أستخدام أشعة كاما لتحفيز التغاير الوراثي في الحنطة لتحمل الملوحة خارج الجسم الحي

محمد محمود زيدان* **أبراهيم عبدالله حمزة الشمري**

Dr.ibraheem16@yhoo.com

جامعة بغداد- كلية الزراعة- قسم المحاصيل الحقلية

الملخص

أجريت التجربة في مختبر زراعة الأنسجة النباتية- كلية الزراعة -جامعة بغداد لدراسة تأثير أشعة كاما والإجهاد الملحي في ثلاثة أصناف من الحنطة هي إباء99 وبحوث10 و ساوة . أستخدم التصميم العشوائي الكامل وبتجارب عامليه وبعشرة تكرارات واشتملت على أستخدام ملح NaCl بالتركيز 0 و0.5 و1.0 و 1.5 و2.0%. أخذت قياسات الزن الطري والجاف للكالس وتركيز أيونات النتروجين والبوتاسيوم والصوديوم والكلوريد . بينت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية بين عوامل الدراسة وتداخلاتها . تفوقت معاملة المقارنة في الوزن الطري للكالس بلغ 171.0 ملغم وانخفض الى 47.47 ملغم للتركيز 2.0% . أظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية بين معاملات الإجهاد الملحي في تركيز النتروجين وانخفض تركيز أيون البوتاسيوم مع زيادة الإجهاد. تفوق التركيز 2.0% من NaCl وأعطى أعلى متوسط لتركيز الصوديوم والكلوريد بلغ 484.4 و 283.1 مايكروغرام غم$^{-1}$ بالتتابع . نستنتج أن زيادة تركيز أيون النتروجين قد انعكست على تحمل الأصناف تحت الإجهاد الملحي ونوصي بدراسة أشعة كاما 100 Gy تحت ظروف الإجهاد الملحي لدى تربية الحنطة.

كلمات المفتاحية: زراعة الأنسجة النباتية ، التحمل للملوحة ، أشعة كاما ، الكالس.

USING GAMMA RAYS TO GENETIC VARIATION IN WHEAT TO SALT TOLERANT *INVITRO*

M.M. Zaidan **I.A. Hamza. AL-Shmarey**

Univ. of Baghdad- Coll. of Agric.- Dept. of Field Crops

dr. Ibrahim 16@yahoo. com

ABSTRACT

An experiment was conducted at the University of Baghdad College of Agriculture .The objective was to study the effect of gamma rays and salt stress in three Cultivars of wheat *Triticum aestivum* L.cv: Iba99, Bhuth10 and Sawa. Completely randomized design and factorial experiment with 10 replication were used. The variables were, NaCl salt concentrations 0,0.5,1.0,1.5and 2.0%. Measurements were taken fresh and dry callus weight and concentration ions

---

*** البحث مستل من أطروحة دكتوراه للباحث الأول**

N,K,Na^+ and Cl^-. The results of statistical analysis revealed that significant differences among factors and their interactions. treatment of control NaCl gave highest weight callus (171.0mg) and reduction to (40.47) in treatment 2.0% NaCl. The result revealed that there was non significant effect between treatment salt stress in N concentration. and reduction K ion with salt stress gave 2.0% concentration NaCl gave the height mean concentration of Na^+ and Cl^- (484.4 and 283.1 µg g^{-1}) respectively. Thus, it was concluded increasing these N has increased of cultivars tolerant under salt stress . It was recommended to use gamma rays 100Gy under salt stress when there was breeding wheat invitro.

Key words: Plant tissue culture , salt tolerance , gamma rays, callus.

المقدمة

يُعنى محصول الحنطه من بين المحاصيل بأهمية بالغة لدى كثير من الباحثين إذ هو المحصول الأول في العالم والعراق من حيث المساحة والإنتاج لما له أهمية في الأمن الغذائي، إن مايشهدهُ العالم اليوم من تغييرات في المناخ زادت من مشكلات إنتاج المحاصيل كماً ونوعاً ولاسيما تعرض كثير من بلدان العالم الى الاجهادات غير الإحيائية ومن بينها الملوحة والجفاف التي تضرب أصقاع واسعة من بلدان العالم ولاسيما المناطق الجافة وشبه الجافة ومن بينها العراق، إن الري في معظم الأحوال مكلف ومعقد تقنياً ويتطلب مهارات إدارية وهندسيه كفوءة والإخفاق في إدارة المياه والبزل غير الكفؤ سبب مشكلات التغدق والملوحه التي تؤدي الى خفض إنتاجية التربة وبالتالي فقدان مساحات واسعة من الأراضي الزراعية العراقية سنوياً بمقدار 5% وهو أكثر من ضعف المعدل العالمي البالغ 2% (2). تفاقمت مشكلة الملوحة والجفاف في السنوات الأخيرة فمن جهة تتعرض التربة إلى التدهور ومن جهة أخرى تزداد كلفة إستصلاح الأراضي بشكل حاد بحيث أضحت ذات غير جدوى أقتصادية، إن التوسع في زراعة وإنتاج هذا المحصول في العراق مرهون في استنباط أصناف جديدة متحملة للإجهاد المائي والملحي وذلك من خلال طرائق التربية والتحسين لهذا المحصول واستخدام التقانات الإحيائية لاستنباط تراكيب وراثية متحملة للجفاف والملوحة وذات إنتاجية ونوعية جيدة(1). إن من بين التقانات المتاحة اليوم لإختبار أداء وتحسين الاصناف لتحمل الملوحة والجفاف هي تقانة تحفيز التغاير الوراثي والغربلة والأنتخاب خارج الجسم الحي وذلك بأستخدام تقانة زراعة الأنسجة النباتية بغية الحصول على أصناف متحمله للأجهادات كجزء للتعايش مع هذه المشكلة . أشارت الدراسات إنه بالإمكان أستخدام أشعة كاماGamma rays في تحفيز التغاير الوراثي لغرض التربية لتحمل الإجهاد الملحي(4 و6). ونظراً لكون صفة تحمل الأصناف للأجهادات صفه كمية ذات خاصية وراثية وفسلجية معقده ومحكومة بأعداد كبيره من الجينات، ولكبر حجم المشكلة وسعتها للأستجابه لمتطلبات الأمن الغذائي تم اللجوء الى الجانب البايولوجي بأستخدام تقانة زراعة الأنسجة كأحد الحلول المتاحة لهذه المشكلات، لذا تهدف الدراسة الى فهم الآليات الفسلجية والكيموحيوية لأداء الأصناف تحت مستويات الملوحة.

المواد وطرائق العمل

نفذت الدراسة الحالية في مختبر زراعة الأنسجة النباتية للدراسات العليا - كلية الزراعة - جامعة بغداد . أستخدمت أشعة كاما في تحفيز التغاير الوراثي بين ثلاثة أصناف من الحنطة وهي إباء99 و بحوث10 و ساوة، وأستخدمت أشعة كاما بالجرعة 100 Gy كونها الأفضل

في التشعيع من دون التأثير على حيوية البذور وحسب طريقة (10). بناءً على الدراسات السابقة استخدمت هايبوكلورات الصوديوم NaOCl القاصر التجاري (فاس) بتركيز 6% في تعقيم البذور وأُعتمد التركيز 4.5% ولمدة 15 دقيقة الذي يُعد الأفضل في تعقيم البذور دون التأثير على البذور وحيويتها و بلغت نسبة التلوث 0 % (5). أُجريت عملية تعقيم البذور في جهاز انسياب الهواء الطبقي Laminar air flow cabinet نقلت البذور بعدها الى قناني معقمه سعة 250 مل وأضيف اليها 10 مل من الماء المقطر المعقم لضمان نقع البذور بصوره جيدة واحكم غلق القناني وحضنت البذور في ظلام تام لمدة 24 ساعة وبدرجة حرارة 25 ^{0}م ± 2 لغرض تحفيز الأجنة على النمو . نقلت بعدها الى أنابيب زراعة زجاجية Test tubes (Veales) مجهزه بوسط غذائي صلب حاوي على أملاح MS (19) وخالي من منظمات النمو Free hormone media حضنت بذور الأصناف بدرجة حرارة 25 ^{0} م ± 2 لمدة 48 ساعة وبظروف 16 ساعة ضوء و8 ساعة ظلام وبعدها فصلت الأجنة الناضجة المعاملة بأشعة كاما وزرعت في وسط استحثاث الكالس. أُستخدم الوسط الغذائي MS الجاهز مجهز من شركة himidia الهندية بوزن4.91 غم لتر$^{-1}$ وأُضيف إليه الفيتامينات ومنظمات النمو والسكروز30غم لتر$^{-1}$ والآكار7غم لتر$^{-1}$، أُضيف الأوكسين 2,4- D 2,4- dichlorophenoxy actic acid بالتركيز 3 ملغم لتر$^{-1}$ مع أضافة كل من الكاينتين kin. Kinetin و NAA. acid Nphthalene actic بتركيز 0.5 ملغم لتر$^{-1}$ لغرض أستحثاث الكالس من الأجنة الناضجة لأصناف الحنطة المدروسة والمعاملة بأشعة كاما، أُخذ حجم 800 مل من الماء المقطر وأُضيفت اليه المكونات السابقة الذكر بعدها عدلت الدالة الهيدروجينية PH للوسط الغذائي الى 5.7 وذلك بإضافة قطرات من هيدروكسيد الصوديوم NaOH وحامض الهيدروكلوريك HCl بتركيز1 عياري بعدها اكمل الحجم الى 1000مل ثم أضيف الآكار نوع Agar - Agar مجهز من شركة himidia سخن الوسط الغذائي بإستخدام جهاز التسخين الخلاط المغناطيسي Magnetic Stirrer hotplate لحين التجانس ثم وزع في أنابيب الزراعة Veales وبمعدل 10 مل وعقم بجهاز التعقيم على درجة حراره 121 ^{0} م وضغط 104 كغم سم^2 لمدة 15 دقيقه وتركت لتبرد وتتصلب على درجة حرارة الغرفة وبزاوية ميل 45 ^{0} وحفظت لحين الإستخدام.

فصلت الأجنة الناضجة من البذور المعقمة لأصناف الحنطة قيد الدراسة وبمعدل جنين واحد لكل انبوب من انابيب الزراعة كررت عملية إعادة الزراعة Subculture كل أربعة أسابيع ولمرتين وصولاً الى الكميه المطلوبة من الكالس أُعتمد وزن ثابت (100) ملغم من الكالس وزرع في وسط MS وتراكيز مختلفة من NaCl 0 و0.5 و1.0 و 1.5 و2.0 % ، قييست الإيصالية الكهربائية Electric EC Conductivity لوسط MS بأستخدام جهاز Ecimeter وبلغت 6.4 و 11.5 و 19.0 و 24.0 و 31.4 dism^{-1} للمستويات الملحية المذكورة بالتتابع من الجدير بالذكر إن معاملة المقارنة لا تعني عدم وجود شد ملحي وانما لم تزود بأي تركيز من NaCl ، وحُسب الوزن الطري والجاف لمعرفة مدى تأثير الجرعة الإشعاعية100 Gy في تحمل خلايا الكالس للملوحة وتحديد التركيز الأمثل من NaCl بعد المعاملة بأشعة كاما.

قدر النتروجين كما ورد في طريقة (20). قدرت أيونات الصوديوم و الكلوريد والبوتاسيوم حسب طريقة (14). نفذت التجارب بإستخدام التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design CRD، وبتجارب عاملية وحللت النتائج باستخدام البرنامج الاحصائي Genestat النسخة 12 Edition 12th ، وقورنت المتوسطات بحسب إختبار أقل فرق معنوي Least Significant Difference LSD وعلى مستوى إحتمال 5% (13).

النتائج والمناقشة

سلكت أصناف الحنطة المدروسة سلوكا مختلفا فيما بينها في صفة الوزن الطري للكالس بتأثير أشعة كاما والإجهاد الملحي جدول 1. فقد تفوق الصنف ساوة معنويا في متوسط الوزن الطري للكالس إذ بلغ 124.74 ملغم مقارنة مع الصنفان إباء99 وبحوث10 التي سجلت أدنى متوسط وزن طري للكالس بلغ 111.18 و 112.72 ملغم لكليهما بالتتابع ،انخفض الوزن الطري للكالس مع زيادة الإجهاد الملحي فقد تحقق أعلى متوسط طري للكالس لدى معاملة المقارنة بلغ 171.00 ملغم وانخفض تدريجيا بزيادة تراكيز الإجهاد الملحي والتي حققت 160.93 و 126.33 و 82.13 و 40.47 ملغم للتراكيز 0.5 و 1.0 و 1.5 و2.0 % من ملح NaCl . في الجدول 1 نلحظ معنوية التداخل بين معاملات الإجهاد الملحي و المعاملة بأشعة Gy100 وأصناف الحنطة الثلاثة قيد الدراسة إذ تحقق أعلى متوسط وزن طري للكالس للصنف ساوة مع معاملة المقارنة بمتوسط بلغ 193.80 ملغم ومتفوقا على الصنفان إباء99 و بحوث10 ، كما نلحظ تفوق الصنف ساوة مع المعاملة 0.5% من ملح NaCl وأعطى متوسط وزن طري بلغ 179.50 ملغم ، بينما انخفض الوزن الطري للكالس بزيادة الإجهاد لملحي وصولا الى التركيز 2.0% من ملح NaCl .

اختلفت متوسطات الوزن الجاف للكالس بين أصناف الحنطة قيد الدراسة معنويا جدول 2 إذ تحقق أعلى متوسط وزن جاف للكالس في الصنف ساوة الذي بلغ 11.70 ملغم متفوقا على الصنفان إباء99 وبحوث10 بالتتابع . سببت المعاملة بالإجهاد الملحي تأثيرا معنويا في متوسط الوزن الجاف للكالس إذ يلحظ عدم وجود فروق معنوية بين معاملة المقارنة والتركيز 0.5% اللذان حققا متوسط وزن جاف بلغ 14.93 و 14.16 ملغم لكليهما بالتتابع في حين انخفض الوزن الجاف بزيادة تراكيز الإجهاد الملحي وصولا الى التركيز 2.0% الذي حقق أدنى متوسط بلغ 4.26 ملغم . الجدول 2 يشير الى معنوية التداخل بين الأصناف ومعاملات الإجهاد الملحي والمعاملة بأشعة كاما Gy100 إذ سلكت الأصناف سلوكا مختلفا في كمية الاستجابة بتأثير معاملات الإجهاد الملحي فقد تفوق الصنف ساوة مع المعاملة 5.0% من ملح NaCl بمتوسط وزن جاف بلغ 16.60 ملغم وبعدم وجود فرق معنوي بين معاملة المقارنة لنفس الصنف والتي سجلت متوسط بلغ 16.50 ملغم ومتفوقا على الصنفين إباء99 و بحوث10 لنفس المعاملات المذكورة كما وانخفض الوزن الجاف للكالس مع المعاملة 2.0% من ملح NaCl ولجميع الأصناف قيد الدراسة .

جدول 1. تأثير تراكيز NaCl والمعاملة بأشعة كاما في الوزن الطري للكالس(ملغم)

Table 1. Effect of NaCl Concentration and gamma rays treatment in fresh weight(mg)

الأصناف Cultivars	تراكيز NaCl% +100 Gy Concentration NaCl%+100Gy					المتوسط Mean
	0	0.5	1.0	1.5	2.0	
إباء99	147.60	137.30	126.30	86.80	57.90	**111.18**
بحوث10	171.60	166.00	130.40	64.50	31.10	**112.72**
ساوة	193.80	179.50	122.30	95.10	33.00	**124.74**
LSD0.05	3.60					**1.61**
المتوسط Mean	**171.00**	**160.93**	**126.33**	**82.13**	**40.67**	
LSD0.05	2.08					

سببت الملوحة العالية خفض الوزن الطري والجاف للكالس هذا يمكن أن يفسر من خلال التأثير على نمو الخلايا وبذلك صرفها الطاقة المتوافرة للعمليات الأيضية لتحمل الإجهاد وهذا بدوره يؤخر نمو الكالس والذي ينعكس سلباً في خفض وزنه الطري والجاف ، كما يؤثر الإجهاد الملحي في جاهزية العناصر الغذائية في الوسط الملحي النامي فيه نسيج الكالس والذي ينعكس على نمو وانقسام الخلايا حيث ينخفض نمو الكالس مع انخفاض محتواه من الماء والذي ينعكس على بطء العمليات الحيوية للخلية (11). أختلفت الأصناف فيما بينها في الوزن الطري والجاف بتأثير المعاملة بمستخلص الحنظل وأشعة كاما وبتأثر معاملات الملوحة والجفاف ، وهذا يفسر بأختلاف قابلية الأصناف من الناحية الوراثية على تحمل الإجهاد ومن جهة أخرى الى دور التحفيز بأشعة كاما والذي يمكن أن ينعكس على تحمل الأصناف وزيادة الوزن الطري والجاف.

جدول2. تأثير تراكيز من NaCl والمعاملة بأشعة كاما في الوزن الجاف للكالس(ملغم)

Table2. Effect of NaCl Concentration and gamma rays treatment in fresh weight(mg)

الأصناف Cultivars	تراكيز NaCl % +100 Gy Concentration NaCl%+100Gy					المتوسط Mean
	0	0.5	1.0	1.5	2.0	
إباء99	13.70	12.90	12.20	8.50	5.40	**10.54**
بحوث10	14.60	13.00	12.50	7.00	3.00	**10.02**
ساوة	16.50	16.60	12.00	9.00	4.40	**11.70**
LSD0.05 Mean	0.81					0.36
المتوسط	14.93	14.16	12.23	8.16	4.26	
LSD0.05	0.47					

أيون النتروجين

أظهرت النتائج المتحصل عليها في جدول3 عن عدم وجود فروق معنوية بين أصناف الحنطة الثلاثة قيد الدراسة في تركيز أيون النتروجين . كما نلحظ من نتائج الجدول عن عدم وجود فروق معنوية بين معاملات الإجهاد الملحي في تركيز أيون النتروجين .

في الجدول 3 تظهر معنوية التداخل بين معاملات الإجهاد الملحي ممثلاً بملح NaCl المجهز للأوساط الغذائية والمعاملة بأشعة كاما وأصناف الحنطة قيد الدراسة ، إذ تحقق أعلى متوسط لأيون النتروجين في الصنف ساوة لدى المعاملة 0.5% من NaCl وبمتوسط تركيز 1256.0 مايكروغرام غم$^{-1}$ ومتفوقا على الصنف بحوث10 لنفس المعاملة الذي حقق تركيز لأيون النتروجين بلغ 1148.0 مايكروغرام غم$^{-1}$ وبنسبة انخفاض 8.59% وكذلك تفوق الصنف ساوة على معاملة المقارنة مع الصنف إباء99 التي سجلت تركيز 1116.7 مايكروغرام غم$^{-1}$ وبنسبة زيادة عنها بلغت 11% ، في انخفض تركيز النتروجين بزيادة تركيز الإجهاد الملحي ولجميع الأصناف وبعدم وجود فروق معنوية فيما بينها.

جدول 3. تأثير تراكيز من NaCl والمعاملة بأشعة كاما في تركيز أيون النتروجين(مايكرو غرام غم$^{-1}$) .

Table3. Effect of NaCl Concentration and gamma rays treatment in Con. Nitrogen ion(µg g^{-1})

الأصناف Cultivars	تراكيز NaCl % +100 Gy Concentration NaCl%+100Gy					المتوسط Mean
	0	0.5	1.0	1.5	2.0	
إباء99	1116.7	1188.3	1191.0	1197.3	1187.3	**1176.1**
بحوث10	1178.3	1148.0	1204.3	1222.0	1181.0	**1186.77**
ساوة	1213.3	1256.0	1223.3	1220.7	1197.7	**1222.2**
LSD0.05	84.68					**37.87**
المتوسط Mean	**1169.4**	**1197.4**	**1206.2**	**1213.3**	**1188.7**	**n.s**
LSD0.05	48.89 n.s					

أيون البوتاسيوم

من خلال نتائج جدول 4 يتضح اختلاف سلوك أصناف الحنطة في الدراسة الحالية في تركيز أيون البوتاسيوم ، فقد تحقق أعلى تركيز لأيون البوتاسيوم في الصنف بحوث10 وبمتوسط بلغ 639.1 مايكروغرام غم$^{-1}$ وبنسبة زيادة بلغت 3.63 و 2.09 عن الصنفان إباء99 و ساوة اللذان سجلا تركيز للبوتاسيوم بلغ 615.9 و 625.7 مايكروغرام غم$^{-1}$ بالتتابع . تأثر أيون البوتاسيوم مع اختلاف تراكيز الإجهاد الملحي فقد تحقق أعلى متوسط تركيز لهذا الأيون في المعاملة 0.5% من ملح NaCl وبمتوسط تركيز بلغ 651.9 مايكروغرام غم$^{-1}$ ومتفوقا عن بقية المعاملات التي حققت تركيز لأيون البوتاسيوم بلغ 636.4 و 627.7 و 625.8 و 592.6 مايكروغرام غم$^{-1}$ للمعاملات 0 و 1.0 و 1.5 و2.0 % من ملح NaCl بالتتابع .

في الجدول4 نلحظ أن التحفيز بأشعة كاما 100 Gy والمعاملة بملح NaCl أثرت في تركيز البوتاسيوم فالصنف بحوث10 حقق أعلى متوسط لتركيز أيون البوتاسيوم مع المعاملة 0.5% بلغ 663.0 مايكروغرام غم$^{-1}$ ، بينما انخفض أيون البوتاسيوم لجميع الأصناف بزيادة تركيز الإجهاد الملحي وصولا الى 2.0 من NaCl التي حققت أدنى تركيز للبوتاسيوم للأصناف المدروسة كافة .

جدول4. تأثير تراكيز من NaCl والمعاملة بأشعة كاما في تركيز أيون البوتاسيوم(مايكرو غرام غم$^{-1}$)

Table4. Effect of NaCl Concentration and gamma rays treatment in Con. Of Potassium ion(µg g^{-1})

الأصناف Cultivars	تراكيز NaCl % +100 Gy Concentration NaCl%+100Gy					المتوسط Mean
	0	0.5	1.0	1.5	2.0	
إباء99	616.7	641.7	615.0	627.0	579.0	615.9
بحوث10	651.3	663.0	649.0	625.0	607.0	639.1
ساوة	641.3	651.0	619.0	625.3	591.7	625.7
LSD0.05	26.68					11.93
المتوسط Mean	636.4	651.9	627.7	625.8	592.6	
LSD0.05	15.40					

أيون الصوديوم

النتائج المتحصل عليها في الجدول5 تشير الى اختلاف متوسطات أصناف الحنطة في تركيز أيون الصوديوم بتأثير معاملات الإجهاد الملحي وأشعة كاما، فقد تحقق أعلى تركيز للصوديوم في الصنفان بحوث10 و ساوة وبمتوسط بلغ 458.1 و 452.7 مايكروغرام غم$^{-1}$ في حين انخفض تركيز الصوديوم في الصنف إباء99 الذي سجل متوسط بلغ 433.3 مايكروغرام غم$^{-1}$ وبنسبة انخفاض بلغت 5.72 و 4.47 % عن الصنفان بحوث10 و ساوة بالتتابع . الإجهاد الملحي بأستخدام ملح NaCl زاد من تركيز الصوديوم إذ حقق التركيز 2.0% من NaCl أعلى تركيز للصوديوم بلغ 484.4 مايكروغرام غم$^{-1}$ وبنسبة زيادة 13.0 و 11.5 و 7.36 و 2.12 % عن التراكيز 0 و0.5 و 1.0 و 1.5 % من ملح NaCl التي سجلت تركيز بلغ 421.1 و 428.6 و 448.7 و 474.1 مايكروغرام غم$^{-1}$ بالتتابع. في الجدول 5 تظهر معنوية التداخل بين معاملات الإجهاد المائي والتحفيز بأشعة كاما وأصناف الحنطة، مما يؤكد اختلاف سلوك الأصناف تجاه معاملات الإجهاد الملحي فمثلا سجل الصنف بحوث10 مع المعاملة 2.0% من ملح NaCl أعلى متوسط تركيز بلغ 495.0 مايكروغرام غم$^{-1}$ وبعدم فرق معنوي بين الصنف ساوة الذي حقق تركيز بلغ 486.7 مايكروغرام غم$^{-1}$ لنفس المعاملة ، كما تشير نتائج الجدول الى انخفاض تركيز الصوديوم في معاملة المقارنة ولجميع الأصناف .

جدول 5. تأثير تراكيز من NaCl والمعاملة بأشعة كاما في تركيز أيون الصوديوم(مايكروغرام غم$^{-1}$).

Table5. Effect of NaCl Concentration and gamma rays treatment in Con. Of Sodium ion(µg g^{-1})

الأصناف Cultivars	تراكيز NaCl % + 100 Gy Concentration NaCl%+100Gy					المتوسط Mean
	0	0.5	1.0	1.5	2.0	
إباء99	416.0	426.3	446.3	456.7	471.7	**433.3**
بحوث10	427.0	436.0	450.3	482.0	495.0	**458.1**
ساوة	420.3	423.3	449.7	483.7	486.7	**452.7**
LSD0.05	**19.16**					**8.57**
المتوسط Mean	**421.1**	**428.6**	**448.7**	**474.1**	**484.4**	
LSD0.05	**11.06**					

أيون الكلوريد

اختلفت متوسطات الأصناف قيد الدراسة الحالية في متوسط تركيز الكلوريد جدول6 إذ بلغ أعلى تركيز للكلوريد في الصنف بحوث10 وبمتوسط تركيز بلغ 261.5 مايكروغرام غم$^{-1}$ ومتفوقا على تركيز الكلوريد في الصنفان إباء99 و ساوة الذي بلغ 248.2 و 253.1 مايكروغرام غم$^{-1}$ لكلاهما بالتتابع . أثرت معاملات الإجهاد الملحي في زيادة متوسط تركيز الكلوريد مع زيادة تراكيز NaCl إذ بلغ تركيز الكلوريد 236.2 و 229.8 و 255.1 و 267.1 و 283.1 مايكرو غرام غم$^{-1}$ للتراكيز 0 و 0.5 و 1.0 و1.5 و 2.0 % من ملح NaCl بالتتابع . تشير نتائج الجدول 6 الى معنوية التداخل بين معاملات الإجهاد الملحي وأصناف الحنطة والمعاملة بأشعة كاما ، فقد تحقق أعلى متوسط لأيون الكلوريد في المعاملة 2.0% من ملح NaCl ولجميع الأصناف إذ بلغ 278.3 و 288.7 و 282.3 مايكروغرام غم$^{-1}$ للأصناف إباء9 و بحوث10 و ساوة بالتتابع، في حين انخفض تركيز الكلوريد في معاملة المقارنة ولجميع الأصناف المدروسة.

جدول6. تأثير تراكيز من NaCl والمعاملة بأشعة كاما في تركيز أيون الكلوريد(مايكرو غرام غم$^{-1}$)

Table6. Effect of NaCl Concentration and gamma rays treatment in Con. Of Chloride ion(µg g^{-1})

الأصناف Cultivars	تراكيز NaCl % +100 Gy Concentration NaCl%+100Gy					المتوسط Mean
	0	0.5	1.0	1.5	2.0	
إباء99	228.7	220.3	251.7	262.0	278.3	248.2
بحوث10	245.0	243.0	260.3	270.7	288.7	261.5
ساوة	235.0	226.0	253.3	268.7	282.3	253.1
LSD0.05	17.79					7.96
المتوسط Mean	236.2	229.8	255.1	267.1	283.1	
LSD0.05	10.27					

تُعد أيونات النتروجين والبوتاسيوم ذات أهمية خاصة نظراً لارتباطها بنمو وتطور النبات ودخولها في معظم العمليات الحيوية والفسيولوجية وفعالية الإنزيمات الضرورية للتمثيل الكربوني وبناء الأغشية , وكل أيون من هذه الأيونات له دور مهم في حياة النبات فالنتروجين يعد من الأيونات الأساسية في الكثير من الفعاليات الحيوية كما يدخل في تركيب مكونات مركبات عدة من النبات مثل الأحماضالامينية(التي تُعد الهيكل الرئيس في بناء البروتينات) وفوسفات النيوكليوتايد (الهيكل الرئيس في بناء الأحماض النووية) و تكوين مركبات الطاقة وبناء الأغشية الخلوية (غشاء البلازما والمايتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء والفجوة) أما البوتاسيوم فيعد احد الأيونات الضرورية التي يحتاجها النبات, وله دور في كثير من العمليات الفسلجية والكيموحيوية تبرز أهمية البوتاسيوم وتأثيره في فسلجة النبات من خلال أوجه عدة إذ يؤثر في أنزيمات نقل الطاقة وتكوين السكر والنشا والبروتين كما أن زيادة تركيز البوتاسيوم يحفز على زيادة أمتصاص النتروجين والفسفور (16). لذا فان نقص هذه الأيونات يؤثر في حالة النبات ومن الظروف التي تؤثر في نقص هذه الأيونات وتؤثر على نمو النبات هي الإجهاد الملحي . إن احتفاظ الخلايا بمحتواها من ايونات النتروجين والبوتاسيوم تحت تأثيرات الإجهاد الملحي يجعلها قادرة على النمو وهذا يمكن تحقيقه من خلال برامج التربية والتحسين أو حسب طريقة الغربلة والانتخاب التدريجي خارج الجسم الحي بالزراعة النسيجية، إذ إن خلايا الكالس للتراكيب الوراثية تصبح أكثر تطبعاً لحالات الإجهاد نتيجة الانتخاب التدريجي وبالمحصلة امكانية الحصول على خطوط وراثية متحملة لحالات الإجهاد وضمن مستويات معينة يحددها التركيب الوراثي نفسة وطبيعة برنامج الانتخاب ومستوى الإجهاد المسلط على الخلايا . يؤثر الإجهاد الملحي في

خفض أيون النتروجين الممتص في الخلية نتيجة تأثير أيونات الصوديوم والكلوريد اللذان يعرقلان امتصاص هذا الأيون والمسؤول عن بناء البروتين المتكون في الخلية (7) .

أشارت نتائج الدراسات أن الإجهاد الملحي يتسبب في خفض تركيز ايون النتروجين إذ وجد كل من (15و17) انخفاضاً في تركيز أيون النتروجين مع زيادة الإجهاد الملحي ، إلا إن نتائج الدراسة الحالية أشارت العكس من ذلك إذ وجد ارتفاع تركيز ايون النتروجين مع زيادة الإجهاد الملحي والمائي مع وجود فرق معنوي ملحوظ ، قد يعزى أرتفاع تركيز أيون النتروجين مع زيادة الإجهاد الملحي والمائي الى أرتفاع محتوى النبات من بعض المركبات التي تحتوي على جزيئات النتروجين ومن بينها البرولين . إن زيادة مستويات الملوحة لمزارع خلايا الكالس و للأصناف الثلاثة تسببت في زيادة أيوني الصوديوم والكلوريد وانخفاضاً في تركيز ايون البوتاسيوم مقارنة مع معاملة المقارنة، يعود السبب الى عدم التوازن الأيوني الذي يحدث في الخلية Ion disequilibrium عند تعرض النبات الى الشد الملحي نتيجة زيادة الملوحة في الوسط الغذائي وإن الزيادة في تركيز أيون Na^+ و Cl^- في الأنسجة المعرضة للشد الملحي تقود الى سمية النبات والتي يتجنبها بأختزال النمو (18). يزداد أيون الكلوريد مع زيادة تركيز الإجهاد الملحي ممثلاً بملح NaCl إذ يعمل على تقليل جاهزية العناصر الغذائية ومنها البوتاسيوم والكالسيوم والمواد الأولية اللازمة للأيض الخلوي، فضلاً عن إختلال التوازن الهرموني والأيوني للنبات (12) تحتاج الخلايا الى مستويات عالية من البوتاسيوم للمحافظة على التفاعلات الأيضية في الخلايا إضافة الى الدور الأساس للبوتاسيوم في زيادة الضغط الأمتلائي للخلايا هذا من ناحية ومن ناحية أُخرى فأن للبوتاسيوم دوراً رئيساً في عملية التعديل الأزموزي وتحسين نمو النبات تحت الإجهاد المائي والملحي (9).

كما يجب أن تكون هناك تراكيز قليلة من الصوديوم في السايتوبلازم وإن أي زيادة في الصوديوم فأن الخلايا تقوم بطرحة الى خارج الخلية عن طريق الغدد الملحية Salt gland في النباتات الملحية Halophytes أو خزنه داخل الفجوة أو امتلاك النبات قدرة وراثية على إبعاد هذه الأيونات وعدم امتصاصها Salt exclusion ، كما إن لعملية التعبير الجيني Gen expiration دوراً هاماً في تحمل الإجهاد الملحي إذ وجد أن الجين AtNHL يشفر للبروتين الذي يوجد على غشاء الفجوة ويعمل كمضخة لحجز أيون الصوديوم Na^+ وطرح أيون H^+ لتعديل الضغط الأزموزي للخلية، عملت بعض الأبحاث العلمية على زيادة عملية التعبير الجيني لهذا الجين الذي يشفر لهذا البروتين للحصول على نباتات معدلة وراثياً لها القدرة على النمو في بيئات ملحية (8). من الدلائل على تحمل خلايا الكالس للإجهاد الملحي في هذه الدراسة هو أن أضافة الأوكسين 2,4-D بتركيز 3 ملغم لتر$^{-1}$ مع 0.5 ملغم لتر$^{-1}$ من Kin. و NAA. الى الوسط الغذائي ولجميع المعاملات المدروسة يؤدي الى توازن هرموني إذ أن الإجهاد الملحي والمائي يتسبب في عدم توازن هرموني وبذلك فأنه يؤدي الى زيادة الهرمونات المثبطة مثل الابسسك ABA وانخفاض الهرمونات المشجعة للنمو إلا أن إضافة الأوكسينات والسايتوكاينينات بالتوليفة التي أعطت أفضل استحثاث للكالس الى الوسط الغذائي تعوض النقص الحاصل نتيجة تأثير الإجهاد الملحي والمائي وهذا ما أكدته نتائج AL-Arradi (2013) (3) . لدى انتخاب نباتات متحملة للإجهاد الملحي من قصب السكر خارج الجسم الحي إذ أكدت أن نمو الكالس المزروع في أوساط ملحية كان أكثر تحملاً لدى أضافة الأوكسين 2,4-D الى الوسط الغذائي مقارنة مع الكالس غير المعامل بالأوكسين.

REFRENCECE:

1- **Abd,** A.S.AL-jibouri, A.A.M. Mahmoud, S.N. Mejeed, D.M. and AL-Hussini,Z.A.2012. Using plant tissue culture technique to evaluate of three genotypes *Triticum aestivum* L. to salinity tolerance. J. of Biotechnology Center in Arabic. 6(2):46-50.

2- **Agriculture and Water Resource** .2009. Ministry of Water Resource. Baghdad.Iraq.

3- **AL-Arradi,** H.J.2013. The Use Tissue Culture ,Chemicals and Radiation to Produce Salt Tolerance Sugarcane Saccharum officinarum L. and Its Genetic Stability. PhD. Thesis . Coll. of Agric. Univ. of Basrah. in Arabic. pp. 306.

4- **AL-Hussani ,** Z. A.J.H. 2016. In vitro Employment of Genetic Variation in Potato Solanum tuberosum L. to Improve Salt Tolerance. PhD. Thesis. Coll. of Agric. Univ. of Kufa. in Arabic. pp181.

5- **AL-Samarey,** I.A. H.2007. Induction and Assessment of Variation for Drought Tolerant in Some Wheat Triticum aestivum L. Cultivars invitro . PhD. Thesis, Coll. of Agric. Univ. of Baghdad. in Arabic. Pp172.

6- **AL-khafaji,** H.M.K.; Ibrahei, M.A and Massan, N. Abd AL-Hussan.2016.Aplication of Assessing RAPD Markers for Genetic Distance Sunflower *Helianthus annuss* L. Euphrates J. Agric. Sci. 8(1):1-10.

7- **AL-Tememi,** R.J.A.2016. Infuence of Colocynth Extract, Growth Regulators and NaCl on Callus Initiation Embryos Alfalfa Seeds invitro . Msc. Thesis . Coll. of .Agric. Univ. of . Baghdad. in Arabic. pp.118.

8- **Apse**, M. P. Aharan, G.S.; Snedden , W.A. and Blumwald, E. 1999. Salt tolerance conferred by over expression of a vacuolar Na^+ /K^+ antiportar in Arabidopsis. Science, 285:1256-1258.

9- **Ashraf,** M; Afzal, M.; Ahmad, R.; Maqsood, M.; Akhtar, N. and Aziz A.2012. Growth response of the salt sensitive and the salt- tolerant sugarcane genotypes to potassium nutrition under salt stress Archives of Agronomy and Soil Science. 58(4):385-398.

10-Borzouei, A., M.Kafi, H.Khazaei, B. Naseriyan and A.M.Abadi. 2010. Effects of gamma radiation on germination and physiological aspects of wheat *T. aestivum* L. seedlings. Pak.J. Bot. 42(4):2281-229.

11- Cusman, J.C.; DeRocher , E.J. and Bohunert, H.J.1990. Gene

expression during adaptation to salt stress . pp173-203.In Katterman , , f eds. Environmental Injury to plant . Acacemic Press Inc., San Diego.

12- **De Pascale**, S.; A. Maggio and G. Barbirei .2005. Soil salinization affects growth , yield and mineral composition of cauliflower and broccoli . European J. of Agron.23:254-264.

13-**EL-sahooki,** M.M.and Wuhaib, K.M. 1990. Application Design and Analysis of Experiment. Univ. of Baghdad. in Arabic. pp488.

14- **Erwin,** E and V. Houba .2004. Plant Analysis Procedures . Kluwer Academic Publishers. The Netherlands. pp.179.

15- **Hassan,** N.S., Lamis, D. S., EL-Sayed,A.H. and Eman ., E.S. 2004. In Vitro selection for water stress tolerant callus line of Hellianthus annus L. Cv. Myak. Inter.J.of Agric and Biol 6(1):13-18.

16- **Havlin ,** J. L. D. Beaton, S. L. Tisdal, and W. L. Nelson.2005. Soil Fertility and Fertilizers.7th Ed. An introduction to nutrition management . Upper . Saddle River, New .Jersey.

17- **Hussain ,** K., Khalid N., Abdul Majeed, Umbrin I., Feng L., Kawsar A. and Muhammad F.N. 2011. Role of exogenous salicylic acid applications for salt tolerance in violet . Sarhad J. Agric. 27(2):171-175.

18- **Karimi**, E.; A. Abdolzadeha and H.R. Sadeghipour .2009. Incresing salt tolerance in *Olea europaea* L. plant by supplemental potassium nutrition involves changes in ion accumulation and anatomical attrbutes. Inter. J. of Plant Prod. 3(4):49-60.

19- **Murashige,**T. and F. Skoog.1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture . Physiol. Plant. 15:473-797.

20-**Page,** A.L., R.H.Miller and D.R.(eds.) Keency.1982. Chemical and Microbiological properties .2ndediton . Am. Soc. Agron. Wisconsin,USA.