تأثير الإجهاد الملحي Na cl والمعاملة بجزئيات الفضة النانوية في محتوى حمض البرولين في نبات الحلبة (*Trigonella foenum – graceum*)

رنيم ملحم [*1] ولينا النداف [2] وعلي زياك [3]

[1] الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، مركز بحوث حمص، سورية .

[2]جامعة حمص، حمص، سورية.

[3]الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، مركز بحوث حماة، سورية.

(*للمراسلة: رنيم ملحم، البريد الالكتروني Raneem.melhem.9933@gmail.com).

تاريخ الاستلام: 22/ 07/ 2025 **تاريخ القبول:** 29/ 09/ 2025

الملخّص

نفذ البحث خلال العام 2022 في مركز بحوث حمص التابع للهيئة العامة للبحوث الزراعية ومركز التقانة الحيوية في جامعة حمص بهدف دراسة استجابة بعض الصفات الفيزيولوجية لنبات الحلبة (Trigonella foenum- graceum) للري بمحاليل محضرة من تركيزين من ملح كلوريد الصوديوم (4، 6) ميلليموز/سم بالإضافة لشاهد تم ريه بمياه عذبة، ومعاملة نقع البذور بأربع تراكيز من جسيمات الفضة النانوية المحضرة حيوياً من إضافة المستخلص المائي لأوراق (1 و 3 سم3) إلى نترات الفضة (10، 20 سم3) بشكل متبادل للحصول على التراكيز (1:10، 1:20، 3:10، 3:20)، تم نقع بذور الحلبة بهذه التراكيز لمدة 15 دقيقة وزرعت في أصص، نفذت التجربة وفقاً للتصميم العشوائي الكامل وبثلاثة مكررات. أظهرت النتائج التأثير المعنوي لتراكيز الملوحة المتزايدة في تراجع قيم المحتوى المائي النسبي والوزن الجاف للنبات مقارنةً بالشاهد المروي بمياه عذبة، وسببت المعاملة بجسيمات الفضة النانوية تحسين قيم هذين المؤشرين وحقق التركيز 3:10 (فضة نانوية: مستخلص أوراق الزيتون) أفضل القيم. في حين زادت قيم البرولين مع زيادة تركيز المحلول الملحي وسجل التركيز 6 ميلليموز/سم أعلى محتوى لحمض البرولين في الأوراق. كما زاد حجم حمض البرولين عند زيادة حجم المستخلص المائي لأوراق الزيتون من 1 إلى 3 مل في حين انخفض محتوى حمض البرولين عند زيادة حجم نترات الفضة من 10 إلى 20 مل لجميع المعاملات. خلص البحث إلى أنه عند زراعة نبات الحلبة في ظروف متملحة أو عندما تكون مصادر مياه الري متملحة يمكن تطبيق تقنية النقع بجسيمات الفضة النانوية المحضرة حيوياً بمستخلص أوراق الزيتون بتركيز (3:10) لمدة ربع ساعة قبل الزراعة.

الكلمات المفتاحية: الإجهاد الملحي، جسيمات الفضة النانوية، الصفات الفيزيولوجية، الحلبة.

المقدمة :

تعد الحلبة (*Trigonella foenum-graecum* L.) من المحاصيل الهامة التي تنتمي للفصيلة البقولية، ويزرع في المناطق شبه الجافة من العالم، موطنها الأصلي آسيا وجنوب أوروبا (Obour *et al*., 2015). وتستخدم بذور وأوراق الحلبة كتوابل، وكنبات طبي وخضروات في بعض الدول (Olfa *et al*., 2018)، وكمادة علفية وسماد أخضر، نظراً لغناها بالبروتين والفيتامينات والمعادن (Laila and Murtaza, 2015). وتميز الحلبة بخصائص دوائية مختلفة لاحتوائها على العديد من المستقلبات الثانوية مثل الديوسجينين والسابونين والألياف (الغالاكتومانان)، وقلويدات البيريدين (التريجونيلين والكولين والجنتيانين والكاربين)، والأحماض الأمينية الحرة (الأرجينين والهيستيدين والليسين)، (Nathiya *et a*l., 2014).

تؤثر ملوحة التربة ومياه الري سلباً في إنتاجية الحلبة (Tuncturk, 2011)، وقد ذكر Abdelmoumen و El Idrissi (2009) أن الحلبة تتحمل ملوحة حتى 10 ديس سمنز/م، إلا أن الإجهاد الملحي يسبب ضرراً تأكسدياً مما يؤثر على العديد من العمليات الفسيولوجية (Abd El-Sattar and Tawfik, 2023)، مما يؤدي إلى انخفاض كبير في معايير مختلفة مثل نسبة الإنبات، وأطوال الجذور والنبات والكتلة الرطبة والجافة، ومحتوى الكلوروفيل والبروتين والسكريات، ونشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة، بالإضافة إلى تكون العقد الجذرية (Al-Saady, 2012; Pour *et al*., 2013).

درس Kapoor وPande (2015) تأثير الري بمحاليل من كلوريد الصوديوم بتراكيز 0، 50، 100، 150، 200 ملي مولار على نمو وخصائص نبات الحلبة فأظهرت النتائج انخفاض ملحوظ في جميع خصائص النمو المدروسة بزيادة تركيز الملح. حيث انخفض طول النبات بشكل ملحوظ من 38.83 سم في نباتات الشاهد إلى 9.44 سم عند التركيز 200 ملي مولار، كما تراجع المحتوى المائي النسبي بنسبة 45% بعد 60 يوماً من المعاملة بالتركيز 200 ميلي مولار مقارنةً بالشاهد. وفي نبات القمح وجد Hathout(1996) أن المعاملة بالتراكيز (0، 60، 120، 180) ميلليمول/ ليتر من كلوريد الصوديوم أدى إلى انخفاض في ارتفاع النبات وطول الجذر والوزن الجاف ومحتوى البرولين عند المستوى 180 ميلليمول/ ليتر. كما وجد Peng وآخرون (1996) أن تعرض النبات لزيادة في تركيز كلوريد الصوديوم أدى إلى زيادة تراكم البرولين بكميات كبيرة.

جسيمات الفضة النانوية (AgNPs) هي جسيمات متناهية في الصغر يتراوح حجمها بين 1– 100 نانومتر، وهي تمتلك خصائص كيميائية والكترونية وبصرية متميزة والتي يمكن أن تتغير معتمدة على حجم الدقائق وشكلها والتي تتيح لها أن تستخدم في مختلف التطبيقات والمجالات، بما في ذلك المجالات الزراعية والطبية والغذائية والصناعية، نظراً لخصائصها الفيزيائية والكيميائية الفريدة (Bsoul *et al*., 2023). أكد Siddique وآخرون (2015) أن المواد النانوية تساعد على تنشيط نظام الأكسدة وتنظيم توازن الماء الخلوي وبالتالي تساعد النباتات على تحمل الإجهادات المختلفة، وبين Latif وآخرون (2017) الدور الإيجابي لجسيمات الفضة النانوية تحت ظروف الملوحة، حيث أدى نقع البذور بجسيمات الفضة النانوية إلى تحسين مؤشرات النمو وزيادة الكتلة الحيوية النباتية عند ارتفاع تراكيز الملوحة عند بعض المحاصيل مثل البقوليات. وقد ذكر Abdel Kareem وآخرون (2017) الآثار الإيجابية والسلبية لجسيمات الفضة النانوية في نمو النبات، وأشار Almutairi (2016) إلى تأثير جسيمات الفضة النانوية على النباتات تحت ظروف الإجهاد الملحي. بالإضافة إلى ذلك تعد جسيمات الفضة النانوية مستقرة كيميائياً وغير سامة مما يزيد من أهميتها في تحفيز الصفات المسؤولة عن النمو العام في النباتات مقارنةً بالمركبات الأخرى (Castro-González *et al*., 2019).

يعتقد أن النباتات تمتص جسيمات الفضة النانوية بشكل سريع نظراً لصغر حجمها وذوبانها العالي، وبالتالي يهيئ استخدام هذه المواد الظروف المثلى لنمو النبات ويجنبه ظروف الإجهاد، وقد وجد أن رش أوراق نبات البقدونس بجسيمات الفضة النانوية

بتراكيز 10 و 50 جزء في المليون في ظروف الإجهاد الملحي إلى زيادة المحتوى المائي النسبي للأوراق، ومحتوى حمض البرولين والبوتاسيوم فيها، في حين انخفض تسرب الأيونات ومحتوى الصوديوم في الأوراق (Behzad *et al*., 2024). كما درس Wahid وآخرون (2020) تأثير الملوحة والمعاملة بجسيمات الفضة النانوية على الصفات الفسيولوجية للقمح (*Triticum aestivum*) فأظهرت الدراسة أن جسيمات الفضة النانوية تعزز آليات تحفيز تحمل الملوحة بالاعتماد على استقلاب البرولين، وتراكم أيونات البوتاسيوم وتراجع تراكم أيونات الصوديوم.

هدف هذا البحث إلى دراسة تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من الفضة النانوية والري بتركيزين من كلوريد الصوديوم في بعض الصفات الفيزيولوجية للحلبة (المحتوى المائي النسبي، محتوى حمض البرولين في الأوراق والوزن الجاف للنبات).

مواد البحث وطرائقه:

نفذ البحث خلال العام 2022 في مركز البحوث العلمية الزراعية في حمص ومخابر مركز التقانة الحيوية في جامعة حمص. حيث تم الزراعة ومعاملة بذور الحلبة *Trigonella foenum* graceum المنتشرة والمزروعة في المنطقة، والمتميزة بكونها بأنها صغيرة الحجم بيضية الشكل لونها أخضر مصفر ذات قمة خطافية.

تمت الزراعة في أصص بقطر 25 سم تم تعبئتها بالتربة الزراعية التي تم جمعها من أراضي مركز بحوث حمص، وهي تربة حمراء تم غربلتها على منخل ذو فتحات بقطر 2 ملم، وأضيفت بمعدل 8 كغ لكل أصيص، ويبين الجدول (1) أن التربة طينية ذات تفاعل قاعدي غير متملحة، متوسطة المحتوى بكل من الآزوت والفوسفور وجيدة المحتوى من البوتاس.

الجدول (1): بعض الخصائص الفيزيائية والكيميائية للتربة المستخدمة في الأصص

توزع حجم جزيئات التربة			قوام التربة	النتروجين المتاح PPM	الفوسفور المتاح PPM	البوتاس المتاح PPM	PH	EC	CaCO3
رمل %	سلت %	طين %							
26	13.5	60.5	طينية	26.65	13.8	202.1	8.35	0.12	0.922

تحضير المستخلص المائي لأوراق الزيتون:

تم تحضير المستخلص المائي لأوراق الزيتون بجمع أوراق الزيتون من الصنف القيسي من مركز البحوث العلمية الزراعية في حمص في منتصف شهر تشرين الثاني وغسلها من الأتربة العالقة بها، ومن ثم وزن 10غ من أوراق الزيتون الغضة وإضافة 50 مل ماء مقطر و طحنها باستخدام هاون للحصول على المستخلص المائي بلون أخضر باهت، الذي تم تعبئته في أنابيب ووضعه ضمن المثقلة ليتعرض الخليط للطرد المركزي لمدة 15 دقيقة بسرعة 4000 دورة في الدقيقة، ولاحقاً تمت عمليات التصفية والترشيح باستخدام رشاحة الموسلين للتخلص من أية بكتيريا وفطريات موجودة على الأوراق ثم الغلي على درجة حرارة 100 درجة مئوية لمدة 50 دقيقة.

تم إذابة 0.65 غ من نترات الفضة في 100 مل ماء مقطر، وتحضير الفضة النانوية حيوياً بإضافة 10 و 20 سم^3 من نترات الفضة إلى 1 و 3 سم^3 من المستخلص المائي لأوراق الزيتون بالتبادل للحصول على التراكيز المستخدمة في معاملات التجربة (1:10، 1:20، 3;10، 3:20). وتم ضبط PH المحلول بهيدروكسيد الصوديوم عند PH=6,5، ثم حفظ المزيج لكل تركيز في درجة حرارة الغرفة على مدى 72 ساعة مع مراقبة تغير لونه من الأصفر الباهت إلى البني الغامق، حيث يعتبر دليل أولي على تشكل جسيمات الفضة النانوية. تم نقع البذور بهذه المحاليل لمدة ربع ساعة ثم تم زراعتها بعد النقع بساعة.

تحضير التراكيز الملحية:

تم تحضير التراكيز الملحية (4 و6 ميلموز/سم) بإذابة وزنين من ملح كلوريد الصوديوم النقي (51.2 غ في 20 لتر ماء بحيث يتحقق التركيز 2.56 غ/لتر والذي تساوي ناقليته الكهربائية 4 ميلموز/سم). (76.8 غ في 20 لتر ماء بحيث يتحقق التركيز 3.84 غ/لتر والذي تساوي ناقليته الكهربائية 6 ميلموز/سم). وتم الري بمعدل نصف لتر من المحلول المحدد لكل أصيص في كل رية، بالإضافة إلى الأصص المروية بالماء العذب التي اعتبرت كشاهد طيلة فترة التجربة. وتمت الرية الأولى بالماء العذب لضمان الإنبات، ثم تم الري بالمحاليل الملحية لمدة شهرين بمعدل رية كل 6 أيام.

بلغ عدد المعاملات 15 معاملة نتجت عن ثلاثة تراكيز لمحلول الري (0 ، 4، 6 ميلموز/سم)، ونقع البذور بنترات الفضة (نقع بالماء المقطر، نقع بالتراكيز 1:10، 1:20، 3:10، 3:20 نترات الفضة: مستخلص أوراق الزيتون). وكررت المعاملات ثلاث مرات وبالتالي كان لدينا 45 وحدة تجريبية (45 أصيص).

المؤشرات المدروسة:

– المحتوى المائي النسبي في الأوراق:

حدد المحتوى المائي النسبي: حسب (Gonzalez and Gonzalez-Vilar, 2001)، حيث أخذت عينات ورقية رطبة تم وزنها مباشرةً على ميزان كهربائي حساس، وسجل الوزن الرطب للعينة، ثم غمرت هذه العينات بالماء المقطر مدة 8 ساعات، وتم حساب وزن العينة المشبع بالماء، ثم تم تجفيفها بالفرن على حرارة 80 مْ حتى ثبات الوزن، وسجل الوزن الجاف للأوراق، وتم تطبيق المعادلة الآتية لحساب المحتوى المائي النسبي:

$$RCW\% = (FW-DW)100/(TW-DW)$$

FW الوزن الرطب للعينة، DW الوزن الجاف للعينة، TW الوزن عند التشبع بالماء.

– الوزن الجاف للنبات:

بعد شهرين من الري بالمحاليل الملحية تم قطع جميع النباتات من نقطة اتصالها بالتربة، وتم حساب الوزن الرطب لها مباشرة، ثم تم تجفيفها بالفرن على حرارة 80 مْ حتى ثبات الوزن، وسجل الوزن الجاف، مع ملاحظة أنه تم حساب وزن العينات المأخوذة لحساب المؤشرات الأخرى وإضافتها للوزن الكلي للنبات.

– تقدير حمض البرولين في الأوراق الخضراء:

جرى تقدير تركيز حمض البرولين في الأوراق باستخدام طريقة (Bates *et al* ,1973) بعد انتهاء الري بالمحلول الملحي والذي توافق بعد شهرين من الزراعة، إذ وُزن حوالي 0,5 غ من أوراق الحلبة (أخذت من الورقة الرابعة من كل نبات)، وطحنت مع 10 مل من المحلول المائي لحمض السلفوسالسيلك 3%، بمساعدة كمية قليلة من الرمل المخبري الدقيق ووضعت في جهاز الطرد المركزي 3000 دورة/ دقيقة مدة 10 دقائق، ثم رشح المزيج، وأخذ 2 مل من الراشح وأضيف له 2 مل من حمض الخل الثلجي و2 مل نينهيدرين لتنشيط التفاعل، ثم وضعت الأنابيب لمدة ساعة في حمام مائي على درجة حرارة 100 مْ، (في هذه المرحلة يبدأ ظهور اللون الأحمر بدرجات متفاوتة حسب تركيز البرولين)، وبعدها توضع الأنابيب في حمام ثلجي لوقف التفاعل مباشرة وأضيف للمزيج 4 مل من التولوين، ومزج بشكل جيد لمدة 20 ثانية، وترك في درجة حرارة الغرفة لعدة دقائق لتنفصل طبقة التولوين وما تحويه من البرولين فوق المزيج، بعدها تم سحب 3 مل و قياس البرولين باستخدام جهاز spectrophotometer بطول موجة 520 نانومتر. ورسم المنحنى القياسي للبرولين وفي ضوئه تمت قراءة العينات مع المنحنى القياسي وتقدير البرولين في الأوراق.

صممت التجربة وفقاً للتصميم العشوائي الكامل، وتم تحليل البيانات باستخدام البرنامج الاحصائي Genstat.12 وحددت معنوية الفروق بين المتوسطات باستخدام اختبار أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى معنوية 5% لكل من الوزن الجاف والمحتوى المائي، و1 % للبرولين.

النتائج والمناقشة:

1. المحتوى المائي النسبي RWC:

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي في الجدول (2) وجود فروق معنوية ($P\leq 0.01$) بين مستويات ملح كلوريد الصوديوم وتراكيز المعاملة بجسيمات الفضة النانوية والتأثير المشترك بينهما. حيث تراجعت قيم المحتوى المائي النسبي في أوراق الحلبة مع زيادة تركيز الملح في محلول الري من 86.67% في معاملة الشاهد (0 ميلموز/سم) إلى 70.36، 62.61% عند الري بمحلولي الملح 4 و6 ميلموز/سم على التوالي. كما حسنت معاملة نقع البذور بجسيمات الفضة النانوية من قيمة المحتوى المائي النسبي وحققت المعاملة (3:10) أفضل القيم 77.18% وتفوقت معنوياً على بقية المعاملات، وتلاها بفروق معنوية التركيز (3:20) 75.03%، ولم يكن هناك فروق معنوية بين التركيزين (1:10) و (1:20) وتفوقت المعاملات جميعها على الشاهد غير المعامل بالفضة النانوية 68.68%. وبدراسة التأثير المشترك بين معاملات الري بملح كلوريد الصوديوم والنقع بجسيمات الفضة النانوية تفوقت معاملة الري بالماء العذب مع التركيز (3:10) وبلغت قيمة RWC عندها 89.60 %، تلاها بفروق غير معنوية معاملتي الري بماء عذي والتركيزين (1:20) و (3:20) وبلغت 87.64، 87.36% على التوالي، في حين كانت قيمة معاملة الري عند التركيز الملحي الأعلى 6 ميلموز/سم بلا معاملة بنترات الفضة الأدنى معنوياً 58.29%.

الجدول(2): تأثير المعاملة بنترات الفضة النانوية والري بالتراكيز الملحية في المحتوى المائي النسبي RWC % في أوراق نبات الحلبة

معاملة جسيمات الفضة النانويةAg	معاملة التركيز الملحي S ميلموز/سم			متوسط Ag
	0	4	6	
con	83.29c	64.47gh	58.29i	68.68d
1:10	85.44bc	69.96ef	62.50h	72.63c
1:20	87.64ab	68.53f	61.43hi	72.53c
3:10	89.60a	75.57d	66.38fg	77.18a
3:20	87.36ab	73.29de	64.44gh	75.03b
متوسط S	86.67a	70.36b	62.61c	-
LSD 0.05	Ag= 1.982, S= 1.535, Ag*S= 3.433, CV= 2.8%			

2. الوزن الجاف للنبات DW:

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي في الجدول (3) وجود فروق معنوية ($P\leq 0.05$) بين مستويات ملح كلوريد الصوديوم وتراكيز المعاملة بجسيمات الفضة النانوية والتأثير المشترك بينهما. حيث تراجعت قيم الوزن الجاف للنبات معنوياً مع زيادة تركيز الملح في محلول الري من 6.91 غ في معاملة الشاهد (0 ميلموز/سم) إلى 5.82، 4.56% عند الري بمحلولي الملح 4 و6 ميلموز/سم على التوالي. كما حسنت معاملة نقع البذور بجسيمات الفضة النانوية من قيم الوزن الجاف للنبات وحققت المعاملة (3:10) أفضل القيم 6.01 غ وتفوقت معنوياً على بقية المعاملات، وتلاها بفروق معنوية التركيز (3:20) 5.91 غ، ثم المعاملة (1:10) 5.75 غ، والمعاملة (1:20) 5.65 غ، وتفوقت المعاملات جميعها على الشاهد غير المعامل بنترات الفضة 5.49 غ. وبدراسة التأثير المشترك بين معاملات الري بملح كلوريد الصوديوم والنقع بنترات الفضة النانوية تفوقت معاملتي الري بالماء العذب مع التركيزين (3:10) و (3:20) وبلغت قيم الوزن الجاف عندها 7.20، 7.05 غ على التوالي، في حين كانت قيمة معاملة الري عند التركيز الملحي الأعلى 6 ميلموز/سم بلا معاملة بنترات الفضة الأدنى معنوياً 4.34 غ.

الجدول(3): تأثير المعاملة بنترات الفضة النانوية والري بالتراكيز الملحية في الوزن الجاف لنبات الحلبة (غ)

معاملة جسيمات الفضة النانوية	معاملة التركيز الملحي S			متوسط Ag
Ag	0	4	6	
con	6.70b	5.43f	4.34j	5.49e
1:10	6.82b	5.87de	4.55hi	5.75c
1:20	6.78b	5.71e	4.48ij	5.65d
3:10	7.20a	6.08c	4.75g	6.01a
3:20	7.05a	6.02cd	4.67gh	5.91b
متوسط S	6.91a	5.82b	4.56c	-
LSD 0.05	Ag= 0.091, S= 0.071, Ag*S= 0.158, CV= 1.6%			

3. محتوى البرولين في الأوراق:

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي في الجدول (4) وجود فروق معنوية ($P\leq 0.05$) بين مستويات ملح كلوريد الصوديوم وتراكيز المعاملة بجسيمات الفضة النانوية والتأثير المشترك بينهما. حيث زادت قيم البرولين في أوراق نبات الحلبة معنوياً مع زيادة تركيز الملح في محلول الري من 6.56 ميكروغرام/غ من الوزن الرطب في معاملة الشاهد (0 ميلموز/سم) إلى 11.71، 12.71 ميكروغرام/غ عند الري بمحلولي الملح 4 و6 ميلموز/سم على التوالي. كما زادت معاملة نقع البذور بجسيمات الفضة النانوية من محتوى البرولين في أوراق النبات وحققت المعاملة (3:10) أعلى القيم 11.92 ميكروغرام/غ، وتفوقت معنوياً على بقية المعاملات، وكانت الفروق بين تراكيز المعاملة بجسيمات الفضة الأخرى غير معنوية، وتفوقت المعاملات جميعها على الشاهد غير المعامل بنترات الفضة 7.93 ميكروغرام/غ. وبدراسة التأثير المشترك بين معاملات الري بملح كلوريد الصوديوم والنقع بجسيمات الفضة النانوية تفوقت معاملتي الري بمحلولي الملح 4 و 6 ميلموز/سم وتركيز نترات الفضة (3:10) وبلغت قيم البرولين عندها 14.26، 14.53 ميكروغرام/غ، في حين كانت قيمة معاملة الري بالماء العذب بلا معاملة بجسيمات الفضة الأدنى معنوياً 5.74 ميكروغرام/غ، والملاحظ أن الفروق بين محتوى البرولين في معاملات الري بالماء العذب عند تراكيز نترات الفضة جميعها كانت غير معنوية مما يدل على أن قيمة هذا المؤشر ارتبطت بتركيز المحلول الملحي وليس بمعاملة نترات الفضة النانوية.

الجدول(4): تأثير المعاملة بنترات الفضة النانوية والري بالتراكيز الملحية في محتوى البرولين لدى أوراق نبات الحلبة (ميكروغرام/غ وزن رطب)

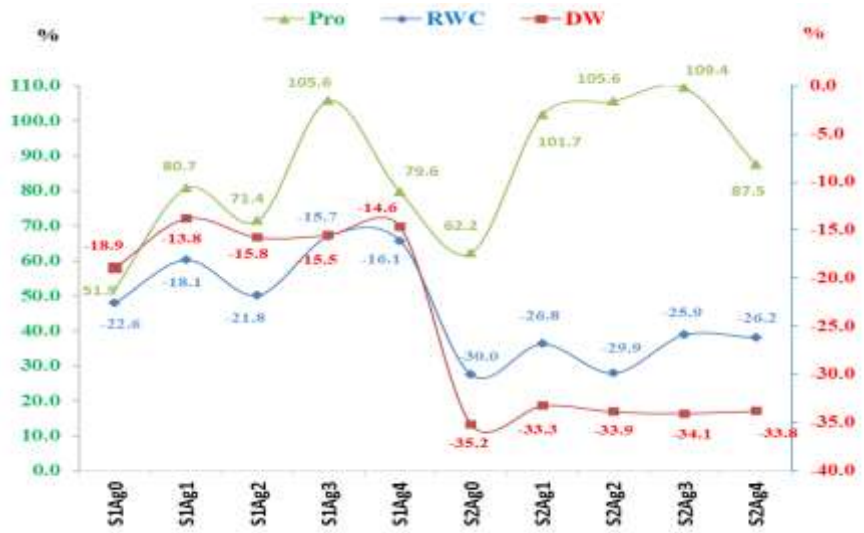
معاملة جسيمات الفضة النانوية	معاملة التركيز الملحي S			متوسط Ag
Ag	0	4	6	
con	5.74f	8.71e	9.33e	7.93c
1:10	6.59f	11.88cd	13.25ab	10.57b
1:20	6.64f	11.31d	13.57ab	10.51b
3:10	6.96f	14.26a	14.53a	11.92a
3:20	6.89f	12.38bcd	12.89bc	10.72b
متوسط S	6.56c	11.71b	12.71a	-
LSD 0.01	Ag= 0.750, S= 0.581, Ag*S= 1.299, CV= 5.6%			

يوضح الشكل (1) معدلات التباين ±% في قيم المحتوى المائي النسبي والوزن الجاف للنبات ومحتوى البرولين عند التركيزين الملحيين 4، 6 ميلموز/سم مقارنةً بالشاهد المروي بالماء العذب عند معاملات النقع بجسيمات الفضة النانوية، وبدراسته وجد تناقص المحتوى النسبي عند جميع المعاملات، وكانت أعلى معدلات التناقص عند معاملة الري بالتركيز 6 ميلموز/سم بلا نقع بالفضة النانوية (S2Ag0) وبلغت 30.0% مقارنةً بالشاهد المروي بماء عذب، وتراوحت معدلات التناقص عند معاملات نترات الفضة عند التركيز6 ميلموز/سم بين 25.9 و 29.9%، أي أن معاملة النقع قد خففت نسبياً من الأثر السلبي للإجهاد الملحي.

وعند الري بالمحلول الملحي 4 ميلموز/سم كانت أعلى معدلات التناقص أيضاً عند عدم النقع وبلغت 22.6% مقارنةً بالشاهد المروي بماء عذب، وحققت معاملات النقع جميعها عند هذا التركيز معدلات تناقص أقل وكان أقلها عند المعاملة (S1Ag3)، النقع بالفضة بتركيز (3:10) وبلغت 15.7%. وبالتالي فإن المعاملة بالفضة النانوية كان تأثيرها أكثر وضوحاً عند الإجهاد الملحي المتوسط 4 ميلموز/سم. وبشكل عام كانت معدلات التناقص في قيم المحتوى المائي النسبي أعلى عند تركيز الملوحة الأعلى.

كما تناقص الوزن الجاف للنبات عند جميع المعاملات، وكانت أعلى معدلات التناقص عند معاملة الري بالتركيز 6 ميلموز/سم بلا نقع بالفضة النانوية (S2Ag0) وبلغت 35.2% مقارنةً بالشاهد المروي بماء عذب، وتراوحت معدلات التناقص عند معاملات نترات الفضة عند التركيز 6 ميلموز/سم بين 33.3 و 34.1%، أي أن معاملة النقع قد خففت نسبياً من الأثر السلبي للإجهاد الملحي. وعند الري بالمحلول الملحي 4 ميلموز/سم كانت أعلى معدلات التناقص أيضاً عند عدم النقع وبلغت 18.9% مقارنةً بالشاهد المروي بماء عذب، وحققت معاملات النقع جميعها عند هذا التركيز معدلات تناقص أقل وكان أقلها عند المعاملة (S1Ag1) النقع بنترات الفضة بتركيز (1:10) وبلغت 13.8%. وبالتالي فإن المعاملة بجسيمات الفضة النانوية كان تأثيرها أكثر وضوحاً عند الإجهاد الملحي المتوسط 4 ميلموز/سم. وبشكل عام كانت معدلات التناقص في قيم الوزن الجاف للنبات أعلى عند تركيز الملوحة الأعلى (الشكل، 1).

بالنسبة لقيم البرولين في أوراق النبات فقد زادت جميعها عند الري بالتراكيز الملحية 4، 6 ميلموز/سم وكانت أقل معدلات الزيادة عند التركيز 4 ميلموز/سم بلا نقع (S1Ag0) 51.9%، تلتها المعاملة 6 ميلموز/سم بلا نقع (S2Ag0) وبلغت 62.2%، في حين كانت أعلى معدلات الزيادة عند الري بالتركيز 6 ميلموز/سم ومعاملة النقع (3:10) (S2Ag3) وبلغت 109.4%، تلتها معاملة الري بالتركيز 4 والنقع 3:10 (S1Ag3) 105.6% (الشكل، 1).

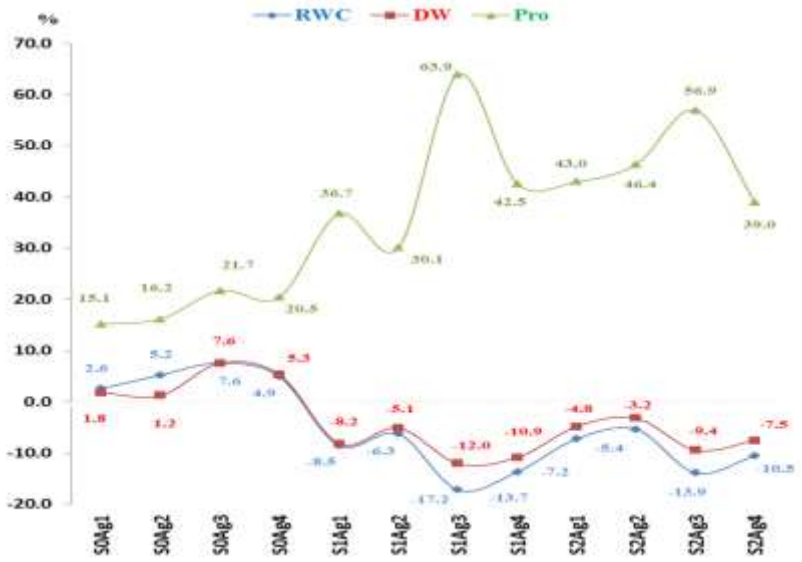


الشكل (1): معدلات التباين ±% في قيم المحتوى المائي النسبي والوزن الجاف (المحور اليميني) ومحتوى البرولين (المحور اليساري) عند التركيزين الملحيين (S1: 4 ميلليموز/سم، S2: 6: ميلليموز/سم) مقارنةً بالشاهد S0: 0، عند معاملات النقع بنترات الفضة النانوية (Ag0، Ag1: 1:10، Ag2: 1:20، Ag3: 3:10، Ag4: 3:20)

يوضح الشكل (2) معدلات التباين ±% في قيم المحتوى المائي النسبي والوزن الجاف ومحتوى البرولين عند معاملات النقع بجسيمات الفضة النانوية مقارنة بالشاهد غير المعامل عند معاملات الري بماء عذب وبتركيزي الملح 4 و 6 ميلموز/سم، وبدراسته نجد أن كلاً من قيم المحتوى المائي النسبي والوزن الجاف للنبات قد زاد عند معاملات الشاهد المروي بماء عذب في جميع

معاملات النقع بتراكيز الفضة النانوية مقارنةً بمعاملة عدم النقع ولكن معدلات الزيادة كانت طفيفة، وبلغت أعلى القيم 7.6% لكلا المؤشرين عند معاملة الري بماء عذب والنقع بتركيز 3:10 (S0Ag3). أما عند الري بالمحلول الملحي فقد تناقصت قيم هذين المؤشرين وكانت أقل معدلات التناقص عند الري بتركيز 6 ميلموز/سم والنقع 1:20 (S2Ag2) وبلغت 3.2% للوزن الجاف و 5.4% للمحتوى المائي.

بالنسبة لقيم البرولين في أوراق النبات فقد زادت جميعها عند النقع بجسيمات الفضة مقارنةً بمعاملة عدم النقع وذلك في معاملات الري بالماء العذب وبالتراكيز الملحية 4، 6 ميلموز/سم وكانت أقل معدلات الزيادة عند الري بالماء بالعذب (تراوحت بين 15.1 – 21.7%)، في حين كانت أعلى معدلات الزيادة عند التركيز 4 ميلموز/سم والنقع 3:10 (S1Ag3) وبلغت 63.9%، تبتها معاملة التركيز 6 ميلموز/سم والنقع 3:10 (S2Ag3) وبلغت 56.9%.



الشكل(2): معدلات التباين ±% في قيم المحتوى المائي النسبي والوزن الجاف ومحتوى البرولين عند معاملات النقع بنترات الفضة النانوية (Ag1: 1:10، Ag2: 1:20، Ag3: 3:10، Ag4: 3:20) مقارنة بالشاهدً غير المعامل عند التراكيز الملحية (S0: 0، S1: 4 ميلليموز/سم، S2: 6: ميلليموز/سم)

المناقشة:

أظهرت نتائج الدراسة الحالية تناقص المحتوى المائي لأوراق النبات والوزن الجاف للنبات تحت ظروف الري بمياه مالحة، ويفسر ذلك بسبب التأثير الكاوي للأملاح نتيجة تلامسها مباشرةً مع الجذور، كما أن زيادة تركيز شوارد الصوديوم في الأجزاء النباتية المختلفة يكون له تأثيراً سمياً واضحاً (Abd El-Sattar and Tawfik, 2023)، بالإضافة إلى زيادة معدل التنفس وأكسدة المادة الجافة، كما أن معدل النمو يتراجع بسبب تراجع عدد الأوراق ومساحتها بسبب تراجع كمية الماء والعناصر المعدنية المغذية الممتصة من قبل الجذور، ما يؤدي إلى تراجع قيمة ضغط الامتلاء داخل خلايا الأجزاء الهوائية، وهو ضروري لاستطالتها، ويؤدي تراجع حجم المسطح الورقي الأخضر، إلى تدهور كفاءة النبات التمثيلية، وكمية المادة الجافة المصنعة في الأوراق، مما يؤثر سلباً في نمو أجزاء النبات المختلفة وتطورها وزيادة معدل فقد الماء بسبب زيادة التنفس، ويتفق ذلك مع نتائج (Al-Saady, 2012; Pour *et al*., 2013; Kapoor and Pande, 2015).

يعد البرولين أحد الأحماض الأمينية التي يمكن أن تتواجد بصورة حرة في النبات، ويحتوي على مجموعة أمينية ثانوية مرتبطة بهذه الخاصية تميزه عن بقية الأحماض الأمينية، ويعد من أكثر الأحماض الأمينية التي تزداد كميتها بصورة حرة من خلال زيادة

التخليق أو تحلل البروتينات كاستجابة لظروف الإجهاد البيئي الذي يتعرض له النبات (Shtereva *et al* .,2008; Lotfi *et al* ., 2010). بينت نتائج الدراسة زيادة محتوى البرولين مع زيادة مستوى الإجهاد الملحي مقارنةً بالشاهد المروي بماء عذب، ويعزى ذلك كونها وسيلة دفاعية يتبعها النبات عندما يتعرض للإجهاد الملحي إذ تسبب تراكيز الملوحة العالية اضطراب في بناء البروتينات وتجمع النترات والأمونيا فيلجأ النبات إلى تكوين الأحماض الأمينية الحرة كالبرولين للتقليل من الأثر السام لتجميعها داخل الخلايا وزيادة ضغط الامتلاء الخلوي من خلال زيادة نسبة الذائبات في النسيج الخلوي للأوراق وبالتالي تقليل فقد الماء بعملية النتح (Saliem *et al*., 2000). وقد يعزى تراكم حمض البرولين في النبات تحت ظروف الإجهاد الملحي لزيادة تخليقه من الحمض الأميني الجلوتاميك أو نقص أكسدته جزئياً بسبب انخفاض نشاط أنزيم proline dyhydrogenase (Mohanty *et al* ., 1982). كما يلعب حمض البرولين دوراً مهماً كعامل منظم للضغط الأسموزي في خلايا النبات من خلال كنس الجذور الحرة والأكسدة عن طريق زيادة إنتاج الأنزيمات المضادة للأكسدة (كالبيروكسيديز والكاتالاز) ويساعد في التخلص من السمية بالأمونيوم الناتجة عن طريق تثبيط إنتاج البروتينات، كما ينظم الضغط الأسموزي بين الفجوات العصارية والسيتوبلازم، لذا فإن زيادة محتواه ضمن أنسجة النبات تعد وسيلة دفاعية عند تعرضها للإجهاد الملحي، وهذا ينعكس إيجاباً على نموها وزيادة تحملها (Amini and Ehsanpour ,2005). وجد Behzad وآخرون (2024) أن المعاملة بجسيمات الفضة النانوية تزيد المحتوى المائي النسبي في الأوراق، وتزيد من تحمل النبات للإجهاد الملحي لأنها تقلل من امتصاص شوارد الصوديوم وتستبدلها بشوارد البوتاسيوم، ويتفق ذلك مع نتائج (Wahid *et al*., 2020).بالإضافة إلى ذلك حسنت المعاملة بجسيمات الفضة النانوية من قيم المحتوى المائي النسبي والوزن الجاف للنبات تحت ظروف الري بالمياه المالحة، كما قللت من معدلات التناقص في قيم هذين المؤشرين تحت ظروف الإجهاد مقارنةً بمعاملة عدم النقع، ويعود ذلك لأن المواد النانوية تساعد على تنشيط نظام الأكسدة وتنظيم توازن الماء الخلوي، مما يساعد النبات في المحافظة على نشاط عملية التمثيل الضوئي بسبب استمرار الفعاليات الحيوية في النبات، وبالتالي تقليل عملية التنفس للحد الأدنى وزيادة عملية البناء ومراكمة المادة الجافة، ويتفق ذلك مع نتائج (Almutairt *et al*., 2016; Latif *et al*., 2017).

أظهرت نتائج الدراسة أيضاً أن المعاملة بالتركيز (3:10) أدت إلى تحقيق أعلى قيمة للبرولين وأعلى معدل للزيادة تحت ظروف الإجهاد الملحي مقارنةً بالشاهد المروي بماء عذب، وأعلى معدلات الزيادة مقارنةً بالشاهد غير المعامل بجسيمات الفضة النانوية، ويتفق ذلك مع دراسة Khan (2016) الذي وجد أن استخدام المواد النانوية (فضة – تيتانيوم – سيليكا) تعمل على تعزيز نمو النبات ونشاط الأنزيم المضاد للأكسدة وزيادة الأحماض الأمينية الحرة خاصةً البرولين تحت ظروف الملوحة. وبشكل عام فقد تفوقت كافة المعاملات المدروسة معنوياً على الشاهد غير المعامل بجسيمات الفضة، ويتفق ذلك مع Siddique وآخرون (2015) إذ أن تطبيق الفضة النانوية (3:10) مل يساعد على تكوين الأحماض الأمينية الحرة وتنظيم توازن الماء الخلوي، وهو نوع من التكيف الذي يبديه النبات عند التعرض للإجهادات المختلفة بهدف الحفاظ على الانتفاخ الخلوي وبالتالي يساعد النباتات على تحمل هذه الإجهادات المختلفة.

الاستنتاجات:

– أثرت تراكيز الملوحة المتزايدة في تراجع قيم المحتوى المائي النسبي والوزن الجاف للنبات مقارنةً بالشاهد المروي بمياه عذبة، وسببت المعاملة بجسيمات الفضة النانوية تحسين قيم هذين المؤشرين وحقق التركيز 3:10 (فضة نانوية: مستخلص أوراق الزيتون) أفضل القيم. في حين زادت قيم البرولين مع زيادة تركيز المحلول الملحي وسجل التركيز 6 ميلليموز/سم أعلى محتوى لحمض البرولين في الأوراق.

– زاد تركيز حمض البرولين عند زيادة تركيز المستخلص المائي لأوراق الزيتون من 1 إلى 3 مل في حين انخفض محتوى حمض البرولين عند زيادة تركيز الفضة من 10 إلى 20 مل لجميع المعاملات.

التوصيات :

بناءً على ما سبق نقترح في حال زراعة نبات الحلبة في ظروف متملحة أو عندما تكون مصادر مياه الري متملحة يمكن تطبيق تقنية النقع بجسيمات الفضة النانوية المحضرة حيوياً بمستخلص أوراق الزيتون بتركيز (3:10) لمدة ربع ساعة قبل الزراعة.

المراجع:

Abd El-Sattar A.M and E. Tawfik (2023). Effects of ultrasonic waves on seedling growth, biochemical constituents, genetic stability of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) under salinity stress. Vegetos, 36:1427–1436

Abdel Kareem SH. Mohamed FQ, Abdel-Hadi AM, Rabia AR,Shafaqat A and Muhammad R. (2017). Interactive effect of salinity and silver nanoparticles on photosynthetic and biochemical parameters of wheat, Archives of Agronomy and Soil Science, 63(12):1736-1747.

Almutairi ZM. (2016). Influence of silver nano-particles on the salt resistance of tomato (Solanum lycopersicum) during germination. Int. J. Agric. Biol., 18: 449–457.

Al-Saady, N.A., A.J. Khan, L. Rajesh and H.A. Esechie, (2012). Effect of salt stress on germination, proline metabolism and chlorophyll content of fenugreek (*Trigonella foenum* gracium L.). J. Plant Sci., 7: 176-185.

Amini, F. and A.A. Ehsanpour (2005). Soluble proteins, proline,carbohydrates and Na+/ K+ changes in tow tomato (Lycopersicon esculentum Mill.) cultivars under in vitro salt stress. Am. J. of Biochemistry and Biotechn. 1)4(: 204-208.

Bates , L. S. ,. Waldes. R. P andTeare. T. D (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil. 39: 205-207.

Behzad, Kh., Ehtesham Nia, A., Raji, M.R., Moumivand, H., Alikhani-Koupaei, M. (2024). The effect of salinity stress and the application of silver nanoparticles on flowering and some physico-biochemical characteristics of French parsley (Tagetes patula L.). Plant Productions, 47(2),275-291.

Bsoul E.Y., Othman S.A., Al-Ghzawi A.A and M. Massadeh (2023). Effect of Silver Nanoparticles on Growth and Physiological Responses of Spinach (Spinacia oleracea L.) under Salt Stress. Jordan Journal of Biological Sciences. 16(1): 1 – 6.

Castro-González, C.G.; Sánchez-Segura, L.; Gómez-Merino, F.C.; Bello-Bello, J.J. (2019). Exposure of stevia (Stevia rebaudiana B.) to silver nanoparticles in vitro: Transport and accumulation. Sci. Rep. 2019, 9, 10372.

Gonzalez, L and M. Gonzalez-Vilar (2001). Determination of relative water content. In. Handbook of plant Ecophysiology Techniques. Reigosa Roger., M.J.Springer. Netherlands. Pp:207-212.

Hathout, T.A. (1996). Salinity stress and its counteraction by the growth regulator Brassinolide in Wheat plants (*Triticum aestivum* .L cultiver Giza 157) .Egypt.journal.physiol .No.20: 1-2,127.

Kapoor N and V.Pande (2015). Effect of Salt Stress on Growth Parameters, Moisture Content, Relative Water Content and Photosynthetic Pigments of Fenugreek Variety RMt-1. Journal of Plant Sciences 10 (6): 210-221.

Khan, M.N.(2016). Nano-titanium Dioxide (Nano- Tio2) mitigates Nacl stress by enchancing antioxidative enzyme and accumulation of compatible solutes in (tomato) j. plant . sci. 11-, 1-11.

Laila, O. and I. Murtaza, (2015). Fenugreek: A treasure of bioactive compounds with promising antidiabetic potential. Int. J. Food Nutr. Sci., 4: 149-157.

Latif HH, Ghareib M, Abu Tahon M. (2017). Phytosynthesis of silver nanoparticles using leaf extracts from Ocimum basilicum and Mangifira indica and their effect on some biochemical attributes of Triticum aestivum Gesunde Pflanzen, vol 69, pp 39–46.

Lotfi, N., K. Vahdati, B. Kholdebarin and A. Reza (2010). Soluble sugars and proline accumulation play a role as effective indices for drought tolerance screening in Persian walnut (Juglans regia L.) during germination. Issue Fruits, 65:97-112.

Mohanty, L.C.; J.F. Tompson and C.M. Jonson (1982). Metabolism of Glutamic and N- acetyle Glutamic acid in leaf discs and cell-free extracts of higher plants. Plant physiol. 1023-1026.

Nathiya, S., M. Durga and T. Devasena, (2014). Therapeutic role of Trigonella foenum-graecum]Fenugreek]-a review. Int. J. Pharmaceut. Sci. Rev. Res., 27: 74-80.

Olfa B, Maha Z, Nada B, Zeineb OA (2018). Effects of Nacl on plant growth and antioxidant activities in Fenugreek (*Trigonella foenum* graecum L.). Biosci J Uberlândia 34(3):683–696.

Peng Z., Lu Q. and Verma D.P.S (1996). Reciprocal regulation of D1-pyrroline- 5- carboxylate synthetase and proline deshydrogenase.PlantMol .Genet., 253, 334-34 .

Pour, A.P., H. Farahbakhsh, M. Saffari and B. Keramat, (2013). Response of Fenugreek plants to short-term salinity stress in relation to photosynthetic pigments and antioxidant activity. Int. J. Agric.: Res. Rev., 3: 80-86.

Saliem, A.(2000). Capacity of Proline Accumulation during Salt stress in (Faba vulgaris L.).Crop.Sci. Plant Physiol.40:223-234.

Shtereva, L.B.A., T. Karcheva and V. Petkov (2008). The effect of water stress on the growth rate, water content and proline accumulation in tomato calli and seedling. Acta. Hort., 789.

Siddique , M H., AL-Whaibi., MH., Firoz, M., AL Khaishany ,M,Y.(2015). Role of nanoparticles in plants . Nanotechnology and plant sciences .springer- pp,19-35.

Tuncturk, R., (2011). Salinity exposure modifies nutrient concentrations in fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.). Afr. J. Agric. Res., 6: 3685-3690.

Wahid I., Kumari S., Ahmad R., Hussain S.J., Alamri, S., Siddiqui M.H and M. I.R. Khan (2020). Silver Nanoparticle Regulates Salt Tolerance in Wheat Through Changes in ABA Concentration, Ion Homeostasis, and Defense Systems. Biomolecules, 10, 1506- 19p.; doi:10.3390/biom10111506.

The Effect of Na cl Stress and Treatment with Silver Nanoparticle on proline acid content in Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*)

Raneem Melhem*[1] Lina Al-Naddaf [2] and Ali Ziak [3]

[1] General Commission for Scientific Agricultural Research, Homs Research Center, Syria

[2] University of Homs, Homs, Syria.

[3] General Commission for Scientific Agricultural Research, Hama Research Center, Syria.

(*Corresponding author: Raneem Melhem. E-Mial: Raneem.melhem.9933@gmail.com).

Received: 22/ 07/ 2025 Accepted: 29/ 09/ 2025

Abstract

The study was conducted at the Homs Research Center. General Commission for Scientific Agricultural Research, and the Biotechnology Center at the University of Homs, to study the response of some physiological traits of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) to irrigation with solutions prepared from two concentrations of sodium chloride (4 and 6 mmos/cm), in addition to a control irrigated with fresh water. The seeds were also soaked in four concentrations of bio-prepared silver nanoparticles by adding aqueous leaf extract (1 and 3 cm^3) to silver nitrate (10 and 20 cm^3) alternately to obtain concentrations (1:10, 1:20, 3:10, and 3:20). Fenugreek seeds were soaked in these concentrations for a 15 minutes and planted in pots. The experiment was conducted according to a completely randomized design with three replicates. The results showed a significant effect of increasing salinity concentrations on decreasing the relative water content and dry weight of the plant compared to the control irrigated with fresh water. Treatment with silver nanoparticles improved the values of these two indicators, and the 3:10 concentration (nanosilver:olive leaf extract) achieving the best values. Meanwhile, proline values increased with increasing saline concentration, and the 6 mmos/cm concentration recording the highest proline content in the leaves. Proline concentration also increased when the olive leaf aqueous extract concentration increased from 1 to 3 cm^3, while proline content decreased when the silver nitrate concentration increased from 10 to 20 cm^3 for all treatments. The study concluded that when fenugreek is grown in saline conditions or when irrigation water sources are saline, the technique of soaking bio-prepared silver nanoparticles in olive leaf extract at a concentration of 3:10 for a 15 minutes before planting can be applied.

Keywords: Salt stress, silver nanoparticles, physiological characteristics Fenugreek.