نمو نبيتات العنب كمؤشر لتحملها للاجهاد الملحي خارج الجسم الحي

مسلم عبد علي عبدالحسين احمد حمزه هاشم

قسم البستنة وهندسة الحدائق / كلية الزراعة/ جامعة الكوفة/ العراق

الملخص

نفذت التجربة لأختبار تحمل ثلاثة أصناف من العنب الأوربي عديمة البذور هي Crimson seedless و Princess و Summer Royal) للاجهاد الملحي خارج الجسم الحي بدلالة تأثير ملح NaCl في مؤشرات نمو النبيتات لأنتخاب الصنف الأكثر تحملاً للملوحة . زرعت النبيتات الناتجة من زراعة الانسجة في وسط MS السائل المزود ب 5 تراكيز من NaCl (0 ، 50 ،100 ، 150 ، 200) ملي مول لمدة 21 يوم ، حسبت بعدها النسبة المئوية لبقاء النبيتات على قيد الحياة ودرجة التضرر ومعدل عدد الاوراق والوزن الجاف للمجموع الخضري والمجموع الجذري بأعتبارها مؤشرات نمو. اثرت الملوحة معنويا في التقليل من النسبة المئوية لبقاء النبيتات على قيد الحياة وإنخفاض مؤشرات النمو الخضري والجذري للنبيتات (عدد الأوراق والوزن الجاف للمجموع الخضري والمجموع الجذري) كما ازدادت درجة تضرر النبيتات عند زيادة تركيز ملح كلوريد الصوديوم في وسط النموالى 200 ملي مول. ظهر تباين في استجابة اصناف العنب لاضافة ملح كلوريد الصوديوم الى وسط النمو ، أذ تفوق الصنف Crimson seedless معنوياً على باقي الأصناف المدروسة في معظم الصفات قيد الدراسة (المظهرية) مع ملاحظة أنعدام الفروق المعنوية بينه وبين الصنف Summer Royal في النسبة المئوية لبقاء النبيتات على قيد الحياة ودرجة التضرر والوزن الجاف للمجموع الجذري وكان اقلها قيما صنف Princess .أظهرت نتائج التداخلات بين تركيز ملح كلوريد الصوديوم والأصناف وجود أختلافات معنوية في الصفات المدروسة أذ تفوقت نبيتات معاملة التداخل بين التركيز 0 ملي مول و الصنف Crimson seedless على بقية التداخلات في النسبة المئوية لبقاء النيتات على قيد الحياة ومعدل عدد الأوراق والوزن الجاف للمجموع الخضري والوزن الجاف للمجموع الجذري وأقل درجة تضرر ، بينما سجلت أقل القيم في نبيتات معاملة التداخل بين (التركيز 200 ملي مول) و(الأصناف Crimson seedless و Princess و Summer Royal) في النسبة المئوية لبقاء النبيتات على قيد الحياة ومعدل عدد الأوراق والوزن الجاف للمجموع الخضري والوزن الجاف للمجموع الجذري .

Grape plantlets growth as indicators for tolerance of salt stress in vitro

Muslim A.A. Abdulhussein Ahmed Hamza Hashim

Department of Horticulture. Faculty of Agriculture. University of Kufa

Abstract

An experiment was carried out test salt tolerance of three grape (*Vitis vinifera* L.) seedless cultivars (Crimson seedless , Princess and Summer Royal) *in vitro* , according to effects of NaCl on plantlets growth indicators for the selection of the most salt-tolerant cultivar . Plantlets were cultured in liquid MS medium provided with 5 concentrations of NaCl (0, 50, 100 .150 and 200) mM for 21 days in culture room. At the end of experiment ,growth indicatars plantlets survival percentage, plantlets damage index , number of leaves , plantlets dry weight, and root dry weight system were calculated . Adding sodium chloride to

*البحث جزء من رسالة ماجستير للباحث الثاني

ISSN 2072-3875

the growth medium caused reducing the plantlets survival percentage, vegetative and root growth indicators (average number of leaves , plantlets dry weight, and root dry weight system,) and increasing the degree of plantlets damage with increasing the concentration of sodium chloride salt in growth medium up to 200 mM. There were a significant differences in response of grape cultivars the addition of sodium chloride salt to growth medium. Results showed that Crimson seedless and Summer Royal were more salt tolerant compared with Princess. No significant differences were noted between Crimson seedless and Summer Royal in survival percentage , degree of plantlets damage and root dry weight .There were a significant differences between interaction treatments in which Crimson seedless plantlets grown in free NaCl medium gave higher values in the Survival percentage of plantlets, average number of leaves , plantlets dry weight, and root dry weight, and less degree damaged , while the lowest values were in the plantlets of interaction treatments between (200 mM and Crimson seedless , Princess and Summer Royal) in the survival percentage of plantlets, number of leaves , shoot dry weight , root dry weight .

Key Words : grape plantlets , invitro , salt stress

المقدمة

العنب *Vitis vinifera* L. من العائلة العنبية Vitaceae ينمو في أماكن عدة من العالم تحت مدى واسع من الظروف البيئية المختلفة في المناطق تحت الاستوائية والمعتدلة الدافئة والمعتدلة الباردة حسب الصنف وتقدر المساحة المثمرة في الدول العربية ب313.93 ألف هكتار وتقدر اشجار العنب المثمرة في العراق ب 10597.00 ألف شجرة ويبلغ انتاجها الكلي 242.00 ألف طن(المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، 2013) . تعود الأهمية الاقتصادية للعنب لمردوده الاقتصادي الكبير واستمراره في الإثمار لعشرات السنين أضافة الى القيمة الغذائية العالية إذ تحتوي الثمار على السكريات والفيتامينات والأحماض العضوية والأملاح المعدنية والبروتينات والدهون وغيرها (Hudson وآخرون ، 2007) .

تؤثر الملوحة تؤثر في جوانب عديدة منها اختزال النمو وتضرر انظمة البناء الضوئي (الكلوروفيل والكاروتينات) وتركيب اغشية الكرانا في البلاستيدات الخضراء وتعطيل سلسلة نقل الالكترونات بسبب الانتاج المفرط للانواع الأوكسجينية الفعالة ROS (Eraslan واخرون ، 2008) . وتعد الأعناب من النباتات المتوسطة الحساسية للملوحة اذ تظهر أعراض التأثير السمي عليها عند تجاوز الملوحة 1.5 ديسي سيمنز/ م وأن زيادة الملوحة الى 2.5 و 4.1 و 6.7 ديسي سيمنز/ م في التربة تؤدي إلى خفض انتاج العنب بنسبة 10 و 25 و 50 % على الترتيب (Bischoff ،1999). ومن خلال الدراسات التي اجريت حول تاثير الملوحة في نمو الاصناف المختلفة للاعناب تبين اختلاف تحمل الاصناف والاصول التابعة لها فيما بينها في التحمل للمستويات العالية لملح كلوريد الصوديوم ومنها دراسة (Walker وآخرون ،2007) و (Stevens وآخرون ، 2008)و (الدهيماوي ،2009) و (Corso وBonghi ، 2014) .

استعملت تقنيات الزراعة خارج الجسم الحي في دراسة ميكانيكية وفسلجة التحمل للملوحة وتقويم الاصناف العائدة للعديد من النباتات الزراعية لما توفره هذه التقنيات من وسط نمو متجانس من حيث المحتوى الملحي والظروف البيئية وسرعة الحصول على النتائج (Rai و آخرون ، 2011).واستعملت في العراق تقنيات زراعة الأنسجة النباتية خارج الجسم الحي في تقييم تحمل أشجار الفاكهة المختلفة للإجهاد الملحي ومنها تقنية زراعة الكالس وزراعة البراعم والأفرع المتضاعفة في أوساط غذائية ذات مستويات ملحية مختلفة من كلوريد الصوديوم NaCl ونظراً لما تلعبة وجود الجذور على الافرع من دور مهم في فهم فسلجة تحمل النبات للملوحة ولتقريب النتائج المستحصلة عليها الى النباتات المختبرة بالحقل ارتاينا اجراء التقييم لتحمل الملوحة في مرحلة النبيتات الناتجة من زراعة الانسجة لثلاثة اصناف من العنب هي Crimson seedless و Princess و Summer Royal من خلال دراسة تاثير الملوحة في مؤشرات نمو النبيتات .

ISSN 2072-3875

المواد وطرائق العمل

نفذ البحث في مختبر زراعة الأنسجة النباتية التابع لقسم البستنة وهندسة الحدائق - كلية الزراعة - جامعة الكوفة خلال المدة من نيسان 2014 الى نيسان 2015 ، وتضمن انتاج النبيتات لثلاثة أصناف من العنب (Crimson seedless و Princess و royal Summer) تم الحصول عليها من محطة البستنة في المحاويل التابعة للشركة العامة للبستنة والغابات – وزارة الزراعة ، من زراعة البراعم الجانبية لها خارج الجسم الحي ومضاعفة الافرع وتجذيرها وصولا الى انتاج النبيتات

تم زراعة النبيتات في أنابيب زجاجية تحتوي على 10 مل لكل أنبوبة من الوسط الغذائي MS السائل مضافا اليه خمسة تراكيز ملحية من ال NaCl وهي (200,150,100,50,0) ملي مول وبواقع 20 نبيتة لكل معاملة ولكل صنف .وحضنت النبيتات لمدة ثلاثة اسابيع في غرفة النمو على درجة حرارة 25±2°م وشدة إضاءة 1000 لوكس مدة 16 ساعة / يوم .

نفذ البحث بوصفه تجربة عاملية باستعمال التصميم العشوائي الكامل وبعاملين (3 اصناف x 5 تراكيز ملح كلوريد الصوديوم) (Compton ،1996) . وبواقع 20 تكرار للمعاملة الواحدة. وتم إستعمال نظام التحليل الإحصائي الجاهز جنستات تحت نظام تشغيل الحاسوب الآلي Windows لإجراء التحليلات الإحصائية . وتمت مقارنة المتوسطات باستعمال إختبار دنكن Duncan test عند مستوى احتمال 0.05 لإختبار الفروق المعنوية بين المتوسطات . في نهاية مدة التحضين تم أخذ القياسات الآتية :

النسبة المئوية لبقاء النبيتات على قيد الحياة

حسبت على أساس النسبة المئوية للنبيتات المستمرة في الحياة في نهاية مدة التعريض للتراكيز المختلفة من ملح NaCl على وفق المعادلة الاتية :

$$\text{النسبة المئوية لبقاء النبيتات} = \frac{\text{عدد النبيتات المستمرة في الحياة}}{\text{العدد الكلي للنبيتات المزروعة}} \times 100$$

درجة تضرر النبيتات

حسبت على وفق المقياس المقترح من قبل (Sivritepe و Eris ، 1999)الذي تنحصر درجاته بين (0 و3 درجة) لحالة الزروعات المعرضة للتراكيز المختلفة من ملح NaCl في نهاية مدة التحضين وعلى أساس إعطاء الدرجة المقابلة لكل حالة من الحالات الاتية الموضحة في جدول 1 .

معدل عدد الأوراق /نبيته

حسبت أعداد الأوراق لكل نبيته لكل مكرر.

الوزن الجاف للمجموع الخضري (ملغم)

قيست بعد تجفيف المجموع الخضري (بأخذ 10 تكرارات) في فرن التجفيف الكهربائي oven عند درجة حرارة مقدارها 65 مْ لحين ثبوت الوزن .

الوزن الجاف للمجموع الجذري(ملغم)

قيست بعد تجفيف الجذور (بأخذ 10 تكرارات) في فرن التجفيف الكهربائي oven عند درجة حرارة مقدارها 65 مْ لحين ثبوت الوزن .

جدول 1 – مقياس درجة تضرر النبيتات النامية في وسط مزود بتراكيز من ملح كلوريد الصوديوم

حالة الزروعات	درجة التضرر
الزروعات سليمة لاتوجد أضرار عليها	0
وجود ضرر على الزروعات في قمة افرعها او حافة اوراقها على هيئة تلون برونزي مسمر	1
وجود اثار احتراق في الورقة او اجزاء اخرى من الافرع المتضاعفة	2
الموت الكامل للزروعات	3

ISSN 2072-3875

النتائج والمناقشة

النسبة المئوية لبقاء النبيتات على قيد الحياة

تشير نتائج جدول (1) أن النسبة المئوية لبقاء النبيتات على قيد الحياة خارج الجسم الحي قد أنخفضت بزيادة التراكيز الملحية حيث بلغت أقل نسبة مئوية لبقاء النبيتات على قيد الحياة 13.33 % عند التركيز الملحي (200ملي مول) قياساً ببقية المعاملات التي تفوقت عليها معنوياً في حين بلغت أعلى نسبة مئوية لبقاء النبيتات على قيد الحياة 100.00%في الوسط الخالي من الملح ولم تختلف معنوياًعن معاملة (التركيز الملحي 50ملي مول) وأختلفت معنوياً عن باقي المعاملات. تتفق هذه النتائج مع ما (Cavagnaroوآخرون،2006) و(الدهيماوي ،2009) و (Alizadeh وآخرون ،2010) في العنب و (Chatzissavvidis واخرون ،2014) و(عيسى ،2015) في الحمضيات الذين وجدوا أنخفاضا في النسبة المئوية للبقاء على قيد الحياة للزروعات النسيجية مع زيادة تركيز الملح في الوسط الغذائي المجهز به .

وقد يعود ذلك الى تأثيرات الملوحة المباشرة وغير المباشرة اذ إنَّ تجمع أيونات الصوديوم Na^+ والكلوريد Cl^- في أنسجة النبيتات وبتراكيزعالية تكون عادة سامة ومؤذية للنبات ، فمعظم الأضرارالتي تظهر على نبيتات العنب بفعل الملوحة قد تعود إلى تجمع أحد هذين الأيونين أو كليهما في أنسجته (Montoliu وآخرون ، 2009) . كما ان الملوحة ربما تؤدي الى أضطراب عمل الاغشية الخلوية وتأثيرها في فعالية بعض الانزيمات المشتركة في العمليات الأيضية المختلفة في الخلية فضلآ عن تأثيرها السلبي في بناء الكثير من التراكيب الخلوية المهمة لعمليات النمو وادامته كالكلوروفيل والمايتوكوندريا والبلاستيدات (Ashraf وParveen ، 2002).وأنَّ استمرار بعض اوجميع هذه التأثيرات يمكن أن تقود النبات إلى الهلاك إذا ما استمر تعرضه للملوحة لفترة طويلة نتيجة لتحديد نموه وتضرر تراكيبه الخلوية (Sairam و Tyagi، 2004).

وأظهرت النتائج المبينة في الجدول نفسه وجود أختلافات معنوية بين أصناف العنب المدروسة في هذه الصفة حيث تفوق الصنف Crimson Seedless في النسبة المئوية للبقاء على قيد الحياة الذي لم يختلف معنوياً عن الصنف Summer Royal ، في حين أختلفت معنوياًعن الصنف Princess الذي سجل أقل نسبة مئوية لبقاء النبيتات على قيد الحياة. وتتفق هذه النتائج مع ما جاء به (Cavagnaroوآخرون،2006) و(الدهيماوي ،2009) و (Alizadeh وآخرون ،2010) الذين أجمعوا على اختلاف أصناف العنب فيما بينها في النسبة المئوية للبقاء على قيد الحياة عند زراعتها في الأوساط الغذائية المجهزة بتراكيز مختلفة من ملح NaCl خارج الجسم الحي.

أن الأختلافات بين أصناف العنب في النسبة المئوية لبقاء النبيتات على قيد الحياة في الاوساط الغذائية المجهزة بملح NaCl يمكن أعزائها الى الاختلافات الوراثية بين الاصناف المدروسة اذ تتباين الأصناف المختلفة في قابليتها على إعادة تنظيم جهدها الأزموزي والتي تعد كوسيلةً للتكيف والتعايش مع الوسط الغذائي ذي الجهد الأزموزي المرتفع بسبب إضافة الملح له ومن ثمَ استمرار الخلايا و الأنسجة والأعضاء في النمو بتأثيرات مختلفة بحسب الصنف المستعمل(Flowers ، 2004).

وكان للتداخل بين الاصناف وتركيز ملح NaCl تأثير معنوي للنسبة المئوية لبقاء النبيتات على قيد الحياة (جدول 2) أذ أعطت نبيتات تداخلات جميع الاصناف مع التركيز (0 ملي مول) لملح كلوريد الصوديوم أعلى نسبة بقاء ولم تختلف معنوياً مع نبيتات معاملات تداخل جميع الأصناف مع التركيز (50 ملي مول) لملح كلوريد الصوديوم ، في حين ماتت جميع النبيتات في معاملة التداخل بين الصنف Princess والتركيز الملحي (200 ملي مول) و بلغت أقل نسب مئوية لبقاء النبيتات على قيد الحياة 00.00 % و23.33 % و 16.67 % في معاملات التداخل بين التركيز الملحي (200 ملي مول) واصناف العنب Princess و Crimson Seedless و Summer Royal على الترتيب والاخيرين لم يختلفا معنوياً عن بعضهما في حين أختلفت معنوياً عن نبيتات بقية التداخلات.

درجة تضرر النبيتات

تشير نتائج جدول (3) أن تجهيز الوسط الغذائي بملح NaCl أدى الى ظهور أضرار على النبيتات وازدادت شدة الضرر بزيادة تركيز ملح كلوريد الصوديوم في الوسط بلغت أعلى درجة تضرر 2.44 للنبيتات النامية في التركيز الملحي 200 ملي مول التي أختلفت معنوياً عن نبيتات بقية المعاملات ، أذ لوحظ عدم وجود فروقات معنوية بين نبيتات معاملتي (100

ISSN 2072-3875

و 150) ملي مول التي بلغت درجة تضررهما 1.0 و 1.44 على التوالي مقارنة مع نبيتات المعاملة 0 ملي مول الذي لم يحدث أي ضرر فيها . وتتفق هذه النتائج مع نتائج دراسة (Sivritepe وEris ،1997 و 1999) و (الدهيماوي ،2009) في ظهور أعراض سلبية على الأفرع المتضاعفة للعنب بفعل زيادة تركيز ملح NaCl في وسط النمو .كما لاحظ (Hamrouni وآخرون ،2008) ظهور تبرقش على زروعات العنب تحت الأجهاد الذي ظهر بعد 10 أيام من النمو في تركيز 80 ملي مول من NaCl . كما وتتفق مع دراسة (Sotiropoulos ،2007)من أن الأفرع المتضاعفة لأصل التفاح M4 قد ظهرت عليها حروق في حافة الأوراق في التراكيز العالية من ملح كلوريد الصوديوم.

أن سبب تضرر نبيتات أصناف العنب ربما يعود الى زيادة تركيز أيونات الصوديوم والكلوريد في الخلايا النباتية نتيجة المعاملات الملحية ، حيث أن تجمع هذه الأيونات بمستويات عالية يؤدي الى موت الخلايا نتيجة للتسمم الأيوني أذ تظهر أضرار أصفرار وأسمرار الأوراق وأحتراق حوافها تحت التراكيز الملحية العالية مقارنة مع النبيتات النامية في أوساط خالية من الملح .

ويشير الجدول نفسه أختلاف نبيتات أصناف العنب معنوياً في درجة تضررها أذ أعطت نبيتات الصنف Crimson seedless أقل درجة تضرر ولم تختلف معنوياً عن نبيتات الصنف Summer Royal التي أختلفت معنوياً عن نبيتات الصنف Princess التي أعطت أعلى درجة تضرر وتتفق هذه الدراسة مع ما جاء به (Sivritepe وEris ،1997 و 1999) و (Zhao ،2004) و (Hamrouni وآخرون ،2008) و(الدهيماوي ،2009) في أصناف العنب التي أختلفت في درجة تضرر زروعاتها النسيجية بفعل نموها في أوساط غذائية غنية بملح كلوريد الصوديوم وأن سبب تفاوت الأصناف في درجة التضرر بالاملاح قد يعزى الى نفس السبب الذي ذكر عند الحديث عن نسبة بقاء النبيتات على قيد الحياة .

ويظهرالجدول نفسه أن للتداخل تأثير معنوي في درجة تضرر النبيتات أذ لاحظ عدم وجود تضرر نبيتات العنب في معاملة التداخل بين الأصناف وتركيز 0 ملي مول والتي لم تختلف معنوياً مع نبيتات معاملة التداخل بين (تركيز 50 ملي مول والصنفين Crimson seedless و Summer Royal) التي أختلفت معنوياً عن نبيتات بقية التداخلات ، بينما سجلت أعلى درجة تضرر في نبيتات معاملة التداخل بين التركيز 200 ملي مول و الأصناف Crimson seedless و Summer Royal و Princess ، أذ ماتت جميع نبيتات الصنف Princess عند هذا التركيز .

جدول (2) تأثير أصناف العنب وتراكيز ملح NaCl المضاف الى الوسط الغذائي MS وتداخلاتهما في النسبة المئوية لبقاء النبيتات على قيد الحياة بعد ثلاثة اسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي .

تركيز ملح NaCl ملي مول	الأصناف			معدل تراكيز الملح
	Crimson seedless	Princess	Summer Royal	
0	100.0 a	100.0 abc	100.0 abc	**100.00 a**
50	100.0 ab	100.0 abc	100.0 abc	**100.00 a**
100	96.67 abcd	86.67abcd	86.67abcd	**90.00 b**
150	70.0 e	56.67 f	63.33 ef	**63.33 c**
200	23.33 g	0.00h	16.67 g	**13.33 d**
معدل الأصناف	**78.00 a**	**68.67 b**	**73.33 ab**	

ISSN 2072-3875

جدول (3) تأثير أصناف العنب وتراكيز ملح NaCl المضاف الى الوسط الغذائي MS وتداخلاتهما في درجة تضرر النبيتات بعد ثلاثة اسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي .

تركيز ملح NaCl ملي مول	الأصناف			معدل تراكيز الملح
	Crimson seedless	Princess	Summer Royal	
0	0.00 f	0.00 f	0.00 f	**0.00 c**
50	0.00 f	0.66 def	0.33 ef	**0.33 c**
100	0.66 def	1.3 bcde	1.00 cdef	**1.00 b**
150	1.33 bcde	1.66 bcd	1.33 bcde	**1.44 b**
200	2.00 abc	3.00 a	2.33 ab	**2.44 a**
معدل الأصناف	**0.80 b**	**1.33 a**	**1.00 ab**	

معدل عدد الاوراق

تشير نتائج الجدول (4) الى التأثير المعنوي لأختلاف مستويات الملوحة في خفض معدل عدد الاوراق . نبيتة $^{-1}$ التي أنخفضت بزيادة مستويات الملوحة أذ سجل أقل معدل في النبيتات النامية في الوسط الغذائي المزود بـ 200 ملي مول بينما كان المعدل الاعلى عند المعاملة (الوسط الخالي من الملح) والذي لم يختلف معنوياً عن النبيتات النامية في وسط مزود بتركيز 50ملي مول وأختلف معنوياً عن بقية المعاملات ، وربما يعود ذلك إلى ان الملوحة تعمل على إبطاء النمو الخضري والجذري نتيجة تثبيط عمل الهرمونات المنشطة للنمو كالجبرلينات والسايتوكاينينات وتنشيط عمل الهرمونات المعيقة للنمو كحامض الابسيسيك والذي له دور في ميكانيكية تساقط الأوراق من خلال تأثيره على منطقة الانفصال(Taiz و Zeiger ،2006) فقد لوحظ أصفرار الأوراق وموت وسقوط بعض منها بالتركيز العالي من الملوحة ، فضلا عن السمية الأيونية الناتجة عن تراكم بعض الايونات السامة كالكلوريد والصوديوم تحت تأثير إجهاد الملوحة وتتفق هذهِ النتائج مع ما جاء به (Charbaji وِAyyoubi،2004) و(Cavagnaro وآخرون ،2006) و(الدهيماوي ،2009) في العنب و(Marandi وآخرون ،2009) في التفاح و(Ghaleb وآخرون ،2010) و(ناجي ،2013) في الحمضيات .

كما أن للصنف تأثير معنوي في صفة عدد الاوراق . نبيتة $^{-1}$ ، فقد أظهرت نبيتات الصنف Crimson Seedless تفوقاً َمعنوياً في عدد الأوراق ولم يختلف معنوياً عن نبيتات الصنف Summer Royal التي بدورها قد اختلفت عن نبيتات الصنف Princess التي سجلت أقل معدل لعدد الأوراق وربما يعود السبب الى الاختلاف الوراثي بين أصناف العنب المستخدمة في الدراسة والذي يؤثر في قابليتها على التكيف ومواجهة الأضرار السلبية المباشرة وغير المباشرة لوجود الملح في وسط نموها . وجد من بعض الدراسات السابقة تباين الأصناف في معدل عدد الأوراق المتكونه على الأفرع في أوساط غذائية مزودة بملح NaCl خارج الجسم الحي ومنها (Sivritepe وEris،1999) و(Charbaji وِAyyoubi،2004)و(Cavagnaro وآخرون ،2006) و(الدهيماوي ،2009) في العنب و(ناجي ،2013) في الحمضيات .

ويلاحظ من الجدول نفسه أن للتداخل تأثير معنوي في هذه الصفة حيث بلغ أعلى معدل لعدد الأوراق 5.67 ورقة . نبيتة $^{-1}$ عند نبيتات معاملة التداخل (الصنف Crimson seedless) و (مستوى الملوحة 0 ملي مول) ولم تختلف معنوياً عن نبيتات التداخل (الصنف Summer Royal) و (مستوى الملوحة 0 ملي مول) وتداخل (الصنف Crimson seedless) و(مستوى الملوحة 50ملي مول) ، في حين أختلفت نبيتات هذه

ISSN 2072-3875

التداخلات معنوياً عن نبيتات بقية التداخلات ، بينما سجل أقل معدل لعدد الأوراق عند التداخل (تركيز الملح 200ملي مول) وجميع الأصناف المدروسة .

جدول (4) تأثير أصناف العنب وتراكيز ملح NaCl المضاف الى الوسط الغذائي MS وتداخلاتهما في معدل عدد الأوراق . نبيتة $^{-1}$ بعد ثلاثة اسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي .

تركيز ملح NaCl ملي مول	الأصناف			معدل تراكيز الملح
	Crimson seedless	Princess	Summer Royal	
0	5.67 a	4.33 abc	5.33 ab	**5.11 a**
50	5.00 ab	4.00 bcd	4.33 abc	**4.44 a**
100	4.33 abc	3.00 cde	3.33 cde	**3.56 b**
150	3.33 cde	2.67 de	3.33 cde	**3.11 b**
200	2.33 e	0.00 f	2.67 de	**1.67 c**
معدل الأصناف	**4.13 a**	**2.80 b**	**3.80 a**	

الوزن الجاف للمجموع الخضري

يتضح من نتائج الجدول (5) أن لزيادة مستويات الملوحة تأثير معنوي في صفة الوزن الجاف للمجموع الخضري للنيتات الذي قل بزيادة مستويات الملوحة ، وبلغ أعلى معدل للوزن الجاف للمعاملتين 0 و 50 ملي مول من ملح كلوريد الصوديوم على التوالي واللذان لم يختلفا فيما بينهما معنوياً بينهما في حين أختلفا معنوياً عن بقية المعاملات في حين سجل أقل معدل للوزن الجاف عند المعاملة 200 ملي مول بلغ 25.3 ملغم . قد يرجع سبب ذلك إلى أن تعريض النبات إلى الإجهاد الملحي يسبب أنخفاض الكاربوهيدرات الكلية وزيادة السكريات الذائبة والبرولين في الورقة كنوع من مقاومة الإجهاد الملحي عن طريق زيادة الازموزية وتقليل جهد الماء داخل الخلايا، لكنه في نفس الوقت يتطلب طاقة إضافية تكلف النبات قلة في النمو العام و يسبب تقليل الجهد التنافذي في الورقة وبالتالي تقليل المادة الجافة (Garcia-Sanchez و Syvertsen ،2006).وتتفق النتائج الحالية مع ما وجده (Cavagnaro وآخرون ،2006) و(الدهيماوي ،2009) في العنب و(Bahmani وآخرون ،2012) في التفاح و(عيسى ،2015) في الحمضيات .

كما توضح نتائج الجدول نفسه أن أصناف العنب أختلفت معنوياً فيما بينها في هذه الصفة ، أذ تفوقت نبيتات الصنف Crimson seedless معنوياً عن بقية الأصناف والذي سجل أعلى معدل للوزن الجاف يليه الصنف Summer Royal والصنف Princess على التوالي . أن سبب أختلاف أستجابة الأصناف لمستويات ملح NaCl قد يعود الى الأختلاف في تركيبها الوراثي وقد وجد (Cavagnaro وآخرون ،2006) و(الدهيماوي ،2009) إختلاف أصناف العنب فيما بينها في الوزن الجاف للمجموع الخضري .

تبين من نتائج الجدول نفسه الى التأثير المعنوي للتداخل بين مستويات الملوحة والأصناف في صفة الوزن الجاف للمجموع الخضري أذ سجل أقل معدل للوزن الجاف في نبيتات معاملة التداخل بين مستوى الملوحة 200 ملي مول والاصناف Crimson seedless و Princess و Summer Royal ، في حين سجل أعلى معدل للوزن الجاف في نبيتات معاملة التداخل بين(مستوى الملوحة 0 ملي مول) و(الصنف Crimson seedless) والذي لم يختلف معنوياً عن نبيتات معاملة تداخل نفس التركيز مع الصنف Summer Royal وأختلف معنوياً عن نبيتات بقية التداخلات .

ISSN 2072-3875

جدول (5) تأثير أصناف العنب وتراكيز ملح NaCl المضاف الى الوسط الغذائي MS وتداخلاتهما في معدل الوزن الجاف للمجموع الخضري (ملغم) بعد ثلاثة اسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي .

تركيز ملح NaCl ملي مول	الأصناف			معدل تراكيز الملح
	Crimson seedless	Princess	Summer Royal	
0	74.0 a	61.0 bcd	66.6 ab	67.2 a
50	65.3 abc	60.3 bcd	64.0 abc	63.2 a
100	56.0 cde	55.3 cde	51.0 de	54.1 b
150	52.0 de	47.6 ef	45.6 efg	48.4 c
200	38.6 fg	00.0 h	37.3 g	25.3 d
معدل الأصناف	57.2 a	44.8 c	52.9 b	

الوزن الجاف للمجموع الجذري

من نتائج جدول (6) يلاحظ أن هنالك فروقاً معنوية بين النبيتات النامية في مستويات الملوحة في معدلات الوزن الجاف للمجموع الجذري حيث لوحظ أن هنالك أنخفاضاً معنوياً بزيادة مستويات الملوحة أذ سجل أقل المعدلات عند المعاملة 200 ملي مول. ولوحظ عدم وجود فروقات معنوية بين مستويات الملوحة (100 و 150) ملي مول بينما كان أعلى معدل للوزن الجاف للمجموع الجذري في معاملة المقارنة (0 ملي مول) والذي تفوق معنوياً عن بقية المعاملات ، قد يعود هذا الأنخفاض الى الأضطراب في الفعاليات الحيوية للنبيتات نتيجة قلة أمتصاص الماء فضلاً على حدوث أختلال في أمتصاص العناصر الغذائية ، وقد يعزى أنخفاض معدل الوزن الجاف الى تثبيط نمو الجذور .

ومن نتائج الجدول نفسه يلاحظ أن للصنف تأثير معنوي في معدلات الوزن الجاف للمجموع الجذري أذ سجل أعلى معدل للصنف Crimson seedless والذي لم يختلف معنوياً عن الصنف Summer Royal في حين أختلفا معنوياً عن الصنف Princess الذي أعطى أقل المعدلات للوزن الجاف للمجموع الجذري ، وقد يعود سبب أختلاف معدلات الوزن الجاف للمجموع الجذري نتيجة تعرضه لمستويات مختلفة من ملح كلوريد الصوديوم الى الأختلاف في تركيبها الوراثي .

ودلت نتائج الجدول (6) الى وجود تأثير معنوي في معدل التداخلات بين الأصناف ومستويات ملح NaCl أذ تفوقت معاملة التداخل بين (مستوى الملوحة 0 ملي مول) و(الصنف Crimson seedless) والتي تفوقت معنوياً على باقي التداخلات، في حين أعطت تداخلات الأصناف Crimson seedless و Princessو Summer Royal مع مستوى الملوحة 200 ملي مول أقل معدل للوزن الجاف على التوالي ومن جانب أخر لم تكن هنالك أختلافات معنوية بين معاملات التداخل للأصناف مع نفس المستوى الملحي الواحد عند التركيز 100- 150 ملي مول .

الاستنتاجات

هنالك تاثير سلبي للتركيز الملحي الاعلى من 50 مليمول على نمو نبيتات الاصناف الثلاثة ونظرا لتفاوت تاثر نمو نبيتات الاصناف المدروسة بالملوحة و استنادا على المؤشرات المدروسة بمكن الاستنتاج ان الصنف Crimson seedless هو الاكثر تحملا يليه الصنفين Summer Royal و Princess على التوالي.

ISSN 2072-3875

جدول (6) تأثير أصناف العنب وتراكيز ملح NaCl المضاف الى الوسط الغذائي MS وتداخلاتهما في معدل الوزن الجاف للمجموع الجذري (ملغم) بعد ثلاثة اسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي

تركيز ملح NaCl ملي مول	الأصناف			معدل تراكيز الملح
	Crimson seedless	Princess	Summer Royal	
0	73.3 a	56.6 b	56.3 b	**62.1 a**
50	43.0 cd	42.6 cde	52.6 bc	**46.1 b**
100	39.6 de	34.6 de	36.0 de	**36.7 c**
150	35.6 de	31.3 de	34.6 de	**33.8 c**
200	32.3 de	00.0 f	31.0 e	**21.1 d**
معدل الأصناف	**44.8 a**	**33.0 b**	**42.1 a**	

المصادر

الدهيماوي ، عبدالكاظم جواد موسى . 2009. تقييم تحمل ثلاثة أصناف من العنب *Vitis vinifera* L. لملح كلوريد الصوديوم خارج الجسم الحي. رسالة ماجستير. كلية الزراعة . جامعة الكوفة . جمهورية العراق .

المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، 2013. الكتاب السنوي للاحصاءات الزراعية . المجلد 33 . الخرطوم . السودان.

عيسى ، مريم بشير .2015. تأثير المثيل جاسمونيت وحامض الاسكوربيك في التغيرات الفسيولوجية في المزارع النسيجية لاصل الحمضيات ترويرسترانج تحت الاجهاد الملحي خارج الجسم الحي .رسالة ماجستير .كلية الزراعة . جامعة الكوفة . العراق .

ناجي ، ضرغام باسم .2013. تقيم بعض اصول الحمضيات *Citrus spp.* لتحمل الملوحة خارج الجسم الحي .رسالة ماجستير .كلية الزراعة . جامعة الكوفة . العراق .

Alizadeh, M. ; Singh, S. K. ; Patel, V. B. ; Bhattacharya, R. C. and Yadav, B. P. 2010. *In vitro* responses of grape rootstocks to NaCl. Biol. Plant., 54(2) : 381-385.

Ashraf, M. and Parveen, N. 2002. Photosynthetic parameters at the vegetative stage and during grain development of two hexaploid wheat cultivars differing in salt tolerance. Biol. Plant., 45 : 401-407.

Bahmani, R. ; Gholami, M. ; Mozafari, A.-A. and Alivaisi, R. 2012. Effects of salinity on *in vitro* shoot proliferation and Rooting of Apple Rootstock MM.106. World Applied Sciences Journal, 17 (3): 292-295.

Bischoff, J.1999. Salt salinity tolerance of common horticultural crops in South Dakota – garden and vegetable / woody fruit crops. South Dakota Extension , Fact Sheet .904

Cavagnaro, J. B. ; Ponce, M. T. ; Guzmán, J. and Cirrincione, M. A. 2006.

ISSN 2072-3875

García-Sánchez, F. and Syvertsen, J.P. 2006. Salinity tolerance of Cleopatra Mandarin and Carrizo Citrange Citrus rootstock seedlings is affected by CO2 enrichment during growth. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 131(1):24–31.

Ghaleb, W. Sh. ; Sawwan, J.S. ; Akash, M.W. and Al-Abdallat, A.M. 2010. *In vitro* response of two *Citrus* rootstocks to salt stress. International Journal of Fruit Science ,10(1):40-53.

Hamrouni, L. ; Ben Abdallah, F. ; Abdelly, C. and Ghorbel, A. 2008. *In vitro* culture: a simple and efficient way for salt-tolerant grapevine genotype selection. Comptes Rendus biologies, 331 (2):152-63.

Hudson, T. S.; Hartle, D. K. ; Hursting, S. D. ; Nunez, N. P. ; Wang, T. T.Y. ; Young, H. A. ; Arany, P. and Green ,J. E. 2007 . Inhibition of prostate cancer growth by Muscadine grape skin extract and resveratrol through distinct mechanisms. Cancer Res., 67 (17): 8396- 8405.

Marandi, R.J. ; Doost Ali, P.J. and Hasani, A. 2009. Determination of tolerance of two apple rootstocks to different concentrations of sodium chloride under *In vitro* conditions. Iranian Journal of Horticultural Science , 40 (2) 29-36.

Montoliu, A. ; Lo´pez-Climent, M. F. ; Arbona, V. ; Pe´rez-Clemente, R. M. and Go´mez-Cadenas, A. 2009. A novel *in vitro* tissue culture approach to study salt stress responses in Argentinean cultivars of *Vitis vinifera* grow better than European ones when cultured *in vitro* under salinity. BIOCELL, 30(1): 1-7.

Charbaji, T. and Ayyoubi, Z. 2004. Differential growth of some grapevine varieties in Syria in response to salt *in vitro*. In Vitro Cellular Development Biology-plant, 40(2) : 221-224.

Chatzissavvidis, C. ; Antonopoulou, C. ; Therios, I. and Dimassi, K. 2014. Responses of trifoliate orange (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.) to continuously and gradually increasing NaCl concentration. Aacta Botanica Croatia, 73 (1) : 275–280 .

Compton, M.C. (1996) Statical analysis of plant tissue culture data. In: Trigiano ,R.N. and Gray,D.J.(eds.)Plant Tissue Culture :Concepts and Laboratory Exercises .(pp.47-60).CRC.Press.

Corso, M. and Bonghi, C.2014. Grapevine rootstock effects on abiotic stress tolerance. Plant Science Today, 1(3): 108-113.

Eraslan, F. ; Inal, A. ; Pilbeam, D. J and Gunes, A. 2008. Interactive effects of salicylic acid and silicon on oxidative damage and antioxidant activity in spinach (*Spinacia oleracea* L. cv. Matador) grown under boron toxicity and salinity. Plant Growth Regulation, 55 : 207–219.

Flowers, T.J. 2004. Improving crop salt tolerance. Journal of Experimental Botany, 55(396) : 307-319.

ISSN 2072-3875

Citrus. Plant Growth Regulation , 59:179–187.

Rai, M.K. ; Kalia, R .K. ; Singh, R. ; Gangola, M.P. and Dhawan, A.K. 2011. Developing stress tolerant plants through *in vitro* selection—An overview of the recent progress. Environmental and Experimental Botany , 71 : 89-98.

Sairam, R. K. and Tyagi, A. 2004. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. Current Science, 86 (3) : 407-417.

Sivritepe, M. and Eris, A. 1997. Determining salt tolerance of some grapevine rootstocks under *in vitro* conditions. *Bahce*, 26 (1- 2): 49-65.

Sivritepe, M. and Eris, A. 1999. Determination of salt tolerance in some grapevine cultivars (*Vitis vinifera*) under *in vitro* conditions. *Turkish J. Biol.*, 23: 473-485.

Sotiropoulos, T.E. 2007. Effect of NaCl and CaCl2 on growth and contents of minerals, chlorophyll, proline and sugars in the apple rootstock M 4 cultured *in vitro* . Biol. Plant., 51 (1): 177-180

Stevens, R.M. ; Pech, J.M. ; Gibberd, M.R. ; Walker, R.R. ; Jones J.A. ; Taylor J. and Nicholas, P.R. 2008. Effect of reduced irrigation on growth, yield, ripening rates and water relations of Chardonnay vines grafted to five rootstocks. Austr. J. Grape Wine Res., 14(3) 177-190.

Taiz, L. and Zeiger, E. 2006. Plant Physiology. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. Redwood City, California, USA. P.559.

Walker, R.R. ; Blackmore, D.H. ; Clingeleffer, P.R. and Tarr, C.R. 2007. Rootstock effects on salt tolerance of irrigated field-grown grapevines (*Vitis vinifera* L. cv. Sultana). 3. Fresh fruit composition and dried grape quality. Austr. J. Grape Wine Res.,13(3) 130-141.

Zhao, X. M. 2004 . Study on the salt tolerance of grape tube plantlet *in vitro*. MSc Thesis ,: Northwest University of Science and Technology .

ISSN 2072-3875