دور المركبات الثانوية (Secondary Products) المستخلصة من بعض النباتات في تثبيط نشاط إنزيم اليوريز في التربة*

محمد عبد الله عبد الكريم عبد المهدي صالح الأنصاري

قسم علوم التربة والمياه / كلية الزراعة / جامعة البصرة / العراق

الخلاصة

أجريت تجربة حضن مختبرية في مختبرات قسم علوم التربة والمياه / كلية الزراعة لبيان تأثير المركبات الثانوية (secondary products) والتي تشمل الزيوت الطيارة (Essential oils) والراتنجات (Resins) والصابونيات (Saponines) والفينولات (Phenolics) المستخلصة من أوراق نبات اليوكالبتوس أو رايزومات الثيل أو ليف النخيل، في تثبيط نشاط إنزيم اليوريز في تربة رملية مزيجية أخذت من حقول الطماطة في الزبير / محافظة البصرة والمصنفة ضمن رتبة Entisol وتحت مجموعة الترب العظمى Typic quartzipsamment. حضنت هذه المركبات كل على حدة بثلاثة تراكيز هي 0.5 و 5.0 و 10.0 % من وزن اليوريا المضافة بمستوى 1000 ملغم N / كغم تربة وعلى درجة 30 م لمدة 40 يوماً قدر خلالها نشاط إنزيم اليوريز في التربة بعد 5 و 10 و 20 و40 يوماً وحسبت النسبة المئوية للتثبيط.أظهرت نتائج الدراسة عدم وجود تأثير تثبيطي لنشاط إنزيم اليوريز في التربة المعاملة بالمواد الراتنجية المستخلصة من أوراق اليوكالبتوس أو ليف النخيل أو المعاملة بالمواد الصابونية المستخلصة من رايزومات الثيل. إما المواد الفينولية والزيوت الطيارة فقد أعطت تثبيطاً معنوياً لنشاط إنزيم اليوريز في التربة مع ملاحظة تفوق المواد الفينولية معنوياً على الزيوت الطيارة. كذلك أظهرت النتائج إختلاف التأثير التثبيطي للمواد الفينولية بإختلاف النبات المستخلصة منه إذ أعطت فينولات الليف أعلى نسبة تثبيط لنشاط الإنزيم بلغت 36.16 % وتفوقت معنوياً على الفينولات المستخلصة من اليوكالبتوس والثيل والتي بلغ عندها معدل التثبيط 26.74 و 24.91 % على التوالي ولم يختلفا عن بعضهما معنوياً.

الكلمات المفتاحية : اليوكالبتوس ، الثيل، ليف النخيل، المركبات الثانوية، إنزيم اليوريز

- جزء من إطروحة الدكتوراه للباحث الأول

المقدمة

لقد إزداد إستخدام سماد اليوريا وبشكل سريع خلال الثلاثين سنة الماضية حتى وصلت الكمية المستهلكة منه عالمياً إلى 37.6 مليون طن N عند العام 1998 وهذا يشكل نسبة 46 % من النتروجين المستهلك عالمياً (16)، وبالرغم من ذلك فإن إستخدام هذا السماد لا يخلو من بعض المشاكل والتي تنشأ بالدرجة الأساس من التحلل المائي السريع لهذا السماد إلى أمونيا وثاني أوكسيد الكاربون بواسطة إنزيم اليوريز في التربة (12):

$$NH_2CONH_2 + H_2O \rightarrow 2NH_3 + CO_2$$

، وتتلخص هذه المشاكل بفقد غاز الأمونيا والسمية بالأمونيا والسمية بالنتريت الناتجة من عملية النترجة وكذلك التأثير السلبي على البذور والبادرات (13) فضلاً عن الغسل السريع لليوريا بوجود كميات كبيرة من الماء (25).ومن الحلول التي تم إعتمادها للحد من مشاكل إستخدام هذا السماد هو استخدام مركبات كيميائية قادرة على تأخير تحلل اليوريا عن طريق تثبيط نشاط إنزيم اليوريز في التربة (6 و 12) ولكن العديد من هذه المواد اقتصر إستخدامها على الحالات التجريبية ولم تنتشر بشكل واسع بسبب إرتفاع أسعار الأسمدة المعاملة بهذه المواد والتأثير الضار في مجاميع أحياء التربة والسمية للنبات والتأثير على البيئة (15 و32).

إن الإهتمام المتزايد بدراسة علاقات التداخل الكيميوحيوية بين النباتات المتواجدة في مكان واحد من خلال تأثير المواد الكيميائية التي تفرزها النباتات (مواد الأيض الثانوي) إلى البيئة وهو ما يسمى بمبدأ (Allelopathy) قد سلط الضوء على إمكانية السيطرة على بعض العمليات الحيوية التي تجري في التربة بواسطة إفرازات النباتات ومن هذه العمليات الحيوية نشاط إنزيم اليوريز إذ أشارت الكثير من المصادر إلى تثبيط نشاط إنزيم اليوريز بواسطة المستخلصات المختلفة أو مواد الأيض الثانوي للنباتات (20 و18).لقد أظهرت نتائج دراسة سابقة (1) كفاءة المستخلصات المائية لأوراق نباتات الآس واليوكالبتوس وليف النخيل ورايزومات الثيل في تثبيط نشاط إنزيم اليوريز في التربة . ونظراً لقلة الدراسات التي تناولت هذا الموضوع في الترب العراقية ، لذا فقد أجريت هذه الدراسة لبيان تأثير نوع المركبات الثانوية المستخلصة من أوراق نباتات اليوكالبتوس وليف النخيل ورايزومات الثيل في تثبيط نشاط إنزيم اليوريز في التربة.

مواد وطرق العمل

، أجريت هذه التجربة في مختبرات قسم علوم التربة والمياه / كلية الزراعة / جامعة البصرة لدراسة تأثير المركبات الثانوية (مواد الأيض الثانوي) المستخلصة من أوراق نبات اليوكالبتوس وليف النخيل ورايزومات الثيل في نشاط إنزيم اليوريز في التربة. استخدمت تربة

رملية مزيجية من مزارع الطماطة / قضاء الزبير / محافظة البصرة جنوبي العراق والمصنفة ضمن رتبة Entisol وتحت مجموعة الترب العظمى Typic quartzipsamment حيث جمعت النماذج من الطبقة السطحية (0 – 30 سم) وجففت هوائياً ثم نخلت من منخل سعة فتحاته 2 ملم وتم تقدير بعض الصفات العامة لها (جدول 1) حسب الطرق الواردة في (9) و (24).

جدول (1): بعض الخصائص الكيميائية والفيزيائية والحيوية لتربة الدراسة

الصفة	وحدة القياس	القيمة	
pH	———	8.05	
E. C.	$dS.m^{-1}$	2.30	
$CaCO_3$	$g . Kg^{-1}$	75.00	
CEC	$Cmole (+).Kg^{-1}$	3.40	
الفسفور الجاهز – $NaHCO_3$	$mg. Kg^{-1}$	5.60	
النتروجين الكلي	$g . Kg^{-1}$	0.03	
الكاربون العضوي	$g . Kg^{-1}$	0.40	
المادة العضوية	$g . Kg^{-1}$	0.70	
C:N Ratio	———	13.33	
نشاط انزيم اليوريز	$\mu g\ NH_4^+/gm\ Soil/2h$	2.3	
$NH_4^+ – N$	$\mu g.gm^{-1}$	1.57	
$NO_3^- – N$		0.61	
$NO_2^- – N$		0.00	
Ca^{+2}	$m\ mole.L^{-1}$	5.40	
Mg^{+2}		3.00	
Na^+		6.50	
K^+		1.02	
HCO_3^-		2.00	
$SO_4^=$		8.50	
Cl^-		7.00	
$CO_3^=$		0.00	
الرمل	$gm . Kg^{-1}$	866.00	Loamy Sand
الغرين		51.96	
الطين		82.04	

كشف وإستخلاص المركبات الثانوية في النباتات المدروسة

جمعت الأجزاء النباتية للنباتات قيد الدراسة (جدول 2) من مناطق مختلفة من محافظة البصرة ونظفت من الأتربة وجففت هوائياً في جو المختبر وفي الظلام مع التقليب المستمر لمنع التعفن ثم طحنت ونخلت من منخل سعة فتحاته 1 ملم وتم فيها الكشف عن وجود المركبات الثانوية الفعالة (Secondary metabolites substances) التالية وحسب الطرق المسجلة إزاءها: الكلايكوسيدات (Glycosides) والراتنجات (Resins) حسب ما ورد في (27) والقلوانات (Alkaloids) والصابونيات (Saponines) والزيوت الطيارة (Essential Oils) والتانينات (Tannins) حسب ما ورد في (21) والفلافونويدات (Flavonoids) حسب ما ورد في (8) والكومارينات (Coumarins) حسب ما ورد في (17) .

جدول (2): النباتات المستخدمة في الدراسة

ت	اسم النبات	الاسم العلمي	الجزء النباتي المدروس	موعد أخذ العينة
1	**ثيل**	*Cynodon dactylon* (L.) Pers.	الرايزومات	شباط / 2003
2	**نخيل التمر (صنف زهدي)**	*Phoenix dactylifera* L.CV. Zehdi	الليف	شباط / 2003
3	**يوكالبتوس**	*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.	الأوراق	نيسان / 2003

وتبعاً لنتائج الكشف الكيميائي والموضحة في جدول (3) فقد تم إستخلاص المواد التالية الموجودة في إنسجة هذه النباتات وحسب طرق الإستخلاص المبينة إزاء كل منها: الفينولات (26) والزيوت الطيارة(23) والصابونيات (4) والراتنجات (31).

تأثير المركبات الثانوية في تثبيط نشاط إنزيم اليوريزفي التربة:

بعد إستخلاص المركبات الثانوية من النباتات المدروسة تم إضافتها إلى التربة بثلاثة تراكيز (0.5، 5.0، 10.0 % من وزن اليوريا المضافة) إذ وضع 5 غم تربة جافة هوائياً في حاويات بلاستيكية سعة 20 سم^3 وأضيف لها ماء مقطر يعادل السعة الحقلية للتربة مذاباً فيه 10.86 ملغم يوريا (ليعطي مستوى سمادياً قدره 1000 ملغم N / كغم تربة) و 0.054 أو0.547 أو 1.086 ملغم مادة ثانوية وغطيت الحاويات وحضنت بالحاضنة على درجة حرارة 30 ± 2 م لمدة 40 يوماً مع متابعة إكمال رطوبة النماذج بالوزن الدوري وتعويض النقص بإضافة الماء المقطر. تم قياس نشاط إنزيم اليوريز في النماذج بعد 5 و 10 و 20 و 40 يوماً من الحضن وحسب طريقة (29) والتي من خلالها يتم تقدير آيون الأمونيوم ($NH^+_4 - N$)

الناتج من تحلل اليوريا وذلك بالتقطير بالبخار (10) ثم حسبت النسبة المئوية لتثبيط نشاط إنزيم اليوريز بإستخدام المعادلة التالية الموصوفة في (12) :

$$(C - T) / C \times 100$$

حيث إن:

T: كمية الأمونيوم الناتجة من نموذج التربة المعاملة بالمواد الثانوية.

C: كمية الأمونيوم الناتجة من نموذج التربة غير المعامل بالمواد الثانوية (معاملة المقارنة)

جدول (3) : الكشف الكيميائي التمهيدي عن المواد الثانوية لنباتات الثيل ونخيل التمر واليوكالبتوس

المادة	الراتنجات	الصبونيات		المواد الفينولية			الكلايكوسيدات		القلوانات			الزيوت الطيارة
				التانينات	الفلافونويدات	الكومارينات						
نوع الكشف	كشف العكارة	كشف الرغوة	كاشف كلوريد الزئبق	كاشف كلوريد الحديديك	كاشف KOH	كاشف UV - NaOH	محلول فهلنك	محلول بندكت	كاشف ماير	كاشف دراكندورف	كاشف ماركس	كاشف Fluorescein
اليوكالبتوس	+	−	−	+	+	+	+	+	−	−	−	+
الليف	+	−	−	+	+	−	−	−	−	−	−	−
الثيل	−	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−

التحليل الإحصائي

نفذت التجربة كتجربة عاملية (نوع المادة X تركيز المادة X فترة الحضن) وبتصميم عشوائي كامل بثلاثة مكررات وحللت البيانات بإستخدام تحليل التباين وقورنت المتوسطات بإستخدام أقل فرق معنوي المعدل (RLSD) وحسب ما جاء في (5).

النتائج والمناقشة

تأثير المركبات الثانوية لأوراق اليوكالبتوس:

يوضح الجدول (4) عدم وجود تـأثير لأضـافة الراتنجـات المستخلـصة مـن أوراق اليوكالبتوس في تثبيط نشاط إنزيم اليوريز وعند جميع التراكيز وفترات الحضن المستخدمة.

جدول (4): تأثير تركيز المركبات الثانوية المستخلصة من نبـات اليوكـالبتوس فـي النسبة المئوية لتثبيط نشاط أنزيم اليوريز في التربة خـلال فتـرات حـضن مختلفة.

المادة المستخلصة	التركيز (% من اليوريا)	فترة الحضن (يوم) 5	10	20	40	المعدل
الراتنجات	**0.5**	0 a	0 a	0 a	0 a	0 A
	5	0 a	0 a	0 a	0 a	0 A
	10	0 a	0 a	0 a	0 a	0 A
	المعدل	0 A	0 A	0 A	0 A	
الفينولات	**0.5**	50 ef	59 f	0 a	0 a	27.25 CD
	5	10 ab	54 ef	13 abc	10 ab	21.75 BCD
	10	39 def	33 b-e	33 b-c	20 a-d	31.25 D
	المعدل	33.00 C	48.66 D	15.33B	10.00 AB	
الزيوت الطيارة	**0.5**	21 a-d	0 a	0 a	0 a	5.25 A
	5	36 c-f	23 a-d	0 a	0 a	14.75 B
	10	24 a-d	41 def	0 a	0 a	16.25 BC
	المعدل	27.00 C	21.33 BC	0 A	0 A	

المتوسطات التي تشترك بنفس الحرف لا تختلف معنوياً تحت مستوى احتمال 0.01

أما بالنسبة لتأثير المواد الفينولية فتشير النتائج في جدول (4) إلى وجود تـأير معنـوي لتراكيز هذه المادة حي إزدادت نسبة تثبيط نشاط إنزيم اليوريز بزيادة التركيز إذ أعطى التركيز 10.0 % أعلى معدل للتثبيط بلغ 31.25 % وتفوق معنوياً عند مستوى إحتمـال 0.05 علـى معدل التثبيط عند التركيز 5.0 % والبالغ 21.075 % ولم يختلف معنوياً عـن التثبـيط عنـد التركيز 0.5 % والبالغ 27.25 %. وتتفق هذه النتائج مع (28). أشار الحبيب (3) الى تثبيط نمو وإنبات عدة أنواع من الفطريات المعزولة من ترب في محافظة البصرة نتيجـة إسـتخدام المستخلص المائي لأوراق نبات اليوكالبتوس وقد أعزي التثبيط إلى محتوى النبات من المركبات

الفينولية والزيت الطيار. وأوضحت النتائج وجود تأثير معنوي لفترة حضن المواد الفينولية في تثبيط نشاط إنزيم اليوريز في التربة إذ إزداد معدل التثبيط معنوياً من 33.00 إلـــى 48.66 % بزيادة فترة الحضن من 5 إلى 10 أيام ثم بعد ذلك إنخفض معنوياً إلـــى 15.33 و 10.00 % عند تقدم فترة الحضن إلى 20 و 40 يوماً على التوالي. وتتفق هذه النتائج مع نتائج كـــل مـــن (11) و (6). إن الزيادة في التأثير التثبيطي للمواد الفينولية حتى فترة 10 أيام ربما يرجع إلـــى تحول هذه المواد في التربة إلى مواد أكثر ثباتاً وتثبيطاً لنشاط الإنزيم قبل تحطمها وتحللهـــا أو تداخلها مع مكونات التربة الحيوية وغير الحيوية عند فترات الحضن المتأخرة (22).

وكذلك توضح النتائج في الجدول (4) وجود تأثير معنوي لتداخل تركيز المواد الفينوليـــة وفترة الحضن فقد أعطت المعاملة 0.5 % فينولات عند فترة 10 أيام أعلى تثبيط لنشاط إنـــزيم اليوريز بلغ 59 % وتفوق معنوياً على أغلب معاملات التداخل وقد تكون هذه النتيجة مـــشجعة من الناحية التطبيقية لتفوق التركيز الواطيء للمواد الفينولية في إحداث أعلى تثبيط لنشاط الأنزيم في تربة الدراسة مما يسهل تحضيرها وإستغلالها عملياً.

أما بالنسبة لتأثير إضافة الزيوت الطيارة المستخلصة من أوراق نبات اليوكالبتوس فيوضح الجدول (4) وجود تأثير معنوي عند مستوى إحتمال 0.05 لتركيز الزيت الطيار حيث إزدادت نسبة التثبيط لنشاط إنزيم اليوريز من 5.25 % عند التركيز 0.50 % إلى 14.75 و 16.25 % عند التركيزين 5.0 و 10.0 % على التوالي. أشار كل من Agrawal *et al.* (7) و Ghosh *et al.* (18) إلى تثبيط نشاط إنزيم اليوريز في التربة والمزارع النقية المعاملـــة بمستخلـــصات نباتات الصنوبروالنيم والـــسبجج الغنيـــة بالمركبـــات التربينيـــة (Terpenes) والتربينويديـــة (Terpenoids) الطيارة. وأشار Trivedi and Hetchandani (30) إلى مقدرة زيت نبـــات اليوكالبتوس على تثبيط عدة أنواع من البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام.ويشير الجدول (4) أيضاً إلى إنخفاض تثبيط إنزيم اليوريز بتقدم فترة الحضن إذ بلغ معدل التثبيط عند فترة حضن 5 أيام 27.00 % وإنخفض إلى 21.33 % عند الفترة 10 أيام أما عند فترتي الحـــضن 20 و 40 يوماً فلم تظهر الزيوت الطيارة أي تأثير في تثبيط نشاط إنزيم اليوريز فـــي التربـــة. كمـــا وأظهرت النتائج وجود تأثير معنوي عند مستوى إحتمال 0.01 لتداخل عاملي التركيز وفتـــرة الحضن إذ يلاحظ من جدول (4) إن التركيز 10.0 % وعند فترة 10 أيام أعطى اعلى نـــسبة تثبيط بلغت 41 % وتفوقت معنوياً على المعاملات التي لم تؤد إلى تثبيط (صفر %) بينما لـــم تختلف معنوياً عن باقي معاملات التداخل.

ولمقارنة تأثير المواد الفينولية والزيوت الطيارة المستخلصة من أوراق نبات اليوكالبتوس في تثبيط نشاط إنزيم اليوريز عند فترات الحضن المختلفة فإن الجدول (4) يشير إلى وجود تفوق معنوي عند مستوى إحتمال 0.01 للمواد الفينولية على الزيوت الطيارة عند فترتي حضن 10 و20 يوماً وكذلك تفوق معنوي عند مستوى 0.05 عند فترة 40 يوماً بينما لم تسجل الفترة 5 أيام إختلافاً معنوياً بين تأثير المادتين في تثبيط نشاط إنزيم اليوريز. وهذا يدل بوضوح على أن التثبيط الأكبر لنبات اليوكالبتوس يرجع إلى المواد الفينولية تحت ظروف التجربة، وإذا ما عرفنا إن المواد الفينولية مواد عالية الذائبية بالماء فأن هذه النتيجة تؤكد أن دور المستخلص المائي لأوراق نبات اليوكالبتوس في تثبيط نشاط إنزيم اليوريز في التربة والذي لوحظ في دراسة سابقة (1) يعود بالدرجة الرئيسة للمواد الفينولية الموجودة في هذا النبات.

تأثير المركبات الثانوية لليف النخيل:

توضح النتائج في جدول (5) عدم حصول تثبيط لنشاط إنزيم اليوريز نتيجة إضافة المواد الراتنجية مع سماد اليوريا ولكافة المعاملات عدا المعاملة 0.5 % عند فترة 5 أيام حضن إذ بلغت عندها نسبة التثبيط 10 % ولكنها لم تختلف معنوياً عن باقي المعاملات. إن هذه النتيجة جاءت مشابهة لتأثير الراتنجات المستخلصة من أوراق نبات اليوكالبتوس (جدول 4).

جدول (5): تأثير تركيز المركبات الثانوية المستخلصة من ليف النخيل في النسبة المئوية لتثبيط نشاط أنزيم اليوريز في التربة خلال فترات حضن مختلفة.

المادة المستخلصة	التركيز (% من اليوريا)	فترة الحضن (يوم) 5	10	20	40	المعدل
الراتنجات	0.5	10 a	0 a	0 a	0 a	2.50 A
	5	0 a	0 a	0 a	0 a	0 A
	10	0 a	0 a	0 a	0 a	0 A
	المعدل	3.33 A	0 A	0 A	0 A	
الفينولات	0.5	19 ab	52 d	46 cd	20 ab	34.25 BC
	5	19 ab	53 d	23 abc	20 ab	28.75 B
	10	50 d	57 d	35 bcd	20 ab	40.50 C
	المعدل	29.33 BC	54.00 D	34.66 C	20.00B	

المتوسطات التي تشترك بنفس الحرف لا تختلف معنوياً تحت مستوى احتمال 0.01

أما بالنسبة لتأثير المواد الفينولية فأن البيانات في جدول (5) تشير إلى وجود تثبيط لنشاط انزيم اليوريز نتيجة معاملة التربة بهذه المواد والتي بين الكشف التمهيدي عنها بأنها مواد تانينية وفلافونويدات (جدول 3). زيادة تركيز المواد الفينولية المضافة من 0.5 إلى 5.0 % أدى إلى انخفاض غير معنوي في معدل تثبيط نشاط الإنزيم من 34.25 إلى 28.75 % ولكن زيادة التركيز إلى 10.0% أدى إلى ارتفاع معدل التثبيط إلى 40.50 % وبفارق معنوي عند مستوى 0.01 عن معاملة 5.0 % وغير معنوي عن معاملة 0.5 % . أشار Gianfreda *et al.* (19) أن زيادة كمية Tannic acid المضاف للتربة من 0.02 إلى 0.10 ملي مول أدت إلى انخفاض في نشاط انزيم اليوريز بمقدار 72.4%. وكذلك يوضح الجدول (5) وجود تأثير معنوي لفترة حضن المواد الفينولية في تثبيط نشاط أنزيم اليوريز في التربة وقد كان اتجاه النتائج مشابه لما مر ذكره في تأثير المواد الفينولية لنبات البوكالبتوس (جدول 4) حيث يلاحظ زيادة معنوية عند مستوى احتمال 0.01 في تثبيط نشاط أنزيم اليوريز بزيادة فترة الحضن من 5 إلى 10 أيام ثم يتبعه انخفاض معنوي في معدل التثبيط حتى نهاية التجربة. كما إن تداخل تركيز وفترة حضن المواد الفينولية قد أثر معنوياً في تثبيط نشاط إنزيم اليوريز إذ يلاحظ أن أعلى نسبة تثبيط ظهرت عند فترة 10 أيام من الحضن ولجميع التراكيز المستخدمة فقد بلغ التثبيط 52 و 53 و 57 % للتراكيز 0.5 و 5.0 و 10.0 % على التوالي ولم تظهر اختلافات معنوية فيما بينها ولكنها تفوقت معنوياً على باقي التداخلات. كما يمكن إن يلاحظ إن تثبيط نشاط أنزيم اليوريز نتيجة المعاملة بالمواد الفينولية قد استمر حتى فترة 40 يوماً وبلغ 20 % لكافة التراكيز وهذا يؤكد القدرة العالية للمواد الفينولية في تثبيط نشاط أنزيم اليوريز في التربة والتي تعتبر المسؤل الرئيسي لتأثير المستخلص المائي لليف النخيل في تثبيط نشاط إنزيم اليوريز في التربة والذي تم الحصول عليه في دراسة أولية سابقة (1).

تأثير المركبات الثانوية لرايزومات الثيل:

توضح النتائج في جدول (6) عدم وجود تأثير للمواد الصابونية المستخلصة من رايزومات الثيل في تثبيط نشاط إنزيم اليوريز ولكافة التراكيز وفترات الحضن. بينما يشير الجدول (6) الى حصول تثبيط لنشاط الإنزيم جراء المعاملة بالمواد الفينولية إذ يلاحظ إن زيادة التركيز من 0.5 إلى 5.0 % أدى إلى زيادة معنوية عالية في التثبيط حيث ارتفعت من 19.75 إلى 31.50 % بينما زيادة التركيز إلى 10.0 % أدى إلى خفض نسبة التثبيط إلى 32.50 % وبشكل غير معنوي عن نسبة التثبيط للتركيز 0.5 %.

جدول (6) : تأثير تركيز المركبات الثانوية المستخلصة من نبات الثيل في النسبة المئوية لتثبيط نشاط أنزيم اليوريز في التربة خلال فترات حضن مختلفة.

المادة المستخلصة	التركيز (% من اليوريا)	فترة الحضن (يوم)				المعدل
		5	10	20	40	
الصابونيات	**0.5**	0_{a}	0_{a}	0_{a}	0_{a}	0_{A}
	5	0_{a}	0_{a}	0_{a}	0_{a}	0_{A}
	10	0_{a}	0_{a}	0_{a}	0_{a}	0_{A}
	المعدل	0_{A}	0_{A}	0_{A}	0_{A}	
الفينولات	**0.5**	0_{a}	43_{cd}	23_{abc}	13_{ab}	19.75_{B}
	5	19_{abc}	33_{bcd}	54_{d}	20_{abc}	31.50_{C}
	10	0_{a}	50_{d}	38_{cd}	6_{ab}	23.50_{B}
	المعدل	6.33_{AB}	42.00_{C}	38.33_{C}	13.00_{B}	

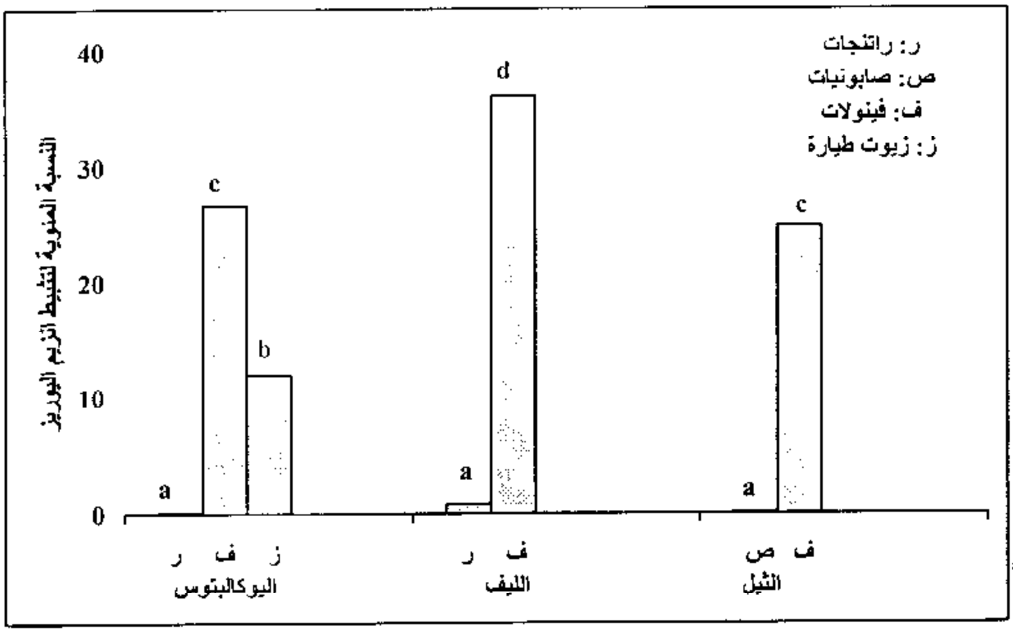
المتوسطات التي تشترك بنفس الحرف لا تختلف معنوياً تحت مستوى احتمال 0.01

أما بالنسبة لتأثير فترة حضن المواد الفينولية فتشير النتائج في جدول (6) إن زيادة فترة الحضن من 5 إلى 10 أيام أدت إلى زيادة معنوية في تثبيط نشاط إنزيم اليوريز من 6.33 إلى 42.00 % ثم إنخفضت إلى 38.33 و 13.00 عند تقدم فترة الحضن إلى 20 و40 يوماً على التوالي وبفارق معنوي عن مستوى إحتمال 0.01 عن نسبة التثبيط للفترتين 10 و 20 يوماً. ولتوضيح تأثير تداخل تركيز وفترة حضن المواد الفينولية في نشاط إنزيم اليوريز في التربة فيلاحظ من الجدول (6) إن أعلى نسبة تثبيط عند التركيزين 5.0 و 10.0 % كانت عند الفترة 10 ايام أما عند التركيز 5.0 % فقد ظهرت أعلى نسبة تثبيط عند فترة 20 يوماً من الحضن. إن عدم وجود تأثير تثبيطي للمواد الصابونية المستخلصة من رايزومات الثيل وإقتصار التأثير على المواد الفينولية يثبت أن التأثير التثبيطي للمستخلص المائي لرايزومات الثيل (1) قد يرجع بالدرجة الأساس للمواد الفينولية.

مقارنة تأثير نوع المادة المستخلصة من النباتات في تثبيط نشاط أنزيم اليوريز في التربة :

يوضح الشكل (1) مقارنة تأثير نوع المادة المستخلصة من النباتات المدروسة في تثبيط نشاط أنزيم اليوريز في التربة حيث يلاحظ أن المواد الفينولية أعطت أعلى نسباً للتثبيط مقارنة بالمواد الأخرى المستخلصة من كل نبات وبفارق معنوي عند مستوى احتمال 0.01 فبالنسبة

لنبات اليوكالبتوس بلغ معدل التثبيط للمواد الفينولية 26.74 % مقارنة بـ صـــفر و 12.08 % لمواد الراتنجات والزيوت الطيارة على التوالي، وكذلك تفوقت فينولات ليف النخيل معنوياً على الراتنجات إذ أعطت المادتان معدلاً للتثبيط بلغ 36.16 و 0.83 % علـــى التـــوالي، وتفوقـــت فينولات الثيل معنوياً على الصابونيات إذ أعطت المادتان معدلاً للتثبيط 24.91 % وصـــفر % على التوالي.



شكل (1): تأثير نوع المادة المستخلصة من نباتات اليوكالبتوس والليف والثيل في تثبيط نشاط إنزيم اليوريز في التربة.

المتوسطات التي تشترك بنفس الحرف لا تختلف معنوياً تحت مستوى احتمال 0.01

وكذلك يلاحظ اختلاف التثبيط باختلاف نوع النبات الذي استخلص منه المادة الفينوليـــة فقد تفوقت فينولات ليف النخيل معنوياً وعند مستوى إحتمال 0.01 على الفينولات المستخلـصة من اليوكالبتوس والثيل واللتان لم يختلفا عن بعضهما معنوياً. ويرجع هذا التباين في تأثير نفس المادة إلى إختلاف مكونات هذه المادة والموجودة أصلاً في النـــسيج النبـــاتي ومـــدى فعاليتهـــا الفسلجية في التأثير في إنزيم اليوريز أو الأحياء المجهرية المنتجة للإنزيم فـــضلاً عـــن مـــدى مقاومتها للتحلل والتحطيم من قبل أحياء التربة المجهرية وتتفق هذه النتائج مع نتائج (14). لقد أشار ألكسندر (2) إن كلاً من نوع وعدد ومواقع المجاميع المتصلة بحلقة البنزين في مركبـــات الهيدروكاربونات العطرية لها دور رئيس في معدل تحول هذه المركبات إلى الصور المعدنيـــة

وبالتالي التحكم بالتأثير السام لها. نستنتج من هذه الدراسة الدور الفعال للمواد الفينولية والزيت الطيار في تثبيط نشاط إنزيم اليوريز في التربة مقارنة بمواد الأيض الثانوي الأخرى المستخلصة من النباتات تحت ظروف الدراسة، وإن المواد الفينولية هي المسؤول الرئيسي للتثبيط الذي سببته المستخلصات المائية لهذه النباتات.

المصادر

1 – الأنصاري، عبد المهدي صالح و محمد عبد الله عبد الكريم . 2007 . تاثير المستخلصات المائية لبعض النباتات في نشاط انزيم اليوريز في التربة. قيد النشر في **مجلة الإمارات للبحوث الزراعية**. دولة الإمارات العربية المتحدة.

2 – الكسندر، مارتن .1982. مقدمة في ميكروبيولوجيا التربة. الطبعة الثانية، جون وايلي وأولاده للنشر، نيويورك، الولايات المتحدة الأمريكية.

3 – الحبيب، أخلاص كاظم .2004. التأثير التثبيطي للمستخلص المائي لأوراق اليوكالبتوس في نمو بعض الفطريات المعزولة من التربة وإنبات سبوراتها. ***مجلة البصرة للعلوم***. المجلد 22، العدد 1، 121 : 138.

4 – حسين، سارة طارق محمد. 1998. دراسة تأثير قشرة ثمرة نبات الحنظل على مستوى سكر الدم في الأرانب الطبيعية والمصابة بفرط السكر. ***رسالة ماجستير***، كلية العلوم، جامعة البصرة.

5 – الراوي، خاشع محمود وعبد العزيز محمد خلف الله .1980. تصميم وتحليل التجارب الزراعية. ***وزارة التعليم العالي والبحث العلمي***، جامعة الموصل، دار الكتب للطباعة والنشر.

6 – اليعقوبي، كريم محسن حسن .1988. تثبيط نشاط أنزيم اليوريز في بعض الترب العراقية وتأثيره على نمو الذرة الصفراء والشعير. ***رسالة ماجستير***. كلية الزراعة، جامعة بغداد.

7 – Agrawal, N.; Kewalramani N.; Kamra D. N.; Agrawal D. K. and Nath K.1991. Effect of Water extracts of neem (*Azadirachta indica*) on the activity of hydrolytic enzymes of mixed rumen bacteria from buffalo. ***J. Sci. Food Agric***., 57, 147 – 150.

8 – Al–Khazraji, S. M. 1991. Biopharmacological study of *Artemisia herbaalba*. ***M. Sc. Thesis***. Coll. Pharmacy. Univ. Baghdad.

9 – Black, C. A. 1965. Methods of soil analysis. ***Amer. Soc. Agron. Inc. Pub.*** Madison, Wisconsin. U. S. A.

10 – Bremner, J. M. and Edwards A. P. 1965. Determination and Isotope – ratio analysis of different forms of nitrogen in soils : I. Apparatus and procedure for distillation and determination of ammonium. ***Soil Sci. Soc. Amer. Proc.***, 29, 504 – 507.

11 – Bremner, J. M. and L. A. Douglas. 1971. Inhibition of urease activity in soils. ***Soil Biol. Biochem.***, 3: 297 – 307.

12 – Bremner, J. M.; McCarty G. W. and Higuchi V. 1991. Persistence of the inhibitory effects of phosphoroamides on urea hydrolysis in soils. ***Common. Soil Sci. Plant Anal.***, 22, 1519 – 1526.

13 – Bremner, J. M. 1995. Recent research on problems in the use of urea as a nitrogen fertilizer. ***Fertil. Res.***, 42, 321 – 329.

14 –Bundy, L. G. and J. M. Bremner.1973. Effects of substituted *ρ*–benzoquinones on urease activity in soils. ***Soil Biol. Biochem.***, 5:847– 853.

15 – Carmona, G.; Christianson C. B. and Byrnes B. H. 1990. Temperature and low concentration effects of the urease inhibitor N – (n – butyl) thiophosphoric triamide (nBTPT)on ammonia volatilization from urea. ***Soil Biol. Biochem.***, 22, 933 – 937.

16 – FAO. 2000. Fertilizer nutrient consumption, by product 1997 / 1998. ***FAO pub.*** Rome.

17 – Geissman, T. A. 1962. Chemistry of flavonoids compounds. MacMillon Co. New York. P. 233 (**C. F.** J. A. A. Al – Dohan. 1997. ***Study of Hypoglycaemic action of Trigonella foenum graecum L. lesaves in both animals and humans, Ph. D. thesis***. Coll. Sci. Univ. Basrah).

18 – Ghosh, B. N.; Chowdhury H.; Kundu S. and Gupta H. S. 2002. Effect of pine needle (*Pinus roxburghi*) and chinaberry (*Melia azedarach*) seed extracts on urea hydrolysis rate in a sandy soil. ***J. Indian Soc. Soil Sci.***, 50, 309 – 311.

19 – Gianfreda, L.; M. A. Rao and A. Violante. 1995. Formation and activity of urease – tannate complexes affected by alluminum, iron and manganese. ***Soil Sci. Soc. Amer. J.***, 59: 805 – 810.

20 – Girija, V. and Mathan K. K. 1997. Availability and uptake of nitrogen by sunflower and urease activity in soil due to Cytozyme. ***J. Oilseeds Res.***, 14, 221 – 224.

21 –Harborne, J. B. 1984. Phytochmical methods. 2nd ed. ***Richard Clay Ltd.*** London.

22 – Luo, Q. X.; Freney J. R.; Keerthisinghe D. G. and Peoples M. B. 1994. Inhibition of urease activity in flooded soil by phenylphos – phorodiamidate and N – (N – BUTYL) Thiophosphorictriamide. ***Soil Biol. Biochem.***, 26, 1059 – 1065.

23 – Mohamed, H. A. 1989. Physiological studies on *Rosa gallica var. Aegyptiaca*. ***Ph. D. thesis***, Fac. Agric. Univ. Moshtohor – Zagazig.

24 – Page, A. L.; Miller R. H. and Keeney D. R. 1982. Methods of soil analysis. Part 2. 2nd ed. ***ASA. Inc***. Madison, Wisconsin, U.S.A.

25 – Paramasivam, S. and A. K. Alva. 1997. Nitrogen recovery from controlled – release fertilizrs under intermittent leaching and dry cycles. ***Soil Sci***., 162: 447 – 453.

26 – Ribereau–Gayon, P. R. 1972. Plant phenolics. 1st ed. ***Oliver and Boyed***. Edinburge. pp: 254.

27 – Shihata, I. M. 1951. A pharmacological study of *Anagalis arvensis*, ***M. D. Vet. Thesis***, Cairo Univ.

28 – Silva, M. G.; Costa R. A.; Ferrarese M. L. L. and Ferrarese F. O. 1996. Effect of phenolic compounds on activity of urease in soyabeans. ***Arquivos Biol. Tech***. 39, 677 – 683.

29 – Tabatabai, M. A. and Bremner J. M. 1972. Assay of urease activity in soils. ***Soil Biol. Biochem***., 4, 479 – 487.

30 – Trivedi, N. A. and S. C. Hotchandani. 2004. A study of the antimicrobial activity of oil of Eucalyptus. ***Indian J. Pharm***., 36: 93 – 94.

31 – Tyler, V. E.; Brady L. R. and Robbers J. E. 1988. Pharmacognosy. 9th ed. ***Varghese Com***. India.

32 – Vyas, B. N.; N. B. Godrej and K. B. Mistry. 1993. Development of neem coated urea for increasing nitrogen use efficiency and crop yields. **In**: ***Word neem Conference***, India.

ROLE OF SECONDARY PRODUCTS OF SOME PLANTS ON UREASE INHIBITION IN SOIL*

Mohammed A. Abdulkareem Abdul – Mehdi S. Al – Ansari
Department of soil and water sciences, College of Agriculture, University of Basrah, IRAQ

SUMMARY

An incubation experiment was conducted in laboratories of soil and water sciences Department, college of Agriculture, University of Basrah to evaluate the effect of secondary products (essential oils, resins, saponins, and phenolics) extracted from eucalyptus leaves, bermudagrass rhizomes or date plam fiber on urease inhibition in loamy sand soil. Soil sample was collected from tomato fields of Al – Zubair region, Basrah and classified as Entisol; Typic quartzipsamment. Soil was treated with urea at level of 1000 mg N / Kg soil. Each secondary product was added at rates of 0.5, 5.0, or 10.0 % w / w of urea and incubated at 30°C for 40 days. Samples from incubated soil were withdrawn after 5, 10, 20, and 40 days and urease activity was assayed, then inhibition percentages were calculated.

Results showed that treated soil with different concentrations of resins or saponins did not affect urease activity in soil at all incubation periods. However, treated soil with phenolics or essential oils extract significantly inhibited urease activity in soil, with highest inhibition of phenolics compared with essential oils. Data also revealed that the inhibitory effect of phenolics differed with different extracted plants, the highest inhibition average was obtained for date palm fiber (36.16 %) compared with 26.47 and 24.91 % for eucalyptus leaves and bermudagrass rhizomes, respectively.

Key words : eucalyptus , permudagrass , date palm fiber , secondary products , ureasa.

*Part of ph. D. thesis of first author