

تأثير مضادات الأكسدة في مستخلص نبات البردقوش *Origanum Majorana L.* على معدل إنقسام خلايا جذر نبات الفول *Vicia Faba L.* النامي تحت ظروف الجفاف

إشراف

ناهلة الشريف

استاذ الوراثة الجزيئية المشارك
جامعة طيبة، كلية علوم، قسم الاحياء
المدينة المنورة، السعودية

أ.د سلوى بدر (استاذ الوراثة الجزيئية)¹

د. نهى العراقي (استاذ الوراثة الخلوية المساعد)

جامعة طيبة، كلية العلوم، قسم الاحياء
المدينة المنورة، السعودية

بحث مسجل لطالبة الماجستير

أ.جواهر المطيري

جامعة طيبة، كلية العلوم، قسم الاحياء
المدينة المنورة، السعودية

الخلاصة

أجري هذا البحث لدراسة تأثير تراكيز مختلفة من نبات البردقوش (*Origanum majorana*) الغني بمضادات الأكسدة على نبات الفول (*Vicia faba*) النامي تحت إجهاد الجفاف. تم بدء الدراسة بتجربة إبتدائية مدة أسبوعين تحت ظروف المعمل لتحديد السعة الحقلية للتربة وكمية الماء الملائمة لإحتياج النبات وكمية الماء المسببة للجفاف على مستوى المراكز الذي يحتوى 300 جم من التربة وتم من خلالها تحديد النسب الملائمة، ثم شرعنا في تجربة الجفاف بحيث أحضرنا مجموعتين من المراكز، المجموعة الأولى زرعت فيها بذور مغمورة لمدة 24 ساعة بتراكيز (5-10-15) جم/100 مل مستخلص نبات البردقوش والمجموعة الثانية تم ريها بالتراكيز ذاتها بالمستخلص بكمية الجفاف التي تم تحديدها من التجربة الإبتدائية (الكمية المسببة للجفاف 30 مل و الكمية المناسبة 120 مل)، استمرت التجربة مدة 28 يوم وسُجلت نتائج (طول الساق والجذر ومساحة وعدد الأوراق ومحتواها من الكلورفيل والوزن الرطب والجاف للساق والجذر) بحيث لوحظ زيادة في كلاً من طول النبات وعدد ومساحة ومحتوى الأوراق من الكلورفيل وكذلك الوزن الجاف والرطب للنباتات المعاملة بالغمر بالمستخلص تليها المعاملة بالري تليها العينة الضابطة الموجبة، كذلك تم دراسة معدل إنقسام الخلايا (MI) في الجذور المعاملة بالمستخلص (ري وغمر) ومقارنتها بالعينة الضابطة وقد فاق معدل إنقسام الخلايا في العينات المعاملة العينة الضابطة الموجبة.

¹ بمساعدة قيمة مشكورة من عضوتي هيئة التدريس في جامعة طيبة قسم الاحياء

Effect of Antioxidants in *Origanum Majorana* L. Extract on the Rate of Mitotic Index in Root Cells of *Vicia faba* L. Plants Grown under Drought Conditions

Associate Professor of Plant Molecular Biology,

Dr. Nahla El-Sherif

Jawaher Almutere

With the help of a thankful of

Dr. salwa bader

Associate Professor of Plant Molecular Biology

Dr.noha El-erake

Assistant Professor of Plant Cellular Biology

Taibah University

Madina, KSA

ABSTRACT

This study was conducted to investigate the effect of different concentrations of *Origanum majorana*, rich in antioxidants, on *Vicia faba* plants grown under drought stress. The study was started with a two-week preliminary experiment under laboratory conditions to determine the field capacity of the soil and the amount of water suitable for the plant requirements as well as the quantity of water causing dryness for the plants grown in a pot that contains 300 g of soil, and to determine the appropriate amount of water that should be used to cause drought. The drought experiment was then started by preparing two sets of *V. faba* plants. In the first set, seeds were immersed for 24 hours with *Origanum majorana* extract concentrations of (5-10-15 g /100 ml). In the second one, seeds were irrigated with the same extract concentrations causing dryness, determined from the preliminary experiment. The experiment lasted 28 days and the results (stem length, root length, area and number of leaves, chlorophyll content, wet and dry weight of the stem and root) were observed. Plant height, number, area and chlorophyll content of leaves, as well as the dry and wet weight of the plants treated by immersion in the extract were higher than those subjected to the irrigation treatment. The later ones were in turn higher than in case of the positive control plants. Also, the mitotic index (MI) was calculated to determine the rate of cell division of the roots treated with the extract (by both irrigation and immersion methods) and compared with that of the control.

1. المقدمة

ان من أهم القضايا الأساسية التي تهتم بها الدولة هو شح المياه والعقبات والتحديات الرئيسية التي تواجهها والمتمثلة في محدودية مصادر المياه نتيجة لأسباب طبيعية ويتضح من ميزان المياه الوطني للمملكة العربية السعودية جدول (1) بأن القطاع الزراعي أكبر القطاعات استهلاكاً للمياه حيث يستهلك 86,48% من جملة الموارد المائية المتاحة سنوياً، وفي عام 1995م سعت المملكة ممثلة بوزارة الزراعة والمياه (سابقاً قبل إنشاء وزارة المياه) إلى تبني سياسة زراعية جديدة تسعى إلى الإكتفاء الذاتي في بعض المحاصيل الزراعية الأساسية الهامة (النباتية والحيوانية) والحد من زراعة المحاصيل التي تستهلك كميات كبيرة من المياه، حيث تم خلال خطة التنمية تخفيض إنتاج القمح والشعير بنسبة 30,7% و 75,1% على التوالي والتوسع في زراعة محاصيل الفواكه والخضار التي تستهلك كميات قليلة، وبناءً على ما سبق رغبتنا في البحث عن أسلوب حيوي باستخدام المستخلصات النباتية ذات المحتوى الوافي من مضادات الأكسدة في محتوى مائي قليل ودراسة تأثيرها على معالجة التلف المتعرض له النبات جراء الجفاف لعلنا نتمكن من مساعدة النبات حتى يقاوم الجفاف ويعطي محصول ذا قيمة غذائية وجودة عالية.

1.1 مضادات الأكسدة (Antioxidants):

2.1 أهمية مضادات الأكسدة:

تُشكل مضادات الأكسدة حاجزاً يثبُط ويؤخر الأكسدة في الأنظمة الخلوية وذلك عبر كبت أو وقف استمرار سلاسل تفاعلات الأكسدة التي تعطي الجذور الحرة المعروفة بنشاطها وفعاليتها داخل النسيج (Chatterjee et. al., 2007). ومن خلال البحث عن النباتات الطبية العطرية في المدينة المنورة والتي تمتلك محتوى عالي من مضادات الأكسدة، وجدنا بأن نبات البردقوش من النباتات التي تحتوي على نسبة من مضادات الأكسدة عالية مما دفعنا إلى استخدامه كمستخلص مائي لمعاملة النبات المتعرض للإجهاد.

3.1 الوضع التصنيفي لنبات البردقوش

Taxonomic Position of *Origanum majorana*

Kingdom: Plantae	المملكة: النباتية
Division: Tracheophyta	الشعبة: البذريات
Class: Magnoliopsida	الطائفة: النباتات المزهرة
Order: Lamiales	الرتبة: الشفويات
Family: Lamiaceae	العائلة: الشفوية
Genus: <i>Origanum</i>	جنس: البردقوش
Species: <i>Origanum majorana</i> L	النوع: بردقوش كبير

4.1 النشاط المضاد للأكسدة في نبات البردقوش *O. majorana*:

تحتوي نباتات العائلة الشفوية التابع لها نبات البردقوش على مركبات فينولية لها قدرة عالية كمضادات للأكسدة (Milos, 2000) كما أن القابلية التضادية للأكسدة والتضادية المايكروبيكة تعود إلى احتوائه على مركب حامض الروزمارينيك بالإضافة إلى الزيوت الطيارة (السامرائي وآخرون, 2014)، كذلك يعتقد أن نبات البردقوش قلل من الآثار السلبية للإجهاد الحراري من خلال قطع أهم سلسلة من السلاسل التي مر بها الإجهاد الحراري وهي الإجهاد التأكسدي عن طريق كبح وإيقاف الجذور الحرة وإصلاح أضرارها (طه وآخرون, 2011م)، كذلك يمتلك البردقوش

نشاط مضاد للأكسدة في البيئة المالحة مما يسهم في تقليله وإنتاج نبات له القدرة على مقاومة الملوحة (Baatour et.al., 2012) كذلك له دور مهم في تحسين انتاجية النباتات المعرضة للجفاف بحيث يزداد طول النبات وتزيد مساحة الاوراق وعددها ومحتوى الكلورفيل فيها (Elansary et.al., 2016).

5.1 المركبات المضادة للأكسدة في نبات البردقوش

درس كثير من الباحثين محتوى نبات البردقوش من مضادات الأكسدة , وقد توصل الكثير إلى أن النبات يحتوي على: acids, flavanoids, hydrocarbons, phenol glycosides, phenolic terpenoids and tannin.

أما المركبات النشطة منها

Terpenic esters, Monoterpenols and Monoterpenoids

:Monoterpenoids

a-pinene, beta-pinene, sabinene, myrcene, a-terpinene, y-terpinene, paracymene, terpinolene, a-phellandrene, beta-phellandrene.

Sesquiterpenoids: beta-caryophyllene, a-humulene. Monoterpenols: linalool, terpine-1-ol-4, terpine-1-ol-3, a-terpineol, cis-thuyanol-4, trans-thuyanol-4.

Terpenic esters: linalyl acetate, terpenyl acetate, geranyl acetate.

Phenol-methyl-ethers: trans-anethol.

(Saxena et.al., 2016)

6.1 تأثير الإجهاد المائي على إنبات البذور :

تبدأ دورة حياة النباتات بإنبات البذرة في التربة والبذرة متى انبثت إما أن تكون في ظروف بيئية ملائمة لنمو البادرة , وإتمام دورة حياة النبات وتكوين البذور أو غير ملائمة ومن ثم تبقى في طور السكون حتى تتحسن الظروف . وكما هو معلوم فإن مراحل إنبات البذور تنقسم إلى 3 مراحل :

التشرب: في هذه المرحلة تمتص البذرة الماء متى أصبح متاحاً معتمدة على قوى التشرب, وذلك لأن محتواها المائي يكون قليلاً, بما يضمن جهداً مائياً منخفضاً جداً وهذا مقارنة بالجهد المائي للوسط.

تحليل الغذاء المخزن في البذرة : ويكون الغذاء المخزن في فلقتي البذرة أو في الإندوسبيرم ويتحلل بواسطة الأنزيمات ومن ثم يتحرك إلى الجنين.

إنقسام خلايا الجنين والنمو: وتبدأ هذه المرحلة بظهور الجذير من البذرة ونموه.

ولا تتأثر عملية التشرب كثيراً بالإجهاد المائي, أما تحليل الغذاء المدخر فيمكن أن يتباطأ في وجود الإجهاد وذلك نظراً للأثر السلبي للإجهاد على الأنزيمات المحللة, كما إن تشرب البذرة للماء في وجود مانع للإنبات مثل الأسموزية المرتفعة (بسبب الجفاف) يسمح بتحليل الغذاء المدخر لو بشكل جزئي دون أن يبدأ انقسام الخلايا والنمو, فإذا جفت البذرة عند هذه المرحلة فإنها تنبت بشكل أسرع عند تشربها مرة ثانية. (أبو جاد الله, 2010م).

7.1 تأثير الإجهاد المائي على إنقسام الخلايا :

يعتبر العامل الأساسي الثاني في نمو النبات بعد نمو الخلايا هو زيادة عدد الخلايا بالإنقسام الغير مباشر الذي يحدث بشكل أساسي في الأنسجة الإنشائية, وبعد انتهاء عملية الانقسام الغير مباشر تبدأ الخلية في التحضير للانقسام التالي فتدخل في طور النمو الأول, حيث تخلق البروتينات الضرورية لبناء البروتوبلاست ومن ثم يزداد حجمها ثم يبدأ طور تضاعف الـ DNA الذي يستغرق حوالي 50% من الوقت الإجمالي لدورة الخلية, وعند انتهاء هذا الطور يكون بالخلية ضعف كمية المادة الوراثية التي كانت بها في طور النمو الأول ثم تدخل الخلية في طور النمو الثاني حيث تخلق مزيداً من البروتينات وغيرها من مكونات الخلية, ولا تحتفظ جميع خلايا النبات بقدرتها على الإنقسام بل تقتصر عملية إنقسام الخلايا على الأنسجة الإنشائية ومن أهم العوامل التي تلعب دوراً أساسياً في تنظيم انقسام الخلية مجموعة من الإنزيمات تسمى الكاينيزات فهي ضرورية لعملية تضاعف DNA وكذلك لإتمام الانقسام الغير مباشر وهي تعتمد في نشاطها على بروتينات متخصصة تسمى السيكلينات, ولذلك تسمى الكاينيزات المعتمدة على السيكلينات (Cyclin

(Dependent kinases:CDKs) (أبو جاد الله, 2010م). إن الإجهاد المائي ربما يتحكم في معدل انقسام الخلايا من خلال تأثيره في الكاينيزات المعتمدة على السيكلينات (Schuppler,1998) ويتضح ذلك من خلال تأثير بعض الهرمونات التي تتراكم في حالة الإجهاد المائي مثل حمض الابسيسك , فالسيكلينات التي تنظم دورة الخلية بالتعاون مع الكاينيزات والتي تقلل من نشاطها بسبب بعض البروتينات التي تنشط بسبب تراكم هذا الحمض و تقوم بوظيفتها وهي تثبيط الكاينيزات وتسمى هذه البروتينات مثبطات الكاينيزات, وبالتالي يبطئ الإجهاد المائي من معدل إنقسام الخلية عن طريق تأثيره في حمض الابسيسك الذي بدوره يتحكم في مثبطات الإنقسام الخلوي (Wang, 1998). كذلك حمض الابسيسك يعيق عملية تضاعف المادة الوراثية مما يمنع الخلايا من الإنقسام إذا تعرضت له في نهاية طور نموها الأول قبل تضاعف المادة الوراثية (Swiatek,2002). وقد وجد أيضا أن تراكم هذا الحمض يؤدي إلى زيادة ROS, لا تغفل أيضا أنه قد يكون نقص الماء المتاح وقد الإمتلاء للخلايا هما السبب المباشر لانخفاض معدل انقسام الخلايا وبالتالي انخفاض معدل نمو النباتات المجهد والذي يظهر تأثيره خلال الدقائق أو بالأكثر الساعات الأولى من تعرض النبات للإجهاد ولكن متى ما إنتهى أو قل تأثير فقد الإمتلاء كعامل محدد للنمو فيبدأ بالتالي تأثير عوامل أخرى (أبو جاد الله, 2010م).

8.1 تأثير الإجهاد المائي على مراحل انقسامات الجذور:

في دراسة على تأثير الإجهاد المائي على معدل إنقسام خلايا جذور نبات الذرة لوحظ إنخفاض معدل إنقسام خلايا جذور النبات تحت تأثير إجهاد الجفاف وذلك بسبب تباطؤ النمو (Sack et.al., (1997) كذلك وجد كلاً من Pekol, et.al., (2016) (2015) Louali et.al., ذات النتيجة في دراسة على أنواع من نبات القمح Triticum بحيث توقف انقسام خلايا الجذر أثناء تعريض النبات للجفاف .

2. أهداف الدراسة:

1. زيادة مقاومة نبات الفول ضد ظروف الجفاف.
2. اختبار تأثير مستخلص البردقوش الغني بمضادات الأكسدة على مقاومة الجفاف.
3. التعرف على معدل الري المناسب لتنمية نبات الفول وكذلك تسجيل نقطة الجفاف تحت ظروف التجربة.
4. دراسة معدل انقسام الخلايا بعد وقبل المعاملة بمستخلص نبات البردقوش الغني بمضادات الأكسدة.
5. دراسة مدى جودة استخدام معاملة الغمر ام معاملة الري لبذور الفول المعاملة بعد ظهور المحصول .

الأهمية العلمية:

تتركز أهمية هذا البحث في دراسة إمكانية استخدام نباتات ذات صفات متناسبة مع ظروف المنطقة كمستخلصات لتحسين ومعالجة نبات ذات قيمة غذائية جيدة لكن ينقصه صفات تحمل الظروف القاسية كالجفاف والتي تمثلها المنطقة المراد تنميته بها.

3. المواد وطرق العمل

1.3 جمع العينات وتعقيم البذور:

تم استخدام بذور الفول من الأنواع المحلية الموجودة بالمدينة المنورة اختبار نبات الفول لضعف مقاومتها للجفاف أثناء نموه في اراضي المدينة المنورة فتم تعقيم بذور الفول في تركيز 5% من محلول هيبوكلورات الكالسيوم لمدة 10 دقائق في درجة حرارة الغرفة بعد ذلك غسلت بالماء المقطر 3مرات قبل الزراعة (Qari,2008) و كذلك جمع شتلات من نبات البردقوش من مزارع في المدينة بعد أن تم حصادها في شهر مارس وتم تجفيفها بتعريضها للتهوية بالمراوح المنزلية ثم طحنت واستخدمت لتحضير المستخلص النباتي أما التربة فقد تم خلط تربة زراعية ومحسن زراعي (بتموس) بنسبة 1:3 .

2.3 ظروف نمو النبات:

لتحديد ظروف النمو تم عمل تجربتين الأولى تجربة لتحديد سعة تشبع التربة ومن ثم تجربة مبدئية لتحديد كمية الري الملائمة للنمو وكمية الري التي تسبب الجفاف في ظروف عُرف النمو والتي استدلينا على نتائجها من خلال تأخر ظهور النبات لقلة الري وذلك مقارنة بالعينة الضابطة, وتم تسجيل النتائج بناء على الفترة الزمنية المنقضية حتى ظهور

بادرات النبات, بعد تحديد قيمة تشبع التربة والقيمة الضابطة والقيمة المسببة للجفاف تم تحضير بذور نبات فول معقمة وقمنا بنقع بذور الفول في ماء مقطر مدة 24 ساعة تم زراعتها في ظروف غرف النمو أما التجربة الثانية فقد أجريت على النباتات المعرضة للجفاف والتي تم فيها اعتماد طريقتين الأولى: غمر البذور بمختلف التراكيز من مستخلص البردقوش مدة 24 ساعة ومن ثم زراعتها في التربة وربها بالماء المقطر بالكمية المسببة للجفاف والتي تم الحصول عليها من التجربة المبدئية وهي 30مل.
أما الطريقة الثانية: يتم فيها زراعة البذور لكن تروى بالماء المقطر لمدة 3 أيام بنفس الكمية المسببة للجفاف والمتحصل عليها من التجربة المبدئية (30مل) ومن ثم تروى باقي فترة الزراعة بمستخلص نبات البردقوش 30مل وبشكل يومي لمدة 28 يوم .

3.3 التجربة المبدئية

تم ملئ 6 أصص بنفس الوزن السابق ولكن تم ري كل منها بكميات متفاوتة أقل من كمية العينة الضابطة وكانت كميات الري كالتالي: (20-30-40-50-60-120) مل ماء مقطر وتم زراعتها في غرف نمو مجهزه بالتهوية والإضاءة ورويت بشكل يومي لمدة اسبوعين وسجلت النتائج بناء على الفترة المنقضية حتى ظهور البادرات.

4.3 تحضير مستخلص نبات البردقوش *O. majorana*:

تم تحضير المستخلص بأخذ (5,10,15) جم من مسحوق أوراق نبات البردقوش المجففة وتوضع في دورق سعة 100 مل يحتوي على ماء مقطر درجة حرارته 50م ثم يخلط بخلاط كهربائي لمدة 15 دقيقة ثم ترشح بأوراق ترشيح و يعقم ويحفظ الراشح في الثلاجة لحين الاستعمال. (Ariana et. al., 2002)

5.3 حساب معدل نشاط مضادات الأكسدة في التراكيز المختلفة لمستخلص نبات البردقوش *O. majorana* المواد والادوات :

تحضير تراكيز مختلفة من مستخلص البردقوش (5جم/100مل) (10جم/100مل) و(15جم/100مل) جهاز الطيف الضوئي, مادة Tris-HCl buffer , مادة (DPPH), إيثانول, انابيب مناسبة, ماصات. الطريقة:

يتم تحضير الأنابيب ويضاف 200 مايكروليتر من كل تركيز لمستخلص نبات البردقوش ويخلط مع 800 مايكروليتر من محلول Tris-HCL buffer والذي تم تحضيره بإذابة 1.2جم في 100مل من الماء وذلك لتحضير 1مولار منه ,ثم يضاف 1مل من DPPH المذاب في إيثانول والذي تم تحضيره بإذابة 0.0009جم في 5مل من الإيثانول لتحضير 1مولار ثم تخلط محتويات الانابيب في جهاز Vortex ثم توضع في غرفة مظلمة. وتكون في درجة حرارة الغرفة بعد ذلك تقاس درجة الامتصاص بجهاز الطيف الضوئي عند طول موجي 517 نانومتر (Majid,R.et. al., 2012) ويتم الحساب بالعملية الحسابية التالية:

قيمة نشاط مضادات الأكسدة =

قيمة امتصاص العينة الضابطة - قيمة امتصاص المستخلص /جم

100*

قيمة امتصاص العينة الضابطة

6.3 تجربة الجفاف :

حضرت 24 اصيص بواقع 3مكررات لكل معاملة وملئت بالتربة بوزن 300 جرام تربة زراعية مخلوطة بمحسن زراعي بنسبة 1:3 لكل العينات المستخدمة (المعاملات) هي:

- 1- العينة (الضابطة الموجبة)
- 2- العينة المعرضة للجفاف(الضابطة السالبة)
- 3- عينة معاملة بالري بمستخلص البردقوش ذو تركيز 5جم/100مل
- 4- عينة معاملة بالري بمستخلص البردقوش ذو تركيز 10جم/100مل
- 5- عينة معاملة بالري بمستخلص البردقوش ذو تركيز 15جم/100مل
- 6- عينة معاملة بالغمر بمستخلص البردقوش ذو تركيز 5جم/100مل مدة 24 ساعة
- 7- عينة معاملة بالغمر بمستخلص البردقوش ذو تركيز 10جم/100مل مدة 24 ساعة
- 8- عينة معاملة بالغمر بمستخلص البردقوش ذو تركيز 15جم/100مل مدة 24 ساعة.

تم تعقيم البذور ووضعت 5 بذور لكل اصيص وتم ري العينة الضابطة والعينة المعرضة للجفاف بالماء المقطر. وذلك بالمعدل المتحصل عليه من التجارب المبدئية السابقة، أما العينات التي نعتت بالتراكيز المختلفة من مستخلص البردقوش فقد تم ريها مباشرة بعد زرعها في الاصيص بالماء المقطر بالمعدل التي تم ري العينات المعرضة للجفاف بها أما العينات التي اتبعت معها طريقة الري تم أولاً زراعتها بالتربة ثم ريها بالماء المقطر وبنفس المعدل المستخدم للعينة المعرضة للجفاف لمدة 5 ايام ثم تم ريها ببقية مدة التجربة بالتراكيز المختلفة من مستخلص البردقوش والمعمم مسبقاً بنفس معدل الري المتبع مع العينة المعرضة للجفاف وقد تم الري مدة 28 يوم.

7.3 دراسة الانقسامات في جذر نبات الفول *Vicia faba*:

المواد المستخدمة:
شرائح، غطاء شرائح، صبغة Aceto orcein جذور النبات محفوظة في محلول إيثانول 70%، محلول محلل 1N HCL حمض خليك ثلجي بتركيز 45%، حمام مائي، أوراق ترشيح، دبوس أو شفرات، كحول إيثيلي، المجهر الضوئي.
تحضير شرائح مجهرية لدراسة الانقسامات الغير مباشره لجذور العينات النباتية المستخدمة:
تم انبات البذور كلا في معاملته بالإضافة إلى العينة الضابطة لمدة تتراوح بين 3 إلى 5 أيام عند درجة حرارة الغرفة بحيث تصل أطوال الجذور النامية إلى 2.5-5 سم ومن ثم تستخدم قمة الجذور النامية للتجربة.
تم اعداد قطع بطول حوالي 1 سم من أطراف القمم النامية للجذور إما للاستخدام الفوري أو للاستخدام في وقت لاحق ثم نقلت الجذور إلى 70% كحول إيثيلي Ethyl alcohol وحفظت في ثلاجة لحين الاستعمال، يمكن حفظ هذه العينات بحالة جيدة لمدة تتراوح بين 2-3 سنوات.
تم قص قمة الجذور ووضعت في انبوبة مناسبة وأضيف إليها 3ملم إيثانول مع 1ملم من حمض خليك ثلجي ثم تركت لمدة 20-30 ساعة بغرض إيقاف عمل خيوط المغزل وتثبيت الانقسام عند الطور الاستوائي (Metaphase).
تم تقطيع الجذور النامية إلى أجزاء صغيرة (3-4مم) ووضعها في قليل من حمض الهيدروكلوريك مع حمض الخليك بتركيز 45% لمدة 12 دقيقة وذلك في حمام مائي، حتى تلين بحيث تنفصل الخلايا وتنبتس بفعل الحمض ويمكن اختبار طراوة الجذور بالضغط عليها بدبوس أو إبرة تشريح.
وضعت نقطة من صبغة Aceto orcein على شريحة مجهرية نظيفة وتنقل قطعة الجذر الطرية إلى الصبغة بواسطة ابرة أو ملقط.
تقطع قطعة الجذر إلى قطع صغيرة بواسطة دبوس أو شفرة حلقة صدئة إذ يتفاعل الحديد مع الصبغة ليعطي تحضيراً أفضل للخلايا.
تمت تغطيت الشريحة بغطاء نظيف وضعت الشريحة ما بين ورقتي ترشيح ويضغط بالإبهام خفيفاً على غطاء الشريحة لفصل الخلايا وفردتها وهذا ما يعرف بالهرس Squash، ثم تم فحص الشريحة تحت المجهر لمعاينة أجزاء الخلية وأطوار الانقسام وكذلك يتم حساب معامل الانقسام في الخلية من خلال العملية الحسابية التالية (ابوكشوة وآخرون، 2007):

$$\text{معامل انقسام الخلايا} = \frac{\text{مجموع الخلايا المنقسمة}}{\text{مجموع الخلايا الكلي}} \times 100^*$$

4. النتائج

1.4 التجربة المبدئية وتحديد افضل كمية لري النبات واقل كمية تسبب الذبول للنبات:

تم ملاحظة بداية الإنبات من اليوم الخامس للزراعة وذلك في كلاً من العينة التي رويت بمعدل 120 مل في حين تأخرت كلاً من العينة التي تم معاملتها بالري بمقدار (60-50) مل ماء مقطر إلى اليوم السادس حتى بدأ الإنبات كذلك لوحظ تأخر بفارق يومين في العينة التي تم معاملتها بالري بمقدار 40 مل عن سابقتها، أما العينة التي رويت بمقدار 30 مل فقد ظهر النمو بعد 11 يوم من الزراعة وكذلك التي تم معاملتها بالري بمقدار 20 مل فقد تأخرت في الإنبات حتى اليوم 12 من الزراعة كما هو موضح في الجدول (1.4).
ومن خلال ماسبق تم اعتماد الري للعينة الضابطة الموجبة بمقدار 120 مل والتي تشكل 90% من السعة الحقلية في حين سُجلت نقطة الجفاف عند 30% من السعة الحقلية ومن خلال ما سبق اعتمدنا في تجربة تعريض النبات للجفاف على الري بمقدار 30 مل ماء مقطر/مركز وسُجلت هذه القيمة كنقطة جفاف بناء على ظروف المعمل.

2.4 معدل النشاط الكلي لمضادات الأكسدة في مستخلص البردقوش *O. majorana*:
سُجّلت النتائج كما في جدول (2.4) وجدنا بأن قيمة نشاط مضادات الأكسدة تزيد بزيادة تركيز المستخلص .

3.4 النتائج الخاصة بالمحصول

1.3.4 نسبة الإنبات:

لوحظ من خلال متوسط معدل الإنبات في الشكل (1.3.4) زيادة في معدل الإنبات في النباتات المعاملة بالغمر بمستخلص البردقوش مقارنة بالعينات المعرضة للجفاف (العينة الضابطة السالبة) والذي بلغ 80 % فقد تم تسجيل أعلى معدل إنبات عند العينة المغمورة بتركيز 15 جم/100 مل من مستخلص البردقوش بحيث بلغ 93.99 % ثم تليها العينة التي تم ربيها بتركيز 15 جم/100 مل حيث بلغ معدل الإنبات 86.66 % ثم كلا من العينتين المعرضة للجفاف (الضابطة السالبة) والعينة المغمورة بتركيز 50 جم/مل واللذان سجلتا نفس القيمة 80 % ثم العينة التي تم ربيها بتركيز 5 جم/100 مل من البردقوش والتي سجلت 73.33 % ثم العينتين التي تم ربيها وغمرها بتركيز 10 جم/100 مل من البردقوش بحيث سجلت أعلى التوالي أقل معدل في الإنبات (60-66.6) % والشكل (3.4) يوضح نهاية المحصول بعد الزراعة.

4.4 دراسة أطوار انقسامات الجذور في نبات الفول المعامل بالتراكيز المختلفة من مستخلص نبات البردقوش *O. majorana*:

لوحظ من خلال شكل (4.4.ب) الجدول (4.4.أ) الذي يوضح معدل انقسام العينات ظهور جميع مراحل وأطوار الانقسام في العينة الضابطة الموجبة , بحيث بلغ معدل الانقسام في خلاياها 32.49 % , أما العينة المعرضة للجفاف (الضابطة السالبة) فقد توقف الانقسام فيها عند الطور البيئي بمعدل انقسام 25.82 % , والسبب في ذلك يعود الى ان الجذور تقاوم الجفاف من خلال إيقاف نمو قممها في حين ظهرت جميع اطوار الانقسام في جميع عينات الجذور المعاملة بالغمر او الري وسجلت معدلات انقسام فاقت العينة الضابطة الموجبة كما في الجدول (4.4) , فقد لوحظ معدل انقسام سريع لجذور عينة النباتات التي عوملت بالغمر بمستخلص البردقوش تركيز 5 جم/100 مل حيث بلغت 95 % مقارنة بالعينة الضابطة الموجبة التي بلغت 50 % هذا يدل على التأثير الايجابي للمضادات للأكسدة الموجودة في مستخلص البردقوش لانقسامات الجذور المعاملة بها وذلك مقارنة بجميع العينات تليها بذلك العينة المعاملة بالري بمستخلص البردقوش تركيز 15 جم/100 مل بمعدل انقسام 75 % تتبعا الأقل منها المعاملة بالري بتركيز 5 جم/100 مل بمعدل 73 % يليها العينة المعاملة بالغمر بتركيز 15 جم/100 مل بمعدل 65 % , ثم المعاملة بالغمر بتركيز 10 جم/100 مل بمعدل 58 % يتبعها المعاملة بالري تركيز 10 جم/100 مل بمعدل 53 % , مما سبق نلاحظ انخفاض في معدل انقسام النبات في حالة تعرضه للجفاف وتوقف النمو في الطور البيئي , أما في جذور النباتات المعاملة بالمستخلص (رياً وغمرأ) فقد لوحظ زيادة في معدلات الانقسام مع ظهور جميع مراحل الانقسام .

5. المناقشة

1.5 دراسة اطوار الانقسامات لجذور العينات:

1.1.5 دراسة الانقسامات تحت تأثير الجفاف

لاحظنا من خلال نتائج هذا البحث انخفاض في معدل انقسام النبات في حالة تعرضه للجفاف وتوقف النمو في الطور البيئي , أما في جذور النباتات المعاملة بالري والغمر فقد لوحظ زيادة في معدلات الانقسام مع ظهور جميع مراحل الانقسام .

وقد وافقت هذه النتائج كلاً من (Lecoeur et.al., (1995) Sack et.al., (1997) pekol et.al., (2016) والذين لاحظوا انخفاض معدل انقسام خلايا جذر نبات الذرة *Zea mays* وأنواع من القمح *Triticum aestivum* ونبات البازلاء *Pisum sativum* اثناء تعريضهم لإجهاد مائي ايضا توافقت النتائج مع نتائج كلاً من Louali, et. (2015) Reddy et.al., (2003) Reddy et.al., (2003) في معدل تمثيل مركبات النتروجين والذي بدوره قلل معدل انقسامات الخلايا نتيجة الإجهاد المائي مما أدى إلى تباطؤ النمو .

2.1.5 معالجة مضادات الأكسدة لجذور النبات المعرض للجفاف :

لاحظنا من خلال نتائج هذا البحث إنخفاض في معدل إنقسام النبات في حالة تعرضه للجفاف وتوقف النمو عند الطور البيئي. أما في جذور النباتات المعاملة بالري والغمر فقد لوحظ زيادة في معدلات الإنقسام مع ظهور جميع مراحل الإنقسام, وقد يعود السبب في ذلك إلى ان مضادات الأكسدة تزيد في حالات الإجهاد ويزداد نشاطها في النباتات المتحملة للإجهاد أكثر من المعرضة للإجهاد (Zheng et. al., 2008 , Azevedo et.al., 2011) وكلما زاد تركيز مضادات الأكسدة فإنها تُظهر مزيداً من المقاومة ضد الأضرار الناجمة عن الإجهاد المائي (Meloni and Martinez, 2009) فهي تعمل كمواد كاتسة للجذيرات الحرة الناجمة من الإجهاد المائي والذي يؤثر على التحولات الغذائية المضطربة والذي ينتج عنه (ROS) (Athar et. al., 2008) ما سبق متوافق مع دراسة شفيق وعبدالجليل (2010م) بحيث لوحظ زيادة في معدل إنقسام الخلايا بعد المعاملة بمستخلص نبات لسان الحمل والغني بمضادات الأكسدة على الخلايا الليمفاوية البشرية كذلك وافق دراسة (Akinboro et.al., 2011) معاملة البصل بمستخلص نبات (Houtt) (fragrans) الغني بمضادات الأكسدة بعد تعريضه لمادة (cyclophosphamide) والمنسببة في حدوث شذوذ للكروموسومات فقد لوحظ اختفاء الشذوذ عن الكروموسومات بعد معاملتها بالمستخلص النباتي. ولترابط نتائج هذه الدراسة والمتوافقة مع عدة دراسات .. فإن الاسباب المؤدية للنتائج المتحصل عليها من خلال دراستنا هذه فإننا نختصر تفسيرنا لها في النقطتين التالية:

1. أساس المحصول الجيد بذرة محتواها من المواد الغذائية .
 2. إن نبات البردقوش كمستخلص مائي يعطي توازن للهرمونات في النبات .
- أما تفصيلاً فنحن نعلم أن البذرة في طور الإنبات تمر بثلاث مراحل :

1- مرحلة التشرب :

في هذه المرحلة تمتص البذرة الماء من الوسط المحيط بها متى أصبح متاح معتمدة على قوى التشرب (وهي نوع من أنواع الإنتشار وهي عبارة عن امتصاص الماء على السطوح الجافة مثل البذور) يصاحب التشرب انتفاخ البذور مع انطلاق طاقة في صورة حرارة, وحتى لو الجهد المائي للوسط الخارجي منخفض فإن البذرة يمكنها ان تمتص الماء نظراً لأن محتواها المائي قليل بما يضمن لها جهد مائي منخفض. والبذرة لا تتأثر بالإجهاد المائي في هذه المرحلة

2- تحليل المواد الغذائية في داخل الفلقات وذلك بواسطة الانزيمات المحللة :

من المعروف أن اجنة البذور تعتبر مصدر هام لإنتاج الهرمونات النباتية وفي هذه المرحلة تتأثر البذرة بالإجهاد المائي المتمثل بالوسط المحيط فيرتفع معدل هرمون الابسيسيك نتيجة نقص الماء وبارتفاع هذا الهرمون وتراكمه تنشئ الجذيرات الحرة خاصة Ros وكذلك نتيجة تراكم هذا الهرمون تنشئ بروتينات لها القدرة على تثبيط الكاينزات (والتي لها دور في عملية تضاعف الحمض النووي واتمام الانقسام الغير مباشر وهي تعتمد في نشاطها على بروتينات متخصصة تسمى السيكلينات ولذلك تسمى الكاينزات المعتمدة على السيكلينات) وبثبيطها يقف عملية الإنقسام ويتوقف تضاعف المادة الوراثية كما حصل في نبات هذه الدراسة الذي توقف الإنقسام فيه في الطور البيئي والذي تمر الخلية فيه ب3 مراحل

وهي 1- مرحلة النمو الاول (1) Gap : يحدث فيها تكوين العضيات وإصلاح الانسجة التالفة, 2- مرحلة تصنيع الحمض النووي (S): يتم فيها تضاعف الحمض النووي ويتكون الكروموسوم بمنطقة السنتروميير - في هذه المرحلة يقف النبات المعرض للجفاف -3 مرحلة نمو ثانية (2) Gap: يتم فيها بناء البروتينات الاساسية لإنقسام الخلية وتصنيع أنواع من RNA , ايضا هرمون الابسيسيك له دور في اغلاق الثغور مما يؤثر على عملية البناء الضوئي فتقل وينخفض معدل تكوين الكلورفيل, كما يعمل هذا الهرمون على تثبيط تخليق إنزيمات تحليل البروتينات - لذلك حصل تراكم للبروتين في النباتات المعرضة للجفاف - والريبونوكليوتيدات وربما جميع إنزيمات التحلل المائي والتي يشجع تكوينها حمض الجبريلين (الذي ينشئ من نفس منشئ حمض الابسيسيك وهو حمض الميفالونك في البذرة) وهذا يوضح التوازن الهرموني الذي ذكرناه سابقاً فبارتفاع هرمون الابسيسيك ينخفض معدل تكوين هرمون الجبريلين رغم اشتراكهما في المنشئ .

3- إنقسام خلايا الجنين والنمو .

هذا فيما يخص تفسيرنا لما يحصل في البذرة اثناء تعرضها للجفاف .. اما ما يحصل للبذرة بعد معاملتها بمستخلص البردقوش الغني بمضادات الأكسدة خاصة مركبات الفينول

فإن البذرة كما ذكرنا تمر بثلاث مراحل التشرب ومن ثم تحليل المواد الغذائية واخيراً إنقسام الجنين والنمو.

اما مرحلة التشرب فإننا نغمر البذور في مستخلص البردقوش مدة 24 ساعة فتتشرب البذور محتوى المستخلص المائي للبردقوش بما في ذلك مضادات الأكسدة (مركبات الفينول) والتي تخزن في اغلفة البذور وبعد انتفاخ البذور توضع في

وسط جاف (إجهاد مائي) ثم تبدأ مرحلة تحليل المواد الغذائية هنا لا يتكون حمض الابسيسك رغم وجود الوسط الجاف لكن ينشط حمض الجبريلين بتنشيط من مركبات الفينول -والتي تنقسم الى ثلاث انواع بناءً على محتواها من مجاميع الهيدوكسيل: فهناك فينولات احادية الهيدروكسيل ودورها فقط التثبيط وفينولات ثنائية وفينولات ثلاثية او قد تسمى متعددة وهاتان الاخيرتان لهما دور منشط - عندما ينشط ويتراكم هرمون الجبريلين يحفز تكوين الإنزيمات المحللة للمواد الغذائية ومن المعروف ان محتوى البذرة من البروتين عالي فعند تحليل الانزيمات للبروتين يتكون حمض التربتوفان والذي يتحول الى الاوكسين في وجود حمض الجبريلين , والاوكسين له دور في إستطالة الجذور وتكوين البروتينات وذلك من خلال إكسابة المرونة لجدار الخلايا , نعود لحمض الجبريلين المسؤول عن استطالة النبات وكذلك مسؤول عن فتح الثغور وبالتالي زيادة عملية البناء الضوئي وتكوين الكلورفيل كما انه بشكل عام يعمل هرمون الجبريلين عكس عمل هرمون الابسيسك بحيث تستمر الانقسامات في الجذر بسبب عدم تواجد هرمون الابسيسك كما ان الجبريلين ينشط تخليق الحمض النووي, كذلك ينشط تخليق إنزيمات تحليل البروتينات ولذلك لاحظنا قلة تراكم البروتين مع زيادة تركيز المستخلص المعامل به البذور المغمورة وذلك عكس البذور المعاملة بالري والتي قد يكون سبب عدم استفادتها من محتوى المستخلص التي رويت به هو احتفاظ التربة بهذا المستخلص فيما بين فراغاتها البيئية (ابوجاد الله, 2010م) (صقر, د.ت).

الاستنتاجات

- قدرة نبات الفول الخاضع لظروف التجربة على مقاومة الجفاف والنمو بإرتفاع اكثر وزيادة في عدد الاوراق بعد غمر بذوره بتركيز مختلفة من مستخلص نبات البردقوش خاصة بتركيز 15جم/100مل.
- قدرة النبات على زيادة معدل إنقسام خلاياه بعد توقفها اثناء تعريضه للجفاف , وذلك بعد معاملته بمستخلص نبات البردقوش استعاد قدرته على الانقسام مجدداً.
- افضلية المعاملة بالغمر لبذور نبات الفول على المعاملة بالري .

التوصيات

- من خلال نتائج هذه الدراسة يمكن ان نوصي بالتالي:
- بغمر بذور نبات الفول بتركيزات مرتفعة من مستخلص نبات البردقوش لتمكينه من مقاومة اجهاد الجفاف في البيئات الجافة وذلك لما وجدنا من تأثيره الايجابي على النواحي الفسيولوجية والمورفولوجية والوراثية .
 - بتطبيق التجربة على نباتات اخرى لتأكد من تأثير مضادات الاكسدة في نبات البردقوش على اصناف اخرى.

الجداول والاشكال

جدول (1)
ميزان المياه الوطني للمملكة العربية السعودية (مليون متر مكعب)

النسبة %	الكمية المستهلكة	البيان
10,36	2100	الأغراض البلدية
3,15	640	الأغراض الصناعية
86,48	17530	الأغراض الزراعية
100	20270	إجمالي الطلب على المياه

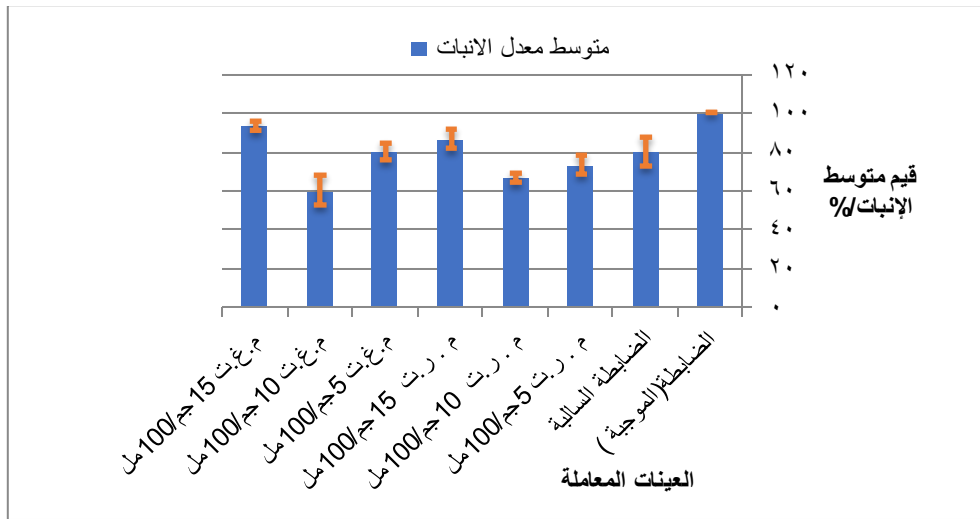
(وزارة المياه والكهرباء - شؤون المياه للعام المالي 2001 / 2002) (الحميد, 2012م)

جدول (4.1)
الفترة المنقضية حتى الإنبات اثناء الري بمعدلات مختلفة من الماء المقطر

العينات	الاولى	الثانية	الثالثة	الرابعة	الخامسة	السادسة
كمية الري/مل	120	60	50	40	30	20
نسبة التشبع%	90	(80-70)	(50-60)	40	30	20
الفترة المنقضية حتى ظهور البادرات/ايام	5	6	6	8	11	12

جدول (2.4)
علاقة نشاط مضادات الأكسدة بزيادة تركيز المستخلص لنبات البردقوش O.majorana

العينات (تراكيز مختلفة من مستخلص نبات البردقوش بالإضافة الى العينة الضابطة)	العينة الضابطة	تركيز 50جم/ مل	تركيز 100جم/مل	تركيز 150جم/مل
قيمة نشاط مضادات الأكسدة	صفر	52.39	57.53	58.67



شكل (1.3.4) معدل انبات البذور خلال فترة الزراعة

- * م.ر.ت = معاملة بالري بمستخلص نبات البردقوش بتركيز (5-10-15) جم/100 مل.
- * م.ر.ت = معاملة بالغمر بمستخلص نبات البردقوش بتركيز (5-10-15) جم/100 مل.

شكل (3.4) توضح الشكل الظاهري للنباتات بمختلف المعاملات:



(ب)-العينة الضابطة السالبة (معرضة للجفاف)



(أ)-العينة الضابطة الموجبة



(د)-العينة المغمور بذورها بمستخلص البردقوش بتركيز 10جم/100مل



(ج)-العينة المغمور بذورها في مستخلص تركيز 5جم/100مل



(ي)-العينة معاملة بالري بمستخلص تركيز
15جم/100مل



(هـ)-العينة المغمور بذورها بمستخلص
البردقوش تركيزه 15جم/100مل



(ع)-العينة معاملة بالري بمستخلص
تركيزه 10جم/100مل



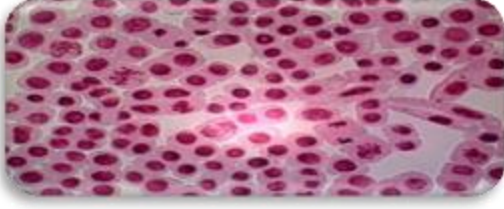
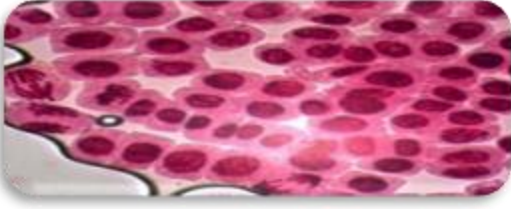
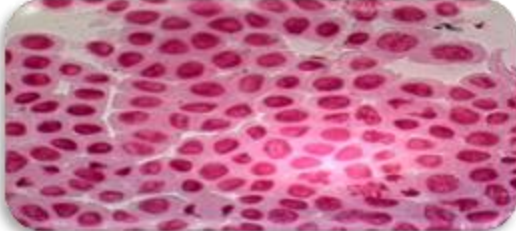
(ط)-العينة معاملة بالري بمستخلص
تركيز 5جم/100مل

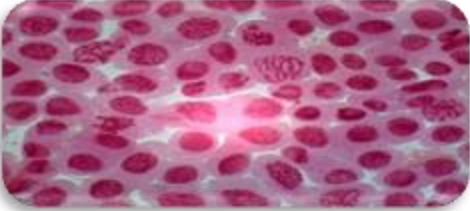
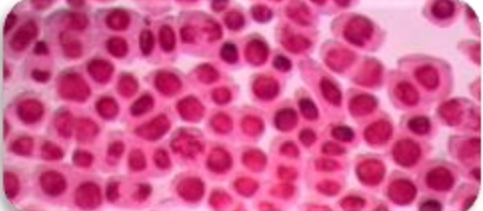
جدول (4.4-أ) يوضح قيم معامل الإنقسام (MI) لعينات الجذور

العينة	معامل الإنقسام MI (%)
الضابطة (الموجبة)	50.2
الضابطة السالبة (المعرضة للجفاف)	25.83
معاملة بالغمر بتركيز 5 جم/100 مل من مستخلص البردقوش	95.92
معاملة بالغمر بتركيز 10 جم/100 مل من مستخلص البردقوش	58.69
معاملة بالغمر بتركيز 15 جم/100 مل من مستخلص البردقوش	65.67
معاملة بالري بتركيز 5 جم/100 مل من مستخلص البردقوش	73.81
معاملة بالري بتركيز 10 جم/100 مل من مستخلص البردقوش	53.38
معاملة بالري بتركيز 15 جم/100 مل من مستخلص البردقوش	75.85

جدول لشكل (4.4-ب) الإنقسامات في جذور النباتات المعاملة بمستخلص البردقوش والعينات الضابطة والمعرضة للجفاف تحت المجهر الضوئي باستخدام قوة تكبير 40

العينة	شكل العينة تحت المجهر الضوئي
اطوار إنقسامات جذر العينة الضابطة	
اطوار إنقسامات جذر العينة المعرضة للجفاف	

	اطوار إنقسامات جذر العينة المعاملة بالري تركيز 5جم/100مل
	اطوار إنقسامات جذر العينة المعاملة بالري تركيز 10جم/100مل
	اطوار إنقسامات جذر العينة المعاملة بالري تركيز 15جم/100مل

شكل العينة تحت المجهر الضوئي	العينة
	اطوار إنقسامات جذر العينة المعاملة بالغمر تركيز 5جم/100مل
	اطوار إنقسامات جذر العينة المعاملة بالغمر تركيز 10جم/100مل



المراجع

1. ابو كوشة, سمية محمد, كمبال, محمد احمد (2007م) دليل التدريبات المعملية في علم الوراثة جامعة الخرطوم.
2. ابوجاد الله, جابر مختار (2010م) فسيولوجيا وبيولوجيا النبات الجزيئية أثناء الاجهاد المائي. جامعة دمياط مصر.
3. السامرائي, سوّدد عبدالاله, عبد الكريم, هشام محمود, عباس, ايمان حسين, جاسم, كفاح احمد, عبود, شيماء سعدي, سليم, سهاد دعير (2014م) دراسة تأثير المستخلص المائي لنبات البردقوش ضد بكتريا الكوليرا والسالمونيلا, مجلة بغداد للعلوم, المجلد (11) العدد (1).
4. صقر, محب طه (د.ت) منظمات النمو والازهار, كلية الزراعة, جامعة المنصورة.
5. شفيق, شذى علي, عبدالجليل, رغد ضياء (2010م) تأثير المستخلص الخام لأوراق نبات لسان الحمل *Plantago major* في وراثية الخلايا الليمفاوية البشرية, المجلة العراقية للعلوم, المجلد 51, العدد (3), ص 360.
6. طه, احمد طاييس, محمود, معد عبد الكريم, سعيد, جميل محمد (2011م) تأثير استخدام مستويات مختلفة من مسحوق نبات البردقوش على بعض الصفات الانتاجية والفسلجية لفروج اللحم نوع روز المرابي تحت ظروف الاجهاد الحراري, مجلة ديالى للعلوم الزراعية 3 (2) الصفحات: 49-59.
7. Akinboro, A. Mohamed, KB. Asmawi, MZ. Sulaiman, SF. Sofiman, OA. (2011). Antioxidants in aqueous extract of *Myristica fragrans* (Houtt.) suppress mitosis and cyclophosphamide-induced chromosomal aberrations in *Allium cepa* L. cells J Zhejiang Univ Sci B (Biomedicine & Biotechnology) 12 .915–922.
8. Ariana, A. Ebadi, R. Tahmasebi, G . (2002). Laboratory evaluation of some plant essences to control varroa destructor. Acari: Varroidae. Amsterdam: Vol. 27. 319
9. Athar, HR. Khan, A. Ashraf, M . (2008) . Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt-induced oxidative stress in wheat. Environ Exp Bot. 63 .224-231.
10. Azevedo, RA. Carvalho, RF. Cia, MC. Gratao, PL . (2011). Sugarcane under pressure: an overview of biochemical and physiological studies of abiotic stress . Tropical Plant Biol. 4 .42-51.
11. Baatour, O. Mahmoudi, H. Tarchoun, I. Nasri, N. Trabelsi, N. Kaddour, R. Zaghdoudi, M. Hamdawi, G. Ksouri, R. Lachaâl, M. Marzouk, B. (2012). Salt effect on phenolics and antioxidant activities of Tunisian and Canadian sweet marjoram (*Origanum majorana* L.) shoots. pubmed. 15; 93 (1) 134-41.
12. Chatterjee, S. Zareena Niaz, S. Gautam, Soumyakanti Adhikari, Prasad S. Variyar Arun Sharma. (2007) . Antioxidant activity of some phenolic constituents from green pepper (*Piper nigrum* L.) and fresh nutmeg mace (*Myristica fragrans*). Food Chem. 101 . 515-523.
13. Elansary, H.O. Skalicka-Wozniak, K. King, I.W . (2016) . Enhancing stress growth traits as well as phytochemical and antioxidant contents of *Spiraea* and *Pittosporum* under seaweed extract treatments. pubmed. 105.310-20.
14. Lecoer, J. Wery, J. Turc, O. Tardieu, F . (1995) . Expansion of pea leaves subjected to short water deficit: cell number and cell size are sensitive to stress at different periods of leaf development. J Exp Bot. 46.1093-1101.

15. Louali, Y. Belbekri, N. Bouldje, R. Ykhlef, N. Djekoun, A. (2015). Effect of Gamma irradiation on morphological, biochemical, physiological character and cytological studies, of durum wheat mutants. *International Journal of Advanced Research*. Volume 3, Issue 10, 246 – 256.
16. Majid, R. Ahmad, L. Zargar M. A. (2012). Antioxidant screening of ethanolic and aqueous extracts of *Organum vulgare L.* in-vitro. *African Journal of Biochemistry Research*. Vol. 6(13). 165-171.
17. Me Ioni, D.A. Martínez, C.A. (2009). Glycinebetaine improves salt tolerance in vinal (*Prosopis ruscifolia* Griesbach) seedlings. *Braz. J. Plant Physiol.* 21.233–241.
18. Milos M. Mila Juki Olivera Politeo, and Mladen Milo. (2000). Chemical composition and antioxidant effect of glycosidically bound volatile compounds from oregano (*Origanum vulgare L. ssp. Hirtum*, Faculty of Chemical Technology, Department of Organic Chemistry, University of Split. Teslina 10/V, 21000 Split, Croatia.
19. Pekol, S. Balolu, M.C. Altunoglu, Y.C. (2016). Evaluation of genotoxic and cytologic effects of environmental stress in wheat species with different ploidy levels. *Turkish Journal of Biology*. 40: 580-588.
20. Qari, S. (2008). In vitro evaluation of the anti-mutagenic effect of *Origanum majorana* extract on the meristematic root cells of *Vicia faba*. *JTUSCI*. Taibah university. 1: 6-1.
21. Reddy, T.Y. Reddy, V.R. Anbumozhi, V. (2003). Physiological responses of groundnut (*Arachis hypogaea L.*) to drought stress and its amelioration: A critical review. *Plant Growth Regul.* 41:75-78
22. Sacks, M.M. Silk, W.K. Burman, P. (1997). Effect of water stress on cortical cell division rates within the apical meristem of primary roots of maize. *Plant Physiology*. 114, 519-527.
23. Saxena, D. Jayant, S. Soni, K. Neekhara, K. (2016). *Origanum Majorana*: A POTENTIAL HERB FOR FUNCTIONAL FOOD, *E JPMR*: 3294-3211.
24. Schuppler, U. He, P.H. John, P.C. Munns, R. (1998). Effect of water stress on cell division and cell-division-cycle 2-like cell-cycle kinase activity in wheat leaves. *Plant Physiology* 117: 667–678
25. Swiatek, A. Lenjou, M. Bockstaele, D.V. Inze, D. Onckelen, H.V. (2002). Differential effect of jasmonic acid and abscisic acid on cell cycle progression in tobacco BY-2 cells. *Plant Physiology* 128: 201–211.
26. Wang, H. Qi Q, Schorr, P. Cutler, A.J. Crosby, W.L. Fowke, L.C. (1998). ICK1, a cyclin-dependent protein kinase inhibitor from *Arabidopsis thaliana* interacts with both Cdc2a and CycD3, and its expression is induced by abscisic acid. *Plant Journal* 15: 501
27. Zheng, B.Y. Shi LJ, Ma YT, Deng, Q.Y. Li BG, Guo, Y. (2008). Comparison of architecture among different cultivars of hybrid rice using a spatial light model based on 3D digitising. *Functional Plant Biology* 35 :900–910.