0.86	0.285	4.970	3.802	LSD	

ملاحظة: تم حساب LSD لنسبة الإنبات المخبرية عند مستوى معنوية 1%، و5% لبقية الصفات المدروسة.

إن الأحرف غير المتماثلة ضمن العمود الواحد دليل على وجود الفروق المعنوية.

ثانياً: تأثير تراكيز عديدة من المطفر الكيميائي SA في مؤشرات إنبات بذور صنف الخس الحموي البلدي:

1- نسبة الإنبات المخبرية (%):

يظهر الجدول (3) تفوق التركيز (0.3 ملغ / ل) من أزيد الصوديوم معنوياً في نسبة الإنبات المخبرية (75.98%) على بقية التراكيز والشاهد، تلاه التركيز (0.4 ملغ/ل) بنسبة (71.43%). في حين لا توجد فروق معنوية بينه وبين التركيز (0.2 ملغ/ل) بنسبة (69.78%)، كما ولا يوجد فرق معنوي في نسبة الإنبات بين التركيز السابق والشاهد (68.63%) الذي تفوق فقط على التركيز (0.5 ملغ/ل) نسبته (65.7%)، وهذه النتائج تتوافق مع نتائج كل من [8]؛ [11] اللذين وضحا انخفاض نسبة الإنبات مع زيادة تركيز المطفر المستخدم مقارنة بالشاهد.

2- نسبة الإنبات الحقلية (%):

بين الجدول (3) تفوق الشاهد (91.05%) على جميع تراكيز المطفر الكيميائي SA المدروسة في نسبة الإنبات الحقلية، فقد تفوق التركيز (0.3 ملغ/ل) بنسبة (88.07%) على التركيزين (0.2، 0.4 ملغ /ل) على الترتيب (83.22، 82.16%)، وبدورهما تفوقا على التركيز (0.5 ملغ/ل) بنسبة (69.61%).

3- نسبة النباتات المتبقية بعد 30 يوم من الزراعة (%):

يلاحظ من الجدول (3) تفوق الشاهد بنسبة النباتات المتبقية بعد 30 يوم من الزراعة (88.54%) على جميع التراكيز المدروسة للمطفر الكيميائي SA، وقد انخفضت بشكل طردي مع زيادة التركيز المستخدم من أزيد الصوديوم (0.2، 0.3، 0.4، 0.5 ملغ/ل) على الترتيب (84.24، 80.08، 79.61، 64.77%). وتتوافق هذه النتائج مع ما توصل إليه كل من [3]؛ [11].

يعزى هذا الانخفاض إلى حدوث اضطرابات خلوية أو أضرار بالصبغيات، أو كليهما بسبب المعاملة بالمطفرات الكيميائية [13].

4- نسبة النباتات المتبقية بعد 60 يوم من الزراعة (%):

يظهر الجدول (3) انخفاض نسبة النباتات المتبقية بعد 60 يوم من الزراعة بشكل ملحوظ مقارنة بالشاهد (81.25%) الذي تفوق على جميع التراكيز المدروسة للمطفر الكيميائي SA،

دراسة تأثير المطفرات في إنبات بذور صنف الخس البلدي الحموي وانتخاب نباتات طافرة متفوقة

وعلى ما يبدو أن المطفر الكيميائي أزيد الصوديوم أحدث خللاً في نمو وتطور النباتات المعاملة، وقد تأرجحت نسبة النباتات المتبقية بعد 60 يوم من الزراعة بين (38.95 - 52.05%). يتضح مما سبق أنه يمكن اعتبار التركيز (0.2 ملغ /ل) من أزيد الصوديوم مناسباً للحصول على أعلى نسبة ممكنة من نباتات الخس المطفرة التي تبقى على قيد الحياة، كما أن التركيز (0.3 ملغ/ل) أقرب ما يكون إلى (LD₅₀) الأمر الذي يفسح المجال أمام استخدامهما في الحصول على نباتات طافرة.

الجدول (3): تأثير تراكيز عديدة من المطفر الكيميائي SA في مؤشرات إنبات بذور صنف الخس البلدي الحموي.

المطفر	التركيز	نسبة الإنبات المخبرية (%)	نسبة الإنبات الحقلية (%)	نسبة النباتات المتبقية بعد 30 يوم من الزراعة (%)	نسبة النباتات المتبقية بعد 60 يوم من الزراعة (%)	النسبة المئوية للموت بعد 60 يوم من الزراعة (LD) (%)
أزيد الصوديوم (ملغ / ل)	0.2	69.78 bc	83.22 c	84.24 b	52.05 b	47.95
	0.3	75.98 a	88.07 b	80.08 c	48.13 c	51.88
	0.4	71.43 b	82.16 C	79.61 c	45.87 d	54.12
	0.5	65.7 d	69.61 d	64.77 d	38.95 e	61.05
	الشاهد	68.63 c	91.05 a	88.54 a	81.25 a	18.66
	CV%	1.4	0.3	0.4	0.7	
LSD	2.657	1.571	0.285	0.86		

ملاحظة: تم حساب LSD لنسبة الإنبات المخبرية عند مستوى معنوية 1%، و5% لبقية الصفات المدروسة.

إن الأحرف غير المتماثلة ضمن العمود الواحد دليل على وجود الفروق المعنوية.

ثالثاً: تأثير جرعات عديدة من أشعة غاما وتراكيز عديدة من المطفر الكيميائي SA في نسبة الطفرات غير المرغوبة وعدد الأنماط الظاهرية للطفرات المرغوبة للنباتات الطافرة جيل أول عند صنف الخس الحموي البلدي:

يتضح من الجدول الجدول (4) أن متوسط نسبة الطفرات البرية في المعاملات المدروسة (14.7%)، كما أن المعاملة بأزيد الصوديوم بتركيز (0.2 ملغ/ل) أعطت أدنى قيمة (2%)، في حين نتجت أعلى قيمة (75%) عند المعاملة بأزيد الصوديوم بتركيز (0.5 ملغ/ل). يظهر ارتفاع قيمة التباين لصفة نسبة الطفرات البرية (608.8) بانحراف معياري (24.7) مدى اختلاف تأثير المعاملات المدروسة في إحداث تغيير بالتركيب الوراثي لنبات الخس البلدي الحموي.

يظهر الجدول (4) أيضاً أن متوسط نسبة الطفرات المتقدمة للمعاملات المدروسة (10.2%)، وقد أعطت معاملة أزيد الصوديوم بتركيز (0.3 ملغ/ل) أدنى قيمة (0%)، في حين نتجت أعلى قيمة (34.42%) عند المعاملة بالجرعة (100 غراي) من أشعة غاما. بلغت قيمة التباين لهذه الصفة (142.9) بانحراف معياري (12).

يشير الجدول (4) أيضاً أن التركيز الأعلى من أزيد الصوديوم (0.5 ملغ/ل) أدى إلى إحداث أعلى نسبة من الطفرات غير المرغوبة (80%)، تليه الجرعة (100 غراي) بنسبة (45.06%)، وهنا يتجلى التأثير السلبي للجرعة المرتفع من أشعة غاما والتركيز العالي من أزيد الصوديوم في حدوث الشذوذات الكروموزومية للنباتات المعاملة وهذا ما يتوافق مع نتائج (Franco et al., 2015). وبشكل عام أعطت جرعات أشعة غاما المدروسة عدداً من الأنماط الظاهرية للطفرات الجيدة (14 نمط) مقارنة مع تراكيز أزيد الصوديوم المدروسة (8 أنماط).

الجدول (4): نسبة الطفرات غير المرغوبة وعدد الأنماط الظاهرية للطفرات المرغوبة عند

نباتات الخس البلدي الحموي المعاملة بأشعة غاما وأزيد الصوديوم.

عدد الأنماط الظاهرية للطفرات المرغوبة	نسبة الطفرات غير المرغوبة (%)			المعاملات	المطفر
	المجموع	المتقدمة	البرية		
3	10	5	5	25	أشعة غاما (غراي)
4	17.85	5	12.85	50	

دراسة تأثير المطفرات في إنبات بذور صنف الخس البلدي الحموي وانتخاب نباتات طافرة متفوقة

3	25.27	22.98	2.29	75	أزيد الصوديوم (ملغ/ل)
4	45.06	34.42	10.64	100	
2	6.4	4.4	2	0.2	
3	5	0	5	0.3	
2	9.22	4.61	4.61	0.4	
1	80	5	75	0.5	
	5	0	2		القيمة الصغرى
	80	34.42	75		القيمة العظمى
	24.9	10.2	14.7		المتوسط
	75	34.4	73		المدى
	25.9	12	24.7		الانحراف المعياري
	671.2	142.9	608.8		التباين

رابعاً: الصفات المورفولوجية والإنتاجية لنباتات الخس الطافرة المتفوقة (جيل ثاني):

زرعت بذور النباتات الطافرة المنتخبة جيل أول (16 نبات) بأسلوب (نبات/ خط)، وتمت مراقبة نسل هذه النباتات خلال مراحل النمو، وانتخب (10) نباتات طافرة متفوقة في صفاتها، تميزت بصفات مرغوبة جديدة غير موجودة في الصنف الخس البلدي الحموي، وأجري توصيف أولي لها. وتم عزلها في مرحلة الإزهار بأكياس من قماش الغريول الناعم للحصول على بذورها لمتابعة تتبع صفات نسلها في الجيل الثاني في الموسم التالي.

يظهر الجدول (6) تفوق النبات الطافر المنتخب (G3-3) والناتج من استخدام أشعة غاما بالجرعة (75 غراي) في صفة طول الرأس (48 سم) على جميع النباتات الطافرة المنتخبة والشاهد، باستثناء النباتين الطافرين (G1-1، G3-1) على الترتيب (46.33، 45 سم). كما تفوق النبات الطافر المنتخب (G4-1) والناتج من استخدام جرعة أشعة غاما (100 غراي) بقطر الرأس (45.33 سم) على جميع النباتات الطافرة المنتخبة والشاهد، باستثناء النباتين الطافرين (G3-1، G1-1) على الترتيب (43.33، 43.67 سم). كما تفوق أيضاً النبات الطافر المنتخب (G3-

1) بصفة وزن الرأس (1.927 كغ) على النباتات الطافرة المنتخبة والشاهد، باستثناء النباتين الطافرين (G1-1، G3-1) على الترتيب (1.863، 1.83 كغ).
 مما سبق يتضح التأثير الإيجابي المحفز لأشعة غاما في صفات الرأس المندمج (طول الرأس، قطر الرأس، وزن الرأس) لنبات صنف الخس البلدي الحموي مقارنة بأزيد الصوديوم SA.
 يظهر الجدول (6) أيضاً تفوق النبات الطافر (G1-3) بصفة طول الورقة (36.67 سم) على جميع النباتات الطافرة المنتخبة، باستثناء النبات الطافر (G1-1) والشاهد على الترتيب (35.31، 35.67 سم)، تأرجح طول الورقة عند النباتات الطافرة المنتخبة بين (19.67 - 34 سم). كما تفوق النبات الطافر (A4-1) بصفة عرض الورقة (23.67 سم) على جميع النباتات الطافرة الممنخبة والشاهد. وتأرجح عرض الورقة بين (12 - 20 سم) عند النباتات الطافرة المنتخبة والشاهد.

الجدول (6): صفات الرأس المندمج عند النباتات الطافرة المنتخبة جيل ثاني من

صنف الخس البلدي الحموي.

النبات	طول الرأس (سم)	قطر الرأس (سم)	وزن الرأس (كغ)	طول الورقة (سم)	عرض الورقة (سم)
G1-1	45 abc	43.67 ab	1.863 ab	35.31 ab	17.67 bc
G1-2	43.67 bcd	41 c	1.507 c	33 cde	18 bc
G1-3	46.33 ab	43.33 ab	1.927 a	36.67 a	20 b
G3-3	48 a	21 f	1.83 ab	33 cde	16 c
G4-1	30.67 f	45.33 a	1.703 b	31.67 Def	16.33 c
A1-1	43.67 bcd	31.33 e	1.147 d	29.67 f	16 c
A2-1	39 e	41 c	2 a	31 df	19 bc
A3-1	40.33 de	32.33 e	0.763 E	34 bc	12.33 d
A3-2	43	31.67	0.8	30.33	12

دراسة تأثير المطفرات في إنبات بذور صنف الخس البلدي الحموي وانتخاب نباتات طافرة متفوقة

d	f	e	e	bcd	
23.67 a	19.67 g	0.5 f	43 bc	31.67 f	A4-1
17.33 bc	35.67 ab	1.16 d	37.33 d	40.67 cde	الشاهد
3.268	1.898	0.2128	2.035	3.168	LSD (%5)
7	1.3	6.5	4.5	4.5	CV%

ملاحظة: إن الأحرف غير المتماثلة ضمن العمود الواحد دليل على وجود الفروق المعنوية.

يظهر الجدولان (7) و (8) توصيفاً أولياً لعشرة نباتات طافرة منتخبة متفوقة جيل ثاني ناتجة من استخدام جرعات عديدة من أشعة غاما وتراكيز عديدة من أزيد الصوديوم SA على نباتات صنف الخس البلدي الحموي. طبيعة نمو النبات: تباينت هذه الصفة عند النباتات الطافرة المتفوقة بين (قائم، نصف مفترش، مفترش).

طبيعة الرأس: تأرجحت هذه الصفة بين (مدمج، نصف مدمج، غير مدمج).

شكل الرأس: ساد شكل الرأس البيضاوي المتطاوول لجميع النباتات الطافرة المتفوقة، باستثناء شكل الرأس البيضاوي الكروي للنبات الطافر (A4-1).

صلابة الرأس: تميزت جميع النباتات الطافرة المتفوقة برأس صلب.

لون الأوراق الخارجية: لون الأوراق الخارجية أخضر داكن لجميع النباتات الطافرة المتفوقة المدروسة، باستثناء النباتات الطافرة (A2-1، A1-1، G3-3) ذات لون أخضر داكن قاعدته صفراء اللون.

لون الأوراق الداخلية: تلوّنت الأوراق الداخلية للنباتات الطافرة المتفوقة بلون (أخضر، أخضر فاتح، أخضر مصفر، أخضر قاعدته صفراء، أخضر داكن).

شكل الساق: شكل الساق مغزلي لجميع النباتات الطافرة المتفوقة.

لون الساق: تأرجح لون الساق للنباتات الطافرة المتفوقة بين (وردي فاتح، وردي، أحمر).

طبيعة الساق: طبيعة الساق قاسي لجميع النباتات الطافرة المدروسة، باستثناء النباتين الطافرين (A2-1، A1-1) قاسي جداً.

حافة الورقة: حافة الورقة كاملة لجميع النباتات الطافرة المدروسة، باستثناء النبات الطافر المتفوق (A4-1) مشرشرة.

سطح الورقة: تباينت هذه الصفة بين (غير مجعدة، مجعدة قليلاً، مجعدة، مجعدة جداً) عند النباتات الطافرة المتفوقة.

شكل الورقة: شكل الورقة ببيضاوي متطاوول لجميع النباتات الطافرة المدروسة، باستثناء شكل الورقة الإهليلجي للنبات الطافر (A2-1)، والإهليلجي الكروي للنبات الطافر (A4-1).

لمس الورقة: ملمس الورقة دهني لجميع النباتات الطافرة المدروسة، باستثناء النبات الطافر (A3-2) غير دهني.

لون العرق الوسطي: تأرجح لون العرق الوسطي بين (أبيض، أبيض مخضر، أبيض قاعدته زهرية، أخضر محمر، أخضر قاعدته حمراء).

طعم العرق الوسطي: تباين طعم العرق الوسطي بين (حلو قليلاً، حلو، حلو جداً).

طبيعة العرق الوسطي: العرق الوسطي قاسي عند جميع النباتات الطافرة المدروسة، باستثناء النبات الطافر (G1-1) هش، والنباتين الطافرين (A1-1، A2-1) قاسي جداً.

الجدول (7): توصيف أولي لعشرة نباتات طافرة منتخبة جيل ثاني ناتجة من استخدام جرعات عديدة

من أشعة غاما وتراكيز عديدة من أزيد الصوديوم SA على بذور صنف الخس البلدي الحموي.

النبات	طبيعة نمو النبات	طبيعة الرأس	شكل الرأس	صلابة الرأس	لون الأوراق الخارجية	لون الأوراق الداخلية	شكل الساق	لون الساق	طبيعة الساق
G1-1	قائم	مندمج	بيضاوي متطاوول	صلب	أخضر داكن	أخضر	مغزلي	وردي	قاسي
G1-2	قائم	غير مندمج	بيضاوي متطاوول	صلب	أخضر	أخضر مصفر	مغزلي	وردي	قاسي

دراسة تأثير المطفرات في إنبات بذور صنف الخس البلدي الحموي وانتخاب نباتات طافرة متفوقة

G1-3	قائم	نصف مندمج	بيضاوي متطاوّل	صلب	أخضر داكن	أخضر فاتح	مغزلي	وردي	قاسي
G3-3	قائم	مندمج	بيضاوي متطاوّل	صلب	أخضر داكن	أخضر قاعدته صفراء	مغزلي	وردي وقمته وردي	قاسي
G4-1	قائم	مندمج	بيضاوي متطاوّل	صلب	أخضر داكن	أخضر	مغزلي	وردي	قاسي
A1-1	قائم	مندمج	بيضاوي متطاوّل	صلب	أخضر داكن	أخضر قاعدته صفراء	مغزلي	وردي	قاسي جداً
A2-1	قائم	مندمج	بيضاوي متطاوّل	صلب	أخضر داكن	أصفر قاعدته صفراء	مغزلي	وردي فاتح	قاسي جداً
A3-1	قائم	مندمج	بيضاوي متطاوّل	صلب	أخضر داكن	أخضر فاتح	مغزلي	أحمر	قاسي
A3-2	نصف مفترش	نصف مندمج	بيضاوي متطاوّل	صلب	أخضر داكن	أخضر داكن	مغزلي	أحمر	قاسي
A4-1	مفترش	غير مندمج	بيضاوي كروي	مخلخل	أخضر داكن	أخضر قاعدته صفراء	مغزلي	وردي	قاسي

الجدول (8): توصيف أولي لعشرة نباتات طافرة منتخبة جيل ثاني ناتجة من استخدام جرعات

عديدة

من أشعة غاما وتراكيز عديدة من أزيد الصوديوم SA على بذور صنف الخس البلدي

الحموي.

النبات	حافة الورقة	سطح الورقة	شكل الورقة	لمس الورقة	لون العرق الوسطي	طعم العرق الوسطي	طبيعة العرق الوسطي	ملاحظات
G1-1	كاملة	مجعدة قليلاً	بيضاوي متطاوول	دهني	أبيض قاعدته وردية	حلو قليلاً	هش	قمة الورقة عريضة ولها تقعر في المنتصف
G1-2	كاملة	مجعدة قليلاً	بيضاوي متطاوول	دهني	أبيض	حلو قليلاً	قاسي	العرق الوسطي مقوس عند قاعدته
G1-3	كاملة	مجعدة قليلاً	بيضاوي متطاوول	دهني	أبيض مخضر	حلو	قاسي	قمة الورقة دائرية
G3-3	كاملة	مجعدة قليلاً	بيضاوي متطاوول	دهني	أبيض	حلو	قاسي	عدد أوراق كبير
G4-1	كاملة	مجعدة	بيضاوي متطاوول	دهني	أبيض قاعدته وردية	حلو قليلاً	قاسي	قمة الورقة عريضة وملتفة للخارج
A1-1	كاملة	مجعدة	بيضاوي متطاوول	دهني	أبيض	حلو قليلاً	قاسي جداً	قاعدة الورقة عريضة، العرق الوسطي

دراسة تأثير المطفرات في إنبات بذور صنف الخس البلدي الحموي وانتخاب نباتات طافرة متفوقة

مقوس عند القاعدة								
	قاسي جداً	حلو	أبيض قاعدته زهرية	دهني	إهليلجي	مجعدة	كاملة	A2-1
	قاسي	حلو جداً	أخضر محمر	دهني	بيضاوي متطاوول	غير مجعدة	كاملة	A3-1
	قاسي	حلو	أخضر قاعدته حمراء	غير دهني	بيضاوي متطاوول	غير مجعدة	كاملة	A3-2
	قاسي	حلو	أخضر محمر	دهني	إهليلجي كروي	مجعدة جداً	مشرشرة	A4-1



(G1-3)



(G1-2)



(G1-1)

(أ)



(G4-1)

(ج)



(G3-3)

(ب)



الشكل (1): نباتات خس بلدي حموي طافرة متفوقة منتخبة ناتجة من استخدام جرعات عديدة من أشعة غاما

على بذور صنف الخس البلدي الحموي.

(أ): النباتات الطافرة المتفوقة المنتخبة من الجرعة 25 غراي من أشعة غاما.

(ب): نبات طافر متفوق منتخب من الجرعة 75 غراي من أشعة غاما.

(ج): نبات طافر متفوق منتخب من الجرعة 100 غراي من أشعة غاما.



(A2-1)

(A1-1)

(ب)

(إ)



(A3-1)

(A3-2)

(ج)



(A4-1)

(د)

الشكل (2): نباتات خس بلدي حموي طافرة متفوقة منتخبة من استخدام تراكيز عديدة من

أزيد الصوديوم SA

على بذور صنف الخس البلدي الحموي.

(أ): نبات خس طافر منتخب من التركيز (0.2 ملغ/ل) من أزيد الصوديوم.

(ب): نبات خس طافر منتخب من التركيز (0.3 ملغ/ل) من أزيد الصوديوم.

(ج): نباتات خس طافرة منتخبة من التركيز (0.4 ملغ/ل) من أزيد الصوديوم.

(د): نبات خس طافر منتخب من التركيز (0.5 ملغ/ل) من أزيد الصوديوم.

الاستنتاجات:

أظهر استخدام جرعات عديدة من أشعة غاما (25، 50، 75، 100 غراي)، وتراكيز عديدة من أزيد الصوديوم SA (0.2، 0.3، 0.4، 0.5 ملغ/ل) على بذور صنف الخس البلدي الحموي كل من الآتي:

- 1- لعب كلا المطفرين المستخدمين (أشعة غاما، أزيد الصوديوم) دوراً مهماً في استحداث التباينات الوراثية التي تعد المادة الوراثية للحصول على نباتات متفوقة منتخبة ذات صفات مرغوبة تسويقياً.
- 2- لوحظ التأثير المحفز لاستخدام الجرعتين (50، 75 غراي) من أشعة غاما على نسبة الإنبات المخبرية للبذور، ونسبة الإنبات الحقلية للبذور.

- 3- لوحظ التأثير المحفز للتركيزين (0.3، 0.4 ملغ/ل) من أزيد الصوديوم SA على نسبة الإنبات المخبرية للبذور، وازداد التأثير السلبي بازدياد التركيز المستخدم في كل من نسبة الإنبات المخبرية للبذور، ونسبة الإنبات الحقلية للبذور.
- 4- انخفضت نسبة النباتات المتبقية بعد (60 يوم من الزراعة) مع ارتفاع جرعات أشعة غاما، ومع زيادة تراكيز أزيد الصوديوم.
- 5- يمكن اعتبار الجرعتين (50، 75 غراي) من أشعة غاما والتركيز (0.2 ملغ/ل) الأفضل في الحصول على أعلى نسبة من النباتات الطافرة.
- 6- يمكن اعتبار الجرعة (100 غراي) والتركيز (0.3 ملغ/ل) من أزيد الصوديوم SA أقرب ما يكون إلى LD₅₀.
- 7- أمكن انتخاب وتوصيف (10) نباتات طافرة متفوقة مبشرة (جيل ثاني).

المقترحات:

- ننصح العاملين في مجال التحسين الوراثي لنبات الخس في سورية بالآتي:
- استخدام الجرعة (100 غراي) من أشعة غاما، والتركيز (0.3 ملغ/ل) من أزيد الصوديوم SA لاستحداث تباينات وراثية كبيرة، بغية الحصول على نباتات طافرة متفوقة من الخس.
 - استخدام الجرعتين (50، 75 غراي) من أشعة غاما والتركيز (0.2 ملغ/ل) من أزيد الصوديوم SA للحصول على أعلى نسبة من النباتات الطافرة عند الخس.
- المراجع العلمية المستخدمة:

1. الخباز، باسمة. 2014. توصيف بعض طرز الخس البلدي *Lactuca sativa* L. المزروعة في محافظة حماة، مجلة جامعة حمص للعلوم الزراعية والتقانة الحيوية، المجلد (36).
2. الشالات، براءة. 2023. دراسة تأثير أشعة غاما في بعض الصفات الفينولوجية والمورفولوجية والإنتاجية في نباتات الجيل الأول لصنفين من الفول العادي (حماة-1، حماة-2)، مجلة جامعة حمص للعلوم الزراعية والتقانة الحيوية، المجلد (45).

3. العبد الله، أسامة. 2013. استجابة بعض أصناف الثوم المزروعة في سورية للإكثار الدقيق باستخدام تقانات زراعة الأنسجة والمعاملة بالمطفرات بهدف تحسينها. أطروحة دكتوراه، قسم البساتين، كلية الزراعة، جامعة حمص. 199 صفحة.
4. المحمد، خالد؛ محمد نبيل الأيوبي؛ زكريا حساني؛ أميرة زين. 2003. التحسين الوراثي للفاكهة والخضار. الجزء النظري، منشورات جامعة حلب، كلية الزراعة، 262 صفحة.
5. حسن، أحمد عبد المنعم. 1991. أساسيات تربية النبات. الدار العربية للنشر، القاهرة، مصر، 682 صفحة.
6. حسن، أحمد عبد المنعم. 1993. تربية محاصيل الخضار. الدار العربية للنشر، القاهرة، مصر، 800 صفحة.
7. حميدان، مروان؛ رياض زيدان. 2003. زراعة وإنتاج محاصيل الخضار. الجزء النظري، منشورات جامعة تشرين، كلية الزراعة، 267 صفحة.
8. Ashish, R. W.; Nandkishor, H. R. and Prashant, W. ,2011– **Effect Of sodium azide and gamma rays' treatments on percentage germination, survival, morphological variation and chlorophyll mutationin Musk Okra (Abelmoschus Moschatus L.)**. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Vol. 3, Suppl 5, 483– 486. ISSN– 0975– 1491.
9. Franco¹, Caio H.; Arthur¹, Valter; Da Silva², Regildo M. G.; Franco³, José G. and Franco, ³Suely S. H. ,2013– **Evaluation of Germination, Vegetative Development and Genotoxicity Of Lettuce From Irradiated Seeds International Nuclear Atlantic Conference – INAC 2013**Recife, PE, Brazil, November 24–29.

10. Franco C. H.; Santos H.M.; Silva L. P.; Arthur V. and Silva R. G. M. ,2015- **Mutagenic Potential of Lettuce Grown from Irradiated Seeds**, Scientia Horticulturae 182, 27-30.
11. Gnanamurthy, S.; Dhanavel, D.; Girija, M.; Pavadai, P. and Bharathi, T. ,2012- **Effect of Chemical mutagenesis on Quantitative traits of Maize (*Zea mays* L.)**. International Journal of Research in Botany; 2 (4): 34- 36.
12. Joshi, N.; Ravindran, A. and Mahajan, V. ,2011- **Investigations on chemical mutagen sensitivity in onion (*Allium cepa* L.)**. International Journal of Botany, 7 (3): 243- 248.
13. Khan, S. and Goyal, S. ,2009- **Mutation genetic studies in mungbean iv. selection of early maturing mutants**. Thai Journal Of Agricultural Science. 42 (2): 109- 113.
14. Křístková, E., I. Doležalová, A. Lebeda, V. Vinter, and A. Novotná. ,2008-**Description of morphological characters of lettuce (*Lactuca sativa* L.) genetic resources**. Hort. Sci. (Prague) 35(3):113-129.
15. Mahla, S. V. S., Mor, B. R. and Yadava, J. S. ,1990- **Effect of mutagens on yield and its component characters in mustard**. Haryana Agric. Univ. J. Res., 8 (2): 173- 173.
16. Majeed, A. A., Khan R., Ahmad, H., Muhammad, Z. ,2010- **Gamma irradiation effects on some growth parameters of *Lepidium sativum* L.** ARPN Journal of Agricultural and Biological Science, 5 (1): 39- 42.

17. Marcu¹, Delia; Cristea², Victoria and Daraban³, Liviu ,2013– **Dose-dependent effects of gamma radiation on lettuce (*Lactuca sativa* var. *capitata*) seedlings**. International Journal of Radiation Biology, March 2013; 89(3): 219–223.
18. Mou, B. ,2012– **Mutations in Lettuce Improvement**. International Journal of Plant Genomics. doi:10.1155/2011/723518.
19. Sariçam¹, Şule *; Kantoğlu², K. Yaprak and Ellialtıoğlu³, Ş. Şebnem ,2017– **Determination of Effective Mutagen Dose for Lettuce (*Lactuca sativa* var. *longifolia* cv. *Cervantes*) Seeds**. Eurasian Journal of agricultural research
20. Shah, S. A., Ali, I., Rahman, K. ,1990– **Induction and selection of superior genetic variables of oilseed rape (*Brassica napus* L.)**. The Nucleus, 27 (1– 4): 37– 40.
21. Piri, I., Mehdi, B., Abolfazl,T., Mehdi, J.,2011– **The use of gamma irradiation in agriculture**. African journal of Microbiology Research. Vol. 5 (32), pp. 5806–5811.