المواد وطرائق العمل

موقع التجربة :

أجريت هذه التجربة على نبات الشبنت .*Anethum graveolens* L الصنف المحلي في قسم علوم الحياة /كلية التربية /جامعة القادسية . تمت زراعة البذور بتاريخ 20 /2010/10 في صفائح معدنية بأبعاد 30×24×24 سم (عدد 64 صفيحة) تحتوي كل منها على 15 كغم من تربة مزيجيه أخذت من جرف نهر الديوانية مزجت مع بتموس أمريكي بنسبة (1:2) (وزن:وزن). تم تحليل التربة للكشف عن الصفات الفيزيائية والكيمائية في مختبرات الدراسات والبحوث العلمية التابعة لمديرية بيئة القادسية .

جدول (1) بعض الصفات الفيزيائية والكيميائية لتربة الوسط الزرعي المستعمل في التجربة :

الصفات	نسجة التربة	الرمل	الطين	غرين	التوصيل الكهربائي	حموضة التربة PH	الكالسيوم (%)	المغنسيوم (%)	الصوديوم (%)	النيتروجين (%)	الفسفور (%)
القيمة	مزيجية	%63	%12	%25	1.5	7.5	4.02	2.5	0.1	0.18	2.01

تحضير المحاليل :

منظم النمو(محلول الجبريلين) :

تم تحضير محلول الجبريلين (GA3) المصنع من شركة Flagro البريطانية للكيمياويات بثلاث تراكيز هي 50 , 75 ,100 ملغم/لتر وذلك بأذابة الاوزان 50، 75 ،100 ملغم من مسحوق الجبريلين في 2 مل من الكحول الاثيلي كلا على انفراد، ثم تم إكمال الحجم إلى 1 لتر باستعمال الماء المقطر للحصول على التراكيز المطلوبة من الحامض.

هرمون النمو (حامض السالسيلك) :

تم استخدام حامض السالسيلك الموجود على شكل حبيبات بيضاء اللون بثلاثة تراكيز هي 20 ،30 ،40 ملغم/لتر حيث تم إذابة الأوزان 20 ،30 ، 40 ملغم من حامض السالسيلك في 2 مل من الكحول الاثيلي كلا على انفراد وتم إكمال الحجم إلى 1 لتر باستعمال الماء المقطر للحصول على التراكيز المطلوبة.

تطبيق المعاملات :

زرعت بذور نبات الشبنت الصنف المحلي في صفائح معدنية حيث وضعت 10 بذور في كل صفيحة وبعد الإنبات بأسبوع واحد تم حفها إلى 5 نباتات وبعد بلوغ النباتات مرحلة أربعة أوراق بعمر36 يوما" تم معاملتها بالجبريلين رشا على الأوراق بالتراكيز المطلوبة إذ تم رش النباتات صباحا حتى الابتلال الكامل باستعمال المرشة اليدوية وذلك بتاريخ 26 /11 /2010، أما حامض السالسيلك فقد أضيف على النباتات بالتراكيز المذكورة آنفا حيث رشت النباتات صباحا حتى الابتلال الكامل باستعمال المرشة اليدوية وذلك بتاريخ 27 /11 /2010 وقد أضيفت عدة قطرات من منظف الزاهي إلى كل من محاليل الرش لكونه مادة لاصقة أما معاملة المقارنة فقد رشت نباتاتها بالماء المقطر فقط. تم إجراء العمليات الزراعية المختلفة من الري والتعشيب والمكافحة بحسب الحاجة يدويا .

الصفات المدروسة :

صفات النمو الخضري :

تم اخذ القياسات لجميع نباتات المكرر الواحد لكل معاملة في مرحلة ما قبل التزهير بتاريخ 2011/1/18 ما عدا نسبة المادة الجافة للمجموعين الخضري والجذري التي قيست في نهاية التجربة.

تم قياس قطر الساق بواسطة القدمة (Vernier caliper) من منطقة ما قبل تفرع الساق الرئيسية للنبات في كل مكرر ولجميع نباتات المعاملة وسجل معدل أقطار النباتات. وقد تم قياس محتوى الأوراق النباتية من الكلوروفيل الكلي بحسب الطريقة المتبعة من قبل (16) ثم قدر محتوى الأوراق من الكلوروفيل بحسب المعادلة الآتية:

الكلوروفيل الكلي (ملغم/غم وزن طري) = (20.2) (D645) – (8.02) (D663)×V/ 100×W . حيث إن :

V : الحجم النهائي للراشح بعد عملية الفصل .

D : الكثافة الضوئية للمستخلص .

W : الوزن الطري للنسيج النباتي المستخدم (غم) .

اما النسبة المئوية للمادة الجافة للمجموعين الخضري والجذري فقد تم اخذ ثلاثة نباتات من كل مكرر لكل معاملة ونظفت جيدا من الأتربة العالقة بها باستعمال الماء وفصل المجموع الخضري عن الجذري ووزن كل منهما باستعمال الميزان الحساس ثم جففت كل الأجزاء في الهواء أولا" ثم وضعت الأجزاء الجافة الخضرية والجذرية كلا على انفراد في أكياس ورقية مثقبة ووضعت في الفرن الكهربائي بدرجة حرارة 70 ° لمدة 48 ساعة لحين ثبوت الوزن ، ثم وزنت

باستعمال الميزان الحساس وقدرت النسبة للمادة الجافة لكل جزء بحسب المعادلة الآتية: النسبة المئوية للمادة الجافة = الوزن الجاف \ الوزن الطري ×100.

تقدير العناصر المعدنية في المجموع الخضري :

أخذت عينات من المجموع الخضري للنباتات من كل مكرر لمختلف المعاملات كلا" على انفراد ووضعت في أكياس ورقية خاصة، ثم وضعت في فرن كهربائي على درجة 70° لمدة 48 ساعة لحين ثبوت الوزن، طحنت العينات المجففة باستعمال طاحونة كهربائية واخذ منها (0.2) غم وهضمت باستعمال (10) سم^3 من حامض الكبريتيك المركز$H2SO4$ (90 %) وحامض البيروكلوريك $HCIO4$ ووضعت على صفيحة تسخين Hot plate لحين الحصول على اللون الأبيض للمستخلص الذي استعمل بعد تخفيفه بالماء المقطر إلى 100 سم ^{3} كما جاء في (17) .

تم تقدير النتروجين باستعمال جهاز مايكروكلدال (Micro-Kjeldahl) أمريكي الصنع موديل 2004 وبحسب الطريقة التي أوردها (18).

تم تقدير الفسفور في العينات النباتية المهضومة باستعمال حامض الاسكوربيك ومولبيبدات الامونيوم (الطريقة اللونية). تم القياس باستعمال جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer ياباني المنشأ موديل 2006، على طول موجي 700 نانومتر بحسب طريقة (19).

تم تقدير البوتاسيوم بواسطة جهاز المطياف أللهبي Flame photometer ألماني المنشأ موديل 2003 وتم القياس على طول موجي766.5 نانومتر(20).

استخلاص وتقدير كمية الزيت والمادة الفعالة :

تم تقدير كمية الزيت بطريقة التقطير المائي Water distillation method (21). تم اخذ (25) غم من بذور نبات الشبنت الجافة والمطحونة وأضيف إليها (250) مللتر من الماء المقطر في دورق دائري حجم 1 لتر، ثم جرت عملية التقطير وتم تسخين الدورق لمدة أربع ساعات للحصول على اكبر كمية من الزيت، اخذ (30) مللتر من النموذج المقطر وأضيف له (30) مللتر من المذيب(ايثر ثنائي الاثيل) ورج المزيج لمدة خمسة دقائق، ثم ترك ليتم فصل الطبقتين أخذت الطبقة العليا (الايثر مع الزيت) وأعيدت العملية على الطبقة السفلى حيث كررت العملية ثلاث مرات على الطبقة السفلى ثم جمع المستخلص (الايثر مع الزيت) وأضيف له (3-5) غم من كبريتات الكالسيوم $CaSO_4 2H2O$ وذلك للتخلص من الماء الموجود في المستخلص، اخذ المستخلص ووضع على حمام مائي بدرجة 37 ° للتخلص من الايثر، بعدها تم حساب نسبة الزيت المستخلص ثم حفظ في قناني غامقة ومغلفة بشكل جيد وبدرجة حرارة 4 ° .

تم تقدير كمية ونوعية المواد الفعالة في الزيت الطيار لبذور نبات الشبنت باستعمال جهاز السائل – الكروماتوكرافي ذي الأداء العالي High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) ألماني المنشأ موديل 2004 . حيث تم حقن الجهاز بـ 20 مل من النموذج القياسي للحصول على قمة الـ Peak للمادتين الكارفون Carvon و الليمونين Limonen .

تصميم التجربة والتحليل الإحصائي :

تم استعمال تصميم القطاعات العشوائية الكاملة Randomized Complete Block Design (RCBD) بتنظيم عاملي Factorial Experiment بعاملين كل منها بأربعة تراكيز وبأربعة مكررات لكل معاملة. شملت المعاملات أربعة مستويات مختلفة من منظم النمو (الجبريلين) وأربعة مستويات مختلفة من حامض السالسيلك، واستعمل اختبار Least significant Difference (LSD) على مستوى احتمال 5 % لمقارنة الفروقات بين المتوسطات وعندما كان تأثير العامل معنويا" (22).