

تأثير استخدام نسبة الامونيوم NH_4^+ إلى النترات NO_3^- على بعض الصفات الكيميائية وحجم ونسبة بلورات اوكزالات الكالسيوم المتكونة في أوراق نبات السبانخ *Spinacea oleracea* L. صنف محلي.

سعدون عبد الهادي سعدون

فؤاد عباس سلمان

كلية الزراعة / جامعة الكوفة

الخلاصة :

نفذت التجربة في منطقة السهلة في قضاء الكوفة / محافظة النجف الاشراف خلال موسمي الزراعة 2009-2010 و 2010-2011 على نبات السبانخ *Spinacea oleracea* L. صنف محلي، رشت النباتات بالامونيوم NH_4^+ والنترات NO_3^- وبمستوى كلي للنيتروجين 400 ملغم. لتر⁻¹ وفق النسب التالية 0:1 و 1:0 و 0.50:0.50 و 0.25:0.75 و 0.75:0.25 ($NO_3^- : NH_4^+$). استعمل تصميم القطاعات العشوائية الكاملة R.C.B.D. و بثلاث مكررات وتمت مقارنة المتوسطات حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 0.05. اظهرت النتائج ان النسبة 1:0 ($NO_3^- : NH_4^+$) قد ازداد فيها محتوى الاوراق من الكالسيوم وحامض الاوكزاليك ونسبة حامض الاوكزاليك / الكالسيوم فيما ازداد محتوى الاوراق من حامض الاسكوريك في النسبة 0:1 والتي انخفض فيها نسبة بلورات اوكزالات الكالسيوم و نسبة 0.50:0.50 التي اعطت اقل حجما من بلورات اوكزالات الكالسيوم مقارنة مع معاملة المقارنة (0:0) التي انخفض محتواها من حامض الاسكوريك وزادت فيها حجم و نسبة بلورات اوكزالات الكالسيوم المتكونة في الخلايا النباتية وذلك بعد تكون 10 و 15 ورقة حقيقية.

EFFECT OF AMMONIUM TO NITRATE RATIO ON SOME CHEMICAL PARAMETER AND CALCIUM OXALATE CRYSTALS FORMATION IN LEAVES OF SPINACH (*Spinacea oleracea* L.) LOCAL CULTIVAR.

Abstract :

A field experiment was carried out at Al- Kufa in Najaf Governorate /Iraq during winter growing seasons 2009-2010 and 2010-2011 to the study the effects of N- NH_4^+ /N- NO_3^- ratios of 0:0 , 1:0 , 0:1, 0.50:0.50 , 0.75:0.25 and 0.25:0.75 ($NH_4^+ : NO_3^-$) with total nitrogen 400 mg.L⁻¹ on the chemical parameters and calcium oxalate crystals formation of spinach (*Spinacea oleracea* L.) local cultivar.

A Randomized Complete Block Design (R.C.B.D.) was used with three replications and Duncans multiples range test was used to compare means at 0.05 level.

The results showed that the ratio 0:1 ($NH_4^+ : NO_3^-$) increased calcium, oxalic acid and oxalic acid / calcium ratio , the ratio 1:0 markedly increased ascorbic acid and significantly decreased percentage of calcium oxalate crystals while 0.50:0.50 ratio gave

البحث مستل من اطروحة دكتوراه للباحث الأول

less size of calcium oxalate crystals compare with control treatment (0:0) which decreased ascorbic acid and increased the percentage and size of calcium oxalate crystals in leaves and petioles ; when plant had grown at 10 and 15 true leaves stage.

المقدمة :

يعتبر نبات السبانخ *Spinacea oleracea* L. الذي ينتمي الى العائلة الرمرامية *Chenopodiaceae* احد محاصيل الخضر المهمة والتي تنتشر زراعتها في عديد من دول العالم ،وتعد منطقة جنوب غرب اسيا (إيران) الموطن الأصلي له ومنها انتشر الى بقية أنحاء العالم (Salunkhe و Kadam, 1998).

يحتوي كل 100غم من السبانخ على حوالي 23 سعرة حرارية و 3.6 و 2.2 غم لكل من الكربوهيدرات والألياف على التوالي و 30 ملغم من فيتامين C و 2 ملغم من فيتامين E و 469 و 194 مايكروغرام لكل من فيتامين A و B9 و 100 ملغم من الكالسيوم و 2.7 ملغم من الحديد إضافة الى العناصر المعدنية والغذائية الأخرى كالفسفور والزنك والبروتين (Erfani وآخرون, 2007).

إلا أنه بالرغم من ذلك يعتبر نبات السبانخ من نباتات ذات المحتوى العالي من حامض الاوكزاليك والذي يعزى إليه الطعم اللاذع في النبات ، وتقدر كميته بحدود 100-400 ملغم. 100غم⁻¹ وزن طري في حين قد يصل في بعض الاصناف الاوربية الى أكثر من 930 ملغم. 100غم⁻¹ (Kilickan وآخرون, 2010).

أن تراكم حامض الاوكزاليك وبتراكيز عالية في الأنسجة النباتية يؤثر على عمل و وظيفة النظام الخلوي لذا تعمل الخلية على التخلص من هذه الأحماض الفائضة عن طريق ربطها مع عناصر معدنية أخرى كالمغنسيوم مكونة أملاح بصورة ذائبة أو على هيئة أملاح غير الذائبة من خلال ربطها مع الكالسيوم لتكون بلورات أو كزالات الكالسيوم Calcium Oxalate Crystals وذات أشكال عديدة (Nakata و Mc Conn, 2000). وتعتبر الفجوة الخلوية المكان الرئيس لتجمع هذه البلورات إضافة على احتواءها على المواد الثانوية الأخرى كالكسكريات والاملاح و بعض الأحماض العضوية والتي تنتج من الفعاليات الأيضية Metabolic activities التي تحدث في الخلايا النباتية (Sugiyama وآخرون, 1999).

تصنف أوكزالات الكالسيوم بأنها نوع من السموم النباتية المضرّة بصحة الانسان (Cao, 2003) ، والتي تعتبر من الأسباب الرئيسيه لأصابة بمرض الحصى الكلوي Kidneys Stone وقد أظهرت الدراسات أن 50% من المصابين بمرض الحصى الكلوي هو بسبب أوكزالات الكالسيوم (Beghalia وآخرون, 2008) فيما بينت التحليلات الكيميائية أن نحو 70 – 80% من تركيب الحصوة الكلوية مكونة من بلورات أوكزالات الكالسيوم (Bag وآخرون, 2008) ، مما أدى الى عزوف أو منع كثير من الأشخاص المصابين بهذا المرض من تناول هذا النبات، لذا فإن هذه الدراسة تهدف الى:

1- دراسة تأثير إضافة السماد النتروجيني على صورتي امونيوم NH_4^+ و نترات NO_3^- على تكوين حامض الاوكزاليك Oxalic acid وبلورات أوكزالات الكالسيوم Calcium Oxalate Crystals في نبات السبانخ.

2- تحديد أفضل مرحلة يمكن حصاد النبات فيها وهو في أقل تركيز من تكون البلورات فيه.

المواد وطرائق العمل :

أجريت الدراسة خلال الموسمين الزراعيين 2009-2010 و 2010-2011 في إحدى مزارع منطقة السهلة قضاء الكوفة / محافظة النجف الاشرف ، أخذت عشرة عينات من التربة ومن عدة أماكن مختلفة لكلا موسمي الزراعة و بأعماق مختلفة 0-30 سم ثم خلطت العينات خلطاً جيداً ومتجانساً وتم تعريضها لأشعة الشمس لمدة 24 ساعة ثم طحنت

ونخلت بمنخل ذي فتحات 2 ملم بعد ذلك أخذت منها عينة واحدة عشوائية لغرض تحليل بعض الصفات الفيزيائية والكيميائية للتربة في مختبر البحوث التابع لكلية الزراعة / جامعة الكوفة ، ويوضح جدول (1) نتائج تحليلات لتربة الحقل لكلا موسمي الزراعة.

تمت عمليات تهيئة تربة الحقل لزراعة البذور بعد رية الغمر ثم حرثت التربة حرثتين متعامدتين بعمق 30 - 40 سم أضيف إثناءها السماد العضوي المتحلل 40 م³ هكتار⁻¹ كما أضيف عنصر الفسفور على هيئة سماد سوبر الفوسفات الثلاثي (48-52 % P2O5) وبواقع 150 كغم. هكتار⁻¹ وبعد ذلك تم تعقيم التربة وتسويتها (الدجوي، 1996). وتم تعقيم الأرض باستعمال المبيد الفطري Benlet 50% 1 مل من المبيد لكل لتر ماء و ذلك لغرض مقاومة الإصابات الفطرية.

زرعت البذور مباشرة في الحقل بتاريخ 25 و 29 تشرين الأول لموسمي الزراعة على التوالي داخل سطور بمسافة 25 سم بين سطر وآخر و 10 سم بين جورة وأخرى وتم وضع ثلاثة بذور في كل جورة وخففت إلى نبات واحد بعد ظهور الورقة الحقيقية الأولى (Zvalo و Respondek , 2008) ثم أعطيت الريّة الأولى بعد الزراعة مباشرة رياً سطحياً وخفيفاً ثم تكرر الري كلما دعت الحاجة وحسب الظروف البيئية السائدة كما أجريت عمليات الخدمة كافة وفقاً للموصى به وحاجة النباتات (مطلوب وآخرون , 1989). قسم الحقل إلى ثلاثة قطاعات وقسم كل قطاع إلى ألواح (وحدات تجريبية) مساحة كل منها 6 م² (طول 3 م × عرض 2 م) لكل وحدة تجريبية مع ترك مسافة نصف متر بين لوح وآخر ممرا لخدمة وقد استخدم سماد اليوريا CO(NH₂)₂ (46% N) كمصدر لأمونيوم NH₄⁺ و نترات البوتاسيوم KNO₃ (14% N) كمصدر للنترات NO₃⁻ رشت النباتات مرتين ؛ الرشّة الأولى بعد تكون أربعة أوراق حقيقية أما الرشّة الثانية فكانت بعد عشرة أيام من الرشّة الأولى (Khan وآخرون، 1997) إما معاملة المقارنة فرشت بالماء المقطر وقد أضيفت مع كل تركيز من التراكيز المحضرة 5غم / 10 لتر من مسحوق الغسيل (Sodium Tripolyphosphate Na₅P₃O₁₀) كمادة الناشرة وذلك لتقليل الشد السطحي للمحلول، استعملت المرشّة الظهرية سعة 10 لتر في رش المعاملات عند وقت الغروب وحتى درجة البلل الكامل ونزول أول قطرة وبفارق 24 ساعة بين محلول وآخر.

وقد نفذت التجربة باستعمال تصميم القطاعات العشوائية الكاملة Random Complete R.C.B.D. Block Design و بثلاث مكررات وتمت المقارنة بين المتوسطات حسب اختبار دنكن متعدد الحدود Duncans Multiples Range Test عند مستوى احتمال 0.05 (الراوي و خلف الله , 2000).

أجريت القياسات التجريبية بعد ان قسمت الوحدة التجريبية الى قسمين متساوين مساحة كل منها 3 م² وذلك لغرض إجراء التحليلات بعد إن تتكون 10 و 15 ورقة حقيقية وقد شملت الصفات المدروسة على ما يلي:

1- قياس محتوى الأوراق من عنصر الكالسيوم (ملغم. 100غم⁻¹)

تم تقدير عنصر الكالسيوم للعينات الورقية المهضومة باستخدام جهاز Flame Photometer ومعايرتها مع المنحنى القياسي لكاربونات الكالسيوم وحسب ما ذكره الصحاف (1989).

2- قياس محتوى الأوراق من حامض الاوكزاليك Oxalic acid (ملغم. 100غم⁻¹) :

تم تقدير كمية حامض الاوكزاليك Oxalic acid كما ورد (A.O.A.C. 1990) وذلك من خلال التسحيح مع هيدروكسيد الصوديوم NaOH عيارية (0.1N) وباستعمال محلول دليل فينونفتالين 1%.

3 - نسبة حامض الاوكزاليك / الكالسيوم:

تم تقدير هذه النسبة في الأوراق كما ذكره Erfani وآخرون (2007) وفق المعادلة الآتية:

كمية حامض الاوكزاليك (ملغم. 100غم⁻¹)

= نسبة حامض الاوكزاليك / الكالسيوم

كمية الكالسيوم (ملغم. 100غم⁻¹)

جدول (1) : بعض الصفات الفيزيائية والكيميائية لتربة الحقل لموسمي التجربة قبل الزراعة

الموسم الثاني 2010- 2011	الموسم الأول 2009- 2010	وحدة القياس	نوع التحليل
طينية غرينية	طينية غرينية	-	نسجة التربة
215	200	غم . كغم ⁻¹	الرمل
340	350	غم . كغم ⁻¹	الغرين
445	450	غم . كغم ⁻¹	الطين
7.4	7.8	-	درجة تفاعل التربة pH
2.2	2.7	ديسيمينز.متر ⁻¹	التوصيل الكهربائي EC
19.36	23	ملي مول شحنة.لتر ⁻¹	الكالسيوم Ca ⁺⁺
9.24	10	ملي مول شحنة.لتر ⁻¹	الصوديوم Na ⁺
0.35	0.51	ملي مول شحنة.لتر ⁻¹	البوتاسيوم K ⁺
14.48	15.5	ملي مول شحنة.لتر ⁻¹	المغنسيوم Mg ⁺⁺
21.44	20	ملي مول شحنة.لتر ⁻¹	الكلور Cl ⁻
2	2.5	ملي مول شحنة.لتر ⁻¹	HCO ₃ ⁻
19.72	20	ملي مول شحنة.لتر ⁻¹	SO ₄ ^{- -}
0.40	0.31	ملغم . لتر ⁻¹	Fe الجاهز
8.9	8.6	غم . كغم ⁻¹	Organic Matter(O.M.)

وقد تكونت التجربة من ستة التوليفات وفق الخطة التالية:

نسب المصدر النيتروجيني		● →	كمية النيتروجين
<u>NO₃⁻</u>	<u>NH₄⁺</u>		ملغم . لتر ⁻¹
0	0	● →	المقارنة 0 : 0
0	1	● →	0 : 400
1	0	● →	400 : 0
0.50	0.50	● →	200 : 200
0.25	0.75	● →	100 : 300
0.75	0.25	● →	300 : 100

4 - قياس محتوى الأوراق من فيتامين C (حامض الاسكوربيك) (ملغم. 100غم⁻¹) :
تم قياس حامض الاسكوربيك باستعمال الصبغة 2.6-Dichlorophenol indophenol وكما ورد في
(1970, A.O.A.C).

5- حجم بلورات اوكزالات الكالسيوم (µm):

تمت دراسة هذه الصفة بعمل مقاطع تشريحية باستعمال طريقة قطع باليد الحرة Free-Hand Sectioning لكل من سويق الورقة Petiole بعمل مقاطع طولية بواسطة شفرة حادة وفي الورقة Leaf بعمل مقاطع عرضية عن طريق السلك بواسطة شفرة حادة وملقط العمليات الجراحية ثم اخذت المقاطع لتوضع في صبغة Safranin المخففة لمدة 8-10 دقائق وبعدها نستخرج المقطع التشريحي من الصبغة ليغسل بالكحول تركيز 94% ويجفف ليوضع بعد ذلك على شريحة نظيفة Slide وتوضع قطرات من الجليسرين ثم الغطاء الزجاجي Cover Slide. لتفحص باستعمال القوة X40 بواسطة الميكرومتر العيني Ocular micrometer ليسجل ثلاثة أحجام من البلورات لكل مقطع تشريحي و ثم يستخرج المعدل.

6- تركيز بلورات اوكزالات الكالسيوم :

تم قياس تركيز البلورات في كل من سويق الورقة Petiole والورقة Leaf وذلك بعد تحضير الشرائح باستعمال طريقة قطع باليد الحرة Free-Hand Sectioning وبالطريقة المذكورة سابقاً . مع استعمال القوة X10 ومن ثم يتم حساب عدد البلورات التي تظهر ضمن مساحة 32 ملم² (مساحة العدسة العينية لمجهر الضوئي) لتستخرج بعد ذلك النسبة المئوية لتركيز البلورات وفق المعادلة الآتية :-

$$\text{النسبة المئوية لبلورات اوكزالات الكالسيوم} = \frac{\text{عدد البلورات التي تظهر في العدسة}}{\text{مساحة العدسة}} \times 100$$

النتائج والمناقشة :

1- محتوى الأوراق من عنصر الكالسيوم

تشير نتائج الجدول (2) الى ان عنصر الكالسيوم قد تأثر معنوياً في نسبة NH₄⁺ الى NO₃⁻ إلا أن النسبة 1:0 أظهرت تفوقاً في زيادة محتوى العنصر عند تكون 10 أوراق حقيقية الى 118.52 و 119.05 ملغم. 100 م⁻¹ للموسمين على التوالي والتي لم تختلف معنوياً عن بعض النسب، اما في مرحلة 15 ورقة حقيقية تفوقت كل من النسب 1:0 و 0.50:0.50 و 0.75:0.25 معنوياً في زيادة محتوى الكالسيوم الى 136.25 و 133.12 و 133.28 ملغم. 100 م⁻¹ على التوالي للموسم الاول بينما في الموسم الثاني بقيت النسبة 0:1 متفوقة معنوياً في زيادة المحتوى الى 136.66 ملغم. 100 م⁻¹ لكنها لم تختلف هي الاخرى معنوياً عن بعض المعاملات بينما انخفض محتوى الكالسيوم في معاملة المقارنة الى 97.39 و 100.65 ملغم. 100 م⁻¹ في مرحلة 10 أوراق حقيقية والى 106.72 و 122.85 ملغم. 100 م⁻¹ بعد تكون 15 ورقة حقيقية للموسمين على التوالي.

جدول (2): تأثير نسبة الامونيوم NH_4^+ الى النترات NO_3^- على محتوى الأوراق من عنصر الكالسيوم (ملغم.100 غم⁻¹) للموسمين الأول والثاني.

الموسم الثاني 2010-2011		الموسم الأول 2009 - 2010		المعاملة
بعد تكون 15 ورقة حقيقية	بعد تكون 10 أوراق حقيقية	بعد تكون 15 ورقة حقيقية	بعد تكون 10 أوراق حقيقية	نسبة $NO_3^- : NH_4^+$
122.85 c	100.65 c	106.72 c	97.39 c	المقارنة 0 : 0
127.49 ab	111.77 b	126.68 b	100.01 c	0 : 1
136.66 a	119.05 a	136.25 a	118.52 a	1 : 0
132.76 ab	114.91 ab	133.12 a	114.29 ab	0.50 : 0.50
132.59 ab	114.87 ab	133.28 a	112.80 b	0.25: 0.75
130.31 b	111.22 b	124.66 b	110.45 b	0.75: 0.25

*المعدلات التي تحمل الحروف الأبجدية نفسها ضمن نفس العمود لا تختلف عن بعضها معنويا.

يمكن ان يعزى سبب تناقص الكالسيوم في النسبة 0:1 ($NO_3^- : NH_4^+$) الى ان النباتات التي يضاف لها السماد النتروجيني على هيئة $N-NH_4^+$ تحتوي على تراكيز منخفضة من الكاتيونات غير العضوية من الكالسيوم Ca^{+2} (مينكل و كيربي, 2000, و Barker و Pilbeam, 2007) ويتفق هذا مع ما اشار Taghavi وآخرون (2004) من ان النباتات التي غذيت بالنترات تحتوي على الكالسيوم اكثر من النباتات التي غذيت بالامونيوم .

2- محتوى الأوراق من حامض الاوكزاليك Oxalic acid (ملغم.100غم⁻¹) :

من خلال النتائج في الجدولين (3) و (4) يتضح بأن نسبة الامونيوم الى النترات قد تأثرت معنويا على محتوى الأوراق من حامض الاوكزاليك وأظهرت كل من النسب 0:0 و 1:0 بإعطاء اعلى معدل من محتوى الحامض بلغ 83.68 و 95.53 ملغم.100غم⁻¹ للموسم الأول، وفي الموسم الثاني اعطت كل من النسب 0:0 و 1:0 و 0.75:0.25 زيادة في محتوى الحامض الى و 89.41 و 90.67 و 88.00 ملغم.100غم⁻¹ على التوالي التي لم تختلف معنويا عن بعض المعاملات المستخدمة وذلك بعد تكون 10 أوراق حقيقية، أما في مرحلة 15 ورقة حقيقية فبقيت النسبة 0:0 بإعطاءها أعلى محتوى من الحامض اذ بلغ 119.16 و 108.72 ملغم.100غم⁻¹ للموسمين على التوالي، مقارنة بالنسبة 1:0 التي اعطت اقل محتوى من الحامض والذي بلغ 66.00 و 70.22 ملغم.100غم⁻¹ بعد تكون 10 أوراق حقيقية والى 79.00 و 58.28 ملغم.100غم⁻¹ بعد تكون 15 ورقة حقيقية لموسمي الدراسة على التوالي.

3- نسبة حامض الاوكزاليك / الكالسيوم :

تبين النتائج في الجدولين (3) و (4) ان نسبة 0:0 و 1:0 قد أعطتا اعلى نسبة من حامض الاوكزاليك / الكالسيوم اذ بلغت بعد تكون 10 أوراق حقيقية 0.85 و 0.95 للموسم الاول والى 0.88 و 0.81 للموسم الثاني على التوالي قياسا مع كل من النسبة 0:1 و 0.25:0.75 اللتان سجلتا اقل نسبة من حامض الاوكزاليك / الكالسيوم 0.55 و 0.59 على التوالي للموسم الاول ومع النسبة 0:1 الى 0.58 للموسم الثاني ، اما بعد تكون 15 ورقة حقيقية فيلاحظ ان

النسب 0:0 و 1:0 قد رفعت هذه الصفة الى 0.84 و 0.94 على التوالي للموسم الاول التي لم تختلف معنويا عن بعض النسب و في الموسم الثاني بقيت النسبة 0:1 محافظة على تفوقها في زيادة نسبة حامض الاوكزاليك / الكالسيوم الى 0.85 ، مقارنة بالنسبة 1:0 التي أعطت اقل نسبة من هذه الصفة 0.57 و 0.42 في لموسمي الدراسة على التوالي.

4- محتوى الأوراق من حامض الاسكوريك (ملغم. 100غم⁻¹):

من النتائج الظاهرة في الجدولين (3) و (4) يتضح ان نسبة NH_4^+ الى NO_3^- قد اثرت على محتوى الأوراق من حامض الاسكوريك (فيتامين C) وتفاوتت النسبة 1:0 على باقي المعاملات في زيادة محتوى الحامض الى 42.50 و 43.50 ملغم. 100غم⁻¹ بعد تكون 10 أوراق حقيقية والى 42.60 و 39.61 ملغم. 100غم⁻¹ بعد تكون 15 ورقة حقيقية للموسمين على التوالي التي لم تختلف معنويا عن بعض النسب ، بينما اعطت معاملة المقارنة اقل محتوى من الحامض اذ بلغ 22.50 و 19.56 ملغم. 100غم⁻¹ بعد تكون 10 أوراق حقيقية والى 22.83 و 18.84 ملغم. 100غم⁻¹ بعد تكون 15 ورقة حقيقية للموسمين على التوالي.

جدول (3): تأثير نسبة الامونيوم NH_4^+ الى النترات NO_3^- على محتوى الاوراق من حامض الاوكزاليك (ملغم. 100غم⁻¹) ونسبة حامض الاوكزاليك / الكالسيوم وحامض الاسكوريك (ملغم. 100غم⁻¹) للموسم الأول.

بعد تكون 15 ورقة حقيقية			بعد تكون 10 اوراق حقيقية			المعاملة
حامض الاسكوريك ملغم. 100غم ⁻¹	نسبة حامض الاوكزاليك / الكالسيوم	حامض الاوكزاليك ملغم. 100غم ⁻¹	حامض الاسكوريك ملغم. 100غم ⁻¹	نسبة حامض الاوكزاليك / الكالسيوم	حامض الاوكزاليك ملغم. 100غم ⁻¹	النسبة $NO_3^-:$ NH_4^+
22.83 d	0.84 a	90.00 b	22.50 c	0.85 a	83.68 a	المقارنة 0:0
42.60 a	0.57 b	79.00 c	42.50 a	0.55 c	66.00 b	0:1
36.50 b	0.94 a	119.16 a	38.66 ab	0.95 a	95.53 a	1:0
36.33 b	0.66 ab	88.23 bc	27.16 c	0.67 b	77.12 ab	0.50:0.50
27.66 cd	0.68 ab	91.10 b	34.33 b	0.59 c	67.60 b	:0.75 0.25
30.83 bc	0.68 ab	85.40 bc	34.66 b	0.70 b	78.30 ab	0.75: 0.25

* المعدلات التي تحمل الحروف الأجدية نفسها ضمن نفس العمود لا تختلف عن بعضها معنويا.

جدول (4): تأثير نسبة الامونيوم NH_4^+ الى النترات NO_3^- على محتوى الاوراق من حامض الاوكزاليك (ملغم.100 غم⁻¹) ونسبة حامض الاوكزاليك /الكالسيوم وحامض الاسكوريك (ملغم.100 غم⁻¹) للموسم الثاني.

بعد تكون 15 ورقة حقيقية			بعد تكون 10 اوراق حقيقية			المعاملة
حامض الاسكوريك ملغم.100 غم ⁻¹	نسبة حامض الاوكزاليك /الكالسيوم	حامض الاوكزاليك ملغم.100 غم ⁻¹	حامض الاسكوريك ملغم.100 غم ⁻¹	نسبة حامض الاوكزاليك /الكالسيوم	حامض الاوكزاليك ملغم.100 غم ⁻¹	نسبة NO_3^- : NH_4^+
18.48 d	0.68 b	84.16 b	19.56 d	0.88 a	89.41 a	المقارنة 0:0
39.61 a	0.42 c	58.28 c	43.50 a	0.58 c	70.22 b	0:1
29.43 c	0.85 a	108.72 a	30.41 bcd	0.81 a	90.67 a	1:0
38.06 ab	0.56 bc	75.25 b	40.06 ab	0.68 b	79.05 ab	0.50:0.50
33.46 bc	0.52 bc	70.12 bc	37.23 abc	0.69 b	80.37 ab	: 0.75 0.25
30.30 c	0.59 bc	77.60 b	25.58 cd	0.79 ab	88.00 a	0.75: 0.25

* المعدلات التي تحمل الحروف الأبجدية نفسها ضمن نفس العمود لا تختلف عن بعضها معنوياً.

يمكن ان يعزى سبب زيادة محتوى حامض الاوكزاليك Oxalic Acid في الأوراق عند اضافة سماد النتروجيني على هيئة نترات $N-NO_3^-$ الى عملية اختزال النترات الى NH_3 بواسطة الأنزيمين Nitrate Redctase و Nitrite Reductase مما يسهم في زيادة تكوين ايون هيدروكسيد OH^- نتيجة هذه التفاعلات ورفع الرقم الهيدروجيني pH وجعل المحيط الخلوي قاعدياً Alkalization (Kmiecik وآخرون، 2005) وكررد فعل للخلية فأنها تلجأ الى زيادة إنتاج الأحماض العضوية ومنها حامض الاوكزاليك لمعادلة المحيط الخلوي من خلال

خفض الرقم الهيدروجيني (Okazaki وآخرون, 2009) ، وقد يكون السبب ان إضافة النترات الى النبات و زيادة تركيزها فيه قد أدى الى تثبيط أنزيم Oxalic acid oxidase الذي يقوم بأكسدة حامض الاوكزاليك مما تسبب في تراكم الحامض في الأنسجة النباتية (Wang وآخرون, 2009) وربما يعزى السبب أيضا الى أن زيادة تركيز النترات في النبات قد حفز على زيادة تكوين مركب Glyoxylate والذي يعتبر احد المركبات الأساسية في تخليق حامض الاوكزاليك (Noonan و Savage, 1999 و Hong-mei وآخرون, 2004).

ومن جانب آخر فقد يعود زيادة حامض الاوكزاليك بسبب تحفيز النترات على أكسدة حامض الاسكوربيك (فيتامين C) الى Dehydro Ascorbic Acid (Caliskan و Tanaka وآخرون, 2006) والذي يكون فيما بعد حامض الاوكزاليك وهذا ما يفسر سبب تناقص محتوى حامض الاسكوربيك في أوراق النباتات التي اضيف لها النترات NO_3^- مقارنة بتلك التي عوملت بالامونيوم التي زاد فيها محتوى حامض الاسكوربيك والذي قد يرجع سبب ذلك الى زيادة حجم النمو الخضري وزيادة فعالية البناء الضوئي مما انعكس ذلك على تراكم المواد الغذائية المصنعة ومركبات الايضية التي تدخل في تصنيع الفيتامينات ومنها فيتامين C (Alderfasi وآخرون, 2010). وتتفق هذه النتيجة مع ما وجده كل من Conesa وآخرون (2004) و Wang وآخرون (2009) على ان النسبة 1:0 ($NO_3^- : NH_4^+$) قد زادت من حامض الاوكزاليك في نبات السبانخ. ومع ما توصل اليه Ombdi وآخرون (2000) و Guoyi وآخرون (2007) من ان التسميد النتروجيني على هيئة امونيوم قد زاد من محتوى حامض الاسكوربيك في نبات السبانخ.

اما عن سبب زيادة نسبة حامض الاوكزاليك/ الكالسيوم في النسبة 1:0 ($NO_3^- : NH_4^+$) فإنه قد يكون ناتج عن زيادة محتوى حامض الاوكزاليك وعنصر الكالسيوم (جدول 2) مما تسبب في زيادة هذه النسبة (Erfani وآخرون, 2007).

5- حجم بلورات اوكزالات الكالسيوم في نصل الورقة (μm) :

من خلال نتائج الجدول (5) يتضح ان نسبة الامونيوم NH_4^+ الى النترات NO_3^- كان لها تأثيرا على حجم بلورات اوكزالات الكالسيوم في نصل الورقة واطهرت النسبة 0.50:0.50 تفوقا على بقية المعاملات في تقليل حجم البلورات الى 0.13 و 0.09 مايكروميتر بعد تكون 10 أوراق حقيقية والى 0.67 و 0.71 مايكروميتر بعد تكون 15 ورقة حقيقية لموسمي الدراسة على التوالي، فيما ازداد حجم البلورات في نصل أوراق نباتات المقارنة الى 1.23 و 3.25 مايكروميتر للموسم الاول و 1.02 و 3.80 مايكروميتر للموسم الثاني وذلك بعد تكون 10 و 15 ورقة حقيقية على التوالي .

6- حجم بلورات اوكزالات الكالسيوم في سويق الورقة (μm) :

تظهر نتائج الجدول (5) ان النسبة 0:1 و 0.50:0.50 NH_4^+ الى NO_3^- قد أثرتا معنويا في تقليل حجم بلورات اوكزالات الكالسيوم في مرحلة 10 أوراق حقيقية الى 0.21 و 0.14 مايكروميتر للموسم الاول وفي الموسم الثاني فإن النسبة 0.50:0.50 حافظت على تقليل حجم البلورات الى 0.17 مايكروميتر ، اما في مرحلة 15 ورقة فقد أعطت النسبة 0.50:0.50 اقل حجما للبلورات بلغ 0.60 و 0.79 مايكروميتر للموسمين على التوالي في حين اظهرت معاملة المقارنة زيادة في حجم البلورات الى 1.16 و 1.11 مايكروميتر بعد تكون 10 أوراق حقيقية والى 2.43 و 2.83 مايكروميتر بعد تكون 15 ورقة حقيقية لموسمي التجربة على التوالي.

جدول (5) : تأثير نسبة الامونيوم NH_4^+ : النترات NO_3^- في حجم بلورات اوكزالات الكالسيوم في خلايا نصل وسويق الورقة للموسمين الاول والثاني.

الموسم الثاني 2010- 2011				الموسم الاول 2009- 2010				المعاملة
بعد تكون 15 ورقة حقيقية		بعد تكون 10 أوراق حقيقية		بعد تكون 15 ورقة حقيقية		بعد تكون 10 أوراق حقيقية		نسبة $NO_3^- : NH_4^+$
نصل الورقة	سويق الورقة	نصل الورقة	سويق الورقة	نصل الورقة	سويق الورقة	نصل الورقة	سويق الورقة	
2.83 a	3.80 a	1.11 a	1.02 a	2.43 a	3.25 a	1.16 a	1.23 a	المقارنة 0:0
1.16 bc	1.91 bc	0.37 cd	0.15 cd	0.85 de	1.53 cd	0.21 d	0.25 cd	0:1
1.49 b	2.16 b	0.24 de	0.25 cd	1.85 b	2.35 b	0.31 cd	0.43 c	1:0
0.79 c	0.71 d	0.17 e	0.09 d	0.60 e	0.67 e	0.14 d	0.13 d	0.50:0.50
1.28 bc	1.08 cd	0.58 bc	0.33 c	1.41 bc	1.02 de	0.50 bc	0.61 c	0.25:0.75
1.77 b	1.87 bc	0.62 b	0.79 b	1.24 cd	1.75 bc	0.71 b	0.91 b	0.75:0.25

* المعدلات التي تحمل الحروف الأبجدية نفسها ضمن نفس العمود لا تختلف عن بعضها معنويا.

7- تركيز بلورات اوكزالات الكالسيوم في نصل الورقة (%):

تبين نتائج المعروضة في الجدول (6) ان تركيز بلورات اوكزالات الكالسيوم انخفض في كل من النسب 0 :1 و 0.75 :0.25 في خلايا نصل الورقة الى 25.57 و 21.94 % للموسم الاول والى 25.85 و 28.56% للموسم الثاني على التوالي وذلك بعد تكون 10 أوراق حقيقية وفي مرحلة 15 ورقة حقيقية فقد بقيت النسبة 1 :0 متفوقة في تسجيلها اقل تركيز من البلورات والتي بلغت 25.88 و 21.36 % للموسمين على التوالي، بينما ازداد تركيز البلورات في خلايا أوراق نباتات المقارنة الى 62.70 و 53.45 % بعد تكون 10 أوراق حقيقية والى 72.50 و 64.58 % بعد تكون 15 ورقة حقيقية لموسمي التجربة على التوالي.

8- تركيز بلورات اوكزالات الكالسيوم في سوق الورقة (%):

تشير نتائج في الجدول (6) ان النسب 1 : 0 و 0.75 : 0.25 قد أثرتا في خفض تركيز بلورات اوكزالات الكالسيوم في سوق الورقة في مرحلة 10 أوراق حقيقية الى 21.47 و 23.45 % للموسم الاول والى 18.80 و 18.66% للموسم الثاني على التوالي، وبعد تكون 15 ورقة حقيقية الى 20.66 و 21.05 % للموسم الاول والى 19.28 و 21.13 % للموسم الثاني على التوالي، مقارنة بالنسبة 0 : 1 حيث ازداد فيها تركيز البلورات بعد تكون 10 أوراق حقيقية الى 54.83 و 49.48 % للموسم على التوالي، اما بعد تكون 15 ورقة حقيقية فأظهرت النسبتان 0:0 (المقارنة) و 1:0 زيادة معنوية في تركيز البلورات الى 58.30 و 62.45 للموسم الاول والى 59.03 و 67.28 % للموسم الثاني على التوالي.

جدول (6) : تأثير نسبة الامونيوم NH_4^+ : النترات NO_3^- في تركيز بلورات اوكزالات الكالسيوم في خلايا نصل وسوق الورقة للموسمين الأول والثاني.

الموسم الثاني 2010-2011				الموسم الاول 2009-2010				المعاملة
بعد تكون 15 ورقة حقيقية		بعد تكون 10 أوراق حقيقية		بعد تكون 15 ورقة حقيقية		بعد تكون 10 أوراق حقيقية		نسبة NO_3^- : NH_4^+
نصل الورقة	سويق الورقة	نصل الورقة	سويق الورقة	نصل الورقة	سويق الورقة	نصل الورقة	سويق الورقة	
59.03 a	64.58 a	40.66 b	53.45 a	58.30 a	72.50 a	41.04 b	62.70 a	المقارنة 0:0
19.28 c	21.36 d	18.80 d	25.85 d	20.66 c	25.88 e	21.47 c	25.57 c	0:1
67.28 a	64.90 a	49.48 a	42.09 b	62.45 a	68.70 b	54.83 a	47.54 b	1:0
33.39 b	26.72 cd	28.33 c	33.78 c	32.03 bc	27.86 de	38.69 b	36.12 bc	0.50:0.50
21.13 c	28.94 c	18.66 d	28.56 d	21.05 c	31.41 cd	23.45 c	21.94 c	0.25:0.75
37.35 b	38.44 b	28.51 c	36.42 c	45.04 b	34.29 c	40.60 b	47.50 b	0.75:0.25

* المعدلات التي تحمل الحروف الأبجدية نفسها ضمن نفس العمود لا تختلف عن بعضها معنويا.

قد يعزى سبب تكوين بلورات اوكزالات الكالسيوم وزيادة حجمها في الخلايا النباتية عند تسميدها بالنترات $1:0 (NO_3^- : NH_4^+)$ الى ارتفاع محتوى حامض الاوكزاليك في الخلية النباتية (جدول 18) وان زيادة نسبة هذا الحامض قد يؤثر على فعالية وفسولوجية الخلية لذا تعمل الخلية في التخلص من التراكيز العالية من هذا الحامض عن طريق ربطه مع ايون الكالسيوم وترسيبه على شكل مركبات غير قابلة للذوبان في فجوة الخلية يطلق عليها بلورات

اوكرالات الكالسيوم (Webb, 1999)، ومن ناحية اخرى فأن اضافة النتترات قد ساعد على امتصاص و تراكم عنصر الكالسيوم (جدول 15) (Taghavi وآخرون, 2004) وان فائض من الكالسيوم يدمص على هيئة ايونات غير قابلة للانتشار مع حامض الاوكزاليك على شكل مجاميع الكربوكسيلية Carboxylic لتكوين اوكرالات الكالسيوم (Shi-Kuo وآخرون, 2010)، وتتفق هذه النتيجة مع ما وجده Yingpeng وآخرون (2005) من ان نسبة بلورات اوكرالات الكالسيوم قد ازدادت بنسبة 69% عند اضافة النتترات كمصدر للنتروجين لنباتات السبانخ ومع ما توصل إليه Zhang وآخرون (2005) من ان نسبة $(\text{NH}_4^+ : \text{NO}_3^-)$ 0:100 قد رفعت من نسبة بلورات اوكرالات الكالسيوم في نبات السبانخ. اما عن سبب زيادة حجم ونسبة بلورات اوكرالات الكالسيوم بعد تكون 15 ورقة حقيقية في كل من سويق ونصل الورقة قد يعزى الى زيادة تراكم حامض الاوكزاليك وعنصر الكالسيوم كلما تقدم النبات بالعمر (Nakata و McConn, 2000) ويتفق هذا مع ما وجده Kmiecik وآخرون (2005) بأن تركيز بلورات اوكرالات الكالسيوم قد ارتفعت بحدود 21-27% عندما ازداد عمر النبات . وبصورة عامة يلاحظ من خلال البيانات في الجدولين (6,5) بأن هناك تقارب في حجم وكمية بلورات اوكرالات الكالسيوم المتكونة في سويق او نصل الورقة وهذا لا يتفق مع ما ذكره Kawazu وآخرون (2003) بأن الأوراق اكثر احتواءا من البلورات مقارنة بالسويق .

المصادر :

- الراوي، خاشع محمود و عبد العزيز محمد خلف الله. 2000. تصميم و تحليل التجارب الزراعية. الطبعة الثانية. مؤسسة دار الكتب لطباعة والنشر. جامعة الموصل. العراق.
- الصحاف، فاضل حسين. 1989. تغذية النبات التطبيقي. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة بغداد. العراق. ص: 61-66.
- الدجوي، علي. 1996. تكنولوجيا زراعة وانتاج الخضار. الطبعة الاولى. مكتبة مدبولي للنشر والتوزيع. القاهرة. جمهورية مصر العربية. ص 323-334 .
- مينكل، ك. و كيربي، ي. آ. 2000. مبادئ تغذية النبات. ترجمة سعد الله نجم عبد الله النعيمي. الطبعة الثانية المنقحة. جامعة الموصل. دار الكتب للطباعة والنشر. العراق. ص: 378-406.
- A.O.A.C. 1970. Official Method Of Analysis 11th Edn., Assosiation of the Official Analytical Chemistry, Washington, D.C. U.S.A. pp. 101.
- A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis. 15th Edn., Association of the Official Analytical Chemistry, Washington, D.C. U.S.A. pp. 200-210.
- Alderfasi, A. A., Moftah , A .E. and Aljuaed , A.M .2010. Prospective study in influences of using Bio-Organic Farming system on growth, nitrate, oxalate and ascorbic acid contents in Spinach .World Applied Sciences Journal, 9(1):49-54.
- Bag, A. Bhattacharyya, S.K. and Chattopadhyay ,R.R. 2008 . Medicinal Plants and Urinary Tract Infections: An update. Pharmacognosy Review ,Vol.2 (4) :277-282.
- Barker, Allen V. and Pilbeam, David J. 2007.Plant Nutrition . Hand book. Taylor and Francis , New York, U.S.A. ,pp:21-51.
- Beghalia , M. Ghalem ,S. Allali, H. Belouatek, A. and Marouf, A. 2008. Inhibition of calcium monohydrate crystal growth using Algerian medicinal plants. Journal of Medicinal Plants Research, Vol.2 (3):66-70.

- Cao, Hui.2003. The distribution of calcium oxalate crystals in genus *Dieffenbachia* schott and the relationship between environmental factors and crystal quantity and quality .Master Thesis .University of Florida. U.S.A.
- Caliskan, Mahumt.2000. The Metabolism of oxalic acid .Turk J. Zool, Vol. 24 :103-106.
- Conesa, E., Ninirola, D., Vicente, M.J., Ochoa, J. Banon, S. and Fernandez, J.A. 2004. The influence of nitrate/ ammonium ratio on yields quality and nitrate ,oxalate and vitamin C content of baby leaf spinach and bladder campion plants grown in floating system. *Acta Horticulturae*, 23:212-217.
- Erfani, F. Hassandokht, M.R. Jabbari, A. and Barzegar, M. 2007. Effect of cultivar on chemical composition of some Iranian Spinach. *Pakistan Journal of Biological Sciences*,10(4) : 602-606.
- Guoyi, Z., Jianfei, W., Suzhi, X., Jianrong, Z. 2007. Effects of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ / $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ratios on Yield and Soluble Oxalate Content of Spinach (*Spinacia oleracea* L.).*CHINESE AGRICULTURAL SCIENCE BULLETIN*, 23(9): 58-59.
- Hong-mei, Y., Yuan-shi, G.O., Zhang, Z. and Xiao, Z. H. 2004.Effect of different water and nitrogen management on yield and nitrate content of amaranth and spinach. *Journal of Plant Nutrition and fertilizer Science* ,Vol.10(3):302-305.
- Kawazu, Y., Okimura, M. Ishii,T. and Yui, S. 2003.Varietal and seasonal differences in oxalate content of spinach .*Scientia Horticulturae* , 97 (3-4):203-210.
- Khan, N.K.,Watanabe M. and Watanabe Y. 1997. Effect of different concentrations of urea with or without nickel on spinach (*Spinacia oleracea* L.) under hydroponics culture. *Plant nutrition for sustainable food production and environment*, pp.85-86.
- Kilickan, A., Ucer , N. and Yalcin , I .2010. Some physical of Spinach (*Spinacea oleracea* L.) seed. *African Journal of Biotechnology* ,Vol. 9 (55),pp.648-655.
- Kmiecik, W., Lisiewska, Z., Gebcznski, P.2005. The level of nitrite and oxalates in different usable parts of dill (*Anethum graveolens* L.) depending on plant height. *Acta Sci. Pol., Technol.Aliment.* Vol. 4 (1):93-102.
- Nakata, P.A. and Mc Conn, M.M. 2000. Isolation of *Medicago truncatula* mutants defective in calcium oxalate crystal formation. *Plant Physiol.*,Vol.124, pp.1097-1104.
- Noonan, S.C. and Savage, G.P .1999. Oxalate content of foods and its effect on humans. *Asia Pacific Nutr.*,8 (1): 64-74.
- Okazaki, K., Oka, N., Shinano, T., Osaki, M. and Takebe, M. 2009. Metabolite profiling of spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves by altering the ratio $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ of in the culture solution. *Journal of Soil and Plant Nutrition* ,Vol.55(4):496-504.
- Ombdi, A., Kosuge, S., and Saigusa, M. 2000. Effect of polyolefin-coated fertilizer on nutritional quality of spinach plants. *Journal of Plant Nutrition* ,Vol.23, Issue 10:1495-1504.

- Salunkhe, D. K. and S. S. Kadam .1998.Vegetable Science and Technology: Production ,Composition ,Storage and Processing. Hand book. Marcel Dekker ,INC.,pp:533-538.
- Shi-Kuo, L., An-Jian, X., Yu-Hua, S., Xue-Rong. Y. and Gang, H. 2010. Biogenic synthesis of calcium oxalate crystal by reaction of calcium ions with spinach lixivium. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces,Vol.78, Issue 2, pp. 229-236.
- Sugiyama, N. Hasashi , H. and Uehara, M. 1999. Effect of water stress on oxalic acid concentrations in Spinach leaves. J. Japan .Soc.Hort .Sci., 68 (6):1155-1157.
- Taghavi, T. S., Babalar, M., Ebadi, A., Ebrahimzadeh, H. and Asgari, M. A. 2004. Effect of nitrate to ammonium ratio on yield and nitrogen metabolism of strawberry. International Journal of Agriculture and Biology ,Vol.6 ,No.6.pp.994-997.
- Tanaka, F., Kim, T.H. and Youeyama, T.2006. Relationship between oxalate synthesis and nitrate reduction in spinach (*Spinacia oleracea* L.) plants. Journal of Plant Nutrition ,Vol.92:302-304.
- Wang , Jianfei, Yi Zhou, Dong, Caixia , Shen ,Qirong and Ramesh Putheti .2009. Effect of NH_4^+ -N/ NO_3^- -N ratios on growth ,nitrate uptake and organic acid levels of spinach (*Spinacia oleracea* L.) . African Journal of Biotechnology ,Vol.8(15) :3597-3602.
- Webb ,Mary Alice .1999.Cell-Mediated Crystallization of Calcium Oxalate in Plants. Plant cell,Vol.11:751-761.
- Yingpeng, Z., Xianyong, L., Yongsong, Z. and Shaoting, D. 2005. Effects of nitrogen forms on content and distribution of nitrate and oxalate forms in spinach plants. Journal of Plant Nutrition ,Vol. 32 (4):648-652.
- Zhang, Y., Lin, X., Zhang, Y., Zheng, S. and Du, S.2005. Effect of nitrogen levels and nitrate / ammonium ratios on oxalate concentrations of different forms in edible parts of spinach. Journal of Plant Nutrition , Vol. 28,Issue 11:2011-2025.
- Zvalo,V. and Respondek,A.2008.Spinach-Vegetable Crops Production . Guide for Nova Scotia .Agro Point.